KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

DENEYSEL SIÇAN PANKREATİK BETA HÜCRESİ HASAR MODELİNDE CTLA-4 PROTEİNİ İLE MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERİN SİNERJİK ETKİSİNİN POTANSİYEL TEDAVİ STRATEJİLERİNDEKİ ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

SEMA YUSUFOĞLU NÜRLÜGE

KOCAELİ 2022

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

DENEYSEL SIÇAN PANKREATİK BETA HÜCRESİ HASAR MODELİNDE CTLA-4 PROTEİNİ İLE MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERİN SİNERJİK ETKİSİNİN POTANSİYEL TEDAVİ STRATEJİLERİNDEKİ ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

SEMA YUSUFOĞLU NÜRLÜGE

Dr. Öğr. Üyesi Gülçin GACAR **Danışman, Kocaeli Üniversitesi**	.....
Prof. Dr. Yusufhan YAZIR **Jüri Üyesi, Kocaeli Üniversitesi**	.....
Dr. Öğr. Üyesi Sevgi TÜRKER KAYA **Jüri Üyesi, Kocaeli Üniversitesi**	.....
Prof. Dr. İlknur Arslanoğlu **Jüri Üyesi, Düzce Üniversitesi**	.....
Dr. Öğr. Üyesi Özlem Sağlam Uçar **Jüri Üyesi, Nişantaşı Üniversitesi**	.....

Tezin Savunulduğu Tarih: 28 Haziran 2022

ETİK BEYAN VE ARAŞTIRMA FONU DESTEĞİ

Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez/proje çalışmasında,

- Bu tezin/projenin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu,
- Çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı,
- Bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi,
- Bu çalışmanın Kocaeli Üniversitesi'nin abone olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü'nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun olduğunu,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Tezin/Projenin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez/proje çalışması olarak sunmadığımı,

beyan ederim.

■ Bu tez çalışması kapsamında üretilen veri ve bilgiler Kocaeli Üniversitesi KÖGEM tarafından alt yapı desteği alınarak gerçekleştirilmiştir.

Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Sema YUSUFOĞLU NÜRLÜGE

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI

Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/projemin tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda belirtilen koşullarla kullanıma açma izninin Kocaeli Üniversitesi'ne verdiğimi beyan ederim. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin/projemin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanımı bana ait olacaktır.
Tezin/projenin kendi özgün çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin/projenin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.
Yükseköğretim kurulu tarafından yayınlanan ***"Lisanüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge"*** kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricinde YÖK Ulusal Tez Merkezi/ Kocaeli Üniversitesi Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

☐ Enstitü yönetim kurulu kararı ile tezimin/projemin erişime açılması mezuniyet tarihinden itibaren 2 yıl ertelenmiştir.
☐ Enstitü yönetim kurulu gerekçeli kararı ile tezimin/projemin erişime açılması mezuniyet tarihinden itibaren 6 ay ertelenmiştir.
■ Tezim/projem ile ilgili gizlilik kararı verilmemiştir.

Sema YUSUFOĞLU NÜRLÜGE

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Biyoteknoloji temelli gelişmelere rağmen kesin bir tedaviye ulaşılamamış olunması, tip 1 diyabet ile yaşamını sürdüren bireylerin hayat standartlarını en az maliyet ile yükseltme ihtiyacını doğurmaktadır. Tez çalışması bu noktada, umut vadeden tedavi protokolleri arasında çok katmanlı yapıların da ileride yer alabilmelerine ve uygulanabilirliklerine ilişkin ilk verilerin eldesi ve farklı bakış açılarıyla radikal tedavilerin geliştirilmesine olanak sağlanması amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Doktoraya başladığım ilk günden beri her soruma özenle karşılık bulduğum Prof. Dr. Fazıl ÖZEN'e ve Dr. Öğr. Üyesi Sevgi Türker Kaya'ya, doktara eğitimimin ilk gününden beni KÖGEM ailesine kabul eden, kendi öğrencilerinden ayırmayan, sadece mutluluklarımıza değil sorunlarımıza da ortak olan ve çözüm arayan, düştüğümüzde daha güçlü olarak ayağa kalkmamızı sağlayan Prof. Dr. Yusufhan YAZIR'a, çok kıymetli emekli hocası ve özellikle annemin her zaman beni T1DM ile ilgili araştırmalara yönlendirmiş olmasıyla çok sevindirdiği Prof. Dr. Erdal Karaöz'e, desteğini her zaman hissettiğim, söz konusu bilim olduğunda asla engel koymayan, tüm bilgi birikimini severek, üşenmeden, sıcakkanlılığı ile tekrar tekrar paylaşan, gündüzleri gecelere geceleri gündüzlere bağlayan deney basamaklarında asla yalnız bırakmayan, vizyonumu hep genişletmemi, tek bir noktaya milyonlarca farklı açılardan yaklaşarak incelememi sağlayan çok sevgili danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Gülçin GACAR'a, KÖGEM ailesinin en sevilen hocalarından olan ve her zaman güzelliği ve güler yüzlülüğüne, dürüstlülüğüne hayran kaldığım ve sürekli nazar boncuğu taşıması gerektiğini savunduğum, birikimleriyle en anlaşılmaz deney basamaklarını çikolatalar eşliğinde kolaylaştıran ve onlarca veriyi sadece dakikalar içerisinde düzenleyebildiğine hep şaşırdığım ama bir o kadar da tekrar tekrar hayran kaldığım aynı zamanda bir abla olarak gördüğüm sevgili hocam Dr. Öğr. Üyesi Zehra Seda HALBUTOĞULLARI'na, gastronomi ve yurtdışı deneyimleriyle ilgili konuşmaktan büyük zevk aldığım, disiplin ve çalışma şevkine hep imrenerek baktığım kıymetli hocam Doç. Dr. Gökhan DURUKSU'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca koridorlarını ve laboratuarlarını evim gibi gördüğüm, her kutlamada pastaları büyük bir mutlulukla dilimlediğim, kendimi her zaman rahat hissettiğim ve deney sonuçlarını incelerken sihirli ucu bucağı olmayan bir dünya olarak gördüğüm, hep gözlerimin parlamasını ve heyecanlanmamı sağlayan hep güzelliklerle hatırlayacağım KÖGEM'in her bir laboratuarlarına ve KÖGEM çalışma arkadaşlarıma teşekkürü borç bilirim. Sizlerle iyi ki karşılaşma fırsatını yakalamışım. Bilgi birikimlerinizden faydalanabilme, ışığınızda yola devam edebilme fırsatı yakaladığım için hem büyük onur hem de büyük sevinç duymaktayım.

Bu yola "anca beraber kanca beraber" felsefesiyle çıktığım, özellikle eğitim konusunda hiç engellemeyen ve her zaman "Git gidebildiğin kadar kızım!" diyen, gerektiğinde benimle ülke bile değiştiren, benimle heyecanlanan, benimle üzülen, benimle ağlayan, benimle mutlu olan, canlarından öte olduğunu bildiğim, benim için ömürlerini ömrüme katan, dualarını ve iyi dileklerini hiçbir koşulda eksik etmeyen, çalışma masamdan ve çantamdan fotoğraflarını hiç eksik etmediğim sevgili aileme; üç günlük iken kucağına verildiğim ve amansız bir kalp krizi sonucu yitirdiğim çok sevdiğim, pamuk yüzlü anneannem Azime'ye, kısa bir süre önce kaybettiğim ve üzerinden ne kadar uzun süre geçerse geçsin hep kısa bir süre önce gibi hissedeceğim, her gün bir önceki günden daha çok özlediğim, eksikliğini hep hissettiğim ve hissedeceğim, her gün yüzlerce vesile ile

hatırladığım önce gözyaşlarımın süzüldüğü sonra gözlerimin tekrardan gülmesini sağlayan, ağızdan kelimeler dökülmeden de hep birbirimizi sevdiğimiz, desteklediğimiz ve birbirimizin arkasında olduğumuzu her zaman hissettiren, zamansız gidişi ile kalbimin bir çok noktasında aynı anda orman yangınları başlatarak "kor" kelimesini öğrendiğim ve her gün hissetiğim, bugüne kadar yazılmış şiirlerin hepsinin aksine bu hislerimin hiç kül olmasını istemeyecek kadar hasret kaldığım biricik çok sevdiğim, canımdan öte canım annem Şadiye'ye, her kötü günün, her düşüşün bizi birbirimize daha çok kenetlediği, beni her gün arayıp yemeğimi yiyip yemediğimi soran, her fırsatta benimle ne kadar çok gurur duyduğunu dile getiren çok sevdiğim dört yapraklı yonca olan çekirdek ailemin son üyesi bir tanecik babam Hasan Hüseyin'e hakkınızı hiçbir zaman ödeyemeyeceğimi bildiğim sayısız emekleriniz, özveriniz, sevginiz ve saygınız, destekleriniz için her ne kadar kelimelerin yetersiz kalacağını bilsem de gönülden çok ama çok teşekkür ederim.

"Kor" kelimesini yaşayarak anladığım bu deneyimimden önce ve sonra beni asla yalnız bırakmayan, her ihtiyacımda ben söylemeden yanımda hem kalben hem de fiziksel olarak bulunan, benden desteğini hiç ama hiç eksik etmeyen, ders çalıştığım, tez yazdığım süre boyunca beni motive etmek adına kendisini özellikle hayatta en çok sevdiğim şeyler arasında yer alan ev yapımı kekler başta olmak üzere gastromoni ve mutfak sanatları konusunda çok geliştiren, beraber gülüp, beraber ağladığımız, beraber emek verip, beraber hayatın her renginde yan yana yer almaktan büyük mutluluk duyduğum, gönlü gibi kendisi de güzel hayat arkadaşım, sesi güzel eşim Davut NÜRLÜGE'ye ve güzel ailesine duaları ve dilekleri için sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmamı, biraz gözyaşı ama çokça da tebessüm ve güzelliklerle hatırlayacağım, her zaman burnumda tütecek anneannem Azime YUSUFOĞLU ve annem Şadiye YUSUFOĞLU KARA başta olmak üzere babam Hasan Hüseyin KARA'ya ve yeni çekirdek ailem Davut NÜRLÜGE'ye adıyorum.

Haziran – 2022 Sema YUSUFOĞLU NÜRLÜGE

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN VE ARAŞTIRMA FONU DESTEĞİ i
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR iii
İÇİNDEKİLER v
ŞEKİLLER DİZİNİ vii
TABLOLAR DİZİNİ x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ xi
ÖZET xv
ABSTRACT xvi
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 6
2.1. Pankreas 6
2.1.1. Pankreasın Anatomisi 6
2.1.2. Pankreasın Genel Fizyolojik Özellikleri 8
2.1.2.1. Ekzokrin Pankreas 8
2.1.2.2. Endokrin Pankreas ve Hormonları 10
2.1.3. Glukoz Seviyesinin Periferik Dolaşımda Düzenlenmesi 18
2.2. Diyabetes Mellitus Tanımı, Tarihçesi ve Çeşitleri 20
2.2.1. Tip 1 Diyabetes Mellitus Tanımı ve Sınıflandırılması (Tip 1a ve Tip 1b) 25
2.2.2. Tip 1 Diyabetes Mellitus Epidemiyolojisi 26
2.2.3. Tip 1 Diabetes Mellitus Etiyolojisi (Genetik, İmmünolojik, Çevresel) 28
2.2.4. Tip 1 Diyabetes Mellitus Patogenezi 31
2.2.5. Tip 1 Diyabetes Mellitus Klinik Belirtileri ve Tanısı 32
2.2.6. Tip 1 Diyabetes Mellitus Akut Ve Kronik Komplikasyonlar 33
2.2.7. Tip 1 Diyabetes Mellitus Geleneksel Tedaviler 34
2.2.8. Tip 1 Diyabetes Mellitus Güncel Tedaviler 43
2.3. CTLA-4 ve Tip 1 Diabetes Mellitus 45
2.4. Resveratrol ve Tip 1 Diabetes Mellitus 55
2.5. Mezenkimal Kök Hücre (MKH) ve T1DM 65
2.6. Enkapsülasyon ve T1DM 83
3. MALZEME VE YÖNTEM 111
3.1. Deneylerin Tasarımı ve Deney Gruplarının Oluşturulması 111
3.2. Periferik Kan Gruplarının Toplanması 111
3.3. Diyabetik ve Sağlıklı İnsan Periferik Kan Kökenli MKH'lerin Saflaştırılması 112
3.3.1. Periferik Kan Kökenli MKH'lerin Karakterizasyonu 114
3.3.1.1. Akım Sitometri ile İmmünofenotipik Analizi 114
3.3.1.2. PK-MKH *in vitro* Adipojenik Farklılaştırma ve Oil Red-O Boyaması 115
3.3.1.3. PK-MKH *in vitro* Osteojenik Farklılaştırma ve Alizerin Red-S Boyaması 115
3.3.1.4. Farklılaşma Sonrası RT-PCR ile Gen İfade Analizi 117
3.4. Sağlıklı ve Diyabetik T Lenfosit Hücre Aktivasyonların Karşılaştırılması 118
3.5. β Hücre Döngüsü Kapasite Tayini 119

3.6. Çok Katmanlı Yapının Oluşturulması 120
3.7. ATP Sentez Tayin Analizi 121
3.8. Ortak Kültür 122
3.8.1. Ortak Kültür Sonrası Analizler 123
3.8.1.1. WST-1 (Water Soluble Tetrazolium-1) Analizi 123
3.8.1.2. ELİSA Analizi 123
3.8.1.3. İnsülin Salınım Analizi 124
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 125
4.1. Diyabetik ve Sağlıklı İnsan Periferik Kan Kökenli MKH'lerin Saflaştırılması 125
4.2. Periferik Kan Kökenli MKH'lerin Karakterizasyonu 128
4.2.1. Akım Sitometri ile İmmünofenotipik Analiz Sonuçları 129
4.2.2. PK-MKH *in vitro* Adipojenik Farklılaştırma Sonrası Oil Red-O Boyama Sonuçları 131
4.2.3. PK-MKH *in vitro* Osteojenik Farklılaştırma Sonrası Alizerin Red-S Boyama Sonuçları 133
4.2.4. Farklılaşma Sonrası RT-PCR ile Gen İfade Analiz Sonuçları 135
4.3. Sağlıklı ve Diyabetik T Lenfosit Hücre Aktivasyonların Karşılaştırılma Sonuçları 139
4.4. β Hücre Döngüsü Kapasite Tayin Sonuçları 141
4.5. Çok Katmanlı Yapının Oluşturulması 144
4.6. ATP Sentez Tayin Analiz Sonuçları 148
4.7. Ortak Kültür Sonrası Analizler 149
4.7.1. WST-1 (Water Soluble Tetrazolium-1) Analiz Sonuçları 149
4.7.2. ELİSA Analiz Sonuçları 151
4.7.3. İnsülin Salınım Analiz Sonuçları 160
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 164
KAYNAKLAR 167
EKLER 263
KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER 265
ÖZGEÇMİŞ 267

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. İnsan pankreası 6
Şekil 2.2. İnsan pankreası 7
Şekil 2.3. İnsan pankreas anatomisi 8
Şekil 2.4. Pankreasta bulunan Asinus yapısı 9
Şekil 2.5. Pankreas ekzokrin ve endokrin içeriği 11
Şekil 2.6. İnsülin sentezi ve sekresyonu 14
Şekil 2.7. İnsülin aminoasit dizilimi 14
Şekil 2.8. Hücrelerde insülinin etkisi (insülin reseptör uyarımı ve fosforilasyon kaskadı) 21
Şekil 2.9. CPI-DM oluşumu mekanizması 49
Şekli 2.10. CTLA-4 ve bağışıklık mekanizması 53
Şekil 2.11. (A) cis-resveratrol, (B) trans-resveratrol 56
Şekil 2.12. T1DM mekanizması ve resveratrolün rolü 62
Şekil 2.13. T1DM'nin mevcut ve önerilen tedavilerin şematik gösterimi, a) Standart tedavi, b) replasman tedavisi, c) MKH tedavisi 66
Şekil 2.14. T1DM oluşumundaki otoimmünite mekanizması 73
Şekil 2.15. HLA-G5 ve T1DM otoimmün mekanizması 74
Şekil 2.16. T1DM tedavisinda olası mezenkimal kök hücre mekanizması 76
Şekil 2.17. Adacıkların korunması ve beta hücre miktarının onarımı için MKH'lerin potansiyel tedavi edici mekanizmaları 82
Şekil 2.18. Farklı ölçeklerde adacık kapsülleme için mevcut biyomateryal tabanlı stratejiler. a) Makroenkapsülasyon. b) Mikroenkapsülasyon. c) Nanoenkapsülasyon 84
Şekil 2.19. Günümüze kadar gerçekleştirilmiş adacık kapsülleme ve transplantasyon şeması 85
Şekil 2.20. Adacık enkapsülasyonuna genel bir bakış ve klinik denemelerindeki makroenkapsülasyon cihaz örnekleri, a) İntravasküler ve ekstravasküler adacık enkapsülasyon yöntemleri, b) TheraCyte™, c) bAir (beta-O_2 Technologies), d) PEC-Encap™ (Viacyte) 87
Şekil 2.21. Hücrelerin makroenkapsülasyondaki grafiksel gösterimi 88
Şekil 2.22. Kapsüllenmiş bir adacığın şematik diyagramı 96
Şekil 2.23. 3D enkapsülasyonun şematik diyagramı 101
Şekil 3.1. Deney basamakların *in vitro* koşullarda şematik gösterimi 113
Şekil 3.2. Gradyan santrifüj yöntemi ile PK-MNH izolasyonu 114
Şekil 3.3.: iKİ-MKH, sPK-MKH ve dPK-MKH adipojenik farklılaştırma deney planı 116
Şekil 3.4. iKİ-MKH, sPK-MKH ve dPK-MKH osteojenik farklılaştırma deney planı 116
Şekil 3.5. β hücrelerin kapasite tayininde hücrelerin ortak kültür düzeneğinin şematik gösterimi 119
Şekil 4.1. PK-MKH izolasyon basamakları 126
Şekil 4.2. PK-MKH pasajlama, dondurma, çözme ve hücreleri ekme basamakları 127
Şekil 4.3. iPK-MKH izolasyon sonrası saflaştırılması süresince alınan görüntüleri (Olympus, IX71). A,B,C,D ve E sPK-MKH hücre

kültürüne aittir (ölçek çubuğu 100 µm ve 500 µm), F,G,H,I ve J dPK-MKH hücre kültürüne aittir (ölçek çubuğu 100 µm ve 500 µm). A ve F: P0G1, B ve G: P1G3, C: P2G2, H: P3G4, D:P3G5, I: P4G6, E:P5G4. 128
Şekil 4.4. iKİ-MKH'lerin akım sitometri ile immünfenotipik analiz sonucu 130
Şekil 4.5. sPK-MKH'lerin akım sitometri ile immünfenotipik analiz sonucu 130
Şekil 4.6. dPK-MKH'lerin akım sitometri ile immünfenotipik analiz sonucu 131
Şekil 4.7. iKİ-MKH, sPK-MKH ve dPK-MKH adipojenik farklılaşma sonrası Oil Red-O boyama görüntüleri 132
Şekil 4.8. iKİ-MKH, sPK-MKH ve dPK-MKH osteojenik farklılaşma sonrası Alizerin Red-S boyama görüntüleri 133
Şekil 4.9. sPK-MKH tam panel akım sitometrisi ve CD106 yüzde oranı 134
Şekil 4.10. dPK-MKH tam panel akım sitometrisi ve CD106 yüzde oranı 135
Şekil 4.11. Farklılaşma sonrası iKİ-MKH, sPK-MKH ve dPK-MKH'lerin RT-PCR öncesi hücre kültür görüntüleri 137
Şekil 4.12. RT-PCR analizi sonucu iKİ-MKH, dPK-MKH ve sPK-MKH'lerin adipojenik ve osteojenik farklılaşma sonrası eksprese ettikleri gen düzeyleri 138
Şekil 4.13. iKİ-.MKH, sPk-MKH ve dPK-MKH'ler için adipojenik farklılaştırma sonrası RT-PCR analiz sonuçları 138
Şekil 4.14. iKİ-.MKH, sPk-MKH ve dPK-MKH'ler için osteojenik farklılaştırma sonrası RT-PCR analiz sonuçları 138
Şekil 4.15. sPK ve dPK bulunan CD4+ ve CD8+ T lenfosit hücre oranları 140
Şekil 4.16. Sağlıklı ve diyabetik periferik kanda bulunan T hücre aktivite durumlarının dışarıdan uyaran verilmeden sinyal yolakları üzerinden karşılaştırılma analizi 142
Şekil 4.17. Hücre döngüsü analiz (Cell Cycle Analysis) tayini ile apoptotik hücrelerin görüldüğü Sub-G1 143
Şekil 4.18. Çok katmanlı yapının içerisinde ve ortak kültüre berber alınan hücrelerin görüntüleri 146
Şekil 4.19. Çok katmanlı yapının in vitro koşullarda yapım aşamaları 147
Şekil 4.20. Oluşturulan çok katmanlı yapının katmanlarının hücre kültür görüntüleri 147
Şekil 4.21. Hücre kültürü koşullarında (*in vitro*) kontrol ve deney gruplarının ATP sentez tayin analiz sonuçları 148
Şekil 4.22. Ortak kültür sonrası deney gruplarının (iKİ-MKH, sPK-MKH ve dPK-MKH'leri içeren ÇKE yapı + CTLA-4 + RSVL) birinci, dördüncü, yedinci, on beşinci ve otuzuncu günlerdeki WST-1 analiz verileri sonucu canlılık oranlarının grafik görüntüsü 150
Şekil 4.23. Ortak kültür sonrası birinci, dördüncü, yedinci, on beşinci ve otuzuncu günlerde kontrol ve deney gruplarınından salınan TGF-β1 düzeyleri 152
Şekil 4.24. Ortak kültür sonrası birinci, dördüncü, yedinci, on beşinci ve otuzuncu günlerde kontrol ve deney gruplarınından salınan TNF-α düzeyleri 154
Şekil 4.25. Ortak kültür sonrası birinci, dördüncü, yedinci, on beşinci ve

otuzuncu günlerde kontrol ve deney gruplarınından salınan IL-2 düzeyleri 155
Şekil 4.26. Ortak kültür sonrası birinci, dördüncü, yedinci, on beşinci ve otuzuncu günlerde kontrol ve deney gruplarınından salınan IL-12 düzeyleri 157
Şekil 4.27. Ortak kültür sonrası birinci, dördüncü, yedinci, on beşinci ve otuzuncu günlerde kontrol ve deney gruplarınından salınan IL-1β düzeyleri 158
Şekil 4.28. Ortak kültür sonrası birinci, dördüncü, yedinci, on beşinci ve otuzuncu günlerde kontrol ve deney gruplarınından salınan IFNγ düzeyleri 159
Şekil 4.29. Ortak kültür sonrası kontrol ve deney gruplarının düşük ve yüksek konsantrasyonlarda insülin salınım seviyeleri 161
Şekil 4.30. Çok katmanlı yapıların işlevselliği hakkında yapılan ön çalışmada CTLA-4, RSVL ve diyabetik T hücreler ile ortak kültür sonrası 1, 4 ve 7.günde ELİZA yöntem yardımı ile 5.5 mmol/L ve 25 mmol/L glukoz konsantrasyonları karşısında besiyer ortamına salgıladıkları insülin seviye verileri..... 163

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Pankreatik adacıklarda (Langerhans adacıkları) bulunan hücre tipleri 10
Tablo 2.2. Diyabetin sınıflandırılması 23
Tablo 2.3. Çocuklarda ve adolesanlarda diyabet tiplerinin temel özellikleri 23
Tablo 2.4. Aile öyküsünde diyabet varlığı ve tip 1 diyabet riski ilişkisi 28
Tablo 2.5. Çeşitli HLA genlerin tip 1 diyabete yatkınlık veya koruyuculuk ile ilişkileri 29
Tablo 2.6. Ailede diyabet öyküsü ve HLA grubuna göre tip 1 diyabet risk oranları 29
Tablo 2.7. Tip 1 diyabette otoantikorların pozitif çıkma düzeyi 31
Tablo 2.8. Bazal ve bolus insülin türleri ve organizmadaki etki süreleri 35
Tablo 2.9. Hazır karışım insülin türleri ve organizmadaki etki süreleri 36
Tablo 2.10. Tip 1 diyabetli hastalarda kan glukoz düzeyine göre egzersiz uygulamaları 39
Tablo 2.11. Klinik çalışmalardaki enkapsülasyon faz çalışmaları 91
Tablo 3.1. RT-PCR analiz grupları 117
Tablo 3.2. RT-PCR'da kullanılan genlere ait primer baz dizilimleri 118
Tablo 3.3. Kit içeriğindeki antikorların hedeflediği proteinler 119
Tablo 3.4. Hücre döngüsü kapasite tayin analiz grupları 120
Tablo 3.5. ATP sentez tayin analiz grupları 122
Tablo 3.6. WST-1 analiz grupları 123
Tablo 3.7. ELİSA analiz grupları 124
Tablo 3.8. İnsülin salınım analiz grupları 124
Tablo 4.1. iKİ, sPK, dPK-MKH'lerinin ve diyabetik T hücrelerin ortak kültür öncesi ve sonrası beta hücreleri üzerindeki hünce döngü analiz tayin tablosu 145

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Derece Santigrat
µl veya µL	: mikrolitre
µm	: mikrometre
♀	: Erkek
♂	: Kadın
$BaCl_2$	: Baryum Klorür
Ca^{2+}	: Kalsiyum
Cm^2	: santimetre kare
dl	: desilitre
gr	: gram
K^+	: Potasyum
kg	: Kilogram
mg	: miligram
ml veya mL	: mililitre
mmol	: Milimol
ng	: nanogram
nm	: nanometre
pH	: Pondus Hydrogenii / Power of Hydrogen (Hidrojen Miktarı)
α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gama
δ	: Delta
ε	: Epsilon
µM	: Mikromolar

Kısaltmalar

1.1B4	: İnsan Pankreatik Beta Hücre Hattı
2D	: Two-Dimensional (İki Boyutlu)
3D	: Three-Dimensional (Üç Boyutlu)
ADFP	: Adipose differentiation-related protein (Adipojenik Farklılaşma ile İlişkili Protein)
ALS	: Amyotrofik Lateral Skleroz
Ang-1	: Anjiyopoietin-1
ANXA1	: Annexin A1
AR-GE	: Araştırma ve Geliştirme
ASH	: Antijen Sunan Hücre
ATP	: Adenozin Trifosfat
BMP-2	: Bone Morphogenetic Protein-2 (Kemik Morfogenetik Proteini-2)
CAV-1	: Caveolin-1
CPI	: Immune Checkpoint Inhibitor
CPI-DM	: Immune Checkpoint Inhibitor Induced Diabetes Mellitus (Bağışıklık Kontrol Noktası İnhibitör Kaynaklı Diabetes Mellitus
cSMAC	: İmmün Sinapsların Merkezi Supramoleküler Aktivasyon Kümeleri
CTLA-4	: Cytotoxic T lymphocyte antigen-4 (Sitotoksik T lenfosit antijeni-4)
ÇKE	: Çift Kat Enkapsülasyon

ÇKY	: Çok Katmanlı Yapı
d	: Diyabetik
DC	: Dentritik Hücre
DFU	: Diabetic Foot Ulcer (Diyabetik Ayak Ülseri)
DKA	: Diyabetik Ketoasidoz
DM	: Diabetes Mellitus
dMNH	: Diyabetik Mononükleer Hücreler
DNA	: Deoxyribonucleic Acid (Deoksiribonükleik Asit)
DPBS	: Dulbecco's Phosphate Buffered Saline Phosphate Buffered Saline – (Dulbecco'nun Fosfat Tamponlu Tuzlu Suyu)
dPK-MKH	: Diyabetik Periferik Kan Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre
ECM	: Extracellular Matrix (Ekstrasellüler Matriks)
EGF	: Epidermal Growth Factor (Epidermal Büyüme Faktörleri)
EKH	: Embriyonik Kök Hücre
F	: Pankreatik Polipeptid Hücre
FACS	: Fluorescence Activated Cell Sorting (Floresan İşaretli/Aktifleştirilmiş Hücre Seçimi)
FBR	: Foreign Body Reaction (Yabancı Cisim Reaksiyonu)
FBS	: Fetal Bovin Serum (Fetal Sığır Serumu)
FGF	: Fibroblast Growth Factor (Fibroblast Büyüme Faktörü)
FGF-2	: Fibroblast Growth Factors-2 (Fibroblast Büyüme Faktörü-2)
G	: Gün
GAD	: Glutamic Acid Decarboxylase (Glutamik Asit Dekarboksilaz)
GFP	: Green Fluorescent Protein (Yeşil Floresan Protein)
GLP-1	: Glucagon-like Peptide-1 (Glukagon Benzeri Peptid-1)
GLP-2	: Glucagon-like Peptide-2 (Glukagon Benzeri Peptid-2)
GLUT	: Glucose Transporter (Glukoz Taşıyıcı Proteinler Grubu)
HAEC	: İnsan Amniyotik Epitel Hücreleri (HAEC-Human Amniotic Epithelial Cells)
HAM	: Human Amniotic Membrane
HbA1c	: Hemoglobin A1c
HEK293	: İnsan Endoderm Böbrek Hücre Hattı
HGF	: Hepatocyte Growth Factor (Hepatosit Büyüme Faktörü)
HLA	: Human Leucocyte Antigen (İnsan Lökosit Antijeni)
HO-1	: Heme Oxygenase-1 (Heme Oksijenaz-1)
IAPP	: Adacık Amiloid Polipeptidi
IBD	: İnflamatuar Bağırsak Hastalıkları
ICA	: Islet Cell Antibody (Adacık Hücre Antikoru)
ICOS	: inducible co-stimulatory molecule (indüklenebilir yardımcı uyarıcı molekül)
IEQ	: Islet Equivalent (adacık eşdeğeri)
IFN-γ (IFN-g)	: İnterferon Gama
INS1	: İnsülin 1 Geni
INS2	: İnsülin 2 Geni
ISCT	: International Society for Cell and Gene Therapy (Uluslararası Hücresel Tedavi Derneği)
ITS	: Insulin-Transferrin-Selenium
i	: İnsan, insan kaynaklı

iPSC	: Induced Pluripotent Stem Cell (Uyarılmış Pluripotent Kök Hücre)
irAE	: Immune-Related Adverse Events (Bağışıklıkla İlgili Advers Olaylar)
KGF	: KGF Growth Factor (Keratinosit Kaynaklı Büyüme Faktörleri)
Kİ-MKH	: Kemik İliği Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre
LDL	: Low Density Lipoprotein (Düşük Yoğunluklu Lipoprotein)
LEPR	: Leptin Reseptörü
MCP1	: Monosit Kemotaktik Proteini 1
MHC	: Majör Histokompatibilite Kompleksi
miRNA	: MikroRNA
MKH	: Mezenkimal Kök Hücre
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
MMTT	: Mixed Meal Tolerance (Karışık Yemek Tolerans Testi)
MNH	: Mononükleer Hücre
NK	: Natural Killer Cell (Doğal Öldürücü Hücre)
NOD	: Non-Obese Diabetic (Obez Olmayan Diyabetik)
OPN	: Osteopontin
P	: Pasaj
PBS	: Phosphate Buffered Saline (Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi)
PDGF	: Platelet-Derived Growth Factor (Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörleri)
PDL	: Population Doubling Level (Popülasyonun İkiye Katlanma Seviyesi)
PEG	: Polietilen Glikol
PK-MKH	: Periferik Kan Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre
PLG	: Poly(Lactide-Co-Glycolide) (Poli(Laktik-Ko-Glikolik Asit))
PLL	: Poli-L-Lisin
PP	: Pankreatik Polipeptid Hücre
RA	: Romatoid Artrit
RCP	: Rekombinant Peptitlerden
RGD	: Tripeptide Arg-Gly-Asp (Arginin-Glisin-Aspartik Asit)
RNA	: Ribonucleic Acid (Ribonükleik Asit)
RPMI-1640	: Roswell Park Memorial Institute-1640
RSVL	: Resveratrol
RT-PCR	: Real-Time Polymerase Chain Reaction (Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
s	: Sağlıklı
SCID	: Severe Combined Immunodeficient (Ağır Kombine İmmün Yetmezlik)
SI	: Stimülasyon İndeksi
SLE	: Sistemik Lupus Eritematozus
SOD	: Superoxide Dismutase (Süperoksit Dismutaz)
sPK-MKH	: Sağlıklı Periferik Kan Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre
STZ	: Streptozotosin
T1DM	: Tip 1 Diabetes Mellitus
T2DM	: Tip 2 Diabetes Mellitus
TGFB	: Thrombocyte-Derived Growth Factor (Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörleri)
TGF-β	: Transforming Growth Factor Beta (Dönüştürücü Büyüme Faktörü-Beta)

TGF-β1	: Transforming Growth Factor Beta 1 (Dönüştürücü Büyüme Faktörü-Beta 1)
Th1	: Tip 1 Yardımcı T Hücresi
TNF	: Tümör Nekroz Faktörü
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktörü Alfa
uPKH	: Uyarılmış Pluripotent Kök Hücre
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü)
WST-1	: Water Soluble Tetrazolium-1 (Suda Çözülen Tetrazolium-1)
β-actin	: βeta-Aktin

DENEYSEL SIÇAN PANKREATİK BETA HÜCRESİ HASAR MODELİNDE CTLA-4 PROTEİNİ İLE MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERİN SİNERJİK ETKİSİNİN POTANSİYEL TEDAVİ STRATEJİLERİNDEKİ ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Tip 1 Diabetes Mellitus (T1DM), immün atakların aracılık ettiği beta hücre destrüksiyonu sonucu gelişen mutlak insülinopeni ve hiperglisemiyle karakterize, kronik ve metabolik bir hastalıktır. Bu nedenle T1DM hastaları yaşamları süresince dışarıdan insülin hormon takviyesi alarak kanda bulunan glukoz miktarını dengelemeleri gerekmektedir. Tez çalışmasında hücre kültür ortamında, ilk defa üretilen çok katmanlı yapıların pankreatik beta hücreleri üzerindeki koruyucu etkileri ile ortama ne miktarda insülin salgıladıkları araştırılarak potansiyel rejeneratif özelliklerinin incelenmesi amaçlandı. Bu amaç doğrultusunda ilk olarak Kocaeli Üniversitesi Araştırma Etik Kurulu'undan alınan KÜ GOKAEK-2021/21.01 numaralı izin sonrası sağlıklı (s) ve T1DM gönüllülerden periferik kan (PK) örnekleri alınarak 2 ayrı havuzda toplandı. Havuzlardan mezenkimal kök hücre (MKH), CD4+ ve CD8+ T lenfosit hücreleri ve mononükleer hücre eldeleri gerçekleştirildi. Gerekli karakterizasyon basamakları sonrası baryum aljinat ve CTLA-4 ile doku mikroçevresinin taklit edilmesi için üç boyutlu, çok katmanlı yapılar oluşturuldu. Hücre kültürü ortamda diyabetik PK kaynaklı mononükleer hücrelerle, *in vitro* ortamda *in vivo*'ya en yakın beta hücre destrüksiyon modeli oluşturulduktan sonra çok katmanlı yapının 10 μM/ml resveratrol (RSVL) içeren besiyer ile aynı ortamda muamelesi sonucu pankreatik beta hücreleri üzerindeki koruyucu etkileri, yapının dayanıklılık kapasitesi, insülin, pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar sitokin salgılama seviyeleri ELİSA ile ölçüldü ve deney grupları karşılaştırılmalı olarak incelendi. Bulgularda CTLA-4 ve RSVL'ün beraber kullanıldığı ortak kültür grubunun daha erken ve daha fazla insülin difüzyonu sağladığı, beta hücrelerini korumada sPK-MKH ve iKİ-MKH (insan kemik iliği kaynaklı MKH) çok katmanlı yapıların yakın değerlere sahip oldukları ve dPK-MKH'li (diyabetik PK kaynaklı MKH) çok katmanlı yapılarının da diğer gruplar kadar başarılı bir tablo sergiledikleri gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Enkapsülasyon, Mezenkimal Kök Hücre, Resveratrol, Tip 1 Diabetes Mellitus, T Lenfosit Hücreler.

INVESTIGATION OF THE ROLE OF SYNERGISTIC EFFECT OF CTLA-4 PROTEIN AND MESENCHYMAL STEM CELLS IN POTENTIAL TREATMENT STRATEGIES IN EXPERIMENTAL RAT PANCREATIC BETA CELL DAMAGE MODEL

ABSTRACT

Type 1 Diabetes Mellitus (T1DM) is a chronic and metabolic disease characterized by absolute insulinopenia and hyperglycemia resulting from beta cell destruction mediated by immune attacks. Therefore, T1DM patients need to balance their blood glucose levels by taking insulin throughout their lives. The thesis study aimed to investigate the potential regenerative properties of the multilayered structures produced for the first time in cell culture by investigating the protective effects on pancreatic beta cells and the insulin levels they secrete into the medium. For this purpose, peripheral blood (PB) samples were taken from healthy (h) and T1DM volunteers (d) and collected in two separate pools after the permission numbered KÜ GOKAEK-2021/21.01, obtained from the Kocaeli University Research Ethics Committee. Mesenchymal stem cells (MSC), CD4+ and CD8+ T lymphocyte cells, and mononuclear cells were obtained from the pools. After the necessary characterization steps, three-dimensional, multilayered structures were created to mimic the tissue microenvironment with barium alginate and CTLA-4. After the formation of the closest beta cell destruction model to in vivo with diabetic PB-derived mononuclear cells in the cell culture medium, as a result of treating the multilayered structure with a medium containing 10 μM/ml resveratrol (RSVL) in the same medium, protective effects on pancreatic beta cells, the durability capacity of the structure, insulin, pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokine secretion levels were measured by ELISA, and experimental groups were compared. The findings, it was observed that the co-culture group in which CTLA-4 and RSVL were used together provided earlier and more insulin diffusion, multilayered structures of hPB-MSC and human BM-MSC (bone marrow-derived MSC) had relative values of protecting beta cells, and it was observed that the multilayered structures with dPB-MSC (diabetic peripheral blood-derived MSC) were successful as the other groups.

Keywords: Encapsulation, Mesenchymal Stem Cell, Resveratrol, Type 1 Diabetes Mellitus, T Lymphocyte Cells.

1. GİRİŞ

Diabetes Mellitus (DM, diyabet) endojen insülinin; periferik etkisizliği, mutlak veya göreceli eksikliği sonucu gelişen, akut ve kronik komplikasyonların eşlik etmesiyle yaşam boyu süren bir hastalıktır. Diğer bir deyişle diyabet, pankreasta bulunan beta hücrelerinin yükselen kan şekerini dengeleyecek yeterli miktarda insülin hormonu üretememesi ya da salgıladığı insülin hormonunun etkisiz kalması durumunda gelişen metabolik bir hastalıktır. Diyabet dünyada görülme sıklığı ve ölüm nedenleri listelerinde en üst sıralarda yer almaktadır (Abacı ve diğ., 2007; Dinççağ ve diğ., 2011; İmamoğlu ve Özyardımcı Ersoy, 2009; Norris ve diğ., 2011; URL-1). DM etiyolojik açıdan sınıflandırıldığında; tip 1 DM, tip 2 DM, gestasyonel DM ve diğer spesifik tip DM`ler (beta hücre işlevinde genetik defekt kaynaklı diyabet, insülin işlevinde genetik defekt kaynaklı diyabet, enfeksiyon kaynaklı diyabet, ilaç ve kimyasal kaynaklı diyabet, ekzokrin pankreas hastalıkları kaynaklı diyabet, endokrinopati kaynaklı diyabet, yaygın olmayan form immünite ilişkili diyabet ve diğer genetik sendromlarla ilişkili diyabet) olmak üzere 4 ana başlık altında toparlanmaktadır (American Diabetes Association, 2014; Sperling, 2003).

T hücrelerinin aracılık ettiği pankreasta insülin üretiminde görev alan beta hücrelerinin hasar görmeleri sonucu gelişen mutlak insülinopeni ve hiperglisemi ile karakterize kronik ve metabolik bir hastalık olan tip 1 DM sıklıkla çocukluk yaş grubunda görülmektedir (Alemzadeh ve Wyatt, 2004; Atkinson, 2001; Fiallo-Scharer ve Eisenbarth, 2004; Gillespire, 2006; Haller ve Atkinson, 2005; Pietropaolo ve diğ., 2008). Tip 1 diyabetli bireylerde T ve B hücrelerinin aracılık ettiği immün sistemin normal olmayan etkinliği sonucu gelişen bir insülitis tablosudur (Atkinson, 2012; Bluestone ve diğ., 2010; Graham ve diğ., 2012; Orales ve diğ., 2004; She ve Marron, 1998).

Tip 1 diyabet hastaları yaşamları süresince dışarıdan insülin hormonu takviyesi alarak kan şekerlerini dengelemek zorundadırlar. Tedavi edilmediği takdirde de hastalarda akut dönemde diyabetik ketoasidoz, diyabetik hiperosmolar veya hiperglisemik komaya girebildikleri gibi uzun dönemde kalp, böbrek hastalıkları, görme kusurları, inme gibi birçok komplikasyon gelişebilmektedir. Tip 1 diyabetin başlıca nedenleri genetik yatkınlık ve bir antijene maruz kalma sonucunda otoimmünitenin gelişmesiyle oluşan

beta hücre hasarıdır (Bakay ve diğ., 2013; Bonifacio, 2015; Ikegami ve diğ., 2011; Lee, 2014; Thomas ve Gitelman, 2013; Ziegler ve Nepom, 2010).

Mezenkimal kök hücreler (MKH), klinikte kullanım alanı bulmuş yetişkin tip kök hücreleridir. Hedef bulma (homing) özellikleri, hasar onarıcı ve bağışıklık sistemi üzerine düzenleyici etkilerinin olması başta hücresel tedaviler olmak üzere birçok hastalık tedavisinde kullanılabileceği önerilmiştir (Can, 2014; Hashemian ve diğ., 2015; İnan ve Özbilgin, 2011; Karaöz ve Ovalı, 2004). MKH'lerin majör histokompatibilite kompleks (MHC) sınıf antijenlerini içermiyor olması ve allojenik nakillerde immunolojik reaksiyon geliştirme risklerinin oldukça az olması, gelecekte tip 1 diyabetin potansiyel radikal tedavi protokollerinin uygulanabilirliğini olası kılmaktadır (Atkinson ve diğ., 2011; Lock ve diğ., 2007, 2014; Nolta, 2006).

Resveratrol (3,5,4′-trihydroxy-trans-stilbene) bitkilerde doğal olarak oluşan antimikrobiyal ve antifungal etkili (fitoaleksin) bileşiktir. İlk kez 1939 yılında *Veratrum grandiflorum* bitkisinden elde edilmiş olup günümüzde üzüm, elma, ahududu, yaban mersini, antep fıstığı, erik, yer fıstığı gibi bitki ve meyvelerden elde edilebilmektedir. Anti-oksidan, anti-kanser, anti-apoptotik gibi etkileri nedeniyle araştırmalarda kullanılmaktadır (Joseph ve diğ., 2006; Minakawa ve diğ., 2012; Rahal ve diğ., 2012).

Sitotoksik T lenfosit antijeni-4 (CTLA-4) günümüzde CD152 olarak bilinmekle beraber T düzenleyici hücreler (T regülatör hücreler) tarafından salgılanır ve bağışıklık kontrol noktası olarak immün sistem yanıtlarını baskılamakla görevlidir (Saverino ve diğ., 2010).

Tip 1 diyabetli bireylere günümüz tedavisinde bulguların iyileştirilmesi, akut ve kronik komplikasyonların önlenmesi ve yaşam kalitesinin yükseltilmesi için dışarıdan alınan insülin hormunu ile beraber diyet ve egzersiz uygulanmaktadır (Cannata ve diğ., 2020; Colberg ve diğ., 2021; Hopkins ve diğ., 2020). Eksojen insülin, tip 1 diyabetli bireylerin yaşam kalitelerine göre enjeksiyon veya insülin pompası (devamlı derialtı insülin) ile alınılabilmektedir (Bolli, 2006; Rosenstock ve Del Prato, 2022; Weintrob ve diğ., 2004; Willi ve diğ., 2003). İnsülin tedavisinin amacı fizyolojik metabolizmanın taklit edilmesi ile beraber açlık ve postprandiyal (yemek sonrası) kandaki glukoz değerlerinin kontrol altında tutulması ve HbA1c (glikolize hemoglobin) düzeyinin sağlıklı sınırlarına

indirgenmesidir. İnsülin enjeksiyonu ve devamlı derialtı enjeksiyon ile tip 1 diyabet tedavisinde ve ileri dönemlerde oluşabilecek komplikasyonların önlenmesi sağlanırken bu tedavilerin en önemli dezavantajı ise tedavi sırasında iyi ayarlanamayan dozlar nedeni ile yaşanabilecek hipoglisemik veya hiperglisemik durumlar, diyabete bağlı gelişen komplikasyonlar ve tüm bu nedenlerle ilişkili ölümlerdir. Bu durumların önüne geçilebilmesi için bireylerin diyabet, beslenme, egzersiz ve sağlık kontrolleri hakkında bilgilendirilmeleri, düzenli doktor ve günlük kan şekeri ölçümü gibi kontrol mekanizmaları oluşturulması ve bireylerin bu mekanizmaya katılımları ile bu süreçteki devamlılıklarının kendi kendilerine gerçekleştirilebilecek bilince ulaşılması gereklidir.

Son 30 yıllık dönemde biyoteknoloji, biyomühendislik ve doku mühendislik bilim alanlarının gelişimi, kök hücrelerin farklılaşma özelliğinden yararlanılması ile adacık ve beta hücre nakillerinin gerçekleşmesini sağlamıştır (Corrêa-Giannella ve diğ., 2009; Grigore ve diğ., 2010; Pathak ve diğ., 2016; Poradzka ve diğ., 2013). Ancak tek transplantasyonda birden fazla sayıda donör gerekliliği, dönor sayılarındaki yetersizlik, bağışık baskılayıcı ilaçların kullanılma zorunluluğu ve yan etkileri ile beraber gerek erişkin kök hücre (mezenkimal kök hücre; MKH) gerekse embriyonik kök hücrelerden (EKH) laboratuvar koşullarda birebir aynı fonksiyonda pankreatik beta hücresi eldesinin başarılamamış olması, bireylerde otoimmün atakların devam etmesi deneysel tedavilerin genel uygulanan yöntemler haline dönüşmesini zorlaştırmaktadır (Senior ve Pettus, 2019; Welsch ve diğ., 2019). Son dönemlerde yapılan AR-GE (araştırma ve geliştirme) çalışmalarında immün sistemin yeniden programlanması, biyoteknoloji ve hücre mühendisliği yardımıyla işlevsel beta hücre eldesi ve immünolojik aşılar, doku mühendisliği ve malzeme mühendisliği yardımı ile transplantasyon sonrası hücrelerin immün ataklardan korunması ve hücrelerin maksimum süre işlevlerini sürdürebilmesi, nanoteknoloji ve biyomalzeme mühendisliği yardımıyla beta hücrelerin tekrardan yerine konulabilmesi üzerinde durulmaktadır.

Uzun yıllar boyunca tip 1 diyabetle yaşamını sürdüren insanların otopsi materyallerinde yapılan histolojik incelemelerde insülin üreten hücrelerin saptanması, tip 1 diyabet hastalarının pankreaslarında beta hücre yapımının devam etmekte olduğunu ve yapım-yıkım dengesinin yıkım lehinde olması nedeniyle diyabetin klinik sonuçlarının ortaya çıktığını düşündürmektedir (Atkinson ve diğ., 2020; Butler ve diğ., 2007; Di

Gialleonardo ve diğ., 2012; Gepts, 1965; Gepts ve De Mey, 1978; Junker ve diğ., 1977; Kloppel ve diğ., 1984; Matveyenko ve Butler, 2008). Bu bulgular doğrultusunda araştırmacılar, tip 1 diyabetin potansiyel radikal tedavilerinde, otoreaktif hücrelerin beta hücrelerine karşı otoimmün ataklarının durdurulmasına öncelik verilmesinin önemini ve gerekliliğini savunmaktadırlar. Tip 1 diyabetin patogenezinde temel olarak üç biyolojik ana unsur yer almaktadır. Bunlar; beta hücreleri, antijen sunan hücreler (ASH) ve bağışık yanıt hücreleridir (CD4+ ve CD8+ T hücreleri, B hücreleri, doğal öldürücü hücreler (natural killer, NK) ve makrofajlar) (Paschou ve diğ., 2018; Szablewski, 2014; Toren ve diğ., 2021). Beta hücre destrüksiyonu süresince en aktif görev alan hücreler ise ASH ve T hücreler olup gelecekte tip 1 diyabetin kesin tedavisinde özellikle bu iki hücre türünün spesifik olarak beta hücrelerine olan ataklarının durdurulması önemlidir.

Günümüzde tip 1 diyabetin henüz radikal bir tedavisi bulunmamakla beraber dünya çapında sayısız araştırmacı kesin tedavi için çalışmalarını sürdürmektedir. Her geçen gün kalıcı tedaviler için katedilen gelişmelere rağmen tip 1 diyabetli bireylerin hayatlarını sosyal-ekonomik, psikolojik ve ileride oluşabilecek potansiyel akut veya kronik komplikasyonlar açısından olumsuz etkilemektedir. Dolayısıyla tip 1 diyabet ile yaşamını sürdüren bireyler hayat standartlarını, olabilecek en az ekonomik gereksim ile yükseltmeye ihtiyaç duymaktadır. Öte yandan mezenkimal kök hücreler, tıp dünyasında birçok hastalığın tedavisinde başarılı olarak kullanılmasına rağmen tip 1 diyabet için kesin bir tedavi yöntemini henüz oluşturmamaktadır.

Tez çalışmasında elde edilen verilerle biyoteknolojinin, mezenkimal kök hücreler ile beraber multidisipliner bir çalışma olması ve tip 1 DM açısından literatürde bulunan araştırmalara yeni bir bakış açısı kazandırması amaçlandı. Özellikle mezenkimal kök hücrelerin eldesinde non-invaziv bir yöntem olan adlandırılan periferik kan kaynaklı mezenkimal hücreler kullanılacak olması ve periferik kan kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin daha önce tip 1 DM kullanılmamış oluşu, tip 1 DM hastalığının gelecekte biyoteknoloji tabanlı radikal tedavilerin geliştirilmesi adına yenilikçi bakış açılarının kazandırılmasına önem verildi.

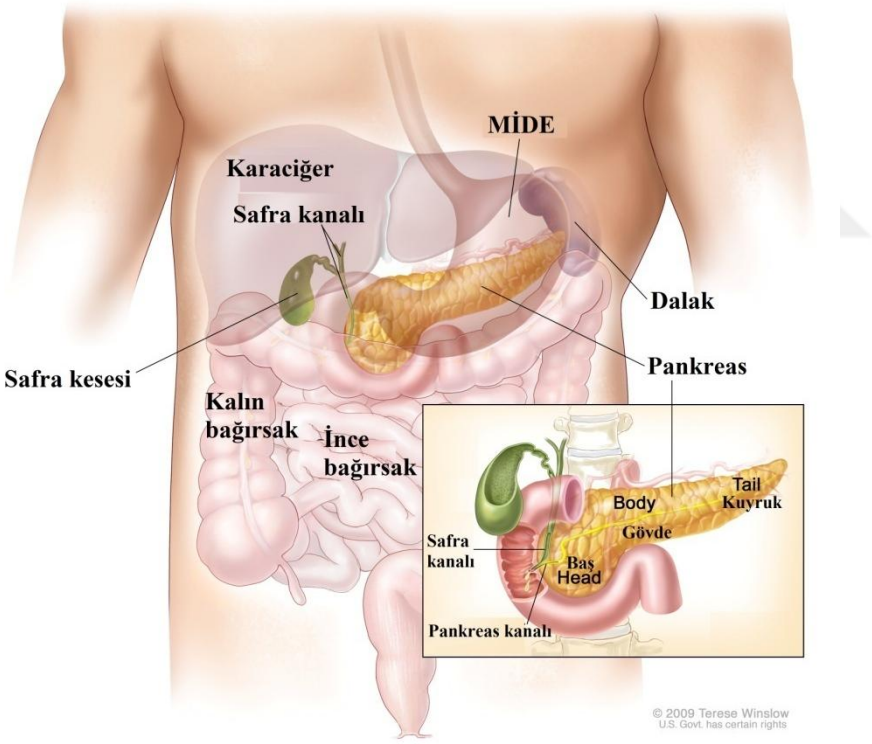
Bütün bu bilgiler ışığında tez çalışmasında, PK-MKH kullanarak doku mikroçevresinin taklit edilmesi ve çok katmanlı iskeletin bu hücre türü ile pankreatik beta hücrelerinin üremesi ve fonksiyonlarını gerçekleştirebilmesini sağlayabilmek için zenginleştirilmesi,

oluşturulan yapının resveratrol ve CTLA-4 proteini desteğiyle immün ataklara direnç göstermesi, ortamdaki glukoz miktarının artmasıyla insülin difüzyonu gerçekleştirmesi ve maksimum süre ortamda bozulmadan kalarak işlevini sürdürebilmesi adına mümkün olduğunca bozunurluk özelliğinin ertelenmesi amaçlandı. PK-MKH, resveratrol ve CTLA-4 protein kombinasyonunun bağışıklık düzenleyici etkileri incelendi ve *in vivo* ortamdaki pankreatik beta hücre destrüksiyonunun *in vitro*'da gerçeğine en yakın ve en doğalını gerçekleştirmek adına literatürde daha önce kullanılmayan ve bu tez çalışmasında ilk defa kullanılan diyabetik periferik kan kaynaklı mononükleer hücreler ile gerçekleştirildi. Elde edilecek veriler ışığında ilk defa üretilen çok katmanlı yapının pankreatik beta hücrelerini immün sistem yanıtlarına karşı korunma işlevinde ne derece ve ne kadar süre ile rejeneratif özelliklerinin sürdürülebileceği incelendi. Çok katmanlı yapının göstermiş olduğu dayanıklılık ve insülin difüzyonu verileri aracılığıyla elde edilen MKH grupları arasında karşılaştırılması yapıldı. Bu amaç doğrultusunda dPK-MKH reaktif hücreler üzerinde bağışık düzenleyici veya baskılayıcı etkinliklerini sPK-MKH'lere oranla zayıf olarak tespit edilmesi durumunda gelecekte tip 1 diyabetin olası MKH tabanlı tedavi protokollerinin geliştirilmesinde otolog yerine allojenik kaynaklı MKH'lerin kullanılmasının daha etkin olabileceği incelendi. Aynı zamanda CTLA-4 proteini ve resveratrol ile desteklenen çok katmanlı yapının uzun süre immün yanıtlara karşı beta hücrelerini koruyabiliyor olması, uygulanması olası olan tedavilerde alternatif bir yöntem olacaktır. Gelecekte umut vadeden tedavi protokollerinde çok katmanlı yapıların yer almasına ilişkin laboratuvar uygulanabilirliğine ilişkin verilere ulaşılmasına ve çok yönlü olarak geliştirilmesine olanak sağlaması ile tip 1 diyabetli bireylerin beslenme ile beraber artmaya başlayan kan glukoz seviyelerine cevaben çok katmanlı yapıdan salgılanacak insülin hormonu, bireylerin yaşam standartlarını arttıracağı gibi yanlış doz ayarlamaları sonucunda oluşabilecek acil müdahale gerektiren durumlarında önüne geçilmesi amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pankreas

Pankreas intrauterin dönem olarak adlandırılan fetal dönem içerisinde duodenumun iç kısmını kaplayan endoderm hücrelerinin, 4. ve 7. haftalar arasındaki dorsal ve ventral pankreas tomurcukları ile gelişen hem endokrin hem de ekzokrin bir salgı organıdır (Çağlar ve diğ., 2014; İmamoğlu ve Özyardımcı Ersoy, 2009). Diğer bir deyiş ile pankreas, konumu açısından midenin arka tarafında bulunan (Şekil 2.1.), görevleri açısından ise öncelikle alınan besinlerin sindirimini sağlanabilmesi için gerekli enzimleri üreterek kanal aracılığıyla duodenuma (ince bağırsağın ilk kısmı) gönderen aynı zamanda kandaki glukoz miktarının dengelenmesi gerekli hormonları salgılayan organdır.



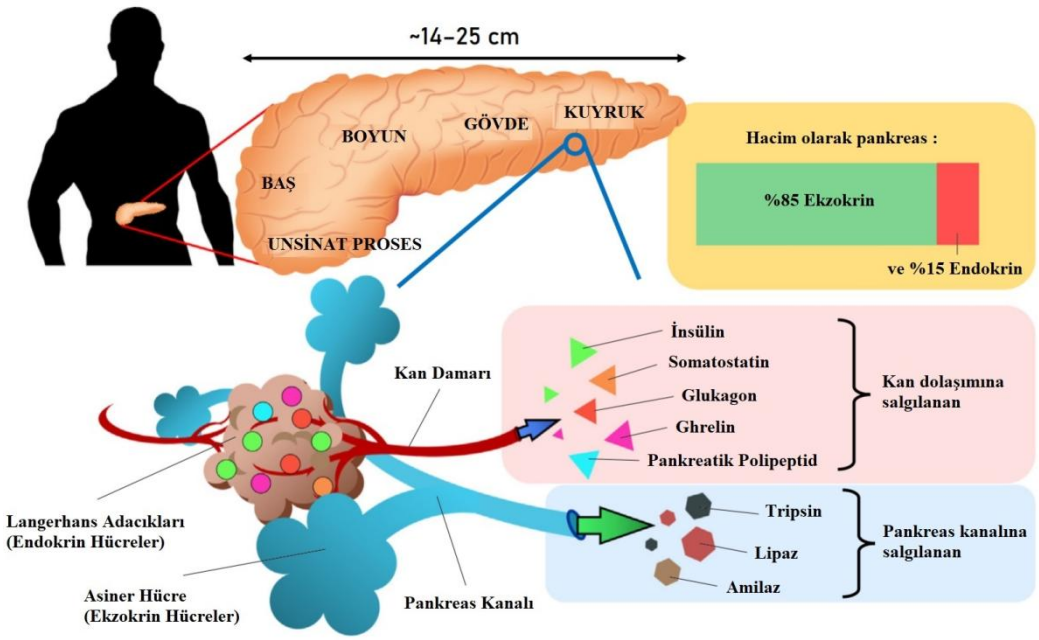
Şekil 2.1. İnsan pankreası (URL-2)

2.1.1. Pankreasın Anatomisi

İnsan pankreası boyutu, şekili ve kanal sistemi yapısı açısından kişiden kişiye göre önemli ölçüde farklılık göstermekle beraber genel özellikleriyle, sağlıklı bir yetişkinin

pankreası yumuşak, sarımtırak - hafif kırmızımsı renkte (Çağlar ve diğ., 2014; Gökmen, 2003; Skandalakis ve diğ., 2000; Standring, 2008), ortalama 100 gram ağırlığında (60-140 gram arası değişmektedir) ve 15 cm uzunluğundadır (4-25 cm uzunlukarası değişmektedir) (İmamoğlu ve Ersoy, 2009; Longnecker ve diğ., 2018). Sağlıklı bir bireyin pankreas hacmi ise 72.4 ± 25,8 cm^3'dür (Saisho ve diğ., 2007).

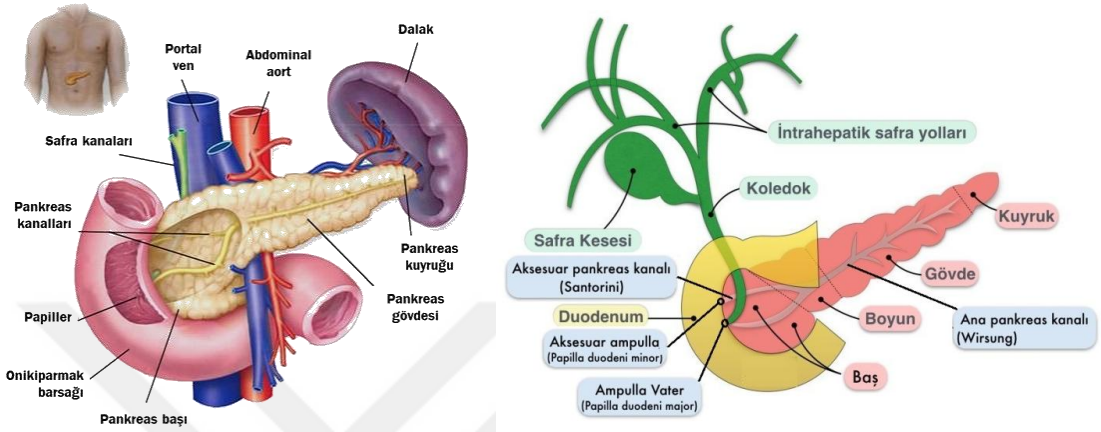
İnsan pankreası konum hizası açısından ikinci ve üçüncü lomber vertebralarda yer alır ve baş (caput), boyun (collum), gövde (corpus), kuyruk (cauda) kısımları bulunur. Bu 4 kısım dışında ise Unsinat proses (Uncinate process veya processus uncinatus) olarak adlandırılan pankreasın baş kısmından aşağı doğru bir uzantı halinde olan lobu bulunmaktadır. Bu kısım pankreasın ventral tomurcuğundan gelişmiştir. Pankreasın baş ve kuyruk kısımlarına bakıldığında, en geniş kısım olan baş duodenumun yani onikiparmak bağırsağı eğrisi içinde kalacak şekilde üst karın boyunca uzanır ve mide, bursa omentalis ile colon transversum arkasında bulunur. Kuyruk kısmı ise dalağa bitişiktir (Atkinson ve diğ., 2020; Çağlar ve diğ., 2014; Gökmen, 2003; Soetedjo ve diğ., 2021; Skandalakis ve diğ., 2000; Standring, 2008) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. İnsan pankreası (Soetedjo ve diğ., 2021)

Pankreasın arka kısmında ise sol böbrek, aorta ve splenik ven bulunur (Andreoli ve diğ., 1990; İmamoğlu ve Ersoy, 2009). Pankreas loblu bir organ olması nedeniyle ön ve arka lobları birbirlerinden ak bir zar ve organı saran veya bağlayan bağ doku olan faysa ile

ayrılır. Arka lob superior mezenterik arterden, ön lob ise çölyak arterden kan akışı olmaktadır. Pankreasın kendi içerisinde ise Koledok (ana safra kanalı), Wirsung kanalı (ana pankreas kanalı) ile Santorini kanalı (pankreas kanalı) bulunur (Leung, 2010) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. İnsan pankreas anatomisi (URL-3; URL-4)

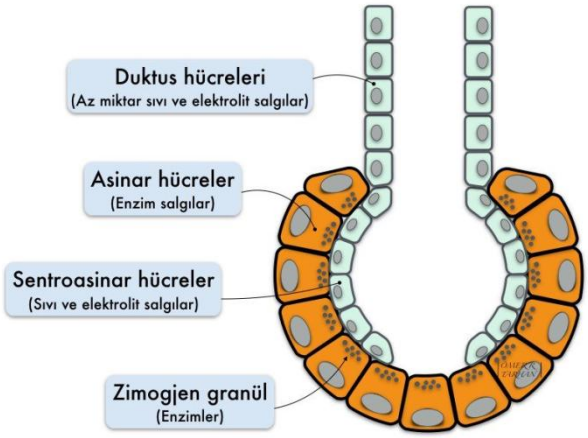
2.1.2. Pankreasın Genel Fizyolojik Özellikleri

İnsan pankreası, birbirlerinden farklı görevleri bulunan ekzokrin ve endokrin olarak adlandırılan bölümlere oluşmaktadır (Şekil 2.2).

2.1.2.1. Ekzokrin Pankreas

Ekzokrin pankreasın fonksiyonel birimleri kese olan asinus ve kanal olan duktuslardan oluşup pankreasın yaklaşık %85'ini oluşturur. Pankreasın bu kısmı bileşik tubulo-alveolar özelliği barınırmakta olup yapısı açısından tükrürük bezlerine benzemektedir. Histolojik açıdan bakıldığında ise ekzokrin pankreas asinus, sentroasiner ve duktus hücrelerinden meydana gelir. Bir asinus keseciği yaklaşık 20 ile 40 asiner hücreden oluşur. Asinus keseciklerindeki asiner hücreleri öncelikle sindirim enzimlerinin sentezlenmesinde ve salgılanmasında önemli rol oynamakta olup diğer asinus hücresi sentroasiner hücreler ise hem sıvı hem de elektrolit salgılar. Bu salgı bikarbonat transferi için aynı zamanda karbonik anhidraz içerir. Daha sonra salgılanmış olan bu sindirim enzimlerini, ağaç dallarına benzetilen, karmaşık bir duktal yol ile onikiparmak bağırsağına ulaşmasını sağlar (Atkinson ve diğ., 2020). Ekzokrin pankreas tripsin,amilaz ve lipaz gibi enzimleri salgılayarak sindirimi kolaylaştırır.

Ekzokrin pankreas salgılarının detaylarına inildiğinde ise salgıladıkları iki kısımdan oluşur; birincisi bikarbonat açısından zengin olan sulu kısım, ikincisi ise enzim kısmıdır. Sağlıklı yetişkin bir bireyde günlük bu sekresyon yaklaşık olarak 1500-2000 ml arası değişmekte olup izotonik ve alkali (bazik) özelliklerde berrak görüntülü ve kokusuzdur (Çağlar ve diğ., 2014; Ganong, 2001; Karaöz, 2002; Öber ve İzzetoğlu, 2006; Soetedjo ve diğ., 2021). Ekzokrin pankreasın bu salgılarından onuncu kranial sinir olan nervus vagus ile duodenum'daki sekretin ile kolesistokinin hormonları sorumludur (Çağlar ve diğ., 2014). Pankreas kanallarında bulunan epitelyum hücreler bu salgının sulu kısmının salgılanmasında yer alırken enzim kısmının salgılanmasında ise asiner hücreler görev alır (Şekil 2.4). Daha sonra üretilen bu salgılar, ana pankreas kanalı olan Wirsung kanalı yani diğer ismi ile ductus pancreaticus'a tübüllerden toplanarak gelir. Bu ana pankreas kanalı, doudenum'a ductus choledochus ile birleşen ampulla hepatopancreatica'dana Santorini kanalı ile açılır (Çağlar ve diğ, 2014; Ganong, 2001; Songur ve diğ., 2009).



Şekil 2.4. Pankreasta bulunan Asinus yapısı (URL-5)

Ekzokrin pankreas, yaşlanmaya bağlı olarak kendisinde ve bağ dokusunda hacim açısından azalma gösterir. Bu nedenle ekzokrin panreas anatomik ve histolojik açıdan yaşlanmaya bağlı küçülme (atrofi) gözlemlenir (Çağlar ve diğ., 2012; Saisho ve diğ., 2007).

2.1.2.2. Endokrin Pankreas ve Hormonları

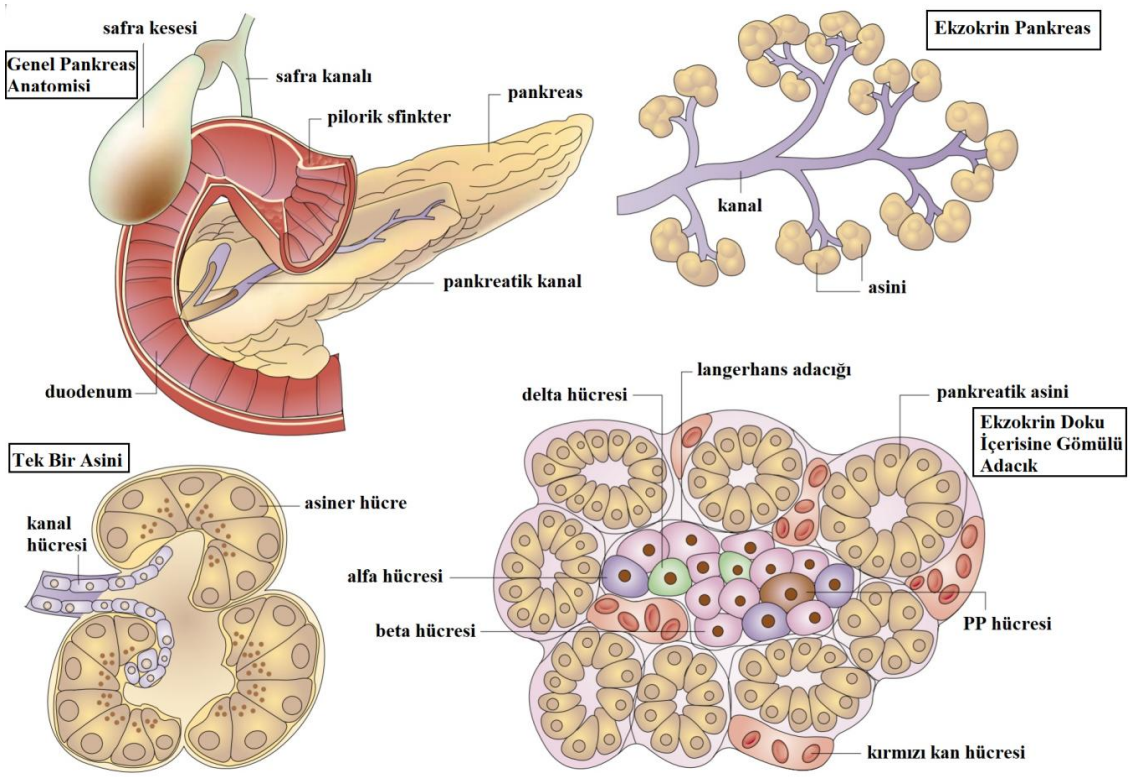
Endokrin pankreasın işlevsel birimi Langerhans adacıklarıdır (adacıklar) (Soetedjo ve diğ., 2021; Xavier, 2018). Langerhans adacıkları ilk olarak 1969'da Paul Langerhans tarafından tanımlanmıştır (Xavier, 2018). Yetişkin ve sağlıklı bir pankreasta yaklaşık 3,2–14,8 milyon adacık bulunmaktadır ve bu da pankreasın toplam hacminin 0,5 ila 2,0 cm^3 diğer bir deyişle %1- 1.5 kadarına karşılık gelmektedir (Hellman, 1959a; Hellman, 1959b; Hellman, 1959c; Ionescu-Tirgoviste ve diğ., 2015; Saito ve diğ., 1978; Soetedjo ve diğ., 2021; Xavier, 2018). Bu adacıklar glukagon, insülin, somatostin, pankreatik polipeptit ve ghrelini endokrin hormonlarını sırasıyla üreten alfa, beta, delta, PP ve epsilon hücrelerinden oluşur (Tablo 2.1.).

Tablo 2.1. Pankreatik adacıklarda (Langerhans adacıkları) bulunan hücre tipleri (Huising, 2015; Jansson ve diğ., 2016; Veld ve Marichal, 2010)

Hücre Tipleri	
Endokrin Hücreleri	Alfa Hücreleri Beta Hücreleri Delta Hücreleri Epsilon Hücreleri PP Hücreleri
Stromal Hücreler	Fibroblastlar Myofibroblastlar Stellate Hücreleri Kajal Hücreleri Occasional Duct (Kanal) Hücreleri
Vasküler Hücreler	Endotel Hücreler Vasküler Düz Kas Hücreleri Perisitler ASCs (Adventitial Stromal Hücreleri)
İmmün Hücreleri	Granülositler Lenfositler Makrofajlar Dendritik Hücreler Mast Hücreleri (Mastositler)
Nöral Hücreler	Nöronlar Schwann Hücreleri

Bu endokrin hücre türlerinin Langerhans adacıklarındaki oranlarına bakılacak olunursa; %30 glukagon üreten alfa (α) hücrelerinden, %60 insülin üreten beta (β) hücrelerinden ve geri kalan %10 kısmı ise somatostatin üreten delta (δ) hücreleri, pankreatik polipeptit üreten gama (γ veya PP) hücreleri ve ghrelin üreten epsilon (ε) hücreleri oluşturmaktadır (Brissova ve diğ., 2005; Cabrera ve diğ., 2006; Ichii ve diğ., 2005;

Ionescu- Tirgoviste ve diğ., 2015; Xavier, 2018). Bu hücreler aynı zamanda adacıklar içinde rastgele dağılmış halde bulunmaktadırlar (Cabrera ve diğ., 2006; Kim ve diğ., 2009; Steiner ve diğ., 2010) (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Pankreas ekzokrin ve endokrin içeriği (Bardeesy ve DePinho, 2002)

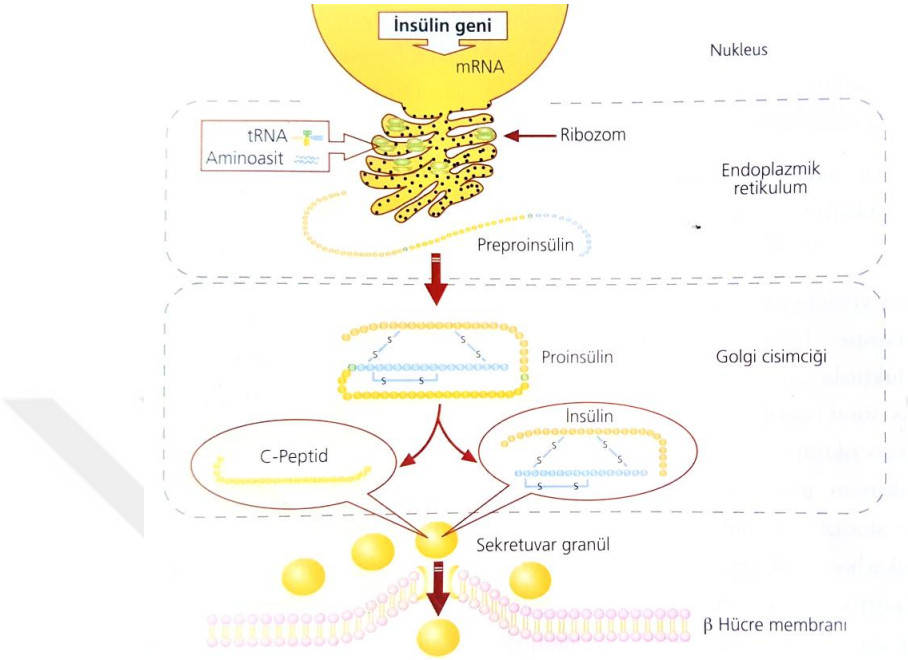
2015 yılında Ionescu-Tirgovişte ve diğ. tarafında gerçekleştirilen çalışmada, üç boyutlu bir adacık dağılım haritası üretmek için pankreas kesitlerini analiz ederek sağlıklı bir insan pankreasından adacık özelliklerinin dikkatli bir değerlendirmesini yaptılar (Ionescu-Tirgoviste ve diğ., 2015). Çalışma sonucu insan pankreasının ortalama 3,2 milyon adacık içerdiğini, ortalama adacık çapının 108,92 µm (±6,27 µm) ve ortalama adacık hacminin 0,00069 µL (±0,00011 µL) olduğunu ve bu adacıkların yaklaşık %66 ise 1000-10.000 μm^2 arası yüzey alanları bulunmaktadır. Langerhans adacıklarının yüzey alanları kendi aralarında kıyaslandığında ise yaklaşık %24'ü 100.000 μm^2'den fazla iken çalışma sonucunda yaklaşık %9'un ise 1000 μm^2'den az olduğu tespit edilmiştir. Küçük yüzey alanına sahip olan adacıkların kan damarları etrafında kümelendikleri gözlemlemiştir (Ionescu-Tirgoviste ve diğ., 2015). Adacıkların pankreastaki dağılımları hakkında hem insanda (Wang ve diğ., 2013) hem de

kemirgenlerde (Aguayo-Mazzucato ve diğ., 2006; Baetens ve diğ., 1979; Elayat ve diğ., 1995; Hornblad ve diğ., 2011; Leclercq-Meyer ve diğ., 1985; Tasaka ve diğ., 1989; Trimble ve diğ., 1981; Trimble ve diğ., 1982; Yukawa ve diğ., 1999) düzensiz olarak gözlemlenirken Ionescu-Tirgovişte ve diğ. bu konuda farklı bir sonuca ulaşmışlardır. Bu sonuca göre adacıklar pankreas gövdesinde küre biçiminde (sferik) tek tip dağılım sergilemektedirler (Ionescu-Tirgoviste ve diğ., 2015). Ionescu-Tirgovişte ve diğerlerinin sonuçlarını destekleyen bir başka çalışma öncelikle 1990 yılında Kendall ve diğ. tarafından daha sonra ise 2009 yılında Menge ve diğ. tarafından yapılmıştır. Yapılan çalışmalar, gerçekleştirilen pankreatektomi (cerrahi rezeksiyon) sonrası hastaların karşılaştığı ani adacık kütle kaybının sonuçları hakkında metabolik açısından önem taşımaktadır. %50 pankreatektomi geçiren hastaların yaklaşık aynı oranda insülin salınımı azalırken çıkarılan pankreas bölgelerinin farklı metabolik etkilerinin olduğu rapor edilmiştir (Menge ve diğ., 2009). Buna göre Menge ve diğerlerinin çalışmasında, pankreasın kuyruk bölgesinin alınması yüksek açlık glukozuna neden olurken pankreasın baş kısmının çıkarılması ise oral glukoz toleransında ise iyileşme görüldüğü saptanmıştır. Kendall ve diğerlerinin yapmış oldukları çalışmada ise pankreas kuyruk bölgesini içeren kısmi pankreatektomiden bir yıl sonra hastalarda hem insülin salımının hem de glukoz toleransının azaldığı rapor edilmiştir. Dolayısıyla pankreatektomi çalışmalarının sonuçları doğrultusunda Ionescu-Tirgovişte ve diğerlerinin tek tip adacık dağılımı olduğuna dair gözlemleri pankreasın baş ve kuyruk kısmında bulunan adacıkların işlev açısından farklılar gösterdiğini ifade edebilir. Bu nedenden ötürü de tüm adacıkların aynı olmadığı sonucuna ulaşılabilir (Xavier, 2018). Özellikle pankreasın baş ve kuyruk kısmındaki adacıkların farklı olmasının nedenleri arasında en başta farklı gelişimsel kökenlere sahip olmalarıdır. Örnek olarak; pankreas baş kısmı dorsal ve ventral pankreas tomurcuğundan, gövde ve kuyruk kısmı ise ventral pankreas tomurcuğundan oluşur (Pandol, 2010; Xavier, 2018). Kemirgenler üzerinde yapılan araştırmalarda da dorsal pankreas tomurcuk kökenli adacıkların ventral tomurcuk kökenli adacıklardan daha fazla insülin salgılama ve sentezleme kapasitesine sahip olduğunu gösterilmiştir (Leclercq-Meyer, 1985; Tasaka ve diğ., 1989; Trimble ve diğ., 1981; Trimble ve diğ., 1982; Xavier, 2018). Bu araştırmalar sonucu gelecekte *in vivo* olarak fonksiyonel pankreatik beta hücre tedavi stratejileri üzerinde önemli etkileri olabilir (Xavier, 2018).

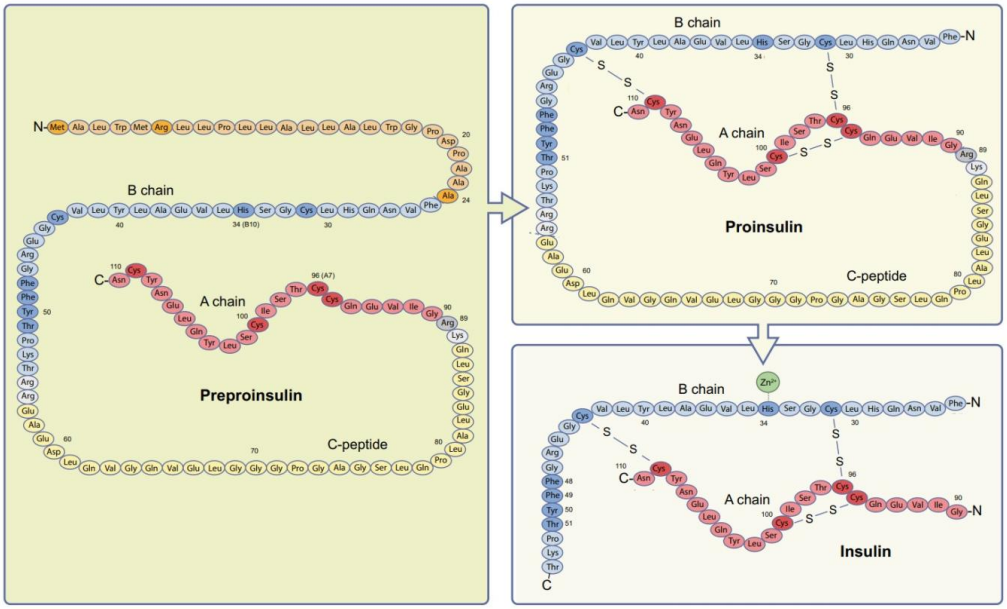
Alfa hücresi (A veya α hücresi) glukagon salgılamak görevindedir. Glukagon, insülin hormonunun göstermiş olduğu etkiye karşı ters tepki gösterir. Diğer bir deyiş ile aç kalma durumunda (kandaki glukoz seviyesinin düşmesi) salgılanarak insülinin hormonunun tersine kandaki düşük glukoz seviyesinin yükselmesini sağlar. Bu aynı zamanda diyabette bozulmuş bir yanıt olan hipogliseminin önlenmesinde de görev almaktadır (Gerich, 1988; Gerich ve Campbell, 1988). Glukagon 29 aminoasitlik tek bir zincirden oluşmakla beraber geni 2.kromozomda bulunur ve periferik dolaşımda 3 ile 6 dakika arasında yarı ömrü bulunur. Dolaşımdan uzaklaştırılması böbrek ve karaciğer tarafından gerçekleştirilir (İmamoğlu ve Özyardımcı Ersoy, 2009). Glukagon hormonunu α hücreleri ve parakrin mekanizmalar tarafından düzenlenir (Dunning ve diğ., 2005; Gylfe ve Gilon, 2014). Sentezi sırasında α hücresi öncelikle içerisinde GLP-1 (Glukagon Benzeri Peptid 1), GLP-2 (Glukagon Benzeri Peptid 2), peptid ve glukagonu barındıran proglukagonu (160 aminoasit) sentezler (Drucker, 2003). Beta hücreleri üzerinde antiapoptotik etkisi olduğu düşünülen GLP-1 oniki parmak bağırsağı (duodenum) tarafından salgılanmaktadır. Bu nedenden ötürü GLP-1 için bağırsak hormonları önemlidir (Lund ve diğ., 2011). GLP-2 ise insülini uyarmaz (Urusova ve diğ., 2004). Glukagon hormonu aynı zamanda tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM) patofizyolojisinde önemli rol oynamakla beraber T2DM'de hipoinsülinemiye ve hiperglukagonemiye katkıda bulunduğu belirtlenmiştir (Cryer, 2012; Unger ve Orci, 1975). Özellikle insülin ile yaşamına devam eden T2DM'li bireylerde glukagon ve karşı düzenleyici hormonların uyarılmasında ileri kayıplar mevcut olup T2DM karakteristik bir özelliğini oluşturmaktadır (Cryer, 2006; Cryer, 2008). Dolayısıyla T2DM patofizyolojisinde α hücrelerin düzenlenmesi üzerine yoğun çalışmalar gerçekleştirilmektedir.

Beta hücresi (B veya β hücresi), adacık hücreleri arasında en çok araştırması gerçekleştirilen hücre türüdür. Beta hücresi, glikoz uyarısına insülin salgılayarak yanıt veren hücre tipidir. Başka bir deyişle beta hücreleri insülin üretmekle görevli hücrelerdir (Rorsman ve Renstrom, 2003). İnsülin geni insanda 11. kromozomda kısa kolda yer alan ve sırasıyla pre-proinsülin, proinsülin ve en son aşamada C-peptidin ayrılmasıyla 2 zincirli, 51 aminoasitten (A zinciri 21 aminoasit ve B zinciri ise 30 aminoasit) oluşan insülin meydana gelmektedir. Ayrılan C-peptid dolaşımdan karaciğer sayesinde temizlenir ve böbrekler aracılığı ile atılır. Geriye kalan işlevsel insülinin A zinciri 6. ile

11. aminoasitler arasında bir disülfid bağ, iki zincirin arasında ise iki tane disülfid bağ vardır (İmamoğlu ve Özyardımcı Ersoy, 2009) (Şekil 2.6 ve Şekil 2.7)



Şekil 2.6. İnsülin sentezi ve sekresyonu (İmamoğlu ve Özyardımcı Ersoy, 2009)



Şekil 2.7. İnsülin aminoasit dizilimi (Vasiljević ve diğ., 2020)

İnsan pankreasından salgılanan insülinin (endojen insülin) dolaşımda 3 ile 5 dakikalık yarı ömrü bulunur. Endojen insülin karaciğerden geçişinde yarısı kandan temizlenir ve

sağlıklı bir insan bir günde yaklaşık 40 ile 50 ünite arası insülin salgılar. Sağlıklı insanda iki tip insülin salgılar. İlki bazaldır. Diğer bir deyiş ile açlıkta dışarıdan bir uyaran olmadan salgılanan iken ikinci tür olan prandiyal yani uyarılmış insülin ise vücuda dışarıdan alınan besinler aracılığı ile pankreatik beta hücrelerinin salgıladıkları insülin ile verdiği yanıttır. Dolayısıyla uyarılmış insülin salımınının en öenmli uyaranı kandaki glukozdur. Çünkü alınan besinler periferik dolaşımdaki glukozu hızlıca yükselmesini sağlar. Bu yükselme karşısında sağlıklı pankreas önce kısa süreli insülin salgılayarak birinci fazı gerçekleştirilirken kandaki glukoz seviyesi yüksekliğini koruyorsa ikinci faz olan yavaşça azalan insülin miktarını tekrar yükselerek işlevine devam eder (İmamoğlu ve Özyardımcı Ersoy, 2009). Sağlıklı bireylerde sindirilen aminoasit, glukoz, yağ asitlerinin miktarı insülin hormonunun ne kadar salgılanması gerektiğini belirler. Ayrıca inkretin gibi bağırsak entero-endokrin hücreleri tarafından salgılanıp insülin sekresyonunu arttırmayı sağlayan hormonlar da mevcut olduğu gibi (Creutzfeldt, 2005; Irwin ve Flatt, 2013) pankreatik δ hücreleri (delta hücresi) tarafından salgılanan somatostin ise insülin sekresyonunu inhibe eden hormonlar da bulunmaktadır (Ensinck ve diğ., 1989). Literatür bilgilerine göre kısmi pankreatektomi sonrası hastaların beta hücre durumları incelendiğinde beta hücre işlevselliğinde artış gözlemlenirken (Menge ve diğ., 2012) kütlelerinde artış gözlemlenmemiştir (Menge ve diğ., 2008). Fakat yine literatür bilgilerine göre ameliyat sonrası yüksek düzeyde açlık glikozu ve şeker yükleme sonrası hiperglisemi (Menge ve diğ., 2009) sergileyen hasta pankreatektomi operasyonunundan üç yıl sonra her iki parametrede de iyileşme görüldüğü rapor edilmiştir (Menge ve diğ., 2012). Diğer açıdan beta hücre işlevselliğindeki bu iyileşme obez sınıfında yer alan bireylerde de hiper fonksiyonel adacık olarak adlandırılan hücrelerde görülmekle (Camastra ve diğ., 2005; Ferrannini ve diğ., 1997; Rorsman ve Renstrom, 2003; Xavier, 2018) beraber obez insanlardaki bu hücreler insülin salgılama kapasitesi açısından zayıf insanlardaki hücrelere kıyasla iki ile üç kat daha fazla insülin salgıladıkları tespit edilmiştir (Brandhorst ve diğ., 1995; Mezghenna ve diğ., 2011; Xavier, 2018). Aynı zamanda obez bireylerde beta hücre rejenerasyonunu gösteren veriler rapor edilmiştir (Brandhorst ve diğ., 1995; Hanley ve diğ., 2010; Lillioja ve diğ., 1993; Matsumoto ve diğ., 2004; Saisho ve diğ., 2013; Yoon ve diğ., 2003). Bu veriler göz önüne alındığında alfa hücrelerini beta hücrelerine transdiferansiye etme potansiyeli (Ben-Othman ve diğ., 2017) ile insan pluripotent kök

hücre kaynaklı beta benzeri hücre transplantasyonu potansiyeli bir araya geldiğinde beta hücrelerinin geri kazanmak için ileride uygulanabilecek potansiye tedaviler arasında gelecek vadettiği düşünülmektedir (Pagliuca ve diğ., 2014). Ayrıca gelecekteki potansiyel tedavilerde diğer önemli bir noktanın ise diyabetin artık bihormonal hastalık olarak kabul edildiği ve radikal tedavi için hem alfa hücreleri hem de beta hücreleri ile çalışılması gerektiğidir (Xavier, 2018).

Somatostatin veya δ hücresi (D veya delta hücresi) insanda üçüncü genin uzun kolunda bulunan ve adacık hücre popülasyonunun yaklaşık %10'u oluşturan hücrelerdir. Sadece Langerhans adacıklarında değil aynı zamanda hipotalamusta, merkezi sinir sisteminde, periferik nöronlarda ve gastrointestinal sistemde de bulunan (Arimura ve diğ., 1975; Brereton ve diğ., 2015; Hokfelt ve diğ., 1975a; Hokfelt ve diğ., 1975b; Luft ve diğ., 1978) delta hücreleri tarafından öncelikle 116 aminoasit (preprosomatostatin) olarak salgılanan somatostatin daha sonra sentezlenmek için protein dönüştürücü tarafından enzimatiksel olarak parçalanır 14 aminoasitten oluşan ana peptit parçası molekül olarak sentezlenir (Xavier, 2018). Periferik dolaşımdaki yarı ömrü üç dakikadan azdır (İmamoğlu ve Özyardımcı Ersoy, 2009). Görevi ise Ca^{2+} bağlı olarak besinlerin alımları ile başlayan uyarımlar sonrası insülin, glukagon ve pankreatik polipeptid salımını baskılamaktır (Berts ve diğ., 1996; Braun ve diğ., 2009; Christie ve diğ., 2009; Grill ve diğ., 1984; Gromada ve diğ., 2001; Kailey ve diğ., 2012; Zhang ve diğ., 2007;). Alfa ve beta hücreleri gibi delta hücreleri de elektrikle uyarılabildiği gibi ürokrotin ve ghrelin hormonlarının etkisi ile somatostatin salgılanmasını sağlar (Adriaenssens ve diğ., 2016; Van der Meulen ve diğ., 2015). Delta hücreleri, beta hücrelerinin akut tükenmesinde beta hücrelerine farklılaştığı rapor edilmiştir ve bunun temelinde Pax4 transkripsiyon faktörünün pankreasta hem delta hem de beta hücrelerinin gelişiminde yer alması bulunmaktadır (Collombat ve diğ., 2006; Chera ve diğ., 2014). Diğer açıdan yapılan araştırmalarda alfa hücrelerindeki yanlış Pax4 ekspresyonunun beta benzeri hücrelere dönüştüğü gösterilmiştir (Napolitano ve diğ., 2015). Bir başka yapılan çalışmada ise delat hücrelerinin tip 2 Diabetes Mellitus gelişimi ile bağlantılı olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmaya göre delta hücrelerinde Hhex geninin çok önemlidir ve Hhex kaybının insülin salımınında parakrin düzenlenmesinin bozulmasına yol açtığı gözlemlenmiştir (Guardado Mendoza ve diğ., 2015; Zhang ve diğ., 2014). Ayrıca yine delta hücre kütle kaybının düzensiz glukagon salımına neden olabileceği ve yapılan araştırmalarda delta

hücrelerinin beta hücre rejenerasyonunu (beta hücreleri farklılaşarak) desteklememekte olduğu anlaşılmıştır (Xavier, 2018).

Pankreatik polipeptid diğer adı ile PP hücreleri veya F hücreleri adacık hücrelerinin yaklaşık %1-2'sini oluşturan 36 aminoasitlik bir moleküldür (Ekblad ve Sundler, 2002; Sundler ve diğ., 1977; İmamoğlu ve Özyardımcı Ersoy, 2009; Larsson ve diğ., 1975; Larsson ve diğ., 1976; Stefan ve diğ., 1982). PP hücreleri pankreasın baş bölgesinde daha yoğun olarak bulunduğu ve insan adacıklarında bulunan kılcal damarları çevreleyecek şekilde konumlandıkları görülmüştür (Brereton ve diğ., 2015; Stefan ve diğ., 1982; Rahier ve diğ., 1983). Bu hücrelerin salınımı vagal ve enterik sinir sistemi tarafından yemek sonrası düzenlenirken arginine yanıt verir. Fakat glukoz uyarımına yanıt vermez (Field ve diğ., 2010; Schwartz, 1983a; Schwartz, 1983b; Holzer ve diğ., 2012; Weir ve diğ., 1979). 2009 yılına kadar PP hücrelerinin işlevleri hakkında kesin bilgi yok (İmamoğlu ve Özyardımcı Ersoy, 2009) iken daha sonraki yıllarda edinilen bilgilere göre ana işlevleri arasında tokluk hormonu gibi davranma ve hipoglisemide glukagon salınımının inhibitörü olması gibi rolleri olduğu rapor edilmiştir (Aragon ve diğ., 2015; Tan ve Bloom, 2013).

Yeni literatür bilgileri doğrultusunda üç tip adacık hücresi daha tanımlanmıştır. Bu hücreler ghrelin salgılayan, serotonin salgılayan, gastrin salgılayan hücreler (G hücreleri) ve içeriği bilinmeyen küçük granüller (P/D1 hücreleri) olarak tanımlanmıştır (Alumets ve diğ., 1978; Bordi ve diğ., 1986; Capella ve diğ., 1978; Larsson ve diğ., 1976; Rindi ve diğ., 2002a; Rindi ve diğ., 2002b; Solcia ve diğ., 1987; Suissa ve diğ., 2013; Wierup ve diğ., 2002; Wierup ve diğ., 2007). Son yıllarda ghrelin salgılayan hücreler (ghrelin pozitif hücreler), bu hücre tipleri arasında en çok araştırılan hücrelerdir. Ghrelin hormonu 28 aminoasitten oluşan bir hormondur (İlhan ve Erdost, 2009). Ghrelin hormonu hakkında bilinen diğer unsurlar; bu hormonun açlık durumunda arttığı (Dornonville ve diğ., 2001; Toshinai ve diğ., 2001; Tschop ve ark., 2000), plazma ghrelin ve plazma insülin içerikleri arasında karşılıklı bir ilişki olmakla (Dezaki ve diğ., 2008; Korbonits ve diğ., 2004) beraber hem insan hem de kemirgenlerde insülin salınımının bir inhibitörü olduğu rapor edilmiştir (Broglio ve diğ., 2003; Colombo ve diğ., 2003; Deghenghi ve Ghigo, 2001; Egido ve diğ., 2002; Reimer ve diğ., 2003; Wierup ve Sundler, 2004). Bu nedenden ötürü aynı zamanda ghrelin hormonunun

glukagon, PP ve somatostatinin de düzenleyicisi olabileceği düşülmektedir (Arosio ve diğ., 2003; Egido ve diğ., 2002). Ghrelin ilk olarak 1999 yılında Kojima ve diğ. tarafından fareler üzerinde yapılan mide çalışmaları sırasında keşfedilmiş olsa da aynı zamanda 2001 yılında Wren ve diğerlerinin yaptığı araştırmalarda iştah hormonu (appetite hormone) olarakta bilinmektedir. Ghrelin hormonunun ana noktası mide olarak tespit edilmiş (Arvat ve diğ., 2000) olsa da gen ekspresyon incelemelerine dayalı gerçekleştirilen araştırmalarda mide dışında öncelikle bağırsakta olmakla beraber kalp, böbrek, karaciğer, akciğer, pankreas, plasenta, hipofiz bezi, gonadlar ve beyinde de bulunduğu tespit edilmiştir (Gnanapavan ve diğ., 2002; Kojima ve diğ., 2001; Papotti ve diğ., 2000). Bazı literatür bilgilerinde ana yerin mide değil bağırsak olarakta geçmektedir (Date ve diğ., 2000; Kojima ve diğ., 1999; Popovic ve diğ., 2005; Rindi ve diğ., 2002b; Tomasetto ve diğ., 2000). Ghrelin salgılayan hücreler adacık hücrelerinde de bulunmakla beraber fetal dönemde adacık popülasyonunun yaklaşık %10'nu oluştururken yetişkin dönemde %1'ini oluşturduğu bilinmektedir (Rindi ve diğ., 2002; Wierup ve diğ., 2002; Wierup ve diğ., 2007; Wierup ve diğ., 2014). Ghrelin hormonunu salgılayan hücreler ile ilgili 2014 yılında Wierup ve diğerlerinin yapmış oldukları araştırmada, adacık hücrelerin içerisindeki dağılım benzerliği ve yapısal özelliklerindeki benzerlikler nedeniyle ghrelin pozitif hücrelerin yine adacık hücreleri içerisinde bulunan P/D1 hücreleri olabilecekleri öne de sürülmüştür. Aynı çalışma ve 2015 yılında Ahmad ve diğerlerinin yapmış oldukları incelemelerin sonuçlarında, ghrelin salınımını sağlayan hücrelerin gelişim evreleri insan, fare veya sıçanlarda farklılık göründüğü belirtilmesi nedeniyle farelerdeki ghrelin hücrelerin gelişimlerine ilişkin verilerin insanlar geçerli olmayabileceği konusuna da değinilmiştir.

2.1.3. Glukoz Seviyesinin Periferik Dolaşımda Düzenlenmesi

Glukoz seviyesi kan dolaşımında iki ayrı sistem ile düzenlenir. İlki besin alınımı ile glukoz girişi, ikincisi ise doku ve hücrelerin kan dolaşımından glukozun içeri alınması ve gerekli enerji ihtiyacı için kullanımıdır. Glukoz girişinde iki ana konu içermektedir. Bunlar; dolaşımda bulunan glukozun bağırsaklar tarafında emilimi, ikincisi ise karaciğerden glukoz üretimi diğer ismi ile hepatik glukoz çıkışıdır. Bu iki sistem sonucu kan dolaşımında ortaya çıkan glukoz seviyesinin düzenlenmesini içerirken diğer mekanizma ise doku veya hücre içerisine giren glukozon adipoz ve kas dokularında

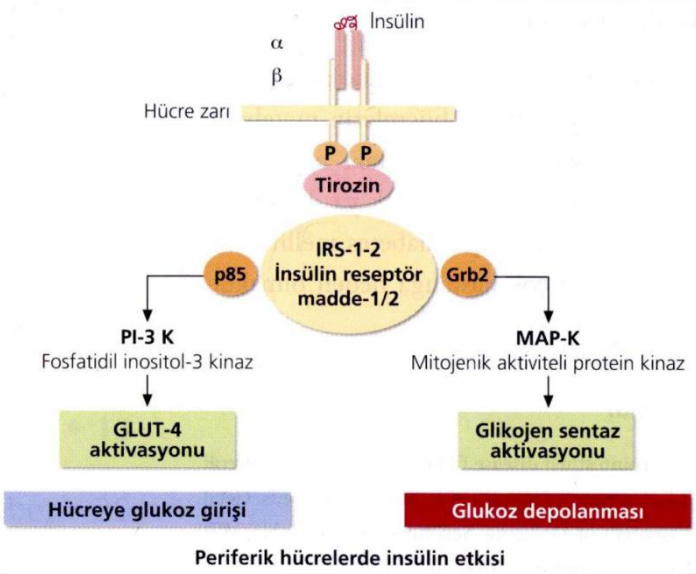
görevde bulunmasıdır (İmamoğlu ve Ersoy, 2009; White ve Kahn, 2021). Sağlıklı ve yetişkin bir insan günlük enerjisinin %50-60 kadarını karbonhidratlardan karşılar. Karbonhidratların yapı taşı olan glukoz sadece bu enerji ihtiyacının karşılanmasında değil aynı zamanda glikojen ve trigliserid molekülü dönüşerek hücre içi depo edilebilir (Hyun ve Sohn, 2022). Glukozun hücre içerisine girebilmesi için diğer bir deyiş ile hücre membranından içeri doğru geçebilmesi için taşıyıcı proteinlere yani transporter proteinlere ihtiyaç duyarlar (Bhattacharya ve diğ., 2022). Başlıca taşıyıcı proteinlerin ilki sodyum glukoz co-transporter iken ikincisi ise kolaylaştırılmış glukoz transporterdır. Böbrek ve ince bağırsağa glukozu sodyum glukoz co-transporter taşır. Bu glukoz taşıma işleminde ATP (Adenozin trifosfat) gereksinim duyulur (Bhattacharya ve diğ., 2022; İmamoğlu ve Özyardımcı Ersoy, 2009). Bir omurgalı sınıfı olan memelilerdeki bir diğer taşıyıcı protein olan kolaylaştırılmış glukoz taşıyıcı proteinler ise tüm hücre yüzeyindeki reseptörlerde bulunur ve insülin ile düzenlenen taşıyıcılık görevini difüzyon ile sağlar. Bu nedenden ötürü ATP'ye ihtiyaç duyulmadan ve belirli genler tarafından kodlanarak hücre zarının dış kısmında konumlanmış GLUT olarak adlandırılaran glukoz taşıyıcı proteinler grubu ile pasif bir mekanizma ile gerçekleştirilir (Martin ve diğ., 1998; İmamoğlu ve Özyardımcı Ersoy, 2009). Bu GLUT grupları hücre zarından geçerken zincir oluşturup hüçre iç kısmına doğru taşıyacakları glukozu bağlayıp iki lipid tabakanın arasından geçirerek görevlerini gerçekleştirirken yine kolaylaştırılmış glukoz taşıyıcı proteinleri gerekli durumlarda yani glukozun konsantraston düzeyine bağlı olarak sadece hücre içi değil aynı zamanda hücre içerisindeki glukozu kan dolaşımına taşıyabilirler (Berger ve Zdzieblo, 2020). Her bir dokunun kendisine özel GLUT protein taşıyıcısı bulunur. Örnek olarak; insanlar bilinen GLUT-1 için herhangi bir uyarıma ihtiyaç duyulmadan dokuların bir çoğunda yer almasına rağmen tüm hücrelerin (eritrosit, fibroblast, plasenta, kan-beyin bariyeri dahil) en temel glukoz taşıyıcı proteinidir. GLUT-2 ise daha çok ince bağırsakta bulunan epitelyum hücrelerinde, karaciğer, pankreatik beta hücreleri ve böbrekte yer alırken GLUT-3 göz retina hücrelerinde, plasenta ve nöronlarda bulunur. Diğer bir bilinen GLUT tipi GLUT-4 ise insülin, kas kasılması gibi uyarımlara cevaplayan dokularda yer alır, GLUT-5 sadece ince bağırsak ve böbrekte görev alır (Baska ve diğ., 2021).

Pankreatik beta hücrelerinden salgılanan insülin görevine hedefinde yer alan hücre zarında bulunan reseptörlerinin iki alt ünitesinden sadece alfa ile bağlanarak

gerçekleştirir. Diğer bir alt ünitesi ise betadır. Alfa receptörüne bağlanan insülin sayesinde hücre içerisinde bulunan GLUT grupları (özellikle GLUT-4 glukoz taşıyıcı proteini) hızlıca hücre zarlarına translokasyonunda artış sağlanır ve yine hücre zarında ortalama bir dakika içerisinde, büyük moleküllerin hücre dışına atılmasını sağlayan taşıma metodu olan ekzositoz göç ederler. Böylece hücrenin dış kısmında temasta bulunan GLUT'lar aracılığıyla glukoz taşınmasında artış gözlemlenir (Yaribeygi ve diğ., 2021). Bir sonraki aşamada alfa reseptörüne bağlanan insülin sayesinde beta reseptöründe bulunan fosforilize edilen üç tirozin aracılığıyla hücre içi uyarımda görev alır. Dolayısıyla insülinin hücreler üzerindeki ilk basamağı beta reseptörünün otofosforilizasyonu olmaktadır. Arkasından protein fosforilizasyonu sayesinde hücre içinde hem metabolik hem de biyolojik aktiviteler gerçekleştirilir. IRS-1 olarak adlandırılan insülin reseptör substratı-1tirozin ve fosforilize sonrası p85 ve Grb-2 proteinlerine bağlanır. p85 PI3-kinaz ile katalitik faaliyetlerin artması sayesinde GLUT gruplarıyla glukoz girişini arttırır. Grb-2 ise hem Sos hem de Ras proteinleri ile MAP kinaz eylemini arttırır ve bu sayede glikojen sentezlenerek glukoz depolama sağlanır (Şekil 2.8). Görevini tamamlayan insülin ise bu basamaklar sonucunda reseptörden ayrılarak metabolize olur ve GLUT'lar endositoza benzer bir sistem ile yine hızlıca hücre içerisinde hareket ederler. Hem endokrin hem de parakrin etkinliği olan insülin salınımı önce alfa hücrelerini etkileyecek glukagonu baskılarken karaciğer, kas ve adipoz dokularda endokrin etkilerini gerçekleştirir. İnsülinin endokrin etkisini organlar üzerinde incelendiğinde adipoz dokusunda; trigliserid depolanmasını attırdığı, kas üzerinde; hem protein hem de glikojen sentezlerini arttırdığı, karaciğerde ise öncelikle aminoasitlerin glukoza dönüşümünü, glikojenolizi, serbest yağ asitleri ve aminoasitlerin ketoasitlere dönüşümünü durdururken trigliserid ve lipoprotein sentezini arttırır ve son olarak glukozun glikojen olarak depolanmasını sağlar (İmamoğlu ve Özyardımcı Ersoy, 2009).

2.2. Diyabetes Mellitus Tanımı, Tarihçesi ve Çeşitleri

Modern toplumlarda özellikle teknolojik gelişmelere paralel olarak, insanlarda hareketsiz yaşam tarzı artmıştır. Bu artışa paralel olarak birçok sağlık sorunu ortaya çıkmıştır. Bu sorunlar modern toplum yaşamında giderek arttığı için bu hastalıklara "çağımızın hastalıkları" denilmektedir.



Şekil 2.8. Hücrelerde insülinin etkisi (insülin reseptör uyarımı ve fosforilasyon kaskadı) (İmamoğlu ve Özyardımcı Ersoy, 2009)

Sağlık sorunlarının atışı göstermesi, ülkelerin sağlık harcamalarını tehdit eder bir konuma geldiği için hastalıklar hem bireysel sağlık hem de ekonomik yapıyı tehdit etmektedir. Modern toplumlarda görülen modern çağ hastalıklarından biri de diyabettir (Hekim, 2015). Yapılan araştırmalar son yıllarda diyabetin hareketsiz yaşam tarzına paralel olarak ortaya çıkan (Tura-Bahadır ve Atmaca, 2012) önemli bir halk sağlığı sorunu haline geldiği görüşünü desteklemektedir (Akter ve diğ., 2014; Al-Mansour, 2020; Polat, 2016; Wu ve diğ., 2014). Türkiye diyabet konusunda dünya ile beraber aynı sorunlarla karşı karşıyadır (Soyuer ve Saraç, 2012). Sedanter yaşam tarzının yanında diyabete neden olan diğer unsurlar aşağıdaki gibi sıralanmaktadır;

- Yüksek düzeyde çay, alkol, kafein ve sigara tüketimi,
- Çevresel faktörler,
- Uyku süresi ve uyku kalitesi,
- Kronik stres ve depresyon,
- Düşük sosyo-ekonomik statü (Kolb ve Martin, 2017).
- Obezite,
- Yüksek beden kitle indeksi (Al-Goblan ve diğ., 2014; Al-Mansour, 2020).

Diyabet; insülin salınımı, insülin etkisi ya da söz konusu unsurların her ikisinde de hasar meydana gelmesi sonucunda ortaya çıkan ve hiperglisemi ile karakterize olan

kronik ve metabolik bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (DiMeglio ve diğ., 2018). Olgun ve diğ. (2011) göre diyabet; organizmada üretilen insülin hormonunun etkinliği açısından yetersiz kalınması, insülin hormonunun mutlak yokluğu veya salgılanan insülinin miktarının yeterli olmaması durumlarının sonucu meydana gelen; yağ, protein ve karbonhidrat metabolizmasında istemsiz yıkımlara neden olan, kronik hiperglisemi ile karakterize edilen, metabolik ve endokrin bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Muratoğlu-Şahin (2018) ise diyabeti "insülin sekresyonunda ve/veya insülin etkisinde ortaya çıkan defektlere paralel olarak ortaya çıkan; postprandiyal hiperglisemi ya da açlık ile karakterize yağ, protein ve karbonhidrat metabolizma hasarına yol açan kronik bir hastalık" olarak tanımlamıştır.

Günümüzde birçok toplumda yaygın olarak karşılaşılan diyabetin tarihsel arka planı incelendiği zaman, kökeninin eski Mısır medeniyetine kadar dayandığı göze çarpmaktadır. Eski Mısır'da diyabet hastalığı, sıklıkla idrara çıkma ile karakterize edilmiştir. Milattan sonra ikinci yüzyılda hastalıkta; etin, kolların ve bacakların eriyerek kana karışmasının söz konusu olduğu düşünülmüş, bundan dolayı hastalığı ifade etmede boşalma anlamına da gelen "diabetes" kelimesi kullanılmaya başlanmıştır. Willis tarafından 1675 yılında yapılan çalışmalarda ilk olarak Hintliler tarafından bulunan, idrar ve kanda şeker oranının artması konusu desteklenmiş, bu noktada hastalığın adına tatlı anlamına gelen "mellitus" kelimesi eklenmiştir. Dobson tarafından 1776 yılında yapılan çalışmalarda da kan ve idrarın tatlı olmasının nedeni olarak kan ve idrarda şeker bulunmasını gösterilmiştir (Ahmed, 2002; Karamanou ve diğ., 2016).

Tarihsel süreçte bütün diyabet çeşitlerinin (tip 1 diyabet, tip 2 diyabet, gestiyonel ve diğer spesifik diyabet türlerinin) ortaya çıkışı ve birbirlerinden ayırt edilmesini sağlayan özelliklerin tespit edilmesi öncelikle diyabetin birçok toplumda yaygın olarak rastlanılmış olunmasına ve bu yaygın görülme sıklığı nedeni ile diyabet üzerine yapılan araştırmalarda artış yaşanmasıyla bağlantılıdır. Yapılan araştırmaların sonunda diyabetin dört farklı türünün olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Diyabet türlerine ilişkin bilgiler Tablo 2.2'de sunulmuştur (Muratoğlu-Şahin, 2018; Uygur ve Gogas-Yavuz, 2017). Dört farklı türü bulunmasına rağmen toplumlarda en fazla görülen diyabet türleri tip 1 ve tip 2 diyabet olarak karşımıza çıkmaktadır (Knight ve diğ., 2017; Patel ve diğ., 2010).

Tablo 2.2. Diyabetin sınıflandırılması

Diyabet Türleri	Alt Türler
Tip 1 diyabet	- İmmünite ile ilişkili diyabet - İdiyopatik diyabet
Tip 2 diyabet	- İnsülin direncine bağlı diyabet - İnsülin eksikliğine bağlı diyabet
Diğer spesifik tipler	- Beta hücre fonksiyonlarında görülen defektler - İnsülin etkisinde genetik defektler - Ekzokrin pankreas hastalıkları - Endokrinopatiler - İlaç ve kimyasal madde ile ilişkili diyabetler - Nadir İmmün İlişkili Diyabetler
Gestasyonel Diyabet	- Gebeliğin ikinci ya da üçüncü trimesterinde çıkan diyabet

Çocukluk yıllarında rastlanan diyabet tiplerinin (tip 1 diyabet ve tip 2 diyabet tiplerinin) teşhis alınan çocukluk ve adolesan dönemlerdeki özellikleri Tablo 2.3'te sunulmuştur (Haliloğlu ve Aycan, 2018).

Tablo 2.3. Çocuklarda ve adolesanlarda diyabet tiplerinin temel özellikleri

Özellikler	Tip 1 Diyabet	Tip 2 Diyabet
Genetik	Poligenik	Poligenik
Başlama yaşı	6 ay/genç yetişkinlik	Genellikle puberte ve sonrası
Klinik seyir	Akut ve hızlı	Değişken
Otoimmünite	(+)	(-)
Ketozis	Sıklıkla	Sıklıkla değil
Obezite durumu	Toplum sıklığında	Sıklıkla
Akantozisnigrikans	(-)	(+)
Diyabetlilerde görülme sıklığı	>%90	<%10

Yukarıda yer alan bilgilerde de görüldüğü gibi toplumlarda en yaygın rastlanan diyabet türü olarak tip 2 diyabet yer almaktadır. Tip 2 diyabetin oluşum sürecinde, pankreasta yer alan beta hücreleri tarafından üretilen insülin hormonunun periferik dolaşımdaki etkinliğinde fonksiyonellik açısından bir azalmayla beraber tip 1 diyabetin patogenezinde rastlanan insülin rezistansının önemli rol oynadığı görülmektedir. Tip 2 diyabete neden olan unsurların büyük bir bölümü değiştirilebilir faktörlerden meydana gelmektedir. Söz konusu bu faktörler arasında psikolojik durum, yaşam tarzı alışkanlıkları, sigara kullanımı, obezite, sinirli ruh hali, dislipidemi, hipertansiyon ve hiperglisemi olarak sıralanmaktadır (Eray ve Balcı, 2005). Son yıllarda yapılan araştırma bulgularına göre özellikle obezitenin tip 2 diyabete neden olan en büyük unsurlar arasında yer aldığını göstermektedir (Golay ve Ybarra, 2005; Hannon ve diğ., 2005; Yoon ve diğ., 2006).

Çocuklarda ve adölesanlarda tip 2 diyabet oranı daha düşüktür. Tip 2 diyabet tüm toplumlarda en sık görülen metabolik hastaların başında gelmektedir. ABD'de nüfusun yaklaşık olarak %20-25'inde insülin direnci olmasına karşın bu kişilerde tip 2 diyabet oranının düşüktür. Ancak buna karşılık insülin direncinin kalp hastalıklarına da neden olduğu belirtilmektedir (Sktunç ve diğ., 2002).

Literatürde yer alan ve farklı ülkelerde yürütülen araştırma bulguları da tip 2 diyabetin yaygın bir hastalık olduğu görüşünü desteklemektedir. Avusturalya'da yapılan bir çalışmada farklı sosyo-ekonomik statülere sahip olan göçmenlerde tip 2 diyabet yaygınlığının incelenmesi amaçlanmış, araştırmada kadınlarda tip 2 diyabet görülme oranının %3.5 (n=87.608) olduğu, erkeklerde ise tip 2 diyabet yaygınlık oranının %4.1 (n=98.671) olduğu tespit edilmiştir (Abouzeid ve diğ., 2013). Pakistan'da toplum genelinde tip 2 diyabetin yaygınlaştığı tespit edilmiştir. Söz konusu çalışmada tip 2 diyabet yaygınlığının %16.98 düzeyinde olduğu, tip 2 diyabet hastalarının %31.9'unun ailesinde tip 2 diyabet öyküsünün bulunduğu, erkeklere göre kadınlarda daha yaygın görüldüğü rapor edilmiştir (Aamir ve diğ., 2019). İngiltere'de yürütülen çalışmada yıllara göre ülke genelinde tip 2 diyabet yaygınlığının incelenmesi amaçlanmıştır. Araştırma kapsamında 35 yaş ve üzerinde bulunan 41.643 bireyin verisi değerlendirmeye alınmıştır. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre erkeklerde 1994 yılında %3.74 olan yaygınlık oranının 2006 yılında %7.25'e yükseldiği, kadınlarda 1994 yılında %2.28 olan yaygınlık oranının ise 2006 yılında %4.88 düzeyine ulaştığı rapor edilmiştir. Erkeklerde tip 2 diyabet yaygınlığının sosyo-ekonomik statü ile yakından ilişkili olmadığı, kadınlarda ise düşük sosyo-ekonomik statü ile tip 2 diyabet görülme sıklığı arasında pozitif yönde anlamlı ilişki olduğu bulunmuştur (Imkampe ve Gulliford, 2010). Suudi Arabistan'da yürütülen çalışmada ise tip 2 diyabet yaygınlığı %17.5 düzeyinde olduğu ve ülkede tip 2 diyabetin başlıca nedeninin obezite olduğu tespit edilmiştir (Al-Quwaidhi ve diğ., 2014). Yıllara göre tip 2 diyabet yaygınlığının ele alındığı diğer bir çalışmada 2005 ile 2015 yılları arasında tip 2 diyabet görülme yaygınlığı arasındaki farklılıklar ele alınmıştır. Araştırma kapsamında yıllar içerisinde tip 2 diyabet yaygınlığının arttığı bulunmuştur. Buna göre, 2005 yılında %6.8 olan tip 2 diyabet yaygınlık oranının 2015 yılında %15.1 düzeyine yükseldiği rapor edilmiştir (Duncan ve diğ., 2018). Rusya'ya bu alanda yapılan diğer bir çalışmada 20-79 yaş aralığında bulunan bireylerde tip 2 diyabet yaygınlığının incelenmesi amaçlanmış,

araştırmada toplum genelinde tip 2 diyabet yaygınlığının %5.4 düzeyinde olduğu bulunmuştur. Aynı çalışmada toplumun %19.3'ünün diyabete yakalanma riski yüksek bireylerden meydana geldiği tespit edilmiştir. Cinsiyete göre ise kadınlarda tip 2 diyabet yaygınlığının %6.1, erkeklerin ise %4.7 oranında rapor edilmiştir (Dedov ve diğ., 2016). Bangladeş'te yapılan bir çalışmada ise kırsal ve kentsel bölgelerde tip 2 diyabet yaygınlığının incelenmesi amaçlanmış, araştırma 35 ve üzeri yaş grubu dahil edilmiştir. Araştırmanın sonunda kırsal bölgelerde %15.2, kentsel bölgelerde ise %8.3 olarak gözlemlenmiştir. Aynı çalışmada tip 2 diyabete eşlik eden sağlık sorunlarının başında hipertansiyon ve şişmanlık rapor edilmiştir.

2.2.1. Tip 1 Diyabetes Mellitus Tanımı ve Sınıflandırılması (Tip 1a ve Tip 1b)

Tip 1 diyabet özellikle çocukluk ve gençlik yıllarında pankreastaki beta hücrelerinin süregelen otoimmüniteye bağlı veya bağlı olmayan faktörlere paralel olarak yıpranması sonucunda ortaya çıkan, insülin yetersizliği ve hiperglisemi ile karakterize edilen metabolik bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (Abacı ve diğ., 2007; Eroğlu-Altınova ve Yetkin, 2011; Gregor ve diğ., 2013; Kahanovitz ve diğ., 2017; Yang ve diğ., 2021). Diğer bir ifadeyle tip 1 diyabet "mutlak insülin eksikliği ile karakterize, insülin bağımlı diyabet türü" olarak bilinmektedir. Yapılan tanımlardan da anlaşılacağı gibi tip 1 diyabetin temelinde pankreasda bulunan ve insülin üretiminden sorumlu beta hücrelerinin hasara uğraması sonucunda, fonksiyonlarını yerine getirememesi yatmaktadır (Demirbilek, 2018). Seissler ve Scherbaum (2006) tip 1 diyabeti "pankreasın insülin üreten b-hücrelerinin spesifik yıkımından kaynaklanan bir immünolojik hastalık" olarak tanımlamışlardır.

Tip 2 diyabet ile kıyaslandığı zaman tip 1 diyabet; genellikle çocuklarda ve gençlerde görülen (Kousar, 2019), görülme sıklığı da giderek artan bir sağlık sorunu olarak değerlendirilmektedir (Boztepe, 2012; Debelea ve diğ., 2014; Özen ve Civil, 2019). Tip 1 diyabet ile tip 2 diyabet arasında bazı farklılıklar vardır. Tip 2 diyabette artmış insülin direnci söz konusu iken, tip 1 diyabette insülin salınımında eksiklik ya da yetersizlik söz konusudur (Bundak, 2011).

Tip 1 diyabet klinik olarak tip 1 A ve tip 1 B olarak ikiye ayrılmaktadır. Tip 1a diyabet insülini sekrete eden pankreas adacık beta hücrelerinin immün aracılı yıkımına paralel

olarak ortaya çıkmaktadır (Salman ve Satman, 2011). Tip 1a diyabetin genetik zemininde birden fazla çevresel unsurun etkili olduğu bilinmektedir. Tip 1 a diyabetin ortaya çıkmasına neden olan genler doğumdan itibaren insan vücudunda bulunmaktadır. İmmün belirleyiciler ise otoimmün atakların başlamasından sonra saptanabilmektedir (Çetinkalp, 2010). Tip 1 b diyabette ise otoimmünite ya da pankreastaki beta hücrelerde herhangi bir defekt söz konusu değildir. Ancak hastalarda tip 1 a diyabette olduğu gibi insülin eksikliği söz konusudur (Uygur ve Gogas-Yavuz, 2017).

2.2.2. Tip 1 Diyabetes Mellitus Epidemiyolojisi

Bölgesel farklılıklar göstermekle beraber tip 1 diyabetin görülme sıklığı tip 2 diyabete göre oldukça düşük düzeydedir. Bunun yanında yaş grupları arasında da farklılıklar vardır. Yapılan çalışmalarda tip 1 diyabetin 0-5 yaş grubunda görülme yaygınlığının 1/1430, 5-16 yaş grubunda ise 1/360 olduğu rapor edilmiştir. Türkiye'de ise çocuklarda ve adölesanlarda tip 1 diyabet görülme yaygınlığının 1/1200 civarında olduğu belirtilmektedir (Abacı ve diğ., 2007).

Literatürde yer alan birçok çalışmada tip 1 diyabet yaygınlığına ilişkin farklı sonuçlara ulaşıldığı göze çarpmaktadır. Yeşilkaya ve diğ. (2016) tarafından yapılan çalışmada Türkiye'de Sosyal Güvenlik Kurumu kayıtlarında göre 2011-2013 yılları arasında tip 1 diyabet görülme yaygınlığının incelenmesi amaçlanmıştır. Araştırmanın sonunda tip 1 diyabet yaygınlığının 10.8/100.000 olduğu tespit edilmiştir. Kadınlarda görülme sıklığının erkeklerden daha yüksek olduğu belirlenmiş, bunun yanında hastaların ortalama yaşlarının 10.6±4.6 yıl olduğu tespit edilmiştir. Akesen ve diğ. (2011) tarafından yapılan çalışmada ise İstanbul ilinde 6-18 yaş aralığında bulunan çocuk ve adolesanlarda tip 1 diyabet yaygınlığının incelenmesi amaçlanmıştır. Araştırmanın sonunda tip 1 diyabet yaygınlığının 0.67/1000 olduğu tespit edilmiştir.

Kalra ve diğ. (2010) tarafından yapılan çalışmada Hindistan'ın Haryana bölgesinde tip 1 diyabet görülme yaygınlığının incelenmesi amaçlanmış, çalışmanın sonunda 0-5 yaş aralığında bulunan çocuklarda tip 1 diyabet yaygınlığının 22.22/100.00 olduğu, 5-16 yaş aralığında ise yaygınlığın 3.82/100.000 olduğu rapor edilmiştir. Menke ve diğ. (2013) tarafından yapılan araştırmada ABD populasyonunda tip 1 diyabet yaygınlığının 2.6/100.000 olduğu tespit edilmiştir. Tajima ve Morimoto (2012) tarafından yapılan

çalışmada Japonya'da tip 1 diyabet yaygınlığının incelenmesi amaçlanmış, araştırmanın sonunda 15 yaş ve altı grubunda yer alan çocuklar ile adolesanlarda tip 1 diyabet yaygınlığının 1.5-2.5/100.000 aralığında olduğu tespit edilmiştir. Tip 1 diyabetin en fazla teşhis edildiği yaş grubunun ise 10 yaş ve altı grubunda yer alan çocuklardan meydana geldiği belirlenmiştir. Weng ve diğ. (2018) tarafından yapılan araştırmada 2010-2013 yılları arasında Çin'de yaşayan çocuklar arasında tip 1 diyabet yaygınlığının incelenmesi amaçlanmıştır. Araştırmada toplam nüfusun yaklaşık olarak %10'unun diyabete yakalanma olasılığı olan risk grubunda bulunduğu tespit edilmiştir. Yaş grubu değişkenine göre hastalığın yaygınlık düzeyine ilişkin bilgiler değerlendirildiği zaman 0-14 yaş aralığında görülme yaygınlığının 1.93/100.000 olduğu, 15-29 yaş grubunda ise görülme yaygınlığının 1.28/100.000 olduğu rapor edilmiştir.

Moussa ve diğ. (2005) tarafından yapılan çalışmada Kuveyt'te 6-18 yaş aralığında yer alan çocuklarda ve adölesanlarda tip 1 diyabet yaygınlığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Araştırmanın sonunda örneklem grubunu oluşturan yaş gruplarında tip 1 diyabet yaygınlığının 269.9/100.000 olduğu tespit edilmiştir. Araştırmada cinsiyete göre ele alındığı zaman gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadığı, bu kapsamda tip 1 diyabet yaygınlığının kadın ve erkeklerde benzer düzeyde görüldüğü belirlenmiştir. Hastalığın en fazla 10-13 yaş grubunda görüldüğü, hastalığın en az görüldüğü yaş grubunun ise 6-9 yaş aralığı olduğu bulunmuştur. Mobasseri ve diğ. (2020) tarafından yapılan çalışmada dünya genelinde yapılan araştırma bulguları ışığında tip 1 diyabet yaygınlığının incelenmesi amaçlanmıştır. Araştırma kapsamında konu ile ilgili olarak 1980-2019 yılları arasında yürütülen 193 makalenin içerik analizi yapılmıştır Araştırmanın sonunda tip 1 diyabet görülme yaygınlığının 15/100.000 olduğu, insülin sağlama konusunda sorun yaşayan az gelişmiş ülkelerde yaygınlığın söz konusu ortalamanın üzerinde seyrettiği rapor edilmiştir. Patterson ve diğ. (2014) tarafından yapılan çalışmada ise ülkelere göre tip 1 diyabet yaygınlığının incelenmesi amaçlanmış, araştırma kapsamında tip 1 diyabet yaygınlığına ilişkin veriler tanı konu konulan çocuk sayısı ile aktarılmıştır. Araştırmanın sonunda dünya genelinde ortalama olarak 15 ve altı yaş grubunda yer alan çocukların 500.000'inde tip 1 diyabet olduğu tespit edilmiştir. Avrupa'da hasta sayısının 129.000, Güney Amerika'da hasta sayısının 108.700, ABD'de söz konusu sayının 13.000, Hindistan'da 10.900 ve Brezilya'da 5.000 olduğu rapor edilmiştir.

2.2.3. Tip 1 Diabetes Mellitus Etiyolojisi (Genetik, İmmünolojik, Çevresel)

Tip 1 diyabetin ortaya çıkışında genetik yatkınlığın önemli bir etkisinin olduğu belirtilmektedir. Tip 1 diyabet üzerinde yapılan çalışmalarda hastalığa yatkınlık oluşturan ve hastalıkların devamlılığını koruyarak bir jenerasyondan diğer bir jenerasyona aktarımını sağlayan genlerin varlığı tespit edilmiştir. Tip 1 diyabet teşhis alan bireylerin aile öyküleri incelendiğinde, özellikle tip 1 diyabete HLA DR-DQ geninin neden olduğu görülmektedir (Ayki-Arslan ve diğ., 2013). Tespit edilen bu gen bilgisi ışığında Demirbilek'in (2019) yer verdiği bilgilere göre ise aile öyküsünde tip 1 diyabet bulunması durumunda bir diğer jenerasyonu oluşturan bireylerin çocukluk ya da adölesan döenmlerde mutlaka tip 1 diyabet tanısı alacakları ve tip 1 diyabet ile yaşayacakları anlamına gemlemediğini de belirtmektedir. Buna karşılık aile öyküsünde tip 1 diyabet bulunmayan çocuklar ile kıyaslandığı zaman ise aile öyküsünde tip 1 diyabet bulunan çocuklarda ve adölesanlarda tip 1 diyabet görülme riski daha yüksektir. Ailede diyabet öyküsü olmasının çocuklarda ve adölesanlarda tip 1 diyabet riskini arttırma düzeyine ilişkin veriler Tablo 2.4.'te sunulmuştur (Demirbilek, 2018).

Tablo 2.4. Aile öyküsünde diyabet varlığı ve tip 1 diyabet riski ilişkisi

Ailede Diyabet Öyküsü	**Tip 1 Diyabet Olasılığı (%)**
Ailede diyabet öyküsünün olmaması	0.4
Annede tip 1 diyabet olması	2-4
Babada tip 1 diyabet olması	5-8
Anne ve babada tip 1 diyabet olması	30
Kardeşte tip 1 diyabet olması	5
İkiz eşte (dizigotik) tip 1 diyabet olması	6-10
İkiz eşte (monozigotik) tip 1 diyabet olması	30-50

Bunun temel nedenlerinin başında tip 1 diyabetin seyrine göre belirtilerin ortaya çıkmasının uzun yıllar sürmesi gösterilmektedir (Ayki-Arslan ve diğ., 2013). Bunun yanında tip 1 diyabete yatkın olan genlerin MHC ve non-MHC genler olarak ikiye ayrıldığı görülmektedir. MHC sınıf II molekülleri antijen sunan hücrelerin yüzeyinde yer alırlar ve antijenin bağlandığı hücrenin makrofajlara sunularak yıkım sürecinde aracı rol oynarlar. MHC sınıf II moleküllerini kodlayan genler altıncı kromozom üzerinde yer alan insan lökosit antijenleri (HLA) gen bölgesinde yer alırlar. Bazı HLA genlerin tip 1 diyabete neden olma ya da koruyucu role sahip olma durumları Tablo 2.5.'te gösterilmiştir (Demirbilek, 2018).

Tip 1 diyabette genetik unsurların etkili olduğunu ortaya koyan temel bulguların başında tip 1 diyabet hastalarının büyük bir bölümünün aile öyküsünde diyabet varlığının görülmesidir.

Tablo 2.5. Çeşitli HLA genlerin tip 1 diyabete yatkınlık veya koruyuculuk ile ilişkileri

Fenotip	**Diyabet hastalarında (%)**	**Diyabet olmayan bireylerde (%)**	**Risk (%)**
DR			
DR3/DR4	33	6	8.3
DR3/DR3	7	1	9.8
DR3/DRX	7	14	0.05
DR4/DR4	26	0	-
DR4/DRX	22	16	1.5
Non-Asp/Non-Asp	96	19	107.2
Non-Asp/Asp	4	46	0.04
Asp/Asp	0	34	0

Aile öyküsüne bağlı olarak çocuklarda ve gençlerde diyabet görülme olasılığı birbirinden farklı olmakla beraber, yapılan çalışmalarda tip 1 diyabet hastalarının %19'unda, tip 2 diyabet hastalarının ise %61'inde aile öyküsüne rastlandığı rapor edilmiştir. Bunun yanında yapılan araştırmalar üç nesil boyunca aile öyküsünün gözlendiğini ortaya koymaktadır (Haliloğlu ve Aycan, 2018).

Ailede diyabet öyküsü ve HLA genlerine göre tip 1 diyabet riski farklılık göstermektedir. Ailede diyabet öyküsü ve HLA grubuna göre tip 1 diyabet risk oranları Tablo 2.6.'da sunulmuştur (Demirbilek, 2018).

Tablo 2.6. Ailede diyabet öyküsü ve HLA grubuna göre tip 1 diyabet risk oranları

Risk grupları	**Tip 1 diyabet riski (%)**
Düşük risk grubunda yer alan bireyler	
Birinci derece akrabada HLA ya da diyabet öyküsü bulunmama	0.01
Birinci derece akrabalarda diyabet öyküsü olmaması	0.4
Birinci derece akrabada diyabet öyküsü ve HLA bulunması	0.3
Orta derece risk grubunda yer alan bireyler	
Birinci derece akrabalarda diyabet öyküsünün olmaması, ancak yatkınlığa neden olan HLA bulunması	4
Birinci derece akrabalarda diyabet öyküsünün olması	5
Annede tip 1 diyabet varlığı	3
Babada tip 1 diyabet varlığı	5
İkiz kardeşlerde tip 1 diyabet varlığı	8

Tablo 2.6. (Devam) Ailede diyabet öyküsü ve HLA grubuna göre tip 1 diyabet risk oranları

Yüksek riskli grupta yer alan bireyler	
Birinci derece akrabalarda hem tip 1 diyabet öyküsü hem de yüksek riskli HLA bulunması	10-20
Birinci derece akrabalar içerisinde çok sayıda diyabetli birey bulunması	20-25
Çok yüksek riskli grupta yer alan bireyler	
Tek yumurta ikizlerinde diyabet öyküsünün bulunması	30-70
Birinci derece akrabalarda hem fazla sayıda diyabetli birey bulunması hem de yüksek riskli HLA varlığı	50
İkiz olmayan kardeşlerde diyabet varlığı ve riskli HLA taşıma durumu	30-70

Bilindiği gibi diyabete neden olan unsurların başında hormonal faktörler önemli bir yere sahiptir. Özellikle pankreasın, organizmadaki glikoz direncine bağlı olarak yeterli düzeyde insülin üretimi gerçekleştirememesi başlıca nedendir. Bu noktada pankreasın fonksiyonlarını tam olarak yerine getirememesinin diyabet gibi komplikasyonlara neden olması muhtemel bir sonuçtur. Pankreasın insülin üretemediği durumlarda hastaların farklı yollar ile organizmaya insülin takviyesi almaları gerekmektedir (Çetkin, 2013). İmmünolojik olarak ele alındığında tip 1 diyabette insülin üretme sürecinde sorun ortaya çıkmasının temelinde pankreasta beta hücrelerin yıpranması yatmaktadır. Yapılan çalışmalarda beta hücre sayısının %20'nin altına düşmesi tip 1 diyabete zemin hazırlamaktadır. Beta hücrelerinin hasar görmesine neden olan unsurların başında ise travma, enfeksiyon, glukokortikoid kullanımı ve kronik stresin geldiği görülmektedir (Demirbilek, 2018).

Genetik ve immünolojik unsurların yanı sıra çevresel faktörler de tip 1 diyabetin görülme sıklığı üzerinde önemli bir belirleyici olarak karşımıza çıkmaktadır. Farklı coğrafyalarda yapılan araştırma bulguları arasında tip 1 diyabet yaygınlığı arasında görülen değişkenlikler çevresel faktörlerin ne kadar önemli olduğunu göstermektedir. Örnek olarak Japonya'da bulunan çocuklarda tip 1 diyabetin rastlanma oranı 1.5-2.5/100.000 iken (Tajima ve Morimoto, 2012), Çin'de bulunan çoçuklarda tip 1 diyabetin yaygınlık oranının 1.9/100.000 olduğu görülmektedir (Weng ve diğ., 2018). Mevsimsel değişimlerin de tip 1 diyabet yaygınlığını etkileyen çevresel faktörler arasında yer almakta olduğu gözlemlenmiştir. Bunun temel nedeni olarak ise özellikle mevsim geçişlerinde ve kış aylarında viral enfeksiyonların artması, buna paralel

olarakta hastanelere giden çocuk sayısının yükselmesi gösterilmektedir (Moltchanova ve diğ., 2009).

2.2.4. Tip 1 Diyabetes Mellitus Patogenezi

Tip 1 diyabetli hastalarda pankreastaki beta hücrelerin fonksiyonlarını yerine getirememesi söz konusudur. Tanı almış olan bulguların büyük bir bölümünde beta hücrelerin antijenlerine karşı gelişmiş antikor varlığı söz konusudur. Buna karşılık söz konusu antikorların aile öyküsünde tip 1 diyabet olan bireylerde %3 düzeyinde pozitif olduğu, genel popülasyonda ise antikorların pozitif olma oranının %0.3-0.4 düzeyinde olduğu rapor edilmiştir (Abacı ve diğ., 2007; Haller ve diğ., 2005; Redondo ve diğ., 2001). Klinik bulgularda en sık rastlanan otoantikorlar ICA, IAA, GADA ve IA-2 / IA-2β olarak değerlendirilmektedir. Son yıllarda yapılan araştırma sonuçlarına göre beta hücresine özgü bir antikor olan ZnT8A antikoru da tanımlanmıştır (Salman ve Satman, 2011). Tanı konmuş hastalarda otoantikorların pozitif görülme oranlarına ilişkin bulgular Tablo 2.7.'de sunulmuştur (Seissler ve Scherbaum, 2006).

Tablo 2.7. Tip 1 diyabette otoantikorların pozitif çıkma düzeyi

Otoantikor Türleri	**Çocuklarda Görülme Yaygınlığı (%)**	**Yetişkinlerde Görülme Yaygınlığı (%)**
GADA (GAD65'e karşı antikorlar)	70-80	70-80
IA-2 (Tirozin Antikorları Fosfataz)	60-70	30-50
IAA (İnsülin Otoantikorları)	50-70	20-30
ICA (Sitoplazmik Adacık Hücre Antikorları)	80-90	70-80
GADA, IA-2 veya IAA	95-100	70-80

Otoantikorların pozitif olmasının tip 1 diyabet oluşumundaki etkileri ailede diyabet öyküsüyle de yakından ilişkilidir. Diğer br ifadeyle ailede yüksek otoantikor seviyesine sahip bireyler bulunması bireyin tip 1 diyabete yakalanma riskini arttırmaktadır. Literatürde yer alan araştırma bulguları da aile öyküsünde otoantikor varlığının tip 1 diyabet riskini yükselttiğini ortaya koymaktadır (Salman ve Satman, 2011). Bu nedenle tip 1 diyabetin tanı koyma süreçlerinde hastaların başlangıçtaki antikor seviyelerinin değerlendirilmesi önem arz etmektedir. Literatürde yer alan çalışmalar incelendiğinde

özellikle beş yaş altı hastalarda antikor pozitifliğinin büyük yaş gruplarına göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu hastalarda kan glukoz regülasyonu da antikor düzeyi zayıf olan hastalara kıyasla daha güçlüdür. Tip 1 diyabetli hastalarda antikor seviyesinin bilinmesi hastalığın teşhisinin yanında tedavi süreçlerinin de planlanmasına katkı sağlamaktadır (Çelik-Ateş, 2007).

2.2.5. Tip 1 Diyabetes Mellitus Klinik Belirtileri ve Tanısı

Tip 1 diyabette hem tanı kriterleri hem de tanının teyit edilmesini gerektiren durumlar göz önünde bulundurulmaktadır. Tip 1 diyabette tanı kriterleri aşağıdaki gibi sıralanmaktadır;

- Açlık kan şekeri değerinin 126 mg/dl düzeyinin üzerinde olması,
- Oral glukoz tolerans testinden iki saat sonra kan şekerinin 200 mg/dl değerinden yüksek olması (kg başına 1,75 gram ya da maksimum 75 gram glukoz yüklenmelidir),
- Herhangi bir zaman diliminde kan şekeri düzeyinin 200 mg/dl düzeyinin üzerinde seyretmesi ve diyabette görülen klasik semptomların (polifaji, kilo kaybı, enureis, noktüri, polidipsi, poliüri) gözlenmesi,
- Hala tartışmalı bir konu olsa da HbA1c (glikozillenmiş hemoglobin) değerinin %6,5 olması (Muratoğlu-Şahin, 2018; Sunay-Ertem ve diğ., 2020).

Tip 2 diyabette olduğu gibi tip 1 diyabette de pankreastaki beta hücrelerin fonksiyonlarını yerine getirememesi söz konusudur. Beta hücrelerin fonksiyonlarını yerine getirme düzeyleri tanı koyma sürecinde uygulanan kan testleri ile saptanabilmektedir. Yapılan laboratuvar testleri sonucunda açlık C-peptid düzeyinin <0.225 ng/ml (<0.075 nmol/L), uyarılı C-peptid düzeyinin ise <0.6 ng/ml (<0.2 nmol/L) saptanması beta hücrelerin fonksiyonlarını yerine getirme konusunda yetersiz kaldıklarını göstermektedir (Haliloğlu ve Aycan, 2018).

Tip 1 ve Tip 2 diyabetin tanı süreçlerinde benzer protokoller izlenmekle beraber, çocuk ve adolesanlarda tanı süreçlerinde bazı zorluklar yaşanabilmektedir. Tanı koyma sürecinde diyabetin hangi türünün tespit edilmeye çalışıldığının, diğer bir ifadeyle diyabetin tiplendirilmesinin büyük bir öneme sahip olduğu bilinmektedir. Diyabetin

doğru tiplendirilmesi hem tanı süreçlerinin en az maliyetle yürütülmesine hem de çocuklara gereksiz tetkikler uygulanmamasına yardımcı olmaktadır. Çocuk endokrinoloji uzmanlarının da tanı koyma sürecinde söz konusu unsurları göz önünde bulundurmaları önem arz etmekle beraber (Haliloğlu ve Aycan, 2018), tip 1 diyabetin varlığından söz edebilmek için teyit edilmesi gereken bazı durumlar ve veriler bulunmaktadır. Tip 1 diyabetin varlığından emin olmak için teyit edilmesi gereken durumlar ise aşağıdaki gibi sıralanmaktadır;

- Asemptomatik hipergliseminin tesadüfen saptanması,
- Stres, travma ya da akut enfeksiyonlara bağlı olarak saptanan hiperglisemilerde geçici hiperglisemilerin ekarte edilmesi için kan glukoz değeri takip edilmelidir,
- Açlık kan şekeri düzeyinin 100-125 mg/dl aralığında bulunması,
- Oral glukoz tolerans testinden iki saat sonra kan glukoz düzeyinin 140-199 mg/dl arasında olması (Muratoğlu-Şahin, 2018).

Yukarıda yer alan bilgilerde de görüldüğü gibi tip 1 diyabetin tanısında kullanılan geçerli kriterler bulunmakta ve tip 1 diyabetin varlığından emin olmak için takip edilmesi gereken durumlar bulunmaktadır. Bunun yanında ayırıcı tanı göz önünde bulundurulmalıdır. Diyabet tanısı almış çocuklarda aşağıdaki durumların varlığı söz konusu ise tip 2 diyabet tanısı düşünülmelidir;

- Tanı yaşının 10 ve üzerinde olması (puberte sonrası daha sık tanı konulmaktadır),
- Aile öyküsünde tip 2 diyabet olması,
- İnsülin direncine ilişkin bulgular (hepatosteatoz, hipertansiyon, dislipidemi),
- İki ya da daha fazla yapılan antikor sonuçlarında otoantikor negatifliği,
- C-peptid düzeyinin yüksek olması (Haliloğlu ve Aycan, 2018).

2.2.6. Tip 1 Diyabetes Mellitus Akut Ve Kronik Komplikasyonlar

Tip 1 diyabette görülen komplikasyonların başında ayaklarda karıncalanma ve yanma, ciltte kuruluk, kronik yorgunluk hissi, ayaklarda uyuşma, bulanık görme, kilo kaybı, mantar enfeksiyonları, kaşıntı, idrar yolu enfeksiyonları, poliüri, polidipsi, polifaji ve ağız kuruluğu gelmektedir (Türk Diyabet Vakfı, 2017).

2.2.7. Tip 1 Diyabetes Mellitus Geleneksel Tedaviler

Tip 1 diyabet hastalığının artmasına paralel olarak hastalara yönelik tedavi yöntemleri de giderek önem kazanmıştır. Günümüzde Tip 1 diyabet hastalarına uygulanacak olan tedavilerin temel hedefleri aşağıdaki gibi sıralanmaktadır;

- Kan glukoz düzeninin sağlanması,
- Gerek kronik gerekse de akut komplikasyonların en aza indirilmesi, bunun yanında kronik komplikasyonların ilerleme hızının durdurulması,
- Çocuklar ile genç yaş gruplarında yaygın görüldüğü için büyüme ve gelişmenin fizyolojik açıdan sağlıklı olmasına destek olma,
- Gebelik sürecinde annelerde ya da fetüste görülebilecek komplikasyonları en aza indirme,
- Enfeksiyon sıklığında ya da şiddetinde azaltma,
- Hastaların yaşam kalitesinin yükseltilmesi (Bundak, 2011; Türk Diyabet Vakfı, 2017).

Tip 1 diyabette yukarıda belirlenen amaçlara ulaşılması için bazı geleneksel tedavi yöntemlerinden yararlanıldığı, söz konusu tedavilerin günümüzde de yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir. Günümüzde tip 1 diyabet tedavisinde yaygın olarak kullanılan geleneksel tedavi yöntemleri aşağıda açıklanmıştır.

İnsülin desteği: Tip 2 diyabet ile kıyaslandığı zaman özellikle çocuklarda ve gençlerde nadiren görülen bir hastalık olmasına rağmen tip 2 diyabete olduğu gibi tip 1 diyabette de insülin kullanımı gerekmektedir. Bu kapsamda çocukların ve gençlerin hastalık teşhisi konulduktan sonra hayatları boyunca insülin takviyesi almaları gerektiği belirtilmektedir (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2011). İnsülin desteği alınması hastalığın kontrol altına alınmasının yanında mortaliteyi önlemek için de oldukça önemli bir yere sahiptir (Köse ve Asırlı, 2017). Tip 1 diyabet hastalarında insülin takviyesi ile glisemik kontrolün sağlanması amaçlanmaktadır (Gökşen, 2018). İnsülin takviyesi kullanımında mümkün olduğu kadar fizyolojik insülin salınımını taklit eden yöntemlerin kullanılması tercih edilmektedir. Kullanılacak insülin tercihinde hastanın yaşı, vücut ağırlığı, ailenin sosyo-ekonomik ve psikolojik özellikleri göz önünde bulundurulmaktadır. Tip 1 diyabette yaygın olarak kullanılan insülin

takviyelerinin başında ana öğünlerde kullanılan hızlı insülinler ile 24 saatlik gereksinimi karşılayacak insülinler gelmektedir. İnsülin takviyeleri genellikle pompa yoluyla uygulanmaktadır (Çakır, 2018). İnsülin desteği uygulamasından önce hastalara sıvı ve elektrolit tedavisi yürütülmektedir. Bu uygulamalar kan glukoz düzeyinin düşmesine katkı sağlamaktadır. Ancak kan glukozunun normal sınırlar içine gelmemesi durumunda ketogenez ve lipofizin önlenmesi için insülin tedavisine gereksinim duyulmaktadır (Uçar ve Saka, 2016).

İnsülin peptid (protein) yapısında bir hormon olmasından dolayı dışarıdan insülin alınmasında hap kullanılmamaktadır. Buna neden olan unsurların başında ağızdan hap yoluyla alınan insülinin henüz kana karışmadan mide asidi ve sindirim enzimleri tarafından parçalanması gelmektedir. Bu bağlamda genellikle cilt altına iğne yolu ile verilen insülin bazı durumlarda insülin pompası ile de cilt altından verilmekte, insülin pompası sayesinde insülinin sürekli verilmesi mümkün hale gelmektedir (Atkinson ve diğ., 2014; Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2011). İnsülin takviyelerinin sahip oldukları türe göre etki seviyeleri birbirinden farklı olmaktadır. Yaygın olarak kullanılan insülin türleri bazal ve bolus insülinler ile hazır karışım insülinler (biafizik) olarak karşımıza çıkmaktadır. Bazal be bolus insülin çeşitleri ile organizmadaki etki süreleri Tablo 2.8.'de sunulmuştur (Çakır, 2018).

Tablo 2.8. Bazal ve bolus insülin türleri ve organizmadaki etki süreleri

	İnsülin türü	**İnsülin adı**	**Piyasadaki adı**	**Etkinin başlama süresi**	**Zirve yaptığı süre**	**Toplam etki süresi**
Bazal insülin türleri	Orta etkili insülinler	Hagedron, protamin, insan nötral	İnsulatard HM, humulin N	2-4 saat	4-12 saat	12-16 saat
	Uzun etkili insülinler	Glagrin insülin	Basaglar, glarin, lantus	2-4 saat	Yok	20-26 saat
	Ultra uzun etkili insülinler	Degludec insülin, detemir insülin	Levemir, tresiba	1-2 saat	Yok	40 saat
Bolus insülin türleri	Kısa etkili insülinler	Kristalize insan insülini	Humalog, adipra,	30-60 dakika	2-4 saat	5-8 saat
	Hızlı etkili insülinler	Lispro insülin, glulisin insülin, aspart insülin	navorapid, humulin R, actrapid HM	15 dakika	30-90 dakka	3-5 saat

Hazır karşım insülinlerin türleri ve organizmadaki etki süreleri Tablo 2.9.'da sunulmuştur (Çakır, 2018).

Tablo 2.9. Hazır karışım insülin türleri ve organizmadaki etki süreleri

İnsülin türleri	**İnsülin adı**	**Piyasadaki adı**	**Etkinin başlama süresi**	**Etkinin zirve yaptığı süre**	**Toplam etki süresi**
Hazır karışım insan insülini (NPH+Regüler)	%30 Kristalize+%70 NPH insan insülin	Mixtard HM 30, Humulin M 70/30	30-60 dakika	Değişken	10-16 saat
Hazır karışım analog insülin (NPL+Lispro)	%25 İnsülin Lispro+%75 İnsülin Lispro Protamin	Humalog mix 25	10-15 dakika	Değişken	10-16 saat
	%50 İnsülin Lispro+%50İnsülin Lispro Protamin	Humalog mix 50			
Analog hazır karşım insülinler (NPA+Aspart)	%30 İnsülin Aspart +%70 İnsülin Aspart Protamin	Novamix 30	10-15 dakika	Değişken	10-16 saat
Analog hazır karşım insülin (Degludec+Aspart)	%30 İnsülin Aspart +%70 İnsülin Degludec	Ryzodeg	10-15 dakika	Değişken	40 saat

Yukarıda yer alan insülin takviyelerinin öncelikli amacı organizmadaki glisemik indeksi dengelemek olmakla beraber, diyabete bağlı olarak ortaya çıkan hastalıkların önlenmesinde de insülin takviyesinin önemli olduğu belirtilmektedir. Yapılan araştırma bulguları da diyabete bağlı olarak ortaya çıkan diğer sağlık sorunlarının en aza indirilmesinde insülin takviyesinin önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir (Gökşen, 2018).

Gukoz takibi: Tip 2 diyabet hastalarında olduğu gibi tip 1 diyabette özellikle evde glukoz takibi önemli bir yere sahiptir. Bu noktada özellikle tip 1 diyabet tanısı konulmuş bireylerin mutlaka evde glukoz takibi yapmaları önerilmektedir. Glukoz takip sürecinde yapılacak ölçümler üç öğünü de yansıtacak biçimde yapılmalı, ölçümler açlık, tokluk ve özel durumlarda sabaha karşı değerleri yansıtacak biçimde planlanmalıdır. Tip

1 diyabette ölçümlerin gün içerisinde en az üç kez tekrarlanması önerilmektedir (Türk Diyabet Vakfı, 2017).

Fiziksel aktivite ve egzersize katılım: Fiziksel aktivite ve egzersize katılım uzun yıllardır tip 1 diyabet tedavisinde kullanılmaktadır (Galassetti ve Riddell, 2013). Bunun temel nedenlerinin başında hem fiziksel aktivite ve egzersize katılımın diyabeti önlemesi hem de diyabetin ortaya çıkmasında fiziksel aktivite yetersizliğinin yatması gelmektedir (Coşansu ve Nahcivan, 2004; Hekim, 2015). Fiziksel aktiviteye katılımın tip 1 diyabet tedavisinde etkili olmasının temel nedenlerinin başında fiziksel aktivitenin hormonal yapı üzerindeki olumlu etkileri yatmaktadır. Nitekim rutin fiziksel aktivite hem sağlıklı hem de farklı hastalıklara sahip bireylerde olduğu gibi tip 1diyabetli hastalarda kan glukozunu düşürerek diyabet kontrolüne katkı sağlamaktadır. Tip 1 diyabet hastalarında fiziksel aktivite ve egzersize katılım kan glukozunu dengelemenin yanında, hastaların günlük yaşam aktivitelerini de olumlu yönde etkilediği belirtilmektedir (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2011). Fiziksel aktivite ve egzersiz tip 1 diyabet tedavisine katkı sağladığı için genellikle insülin tedavisinden sonra ilk önerilen girişimin egzersiz olduğu belirtilmektedir (Özbek, 2018).

Farklı yaş gruplarında yer alan bireyler üzerinde yürütülen kontrol gruplu çalışma bulguları da fiziksel aktivite ve egzersize katılımın tip 1 diyabet semptomlarını azalttığını ortaya koymaktadır. Herbst ve diğ. (2007, 2009) tarafından bu konuda yürütülen bir araştırmada tip 1 diyabet hastası çocuklarda fiziksel aktiviteye katılımı hastalığın etkileri ile ilişkili faktörler üzerindeki etkileri incelenmiştir. Araştırma deney ve kontrol gruplu olarak yürütülmüştür, araştırma kapsamında deney grubunda yer alan çocuklar düzenli fiziksel aktivite programına katılmış, bu süreçte kontrol grubunda bulunan çocuklar herhangi bir fiziksel aktivite ve egzersiz çalışmasına dahil edilmemiştir. Yapılan bu araştırmanın sonunda kontrol grubunda yer alan çocuklar ile karşılaştırıldığı zaman deney grubunda bulunan çocuklarda glisemik kontrolün sağlandığı, bunun yanında hastalıkla ilişkili olan kardiyovasküler risklerin azaldığı ve kan basıncının dengelendiği sonuçlarına ulaşılmıştır.

Yardley ve diğ. (2014) tarafından yapılan çalışmada yetişkin tip 1 diyabet hastalarında egzersize katılımın performans parametreleri üzerindeki etkilerinin incelenmesi

amaçlanmıştır. Meta-analiz yöntemine göre yürütülen çalışmada geçmiş yıllarda konu ile ilgili yapılan deneysel çalışma sonuçları ele alınmıştır. Araştırmanın sonunda yetişkin tip 1 diyabet hastalarında düzenli egzersizin kardiyovasküler kapasitenin gelişmesine katkı sağladığı tespit edilmiştir. Kennedy ve diğ. (2013) tarafından yapılan diğer bir meta-analiz çalışmasında tip 1 diyabetli hastalarda egzersizin glisemik kontrol üzerindeki etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Araştırma kapsamında konu ile ilgili yapılan araştırmalara katılan 452 hastanın bulguları analiz edilmiştir. Araştırmanın sonunda her çalışmada egzersizin glisemik kontrol üzerinde etki tespit etmediği bulunmuş olmakla beraber, genel olarak glisemik kontrolün sağlanmasında egzersize katılımın faydalı olabileceğine vurgu yapılmıştır. Garcia-Garcia ve diğ. (2015) tarafından yapılan çalışmada da egzersize katılımın glisemik kontrolün sağlanmasında faydalı olduğu, buna karşılık egzersiz türünün ve şiddetinin glisemik kontrolü farklı düzeylerde etkilediği rapor edilmiştir.

Literatürde yer alan bilgiler değerlendirildiği zaman sağlıklı bireylerde olduğu gibi tip 1 diyabetli bireylerde de fiziksel aktivite ve egzersiz sağlığı olumlu yönde etkilemektedir. Tedavi sürecini destekleyici egzersiz çalışmalarının yanında tip 1 diyabetli hastaların ağır antrenmanlar yapmaları da mümkündür. Tarihsel süreçte birçok tip 1 diyabet hastasının uluslararası alanda önemli sportif başarılar elde ettikleri görülmektedir. Tip 1 diyabetli hastalarda egzersize katılımın hastalık semptomlarını azaltmaya katkı sağlamasının yanında diyabetle ilişkili diğer sağlık sorunlarını ve mortaliteyi de azaltmaya katkı sağladığı belirtilmektedir (Özbek, 2018).

Tip 1 diyabet hastalarında her ne kadar egzersiz katılım geleneksel tedavi yöntemlerinin bir parçası olsa da uygun metabolik koşullar sağlanmadığı zaman egzersize katılımın bazı riskleri de bulunmaktadır. Bu nedenle tip 1 diyabetli hastalarda egzersiz uygulamasından önce kan glukoz takibi büyük önem taşımaktadır. Kan glukoz düzeyine göre egzersiz uygulamasında dikkat edilecek hususlar Tablo 2.10.'da sunulmuştur (Özbek, 2018).

Tabloda yer alan bilgilerin yanında tip 1 diyabetli hastaların tedaviye destek amacıyla yapacağı egzersizlerde dikkat etmeleri gereken bazı önemli noktalar bulunmaktadır. Söz konusu noktalar aşağıdaki gibi sıralanmaktadır;

Tablo 2.10. Tip 1 diyabetli hastalarda kan glukoz düzeyine göre egzersiz uygulamaları

Kan Glukoz Düzeyi (mg/dl)	**Egzersiz uygulamasında dikkat edilecek hususlar**
<90	- Egzersize başlamadan önce vücuda 10-20 gram glikoz alınmalıdır. - Egzersize başlama süreci kan glukozu >90 mg/dl olana kadar ertelenmelidir.
90-124	- Aerobik egzersiz yapılacaksa egzersiz öncesinde 10 gram karbonhidrat alınmalıdır. - Anaerobik egzersiz ya da yüksek yüklenme yoğunluğunda aerobik egzersiz yapılabilir.
126-180	- Herhangi bir karbonhidrat takviyesi almadan aerobik egzersize başlanabilir. - Anaerobik ya da yüksek yoğunluklu egzersize başlanabilir, ancak kan glukozunun yükselmesi muhtemel bir durumdur.
182-270	- Karbonhidrat takviyesiz aerobik egzersiz yapılabilir. - Anaerobik egzersizlere başlanabilir, ancak kan glukoz seviyesi artabilir
>270	- Keton ölçümünde değer artmaya başlamış ise egezersiz kısıtlanmalıdır. 30 dakika ve altında kısa süreli hafif egzersizler yapılabilir. Egzersize balamadan önce küçük bir doz insülin alınarak kan glukozu dengelenmelidir. - Kan ketonu <0.6 mmol/l ya da idrar ketonu +2 ve üzerinde ise orta şiddette aerobik egzeriz yapılabilir. Egzersiz esnasında kan glukozu yakından takip edilmelidir.

- Tip 1 diyabetli hastalara, sağlıklı bireylerde olduğu gibi düzenli egzersiz yapma önerilmektedir. Bunun yanında mikro ve makro diyet değişikliklerine paralel olarak uygulanacak egzersizin içeriği de değiştirilmelidir.
- Tip 1 diyabet her ne kadar çocuklarda ve adolesanlarda görülse de her yaş grubundan tip 1 diyabet hastalarına, egzersiz esnasında ve sonrasında oluşabilecek hipogliseminin önlenmesi ve yönetimi konusunda bilgilendirilmelidir.
- Tip 1 diyabet hastalarına egzersiz öncesinde kan glukoz düzeyinin egzersiz türüne göre hangi seviyelerde olması gerektiği öğretilmelidir.
- Egzersiz öncesinde hem tokluk hissi sağlama hem de kan glukoz düzeyini dengelemek için atıştırmalık yiyecekler tüketilebilir. Böylece egzersize bağlı oluşabilecek hipoglisemi riski en aza indirilmektedir.
- Egzersizden sonraki süreçte bazal insülinde azalma meydana gelebilmektedir. Bu durum hipoglisemi riskini arttıran bir unsur olarak dikkate alınmalıdır.
- Egzersize başlamadan önce mutlaka basit karbonhidrat kaynakları hazır bulundurulmalıdır.
- Böylece egzersiz esnasında ve/veya sonrasında oluşabilecek hipoglisemilerin önlenmesi daha kolay hale gelmektedir (Chiang ve diğ., 2014).

Beslenme alışkanlıklarının değiştirilmesi: Tip 1 diyabet hastalarında insan sağlığı açısından önemli bir konu olan beslenmenin iki şekilde gerçekleştirildiği görülmektedir. Bunlar; dengeli ve yeterli beslenme ile kötü ve dengesiz beslenmedir. Dengeli ve yeterli beslenme büyüme ve gelişme süreçlerinin sağlıklı olması için kaliteli ve sağlıklı besin maddelerinin düzenli bir biçimde vücuda alınmasını ifade etmektedir. Dengesiz ve kötü beslenme ise insan vücudunun gereksinim duyduğu besinlerin yetersiz ya da aşırı miktarda alınması ve fazla çeşitliğe sahip besinlerin tüketilmemesi şeklinde ifade edilmektedir (Şanlıer ve Ersoy, 2003). Tip 1 diyabet hastalığının meydana gelmesinde dengesiz beklenme alışkanlıklarının da etkili olduğu göz önünde bulundurulduğu zaman, tip 1 diyabet hastalarında beslenme alışkanlıklarının değiştirilmesi tedavi sürecinin önemli bir bölümünü oluşturduğu belirtilmektedir (Ergün ve Karaca-Sivrikaya, 2012). Bu noktada beslenme alışkanlıklarının değiştirilmesine ve geliştirilmesine yönelik girişimler tip 1 diyabet bakımında önem verilmesi gereken bir konu olarak karşımıza çıkmaktadır (Atik-Altınok, 2019).

Beslenme alışkanlıklarının düzenlenmesi aynı zamanda beslenme tedavisi olarak da tanımlanmaktadır. Tip 1 diyabetli hastalarda beslenme tedavisi genel tedavi sürecinin önemli bir bileşenini meydana getirmektedir. Tip 1 diyabetli hastaların beslenme tercihlerinde fiziksel aktiviteye dayalı kişiselleştirilmiş bir diyet olması gerekmektedir. Beslenme tedavisi ile gıdaların kan glukozu üzerindeki etkileri dikkate alınarak gıda seçimi yapılmaktadır. Bunun yanında besinlerin insülin ve egzersiz ile ilişkisi de uygulanacak diyetin içeriğini belirlemede oldukça önemlidir (Chiang ve diğ., 2014).

Tip 1 diyabetli hastalarda günlük protein tüketiminin genel diyetin %25'ini oluşturması önerilmektedir. Yüksek düzeyde protein alımının hem büyümeyi hem de vitamin/mineral alımını olumsuz yönde etkileyeceği belirtilmektedir. Karbonhidrat alımının ise günlük diyetin %50-55'ini oluşturması gerektiği belirtilmektedir. İki yaşın üzerindeki hastalarda karbonhidrat alımında az yağlı süt ürünleri, kurubaklagiller ve tahılların tüketilmesi önerilmektedir. Bunun yanında yüksek glisemik indekse sahip karbonhidratlar yerine düşük glisemik indekse sahip karbonhidratlardan yararlanılmasının kan glukozunu dengelemeye yardımcı olacağı belirtilmektedir (Atik-Altınok, 2018; Kousar, 2019). Son yıllarda tip 1 diyabetli hastalarda yeterli ve sağlıklı düzeyde karbonhidrat alımını desteklemek için karbonhidrat sayımı yöntemi

kullanılmaktadır. Bu yöntemde hastaların günlük tükettikleri karbonhidrat miktarına uygun insülin dozunun ayarlanması amaçlanmaktadır (Keser, 2018).

Tip 1 diyabetin tedavi sürecinde hastaların yağ tüketimine de dikkat etmeleri önem arz etmektedir. Tip 1 diyabet hastalarının günlük diyetlerinde yağ tüketimine dikkat etmelerinin temel nedenlerinin başında metabolik kontrolün sağlanması ve olası komplikasyon gelişimlerinin en aza indirilmesine yağların etkili olması yatmaktadır. Yapılan çalışmalara göre tip 1 diyabet hastalarında tekli doymamış yağlardan zengin bir diyet programının insülin direnci üzerinde olumlu etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Çoklu doymamış yağlardan zengin bir beslenme programının doymuş yağlardan zengin bir diyete göre toplam LDL ve kolesterol düzeyini düşürdüğü görülmektedir. Ayrıca yapılan araştırma bulguları tip 1 diyabet hastalarında günlük diyet içerisinde yağ oranının %30-35'i aşmaması gerektiğine vurgu yapmaktadır (Bundak, 2011; Tümer ve Çolak, 2012).

Vitamin alımı da sağlıklı bireylerde olduğu gibi tip 1 diyabetli çocuklarda ve adolesanlarda da önemli bir yere sahiptir. Ancak yeterli ve dengeli bir beslenme programına sahip olan tip 1 diyabetli hastalarda takviye olarak vitamin ve mineral alımına gerek yoktur. Çünkü diyabetli çocuklar ile sağlıklı akranlarının günlük vitamin ve mineral gereksinimleri birbirine yakındır. Bunun yanında literatürde yer alan çalışmalarda mevcut beslenme programına ek olarak vitamin ve mineral takviyesi kullanımının hastalık semptomları üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı belirtilmektedir (Atik-Altınok, 2018).

Tip 1 diyabetli çocuklarda ve adolesanlarda tedavi sürecinde beslenme kurallarına ve diyet kalitesine dikkat edilmesinin birçok hedefi bulunmaktadır. Tip 1 diyabette beslenme biçiminin ve diyet kalitesinin temel hedefleri aşağıdaki gibi sıralanmaktadır;

- Diyabet hastası çocuk ve adolesanların büyüme ve gelişmelerini sağlıklı olmasına katkı sağlamak için mikro ve makro besin maddelerini sağlamak,
- Çocukların ve adoelsanların bireysel beslenme ihtiyaçlarını sağlamak ve hastaların sağlıklı beslenme alışkanlıklarını ömür boyu sürdürmelerine destek olmak,
- Sağlıklı besin maddeleri üç ana öğünde tüketmek, ara öğünlerde tüketilen besinlerin

hastalık özellikleri dikkate alınarak tüketilmesini sağlamak, kan glukoz düzeyini düzenli olarak izleyebilecek bir besin düzeyi oluşturmak,

- İdeal glisemik değerlere ulaşabilmek için metabolik gereksinimlere ve günlük enerji ihtiyacına uygun besinler tüketilmesini sağlamak,
- Tip 1 diyabette sıklıkla görülen hiperglisemi ve hipoglisemiyi kontrol altına almak, egzersiz yapmaya destek olacak besin maddelerini tüketmeyi sağlamak,
- Diyabetin tedavi sürecinde en yüksek verimi elde etmek, gerek mikro gerekse de makro komplikasyonları en aza indirmek,
- Diyabet komplikasyonlarına eşlik eden diğer sağlık sorunlarını en aza indirmek, tedaviye uygun beslenme ve yaşam alışkanlıkları kazandırmak (Atik-Altınok, 2018).

Yukarıda belirtilen beslenme ilkeleri tip 1 diyabetin yaygın olduğu çocukların yanında tip 1 diyabetli yetişkinler için de geçerlidir. Bunun yanında bazı zararlı alışkanlıklar tip 1 diyabetli yetişkinlerde hastalığın seyrini ve semptomların şiddetini etkileyebilmektedir. Örneğin; tip 1 diyabetli yetişkinlerde düşük düzeyde alkol kullanımının hastalık üzerinde herhangi bir etkisi bulunmamakla beraber bolus insulın nedenıyle cok fazla cıkartmıyor sekerı, yüksek düzeyde alkol tüketiminin kandaki glukozunun yükselmesine neden olduğu belirtilmektedir. Bunun yanında alkol kullanımının tip 1 diyabet hastalarının kullandıkları ilaçlarla etkileşim içine girmesi de muhtemel bir durumdur. Bu nedenle tip 1 diyabetli yetişkinlerin özellikle alkol kullanımında doktor kontrolünde hareket etmeleri gerektiği belirtilmektedir (Chiang ve diğ., 2014).

Tip 1 diyabetli hastalar doktor kontrolünde verilen ilaçları ve insülin takviyelerini kullanma konusunda oldukça bilgili olmakla beraber, çocuklar ile kıyaslandığı zaman yetişkin bireyler tip 1 diyabet hastası olarak günlük yaşamda hangi besin maddelerini hangi sıklıkla tüketecekleri konusunda da yeterli bilince sahiptirler. Bu noktada tip 1 diyabet hastası olan çocukların hastalığa özgü beslenme biçimleri konusunda bilgilendirilmeleri önemli bir konu olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu konuda yapılan araştırma bulguları (Altundağ, 2018; Hermanns ve diğ., 2013; Nansel ve diğ., 2015; Spiegel ve diğ., 2012) incelendiği zaman tip 1 diyabet hastası çocuklara ve ailelerine beslenme konusunda ve insülın miktarı ve nasıl uygulanması gerektiği verilecek olan eğitimlerin çocukların diyet alışkanlıklarını olumlu yönde değiştirmeye katkı sağladığını

ortaya koymaktadır. Bu nedenle tip 1 diyabetli çocuklara hastalıkla ilişkili eğitim verilmesi gerektiği belirtilmektedir (Gülcü ve diğ., 2020; Öngün-Yılmaz, 2017).

2.2.8. Tip 1 Diyabetes Mellitus Güncel Tedaviler

Pankreas nakli: Tip 1 diyabet tedavisinde kullanılan ve hastalar üzerinde olumlu etkilere sahip olduğu bulgularına ulaşılan güncel tedavilerin başında pankreas nakli gelmektedir (Coppelli ve diğ., 2005; Giannarelli ve diğ., 2006; Larsen ve diğ., 2004). Tip 1 diyabet hastalarında pankreas nakli yapılması hastalarda yaşamın ilerleyen dönemlerinde insülin kullanma gereksinimlerini ortadan kaldırmaktadır. Buna karşılık bazı hastalarda pankreas naklinin her zaman başarı sağlamadığı bilinmektedir. Başarı sağlamama riskine ek olarak ameliyatın genel sağlık açısından da bazı riskleri olduğu belirtilmektedir. Tip 1 diyabet hastalarında pankreas naklini önlemek amacıyla hastalara ömür boyunca bağışıklık sistemini baskılayan (immunospresif) ilaçlar verilmektedir. Ancak tedavi sürecinde kullanılan ilaçların infeksiyon riskini arttırarak organlarda zarara neden olabileceği ifade edilmektedir. Bu kapsamda pankreas nakli hastalığın önlenemediği ya da kontrol altına alınamadığı durumlarda yapılması önerilmektedir (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2011). Yapay pankreas nakli de son yıllarda üzerinde sıklıkla durulan tedavi yöntemleri arasında yer almaktadır. Yapay pankreas nakli konusundaki bulgular diyabet ile mücadelede önemli bir evre olarak görülse de bu alanda yapılan çalışmalar henüz sınırlıdır. Buna karşılık yapılan çalışmalar potansiyel etkileri göz önünde bulundurulduğu zaman yapay pankreas fikrinin tıp dünyasında heyecan verici bir konu olduğunu göstermektedir (Yıldırım-Şimşir ve Çetinkalp, 2017).

Kök hücre tedavisi: Tip 1 diyabette yaygın olarak kullanılmaya başlanan diğer bir güncel tedavi yöntemi kök hücre tedavisidir. Tip 1 ve Tip 2 diyabetin ortaya çıkmasında pankreasta yer alan beta hücrelerin hasar görmesi önemli faktörler arasında yer almaktadır. Beta hücrelerin hasar görmesi retinopati, nöropati, nefropati ve kardiyovasküler hastalıklar gibi birçok sekonder komplikasyonun da ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu noktada tip 1 diyabetli hastaların hayatları boyunca insülin takviyesi kullanmaları yerine pankreas transplantasyonu daha iyi bir seçenek olarak değerlendirilmektedir. Ancak uygun donör bulma konusunda yaşanan sorunlar nedeniyle günümüzde hastalara pankreas yerine adacı hücrelerin aktarılması daha kolay

operasyonlar ile gerçekleştirilmektedir. Geliştirilen nanoteknolojik yöntemler vasıtasıyla adacık hücrelerinin yenilenmesi hem hücrelerin bağışıklık sistemlerini geliştirmekte hem de hücrelerin sahip oldukları işlevleri uzun yıllar sürdürmelerine katkı sağlamaktadır (Özer, 2017). Cilaker-Mıcıllı ve Özoğlul'a (2007) göre, tip 2 diyabette beta hücrelerde insülin salınımı yetmezliği görülürken, tip 1 diyabette beta hücrelerin immun sisteme bağlı olarak yıkımı söz konusudur. Her iki diyabette de Langerhans adasının beta hücreleri hasar görmektedir. Kök hücre tedavisinin temelleri de beta hücrelerin yeniden elde edilmesi ya da olgun hücrelerin replikasyonları ile yeni hücrelerin oluşturulması esasına dayanmaktadır. Kök hücre tedavisinin başarılı olabilmesi için beta hücrelerinin embriyonik gelişimden itibaren moleküler özelliklerinin ve bu hücrelerin yıkımına ait mekanizmaların iyi bilinmesi önem arz etmektedir.

Tip 1 diyabet ile mücadele sürecinde uyarılmış pluripotent kök hücrelerin kullanılabileceği de öngörülmektedir. Uyarılmış pluripotent kök hücreler farklılaşmış olan somatik yapıdaki hücrelerin yeniden programlama yöntemi ile elde edilmesi esasına dayanmaktadır. Söz konusu kök hücreler embriyonik hücreler ile benzerlik göstermekle beraber, pluripotent hücre tipi olarak değerlendirilmektedir. Bu nedenle ilaç tarama, hastalık modelleme, rejeneratif tıp ve hücre terapisi gibi alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Pluripotent kök hücrelerin uygulama alanları içerisinde diyabetin önlenmesine yönelik model oluşturulması da gelmektedir. Bu alanda yapılan uygulamalar ile yıpranan beta hücrelerin yerine insülin üreten hücreler ortaya çıkarılması söz konusudur. Pluripotent kök hücrelerin kullanımında kat edilen mesafenin önemli olduğu görülmekle beraber, uyarılmış pluripotent kök hücrelerin kullanımında optimum verimlilik ve güvenilirlik çalışmalarının yapılması gerektiği belirtilmektedir (Şanlıoğlu, 2019).

Tip 1 diyabetle mücadelede son yıllarda faz çalışmalarına da ağırlık verildiği, yapılan çalışmalarda farklı bulgulara ulaşıldığı göze çarpmaktadır. Hummel ve diğ. (2011) tarafından yürütülen faz çalışmada çocuklarda tip 1 diyabet ile ilişkili risk faktörlerinin azaltılmasında diyet müdahalesinin etkileri ele alınmıştır. Araştırmanın uygulama sürecinde aile öyküsü olan bireylerde glüten alımının azaltılmasının otoimmuniteyi sağladığı ve tip 1 diyabet riskini azalttığı rapor edilmiştir. Knip ve diğ. (2011)

tarafından yürütülen diğer bir faz çalışmasında klinik tip 1 diyabet için risk faktörlerinin azaltılmasında anne sütünün etkileri ele alınmıştır. Araştırmada elde edilen bulgulara göre anne sütü ile beslenmenin yanında inek sütü proteinlerinin beta hücrelerin daha sağlıklı olmasına katkı sağladığı rapor edilmiştir. Harris (2005) tarafından yapılan çalışmada ise D vitamini kullanımının tip 1 diyabeti önlemede etkili bir yöntem olduğu tespit edilmiştir.

2.3. CTLA-4 ve Tip 1 Diabetes Mellitus

T1DM'nin de içerisinde yer aldığı otoimmün hastalıklar kategorisinin genel tanımı; normal şartlar altında vücudun kendisinde bulunan maddelere ve dokulara karşı göstermeyeceği bağışıklık tepkilerini göstererek hücre, doku, organ ve sistemlere verdiği zararlar sonucu ortaya çıkan ve neden olan hastalıkları ifade etmektedir (Tang ve diğ., 2012). Diğer bir deyişle vücudun normal şartlarda göstermeyeceği bağışıklık yanıtlarını göstermeye başlayarak yine vücudun kendi kendisine verdiği zararlar sonucunda ortaya çıkan hastalıkların ifade etmektedir. Günümüze kadar yapılan araştırmalarda kalıtsal genetik bilgiler, hastalıklara duyarlı alellerin birden fazla lokusta yer alması ve çevresel faktörlerin otoimmün hastalıklarınların ortaya çıkmasına katkıda bulunan faktörler arasında yer aldığı tespit edilmiştir (Knip ve diğ., 2005; Todd, 1991; Wang ve diğ., 2005). En bilinen örnekleri arasında yer alan T1DM'in gelişiminde çok sayıda genetik ve çevresel faktör rol oynadığı bilinmektedir (Becker, 1999; Genc ve diğ., 2004). Bu otoimmün hastalık HLA sınıf II alelleri ve haplotipleri ile ilişkilendirilmektedir. Özellikle DRB1*03-DQB1*02 ve PTPN22 (protein tirozin fosfataz non-reseptör tip 22) sentezlendiği lenfoid spesifik fosfataz T hücre aktivasyonu geni diğer ismi ile insanlarda 2q33 kromozomunun uzun kolunda yer alan ve CTLA-4 proteinini kodlayan sitotoksik T-lenfosit ilişkili antijen-4 (CTLA-4) geni kostimülatör molekülü ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Chelala ve diğ., 2007; Huang ve diğ., 1996). CTLA-4 geni T hücresine negatif bir sinyal ileterek apoptoza aracılık etmek için antijen sunan hücreler üzerindeki T hücresi yüzey molekülünü kodladığı bilinmektedir (Kristiansen ve diğ., 2000). T1DM'de 12 lokusuyla eşleşen CTLA-4 geni, T-hücresine özgü bir transmembran yardımcı reseptörünü kodlamaktadır (Polychronakos ve Li, 2011; Wang ve diğ., 2017) ve CTLA-4 geninin çoklu tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) içerdiği bilinmektedir (Ligers ve diğ., 2001). Aynı şekilde PTPN22 geninde

bulunan arginin/triptifan bölgesi olan R620W2'deki aminoasitte oluşabilecek değişiklik sonucu T hücrelerin reseptörlerindeki azalan sinyallerin ardından oto reaktif T hücrelerin proliferasyonunda hızlı bir artış yaşanır.Bu durum da T regülasyon hücreleri doğrudan etkileyerek dengisi ve sinyali bozulmuş IL-2 ile ilişkilidir Bu birbiri ile bağlantı durumlar ise T1DM dahil bir çok otoimmün hastalıkların oluşumundaki rollerinin saptanmasını sağlamaktadır (Begovich ve diğ., 2004; Bottini ve diğ., 2004; Kyogoku ve diğ., 2004; Long ve diğ., 2011; Spence ve Tang, 2016). Dolayısıyla hem farelerde hem de T1DM'li hastalarda T regülasyon hücreleriyle ilişkili bir başka belirgin diyabet duyarlılık lokusu ise CTLA-4'tür (Araki ve diğ., 2009; Hakonarson ve diğ., 2007; Read ve diğ., 2000; Ueda ve diğ., 2003).

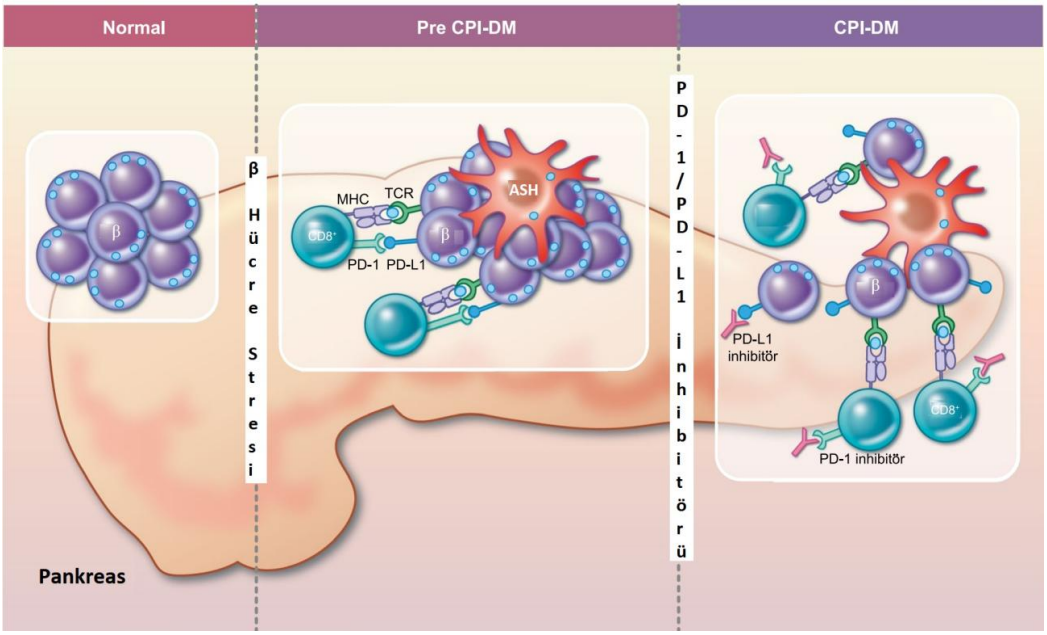
T1DM, kanser gibi hastalıklarda immün kontrol noktası inhibitörleri (ICI), T hücresi aktivasyonunu inhibe eden düzenleyici immün kontrol noktası moleküllerine karşı yönlendirilen monoklonal antikorlardır (Zhang ve diğ., 2020). Bağışıklık kontrol noktası inhibitör kaynaklı Diabetes Mellitus (CPI-DM / Immune checkpoint inhibitor induced diabetes mellitus) için diyabetik ketoasidoz (DKA) varlığı veya insülin C-peptid düzeylerinin çok düşük veya hiç olmaması, akut tanıdan sonra haftaları takiben aylar boyunca insülin kullanımı ile karakterize edilen mutlak bir insülin eksikliği olarak kesin tanım bulunmasına rağmen tıp dünyasında tam kabul görmüş bir versiyonu bulunmaması nedeni ile çeşitli raporlarla CPI-DM için farklı vaka tanımları kullanılmıştır (Quandt ve diğ., 2020). Bu tanım T1DM ile bağdaşırken ağırlaşmış tip 2 Diabetes Mellitu'tan (T2DM) ayırt edilmelidir. Fakat aynı zamanda CPI-DM, önceden var olan T2DM'ye rağmen ortaya çıkan vakalar da tespit edilmiştir. Ancak önceden var olan T2DM'de insülin kullanımı olmaksızın iyi kontrol edilmediği sürece, CPI-DM'yi ağırlaşmış T2DM'den ayırt etmek son derece zor olmasını sağlamaktadır (Kotwal ve diğ., 2019; Stamatouli ve diğ., 2018; Tsang ve diğ., 2019). CPI-DM bir diğer kesin tanısında yardımcı faktörler arasında bazen 1000 mg/dl'den fazla belirgin hiperglisemi gözükmesine rağmen hemoglobin A1c (HbA1c) seviyelerinde ise sadece hafif yükseklik (%7.6-8.0%) görülür (De Filette ve diğ., 2016; Stamatouli ve diğ., 2018; Tsang ve diğ., 2019). Aynı zamanda bazı hastaların klinik tanı başvurularında pankreatik lipaz seviyeleri yüksek iken ilginç bir şekilde pankreasın boyutunda da küçülme tespit edilmiştir (De Filette ve diğ., 2016; Stamatouli ve diğ., 2018). Tüm bu kesin tanı faktörleri göz önünde tutulduğunda pankreas ekzokrin disfonksiyonunun hastalığın

başlangıcında rol aldığını düşündürmektedir (Zhang ve diğ., 2020). CPI başlangıcından CPI-DM'nin başlangıcına kadar geçen süre hastadan hastaya değişkenlik gösterdiği belirtlenmiştir. İlk tedavi başlangıcından sonraki günler ile tedavinin başlamasını takip eden yıllar içinde ortaya çıkar (Akturk ve diğ., 2019; De Filette ve diğ., 2016; Galligan ve diğ., 2018; Kotwal ve diğ., 2019; Stamatouli ve diğ., 2018). Raporlarda tanı sürecine kadar geçen ortalama sürecin 7 ile 17 hafta arası değişmekte olduğunu belirtmişlerdir (Akturk ve diğ., 2019; Clotman ve diğ., 2018; Stamatouli ve diğ., 2018; Wright ve diğ., 2018). CPI-DM tanısında yer alan DKA, pozitif adacık otoantikorları ve PD-1 ve CTLA-4 inhibitörleri kombinasyonunun bir kısmının veya hepsinin bir arada bulunması hastalığın başlangıç hızında farklılıklar oluşturması, CPI-DM'de mekanik heterojenite olasılığını düşündürmektedir (Akturk ve diğ., 2019; De Filette ve diğ., 2016; Stamatouli ve diğ., 2018). CPI-DM kalıcı bir durum olmasına rağmen literatürde rapor edilmiş sadece 2 vaka hakkında insülin tedavilerinin sonlandırıldığı belirtilmiştir (Quandt ve diğ., 2020). Bu iki vakadan ilki, metastatik melanom nedeniyle 400 mg/dl'nin üzerinde şiddetli açlık hiperglisemi geliştiğinde bir PD-1 inhibitörü olan pemb pembrolizumab tedavisinin uygulandığı 58 yaşında erkek bir bireydi (Hansen ve diğ., 2016). Bu hastada anti-GAD65 otoantikorları saptanmasına rağmen DKA yoktu ve C-peptid seviyesi kontrol edilmediği rapor edilmişti. Pembrolizumab tedavisi durdurularak multidoz insülin tedavisi başlandığı ve 3 hafta insülin kullanımından sonra hastada hafif yüksek açlık kan şekeri ve normal aralıkta olan C-peptid tespit edilmiştir. İnsülin tedavisinin durdurulması ile hafif diyabetik sınırda açlık kan şekeri ile normal seviyede C-peptidi saptandığı bildirilmiştir (Quandt ve diğ., 2020). Bu vaka ile alakalı belirtilen bir diğer unsur ise akut hiperglisemi saptanmasına karşı vakanın hiçbir zaman insülinopenik olmamış olması CPI-DM tanımı için kesin faktörleri karşılamadığını belitmişlerdir (Quandt ve diğ., 2020). İnsülin tedavisinin sonlandırıldığı ikinci vaka hakkında ise metastatik melanom rahatsızlığı için CTLA-4 inhibitörü olan ipilimumab ile PD-1 inhibitörü olan nivolumab kombinasyondan uygulanan tedaviyi alan 53 yaşında erkek bir bireydir (Trinh ve diğ., 2019). Fakat kendisinde bağışıklık aracılı hipoparatiroidizm (çok nadir görülen bir endokrin irAE (immune-related adverse events/bağışıklıkla ilgili advers olaylar) ile kolit gelişimi nedeniyle CPI (bağışıklık kontrol noktası inhibitör) tedavisi durdurularak oral kortikosteroidler ve infliksimab verilmeye başlandığı, kolit rahatsızlığı düzeldiğinde ise tekrardan nivolumab ile

tedaviye yeniden başlandığı rapor edilmiştir (Quandt ve diğ., 2020; Trinh ve diğ., 2019). Günler sonra vakada, ilk vakanın aksine insülinopeni hiçbir zaman tespit edilmemesine rapmen yetersiz C-peptid, 400 mg/dl ve üstü rastgele kan şekeri ölçümü, saptanabilir adacık otoantikorları, karışık bir yemek tolerans test (MMTT - mixed meal tolerance test) sonucu bozulmuş insülin sekresyonu ve azalmış periferik insülin duyarlılığı geliştiği belirtilmiştir. Vakanın bu etkenler sonucu aldığı yeni diyabet tanısı sonucu insülin kullanımına başlanmış ve bu tedavi penceresi sırasında diyabeti düzelerek insülini bıraktığı belirtilmiştir. Yine bu vakada, ilk vakada olduğu gibi kesin CPI-DM tanımı karşılamaması nedeni ile CPI-DM'den iyileşme örnekleri olup olmadığı kesinlik içermediği, bunun yerine steroid kaynaklı hiperglisemik durumlarda karşılaşılan kısmi β hücre yıkımı veya bozulmuş insülin duyarlılığından iyileşme örneği olarak belirtilebileceği vurgulanmıştır (Quandt ve diğ., 2020). Vaka durumların göz önünde tutulduğunda ise CPI-DM'nin CPI tedavilerine gelişmiş bir tümör yanıtının habercisi diğer bir deyiş ile tümör yanıtının bir belirteci olabileceği bildirilmiştir (Quandt ve diğ., 2020; Stamatouli ve diğ., 2018; Tsang ve diğ., 2019). Dolayısıyla CPI-DM'nin altında yatan mekanizmaların neler olduğunu öğrenmenin anlama gelebileceğini bilinmesi önemsenmiştir (Quandt ve diğ., 2020). Vakaların CPI-DM için tedavileri incelendiğinde çoğunda PD-1 inhibitörü kullanıldığını hatta vakaların yaklaşık dörtte üçü CPI-DM tanı sırasında PD-1 inhibitörü monoterapisinde oldukları görülmüştür (Stamatouli ve diğ., 2018; Wright ve diğ., 2018). Fakat vakaların aldıkları tedavi sonuçları göz önünde tutulduğunda ise en yaygın olarak kullanılan ve en verimli sonuçların alındığı, %17 kullanım oranı ile PD-1 ve CTLA-4 inhibitörleri kombinasyonudur. Devamında sırası ile %6 oranında PD-L1 inhibitörleri, %3 oranında CTLA-4 monoterapisi yer almaktadır (De Filette ve diğ., 2016; Kotwal ve diğ., 2019; Stamatouli ve diğ., 2018; Tsang ve diğ., 2019; Wright ve diğ., 2018). CPI-DM vakalarının %95'inden fazlasında PD-1/PD-L1 inhibitörlerinin etkisi, pankreas adacıklarına karşı toleransa aracılık etmede PD-1/PD-L1 ekseninin önemini vurgulamaktadır (Şekil 2.9). İmmün kontrol noktası inhibitörleri, T hücrelerinin yüzeyinde yer alan sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen-4 (CTLA-4) ve T hücreler yüzeyinde yer alan programlanmış hücre ölümü-1 (PD-1) ve tümör hücreleri ve diğer antijen sunan hücreler üzerinde ifade edilen programlanmış hücre ölümü ligandı-1 (PD-L1) içerir. Normal koşullarda CTLA-4 ve PD-1 bağışıklık kontrol noktaları, kendine karşı bağışıklık toleransını korur (Pardoll ve diğ., 2012; Ribas ve Wolchok,

2018; Zhang ve diğ., 2020). Otoimmün diyabet ile alakalı çalışmalarda, diyabetin ilerliyişi ile ilgili deney hayvanları hastalık modellemelerinde beta hücrelerinde sadece PD-L1 ekspresyonunun artmasına rağmen CD80 veya CD86 ekspresyonunun (CTLA-4 ligandları) olmadığı bulunmuştur (Rui ve diğ., 2017).

Aynı bulgular CPI-DM vakaların %95'inde fazlasında tespit edilmiş ve PD-1/PD-L1 inhibitörlerinin pankreas adacıklarına karşı toleransa aracılık etmede önemli rolleri olduğu rapor edilmiştir (Quandt ve diğ., 2020). Diğer yandan NOD yetişkin fareler üzerinde yapılan çalışmalarda CTLA-4 inhibitörünün değil fakat PD-1 inhibitörünün diyabeti hızlıca indüklediği fark edilmiştir (Anasi ve diğ., 2003; Lühder ve diğ., 1998). Deneyler sonucu CPI-DM'nin ilerleyiş mekanizmasında genetik yatkınlığın önemli rolu bulunduğu ve bu bireylerde muhtemel birbirinden önemli 2 gerekli faktör olduğu anlaşılmıştır. Birincisi tam olarak nedeni bilinmeyen faktörlerle beta hücre stresinin tetiklenmesi ve stres sonrası beta hücresine karşı PD-L1 ekspresyonu aracılığıyla CD8+ T hücrelerinin ve ASH'lerin aktifleşerek beta hücrelerine karşı immün atakların hazırlanmasıdır. İkinci ise PD-1/PD-L1 inhibitörüne maruz kalarak yeniden CD 8+ T hücrelerini canlandırdığı ve bu sayede beta hücre destrüksiyonu gerçekleşmektedir (Quandt ve diğ., 2020) (Şekil 2.9.).



Şekil 2.9. CPI-DM oluşumu mekanizması (Quandt ve diğ., 2020)

İnsanlarda diyabetik pankreas dokusuna erişim klinik ve hayati nedenlerle kısıtlı da olsa da CPI-DM vakasında pankreas patolojisine ilişkin tek bir vaka raporu mevcuttur (Yoneda ve diğ., 2019). Vaka raporunun, tipik bir CPI-DM'si olan bir vakaya ait olması ve CPI-DM pankreasının patolojisine ilişkin tek rapor olma özelliğini taşıması CTLA-4, PD-1 ve PD-L1 ekspresyon ve ilişkilerinin, insüline bağımlı diyabet patogenezi açısından büyük önem taşımaktadır. Bu rapor 63 yaşında, iyi kontrol edilen T2DM'si olan bir erkek bireydir. Bu vakada radikal pankreatektomiye yol açan metastatik renal hücreli karsinom için PD-1 inhibitörü olan nivolumab tedavisi kullanılırken CPI-DM geliştiği belirtilmiştir. Tümor olmayan pankreas dokusunun immünhistokimyasal boyamasında adacık hücrelerinde artan T hücre infiltrasyonu ile çok az sayıda beta hücresi tespit edilmiştir. Adacıkların hem içinde hem de çevresinde CD8+ T hücreleri CD4+ T hücrelerine göre daha fazla saptanmış ama makrofaj görülmediği belirtilmiştir. Raporda belirtilen bir diğer önemli nokta ise adacık hücrelerinn büyük çoğunluğunun PD-L1 negatif geriye kalmış az sayıdaki β hücrelerinin de hiçbiri PD-L1'i eksprese etmediği gözlemlenmiştir. Bu bulgular dikkatlice yorumlandığında, insülin kullanımını zorunlulu kılan bu hastalığın hem oluşumda ve ilerleyişinde hem de tedavisinde CTLA-4, PD-1, PD-L1 ve CD8 + T hücrelerin birbirleriyle olan ilişkilerinin önemini vurgulamaktadır. Daha da önemlisi destrüksiyondan kaçmayı başarmış birkaç beta hücresinde PD-L1 ekspresyonunun olmaması, destrüksiyon öncesi bu hücrelerin PD-L1'yi eksprese edip etmediği ve beta hücre yıkıma yol açıp açmadığı konusunda soruları gündeme getirmektedir.

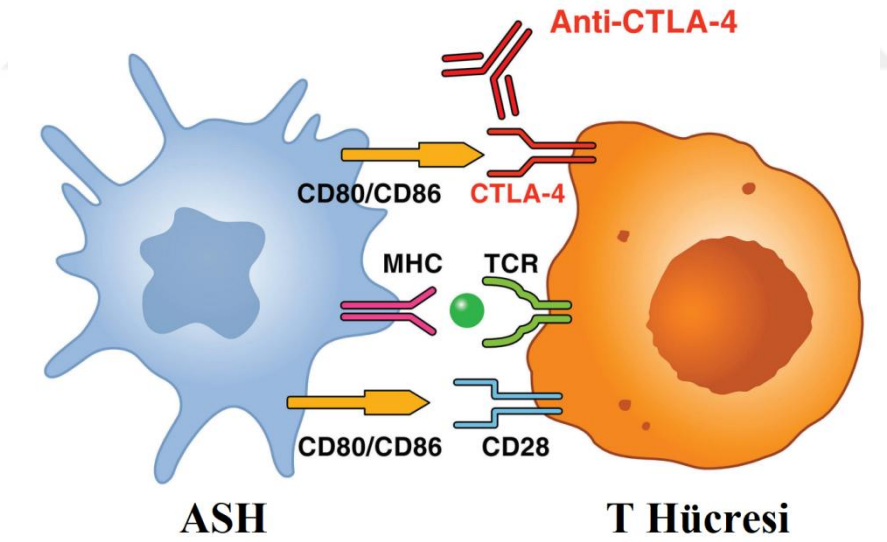
İnsüline bağımlı bir diğer diyabet olan T1DM'de CTLA-4'ün rolü hakkında, sessiz ve aktive edilmiş T hücreleri ile lenfoid olmayan hücreler üzerinde eksprese edilen 40 kDa'lık bir transmembran glikoproteini olan CTLA-4'ün aynı zamanda antijen sunan hücrelerin (ASH) (antigen-presenting cell/APC) varlığında T hücrelerinde sinyal iletimini azaltabildiği bilinmektedir (Wells ve diğ., 2001). Kısaca CTLA-4, T hücre aktivasyonunun bir inhibitörü olarak görev yapan bir transmembran reseptörüdür (Brunet ve diğ., 1987; Green ve diğ., 1994; Hao ve diğ., 2022; Linsley ve diğ., 1992; Tivol ve diğ., 1995; Walunas ve diğ., 1994; Waterhouse ve diğ., 1995). Ayrıca yapılan araştırmalarda, CTLA-4 ekspresyonununda oluşabilecek herhangi bir azalmanın T hücresi ile ilişkili otoimmünite ve lenfoproliferatif hastalıklar ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. CTLA-4, düzenleyici T hücreleri tarafından yapısal olarak eksprese edilir

ve immün tolerans ve immün homeostazı için vazgeçilmezdir (Wing ve diğ., 2008). CTLA-4 ekspresyonu B hücreleri, fibroblastlar, CD34+ kök hücreler ve granülositlerde de bildirilmiştir. Ancak CTLA-4 ekspresyonunun bu hücreler üzerindeki önemi ve etkisi henüz tam olarak tespit edilememiştir (Kaufman ve diğ., 1999; Pistillo ve diğ., 2003; Quandt ve diğ., 2007). CTLA-4, lösemik B hücreleri dahil olmak üzere immün hücre malignitelerinde, meme kanseri hücreleri, melanom ve çeşitli karsinomlar tarafından eksprese edildiği rapor edilmiştir (Do ve diğ., 2019; Mo ve diğ., 2017; Oyewole-Said ve diğ., 2020). CTLA-4'ün T hücre aktivasyonlarını değiştirmek için çeşitli şekillerde hareket ettiğine dair çalışmalar bulunmaktadır. Bunlardan ilki; CD80/86 için CD28'in yerine geçerek ortak stimülasyonu inhibe eder (Collins ve diğ., 2002) ve immün sinapsların merkezi supramoleküler aktivasyon kümelerine (cSMAC) translokasyon için CTLA-4 ve CD28 arasında gerçek zamanlı rekabet yaşandığı gösterilmiştir (Yokosuka ve diğ., 2010). CTLA4'ün ayrıca sitoplazmik kuyruğuyla protein fosfataz 2A (PP2A) ve tirozin fosfataz SHP-2'yi dahil edip AKT, ERK ve MEK sinyal yolakları dahil olmak üzere birçok kinazı defosforilazasyon aracılığıyla T hücresi aktivasyonunu inhibe ettiği rapor edilmiştir (Chuang ve diğ., 2000; Lee ve diğ., 1998; Schneider ve diğ., 2002). 2000 yılında Masteller ve diğerlerinin yapmış oldukları deneylerde bu hücreye özgü fonksiyonlar, sitoplazmik kuyruğu, lenfositik infiltratları ve otoimmün hastalığı olmayan mutant CTLA-4'ü eksprese eden bir fare modeli araştırmışlardır. Bir başka çalışmada ise CTLA-4'ün, CD80 ve CD86'nın varlığını azaltarak bağışıklığı değiştirmeye çalıştığı gösterilmiştir. CTLA4 yüksek oranda endositik (endositoz gerçekleştiren) bir moleküldür ve antijen sunan hücrelerden CD80/86'yı yakalayıp uzaklaştırdığı, bu ligandları bozunması için lizozomlara yönlendirdiği gösterilmiştir (Queshi ve diğ., 2011). CTLA-4'ün literatürde kanıtlanmış diğer eylemleri arasında hücre adhezyonu ve hareketliliğin düzenlenmesini kapsamaktadır. CTLA-4'ün ligasyonu, T hücre hareketliliğini arttırdığı ve T hücreleri ile antijen sunan hücreler arasındaki temas sürelerini azalttığı ve bunların sonucu olarak peptid-MHC kompleksleri için düşük afiniteli T hücrelerinin uygunsuz aktivasyonunlarını önleyebileceği öngörülmüştür (Schneider ve diğ., 2006). Bir diğer ligasyon çalışması ise 2014 yılında Kong ve diğ. tarafından yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda ise CTLA-4'ün ligasyonu, T düzenleyici hücre ile ASH arasındaki etkileşimlerini modüle etmek için GIT-2 ve PAK-2 ile bir kompleks oluşturak PKC-eta'yı (Protein Kinaz C eta

tipi/izoformu) alır ve PKC-eta eksikliği olan T düzenleyici hücreler ASH'lerden ayrılamaz ve CD86 yakalama ile transendositozda hata sergilerler. İnsanlar ve farelerle yapılan deneylerden bağışıklıkla ilgili lokuslar, birçok otoimmünite rahatsızlıkların gelişiminde rol oynadığı ve bu gelişim içerisinde bağışıklık kontrol noktası genleriyle yakından ilişkili olduğu anlaşılmıştır (Anderson ve Bluestone, 2005; Driver ve diğ., 2011). NOD fareler üzerinde T1DM oluşum mekanizmasını daha yakından anlamak için yapılan araştırmalarda, bu önemli noktaların özellikle ilgili bağışıklık kontrol noktalarında lokalize olan insüline bağımlı diyabet (idd, insulin-dependent diabetes) duyarlılık lokuslarını içeren IL-2 ve IL-21 (idd3), CTLA-4, indüklenebilir yardımcı uyarıcı molekül (ICOS, inducible co-stimulatory molecule) (idd5) ile TNFRSF9 (CD137), TNFRSF8 (CD30) ve TNFRSF1B (TNFR2) (idd9) gibi düzenleyici T hücrelerinde (Treg) veya CD8+ T hücrelerin işlevlerine aracılık eden TNF sinyalleşmesiyle ilgili genlerdir (Ivakine ve diğ., 2006; Lyons ve diğ., 2000; Todd ve Wicker, 2001). Özellikle idd3, idd5 ve idd9 barındıran farelere uygulanan anti-PD-L1 tedavisini sonucu T1DM başlangıcının geciktirebildiği gözlemlenmiştir (Kochupurakkal ve diğ., 2014).

Günümüze kadar CTLA-4 polimorfizmi ile T1DM oluşumu arasındaki ilişkiyi araştırmak için bazı çalışmalar (ekson 1'deki 49A/G polimorfizmi, 3′ UTR bölgesindeki CT60A/G polimorfizmi) (Kouki ve diğ., 2002; Larsen ve diğ., 1999; Nistico ve diğ., 1996) yapılmış olmakla beraber CTLA-4 ile Sistemik Lupus Eritematozus, Multipl Skleroz, Romatoid Artrit ve otoimmün endokrinopatiler gibi otoimmün hastalıklarla ilgili araştırmalarda bulunmaktadır (Harbo ve diğ., 1999; Vaidya ve diğ., 2002). CTLA4 geninin hem kodlama hem de promotör bölgelerinde bir dizi yaygın polimorfizm rapor edilmiştir ve bu araştırmalar, kalıtsal genin T1DM duyarlılığına katkıda bulunduğu rapor edilmiştir (Douroudis ve diğ., 2009; Ihara ve diğ., 2001; Osei-Hyiaman ve diğ., 2001). Bu polimorfizmlerle alakalı olarak en çok çalışılan 49A/G'dir ve yapılan çalışmalarda T1DM oluşumunda %47'lik bir risk artışı ile bağlantılı bulunup bu polimorfizm ve T1DM aralarında güçlü bir ilişki olduğu tespit edilmiştir (Kavvoura ve Ioannidis, 2005; Khodaeian ve diğ., 2015; Nistico ve diğ., 1996; Yanagawa ve diğ., 1999). Deney hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, CTLA-4 eksikliği olan farelerde hücrelerinin büyük bir poliklonal genişlemesi ve çoklu organ doku yıkımılarının sıklıkla tespit edilmesi CTLA-4'ün T hücrelerinin çoğalmasında ve işlevinde çok önemli bir rol

oynadığının rapor edilmesini sağlamıştır (Waterhouse ve diğ., 1995). Yine aynı çalışmada B7 ve CTLA-4'ün entegrasyonunun T hücrelerinin ekspresyonunu inhibe ettiği rapor edilmiştir. T1DM patogenezinde lefositlerin apoptozisi ile yakında ilişkilidir. NOD (obez olmayan diyabetik) fareler üzerinde yapılan araştırmalarda ise lenfositlerinin çeşitli apoptoz sinyallerine dirençli olduğu bildirilmiştir. En önemli nedenleri arasında da CTLA-4 ve CD28 kostimülatör moleküllerin eksikliği nedeniyle CTLA-4 ve/veya CD28'in apoptoz direncinin ve diyabet duyarlılığının kontrolünde rol oynayabileceğini gösterilmiştir (Colucci ve diğ., 1997). CTLA-4, T regülasyon hücrelerinin gelişimi ve homeostaz için gerekli CD28 sinyali, CD80 ve CD86 ligandlarına bağlanarak önler. Ayrıca efektör T hücre farklılaşması ile T regülasyon hücrelerin homeostazı için gereken uyarım miktarı arasında niceliksel bir fark vardır. Ve bu noktada CTLA-4 kullanılarak uyarımın kısmi blokajı hem fare hem de insanlarda T regülasyon hücreler üzerinde minimal düzeyde bir etkisi olurken efektör hücre aktivasyonunu önleyerek bu hücreler üzerinde ise önemli etki gösterebildiği saptanmıştır (Bluestone ve diğ., 2008; Tang ve diğ., 2004) (Şekli 2.10).



Şekli 2.10. CTLA-4 ve bağışıklık mekanizması (Poto ve diğ., 2022)

Yapılan bir başka araştırmada ise Orencia adıyla piyasaya sürülmüş, hem insan CTLA-4 proteininin (ekstraselüler domeninin) hem de insan IgG1'in bir füzyon proteini olan Abatacept (CTLA4-Ig) ilacı kullanılmıştır. Bu ilacın amacı T hücrelerinin bağışıklık üzerindeki aktivitelerini etkileyerek otoimmün hastalıkları tedavi etmek amaçlanmaktadır. Yapılan bu çalışmada, yeni tanı almış T1DM bireylere bu protein

intravenöz tedavi (doğrudan damardan yoluyla) şekilde verilerek pankreatik beta hücreleri destrüksiyon oranlarında azalmalar yaşanmıştır ve bu iyileştirici etkileri hem beta hücreleri hem de HbA1c üzerinde tedavi bitiminden sonra en az bir yıl sürdüğü tespit edilmiştir (Orban ve diğ., 2011; Orban ve diğ., 2014). Günümüzde NCT01773707 numarası ile yer alan ve T1DM tedavisi için umut vadeden, klinik denemelerde (clinicaltrials.gov) yer alan bu çalışma hala devam etmekte olup en son güncellenmesi 15 Nisan 2022 tarihinde yapılmıştır. Bir diğer önemli çalışma ise 2019 yılında yapılmıştır ve anti-CD3 monoklonal antikoru olan teplizumab kullanılarak yüksek riskli bireylerde T1DM'nin başlamasını geciktirdiği bildirilmiştir (Herold ve diğ., 2019).

CTLA-4'ün ve ilişkili olduğu diğer faktörlerin tespit edilmesiyle hem T1DM hem de kanser gibi hastalıkların tedavilerinde immünomodülatör molekül hedefli gelişim sağlanabilir. Aynı şekilde beta hücre destrüksiyonunun erken tespitine olanak sağlayacak biyobelirteçlerin keşfi, hastaların insülin üretiminin tamamen kaybından önce tanımlanması için hayati önem taşıyacak olacaktır. Örnek olarak; T1DM tespitinde, INS1 (insülin 1 geni) ve INS2 (insülin 2 geni) olan insülin genelerinin β hücresine özgü DNA demetilasyonu aracılığıyla periferik kandaki glisemik kontrolü üzerinde meydana getirebileceği değişiklikler, tamamen nicelik veya nitelik özelliklerinin kaybından önce β hücre işlev bozukluğunu tanımlanabilir (Akirav ve diğ., 2011; Husseiny ve diğ., 2012; Husseiny ve diğ., 2014; Rui ve diğ., 2016).

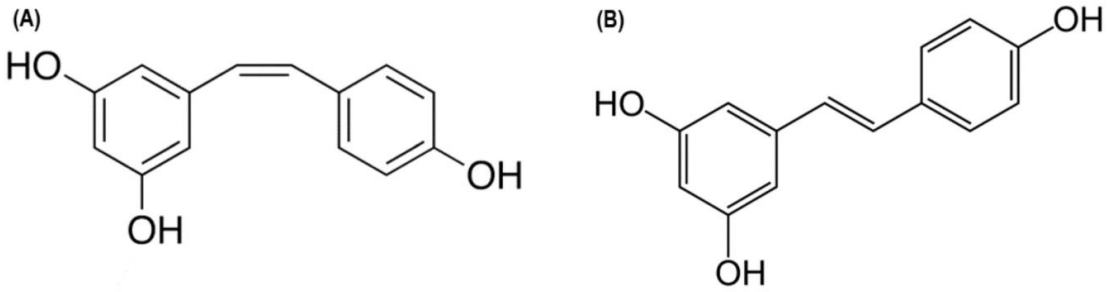
Özetle CTLA4, aktive edilmiş T hücreleri üzerinde eksprese edilen bir glikoprotein reseptörüdür ve CD28, antijen sunan hücreler tarafından T hücrelerinin aktivasyonunun düzenlenmesi sürecinde ve ardından hücresel bağışıklıkta yer alır (Walunas ve diğ., 1996; Wang ve diğ., 2014). CTLA4 geninin polimorfizmlerinin, aktive edilmiş immün yanıtlarının azalması nedeniyle çeşitli otoimmün hastalıklara duyarlılık kazandırdığı gösterilmiştir (Kouki ve diğ., 2000). CTLA-4'ün T hücre aktivasyonu ile T ve B hücre etkileşimlerinin düzenlenmesindeki rolleri nedeniyle otoimmün hastalıkların etiyolojisinde yer alan bir gen olarak kabul edilmesini sağlamıştır (Lane, 1997). Özellikle CTLA4 geninin 49G/G genotipi, CTLA-4'ün azaltılmış inhibitör fonksiyonu ile ilişkilendirilirken (Kouki ve diğ., 2000), CT60 polimorfizminin C aleli ile bağlantısının hem CTLA4'ün azalan fonksiyonunun hem de otoimmün hastalık korumasıyla bağlantılı T/T genotipini taşıyan bireylere göre T hücrelerinin daha

hiperaktif olmasına, periferik antijenlere daha fazla yanıt vermesine ve artan periferik tolerans gözlemlenmiştir (Atabani ve diğ., 2005; Ueda ve diğ., 2003). Dolayısıyla T1DM oluşumunda CTLA-4'ün önemli bir yer teşkil etmesine rağmen fazla çalışma yapılmamış olunması, gen ve çevresel faktörler göz önünde tutulduğunda her varyant tek başına hastalığa yatkınlık üzerinde hafif bir etkiye sahip olsa da birleşik etkileri hastalık üzerinde güçlü bir etki oluşturabilir oluşu CTLA-4 gen faktörlerinin tüm varyasyonların geniş ölçekli çalışılması ve CTLA-4'ün T1DM'deki rolünü daha iyi anlamak için potansiyel risk faktörlerini saptamak amacıyla hala gerekliliğini korumaktadır (Spence ve Tang, 2016; Tang ve diğ., 2012). Ayrıca CTLA-4 ile alakalı otoimmün yanıtlarının ortadan kaldırılması yönündeki araştırmalarda anti-tümör immün yanıtlarını engelleyip engellemediğinin de araştırılması gerekmektedir. Gelecekte CPI-DM veya T1DM için bireylerin özellikle hastalık geçmisi olması durumunda düzenli doktor kontrolerinde, çok erken hastalık başlangıçı tespit edilerek potansiyel hastaların insüline bağımlılıklarının ertelenebilir veya bütünüyle önüne geçilmesi sağlanabilir.

2.4. Resveratrol ve Tip 1 Diabetes Mellitus

Alternatif tıp olarak da adlandırılan geleneksel tıp, modern tıp tamamlayıcısı olarak ifade edilir ve biyoaktif doğal bileşiklerin kullanımına dayanmakta olup bu bileşiklerin nerdeyse tamamı eski uygarlıklardan beri dünya çapında çeşitli kültürler tarafında kullanılması nedeni ile bilimsel literatürde çokça araştırılıp iyi bilinmesi sağlanmıştır (Alonso-Castro, 2014; Adorisio ve diğ., 2017; Cragg ve Newman, 2013; Gianchecchi ve Fierabracci, 2020; Pozzesi ve diğ., 2011). Bitkilerin, istilacı mantarlara, strese, yaralanmalara, enfeksiyonlara ve aşırı güneş ışığına karşı savunmaya yardımcı olmak için resveratrol üretir, diğer bir deyişle bitkilerin savunma mekanizmasının ürünüdür ve hem cis- hem de trans-stereoizomerik formlardaki bir glikozittir (bitkilerdeki glikoz moleküllerinden oluşan grubun genel adı) (Yang ve diğ., 2001) (Şekil 2.11). Bu molekül, biri çift meta hidroksil diğeriyse bir orto hidroksilin yer değiştirmesiyle oluşan iki fenolik halkadan oluşur. Bu sayede RSVL molekülünün cis veya trans izomerleri ortaya çıkar (Zarychta ve diğ., 2016). Bu formasyonlar da serum albüminine geri dönüşümlü olarak bağlanarak dokulara dağılımını sağlayan bir çift karbon-karbon bağı ile bağlanır (Tang ve diğ., 2017). RSVL'nin trans izomeri en bol bulunan ve biyolojik olarak aktif olanıdır (Augustin ve diğ., 2013). Fakat bu izomerin UV(ultraviyole) ışığına

maruz kalması sonucu fotokimyasal bir bozulma yaşayarak daha az aktif olan cis izomeri oluşur (Bonechi ve diğ., 2012). Özellikle üzüm ve türleri başta olmak üzere sebze ve meyvelerde antiinflamatuar, antioksidan, antiviral, antifungal, antikanserojen, antimutajen etkilerinin yanı sıra özellikle kalbi koruma ve çok sayıda kronik hastalık üzerinde olumlu aktiviteler sergileyen çok çeşitli polifenolik bileşikler sınıflandırılarak sağlık üzerindeki yararları dikkat çekmiştir (Abba ve diğ., 2015; Carter ve diğ., 2014; Das ve Das, 2007; DeWeerdt, 2018; Farris ve diğ., 2013; Jung ve diğ., 2005; Petrovski ve diğ., 2011; Rudolf ve diğ., 2007; Uzura ve diğ., 2016). Trans 3,5,4'-trihidroksistilben formulasyonuna sahip resveratrol (RSVL), kırmızı üzüm çeşitleri, yer fıstığı, yaban mersini gibi birçok farklı bitki türü tarafından üretilen trans izomer formunda bulunan doğal bir flavonoid olmayan ve fitoaleksin adı verilen bir polifenol çeşididir (Jeandet ve diğ., 1995; Lyons ve diğ., 2003; Raal ve diğ., 2009; Sales ve diğ., 2014). RSVL'nin ticari formu ise daha çok Japonya, Çin, Kore ülkelerinin bulunduğu Doğu Asya'da yetiştirilen Polygonum cuspidatum (Asya tıbbında Ko-jo-kon olarak da bilinen) bitkisinin köklerinden %98'den fazla saflıkta trans-resveratrol formunun eldesi sağlanan zengin bir kaynaktır (Yang ve diğ., 2001).



Şekil 2.11. (A) cis-resveratrol, (B) trans-resveratrol (de Brito Oliveira ve diğ., 2017)

RSVL hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak antikanser, antimikrobiyal, antioksidatif, antinörodejeneratif, anti-inflamatuar, immünomodülatör özellikleri barındıran ve çeşitli biyolojik aktivitelerde görev almaktadır (Chaudhary ve diğ., 2019; Chen ve diğ., 2020; Cieślik-Boczula, 2019; Jeandet ve diğ., 2010; Ma ve diğ., 2018; Malaguarnera, 2019; Mattio ve diğ., 2019; van Duursen, 2017; Sajadimajd ve diğ., 2019; Xu ve diğ., 2019). RSVL aynı zamanda çevresel stres, yaralanma veya patojenik durumlarda (UV ışınlarına maruz kalma veya mantar enfeksiyonu gibi) olumsuz koşullara önemli rol oynar (Jeandet ve diğ., 2010). Tarihine göz atıldığında ilk olarak 1939'da Veratrum

grandiflorum otundan Takaoka tarafından keşfedilen belirtilen RSVL daha sonra bir fitoaleksin olarak kabul edilmiştir (Chang ve diğ., 2011). Fakat; aslında RSVL, antik çağlardan beri 'Darakchasava' olarak adlandırılan bitkisel bir formülasyon olarak kullanılmakta olduğu tespit edilmiştir ve 4500 yıldan daha uzun bir süre önce Hinduların antik tıbbi kitabı Ayurveda'da fermente üzümlerden yapılan bir kalp toniği olan tanımlanmıştır (Paul ve diğ., 1999; Singh ve diğ., 2013). Bu toniğin, kalp işlevinin yanı sıra uyuşukluk, halsizlik ve sıcaklık çarpmasında, ateş düşürücü, idrar söktürücü ve terletici etkileri açısından kullanılmakta olduğu belirtilmiştir. Günümüzde Darakchasava adı ile adlandırılan formülasyon, üreten ilaç şirketine bağlı olarak, 1,3–6,0 mg/L arası resveratrol içermektedir (Paul ve diğ., 1999). Daha sonraki yıllarda Siemann ve Creasy (1992) ise kırmızı şarapta bulunduğunu tespit etmiştir (Gianchecchi ve Fierabracci, 2020; Siemann ve Creasy, 1992). Yine aynı yıl RSVL "Fransız Paradoksu" isimli terminolojisini açıklamada kullanıldı. Çünkü Fransa'nın bazı bölgelerinde yaşayan bireyler, günlük diyetleri yoluyla yüksek yağ ve kolesterol almalarına rağmen düşük koroner kalp hastalığı ve ölüm oranlarına sahiptiler (Catalgol ve diğ., 2012). 1997 yılında ise RSVL kanser gelişimini önleyebilecek bir faktör olduğu anlaşılmıştır (Jang ve diğ., 1997). RSVL bir çok faydası tespit edilmiştir. Bunlardan bazıları; kardiyoprotektif, immünomodülatör, antiinflamatuar ve kemopreventif aktiviteleri yanı sıra antioksidan özelliğini barındırması, hem bir serbest radikal temizleyici hem de sayısız antioksidan enzim aktivitelerini indüklemeyebilme özelliği nedeniyle güçlü bir antioksidan olmasıdır (Ahmad ve diğ., 2005; Jang ve diğ., 1997).

RSVL içinde yer aldığı polifenollerin antioksidan kapasitesi, fenolik hidroksil gruplarının redoks özellikleriyle kimyasal yapıları nedeniyle elektron delokalizasyon potansiyeline ilgili olduğu rapor edilmiştir ve son yıllarda yapılan çalışmalarda ROS'un (reaktif oksijen türleri) oksidatif stresin gelişimini belirlemede oynadığı önemli rolü olduğu rapor edilmiştir (Dröge, 2002; Rossi ve diğ., 2013). Proliferasyon, sinyal transdüksiyonu, gen ekspresyonu ve konak savunması gibi fizyolojik fonksiyonların korunmasında düşük ROS seviyeleri rol alırken yüksek ROS seviyesi ise lipid, proteinler ve protein gibi hücresel makromolekülleri etkileyen oksidatif değişiklikler nedeniyle zararlı olabilir (Dröge, 2002). Zararlarına örnek olarak; azotlu bazlar ve şeker fosfat grubu ile reaksiyona girerek tek ve çift sarmallı DNA kırılmalarına neden olabilir. ROS aynı zamanda deoksiribonükleik asit (DNA) hasarı, mutajenez, onkogenez ve

yaşlanma ile de ilişkilendirilmektedir (Chatgilialoglu ve diğ., 2019). DNA üzerindeki oksidatif lezyonlar arasında sadece zincirdeki kopmaları değil, bazlardaki modifikasyonları, şeker hasarlarını ve abazik bölgeleri de içerir (Gonzalez-Hunt ve diğ., 2018). Oksidanların, antioksidanların ve hücre içi redoks durumlarının diğer belirleyici genlerin transkripsiyonunu modüle etme özelliği neden ile memeli hücreleri içindeki ROS değişiklikleri, transkripsiyon sırasında onkogenler ve ALS rahatsızlık(amyotrofik lateral skleroz) bağlantılı genler gibi çok sayıda memeli geninin ekspresyonunu da değiştirebileceği rapor edilmiştir (Li ve diğ., 2019). Son yıllarda RSVL'nin antitümör etkilerinden sorumlu moleküler mekanizmaların aydınlatılmasında hızlı ilerleme kaydedilmiş ve RSVL'nin kemopreventif yeteneği, farklı kanserojenlerin aktivasyonunu durdurma ve/veya bunların detoksifikasyonunu destekleme, hedef hücre DNA'sının oksidatif hasarını önleme, inflamasyonu düşürme ve tümör hücrelerinin proliferasyonunu azaltma yeteneği tespit edilmiştir (Aggarwal ve diğ., 2004; Shankar ve diğ., 2007). RSVL'nin kemoterapötik özelliği, hem *in vitro* hem de *in vivo* üzerinde yapılan araştırmalar sonucu, kanser progresyonunun anjiyojenik ve metastatik süreçlerinin inhibisyonunu ve kemoterapi direncinin zayıflamasını sağlamasıyla gerçekleştirdiği anlaşılmıştır (Wang ve diğ., 2015). Resveratrol, çeşitli moleküler yolaklar ile etkileşime geçerek hem doğal hem de sonradan kazanılmış (adaptif) immün yanıtları düzenleyebilme kapasitesi olan bir immün modülatördür (Švajger ve Jeras, 2012). RSVL hakkında bir diğer önemli ayrıntı ise, hücre dizileri ve hayvan modelleri üzerinde yapılan deneysel kanıtlara dayanarak resveratrolün doza bağlı zıt etkilerle immünomodülatör aktiviteleri olduğu kanıtlanmıştır. Yüksek dozlardaki RSVL immünsupresif olarak hareket ederken, düşük dozlarda RSVL ise bağışıklık sistemini uyarmaktadır (Sharma ve diğ., 2007). RSVL'nin etkileri arasında makrofaj, T hücresi ve doğal öldürücü (NK) hücre aktivasyonlarının yanı sıra CD4+CD25+ düzenleyici T hücrelerin baskılayıcı fonksiyonlarında ve B hücrelerin proliferasyon ve otoantikor üretiminin yer aldığı ayrıca gebe bireylerin kandaki şeker seviyesini ve lipid profilini düzenlediğini, diyabetik sıçanlar annelerde ise embriyolarında gelişimsel gecikmeleri önlediğini hatta NTD'ler (nöral tüp defekti) de dahil olmak üzere embriyonik malformasyonların önlenmesi için potansiyel bir terapötik ajan olabileceği belirtilmiştir (Jhou ve diğ., 2017; Malaguarnera, 2019; Singh ve diğ., 2011; Singh ve diğ., 2013; Švajger ve Jeras 2012; Yang ve diğ., 2008;). Resveratrol insanlar için güvenlidir ve

belirgin bir toksisitesi (düşük dozlarda) bulunmamaktadır fakat biyoyararlanımı açısındansa zayıftır. Düşük biyoyararlanım RSVL'nin hastalık tedavilerinde karşı karşıya kalınan en büyük problemi oluşturmaktadır. Ağız yoluyla alımlarda trans-resveratrol kısmi olarak daha iyi emilim göstermesine rağmen (Cottart ve diğ., 2010; Singh ve diğ., 2013) ağızdan alımından sonra özellikle glukuronidler ve sülfatazlar başta olmak üzere faz II enzimleri aracılığıyla metabolize edilir (Walle, 2011). RSVL emilimi ile ilgili yapılan çalışmalarda; tek seferde günlük 25 mg doz alımı gerçekleştirilen insanlarda sadece 10 ng/mL'lik bir doruk plazma konsantrasyonuna ulaşıdığı gösterilmiştir (Goldberg ve diğ., 2003; Walle ve diğ., 2004). Yine tek seferde günlük 500 mg yüksek doz alımlarında ise yaklaşık 71.2 ng/mL'lik düşük plazma konsantrasyonu bulunduğu tespit edilmiştir (Almeida ve diğ., 2009; Sergides ve diğ., 2016). İnsanlar ve deney hayvanlar üzerinde yapılan *in vivo* araştırmalarda, RSVL'nin bağırsak alımının çok sınırlı olması nedeniyle düşük oral biyoyararlanımı ile karakterize edilmekte olup hem bağırsakta hem de karaciğerdeki yoğun metabolik olaylar nedeniyle periferik dolaşımda minimum miktarlarda bulunur, RSVL yarı ömrü esasen hızlı metabolizmasından kaynaklanır ve IV (intravenöz) yolla alınan resveratrol dozunun büyük kısmı sadece 30 dakikada sülfat konjugatlarında işlenir (Andlauer ve diğ., 2000; Brill ve diğ., 2006; Juan ve diğ., 2002; Sabolovic ve diğ., 2006; Wen ve Walle, 2006). Bu nedenle RSVL'den daha iyi faydalanabilmek ve kanser kemoprevansiyonu için yeni ajanlar elde etmek amacıyla hidroksil gruplarının metoksil gruplarıyla yer değişimi ile bağırsak emilimini ve hepatik stabiliteyi artırarak yeni RSVL analoglarının geliştirilmesinin temeli sağlanmıştır (Jeandet ve diğ., 2018; Jeandet ve diğ., 2019; Son ve diğ., 2014; Traversi ve diğ., 2019). Düşük oranda ki bu biyoyararlanım sorununu çözebilmek adına resveratrolün daha iyi emilimi için rsvl molekülüne yol açabilecek ön ilaçlar veya mikrokapsülleme gibi taşıyıcı sistemler denenmiştir (Biasutto ve diğ., 2017; Davidov-Pardo ve McClements, 2014). RSVL alınımı ile ilgili 2004 yılında yapılan bir diğer çalışmada ise insanlarda ağızdan 25 mg'lik 14C-transresveratrol'ün %70'inin vücut tarafından emildiğini göstermiştir (Walle ve diğ., 2004). Resveratrolün (konjuge formlar) plazmadaki metabolitleri, uygulamadan 30-60 dakika sonra zirve yaparak plazma yarı ömrünün 9.2 saat olduğunu ve benzer bir zaman diliminde plazmada sadece küçük miktarlarda modifiye edilmemiş resveratrol (<5 ng/mL) saptandığı rapor edilmiştir (Walle ve diğ., 2004). Gastrointestinal sistemden emilen resveratrol hızla

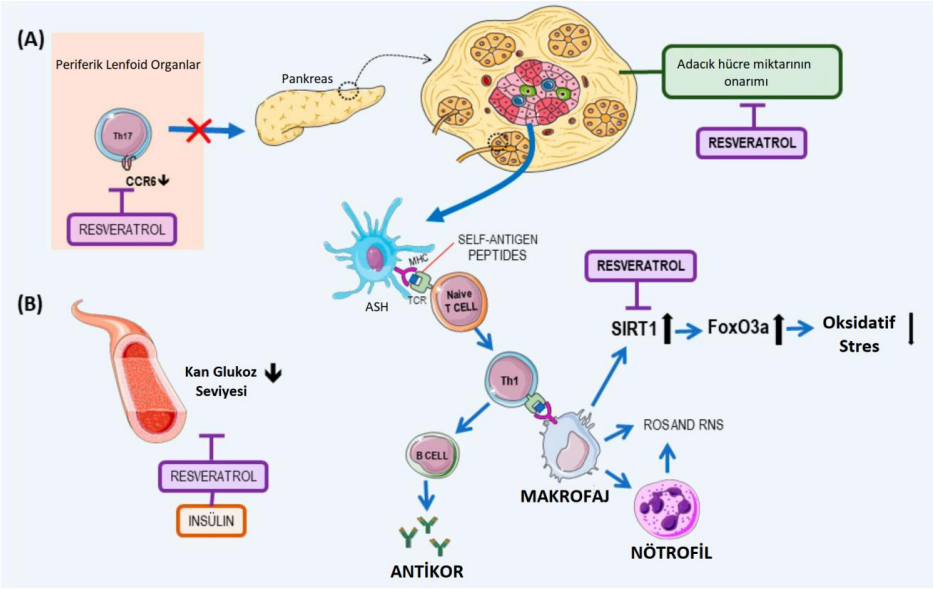
glukuronid (3-*O*-glukuronid ve 4'-*O*-glukuronid), sülfat (resveratrol 3-*O*-sülfat) ve hidroksilat formlarına metabolize olup ağızdan alınan RSVL idrarda sülfat veya glukuronik asit konjugatları olarak atıldığı ve tek seferde 400 mg trans-resveratrol ile gıda alımının RSVL'nin emilimi geciktirdiği gözlemlenmiştir (Vaz-da-Silva ve diğ., 2008). Bu nedenle, oral yollardan alınan resveratrol, düşük biyoyararlanımı nedeniyle hem hızla metabolize olur hem de vücuttan atılmaktadır. Fakat bazı çalışmalarda resveratrolün daha yüksek düzeyde biyoyararlanımı için in vitro ve in vivo yapılan deneyler göz önünde tutulduğunda ya daha güçlü resveratrol analogları (SRT501) kullanımı gerektiği veya lipozomal kapsülleme gibi gelişmiş dağıtım yöntemleri kullanılması gerektiği veya RSVL başka bir türevi olan ve karabiberden elde edilen başka bir doğal ürünle (Piper spp.) yapılması gerektiği gibi seçeneklere başvurulması önerilmektedir (Howells ve diğ., 2011; Johnson ve diğ., 2011; Narayanan ve diğ., 2009). Ayrıca RSVL'nin kimyasal yapısıyla ilişkili bir stilbenoid olan pterostilben ile yapılan araştırmalarda insanlar üzerinde yüksek dozlarda denenmesine rağmen toksik olmadığı ve antikanser, antiproliferatif, pro-apoptotik, antioksidan, antiinflamatuar, antiinvaziv ve antimetastatik özellikler gösterdiği belirtilmiştir (Fulda, 2010; Riche ve diğ., 2013). Fakat daha sonraki çalışmalarda anlaşılıyor ki resveratrol'e benzer yapıda başka stilbenler de gıdalarda doğal olarak bulunmaktadır ve toksisite açısından ise gastrointestinal sistem bozuklukları ve nefrotoksisite uygulanan yüksek dozların bazı olumsuz etkileri de tespit edilmiştir (Cottart ve diğ., 2010; Cottart ve diğ., 2013). Yine bir çok çalışmada ağız yoluyla alınan yüksek doz RSVL, ilaçların farmakokinetiğinde, ksenobiyotikler ve diğer diyet takviyelerinde değişikliğe yol açtığı tespit edilmiştir. Bunun da bazı sitokrom P450 izoenzimlerinin (CYP3A4, CYP1A11A2 ve CYP2B6) ve mikrozom enzimlerinin pozitif veya negatif modülasyonu ile ilişkili olup bu bileşiklerin detoksifikasyonuna veya metabolizasyonuna müdahale ettiği rapor edilmiştir (MacDonald ve diğ., 2009; Guthrie ve diğ., 2017; Wahab ve diğ., 2017). 2000 yılında gerçekleştirilen araştırmada De Santi ve diğ. RSVL'nin biyoyararlanımını iyileştirmek için kullanılacak ilaçları çok dikkatli bir şekilde şeçilmesi gerektiğini, özellikle kersetin ve flavonoidler gibi diğer takviyelerle birlikte kullandığı durumlarda riskli hale gelebileceğini raporlamışlardır (De Santi ve diğ., 2000). Bir başka çalışmada ise Detampel ve diğ. 2012 yılında gerçekleştirdikleri araştırma sonucu yüksek dozlarda resveratrolün, CYP3A4, CYP2C9 ve CYP2D6 gibi sitokrom P450 izoenzimlerini inhibe

ettiği CYP1A2 ise resveratrol takviyesi ile pozitif olarak düzenlendiğini belirtilmiştir. 2017 yılında Leon ve diğerlerinin gerçekleştirdiği deneylerde ise yüksek doz RSVL alımının insan vücudunun emilimi açısından diğer polifenollerle rekabet edebileceği ama RSVL yapı üzerindeki sinerjik etkilerini azaltabileceğini vurgulamışlardır. Ayrıca bu faktörler dışında genetik polimorfizmler, yaş, cinsiyet, ırk, diyet veya egzersiz uygulamaları gibi kişisel etmenlerin resveratrolün biyoyararlanımını ve fizyolojik tepkileri de etkileyerek değiştirebileceği belirtilmiştir (Novelle ve diğ., 2015). Fakat düşük veya orta doz RSVL ile gerçekleştirilen hem *in vitro* çalışmalarda (oksidatif stres üzerinde) hem de klinik deneylerde (bazı kronik hastalıklarda ve kanserde metabolik parametreler üzerinde) olumlu etkileri keşfedilmiştir. Düşük doz RSVL yük doz uygulamarına göre yan etki göstermemesinin nedenleri arasında hızlı metabolizma ve glukuronat türevine dönüşümden kaynakladığı bildirilmiştir (Albuquerque ve diğ., 2015; De Santi ve diğ., 2000; Detampel ve diğ., 2012; Guthrie ve diğ., 2017; Leon ve diğ., 2017; Novelle ve diğ., 2015). Sonrasında gerçekleştirilen çalışmalarda ise iki hidroksil grubunun iki metoksil grubuyla yer değiştirmesi sonucu ortaya çıkan, resveratrolün yapısal bir analoğu olan pterostilben (trans-3,5-dimetoksi-4'-hidroksistilben) yaban mersini içinde bulunmuş ve bir çok araştırmada da yer almıştır (Fulda, 2018). Fakat 2010 yılında Cottart ve diğerlerinin yapmış oldukları çalışmada ise yüksek doz tedavilerinde baş ağrısı, alt ekstremitelerde miyalji, somnolans, kan elektrolit değişiklikleri ve döküntü gibi hafif toksik etkiler sınıfında yer alan bazı semptomlar gözlemlendiği belirtilmiştir (Cottart ve diğ., 2010).

Otoimmünite ve RSVL arasında ilişkiye değinilecek olursa, insan ömrünün uzaması yaşlanmayı ve yaşlanma ise bir çok otoimmün hastalıklar dahil, kronik hastalıkların başlangıcı için risk faktörlerini de beraberinde getirmektedir (Shaw ve diğ., 2013). Ayrıca otoimmün hastalıkların oluşumu ve gelişimi, vücudun birden fazla doku veya organa hasar verebilir. Bu nedenle otoimmün rahatsızlıklar iki ana başlıkta toparlanabilir; ilki T1DM, inflamatuar bağırsak hastalıkları (IBD) veya sedef hastalığı gibi bu sürecin tek bir doku veya organa yönelik olduğu hastalıklar, ikincisi ise romatoid artrit (RA), amyotrofik lateral skleroz (ALS) veya sistemik lupus eritematozus (SLE) gibi oluşan bağışıklık yanıtlarının farklı doku ve organlara karşı eş zamanlı ataklara geçilendir (de Brito Oliveira ve diğ., 2017; Mastrandrea, 2017; Schwartz ve Shechter, 2010; Wahren-Herlenius ve Dorner, 2013;). Yapılan araştırmalarda

görülmüştür ki doğuştan gelen bağışıklığı (nötrofillerin ve makrofajların bağışıklık tepkisi) ve edinsel bağışıklığı (B hücresi ve T hücresi gelişimi) kapsayan yaşa bağlı bozuklukların genç deneklere göre daha yüksek bir prevalansa sahip olduğunu bildirmiş olsa da uyarılabilir bağışıklığın otoimmün duruma bağlı olarak farklı yaşlarda da ortaya çıkabilmektedir (Gianchecchi ve Fierabracci, 2020; Shaw ve diğ., 2013). Bu noktada geçmiş zamanlardan hem geleneksel hem de modern tıp, doğal ürünleri çeşitli kronik hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde geniş bir yelpazede araştırmış ve günümüzde de hala devam edilmektedir. Bu doğan ürünlere örnek gösterilebilecekler arasında yaygın olarak çalışılanlardan birisi de RSVL'dir.

T1DM, DC'ler (dendritik hücre), nötrofiller ve NK (doğal öldürücü) hücreleri tarafından sağlanan insülitis sonrası CD4+ ve CD8+ T lenfositler ve makrofajlar tarafından mutlak insülinopenik sonucu oluşur (Battaglia, 2014; Poznyak ve diğ., 2020; Vives-Pi ve diğ., 2015). Beta hücre destrüksiyon sonrası oluşan hiperglisemi ve insülinopeni durumu ise bireyin T1DM tanı almasını sağlar (Skyler ve diğ., 2017; You ve Chatenoud, 2016). T1DM kontrol altında tutulmazsa ketoasidoz, böbrek yetmezliği, kalp hastalığı ve körlük gibi bir çok sağlık komplikasyonlarıyla ortaya çıkabilir (Sykler ve diğ., 2017; Todd, 2010) (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. T1DM mekanizması ve resveratrolün rolü. Resveratrol, (A) CCR6'ya bağlandığında Th1 hücre migrasyonunu inhibe eder ve (B) insülin ile glikoz alımını artıran bir kompleks oluşturarak etki eder (de Brito Oliveira ve diğ., 2017)

Resveratrolün T1DM'deki farmakolojik etkileri, diğer protein ve lipid kinazların (mitojenle aktive olan protein kinaz, plazma kreatin kinaz, Src ailesi tirozin kinazlar ve fosfoinositid 3-kinaz (PI3K)) inhibisyonu yoluyla NF-κB'nin (nükleer faktör kappa B) ve inflamatuar sitokinlerin baskılanmasıyla ilişkili olabileceği rapor edilmiştir (Van der Horst ve Burgering, 2007). T1DM ve RSVL ile alakalı araştırmalara bakıldığında, T1DM sahip şıçanlar üzerinde yapılan deneylerde vasküler fonksiyonlarının uzun süreli resveratrol tedavisini sonucu düzeldiğini gözlemlemişlerdir (Bertelli ve diğ., 1996). Daha sonra T1DM hasta kaynaklı insan monositlerini kullanarak resveratrolün etki mekanizmasında SIRT1'in yüksek düzeyde ekspresyonunu indüklediğini ve hücresel oksidatif stres bloke ettiği anlaşılmıştır (Milne ve diğ., 2007; Sharma ve diğ., 2011; Yun ve diğ., 2012). Bu şekilde kan-glikoz konsantrasyonlarında, glikolize edilmiş hemoglobinde, kan üresinde ve tip 2 diyabette genellikle yükselen ve vücut organlarına zarar veren diğer kan bileşiklerinde önemli bir düşüş tespit edilmiştir (Palsamy ve Subramanian, 2008; Ramadori ve diğ., 2009). RSVL'nin SIRT1 üzerindeki olumlu etkileri sayesinde, açlık veya sınırlı gıda alımında enerji kaynağı olarak yağ depolarının parçalanmasını teşvik ettiğini, kemirgenlerde kalori kısıtlaması yoluyla aktive edilen SIRT-1'in kemirgenlerin ömrünü uzattığı, bağışıklık fonksiyonunu katkıda bulunduğu ve kardiyovasküler sağlığı güçlendirerek genel sağlığı düzeyinde iyileşmeler ve diyabetin önlenmesi için olumlu sonuçlar sergilediği gözlemlenmiştir (Baur ve diğ., 2006; Sharma ve diğ., 2011). RSVL insülin duyarlılığını, mitokondriyal biyogenezi düzenleyen 5′-AMP ile aktive olan protein kinazı (AMPK) da aktive etmektede olduğu tespit edilmiştir (Baur ve diğ., 2006). AMPK aktivasyonunun hepatik yağ asidi oksidasyonunuda, ketogenezin uyarılmasında, iskelet kası yağ asidi oksidasyonununda, kas içerisine glukoz alımının artmasında, kolesterol sentezinde, lipogenezde, trigliserit sentezinde, adiposit lipolizinin inhibisyonunda ve pankreas beta hücreleri tarafından insülin sekresyonunun modülasyonunda rol alır (Singh ve diğ., 2013; Um ve diğ., 2010). AMPK'nin α1 veya α2 olan alt birimleri eksik olan farelerde üzerinde yapılan deneylerde ise resveratrol, insülin duyarlılığını, glikoz toleransını, mitokondriyal biyogenezi ve fiziksel dayanıklılığı artırmada başarısız olduğu bildirilmiştir. Dolayısıyla bu sonuçlar, çoklu resveratrol aracılı etkilerde AMPK'ye duyulan ihtiyacı göstermektedir (Um ve diğ., 2010). Ayrıca 2012 yılında yapılan bir çalışmada ise RSVL'nin, NOD fare modelinde Langerhans adacıklarını etkileyen ileri düzey insülitis

üzerinde olumlu sonuçlar elde edilmiş ve hem önleyici hem de tedavi edici etkileri olduğu kanıtlanmıştır. Mekanizması hakkında da T yardımcı (Th17) hücrelerinde kemokin reseptörü 6'nın (CCR6) ekspresyonunun azalması ve periferik lenfoid organlardan pankreasa hücre göçünde görevli patojenik CD11b+F4/80hi makrofajları durdurmasını sağlayarak gerçekleştirdiği belirtilmiştir (Lee ve diğ., 2012). 2016 yılındaki diğer bir çalışmada ise 25 mg/kg resveratrol ile tedavi edilen streptozotosin indüklü diyabetik sıçanlarda, diyabetik komplikasyonların, β hücre kayıplarının, hem pankreasta hem de hepatik oksidatif stresin düzeldiğini rapor edilmiştir (Kaur ve diğ., 2016). Resveratrolün diyabet stratejilerinde de umut verici sonuçlar rapor edilmiştir. Obez ve diyabetik fareler üzerinde yapılan deneylerde resveratrol infüzyonunun hiperglisemiyi düzelttiği ve hiperinsülinemiyi iyileştirdiği (Ramadori ve diğ., 2009), yüksek yağlı diyet uygulanan farelerde ise hem insülin direncini iyileştirdiğini ve hücrelerin mitokondriyal içeriğini arttırarak hayatta kalma süresini uzattığı (Milne ve diğ., 2007), yine obez (ob/ob) farelerde insülin seviyelerini ve oral glukoz tolerans testlerinde RSVL kullanımı sonrası düzelme görüldüğü ve RSVL'nin antihiperglisemik aktivite gösterdiği (Sharma ve diğ., 2011). Dolayısıyla RSVL'nin insülin ile birlikte uygulandığında, diyabetik sıçanlarda glisemik kontrolü iyileştirdiği, kandaki glukoz seviyesinin diyabetik olmayan sıçanlarda bildirilen seviyelere indirdiği ve glikozüriyi (idrarda bulunan glukoz miktarı) azalttığı gözlemlenmiştir (Yonamine ve diğ., 2016).

Klinik denemelerde (http://clinicaltrials.gov) RSVL ile hala devam etmekte olan 28'den fazla çalışma bulunmaktadır ve tamamlanan çalışmalarının sayısı ise 125'tir. Bu çalışmalar, T1DM, T2DM, Alzheimer, kanser, obezite, diyabette inflamatuar mediatörler, insülin direnci veya metabolik sendromlar üzerindeki etkileriyle ilgilidir (URL-6).

RSVL sadece kardiyo ve nöroprotektif özellikleriyle değil, aynı zamanda antioksidan, antiinflamatuar ve antitümör etkileri de dahil olmak üzere birçok faydalı özelliği bulunmaktadır ve bu da farklı patolojik durumlarda resveratrolün kullanımına olan ilginin artmasını sağlamaktadır. Dolayısıyla RSVL'nin potansiyelini klinik deneyler sırasında daha fazla değerlendirmek için hem *in vitro* hem de *in vivo* araştırmalardan elde edilecek sonuçları farklı hastalıkların başlamasının önlenmesi için kullanılabilecek bir terapötik maddenin geliştirilmesini sağlamak için potansiyel olarak umut

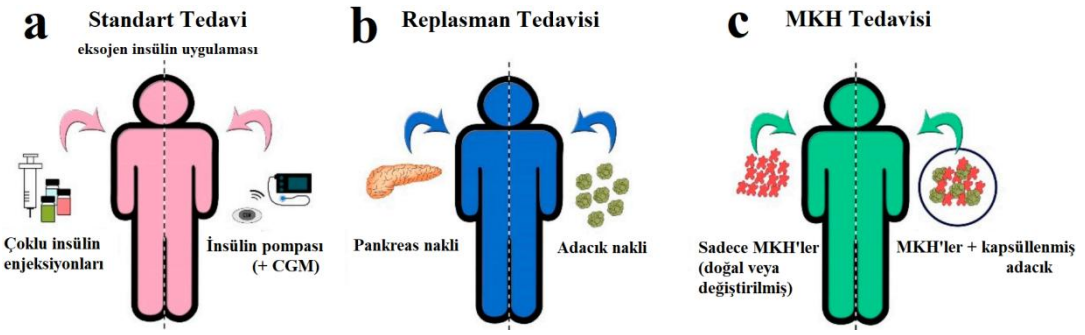
vadetmektedir. Özellikle RSVL ve folik asit kombinasyonların diyabetik gebeliklerde doğum kusurlarını tamamen ortadan kaldırıp kaldıramayacağını belirlemek için daha fazla çalışma yapılması gereklidir.

2.5. Mezenkimal Kök Hücre (MKH) ve T1DM

Mezenkimal kök hücre (MKH), literatürde mezenkimal stromal hücre veya medikal kök hücre olarak da bilinmekte olup erişkin ve yenidoğan dokularında veya organlarda bulunan fakat kendilerini farklılaşmadan saklayabilen ve gerekli durumlarda açığa çıkarak güçlü multipotensiye ve rejeneratif özelliklere sahip mezodermden türetilen hematopoietik olmayan hücreler olarak tanımlanmaktadır (Baryawno ve diğ., 2019; de Klerk ve Hebrok, 2021; Weng ve diğ., 2022). Kısaca mezenkimal kök hücreler kendi kendini yenileyebilen, multipotansiyel progenitör hücrelerdir (Sudo ve diğ., 2007). MKH ilk olarak 54 yıl önce 1968 senesinde kemik iliğinden eldesi sağlanan Kİ-MKH (kemik iliği kaynaklı MKH) MKH'lerin en geleneksel kaynağı ifade etmektedir. MKH'ler kemik iliği dışında Wharton jelden, göbek kordonu kanından, trabeküler kemikten, amniyotik sıvıdan, periosteumdan, sinovyumdan, plasentadan, pankreastan, adipoz dokusundan, iskelet kasından, deriden, akciğerden ve timustan izole edilebilmiştir (da Silva Meirelles ve diğ., 2006; Friedenstein ve diğ., 1968; Gamble ve diğ., 2018; Kang ve diğ., 2010; Kang ve diğ., 2013; Kern ve diğ., 2006; Miernik ve Karasinski, 2012; Musina ve diğ., 2005; Park ve diğ., 2012; Subbarao ve diğ., 2015; Zwang ve diğ., 2013). MKH'lerin hücre temelli tedavilerde umut vadetme nedenlerinin en başında, ISCT (Uluslararası Hücresel Tedavi Derneği) tarafından 2006 yılında alınmış karar ile bir hücrenin MKH olarak adlandırılabilinmesi (MKH standartı) için üç önemli kriter vardır. Bunlardan ilki, MKH'lerin mezodermal germ tabakasından oluşması nedeniyle osteojenik, adipojenik ve kondrojenik farklılaşma özelliklerinin hepsini barındırıyor olması gereklidir (Archibald ve Williams, 2015; Dominici ve diğ., 2006; de Klerk ve Hebrok, 2021; Mareschi ve diğ., 2006). İkincisi ise hücre kültür koşullarında muhafaza edildiği hücre kültür kabına yapışık olmalıdır, süspanse kültür olmamalıdırlar. Üçüncü koşul ise CD105, CD73 ve CD90 yüzey belirteçlerini ifade etmesi gerekirken CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79alfa, CD19 ve HLA-DR belirteç ifadeleri negatif olmalıdır (Dominici ve diğ., 2006). MKH'lerin bir çok hastalık arasından özellikle T hücre çoğalımı ve bağışıklık yanıtları ile alakalı çalışmalar

bulunmaktadır. En büyük nedeni ise MKH'lerin kendilerini çevreleyen bağışıklık mikroçevrenin düzenlemelerini sağlayan özel immünomodülatör fonksiyonları diğer bir deyiş ile immünosupresif özellikliğini barındırıyor olmasıdır (Anzalone ve diğ., 2010). Mezenkimal kök hücreler *in vivo* farklılaşmaları, tümör oluşturma oranları ve transplantasyon sonrası tutunma (engraftman) çalışmaları dikkatlice incelendikten sonra mezenkimal kök hücrelerin en büyük avantajları arasında sayılan, düşük immünojenisitesi nedeniyle hem otolog hem de allojenik nakiller gerçekleştirilebilir (Childs ve diğ., 2015; Madrigal ve diğ., 2014). Mezenkimal kök hücrelerin bir diğer önemli avantajı, düşük tümör oluşturma (tümörijen) potansiyeliyle günümüzde veya gelecekte kullanabilir hücre bazlı tedavilerde, özellikle uPKH'ler (uyarılmış pluripotent kök hücre / iPSC - induced pluripotent stem cell) ve EKH'ler (embriyonik kök hücre) ile kıyasla çok daha fazla güvenli olarak tespit edilme durumudur (Jung ve diğ., 2012). MKH'lerin kullanılması durumundaki avantaj ve dezavantajlar göz önünde tutulduğunda dezavantajlar kısmının diğer hücre gruplarına göe daha az ve avantajlar kısmının ise daha fazla oluşu rejeneratif tıpta kullanılarak bir çok rahatsızlık ve insan vücudunda ki bozuklukların giderilmesi için araştırılmalar yapılmakta ve faz çalışmalarında denenmektedir (Patel ve diğ., 2013) (Şekil 2.13).

Senesens diğer bir deyişle yaşlılık, hücrelerin sabit ve monoton hücre döngüsünün durması ve çoğalmalarını kısıtlamasıyla karakterize edilen hücresel bir yanıt ve mekanizmadır. Bu hücresel yanıt 4 türü bulunmaktadır; onkogen kaynaklı yaşlanma olan OIS, stres kaynaklı erken yaşlanma olan SIPS, replikatif yaşlanma olan RS ve gelişimsel yaşlanmadır (Iwasaki ve diğ., 2019; Martinez-Zamudio ve diğ., 2020; McHugh ve Gil, 2018; Zhou ve diğ., 2020).



Şekil 2.13. T1DM'nin mevcut ve önerilen tedavilerin şematik gösterimi, a) Standart tedavi, b) replasman tedavisi, c) MKH tedavisi (Donzelli ve Scuteri, 2020)

MKH'lerin *in vitro* ortamda proliferasyon özellikleri ile ilgili 1965'te ilk defa Hayflick'in fibroblast hücre kültürü sırasında tanımladığı ve daha sonra "Hayflick limit" olarak da adlandırılan sınırlı bir kapasitesinin olduğu, belli replikasyon sayısından sonra çoğalmanın durma aşamasına geldiği tespit edilmiştir (Hayflick ve Moorhead, 1961). 2014 yılında Hwang tarafından gerçekleştirilen araştırma ile de MKH'lerin laboratuvar ortamında PDL'nin (population doubling level - popülasyonun ikiye katlanma seviyesi) yaklaşık olarak 30 ila 40 kez olmak üzere değişmekte olduğunu göstermişlerdir. Dolayısıyla bu PDL oranı hem *in vitro* hem de *in vivo* ortamda kullanılabilecek MKH'lerin yaşlanma süresi uygulanma durumları açısından ciddi etkilenebilir bir faktördür. Örnek olarak, yaşlı bireylerden elde edilen MKH'lerin çoğalma kapasitesi ile genç bireylerden elde edilen MKH'lerin çoğalma kapasiteleri arasında ciddi bir fark bulunmaktadır (Childs ve diğ., 2015; Weng ve diğ., 2022). MKH'lerin çoğalma kapasitesilerin yaşlanma ile düşmesi MKH'ler hakkında bir başka önemli sonucun ortaya çıkmasını sağlamıştır. Bu önemli nokta ise MKH'ler yaşlanması yani PDL kapasitelerinin düşmesi, MKH'lerin köklerinden kademeli olarak uzaklaştığını, kaybettiğini göstermektedir. Dolayısıyla MKH'lerin çoğalması ve bölünmesi ile fonksiyonelliği arasında ters orantı bulunmakta olduğu raporlanmıştır (Li ve diğ., 2017). Bu süreçteki MKH'lerin morfolojileri incelendiğinde ise pasaj 1ile pasaj 3 arası hücrelerin standart boyut sergilerken pasaj 5'e ulaşan hücrelerin genişlemeye başladığı ve ve pasaj 6 ile pasaj 9 arasında ise pasaj 1'e kıyasla ortalama 4.8 kat daha büyüdüğü gözlemlenmiştir (Oja ve diğ., 2018). Bu senesens sonucu oluşan hücreler üzerindeki morfolojik değişimler altında yatan ana nedenin incelendiğinde, yaşlanan hücrelerdeki aktin stres liflerin oluşumunu ve fokal yapışma kinaz aktivitesini düzenleyebilen CAV-1 (Caveolin-1) yapı isleke (scaffold) proteini ile ilişkili olduğu görülmüştür (Cho ve diğ., 2004; Volonte ve Galbiati, 2020). Dolayısıyla hücrelerin morfolojilerinde oluşan anormalitelerin, hücrelerin işlevselliği ile doğrudan ilişkili olduğu sonucu ulaşılmış olup MKH'lerin morfolojik özellikleriyle biyolojik fonksiyonları arasındaki ilişki tespit edilmiştir (Block ve diğ., 2017; Marklein ve diğ., 2016; Miettinen ve diğ., 2014). Hücresel senesens öncelikle uzun süreli hücre kültür aşaması sonrası hücrelerin proliferasyon kapasitelerindeki düşüş olarak tanımlanmış olup *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda MKH'lerin çoğalma özelliğindeki yaşanan düşüşler bir çok makalede bildirilmiştir (Nacarelli ve diğ., 2019). Bu çalışmalarda MKH'lerin

proliferasyon kapasitesi, koloni oluşturma özelliği ile ilişkilendiren CFU-F (colony-forming unit-fibroblast, koloni oluşturma birimi–fibroblast) analizi ile yapılmıştır (Liu ve diğ., 2004; Sen ve diğ., 2009; Stenderup ve diğ., 2003). MKH senesens sürecinde sadece proliferasyon kapasitesinde değil aynı zamanda adipojenik, osteojenik ve kondrojenik diferansiyasyon (farklılaşma) özelliklerinde ve diferansiyasyonda yer alan genlerin ekspresyon düzeylerinde azalmaya yönelik de değişiklikler gözlemlendiği bildirilmiştir. MKH'lerin yaşlanma sürecindeki bir diğer önemli nokta ise hücrelerdeki bu yaşlanma hücrelerin osteojenik farklılaşma kapasitesini düşürürken adipojenik farklılaşma kapasitesini arttırdığı rapor edilmiştir (Abuna ve diğ., 2016; Andrzejewska ve diğ., 2019; Brandy ve diğ., 2015; Geissler ve diğ., 2012; Gupta ve diğ., 2012; Hofmann ve diğ., 2014; Jiang ve diğ., 2008; Xu ve diğ., 2016; Zhang ve diğ., 2011). MKH tanımlamasında, akım sitometrisi aracılığıyla (flow sitometri) analiz edilmesi gereken ve ISCT standartlaştırılan bir diğer özellik ise MKH'lerin spesifik yüzey antijen ekspresyonlarıdır. Buna göre CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79a, CD19 kesinlikle negatif değerlerde olması gerekirken CD44, CD54, CD73,CD90, CD105, CD 106 pozitif değerlerde ekspresyonu bulunmalıdır (Dominici ve diğ., 2006). Yüzey belirteçleri MKH'in farklılaşmaya başladığı sürece kadar stabil bir şekilde ifade edilir. Bu belirteçler arasında STRO-1,CD106 ve CD146'nın ekspresyon düzeyleri *in vitro* veya *in vivo* çalışmalarda yaşlanan MKH'lerin tespit edilmesini sağladığı rapor edilmiştir (Jung ve diğ., 2011; Lv ve diğ., 2014; Simmons ve Torok-Storb, 1991). Özellikle CD106 yüzey belirteci farklılaşmaya başlayan MKH'lerin ekspresyon düzeylerinde ciddi bir düşüş yaşandığı gözlemlenmesi, farklılaşmamış MKH'lerin tanımlanmasında önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Jung ve diğ., 2011). Ayrıca dejenere dokulara migrasyonu ifade eden CD146+ ekspresyonlu MKH'lerin ekspresyonlarındaki düşüş ve CD264 ile CD295 (LEPR veya leptin reseptörü) belirteç ekspresyonlarındaki artış da aynı şekilde yaşlanan MKH'leri tanımlar (Laschober ve diğ., 2009; Madsen ve diğ., 2020; Wangler ve diğ., 2019). CD264 ekspresyonu düşük proliferasyon hızı ve farklılaşmayı ifade ederken, CD295 ekspresyonu da düşük çoğalma seviyesi ile ölmekte olan hücre populasyonunu ifade etmektedir (Laschober ve diğ., 2009; Madsen ve diğ., 2020). MKH'lerin hücre bazlı tedavilerdeki olumlu sonuçlarına rağmen özellikle yaşlanmasının ardındaki ayrıntıları ve süreçleri anlamak hem tedavi edici sonuçları optimize etmek ve kökenlerinden uzaklaşan MKH'ler

nedeniyle oluşabilecek herhangi bir kusuru önlemek ve bu durumu tersine çevirecek stratejilerin geliştirilmesine, bireylerin sağlık alanında ikinci şansları için kritik derece önem teşkil etmektedir.

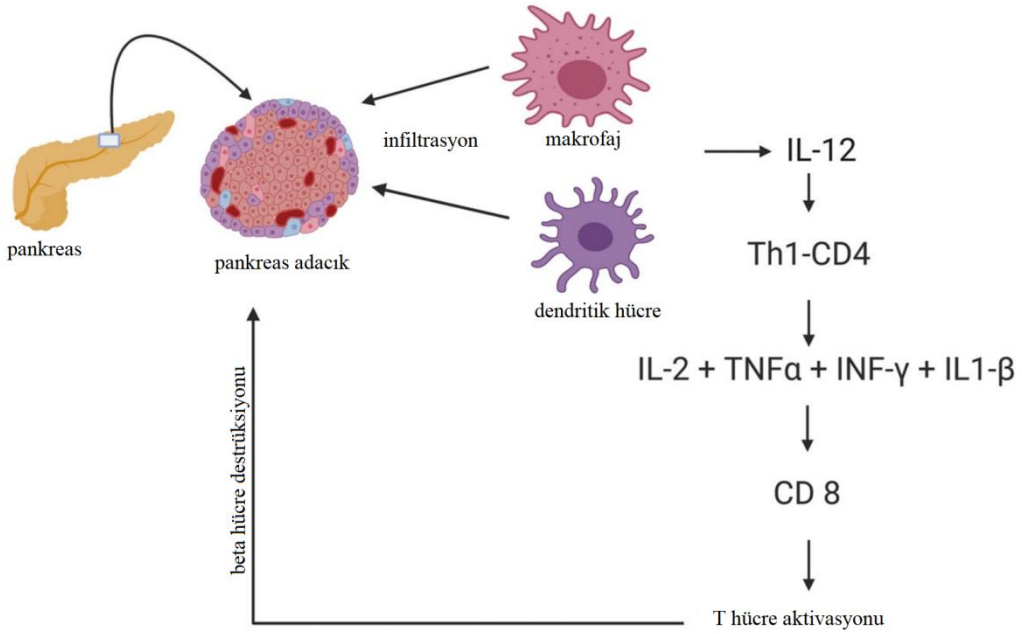
MKH birçok hastalık gibi T1DM içinde önem ifade etmektedir. Portal ven infüzyonu aracılığıyla adacık nakli günümüzde T1DM hastalarını tedavi etmeye yönelik beta hücre replasman tedavisi olmasına rağmen prosedürde ve operasyon sonrası bir çok kısıtlama mevcuttur. Öncelikle insan pankreas adacık hücrelerin eldesi için kalbi atmakta olan fakat beyin ölümü gerçekleşmiş donörlerden elde edilir ki bu noktada transplantasyonun gerçekleşeceği birey ile donör arasında kan ve doku uyumları söz konusudur ve adacıklar genetiksel açıdan özdeş donörlerden değilse immünsüpresif tedaviye ihtiyaç duyulur. Bu immün baskılayıcı tedavi doku reddini engellemesine rağmen uzun dönemde bazı sekonder (ikincil) komplikasyonlar (çeşitli enfeksiyonlar, ilaç uyumsuzlukları, sistemik yan etkiler, kanser, yaşam biçiminde değişiklik, sosyal izolasyon ve psikolojik problemler ile fetal riskler) oluşabilmektedir (Koehler ve diğ., 2022; Ünver ve Fındık, 2021). Bu faktörler dışında nakilde ki diğer kısıtlayıcı faktörler ise uzun süreli immünosupresyon sonrası adacık greft fonksiyonu ve insülin bağımsızlığının sağlanmasındaki zorluklardır (Koehler ve diğ., 2022). Tıp dünyası adacık nakillerindeki kısıtlı donör sayısı nedeniyle yapılan araştırmalar sonucu domuz adacık ksenotransplantasyonunun umut veren alternatif bir kaynak olabileceği bildirilmiştir. Her ne kadar günümüzde tedavi amaçlı ticari olarak kullanılan domuz veya sığırdan elde edilenler kullanılsa da domuz veya sığır insülinlerin yapıları insan insülini ile birebir eşleşemez ve reaksiyona yol açabilirler. Bu nedenle genetik mühendisliği yardımı ile iki tip insülin üretilmektedir. Bunlardan birincisi domuz insülinin yarı sentezleme denilen prosedür aracılığıyla insan insüline benzetilme amacıyla gerekli değişikliklerin yapılması ve ikincisi ise biyosentezleme denilen prosedür aracılığıyla insan insüliniyle tıpatıp aynı olacak şekilde rekombinat insülin ürünleridir. Bu noktada insülinde olduğu gibi domuz adacık ksenotransplantasyonunun klinik uygulamaları sürecinde, bağışıklık ile alakalı problemlerin giderilmesi ve olası domuz virüslerinin patojen enfeksiyon risklerini azaltmak açısından genetik mühendisliğine ihtiyaç duyulmaktadır (Denner, 2021). Hiperakut rejeksiyonları ve hücresel immün yanıtlar engellenebilmsi ve nakil sonrası bireyin yaşam standartının yükseltilmesi konularında çeşitli genomik değişikler sonucu domuz organlarının

transplantasyonu ile önemli yol katedilmiştir (Hryhorowicz ve diğ., 2020; Lai ve diğ., 2002; Liu ve diğ., 2017; Phelps ve diğ., 2003) ve nakil sonrası başarılı bir diyabet kontrol profili uzun süre devam ettirilmiştir (Shin ve diğ., 2015; Shin ve diğ., 2018). Domuz adacık ksenotransplantasyonunun konakçı immün sistemden kaçışlarını sağlayan alternatif seçenekler arasında; PEG (polietilen glikol) veya aljinat enkapsülasyonlar ile biyoaktif ligandlar bulunmaktadır (Ghasemi ve diğ., 2021; Laporte ve diğ., 2020; Passemard ve diğ., 2017). Fakat araştırmalara devam edilmekle beraber çoğu deneyde olumlu sonuçlar alınan bir diğer etkili yöntem ise MKH'lerdir. Çünkü; MKH'ler multipotenttirler, anjiyogenezde, doku onarımında yer alırlar ama en önemli özellikleri immünomodülatör üzerinde etkin rol almalarıdır (Castro-Manrreza ve Montesinos, 2015; Shi ve diğ., 2011). MKH ve adacık nakilleri ile alakalı birçok deneyde alınan destekleyici sonuçlar bulunmakla beraber günümüzde adacık veya beta hücre işlevselliği ve nakil edilen greftlerin sağ kalımları hakkında çalışmalar sürmektedir. Bu nakillerdeki sınırlayıcı bir diğer nokta ise transplantasyondan sonra MKH aracılığıyla gerçekleşen bir revaskülarizasyondur yani anjiyogenezdir. Adacı hücreleri izolasyon işlemi sonucunda mikro-vaskülarizasyon yoluyla ihtiyaç duydukları oksijen alınımından kesilir ve nakil sonrası aşamalarda hayatta kalmalarını sağlamak için besinlerin ve oksijenin difüzyonuna geçici olarak bağımlı kalırlar. Bu süreçte neovaskülarizasyon yaklaşık iki haftada tamamlanır. Fakat bu vaskülarizasyon adacıkların kendi doğasında bulunanlara kıyasla daha düşük bir kapiller yoğunluğa ve önemli ölçüde azaltılmış perfüzyona sahiptir (Carlsson ve diğ., 2003) ve tamamlanması 3 ay daha sürmektedir (Gamble ve diğ., 2018). Bu noktada MKH'ler VEGF (vasküler endotelyal büyüme faktörü), FGF (fibroblast büyüme faktörü), TGF-β (dönüştürücü büyüme faktörü beta), ANXA1 (annexin 1), MMP (matriks metalloproteinaz), Ang-1 (Anjiyopoietin-1) gibi pro-anjiyojenik sitokinler ekspresyonu sayesinde anjiyogenezi destekler (Gamble ve diğ., 2018). Bu sadece VEGF etkileri tartışmalıdır. Çünkü; VEGF hem yararlı pro-anjiyogenik hem de zararlı proinflamatuar eksprese ettiği rapor edilmiştir (Gamble ve diğ., 2018). Bu duruma rağmen MKH'ler anti-inflamatuar özelliği sayesinde bir dengeyi korudukları düşünülmektedir (Figliuzzi ve diğ., 2009; Ito ve diğ., 2010; Kinnaird ve diğ., 2004; Päth ve diğ., 2019). MKH'ler ile immünmodülatör mekanizma ilişki incelendiğinde ilk tespit edilen durum bu hücrelerin, CD40, CD80 ve CD86 gibi bağışıklık sistemini aktive eden uyarıcı belirteçleri barındırmamasıdır (Wang

ve diğ., 2016). Dolayısıyla MKH'ler, MHC (Majör histokompatibilite kompleksi) sınıf I eksprese ederken IFN-γ (interferon gama) gibi inflamatuarlara maruz kalması durumda MHC sınıf II eksprese etmedikler gösterilmiştir (Ankrum ve diğ., 2014). MKH'ler aynı zamanda immünosüpresyona aracılık eden çözünür faktörleri salgılayabildikleri gibi insanlarda MKH'ler tarafından salgılanan indoleamin-2,3-dioksijenaz (IDO), IFN- γ ile birlikte uyarıldığında immünosupresif etkiler gösterdikleri bildirilmiştir (Maby-El Hajjami ve diğ., 2009; Meisel ve diğ., 2004; Ryan ve diğ., 2007). MKH'ler ile ilgili *in vitro* koşullarda yapılan deneylerde, mezenkimal kök hücrelerin inflamasyon bölgelerine göç ettiği tespit edilmiştir (Azhar ve diğ., 2009; English, 2013; Kang ve diğ., 2013). Örnek olarak NOD/SCID (non-obese diabetic severe combined immunodeficient, obez olmayan diyabetik ağır kombine immün yetmezlik - T ve B hücresi üretemeyen) fareler üzerinde yapılan bir çalışmada farelere nakledilen GFP+ (green fluorescent protein, yeşil floresan protein) olan MKH'ler böbreğe göç ederek burada böbrek hücelerine farklılaştığı ve daha da önemlisi böbreğin nekrotik segmentlerini yeniden oluşturduğu ve herhangi bir bağışıklık tepkisi de indüklemediği bildirilmiştir (Herrera ve diğ., 2004; Lee ve diğ., 2006). Ayrıca Lee ve diğerlerinin 2006 yılında yaptıkları çok benzer çalışmada ortaya çıkan bir başka önemli sonuç ise MKH'lerin endotel hücrelerine farklılaştığı ve CD31 belirtecinin ekspresyon düzeyi ile glomerüllerdeki kan kılcal damarlarını yenilediğinin kanıtlanmasıdır (Lee ve diğ., 2006). MKH'ler aynı zamanda hem doğuştan gelen hem de edinilmiş bağışıklık üzerinde etki gösterebilmektedir (Uccelli ve diğ., 2008). Bu hücre grubunun içerisinde yer alan DC (dendritik hücre), T ve B lenfosit hücreler, NK (doğal öldürücü hücre) dahil hücrelerinin fenotipleri üzerinde değişiklik gerçekleştirme aracılığıyla immünomodülatör etki uyguladığı gözlemlenmiştir (Aggarwal ve Pittenger, 2005). MKH'lerin bu özellikleri T1DM oluşumunda yer alan otoimmünite mekanizmasında potansiyel tedaviler için önem teşkil etmektedir (Goenka ve diğ., 2020) (Şekil 2.14). Çünkü; kontrol altında tutulabilen T1DM tedavisinde bile uygulanan enjeksiyonlar veya yamalar yoluyla (insülin pompası gibi) verilen insülinin dozajı ve etki süresi, insanın kendi vücudunun ürettiği insülinin etkisi ve fizyolojik düzeyi ile aynı değildir (Tiwari, 2015). Dolayısıyla radikal diyabet tedavisinde transplantasyon yoluyla tedavisi, pankreas dokusu donörlerinin akut yetersizliği ve immün rejeksiyon komplikasyonları nedeniyle de zorludur (Shapiro ve diğ., 2000). T1DM kesin tedavisi için

otoimmünitenin tersine çevrilmesi ve immün sistemin baskılanması gereklidir (Goenka ve diğ., 2020). Mezenkimal kök hücrelerin göstermiş oldukları immünomodülatör etki dışında bağışıklık hücrelerinin özellikle T hücrelerin, TGF-β1 (Dönüştürücü büyüme faktörü beta 1), HGF (Hepatosit büyüme faktörü) (Di Nicola ve diğ., 2002; Krampera ve diğ., 2003) veya nitrik oksit (Sato ve diğ., 2007) gibi faktörlerle çoğalmaları üzerinde hem inhibitör etki hem de T hücre anerjisi gerektiren modifikasyonları indüklediği gösterilerek bağışılık baskılıyı bir ortam oluşturdukları da tespit edilmiştir (Bartholomew ve diğ., 2002; Corcione ve diğ., 2006; Gamble ve diğ., 2018; Glennie ve diğ., 2005; Spaggiari ve diğ., 2006). TGF-β1 bir diğer önemli etkisi ise T regülatör hücreler indüksiyonu başlatmasıdır (Carrillo-Galvez ve diğ., 2015; Patel ve diğ., 2010; Salazar ve diğ., 2009). MKH'lerin T hücreleri üzerinde rol aldıkları bir diğer etki ise, mezenkimal kök hücrelerin ASH'lerle (antijen sunan hücre) temasa geçip fiziksel olarak engelleyip hücreden hücreye temas yolu ile DC'lerin olgunlaşmasını engeller, bu yarı olgun ve tolerojenik fenotipe sahip olan DC'ler ise T hücre aktivasyonlarını kısıtlar. MKH'ler monositlerin DC'ye farklılaşmasını engelleyen IL-6 gibi sitokinleri saldığı araştırmalarda umut verici sonuçlar gözlemlenmiş ve doğrulanmıştır (Djouad ve diğ., 2007; Jiang ve diğ., 2005). IL-6 salgılanmasının, lenfositlerin ve nötrofillerin apoptozunu geciktirdiği de bildirilmiştir (Raffaghello ve diğ., 2008; Xu ve diğ., 2007). Ayrıca son çalışmalarda HLA-G5'in üretimini, T regülasyon hücrelerin oluşumunu da desteklediği gösterilmiştir (Le Rond ve diğ., 2006). Aynı zamanda MKH'lerinin T hücre kaynaklı IL-10 ile etkileşiminin HLA-G5 üretimini uyardığı bilinmektedir (Haddad ve Araujo, 2014) ve HLA-G5 üretiminin T hücre proliferasyonunu ve ayrıca doğal öldürücü hücre sitotoksisitesini baskıladığı bulunmuştur (Nasef ve diğ., 2009; Selmani ve diğ., 2008). İlgili bir çalışmada, kordon kanından izole edilen MKH'lerin, kandaki Th1/Th2 sitokin dengesini geri kazandırdığı, CD4+ CD25+ FoxP3+ T regülasyon hücrelerinin proliferasyonunu desteklediği ve pankreas adacıklarında infiltrasyon lökositlerin apoptozunu ise indüklediği bildirilmiştir (Zhao ve diğ., 2009). Dolayısıyla M'ler B hücrelerinin proliferasyonunu durdurur, böylece T1DM'deki otoimmün durumu etkin bir şekilde tersine çevirme potansiyelini barındırmaktadır (Volarevic ve diğ., 2010) (Şekil 2.14). Tüm bu kısıtlamalar ve engellemeler sonucu MKH'ler direkt ve indirekt yollarla T hücrelerin aktivasyonlarını baskılamış olurlar (Beyth ve diğ., 2005; Krampera ve diğ., 2003). MKH'ler düzenleyici T hücrelerinin ekspresyonlarını

desteklerken (Berman ve diğ., 2010; De Miguel ve diğ., 2012) proinflamatuar sitokinlerin ekspresyonlarını engelleyerek (Berman ve diğ., 2010; Glennie ve diğ., 2005) T hücrelerin reaktivitelerini durdurur ve bunun sonucu olarak sitotoksik T hücre kaynaklı apoptoz meydana gelmez (Rasmusson ve diğ., 2007; Ryan ve diğ., 2005). Adacık tranplantasyonu gibi nakil durumlarında alıcıdan elde edilen MKH'lerin kullanımı, bellek T hücrelerinin sayısını azaltmanın yanı sıra donör karşıtı T hücre proliferasyonunda azalmaya ve T regülatör hücrenin T hücreye oranlarında daha yüksek seviye gözlemlenmiştir (Berman ve diğ., 2010; Kenyon ve diğ., 2021).

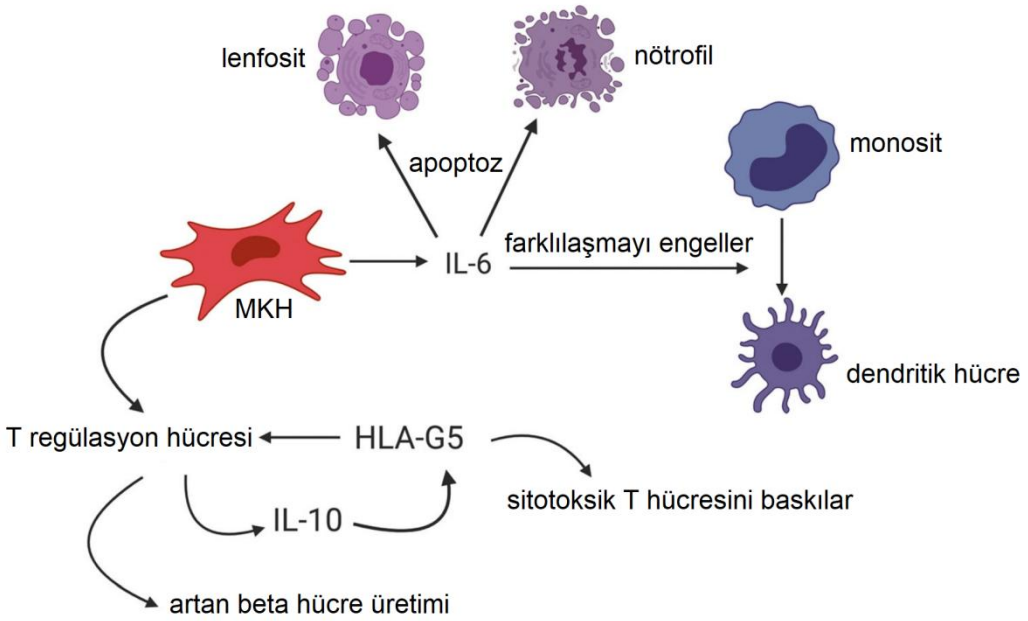


Şekil 2.14. T1DM oluşumundaki otoimmünite mekanizması (Goenka ve diğ., 2020)

T1DM'li bireyler kandaki şeker düzeyini kontrol altında tutamadıkça hem hastalık ilerlemektedir hem de yaşam kalitesilerini ciddi düzeyde olumsuz yönde etkilemektedir. Bunun en önemli nedeni ise kontrol altında olmayan diyabet bireyin yaşam süresini kısaltabilecek ciddi kronik komplikasyonlara neden olabilmesidir. Eksojen insülin ile tanının ardından en kısa sürede geleneksel tedavi uygulanmaya başlayan hasta, dışarıdan aldığı insülin ile kandaki şeker arasındaki kontrolü ve dengeli sağlayamazsa meydana gelecek hiperglisemik veya hipoglisemik koma ölümlerle bile neden olabilir (Cryer, 2013; Gotthardt, 2011; Nair ve diğ., 2020; Zhou ve diğ., 2022). Küresel sağlık sorunları arasında başı çeken hastalılar arasında yer alan T1DM ile MKH arasında tedaviye yönelik umut verici gelişmeler bulunmaktadır. T1DM tedavilerinde,

MKH'lerin kolay elde edilebilir olunuşu, immünomodülatör ve anti-inflamatuar özellikleri hücre bazlı tedavilerde MKH'leri, en iyi aday hücre yapmakla beraber hem hayvan hem de klinik deneylerde kapsamlı bir şekilde incelenmektedir (Davies ve diğ., 2016; Wan ve diğ., 2022; Zhou ve diğ., 2022) (Şekil 2.15).

T1DM ve MKH ile yapılan çalışmalar incelendiğinde öncelikle MKH'lerin dokulardaki mikroçevreleri değiştirerek mevcut beta hücre sağkalımını ve rejenerasyonunu destekleyerek beta hücre kütlesini arttırdığı ve bu sayede periferik dolaşımdaki glukoz düzeyinin normal değer aralıklarında kalımı sağlanmıştır (Cai ve diğ., 2016; Carlsson ve diğ., 2015; Gerace ve diğ., 2017; Gimble ve diğ., 2007). Bir başka çalışmada ise kemik iliği kaynaklı MKH'ler diyabetik farelere enjeksiyonunun insülin seviyesini arttırırken hiperglisemiyi azalttığı, insan göbek kordonu kaynaklı MKH'lerin eksozomlarının nakli sonucu ise insülin duyarlılığın arttırabileceği rapor edilmiştir (Chen ve diğ., 2021). Yine insan göbek kordonu kaynaklı MKH'lerle monoterapi sonucu otoimmünitenin baskılanılarak hem pankreatik adacık hücrelerinin rejenerasyonunu hem de kanda bulunan glukoz seviyesinin iyileştiği tespit edilmiştir (Nauta ve Fibbe, 2007; Ren ve diğ., 2008; Zhao, 2012).

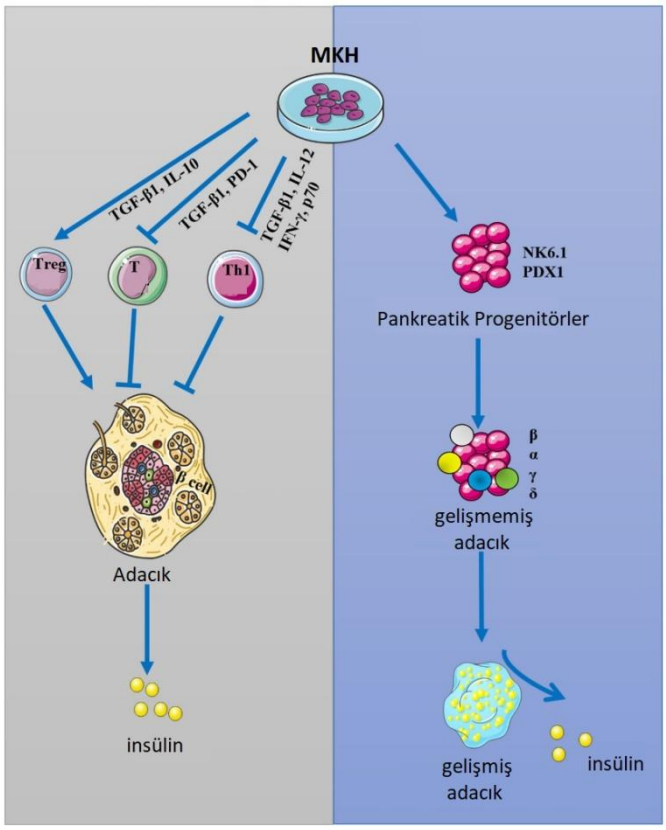


Şekil 2.15. HLA-G5 ve T1DM otoimmün mekanizması (Goenka ve diğ., 2020)

Yapılan deneylerde allojenik MKH'lerin insülin, C-peptid ve kan şekerini seviyelerini iyileştirebildiği kanıtlanmıştır (Wand ve diğ., 2022). Domouky ve diğerlerinin 2017

yılında yapmış oldukları çalışmada ise MKH'lerin diyabetik sıçanlarda 15. günde hiperglisemiyi azalttığı gösterilmiştir. Shigemoto-Kuroda ve diğerlerinin 2017 yılında yaptıkları deneylerde ise öncelikle farelerde T1DM hastalık modeli geliştirdiler ve çalışma sonunda Th1 (tip 1 yardımcı T hücresi) gelişimini baskılayarak farelerdeki diyabet gelişimini geciktirebildiklerini, MKH'lerla tedavi edilen farelerde sadece PBS (phosphate-buffered saline, fosfat tamponlu tuz çözeltisi) verilen farelere göre adacıklarda çok daha az miktarda CD4 + T hücresi olduğu, yine MKH'lerle tedavi edilen farelerde plazmada insülin seviyesinin arttığı ve IL-12, IFN-g, p70 ile TNF (tümör nekroz faktörü) üretiminde önemli dercede azalma tespit edilmiştir. Abdi ve diğ. 2008 yılında, Bassi ve diğ. ise 2012 yılında 8 haftalık erkek Balb/c farelerinin adipoz dokularından izole ettikleri MKH'leri CD4+ T hücre proliferasyonunu önleme kapasitesinin immünofenotiplenmesi ile karakterize edildiği kanıtlanmıştır. Aynı çalışmada Bassi ve diğ. NOD fareleri MKH'lerle tedavi ettiklerinde; erken başlangıçlı otoimmün diyabet hiperglisemisinin düştüğü, pankreastaki Th1 bağışıklık tepkisini baskılayarak pankreas adacıklarında insülin ekspresyonunu koruduğu, inflamatuar hücre infiltrasyon seviyesinin azaldığı, aktif TGF-bl'nin yüksek düzeyde ekspresyonunu sağladığını ve adacık amiloid polipeptidi (IAPP) olarakta bilinen amilin düzeyini arttırdığı gözlemlenmiştir. 2019 yılında van Megen ve diğerlerinin yaptıkları deneyde HLA-DR ekspresyonunu ve immün engelleyi belirteçlerini arttırdığı, T hücre proliferasyonunu durdurduğunu ve en önemlisi de alloreaktif T hücrelerini uyarmadan bağışıklık baskılayıcı kapasiteyi yükselttiği rapor edilmiştir.

Montanuci ve diğ. 2016 yılında yapmış oldukları *in vitro* araştırmada, insan göbek kordonundan elde edilen mezenkimal kök hücreleri mikro boyutta kapsülleyerek biyohibrit yapay bir sistemin oluşturdular ve deney sonucunda MKH'lerin immünomodülatör etkileri indükleyebildikleri ve insanlarda terapötik potansiyellerini daha da netleştirmeyi mümkün kıldıklarına dair ön verileri elde etmişlerdir. Aynı çalışma grubunun 2019 yılında yaptıkları çalışmada ise T1DM sahip NOD fareler üzerinde mikrokapsüllenmiş insan göbek kordonu Wharton jölesinden izole edilen mezenkimal kök hücreler aracılığıyla ksenogreft nakil gerçekleştirilmiştir. Deneyin 10. gününde T düzenleyici hücreler artmadığı gözlemlenirken 216. gününde ise CD4 ve CD25+ T hücrelerin hem miktar hem de oran olarak arttığı, hafif T1DM'li Nod farelerde hiperglisemi seviyelerinde sürekli ve tam bir düşüş sergilediği gözlemlenirken



Şekil 2.16. T1DM tedavisinda olası mezenkimal kök hücre mekanizması (Wan ve diğ., 2022)

ileri T1DM'li NOD farelerde ise hiperglisemi düzeyinde ise hiçbir düşüş görülmediği rapor edilmiştir.

Dolayısıyla elde edine bu sonuçlar doğrultusunda NOD farelerde MKH temelli T1DM tedavinin tamamıyla T1DM hastalık sürecinin hangi aşamasında bulunduğuna bağlı olduğu ve ileri T1DM'de pankreatik beta hücre kütlesinde süreç içerisinde durmaksızın devam eden azalma sergiledikleri belirtilmiştir (Montanucci ve diğ., 2019).

MKH ve T1DM ile yapılan çalışmalarda öncelikle nakillerin etkileri incelenmiş olsa da hemen arkasından MKH'lerin beta hücresi benzeri hücrelere farklılaşıp farklılaşmadıkları, adacık ve beta hücre kütlelerinin hayatta kalımlarını sağlayıp sağlıyamadıkları veya arttırıp arttıramadıkları araştırılmıştır. İlk olarak Chen ve diğ. 2004 yılında MKH'lerden beta hücresi benzeri ve morfolojik açıdan ise pankreatik adacık hücre benzeri karaktere sahip hücreler elde edebildiklerini göstermişlerdir ve bu hücreler aracılığıyla diyabetik sıçanlarda kan şekeri düzeylerinin etkili bir bçimde kontrol edebilen insülin salımını göstermişlerdir. Bir yıl sonra MKH'lerin in vitro

koşullarda başarılı bir şekilde insülin üretebilen beta benzeri hücrelere transdiferansiyasyonu da başarılı olarak denenmiştir ve bu çalışmada transdiferansiyasyonu sırasındaki en önemli faktörün pankreas ve duodenal homeobox 1 olarak da bilinen PDX-1 olduğu rapor edilmiştir (Karnieli ve diğ., 2007). MKH'lerinden fonksiyonel adacık veya beta hücresine farklılaşmada PDX1, NGN3, NEUROD1, NKX6.1 ve ISL gibi transkripsiyon faktörlerinin ekspresyon seviyelerinin arttıkları gözlemlenmiştir. Fakat *in vitro* çalışmalarında bu belirteçlerin sadece eksprese ediliyor oluşları nöron gibi hücre türlerininde gelişimi sırasında yer almaları nedeni ile tamamen fonksiyonel beta hücresi elde edilebilidiğini göstermemektedir (Perillo ve diğ., 2018; Prabakar ve diğ., 2012). Bunun nedenleri arasında bu proteinlerin tek başlarına *in vivo* koşullardaki işlevsel bir beta hücresi gibi davranmasını garanti edememesi bulunur. Çünkü beta hücre dışı faktörlerin ekspresyonu kritik süreçlere müdahale edebilirken, olgun işlevsellik için gerekli olan diğer belirteçlerin ekspresyonları ise olgun beta hücre fonksiyonu için ihityaç duyulan salgı kesecikleri, K^+ veya Ca^{2+} kanal gibi etmenlerin hala eksik olması gibi durumlar söz konusu olabilir (de Klerk ve Hebrok, 2021). Diğer yandan 2008 yılında hem Gao ve diğerlerinin çalışmalarında hem de yine yanı yıl yapılan Chao ve diğerlerinin yaptıkları çalışmalarda da *in vitro* ortamda MKH'lerden adacık benzeri hücreler eldesi sağlanarak adacık benzeri şekillerde kümeleştikleri gösterilmiştir. Fakat 2012 yılında ise Tang ve diğ. deney süreçlerini uzattıklarında daha az olumlu sonuçlar elde ettikleri gözlemlenmiştir. NOD/SCID farelere öncelikle 12 gün boyunca STZ (streptozotosin) enjekte ediliyor ve sonrasında ise kemik iliği kaynaklı MKH'lerden türetilen ve insülin üretebilen hücreler nakil edildiklerinde, başlangıçta glikoz düzeylerinde yaklaşık yarı yarıya bir düşüş gözlenirken bu farelerde tümör gelişimi gerçekleştiği ve 45 gün içerisinde tamamen diyabetik oldukları rapor edilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda ortaya çıkan en önemli nokta ise kemik iliği kaynaklı MKH'lerin uzun süreli *in vitro* hücre kültür ortamında kendiliğinden neoplastik hücrelere dönüştüğünü gösterilmiş olup farelerde oluşan tümörün büyük olasılıkla farklılaşmamış MKH'lerden türediklerini düşündürmektedir. Bu aşamada literatür bilgiler ışığında her çalışmada neoplastik eğilim sonucu oluşan tümör kitleleriyle karşılaşılmamış olunmasının nedenleri arasında; öncelikle MKH'lerin kaynağındaki farklılıklarının, kullanılan farklılaşma protokollerinin ve nakledilen hücrelerin farklılaşma aşamalarının olduğu hipotez edilmiştir (Prabakar ve diğ., 2012; Wu ve diğ.,

2009). Yine aynı yıl Prabakar ve diğerlerinin yapmış oldukları deneylerde normoglisemi saptanmamıştır. Düşük C-peptid seviyelerin gözlemlendiği çalışmada, C-peptidlerin glukoza yanıt olarak transplantasyondan ancak 60 gün sonra saptanabildiği ve transplantasyondan 150 gün sonra bile hala ölçülebilir olmasına rağmen aralıkların oldukça değişken olduğu ve terapötik amaçların altında kaldığı bildirilmiştir (Prabakar ve diğ., 2012). Phadnis ve diğ. ise 2011 yılındaki araştırmalarında olgunlaşmış beta hücrelerin üretilmesindeki verimsizliğin nedeni olarak proinsülin transkriptinin yokluğu olduğunu tespit etmişlerdir. Bu sürece kadar MKH'lerden türetilen insülin üretebilen hücrelerin transkriptom profilleri, heterojenlikleri ve monohormonal hücrelere karşı polihormonal hücrelerin yüzdelerini kapsamlı bir şekilde araştırılmamıştır. Ayrıca bifazik dinamik insülin salgılanması, uygun kalsiyum sinyali, mitokondriyal solunum fonksiyonu, glukoz oksidasyonu ve mitokondriyal oksidatif fosforilasyonun indüksiyonu gibi fonksiyonel beta hücrelerinin kritik fonksiyonel yönleri de analiz edilmemiştir (Choi ve diğ., 2003; Ezquer ve diğ., 2012; Lechner ve diğ., 2004). Bir başka çalışma, 2012 yılında Ezquer ve diğ. tarafından yapılmış olup STZ ile diyabeti indüklenmiş farelere kemik iliğinden izole edilen MKH'ler intravenöz şekilde verilmiş ve kan şekeri seviyelerinde iyileşmeler, HbA1c (Hemoglobin A1c, glikozillenmiş hemoglobin) diyabetik olmayan farelerdeki benzer seviyelere düştüğü ve toplam salgılanan insülin düzeyinin arttığı bildirilmiştir. Bu çalışmada floresan işaretleme metodu ile takip edilen MKH'lerin insülin üreten hücrelere farklılaşmadığını, ancak düzenleyici T hücrelerinin hem sistemik hem de lokal dengesini destekledikleri, IL-13 gibi antiinflamatuar belirteçlerin de ekspresyonlarını artırdıkları ve IL1 beta, IL-18, TNF alfa ve MCP1 (Monosit Kemotaktik Proteini 1) gibi proinflamatuar belirteçlerin ekspresyonlarını ise azalttıkları belirtilmiştir (Ezquer ve diğ., 2012). Dolayısıyla yapılan araştırmaların çoğunda MKH'lerin dolaylı yollarla adacık hücrelerinin sağlığını ve hayatta kalmalarını desteklediği gözükmektedir (de Klerk ve Hebrok, 2021). 2013 yılında Mesples ve diğerlerinin otolog kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücre transplantasyon etkinliğini analizi için yürütülen çalışmada, özellikle anti-pankreatik adacık antikorlarının azalmasında iyileşmeler bildirmişlerdir. Çalışmalarındaki 12 aylık takipte ICA (adacık hücre antikoru), GAD (glutamik asit dekarboksilaz antikorları) ve insülin antikorları seviyelerinde düşüş görülürken C-peptid seviyesinde artış, kan şekerinde ve HbA1c seviyelerinde ise normal değer aralıklarına yakınlaşma görüldüğü

raporlanmıştır. Bir başka çalışmada ise yeni tanı almış 20 yetişkin hasta üzerinde benzer klinik çalışmalar sonucu tedavi edilen hastalar, transplantasyondan 12 ay sonra bile karışık yemek tolerans testine (MMTT) yanıt olarak C-peptid seviyelerinde koruma ve hatta artış gösterilmiştir (Carlsson ve diğ., 2015). 2017 yılında ise T1DM farelere nakledilen insan göbek kordonu Wharton jöle kaynaklı MKH'lerle alakalı olarak C-peptit ile insülin seviyesini destekleyebildiği ve bu MKH'lerin pankreas dışı lokal hücrelerden insülin salgılanmasını arttırmak için hasarlı dokulara migrasyon özelliği olduğu ispatlanmıştır (Maldonado ve diğ., 2017). 2019'da yayınlanan 6 kontrollü T1DM çalışmasında ise uyarılmış C-peptid ve açlık C-peptid seviyelerinde hiçbir fark olmadığını bildirilirken HbA1c'deki azalma, tedavi edilen ve kontrol edilen hastalar arasında gözlemlenen tek fark olduğu rapor edilmiştir (Hwang ve diğ., 2019).

Gecikmiş yara iyileşmesinin ardından doku nekrozu, kontrolsüz diyabetin diğer bir karakteristik özelliği olsa da bu durumun neden mekanizmasında, büyüme faktörlerinin eksikliği, anjiyojenik faktörlerin üretimi ve kollajen matrisinin kararsızlığı olduğu gösterilmiştir (Medina ve diğ., 2005). Diyabetik yara, neovaskülarizasyonun azalan işlevsellik nedeniyle nötrofillerle sıkışmış nekrotik doku odaklarında ve TGFB (trombosit kaynaklı büyüme faktörleri), epidermal büyüme faktörleri (EGF), platelet kaynaklı büyüme faktörleri (PDGF) ve keratinosit kaynaklı büyüme faktörleri (KGF) gibi etmenlerin görevlerini yerine getirememesi nedeniyle oluşan şiddetli bir patogenez durumudur (Medina ve diğ., 2005). MKH'lerin dolaşım yoluyla transplantasyonu sonucu TGFB, KGF, PDGF ve VEGF üretimini destekleyerek kaliteli kollajen üretimine ve yara iyileşmesine sapladığı bildirilmiştir (Spanheimer, 1992). Diyabetik ileri yaraları iyileştirme konusunda bir diğer araştırma ise MKH'ler ile beraber Rhodiola rosea (Altın kök) olarak bilinen bitkiden elde edilen tirozol glukozidi olan salidrosid (salidrozid olarak da bilinmektedir) ile hücre kültüründe muamele edildikten sonra diyabetik yarası olan farelere verilmiş ve MKH'lerin iyileştirici tedavide kullanılmıştır (Ariyanti ve diğ., 2019). Bu çalışmalarda salidrosidinin, hipergliseminin kaynaklı reaktif oksijen türlerinin oluşumunu azaltırken parakrin fonksiyonunu ve neoanjiyogenezi desteklediğini ortaya koymuştur (Lu ve diğ., 2017; Shi ve diğ., 2015). MKH'lerin salidrosid ile ortak hücre kültür sonra transplantasyonu yapılan MKH'lerin yara iyileştirmedeki mekanizması incelendiğinde önemli faktörleri olan HO-1 (heme oksijenaz-1), FGF-2 (fibroblast büyüme faktörü-2) ve HGF (hepatosit büyüme faktörü)

desteklediği rapor edilmiştir (Ariyanti ve diğ., 2017; Lu ve diğ., 2017; Zhang ve diğ., 2017). MKH'ler sadece diyabetik yaralarda değil aynı zamanda cilt fibroblastının otolog biyogreftinin MKH ile kombinasyonunun diyabetik ayak ülseri (DFU) tedavisinde de etkili olduğu gösterilmiştir (Vojtassak ve diğ., 2006). Güney Kore menşeli firma olan Anterogen tarafından üretilen; adipoz dokudan elde edilen allojenik mezenkimal kök hücreleri içeren bir hidrojel yama olan ALLO-ASC adlı ürün, 12 hafta boyunca DFU olan toplam 59 hasta ile yapılan klinik çalışmada, 12. haftaya kadar hastaların %82'sinde tatmin edici rejenerasyon görülmüş olup yüksek anti-HLA antikorlar oranına sahip 16 hastada hiçbir klinik red belirtisi gözlenmediği rapor edilmiştir (Bora ve Majumdar, 2017; Qomi ve Sheykhhasan, 2017). Ayrıca anti-HLA antikorları yüksek olan bu 16 denek tedavi sonrası 2 yıl boyunca takip edilmiştir ve herhangi bir advers reaksiyona rastlanmadığı bildirilmiştir (Cao ve diğ., 2017; Moon ve diğ., 2019). Bunlar dışında DFU tedavisi için plasenta, kemik iliği ve insan göbek kordonundan elde edilen MKH'ler kullanılmıştır (Lopes ve diğ., 2018).

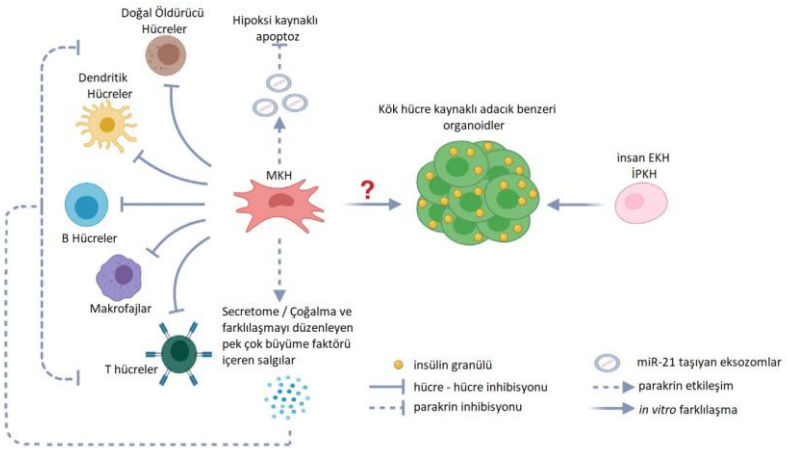
En yaygın kullanılan kök hücre türü olan MKH'ler çeşitli dokulardan diğerlerine nazaran daha kolay elde edilebildiği için insan klinik deneylerinde kullanılmış ve kök hücre transplantasyonunun T1DM üzerinde olumlu etkileri olduğunu göstermiştir. Fakat bu olumlu etkilerin yanı sıra allojenik hücre temelli tedavilerde MKH'lerin terapötik amaçlı kullanımları T1DM klinik denemeleri açısında tartışmaları da beraberinde getirmektedir (Song ve diğ., 2020). Çünkü; MKH'lerin T1DM tedavilerinde olumlu etkileri ile beraber çeşitli sınırlamalar da eşlik etmektedir (Goenka ve diğ., 2020). Bu sınırlamalar arasında MKH'lerin konakçı dokuda farklılaşma yeteneği, ihtiyaç duyulan hücreler veya dokulara kesin farklılaşma özelliği, malignite ve sitojenik aberasyonlar olasılığı, immünosupresanların neden olduğu toksisite nedeniyle olası greft kayıplar, bağışıklık sisteminin reddi, nakil sonrası hemen gelişebilen inflamasyonlar yer almaktadır (Barshes ve diğ., 2005; Ryan ve diğ., 2005; Tolar ve diğ., 2007; Volarevic ve diğ., 2011; Yeung ve diğ., 2012). Diğer önemli bir yaklaşım ise MKH temelli bu terapötik yaklaşımların, radikal bir tedaviden öte daha çok semptomlara yönelik olmasıdır (Goenka ve diğ., 2020).

T1DM klinik çalışmalarında MKH için üç önemli hipotez üzerine yoğunlaşılmıştır. Birinci hipotez, normoglisemiyi geri döndürebilecek fonksiyonel beta hücrelerine

dönüşen MSC'den türetilen pankreas progenitörlerinin kullanımı, ikincisi *in vivo* ortamda doğrudan transdiferansiyasyon yoluyla farklılaşmamış MKH'lerin kullanıldığı nakil ve sonuncu hipotez ise pankreas progenitörlerine farklılaşmadan adacık sağlığını ve hayatta kalmasını desteklemek için farklılaşmamış MKH'lerin kullanımını kapsamaktadır (de Klerk ve Hebrok, 2021) (Şekil 2.17). MKH'lerin T1DM radikal tedavileri üzerine oluşturulmuş bu üç hipotez incelendiğinde önemli aşamaların katedildiği fakat henüz hem *in vitro* hem de *in vivo* koşullarda yine bu hipotezleri destekleyen fonksiyonel olgunlaşmış beta hücrelerine veya adacık benzeri organoidlere farklılaşma eksik olduğu görülmektedir (de Klerk ve Hebrok, 2021)

Günümüzde klinik denemeler sayfası incelendiğinde T1DM ve MKH'lerin toplam 23 çalışma grubu bulunmakla beraber bu çalışmaların 4 tanesi bitmiş ve tamamlanmış, 3 tanesi hasta kabulü yapmakta olup 1 tane çalışma geri çekilmiş ve 15 adet çalışmanın durumu ise bilinmiyor olarak güncellenmiştir (URL-7). ChiCTR2100045434 numaralı klinik denemelerde toplam 33 yetişkin ve 20 genç yeni tanı almış toplam 53 katılımcı ile yapılan 12 aylık çalışmada intravenöz allojenik göbek kordonu kaynaklı MKH'lerin naklinin güvenli olduğunu ve tanı alındıktan sonra ki ilk yıl boyunca tek başına geleneksel tedavi ile karşılaştırıldığında muhtemelen daha iyi beta hücresi koruması sağlandığı rapor edilmiştir (Lu ve diğ., 2021). NCT01374854 numaralı klinik çalışmasında ise göbek kordandan elde edilen MKH'lerin nakillerinin tamımıyla güvenli olduğu ve T1DM'li hastalarda orta derecede iyileşmeler sağlandığı bildirilmiştir (Cai ve diğ., 2016). Başka bir klinik deneme de ise karaciğer yoluyla enjekte edilen MKH'lerin bir yıl içinde iki hastada insülin, adacık hücreleri ve GAD (glutamik asit dekarboksilaz) antikor düzeylerinde başarılı bir şekilde azalttığını, kan şekeri, HbA1c ve C-peptid konsantrasyonu düzenleyerek T düzenleyici hücrelerin arttığını göstermişlerdir (Mesples ve diğ., 2013). Ayrıca tamamlanmış klinik çalışmalardan elde edilen verilerin meta-analizleri, MKH'lerin T2DM'deki adacıkları koruyabildiğini, ancak T1DM hastalarındaki etkisinin net olmadığı ve araştırılmaya devam edilmesi gerektiğini göstermektedir (de Klerk ve Hebrok, 2021).

Tüm bu sonuçlar, T1DM dahil olmak üzere inflamatuar ve otoimmün bozuklukların tedavisine yardımcı olan bir hücresel immün müdahale tedavisi olarak MKH'lerin kullanımının klinik denemelerdeki cesaret verici ilk adımları göstermektedir.



Şekil 2.17. Adacıkların korunması ve beta hücre miktarının onarımı için MKH'lerin potansiyel tedavi edici mekanizmaları (de Klerk ve Hebrok, 2021)

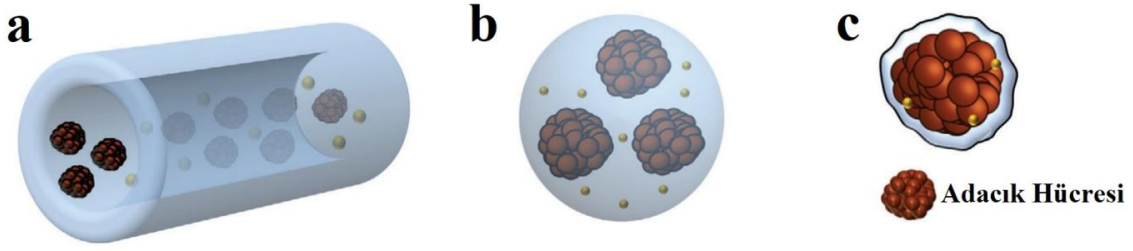
Alınan sonuçlar ışığında özellikle MKH temelli tedavilerin immüntoleransın yeniden yapılandırılması ve beta hücrelerine farklılaşma metoduyla T1DM için radikal bir tedaviye ulaşmak açısından hızlaca ilerlenen ve gelecekte potansiyel olarak sınırsız bir beta hücre kaynağı olduğunu göstermektedir. Çünkü; her ne kadar daha fazla çalışmaya hala ihtiyaç duyulsa da çalışmalarda otolog veya allojenik MKH'ler beta hücrelerinin korunmasında ve bağışıklık yanıtlarının yeniden şekillendirilmesine önemli rol oynadıkları bildirilmektedir. MKH'lerin klinik çalışmalardaki bu potansiyel etki mekanizmaları arasında büyüme faktörlerinin salgılanması yoluyla bir parakrin aracılı etkileri, hücre dışı mikroçevrenin modülasyonu, reaktif oksijen türlerini (ROS) durdurma özelliği, eksozomlar aracılığıyla mikro RNA'ların (miRNA) hipoksisi ile indüklenen apoptoza karşı koruma ve bağışıklık sistemini modüle etme yeteneği, T hücresi proliferasyonunu inhibisyonu ve düzenleyici T hücrelerini destekleyerek makrofajlar, B hücreleri, dendritik hücreler ve doğal öldürücü hücreler gibi diğer bağışıklık hücresi türlerini baskılayabilmeleri yer almaktadır (Carlsson ve diğ., 2015; Chen ve diğ., 2020; Mesples ve diğ., 2013; Najar ve diğ., 2006; Salgado ve diğ., 2010; Song ve diğ., 2020). T1DM için MKH temelli tedavilerin etkinliğini aydınlatmak için daha fazla sayıda kayıtlı hasta ve kontrol ile devam eden randomize kontrollü çalışmaların sonuçlarına ihtiyaç vardır.

2.6. Enkapsülasyon ve T1DM

T1DM geleneksel tedavisinin en temel taşı olan insülin tedavisi 1921 yılında tip 1 diyabet ile yaşamını sürdüren bireylerin hayatlarını kurtarmasına rağmen hastaları malesef uzun vadeli komplikasyonlardan tek başına korumayan bir tedavi metodudur (Scharp ve Marchetti, 2014). Klinik açıdan başarılı adacık implantları 1989'da başlamış olup ömür boyu immünosupresyon tedavisine ihtiyaç duyulmaktadır (Scharp ve Marchetti, 2014). Enkapsülasyon 1930'ların başlarında (Garza ve diğ., 2020; Orive ve diğ., 2004) bir insan insülinomasından (insülin üreten tümör) hücre izolasyonu ve nakline yönelik girişimlerden bu yana günümüz teknolojisi sayesinde büyük ölçüde ilerlemiştir (Garza ve diğ., 2020; Orive ve diğ., 2004). Enkapsülasyon yöntemlerinin biyoteknoloji aracılığıyla gelişimi, özel biyomateryallerin eklenmesiyle başta T1DM olmak üzere birçok çeşitli hastalıkların tedavisinde büyük umutlar barındıran sayısız dokuların ve hücrelerin kullanılmasını sağlamaya devam etmektedir (Garza ve diğ., 2020; Orive ve diğ., 2014). Enkapsülasyon teknolojiler aynı zamanda birçok araştırma alanında kök hücre tedavilerini ilerletme çabalarının çağdaş artışına paralel olarak genişlemektedir (Hashemi ve Kalalinia, 2015; Garza ve diğ., 2020). Enkapsülasyon tarihçesinde Lim ve Sun 1980 yılında ilk mikroenkapsülasyon naklini bildiren araştırmacılardır (Ghoneim ve diğ., 2020; Lim ve Sun, 1980) ve günümüze kadar kemirgenlerde, domuzlarda, köpeklerde ve insanlarda birçok materyallerin kendileri veya çeşitli kombinasyonları kullanılarak artan sayıda çalışma yapılmış ve yapılmaya devam edilmektedir (Tomei ve diğ., 2015).

Tip 1 diyabetli bireyler yaşam boyu eksojen insülin kullanmaları gereklidir, ancak gerçekleştirilen klinik araştırmalarda; eksojen insülinde endojen insülinin biyolojik etkilerini tam anlamıyla kopyalamakta başarısız kalındığını göstermiştir (Cohen ve diğ., 2016; Zhang ve diğ., 2022). Tekrarlayabilen hiperglisemik veya hipoglisemik olaylar ve sonuçları konusunda Langerhans adacık nakilleri hastalar için potansiyel bir tedavi niteliği taşımasına rağmen allojenik veya ksenotransplantasyon adacıklar inflamatuar ve bağışıklık reaksiyonları nedeniyle düşük hayatta kalma oranı ve tekrarlayan T1DM sergilerler (Hering ve diğ., 2006; Shapiro ve diğ., 2000). Allojenik veya ksenojenik adacıkların nakli sonrası intraportal infüzyonu sırasında anlık kan aracılı inflamatuar reaksiyon (IBMIR - instant blood-mediated inflammatory reaction) nedeni ile yıkıma

uğrarlar (Bennet ve diğ., 2000). Diğer yandan intraportal infüzyon ile nakil kanamalara, trombozlara ve buna bağlı diğer komplikasyonlara sebep olabilirler (Shapiro ve diğ., 1995). Nakledilen adacık hücreleri tarafından pıhtılaşmanın fizyolojik bir tetikleyicisi olan doku faktöründen ötürü koagülopati oluştuğu düşünülmektedir (Moberg, 2005). Nakil sonrası çok kısa bir süre içerisinde kemokinler ve kemokin reseptörleri çeşitli lökositlerin aktivasyonunu indükleyerek akut immün yanıtlar başlatılması sağlanır (Akashi ve diğ., 2005). Sonuç olarakta, aktive edilmiş bağışıklık hücreleri, proinflamatuar sitokinleri ve reaktif oksijen türlerini salgılayarak adacık destrüksiyonu başlatılmış olur (Pathak ve diğ., 2019). Günümüz tedavilerinde greftlerin uzun süreli sağkalımları için sürekli immünosupresif ilaçlar kullanımına ihtiyaç duyulmaktadır ve bu ilaçların uzun vadeli kullanımları çeşitli toksisitelere, fırsatçı enfeksiyonlara, nefrotoksisiteye, miyelosupresyona veya kanser gibi çeşitli yan etkilere yol açabilir (Rossi ve diğ., 1993). Ayrıca yapılan araştırmalarda immünosupresif ilaçların, nakledilen hücrelerin hayatta kalımlarını sağlarken aynı zamanda fonksiyonelliğine de zarar verdiği, glukoz toleransını önemli ölçüde bozabildiği ve artan insülin direncine yol açabildiği ortaya çıkmıştır (Lamming ve diğ., 2012). Sürekli bağışıklık sisteminin baskılanması ve bu duruma bağlı ortaya çıkabilecek komplikasyonlarla bağışıklık reddini önlemek amacıyla hücreyi kapsülleme teknolojisi, endokrin hücrelerini immobilizasyonuna esasen bağışıklık sisteminden koruyan yarı geçirgen matris içerisinde yer alan bir sistem olup umut verici bir tedavi alternatifi olmaktadır (Zhang ve diğ., 2022) (Şekil 2.18).



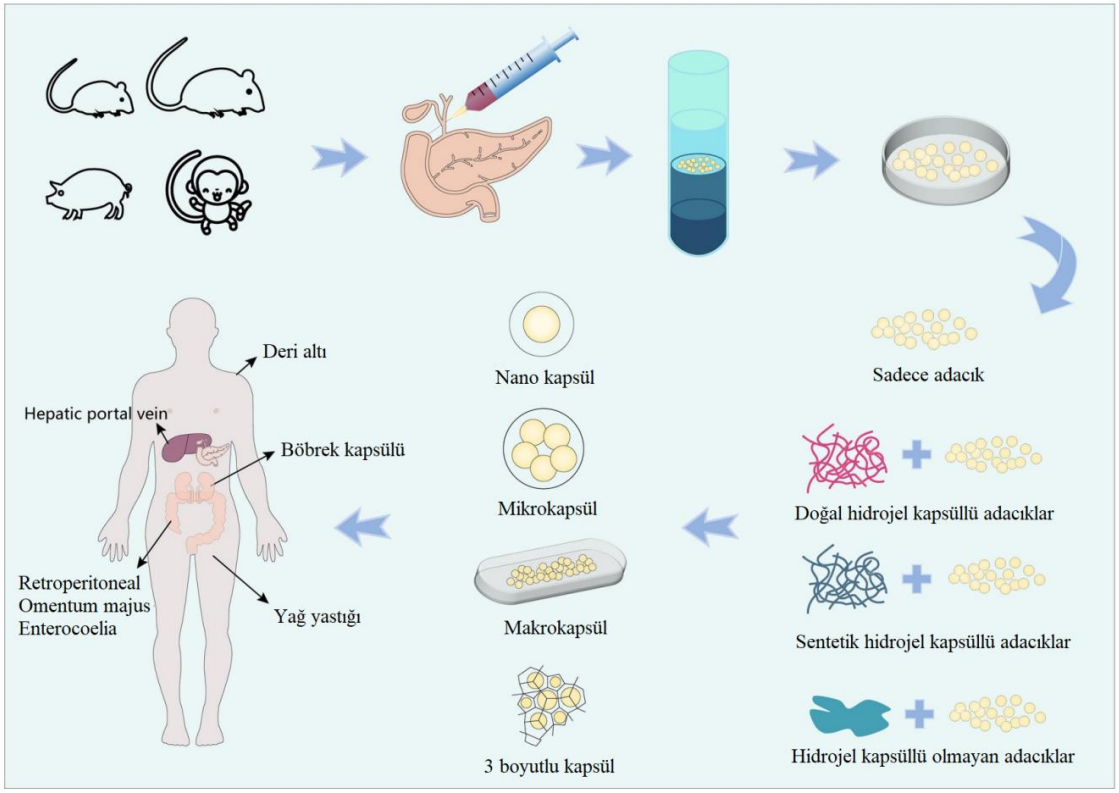
Şekil 2.18. Farklı ölçeklerde adacık kapsülleme için mevcut biyomateryal tabanlı stratejiler. a) Makroenkapsülasyon. b) Mikroenkapsülasyon. c)Nanoenkapsülasyon (Wu ve diğ., 2021)

Kısacası enkapsülasyon ile nakledilecek hücreleri korumayı ve işlevselliklerini olumsuz yönde etkileyebilecek hatta alıcıları enfeksiyonlara ve kansere yatkın hale getirebilecek yaşam boyu bağışıklık baskılayıcıları değiştirmeyi amaçlamaktadır (Lopez ve diğ.,

2022; Vaithilingam ve diğ., 2017). Günümüz teknolojisi enkapsülasyonun makro, mikro veya nano boyutlarda gerçekleştirilebilmesini sağlamaktadır (Şekil 2.19).

Enkapsülasyon özellikle T1DM tedavisi alanında adacık hücrelerinin transplantasyonuna odaklamış olup nakledilen adacıkların alıcı immün sisteminin ataklarından korumak ve hücrenin hayatta kalması için besin, oksijen ve atık metabolitlerin akışı gibi kütle transferilerinin yanı sıra glikoz ve insülin akışları gibi işlevselliklerini sağlamak için biyoyapay pankreaslarda kullanılır.

Enkapsülasyonun tarihçesine bakıldığında canlı hücrelerin mikrokapsülasyonu 1964'te Thomas MS Chang'in fikriyle başlamıştır, daha sonra 1980'de Anthony M Sun tarafından izole pankreas adacıkları üzerinde uygulanmıştır (Basta ve diğ., 2021).



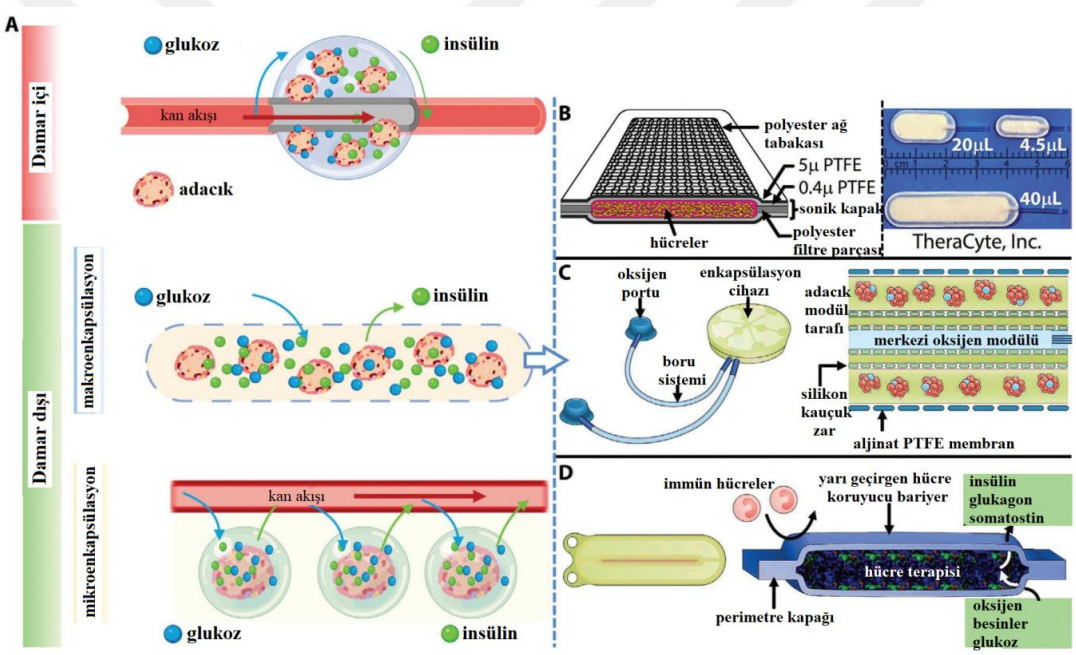
Şekil 2.19. Günümüze kadar gerçekleştirilmiş adacık kapsülleme ve transplantasyon şeması (Zhang ve diğ., 2022)

Enkapsülasyondaki temel amacın biyouyumluluğunu ve fiziksel-kimyasal özelliklerini zaman içinde koruyarak, nakledilen hücreler ile alıcının immün sistemi arasındaki fiziksel teması önleyerek izole edilmiş hücrelere immün yanıtlara karşı koruyucu bir kalkan sağlamak olduğu belirtilmiştir (Basta ve diğ., 2021; Lopez ve diğ., 2022). İnsan

üzerinde kapsüllenmiş adacık greftinin ilk çalışması, 1994 yılında Soon Shiong ve diğ. tarafından gerçekleştirilmiş olup çalışan bir böbrek allogrefti taşıması nedeniyle immünosupresyon altında olan bir tip 1 diyabet hastasına, intraperitoneal infüzyonunu aracılığıyla AG-poli-L-lisin ile mikrokapsüllenmiş 10.000 IEQ (islet equivalent - adacık eşdeğeri)/ kg nakli gerçekleştirilmiş olup ilk nakilden 6 ay sonra ise tekrardan ikinci bir 5.000 IEQ/kg greft nakledilmiştir (Basta ve diğ., 2021; Shiong ve diğ., 1994). Sonuçları incelendiğinde ise hastada glisemik kontrolün sağlandığı ve transplantasyondan 9 ay boyunca insülinden bağımsız kalabildiği bildirilmiştir (Basta ve diğ., 2021; Shiong ve diğ., 1994). Fakat gerçekleştirilen bu ilk insan klinik çalışma bulguları incelendiğinde aynı zamanda hastanın immünosüpresyona sahip iken mikrokapsüllerin etkili bir immün koruyucu bariyer olarak rolünü konusunda bazı soru işaretlerin oluşmasına zemin hazırlamıştır (Basta ve diğ., 2021; Shiong ve diğ., 1994). Benzer bir çalışma 2013 yılında Thevissen ve diğ. tarafından gerçekleştirilmiştir. Çalışmada Ca2+ /Ba2+ AG ile mikrokapsüle edilmiş allojenik adacıklar insana nakledilmiştir. 300.000 IEQ kapsüllenmiş adacık hücresi intraportal yol ile 61 yaşındaki bir kadın tip 1 diyabet hastasının periton boşluğuna enjekte edilmiştir (Thevissen ve diğ., 2013). Bulgularda plazma C-peptid düzeyi ilk 12 haftada nakil öncesi seviyelerin üzerine çıktı bildirilmiştir. Fakat ekzojen insülin ihtiyacında bir azalma olmadığı ve oto-antikor durumunda bir değişiklik olmadığı vurgulanmıştır (Basta ve diğ., 2021; Thevissen ve diğ., 2013). Çalışmanın sonuçlarındaki daha önemli bir başka veri ise nakilden 3 ay sonra gerçekleştirilen laparoskopide, periton boşluğuna yayılmış, çoğunlukla fibröz doku ve bağışıklık hücreleri ile çevrili tek veya kümelenmiş mikrokapsüller gözlendiği rapor edilmiştir (Basta ve diğ., 2021; Thevissen ve diğ., 2013). Bugüne kadar klinik faz aşamasına geçmiş 6 çalışma bulunmaktadır (Lopez ve diğ., 2022). Bunlar; ilki mikrokapsülasyon stratejisinin uygulandığı DIABECELL® (Diatranz Otsuka Ltd.) (NCT00940173, NCT01739829, NCT01736228), ikincisi Sernova firması tarafından yürütülen ve makrokapsülasyona stratejisina dayalı Cell Pouch™ (NCT03513939) çalışması, üçüncüsü Beta-O_2 Technologies Ltd.'nin yürüttüğü βAir (NCT02064309), Viacyte firmasının yürüttüğü PEC-Encap™ (NCT02239354, NCT029391, NCT04678557), PEC-Direct™ (NCT03162926, NCT03163511) ve PEC-QT™ (NCT05210530) çalışmalarıdır (Lopez ve diğ., 2022) (Şekil 2.20) (Tablo 2.11). Gözenekli makroenkapsülasyonlar genellikle birkaç santimetre çapında, büyük

miktarlarda adacık içerebilme kapasitesine sahiptir. Ayrıca yetersiz oksijen, nakledilecek greft ve dispersiyon sorunlarını çözmek için geliştirilmektedir. Makrokapsüller damar içine veya damar dışına implante edilebilir. İntravasküler enkapsülasyonlar tromboz ve enfeksiyonlar gibi yüksek riske sahip cerrahi bir yöntem olan intravasküler şant yoluyla doğrudan sistemik dolaşıma bağlanmasıyla gerçekleştirilir (Farina ve diğ., 2019; Hu ve de Vos, 2019) (Şekil 2.21).

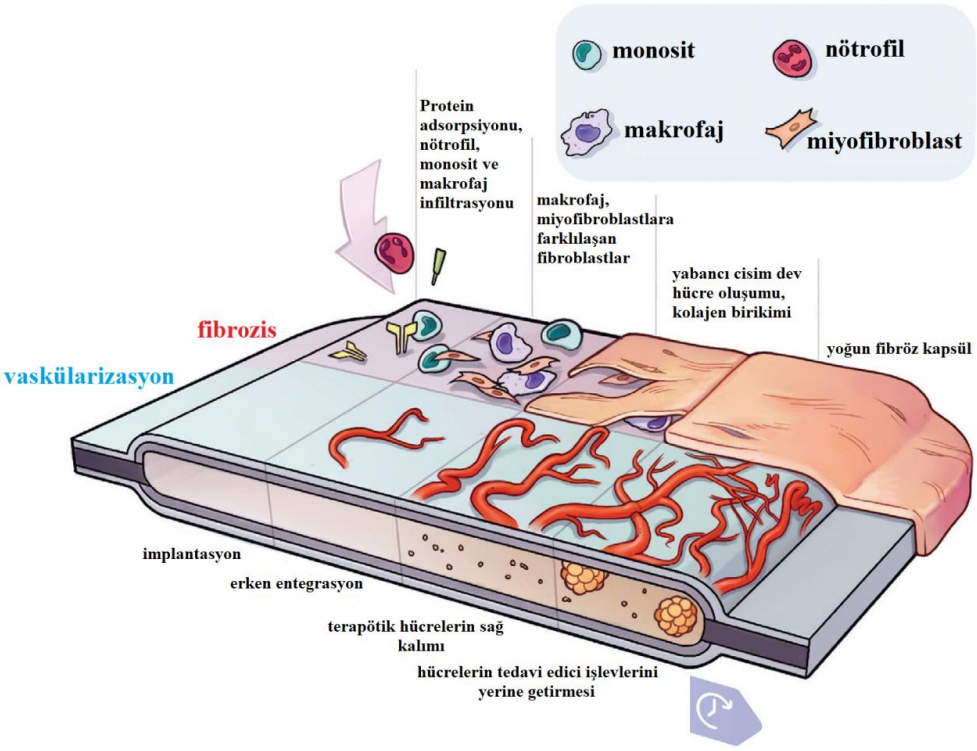
Ekstravasküler makrokapsülasyon ise damar sisteminin dışına nakil edilmesi nedeniyle yeni kan damarı oluşumuna bağlıdır. Makro boyuttaki enkapsülasyonların nakil sonrası herhangi bir nakil başarısızlığ veya advers gibi durumlarla karşılaşılması durumunda kolayca çıkarılabilir olup subkutan boşluğa implante edildiklerindeyse transkutan olarak



Şekil 2.20. Adacık enkapsülasyonuna genel bir bakış ve klinik denemelerindeki makroenkapsülasyon cihaz örnekleri, a) İntravasküler ve ekstravasküler adacık enkapsülasyon yöntemleri, b) TheraCyte™, c) bAir (beta-O_2 Technologies), d) PEC-Encap™ (Viacyte) (Goswami ve diğ., 2021)

kolayca yüklenebilir ve yeniden doldurulabilirlik özelliğini barındırırlar (An ve diğ., 2017; Scharp ve Marchetti, 2014; Scheiner ve diğ., 2019; Song ve Roy, 2016). Yapılan çalışmalarda yeni kan damarlarının genelikle transplantasyon sonrası 14 gün sonunda olgunlaşarak geliştiği fakat hemen ardından kapsüllenmiş adacıkların önemli bir bölümünün oksijen ve besin eksikliği nedeniyle öldüğü bir periyottan geçtikleri bildirilmiştir (Emamaullee ve Shapiro, 2017; Scheiner ve diğ., 2019). Dolayısıyla

makrokapsülasyon teknolojisinden en yüksek düzeyde performans, hücreler sağ kalımı ve işlevsellik almak amacıyla implant çevresinde anjiyogenezin uyarılmasına, nakledilen adacıklara oksijen iletiminin arttırılmasına, bağışıklık yanıtlarının veya redlerinin üstesinden gelinmesine ve enkapsülasyon sistemindeki besin tedarikinin arttırılmasına gereksim duyulmaktadır (Lopez ve diğ., 2022). Örnek olarak Sernova Corporation firması, adacık transplantasyonundan önce subkutan bölgenin vaskülarizasyonunu destekleyen Cell Pouch^{TM}'i geliştirmişlerdir. Cell Pouch^{TM}'deki biyolojik olarak parçalanamayan polimerlerden meydana gelmesi nakil sonrası ilk üç haftasında, transplante edilen adacık hücreleriyle beraber ortamın dokularına uyumu ve mikrodamarların geliştiği bir yapı iskelesinin oluşumunu sağlanmaktadır. Çalışmanın yapıldığı diyabetik farelerde 100 günden fazla normal kan şekeri düzeyi rapor edilmiştir (Lopez ve diğ., 2022; Pepper ve diğ., 2015). Sernova'nın son basın açıklamasında, implante edilmiş Cell PouchTM'lerine intraportal adacık infüzyonları alan üç kişinin de normal C-peptid seviyelerine sahip olduğunu ve ciddi hipoglisemi ataklarının olmadığını bildirilmiştir. Ayrıca bu çalışmaya katılan ilk iki bireyde 21 ve 2 aylık insülinden bağımsızlık sağlanırken,



Şekil 2.21. Hücrelerin makroenkapsülasyondaki grafiksel gösterimi (Goswami ve diğ., 2021)

üçüncüsü katılımcıda ise azalmış insülin gereksinimler rapor edilmiştir. Günümüzde üç kişiye daha Cell Pouch^{TM} implante edildiği ve adacık infüzyonlarını bekledikleri belirtilmiştir (URL-8). Dolayısıyla Cell Pouch^{TM}, tranplantasyon sonrası rastlanan yüksek düzeyde adacık hücre ölümlerine çözüm sağlamakta olup sistemdeki prevaskülarizasyon aşaması, adacıkların transplantasyondan sonra gerekli kan beslemesinin almasını sağlamak için umut verici bir strateji gibi görünmektedir (Lopez ve diğ., 2022). Vaskülarizasyon dışında nakledilen adacıkların oksijene ulaşabilmesi de çok önemli bir faktördür ve bunun sağlanması oksijen üreten materyaller veya harici oksijen iletiminin sağlanmasıyla gerçekleştirilebilir (Coronel ve diğ., 2019; Goswami ve diğ., 2021). Florida Üniversitesi Diyabet Enstitüsü tarafından OxySite adıyla oksijen salabilen bir biyomateryal geliştirmiştir (Coronel ve diğ., 2019). OxySite, katı kalsiyum peroksiti kapsülleyen polidimetilsiloksandan oluşan hidrolitik olarak reaktif bir biyomateryal olarak açıklanmıştır. OxySite ile diyabetik kemirgenler üzerinde yapılan deneylerde hipoksik koşullar altında 30 gün boyunca adacık hücrelerin sağkalımlarını ve işlevselliklerini artıran kontrollü oksijen üretimi kanıtlanmıştır. Fakat agaroz makro boyuttaki enkapsülasyonlara eklenemesinde OxySite'in implantın biyouyumluluğunu etkilemeyecek minimal bir konak yanıtı ortaya çıktığı bildirilmiştir (Coronel ve diğ., 2019). Tasarımcıları tarafından OxySite mikro boncuklarının makro gözenekli bir yapı iskelesinden oksijen salınımının lokalizasyonunu ve uzun ömürlülüğünü iyileştirmek için geliştirildiği ve denemeler sonucu yaklaşık olarak %90 düzeyinde hücre infiltrasyonunu ve damarlanmayı sağladığı rapor edilmiştir (Lopez ve diğ., 2022). Ayrıca nakledilen scaffoldun tam vaskülarizasyonu için ortalama 14 güne gereksim duyarken bu süreçte OxySite mikro boncukları 20 güne kadar oksijeni ulaştırabildiği ve transplantasyon sonrası hipoksik dönemin azalmasını desteklediği tespit edilmiştir (Liang ve diğ., 2021). Gerçekleştirilen araştırmalarda öncelikle tedavi için alıcının ihtiyaç duyduğu adacık hücre sayısını %25 oranında tasarruf edilerek azalttığını fakat 30 günden fazla uzun ömürlü olabilmesi için çalışmalara devam edilmekte olduğu ifade edilmiştir (Coronel ve diğ., 2019; Liang ve diğ., 2021). Cornell Üniversitesi'ndeki araştırmacılar da oksijen üreten bir ürün geliştirmişlerdir. Geliştirdikleri "Ters Solunum Kapsülleme Cihazı" (Inverse Breathing Encapsulation Device) adacıklar tarafından salgılanan karbondioksitten oksijen üretmek için lityum peroksit kullanan bir ters solunum sistemi olup oksijen üretimi kendi kendini kontrol etmekte olduğu

belirtilmiştir. Bu üçüncü nesil ürün, lityum peroksit/perflorokarbon içeren bir yedek tank ve aljinat ile enkapsüle edilmiş adacıklarla doldurulmuş silikon borudan oluşmaktadır (Wang ve diğ., 2021). Yapılan diyabetik fare araştırmalarında 3 ay boyunca hem işlevselliğini hem de hayatta kalımları ispatlanmıştır. Daha sonra bu ürün aljinat içinde 1.500 IEQ(islet equivalent) sıçan adacığı ile doldurulmuş silikon boru ile 22 cm çapında ve 8 mm kalınlığında bir yedek tanka sahip olacak şekilde büyütüldüğü ve geliştirilen bu ikinci ürünü domuzların deri altlarından denenmek amacıyla implante edildiği raporlanmıştır. Sonuçlarda ksenojenik nakile rağmen adacıklar, implantasyondan 1-2 ay sonra sağlıklı ve işlevsel oldukları tespit edilmiştir (Lopez ve diğ., 2022; Wang ve diğ., 2021). Ayrıca klinik çalışmalarda insan adacık transplantasyonunda kullanılan standart 1 doza eşdeğer 500.000 IEQ adacığa 1 aydan fazla bir süre oksijen sağlamak için 3 gr lityum oksit yeterli olabileceği ispat edilmiştir. Fakat ürünün uzun süreli adacık sağkalımı için sınızsız oksijen tedariğini sağlayabilmesi için ya tank değiştirmeye ya da yeniden doldurma açısından daha fazla ürün modifikasyonuna ihtiyacı bulunmaktadır (Wang ve diğ., 2021). Bu ürünlere bir diğer örnek olarak bAir ürünü (beta-O_2 Technologies) verilebilir. Bu ürün sayesinde hasta tarafından subkutan bir port aracılığıyla günlük olarak (maksimum süre 30 saat) doldurulması gereken bir oksijen gazı tankı içermektedir. Bu ürün, klinik faz I (NCT02064309) çalışmasında T1DM'li 4 hastaya nakledilerek ürünün güvenliğini, allojenik adacıkların fonksiyonelliği ve bağışıklık yanıtlarını önleme yeteneği kanıtlamıştır. Ürünün oksijen verme özelliğiyle hücre canlılığını desteklenmiş olmasına rağmen nakledilen adacıkların işlevselliği minimal kaldığı belirtilmiştir (Carlsson ve diğ., 2018). Ayrıca yalnızca haftalık olarak oksijenle doldurulması gereken ikinci nesil bir ürünün, 2020-2021 yılları içinde insan klinik denemelerine girmesi beklendiği bildirilmiştir (URL-9). Adacık Yapıları için Hızlı Oksijenasyon Ağı (Speedy Oxygenation Network for Islet Construct) ürünü, oksijeni implantın çevresinden kapsüllenmiş adacıklara taşıyan biyomimetik bir hücre dağıtım sistemini içermektedir ve gözenekli iç hava kanallarına sahip poli(viniliden florür-ko-heksafloropropilen) ile doldurulmuş 3D baskılı bir poli(laktik asit) iskelesinden tasarlandığı bildirilmiştir (An ve diğ., 2019; Wang ve diğ., 2021b). Birinci nesil 4,2 mm kalınlığında ürünle yapılan çalışma sonucunda diyabetik farelerin intraperitoneal boşluğuna 500 IEQ verilmesi sonrası hemen birkaç gün içinde normoglisemi sağladığı ve 6 ay boyunca BGL (blood

Tablo 2.11. Klinik çalışmalardaki enkapsülasyon faz çalışmaları (Carlsson ve diğ., 2018; Jones ve Ford, 2017; Lopez ve diğ., 2022; Pepper ve diğ., 2015; URL-13; URL-15; URL-21; URL-22; URL-23; URL-24; URL-25; URL-26; URL-27; URL-28; URL-29; URL-30; URL-31)

CİHAZ	ŞİRKET	KLİNİK DENEME	DAHİL EDİLME KRİTERLERİ	BİTİŞ	SONUÇLAR
DİABECELL (Mikroenkapsülasyon)	Diatranz Otsuka Ltd. (Living Cell Technologies)	NCT00940173 (N = 16) 5.000, 10.000, 15.000 veya 20.000 IEQ/kg	Aydınlatılmış onam, 35-65 yaş, T1DM ≥ 5 yıl, %10≥HbA1c ≥ %7, plazma C-peptid < 0.2 ng/ml	Aşama 1 – Güvenli Aşama 2 – Etkili (HbA1c seviyelerinde azalma)	Güvenli, hipoglisemik ataklarda, HbA1c değerlerinde artış olmaksızın insülin dozlarında azalma
		NCT01739829 (N = 8) 2x5,000 veya 10,000 IEQ/kg, dozlar arası 3 ay	Aydınlatılmış onam, 18-65 yaş, T1DM ≥ 5 yıl, %15≥HbA1c ≥ %7, plazma C-peptid < 0.3 ng/ml	Aşama 1 – Güvenli Aşama 2 – Etkili (HbA1c değerlerinde artış olmaksızın hipoglisemik ataklarda azalma)	
		NCT01736228 (N=14) 2x10,000 IEQ/kg, dozlar arası 12 hafta	Aydınlatılmış onam, 18-65 yaş, T1DM ≥ 5 yıl, HbA1c ≤ %12, plazma C-peptid < 0.3 ng/ml	Aşama 1 – Güvenli Aşama 2 – Etkili (insülin artışı olmadan normogliseminin yeniden sağlanması)	
Cell Pouch™ (Makroenkapsülasyon) (≈60 mm çap x 60 mm yükseklik)	Sernova	NCT03513939 (N = 7) 3 hafta süreyle implante edilen cihaz, 3 hafta boyunca optimize edilmiş bağışıklık bastırıcılar, ve ardından cihaza nakledilen 3.000 IEQ/kg	Aydınlatılmış onam, 18-65 yaş, T1DM ≥ 5 yıl, T1DM tanısı < 40 yaş, plazma C-peptid < 0.3 ng/ml	Aşama 1 – Güvenli Aşama 2 – Etkili (Cell Pouch™ 'da endokrin doku sağkalımı, hipoglisemik ataklarda ve HbA1c'de azalma)	Güvenli, azalmış hipoglisemik ataklar, geliştirilmiş glisemik kontrol ve artan C-peptid ve insülin üretimi
βAir (≈68 mm çap x 18 mm yükseklik)	Beta-O2 Technologies Ltd	NCT02064309 (N = 4) her biri 1.800-4.600 IEQ/kg içeren 1-2 cihaz	Aydınlatılmış onam, >18 yaş, T1DM ≥ 5 yıl	Aşama 1 – Güvenli Aşama 2 – Etkili (glisemik kontrolde iyileşmeler)	Olumsuz bir olay yok, HbA1c, insülin gereksinimleri veya glukoz değişkenliğinde iyileşme yok

Tablo 2.11. (Devam) Klinik çalışmalardaki enkapsülasyon faz çalışmaları (Carlsson ve diğ., 2018; Jones ve Ford, 2017; Lopez ve diğ., 2022; Pepper ve diğ., 2015; URL-13; URL-15; URL-21; URL-22; URL-23; URL-24; URL-25; URL-26; URL-27; URL-28; URL-29; URL-30; URL-31)

PEC-Encap™ (≈68 mm çap,< 1 mm kalınlık)	Viacyte	NCT02239354 (N = 69)VC-01–250 ve VC-01–20implantlar (n = 19) veya4/6 VC-01 implant (n = 50)	İstikrarlı T1DM ≥ 3 yıl,CGM kullanmaya istekli	Aşama 1 – GüvenliAşama 2 – Etkili(C-peptid üretiminde iyileştirme)	Başlangıçtaki biyouyumluluk sorunlarının yeni membranla ele alınması bekleniyor
		NCT029391181 (N = 200)	Pec-Encap™ 'ın önceki implantasyonu ve eksplantasyonu	Güvenlik takibi	
		NCT04678557 (N = 70) ≤ 10 VC-01 implant (n = 30) veya 9 VC-01-DF artı 1-3 VC-01 implant (N = 40)	İstikrarlı T1DM ≥ 3 yıl, protokol başına insülin doz gereksimlerinin sahiplenme	Aşama 1 – Güvenli Aşama 2 – Etkili (implantasyon sonrası mevcut olan greft hücrelerinin yüzdesi ve C-peptid üretiminde gelişme)	
PEC-Direct™ (≈45 mm uzunluk x 25mm genişlik, < 1 mm yükseklik)	Viacyte	NCT03162926 (N = 3) Kişi başına ≤ 6 implant 4 aydan fazla	İstikrarlı T1DM ≥ 5 yıl, CGM kullanmaya istekli	Aşama 1 - Güvenli	Güvenli, ilk verilerde PEC-01 hücrelerin engraftmanı ve işlevselliği ile C-peptid arttışı belirlendi
		NCT03163511 (N = 75) ≤ 6 VC-02–20 implant 2 yıl içinde (n = 15) veya 6 VC-20–300 implant ve ≤ 4 ek VC-02–20 (n = 60)	Hassas T1DM ≥ 5 yıl, CGM kullanmaya istekli	Aşama 1 – Güvenli Aşama 2 – Etkili (C-peptid üretiminde iyileşme)	
PEC-QT™	Viacyte	NCT05210530 (N = 10) ≤10 VCTX210A implantlar	T1DM ≥ 5 yıl, istikrarlı, optimize edilmiş diyabetik rejim ≥ 3 ay	Aşama 1 – Güvenli (yan etki ve bağışıklık tepkilerinin insidansı)	Çağrı devam ediyor, N = 1, Şubat 2022'de VCTX210A implante edildi

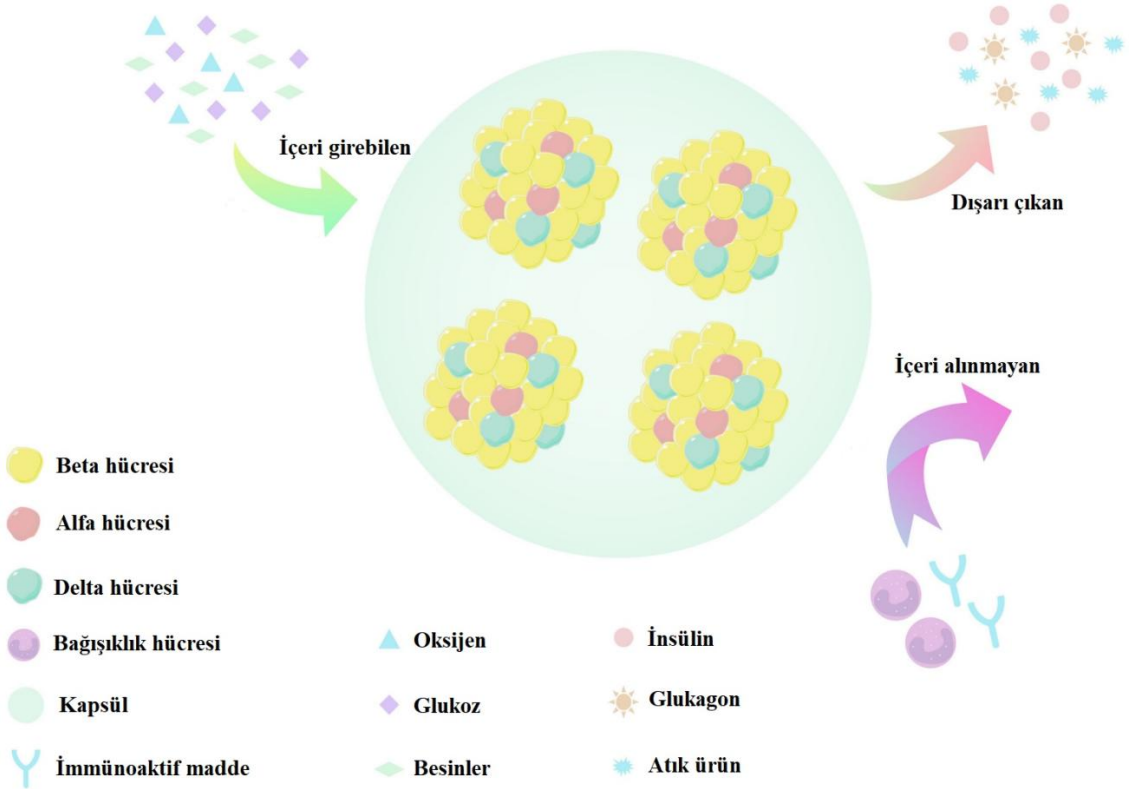
(blood glucose level - kan glukoz seviyesi) kontrol altında tutulduğu rapor edilmiştir. Fakat ürün alındıktan sonra hiperglisemi tekrar meydana geldiği ama eksplante edilen adacık hücrelerin ise hala glukoza duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Eksplante edilen ürünlerde fibroz oluşumunun olmaması, iyi tolere edildiği şeklinde ifade edilmesini sağlamıştır (An ve diğ., 2019; Wang ve diğ., 2021b). İkinci nesil, 6.6 mm kalınlığındaki ürünün diyabetik farelerde 4 ay boyunca normoglisemiyi sağladığı raporlanmıştır. Bu nedenle, bu ürünlerin kalınlıktan bağımsız olarak kapsüllenmiş hücrelere oksijeni etkili bir şekilde taşıma yeteneği, klinik olarak gerekli olan yüksek doz adacıklar için muhtemelen faydalı olacağını ortaya çıkarmıştır (An ve diğ., 2019; Lopez ve diğ., 2022; Wang ve diğ., 2021b). Sonuç olarak bu iki fazlı ürün sayesinde hücrelerin yüklenmesinin sadece birkaç dakika içerisinde non-invaziv bir şekilde gerçekleştirilebiliyor ve kapsüllenmiş hücrelere sınırsız oksijen kaynağı oluşu T1DM tedavileri arasında büyük umut vaat ettiği ifade edilmiştir (An ve diğ., 2019). Defymed tarafından geliştirilen MailPan® (adacık hücrelerinin makrokapsülasyonu), düzlemsel bir kese oluşturan 47 mm çapında iki yarı geçirgen polyester membrana olarak tasarlanmıştır ve titanyum subkutan enjeksiyon portlu iki silikon kateter, tip 1 diyabetik karında implantasyon sonrası doldurulmasını ve boşaltılmasını kolaylaştırmaktadır. Böylece sonraki invaziv operasyonlara olan ihtiyacı ortadan kaldırdığı belirtilmiştir (Lopez ve diğ., 2022; Magisson ve diğ., 2020; URL-10). MailPan® kemirgenler üzerindeki çalışmalar için 39 mm çapa kadar küçültülerek 6 hafta boyunca içi boş olarak implante edilmiştir. Bu noktada adacık içeren kese için yeterince oksijen sağlamak amacıyla iyi organize edilmiş fonksiyonel damar sistemi geliştirildiği belirtilmiştir (Magisson ve diğ., 2020). Yapılan deneylerin 8 haftalık takiplerinde, kapsüllenmiş adacıklar miktarlarında artış, normal seviyeye gerilemiş açlık glisemi sağlanmışken açlık dışı glisemi düzeylerinde ise sadece kısmen normalleşme rapor edilmiştir (Magisson ve diğ., 2020). MailPan®'in 4 aylık süre boyunca minimal bir fibrozis saptandığı tespit edilmiş olup bu göstergenin MailPan®'in iyi derecede uyum sağladığına yorumlanmıştır (Magisson ve diğ., 2020). Defymed firmasıyla Semma Therapeutics işbirlik içerisinde klinik faz çalışmalarında ilerlemek amacıyla canlı β hücreleri MailPan®'de kapsüllemişlerdir (URL-11). Viacyte firmasının tarafından geliştirilen PEC-Encap™ ise bağışıklık koruyucu olup yüzeyden dolaylı vaskülarizasyona bağlı olan yarı geçirgen bir kapsülleme kesesi içermektedir. Fakat

PEC-Encap™ patentin sona ermesi üzerine TheraCyte™ teknolojisinden geliştirilmiştir (Jones ve Ford, 2017). Gerçekleştirilen ilk klinik denemelerindeki bulgular (NCT02239354 ve NCT029391181), PEC EncapTM'in tip 1 diyabet hastalarına güvenli bir şekilde implante edilebildiği ancak etkinliğinin immün yanıtları nedeniyle azaltıdığı bildirilmiştir (URL-12; URL-13; URL-14; URL-15). Bu nedenle W.L. Gore & Associates işbirliğiyle immün yanıtları azaltmak, canlılığını ve işlevselliğini iyileştirmesi amacıyla politetrafloroetilenden yapılmış yeni bir membran geliştirilmiştir ve Şubat 2021 tarihinde faz II klinik denemelerine geçilmiştir ve bu yılın ikinci yarısında verilerin paylaşılması beklenmektedir (URL-15; URL-16). Ayrıca Cornell Üniversitesi'ndeki araştırmacılar, makrokapsülasyon ürünlerinin nakledilen bölgede karşılaştıkları yabancı cisim tepkileriyle mücadele etmek için, poliüretanın mekanik gücünü zwitterionların hidrofilik ve biyouyumluluk özellikleriyle birleştiren nanogözenekli bir zwitteriyonik poliüretan ürün geliştirmişlerdir. Zwitteriyonik poliüretan ürünün içerisinde diyabetik farelere intraperitoneal olarak 500-600 IEQ sıçan adacığı verildiğinde 3 ay boyunca normalleşmiş glikoz ve adacıklardan insülin difüzyonunun kolaylaştığı bildirilmiştir. Fakat zwitteriyonik poliüretan ürün geri alındığında ise tekrardan hiperglisemi görüldüğü rapor edilmiştir. Bir sonraki aşamada ise zwitteriyonik poliüretan ürün 1.8 mm çapa ve 25.4 cm uzunluğa yükseltilerek domuzların intraperitoneal boşluğa minimal invaziv bir şekilde implante edilmiştir. Bu ürünün durduğu 5 hafta boyunca ürünü iyi entegre olduğu ve ana gövdesi boyunca hiçbir doku yapışması göstermeden çıkarılabildiklerini belirtmişlerdir (Liu ve diğ., 2021). Enkapsülasyonun bir diğer çeşidi olan mikrokapsülasyonlar yaklaşık 500-1500 µm boyutta tek bir hücreyi veya tek bir hücre kümesini kapsüle etme özelliğini taşırlar (Farina ve diğ., 2019). Ayrıca mikrokapsüllerin geniş yüzey alanları sebibiyle bir hastayı tedavi etmek için gerekli olan yeterli sayıda adacığın verilmesini kolaylaştırabileceği belirltilmiştir (Farina ve diğ., 2019). Mikrokapsülasyon ürünlerinde aljinat, geçirgenliği, biyouyumluluğu ve *in vivo* koşullarda uzun süreli stabilitesi sebebiyle en çok kullanılan hidrojeldir (Strand ve diğ., 2017). Vegas ve diğ. 2016 yılında düşük immün yanıt indükleyicisine sahip olanları belirlemek için 700'den fazla aljinat analoğu test edilmiştir. Sigilon Therapeutics firması, Shielded Living Technologies™'in bir parçası olarak fibrotik yanıtı tetiklemeyen afibrotik polimerler olan Afibromer™'yi geliştirmişlerdir (URL-10). Aynı firma SIG-002'yi geliştirmek için

Eli Lilly ile ortaklık kurarak iPKH'den türetilmiş β hücrelerini Afibromer™ aracılığıyla ile 1,5 mm çapında aljinat ile mikrokapsüllemişlerdir (URL-11). SIG-002 adlı ürünün amacı, bir immün reaksiyon oluşturmadan insülin üretimini eski haline getirmektir ve farelere uygulanmasından sonra 75 gün boyunca normoglisemi sağlandığı bildirilmiştir (URL-17). Bir başka çalışma ise Living Cell Technologies tarafından geliştirilmiş olan Diabecell® adlı ürünüdür. Bu ürün ile domuz adacık hücrelerini kararlılığını arttırmak için poli-L-ornitin ile aljinatı beraber bir kat ve biyouyumluluğu iyileştirmek için de dışını bir kat daha aljinat tabakasıyla mikrokapsülasyon gerçekleştirilmiştir (Hillberg ve diğ., 2013). Klinik çalışmalarda Diabecell® (NCT00940173, NCT01736228, NCT01739829), T1DM'li 46 bireye implantasyonun ardından HbA1c'yi artırmadan hipoglisemi ataklarını ve insülin dozunu azalttığı rapor edilmiştir (Hillberg ve diğ., 2013). Daha sonra Diatranz Otsuka Ltd tarafından satın alınan Living Cell Technologies firması, Diabecell®'in etkinliğini daha geniş bir T1DM hasta popülasyonunda inceleyebilmek için faz III aşamasına hazırlandıklarını duyurmuşlardır (URL-10; URL-19). Gerçekleştirilen başka çalışmalarda ise zwitteriyonik aljinat mikrokapsüllerinin hem fibroz oluşumunu hem de mikrokapsüllü adacıkların ömrünü uzatığı bilgisine ulaşılmıştır (Liu ve diğ., 2019). Nano boyuttaki enkapsülasyonlar 50 nm'den küçüklerdir ve adacık hücrelerin nanokapsüllenmeleri hacmi kapsüllenmemiş, çıplak adacık hücrelerin hacimlerine çok benzer olması katman çalışmaları için önemlidir (Farina ve diğ., 2019; Hu ve de Vos, 2019). Nanokapsülasyonlar sayesinde toplam nakil hacminde büyük oranda azalmaya ve tedavi edici dozların kapalı alanlara verilmesini kolaylaştıracağı belirtilmektedir (Stock ve diğ., 2020). Ayrıca konformal nanokapsülasyonun amacı adacık hipoksisini ve gecikmiş insülin sekresyonunu en aza indirmek adına adacıklarla çevreleyen doku arasındaki mesafeyi azaltmak olduğu belirtilmiştir (Farina ve diğ., 2019; Hu ve de Vos, 2019). Nanokapsülasyon gibi ince polimerlerle adacık hücrelerini kapsüllenmesi bağışıklık hücrelerine karşı yeterli koruma sağlamada da başarısızlık potansiyelini barındırdığı vurgulanmıştır (Ernst ve diğ., 2019).

Enkapsülasyondaki ana strateji nakli gerçekleştirilecek hücrenin (adacık veya beta) temastan ve bağışıklık hücrelerinin saldırısından koruyan polimerik hidrojel kapsüllemenin kullanılmasından oluşur. Spesifik gözenek boyutları, biyomateryal membranı küçük besinlere ve salgılanan insüline karşı geçirgen kılar, ancak immün

hücrelerin ve immünoglobulin gibi büyük moleküllerin kapsül çekirdeğine difüzyonunu is engeller (Lim ve Sun, 1980) (Şekil 2.22). Fakat hidrojel mikrokapsüllerde adacık immobilizasyonu, hipoksik durumlara neden olabilir (Dionne ve diğ., 1993). Hücrelere zararlı etkileri olan bu durumun, anjiyogenezi destekleyen ve ekstrakorporal membran oksijenizasyon beslemesine izin veren makrokapsül cihazlarının kullanılmasıyla üstesinden gelinebilir (Zhang ve diğ., 2022). Adacık veya beta hücrelerin enkapsülasyon stratejilerini tasarlamak için, greft içeriği, uygun kapsül boyutu, alıcıya nasıl nakledileceği, implantasyon bölgesi, donör ile alıcı farklılıkları, organizma ve nakledilen bölge içindeki çevresel koşullar gibi faktörler başta olmak üzere birçok parametrenin dikkatlice değerlendirilerek uygulanması gerekmektedir. Donör ile alıcı arasındaki uyum, nakil bölgesi ve ortamı, transplantasyonun hangi yöntemlerle gerçekleştirileceği enkapsülasyonun hangi formülasyona sahip yapının kullanılacağının seçimi ve geliştirilmesinde nakledilecek hücrelerin sürekliliği ve sağ kalımları için anahtar görevindedir (Nguyen ve Lai, 2020).



Şekil 2.22. Kapsüllenmiş bir adacığın şematik diyagramı (Zhang ve diğ., 2022)

T1DM karmaşık bir bağışıklık hastalığı olması nedeniyle alıcıda herhangi bir bağışıklık reaksiyonundan kaçınması amaçlanması, hücrelerin enkapsüllasyon malzemelerinin seçiminde biyouyumluluğun en önemli özellik olma niteliği taşımasını sağlar. Kullanılan biyomalzemelerin topografisi, yüzey yükü ve mekanik stabilitesi gibi özellikleri, kapsülleme matrisinin hem hücrelerin içeriğine hem de alıcıya yönelik biyouyumluluğunu ayarlayabilmek için değiştirilebilir ve sonucunda ise hücrelerin sağ kalınması sağlanmış olup implante edilen malzemeye karşı immün tolerans durdurulabilir. Bu noktadaki enkapsülasyonun geometrik şekilleri gibi topografik özelliği hücrelerin yapışması ve migrasyonu gibi davranışlarına yol göstermede görev almasını sağlar (Ghasemi ve diğ., 2021). Enkapsüle edilmiş materyalin gözenek boyutunun, makrofajların uzaması ile geçişini etkilediği ve dokuların fonksiyonel rejenerasyonunu sağladığı rapor edilmiştir (Tylek ve diğ., 2020; Yuan ve diğ., 2021). Gözenekli matris yapısı lif bağlama, tuz empregnasyonu, köpürtme (sıvı içine gaz kabarcığı verilmesi gibi), üç boyutlu (3D) baskı ve dondurarak kurutma gibi çeşitli yöntemlerle hazırlanabilmektedir (Sachlos ve Czernuszka, 2003). Özellikle adacık enkapsülasyonunda uygulanan hidrojellerin elektriksel yükü içerisindeki sulu ortamın belirleyicisi olduğu bildirilmiştir (Elgersma ve diğ., 2019). Hidrojel yapısının içindeki su kontrol edilerek hidrojelde çözünen difüzyon hızı değiştirilebildiği belirtilmiştir. Hidrojel nötr yüklü bir yapıya sahip olduğunda, su moleküllerini güçlü bir şekilde bağlanması biyoaktif maddelerin yapışmasını etkili bir şekilde engellemekte oldupu tespit edilmiştir (Zhang ve diğ., 2019). Hidrojellerin mekanik stabilitesi, kapsüllenmiş hücrelerin *in vivo* koşullarında uzun vadeli stabiliteyi koruma yeteneğini etkilemekte olduğu ve bu durumda, hidrojelin mekanik özellikleri, fizyolojik koşullar altında kararsızlığı önlemek için kovalent çapraz bağlama, aşılama veya diğer uygun polimer zincirleriyle karıştırma yoluyla düzenlenebileceği belirtilmiştir (Huang ve diğ., 2021). Ayrıca yine hidrojelin sertlik durumunun *in vivo* olarak indüklediği yabancı cisim reaksiyonunun (FBR - foreign body reaction) gücünü de etkilediği rapor edilmiştir (Jansen ve diğ., 2018). Düzenlemelerle mümkün olan en az FBR sağlanabilinirken uzun süreçte fonksiyonelliği sürdürmek için yeterli ölçüde hücrelerin koruması konusunda bir dengeye ulaşan hidrojelleri üretmekte hala zorluklar bulunmaktadır (Zhang ve diğ., 2022).

Enkapsülasyon tasarımında bir diğer önemli etmen ise ürün veya ortamın asitlik derece-

sini gösteren pH (pondus hydrogenii) değeri ve enzimdir. İnsan vücudunun pH değeri 7,35 ile 7,45 arasındadır ve pH'ın 0,1 azalması insülin aktivitesinde yaklaşık %30 azalmasına neden olur. Bu nedenle hidrojeller başta olmak üzere tasarlanacak malzeme ve yapıların pH değerleri çok önemlidir. Kapsüllemedeki kullanılan yapıların katalaz ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi fazla enzimleri temizlemek aracılığıyla adacıklar veya beta hücrelerdeki reaktif oksijen türlerini ortadan kaldırarak uzun süreli canlılıklarını korumaları sağlanabilecekleri gösterilmiştir (Wang ve diğ., 2015). Bu enzimler, transplantasyonu gerçekleştirilen hücrelerin mikroçevrelerine zarar vererek nakil sonrası hemen kötü prognoza yol açabildiği de gözlenmiştir (Zhang ve diğ., 2022). İnsanlara transplantasyonu gerçekleştirilen adacık hücreleri sadece ölen bağışçılardan izole edilebilmektedirler. Donör ve alıcı arasındaki zamanı arasında uyumsuzluk olması durumunda, verimli kriyoprezervasyon metodlarına gereksim duyulur. Yapılan çalışmalarda, bu gibi durumlarda hidrojel gibi yapıları soğuğa duyarlı uygun kapsülleme yöntemleriyle birleştirilmesi sonucu adacıkların hem donma-çözülme sürecinden minimum zarar ile kurtulmasını hem de *in vivo* koşullara adacıklara doğal bir bariyer olacağı gösterilmiştir (Cheng ve diğ., 2019). Çünkü belirli bir sıcaklık aralığındaki sıcaklığa tepki veren polimerler, moleküller arası hidrojen bağlarının durumu, hidrofobik etkileşimler ve polimer zincirler nedeniyle faz geçişine uğrayabilirler (Sponchioni ve diğ., 2019). Nakillerle kullanılması durumunda diğer seçeneklere kıyasla hücrelerin sağ kalımları açısından başarı sağlayan hidrojeller, yüksek su içeriğine sahip 3 boyutlu yapılar oluşturan çapraz bağlı makromoleküllerdir ve bu çapraz bağları ise hidrojellerin sulu ortamda stabilitesini ve fiziksel bütünlüğünü sağlayan hidrojen bağı gibi fiziksel, iyonik etkileşimleri ve kimyasal konjugasyonu içerir (Ahmed, 2015). Ayrıca çapraz bağlı hidrojellerin kuvvet ve elastikiyet gibi mekanik özellikleri ayarlanabilir olup kapsülleme malzemesi olarak difüzyon özelliklerini ve dahili taşıma kapasitesini belirler (Lai ve Li, 2010). Polimer ağı ise hücreleri korumak için kılcal, ozmotik ve hidrasyon kuvvetlerini dengeleyerek hidrojellerin şeklini ve hacmini korur. Aynı zamanda yüksek su içerikleri, doğal dokuların yumuşaklığını taklit ederken besinlerin, metabolitlerin ve atıkların çift yönlü difüzyonuna izin verir (Francis ve diğ., 2018; Xu ve diğ., 2019). Dolayısıyla enkapsülasyonlar için hidrojeller ideal malzemeler arasında yer almaktadır. Hücrelerin aljinat, kolajen, jelatin, PLG (Poli(laktik asit-ko-glikolik asit) veya PLGA), PEG

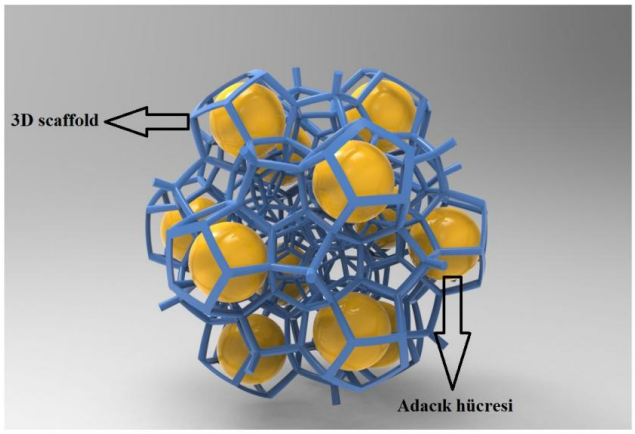
(Polietilen glikol) gibi birçok doğal veya sentetik malzeme araştırılmıştır ve çalışmalar devam etmekle beraber hidrojeller yapılar doğal veya sentetik polimerik malzemelerden elde edilmektedir (Lu ve diğ., 2018).

Doğal hidrofilik polimerler, polisakkaritleri (nişasta, selüloz, aljinik asit, hyaluronik asit, kitosan) ve peptitleri (kollajen, poli-L-lisin, poli-L-glutamik asit) içerirken sentetik hidrofilik polimerler ise poli (vinil alkol), akrilik asit ve bunların türevlerini (poli (akrilik asit), poli (metakrilik asit), poli(akrilamid), vb.) içermektedir. Son yıllarda hidrojeller yara örtülerinde, doku mühendisliğinde, hücre taşıyıcılarında, ilaç dağıtımında, çürüme önleyici kaplamalarda kullanılmaktadır (Hamedi ve diğ., 2018; Kashyap ve diğ., 2005; Roy ve diğ., 2010; Wang ve diğ., 2010; Zhang ve diğ., 2011). Doğal malzemelerden oluşan hidrojeller, nişasta, selüloz, aljinat, kollajen gibi polisakkaritlerle elastin ve poli-L-lisin gibi peptitleri içerir (Catoira ve diğ., 2019). Yaygın olarak kullanılan aljinat, kahverengi alglerin hücre duvarlarında, hücreler arası müsilajlarında (kalın ve yapışkan yapıdaki madde) Azotobacter sp. ve Pseudomonas sp. gibi bazı bakterilerde de bulunan bir tür polisakkarittir. En önemli özellikleri arasında düşük toksisite, düşük bağışıklık tepkisi, Ca^{2+} ve Ba^{2+} gibi iki değerlikli katyonların ortamda bulunmasıyla hemen iyonik hidrojel oluşturma bulunur ve bu sebepten ötürü hücre enkapsülasyonlarında sıkça kullanılır (de Vos ve diğ., 2006; Ma ve diğ., 2013). Aljinat aynı zamanda 1-4-bağlı β-D-mannuronat (M) ve (veya) α-L-guluronat (G) içeren lineer bir kopolimerdir. Aljinatın MG, MM ve GG-bloklarının oran ve dağılımı sayesinde fiziksel özellikleri belirlenmektedir (Draget ve diğ., 2000). Aljinat iki değerlikli katyon ile teması sonucu hızlı jelleşerek yumuşak bir hücre enkapsülasyonu sağlanır (Ma ve diğ., 2013). Aljinatın afinite gibi özelliği jelleşen katyonların doğasıyla ilgilidir. Ba^{2+} tercihen GG ve MM blokları ile birleşirken Ca^{2+} ise GG ve MG blokları birleşir ve bu etkileşimler sonucu ortaya çıkan enkapsülasyon yapısının gözenekliliği, sertliği, elastikiyetisi ve mekanik direnci belirlenmiş olur (Juárez ve diğ., 2014). Dolayısıyla yapılan araştırmalarda, konakçıda tepkimeye yol açabilecek bağışıklık yanıtlarının indüklenmesi de aljinatın bileşimi ile ilgili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bazı çalışmalarda M ve MG-bloklarının sitokin üretimini uyardığı tespit edilmişken G-bloklarının uyarmadığı belirtilmiştir (Otterlei ve diğ., 1991). Makrofaj aktivitelerinin yüksek olan fare modelleri üzerinde yapılan deneylerde aljinat kapsüllerinde FBR göstermediği rapor edilmiştir (Klöck ve diğ., 1997). Enkapsülasyonlarda çoğunlukla

kullanılan bir başka doğal hidrojel olan kollajen ise lifli bir protein olup en az bir üçlü sarmal içerir ama en önemlisi de doku ve organların yapısal bütünlüğünü sağlayan hayvan ekstrasellüler matriksin (ECM) bileşenidir (Blum, 2011). Kollajenin mekanik yetenekleri ve stabilitesi, optimizasyonu sırasında eksojen çapraz bağlamanın indüklenmesini gerektiren ekstraksiyon (ayırma) işlemi sırasında yapısının ve doğal çapraz bağların bozulması sebebiyle doğal halinden daha düşük seviyededir (Gu ve diğ., 2019). Ayrıca kolajenin yapısındaki bu çapraz bağlanma nedeniyle hem kollajen denatürasyonuna hem de immün yanıtları uyarılması amacıyla antijenik belirleyici grupların ortaya çıkmasına sağlayabilir (Gu ve diğ., 2019). Kolajen hakkında başka bir önemli bilgi ise canlılar arasındaki farklılıklar nedeni ile doğal kolajen, hastalık yayılımının veya alerji gibi bağışıklık sorunlarına tetikleyebilir veya bu tip immün reaksiyonların oluşmasını sağlayabilmektedir (Zhang ve diğ., 2022). 2018 yılında Stephens ve diğ. tarafından gerçekleştirilen çalışmada, daha önce adacık enkapsülasyonunda uygulanan kolajen formülasyonlarından farklı olarak, farklı konsatrasyonlardaki doğal moleküller arası çapraz bağlanmayı koruyan, nötralizasyon üzerine yüksek seviyede birbirine bağlı D-bant lifli yapı iskellerine (scaffold) hızlıca kendi kendine birleşebilen oligomerik bir kolajen türü, fare adacık hücrelerinin enkapsülasyonunda kullanılmıştır (Bailey ve diğ., 2011). Sonuçlarda ise 14 gün süre ile *in vitro* ortamda ölçülen kapsüle edilmiş hücrelerin en yüksek fonksiyon değerleri 3 mg/mL'lik bir oligomer konsantrasyonunda elde edildiği bildirilmiştir (Bailey ve diğ., 2011; Stephens ve diğ., 2018). Bu enkapsülasyonların sırt bölgesine subkutan enjeksiyon işleminden sonra normoglisemiyi koruyabildiği (14 gün ile 90 gün arası) birçok deney hayvan modellerinde *in vivo* koşullarda kanıtlanmıştır (Zhang ve diğ. 2022). Kolajen türleri arasında özellikle yüksek biyouyumluluğu, küçük moleküllerin taşınmasını desteklemesi, inflamatuar hücrelerin infiltrasyonuyla aktivasyonunu azaltma özelliklerinin tespiti *in vivo* ortamda subkutan adacık veya beta hücrelerin nakilleri için tip I kollajeni alternatif olarak sunmaktadır (Zhang ve diğ., 2022). Diğer bir doğal hidrojel yapı olan ipek ise ipek böceği gibi çeşitli kaynaklardan eldesi bu yapının protein bileşimindeki farkılıların meydana gelmesine sebep vermektedir. İşlemlerden geçmiş ipek proteini in vivo transplantasyonlarda nadir immün yanıtlara neden olması bu protein yapısının düşük antijenikliğe sahip olmasından kaynaklanmaktadır (Long ve diğ., 2021). İpek proteinin immün yanıtlar indüklemesindeki temel faktörleri arasında

ise materyal üzerine absorbe edilen immün hücreler ve sinyal molekülleri olduğu belirlenmiştir (Thurber ve diğ., 2015). İpek proteini ile düşük immün yanıt reaksiyonlarını uyarma düzeyine sahip olan fibroin ile beraber enkapsülasyonda kullanılması hem adacık hücrelerinin performanslarını hem de güçlü mekanik özelliklerini önemli ölçüde artmasını sağladığı gözlemlenmiştir (Fukuda ve diğ., 2018; Wang ve diğ., 2006). Davis ve diğerlerinin 2012 yılında gerçekleştirdikleri deneyler sonucunda MKH'lerin ipek hidrojeli ile enkapsülasyonu, stimülasyon indeksinde (SI) 2.3 kat, fibroinin ile kapsüllenmesi saf ipek proteini ile kapsüllenmiş adacıklarla karşılaştırıldığında ise 4.4 kat SI artış sağlandığı gözlemlenmiştir.

Günümüzde enkapsülasyonlarda polisakkarit ve polipeptit polimerlerinin kombinasyonları incelendiğinde, piezoelektrik veya termal mekanikler yardımla püskürtülerek yüksek çözünürlüklü polimer yapılarının biyomürekkep aracılı damlacıklarını işleyerek 3D baskılı kapsül teknolojisinin kullanılması üzerinde yoğunlaşılmıştır (Derakhshanfar ve diğ., 2018) (Şekil 2.23). 3D baskılama ile eldesi sağlanan enkapsüle edilen hücreler silindirik filamentlerden oluaşan mikro yapılarda hareketsizleştirilmesine olanak tanımaktadır (Kirchmajer ve diğ., 2015). Bu teknoloji ile üretilen karmaşık yapıların bütünlüğü sayesinde adacık veya beta hücrelerin enkapsülasyon sürecinde karşılaştıkları tekniksel problemleri aşma potansiyelini barındırmaktadır. Özellikle polimerik hidrojel kapsüller, nakil sonrası vasküler ağ oluşumunu desteklememesinden ötürü hücrelerin oksijen ve besinlere verimli bir şekilde ulaşımını sağlanamaz ve sonuç olarak nakledilen hücrelerin sağ kalımları azalır (Rider ve diğ., 2018).



Şekil 2.23. 3D enkapsülasyonun şematik diyagramı

Yapılan bazı enkapsülasyon deneylerinde 3D baskı yöntemi ile kapsüllenen adacık hücrelerinin çevrelerinde damar yapılarını ne kadar desteklediği araştırılmıştır (Lee ve diğ., 2018). Kan damarlarının oluşumu ve anjiyogenez konusunda 2015 yılında yapılan %4 aljinatın ve % 5 jelatin karışımının kullanıldığı hidrojel kapsüllerde en yüksek verim alındığı bildirilmiştir (Marchioli ve diğ., 2015). Bu verim ile ilgili en önemli faktörün, küresel hidrojellere kıyasla 3D baskılama yöntemi ile yapılan kapsüllemede yapı iskelelerinin içerisinde adacık hücrelerin birikmesini önlenmesi ile küçük molekül değişimini sağlayan iç yüzey alanının arttırılması olduğu tespit edilmiştir. Günümüzde 3D biyobaskı teknolojisi hala sınırlamalara tabii olup gelişme aşamasının erken bir aşamasındadır ve biyomürekkeplerin nispeten zayıf mekanik özellikleri, yüksek mekanik mukavemet gerektiren hidrojellerin oluşumu engellemektedir (Bishop ve diğ., 2017). Dolayısıyla beta ve adacık hücrelerinin fonksiyonelliğe daha uygun, yeterli viskoziteye ve mekanik özelliklere sahip hidrojeller geliştirmek amacıyla daha çok çalışmalara gereksim vardır (Zhang ve diğ., 2022). İhtiyaç duyulan çalışmalar aracılığıyla aynı zamanda biyomürekkebe ECM bileşenlerinin, endotelyal hücrelerin ve vasküler endotelyal büyüme faktörünün (VEGF) dahil edilerek kapsüllenmiş hücrelerin in vivo yaşam ortamına en yakın ortam haline getirilerek biyolojik işlevleri daha yakından incelenme ve geliştirilme imkanı tanınabilir (Marchioli ve diğ., 2016). Böylece bu teknoloyi sayesinde hem hızlı üretim hacmi elde edilmiş olur hem de yüksen seviyede hücre canlılığı korunması sağlanabilir. 3D baskı teknolojisi biyomedikal mühendisliği gibi multidisipliner çalışmalarla beraber T1DM tedavilerinde yeni umut verici yaklaşımlar ve cihazlar üretilerek klinik çalışmalara daha hızlı bir şekilde geçilmesi sağlanabilir (Zhang ve diğ., 2022).

Doğal polimerlere dayalı enkapsülasyon stratejileri incelendiğinde özellikle, immün reaksiyonları azaltması, anjiyogenez ve hasarlı dokuların onarımlarını indükleme potansiyeline sahip MKH'ler üzerine yoğunlaşıldığı gözlemlenilmiştir (Jiang ve Xu, 2020; Shi ve diğ., 2011; Soleymaninejadian ve diğ., 2012). CellSaic teknolojisi kullanılan MKH (MSC-CellSaic), hücre ölümünü önlemek için mozaik şeklinde düzenlenmiş MKH'ler ve rekombinant peptitlerden (RCP) oluşan bir hücre nakil platformunu oluşturmaktadır (Nakamura, 2019). 2020 yılındaa Kogawa ve diğ. iki aşamalı nakil protokolünde CellSaic teknolojisini kullanılmıştır. Bu çalışmada özellikle kanser ve immünoloji araştırmalarında kulanılan, timus olmaması ve T hücre

üretememesi sonucu yetersiz bağışıklığa sahip albino fare türü olan BALB/c kullanılmış olup çevresinde ve içinde kan damarlarının oluşumunu destekleyip desteklemediğinin anlaşılması için farelerin karın boşluklarına yumruk şeklinde boş bir torba yerleştirilerek gerçekleştirilmiştir. Bir sonra ki aşamada ise poli-l-lisin (PLL) ve MSC-CellSaic ile kaplanmış aljinat mikrokapsül sıçan adacıklarını naylon ağ torbaya yerleştirilmiştir. Adacık hücreleri ve MSC-CellSaic kombinasyonu ile tedavi edilen farelerde, MKH'leri olmayan kontrol grubuna kıyasla glikoz seviyeleri önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir (Kogawa ve diğ., 2019). Bir başka çalışmada ise aljinat-poli-L-lizin-aljinat mikrokapsülleme kullanılan domuz adacık hücreleri diyabeti olan Sinomolgus (Cynomolgus) maymunlarına nakledilmiştir ve çalışma sonucunda ise dokuz maymundan yedisinde normal açlık kan şekerine ulaşıldığı raporlanmıştır. Bir diğer önemli sonuç ise diyabetik maymunların 120 gün ile 804 gün arasında değişen sürelerde insülin bağımsızlığı sağlandığı da belirtilmiştir (Sun ve diğ., 1996). Alijinat ve PLL beraber kapsülasyonunun stabilitesi ve geçirgenliği kanıtlanmıştır olup portal ven ve intraperitoneal transplantların karşılaştığı şiddetli hipoksi ve ani kan aracılı inflamasyon göz önünde tutularak ekstravasküler adacık transplantasyonu araştırılmıştır (Zhang ve diğ., 2022). Bir başka araştırmada ise 'b Air' olarak adlandırılan bir cihaz aljinat içinde hareketsiz hale getirilmiş adacıklardan ve aljinat ile emdirilmiş hidrofilik bir teflon membrandan oluşturulmuştur. Aljinat ve membran bariyeri, adacıkları bağışıklık hücrelerle ve antikorlarla temastan korurken, deri altı bir port ise dışarıdan oksijen sağlamaktadır. Bu koşullar altında, 13 gün sonra çıkartılan allojenik domuz adacıklarının hala işlevsel olduğu, çıkartılan adacıkların nakil bölgesinin temiz olduğu, lokal inflamasyon veya fibrotik reaksiyon belirtisi göstermediği kanıtlanmıştır (Ludwig ve diğ., 2010). Cihaz aynı zamanda küçük ve büyük hayvan modellerinde test edildikten sonra uzun süreli T1DM geçmişi olan bir hastada da uygulanmıştır. Allojenik adacıklar preperitoneal bir cebe yerleştirilirken oksijen tedarik cihazı ise insizyonun yakınına konumlandırılmıştır. Bu çalışma sonucunda allojenik adacıkların hayatta kaldığı ve tam 10 ay boyunca kan şekerindeki değişimlere yanıt olarak insülin salgılayabildiği bildirilmiştir. Nakil bölgesinde herhangi bir inflamasyon belirtisi olmazken ince bir fibröz kapsül belirdiği kaydedilmiştir (Ludwig ve diğ., 2013).

Doğal polimerli hidrojeller, biyouyumluluk konusunda yeterlilik sergilemesine ve düşük üretim maliyetine rağmen fizyolojik koşullar altında stabiliteleri genellikle sınırlı

kalmaktadır. Fakat sentetik olarak adlandırılan yapay hidrojeller ise gözenek boyutu, mekanik mukavemet ve elastikiyet dahil olmak üzere tüm malzeme özellikleri üzerinde gelişmiş kontrol sağlanabilinmektedir (Zhang ve diğ., 2022). Sentetik hidrojeller doğal hidrojellerle kıyaslandıklarında daha yüksek mekanik dirence, daha uzun dayanıklılığa ve daha geniş uygulama alanına sahiptir (Ahmed, 2015). Polietilen glikol (PEG) hidrojeller, uygun ve hızlı hazırlanma süreleri avantajlar olarak görülürken, doğal polisakkaritlerden daha az biyouyumlu olmaları ve kapsüllenmiş hücreleri sitokin saldırılarından tam anlamıyla koruyamamaları ise dezavantajları arasında yer almasını sağlamaktadır (Jang ve diğ., 2004). Adacık hücreleri doğal mikro çevrelerinin ile farklı ve kontrollü miktarlardaki PEG kombinasyonları umut verici birçok enkapsüle edilmiş hücre nakillerinin gerçekleştirilmesine zemin sağlamıştır (Hern ve Hubbell, 1998). Fare adacık hücreleri ile fibronektin, laminin, tip IV kollajen gibi ilişkili proteinlerle beraber kapsüllenmiştir ve kapsüllemeden itibaren 7 gün boyunca *in vitro* koşullarda insülin salgısı görülmüştür (Kumar ve diğ., 2017; Mao ve diğ., 2017; Weber ve Anseth, 2008). Bu olumlu etkiler hidrojel matrisi içerisine kemik iliği kaynaklı MKH'lerin de eklenmesiyle daha da güçlendirildiği bildirilmiştir (Kumar ve diğ., 2020). Başka bir araştırmada ise üç boyutlu PEG hidrojellerinde, tip IV kollajen ve laminin gibi ECM proteinleri kapsüllenmiş fare adacıklarının ECM proteinleriyle kapsüllenmemiş adacıklara kıyasla sırasıyla iki kat ve dört kat insülin salgılandıkları rapor edilmiştir (Weber ve Anseth, 2008). Bir başka çalışmada da hem matris proteinleri hem de %75 oranından fazla laminin içeren hidrojel kapsülasyonunun, matris proteinleri olmadan kapsüllenen adacıklarla karşılaştırıldığında ise yaklaşık altı kat daha fazla insülin salgıladığı bildirilmiştir (Weber ve Anseth, 2008). Deneylerde arginin-glisin-aspartik asitinin (RGD), fibronektin, kolajen tip I gibi çeşitli ECM proteinlerinde bulunan hücrelerin yapışmasını ve modifiye edilmiş hali ile biyouyumluluğun artmasını sağlamakta olduğu gözlenmiştir (Ouyang ve diğ., 2019). Son çalışmalarda ise oligopeptid RGD'nin PEG hidrojellerine eklenmesi sonucu FBR'yi azalttığını gösterilmiştir (Swartzlander ve diğ., 2015). Weaver ve diğ. ise 2019 yılında, sentetik PEG'e dayalı daha küçük çaplı mikrojeller üretebilen bir mikroakışkan sistemi geliştirmişlerdir ve bu sistem aracılığıyla PEG-RGD bileşenli hidrojellerle fare adacık hücreleri kapsüllenmiş ve 100 güne kadar insülin salınım kapasiteleri tespit edilmiştir (Weaver ve diğ., 2019). Çalışmada bu sistem kullanılarak GFP ifade eden adacıklar

NOD farelere transplantasyonu gerçekleştirilmiştir. 9 haftalık takip sürecinde nakil gerçekleşen farelerde yüksek yoğunluklu GFP sinyali tespit edilmiştir ve kapsüller içinde önemli anjiyogenez gözlemlendiği bildirilmiştir. Bu enkapsülasyonun aljinat kapsüllemesine kıyasla uzun vadeli komplikasyonları azalttığı ve yine uzun vadeli fonksiyonellik sağlandığı belirtilmiştir. Fakat yine bu çalışamada, naklin çıkarılamayan intraperitoneal boşluğa gerçekleştirilmesinden dolayı potansiyel fibrotik reaksiyonlar veya karın boşluğundaki hayati organlara yapışma olasılığı bulunması sağlık açısından güvenlik endişeleri oluşturduğu da vurgulanmıştır (Weaver ve diğ., 2019). Phelps ve diğ. ise 2015 yılı içerisinde yapmış oldukları deneylerde öncelikle VEGF'yi polietilen glikol maleimid (PEG-MAL) hidrojelleri içerisine yerleştirerek enzimatik bozunma yoluyla isteğe bağlı VEGF salınımına izin verilebilindiğini bir sonra ki aşamada ise sıçan adacıkları PEG-MAL hidrojelleri ile kapsüllenmiş ve insülin salgıladığı bildirilmiştir. Bu hücreler sağlıklı sıçanların bağırsak mezenterine (barsağı besleyen kan damarları sistemi) nakledilmiş ve 4 hafta içinde kan damarlarının oluştuğu gösterilmiştir (Phelps ve diğ., 2015). Bu çalışmada aynı zamanda PEG-MAL ile aljinat kapsülleme karşılaştırıldığında PEG-MAL kapsülünün VEGF salgılama konusunda 7 gün boyunca daha fazla salınımını gerçekleştirebildiği belirtilmiştir. İmplantasyon bölgesinden bir hafta sonra alınan doku örneklerinin makroskopik görüntülerinde kapsülleri çevreleyen kan damarları gösterilmiştir (Phelps ve diğ., 2015). Dolayısıyla bu çalışma göz önüne alındığında PEG-MAL ile beraber ECM proteinlerin birlikte adacık veya beta hücrelerini kapsülleme malzemesi olarak kullanımının önünü açtığı belirtilmiştir. Nano boyutlardaki enkapsülasyon, 1–1000 nm boyutlarındaki enkapsülasyonlardır ve mikron boyutlardaki bir jel matrisin içisinde hareketsiz hale getirilen hücrelerin veya maddelerin aksine nanoenkapsülasyon metotları hücreler veya organlar etrafında nanomembran oluşumuna dayanmaktadır (Centurion ve diğ., 2021; Chen ve diğ., 2013). Nanoenkapsülasyon, uygun kaplama malzemelerini püskürterek hücreler kapsülleme yöntemine dayanan bir teknolojidir (Tomei ve diğ., 2014; Zhi ve diğ., 2013).

Dolayısıyla klasik mikrokapsülleme metotlarıyla karşılaştırıldığında, nanaoenkapsülasyonun konformasyonel kaplaması, kapsüllenmesi istenen her bir hücreyi çevreleyen ince filmlerin oluşumuna izin vermektedir (Yang ve Yoon, 2015). Nanoenkapsülasyon kullanılan hücrelerde kaplama malzemelerin boyutları, çevreleyen filmin kalınlığı, hücrelerin boyutlarına ve morfolojilerine göre ayarlanabilinme fırsatı

tanımaktadır ve böylece bu koruyucu zarın malzemesi ve kalınlığı, oksijen, besinler ve metabolitlerin çift yönlü difüzyonunun desteklenmesini sağlamaktadır (Kozlovskaya ve diğ., 2012; Krol ve diğ., 2006). Nanoenkapsülasyon tasarlanırken dikkatlice incelenmesi gereken faktörler vardır. Bunlar arasında; nanoparçacıkların insan vücuduna implantasyonunun bileşimi, fizikokimyasal özellikleri, ne kadar sıklık ve hangi yolu ile transplanta edileceği, oluşabilecek doku ve kan toksisitesi, immünotoksisite ve genotoksisite yer almaktadır (Mohammadpour ve diğ., 2019). Nanopartiküllerle ilgili bir diğer önemli konu ise nanopartiküllerin küçük boyutları nedeniyle hücre zarlarını geçip kana ve organlara girebilme yetenekleridir. Çünkü bu duruma uzun süre maruz kalan vücutta klirensin bozulmasına, inflamasyona veya fibrozise neden olabilir ama daha da önemlisi malzemenin toksisitesi, malzeme etraflarına sarıldığında hücrelerin canlılığına olumsuz etkileri olabildiği bildirilmiştir (Oberdorster, 1996). Olasılığı olan toksisiteler dört gruba ayrılır; tek uygulama sonrası 24 saatten kısa sürede gözlenen (akut) ve 24 saat içinde ortaya çıkan (tekrarlayan), uygulama sonrası 1 aydan kısa sürede gözlenen (subakut), uygulama sonrası 1-3 ay içinde gözlenen (subkronik) ve uygulama sonrası 3 ay veya daha fazla gözlenen (kronik) (Mohammadpour ve diğ., 2019). Nanopatiküllerdeki bu yüksek toksisite nedeni, boyutları çok küçük olmasının daha yüksek bir spesifik yüzey alanına sahip hücreler için daha büyük temas bölgelerin gerçekleşmesi ve bu durumun da hücreler için daha toksik hale gelmesinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca diğer bir olumsuz yanı ise nanopartiküllerin gerek boyutları gerekse istenilen bölgede uzun süre işlevsel olmaları için tasarlamalarına rağmen vücut tarafından kolayca uzaklaştırılabilir oluşudur. Nanoenkapsülasyonun hacmi ile toksisite, klirens hızı, inflamatuar fibroz derecesi arasındaki ilişkiyi anlamak, uygun boyut ve implantasyon sıklığını tahmin etmeye ve tasarlamaya yardımcı olabileceği bildirilmiştir (Iavicoli ve diğ., 2016). Nanoparçaların genel şekilleri küredir ve bu şekilleri, malzemenin hücreler ve vücut iç ortamı ile temas alanını, malzemenin difüzyon mesafesini, vücuttaki hidrodinamiği gibi konularda önem teşkil etmektedir. Yapılan bir çalışmada vücuttan atılımında küresel nanoparçacıkların çubuk şeklindeki nanoparçacıklardan daha hızlı temizlendiği gözlemlenmiştir (Zhao ve diğ., 2017). Dolayısıyla uygun nanoenkapsülasyon şekilleri tedavi amacıyla daha kolay madde taşınmasını sağlayabilmektedir (Nguyen ve Lai, 2022). Nano kapsülasyonların yüzeylerinin yükleri, bu yapıların biyosorpsiyonunu ve yarı ömrünü de etkilediği

bilinmektedir (Nguyen ve Lai, 2022). Nanoenkapsülasyonların bütün çalışmalarda gözlemlenmiş özellikleri insan vücuduna girmesinden sonra protein adsorpsiyonu gibi yeteneklerinin değişebileceği, bu nedenle uzun vadede sağlık açısından ne kadar güvenli olduklarına dair bilgi edinilebilinmesi için çok daha fazla *in vivo* deneylere gereksim duyulmaktadır (Dimitrioglou ve diğ., 2019). Klinikte adacık transplantasyonlarında Edmonton protokolü en standartize standardize yöntemdir (Shapiro ve diğ., 2000) Kapsüllenmemiş adacık hücrelerin portal damar yoluyla vücuda verilmesi uygun olmasına rağmen kapsüllenenler için benzer metotların uygulanması kapsüllerin boyutlarına bağlı kan pıhtı durumları dahil olmak üzere çok ciddi komplikasyonlara hatta adacıkların korunmasında eksik kalınması canlının vücudunda normal koşullardan daha güçlü immün reaksiyonlarada yol açabileceği belirtilmiştir. Glukagon benzeri peptit-1 (GLP-1), yüksek glikoz seviyelerine yanıt olarak insülin salgısını uyardığı bildirilmiştir (Kizilel ve diğ., 2010). Daha sonra ki bazı çalışmada, katman olarak bir biotin-PEG-GLP-1 konjugatı içerisine yerleştirilen kapsüllenen adacıkların greft hacimlerinin azaltılması sağlandığı ve nakil sırasında bu küçültülmüş boyuttaki hücrelerin portal damarı bloke etmeden Edmonton prosedürü ile uyumlu olabileceği belirtilmiştir. Kim ve diğ. 2020 yılında bir çalışma gerçekleştirerek yenidoğan domuz adacığı benzeri hücre kümelerinin (NPCC - neonatal porcine islet-like cell cluster) PEG-bPLA'ya (poli(etilen glikol)-*b*-poli (DL-laktik asit)) dayalı hücre taklit polimerzomları (PSomes) geliştirmişlerdir ve daha sonra NHS (N-hidroksisülfosüksinimid)-PSome kaplı NPCC'ler ve kaplanmamış NPCC'ler, C57/BL6 (C57 siyah 6 olarak adlandırılan insan hastalıklar modelleri olarak kullanılmak üzere genetik olarak değiştirilmiş siyah renk laboratuvar faresi) farelerinin böbrek kapsülü altına nakledilmiştir ve 14 gün sonunda immünohistokimyasal boyamalar için böbrekleri çıkartılmıştır. Boyamalar sonucunda NHS-PSOME ile kapsüle edilmiş grupta kapsüle edilmemiş NPCC grubuna göre önemli ölçüde daha az immün hücre infiltrasyonu olduğu tespit edilmiştir (Kim ve diğ., 2020). Neocrin firması (Neocrin Inc.), diyabetik sıçanların böbrek kapsülünün altına PEG nano kapsüllü domuz adacıklarını nakletmişlerdir ve sadece 2 hafta sonra dahil bir fibrozise rastlanmadığı ama daha da önemlisi nakilden 100 gün sonra bile domuz adacık hücrelerinin canlı ve çevreleyen kapsülasyon dokusunun hala var olduğu bildirilmiştir (Hill ve diğ., 1997). Tüm bu çalışamalar ışığında nanoenkapsülasyonun umut verici tedaviler arasında yer

alması rağmen kliniklerde uygulanabilir oluşu hala sınırlamalar içerisindedir. Çünkü; zar gibi ultra ince malzemelerle kaplanmış adacıkların alıcının bağışıklık sistemine kısmen maruz kalmasına neden olabilir ve hücrelerin uzun süre sağ kalımlarımlarını zorlaştırabilineceği bildirilmiştir. Hatta bu tip enkapsülasyonların, bir dizi potansiyel olumsuz immün ve sağlık olaylarını tetikleyebileceklerini bildirilmiştir (O'Sullivan ve diğ., 2011; Vaithilingam ve diğ., 2017). İnce olan bu kapsülasyon malzemesinin güçlendirilmesi amacıyla ultraviyole ışığının (UV ışığı) kullanılması, kapsüllenen hücrelerin hayatta kalmalarına zarar verebileceği ifade edilmiştir (Teramura ve Iwata, 2010). Ayrıca bu konformal kaplamanın adacık hücrelerine sıkı tutunması nedeniyle kapsülasyon biyomateryallerinin adacıklara sızmasına ve nekroza neden olabileceği de rapor edilmiştir (Hwang ve diğ., 2016). İnsan sağlığı için kesinlikle güvenlir nanoenkapsülasyon temelli hücre tedavileri için yeni yöntemlere ve yeni yöntemleri geliştirmek için de daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Zhu ve diğ., 2015). Ayrıca adacıkların kapsül yanından dışarı çıkma şansı daha az olması nedeniyle olumsuz bağışıklık tepkisini azalttığı belirtilmiştir (Ma ve diğ., 2013). Dolayısıyla biyolojik dokuları taklit edebilen malzemelerin öncelikle mükemmel mekanik yeteneklere ve yabancı cisim reaksiyonlarının neden olduğu fibroz oluşumuna karşı uzun süreli direnç göstermesi gerekmektedir. Fakat hem hidrofobik hem de hidrofobik maddelerin kombinasyonlarının gerektireceğinden, bu standartların tek bir malzeme içinde elde edilmesi genellikle zordur. Zwitteriyonik hidrojeller özellikle hem bu sorunun üstesinden gelinmesini sağlamaktadır hem de birçok tıbbi alanda uygulanmıştır (Kostina ve diğ., 2013). Fakat buna rağmen mevcut zwitteriyonik hidrojeller, hücre transplantasyonları için gerekli olan uzun vadeli mekanik stabilite performansına sahip değildir ve uygun bazı stratejilerin geliştirilmesine zemin sağlamıştır. 2020 yılında Liu ve diğ., güçlendirilmiş mekanik özellikler, düşük ve spesifik olmayan protein adsorpsiyonu sergileyen bir poli (dörtlü triazol karboksibetain akrilamid) hidrojel üretmişlerdir. Bu materyal ile sıçan adacıklarının kapsüllenmiş ve bağışıklığı yeterli diyabetik farelerde subkutan transplantasyon için araştırılmıştır. Benzer adacık içerikleriyle enkapsüle edilmiş aljinatlı mikrokapsüllerle tedavi edilen fareler, transplantasyondan sonra ki 18. günden itibaren kademeli olarak diyabetik hale gelirken, zwitteriyonik hidrojeller içeren bu triazol parçaları, tedavi edilen 12 fareden 8'inde bir ay boyunca normoglisemiyi koruduğu rapor edilmiştir. Alınan greft

örneklerindeki histolojik incelemelerde bol miktarda kan damarı ve hafif fibrotik büyüme gösterilmiştir. Fakat aynı çalışmadaki normoglisemiyi korumayan farelerde ise kan damarlarının oluşumu önemli ölçüde az olduğu tespit edilmiştir (Liu ve diğ., 2020). Doğal polimer içeren hidrojeller genellikle anjiyogenez, antibakteriyel aktivite ve kemotaksi özellikleri barındırırlar.Fakat bu yetenekleri malzemeden malzemeye veya uygulama metottan metotda göre değişebilmektedir. Özellikle mekanik özellikleri ve verimli adacık nakli için gerekli kriterlerini karşılamaları konusunda zorlanmaktadırlar. Bu nedenle, doğal ve sentetik hidrojellerin kombinasyonu, faydalı özelliklerini korurken doğal bileşenlerin kusurlarını düzeltme fırsatı sunmaktadır (Blomeier ve diğ., 2006).

Hidrojel olmayan biyomateryaller ise implantasyonunun neden olduğu inflamatuar yanıtı azaltmak ve konakçı biyouyumluluklarını geliştirmek için kullanılan yapılardır. Örnek olarak bir çalışmada, adacık hücrelerin yüzeyi biyotinlenmiş bir PEG-lipid tabakası kapsüle edilerek streptavidin ile modifiye edilmiş HEK293 hücreleri (insan endoderm böbrek hücre hattı) ile konjuge edilmiştir (Teramura ve Iwata, 2009). Çalışmadaki adacıkların enkapsüle edilmesinde kullanılan malzeme bileşenleri bağışıklık bariyeri olarak tasarlanmış olup bu tür yüzey modifikasyonların hem hücre nekrozu insidansını azalttığı hem de korunan adacıkların glikoz ile uyarılan insülin salgılama yeteneğini sürdürebilindiği tespit edilmiştir. Adacıkların ekstravasküler bir bölgeye nakili ani inflamasyona neden olmazken diğer yandan revaskülarizasyon süreci ise greft kaybına neden olabilmektedir. Bu nedenle, anjiyogenez ve greft hipoksisi arasındaki dengenin oluşturulması gereklidir. Bu nedenlerle, insan amniyotik zarı (HAM- human amniotic membrane) veya insan amniyotik epitel hücreleri (HAEC-human amniotic epithelial cells) gibi insan dokuları nakledilen hücrelerle birleştirilmiştir. Amniyotik membran epitel tabakası ve damarsız matristen oluşması nedeniyle adacık hücreleri için uygun bir iskele yapısı sunduğu gözlemlenmiştir (Cui ve diğ., 2020; Niknejad ve diğ., 2008). HAEC'lerin anjiyogenezi indükleme ve insülin üreten hücrelere farklılaşmaya teşvik edilme gibi bazı dizi kök hücre özelliklerini barındırmaktadır (Okere ve diğ., 2015; Zhu ve diğ., 2016). Cui ve diğ. 2020 yılında karaciğerin sol lobunun zar yüzeyine deselülerizasyonu gerçekleştirilmiş 1.0x1.0cm^2 HAM yerleştirilmiştir. İnsan adacıkları ve HAEC'lerden oluaşan karışım, HAM ile karaciğer yüzeyi arasındaki boşluğa 200 mL'lik bir pipet ucuyla enjekte edilmiştir. Nakilden sonraki üçüncü günde, alıcı olan yedi tane diyabetik fareden dördünün kan

şeker seviyeleri normalleştirdi ve iki hafta sonra yedi alıcı fare de (%100) normoglisemik olduğu bildirilmiştir. NanoGland adlı yeni bir adacık kapsülleme silikon cihazı, paralel nanokanallara (3.6-40 nm) ve adacıkları çevreleyen dikey mikrokanallara (20-60 mikron) sahip bir dış zardan meydana gelmektedir. Cihazdaki nanokanalların immün koruma sağlamak, mikro kanalların ise aşılamayı arttırmak için tasarlandığı bildirilmiştir. Bu cihaz sayesinde enkapsülasyonların hem esnek hem de nano ölçekli gözeneklere sahip oldukları belirtilmiştir. Bu cihaz aracılığıyla enkapsülasyonu gerçekleştirilen allojenik adacıkların nakledildiği farelerde 90 gün boyunca işlevselliklerini sürdürebildikleri ve aynı chiazla üretilen insan adacık hücrelerinin farelere deri altına implantasyonu, ile de 120 günden fazla hayatta kalabildileri gösterilmiştir. NanoGland cihazı aracılığıyla çevrelenen dokuların analizlerinde kan damarlarının varlığının yanı sıra tipik fibrozis belirtilerini gösterdikleri rapor edilmiştir (Sabek ve diğ., 2013).

Özet olarak enkapsülasyon yöntemleri nano kapsülleme, mikrokapsülleme ve makrokapsülleme yaklaşımları içermektedir ve çok sayıda doğal, sentetik ve biyopolimerler hem tek başlarına hem de çeşitli kombinasyonlar değerlendirilmiştir. Önemli ilerlemeler kaydedilmesine ve bazı klinik öncesi denemeler yapılmasına rağmen hala önemli sınırlamaları ve engelleri bulunmaktadır. Dolayısıyla T1DM potansiyel tedavilerinin klinik çalışmaları arasında umut verici olarak nitelendirilen adacık veya beta hücrelerinin enkapsülasyon sonrası transplantasyonları için öncelikle enkapsülasyon malzemelerinin daha sonra ki aşamalarda ise hangi yollarla vücudun hangi bölgelerine nakilledilen hücrelerin veya dokuların, sağ kalım açısından en fazla verimin ve immün yanıtlar açısından ise en az indüksiyonun alınacağına dair birçok araştırmalara daha gereksim duyulmaktadır.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. Deneylerin Tasarımı ve Deney Gruplarının Oluşturulması

Deneylerin gerçekleştirilmesi amacıyla iki temel grup ve üç ana faktör belirlendi. Bu temel grup ve ana faktörler; kontrol grubu olarak sağlıklı insan kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücreler (iKİ-MKH), deney grupları sağlıklı (sPK-MKH) ve tip 1 diyabetik bireylerin periferik kan kaynaklı mezenkimal hücrelerdir (dPK-MKH). Deneylerde kullanılan 1.1B4 insan pankreatik beta hücre hattı ve iKİ-MKH'ler [ATCC'den (Biological Resource Center / Biyolojik Materyal Kaynak Merkezi)] KOÜ KAEK [(Kocaeli Üniversitesi Klinik Araştırma Etik Kurul) 2015/234 no'lu projeden)] ticari hücre hatları olup KÖGEM hücre koleksiyonundan temin edildiler. iKİ-MKH'lerin kontrol grubu olması ve deney sonuçlarının değerlendirilmesinde standardizasyonu sağlamak amacıyla hazır hücre dizisi olarak kullanım tercih edildi. Diğer deney gruplar ise T lenfosit hücrelerin aktivasyonlarının karşılaştırılması için sağlıklı (s) ve diyabetik (d) T lenfosit hücre grupları ve çok katmanlı yapının β hücre destrüksiyonuna karşı davranışlarını gözlemlemek amacıyla kullanılan diyabetik mononükleer hücreler (dMNH) grubudur (Şekil 3.1). Tüm deney aşamaları uygunluk onayı sonrası Kocaeli Üniversitesi Kök Hücre ve Gen Tedavileri Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde (KÖGEM) *in vitro* koşullarda gerçekleştirildi. Her deneyin 5 kere tekrarı yapıldı ve standart hata (±SD) göz önünde bulundurularak sonuçlar değerlendirilmesi amacıyla veriler uygun analiz yöntemi seçilerek değerlendirildi. Çalışma ve kontrol grupları arasındaki farklar için anlamlılık düzeyi $p>0.05$ olanlar istatistiksel olarak sınırda anlamlı, $p<0.05$ olanlar istatistiksel olarak anlamlı, $p<0.01$ olanlar istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı, $p<0.001$ olanlar istatistiksel olarak çok yüksek düzeyde anlamlı sayıldı.

3.2. Periferik Kan Gruplarının Toplanması

Kocaeli Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu (KÜ GOKAEK) tarafından onaylanan 2021/327 proje numarası ile periferik kan kaynaklı mezenkimal kök hücre eldesinde, sağlıklı ve diyabetik T lenfosit hücrelerinin reaktivitelerinin karşılaştırılmasında ve *in vivo* beta hücre destrüksiyonuna en yakın ortamı oluşturabilmek adına ortak hücre kültürlerinde kulanılmak üzere diyabetik

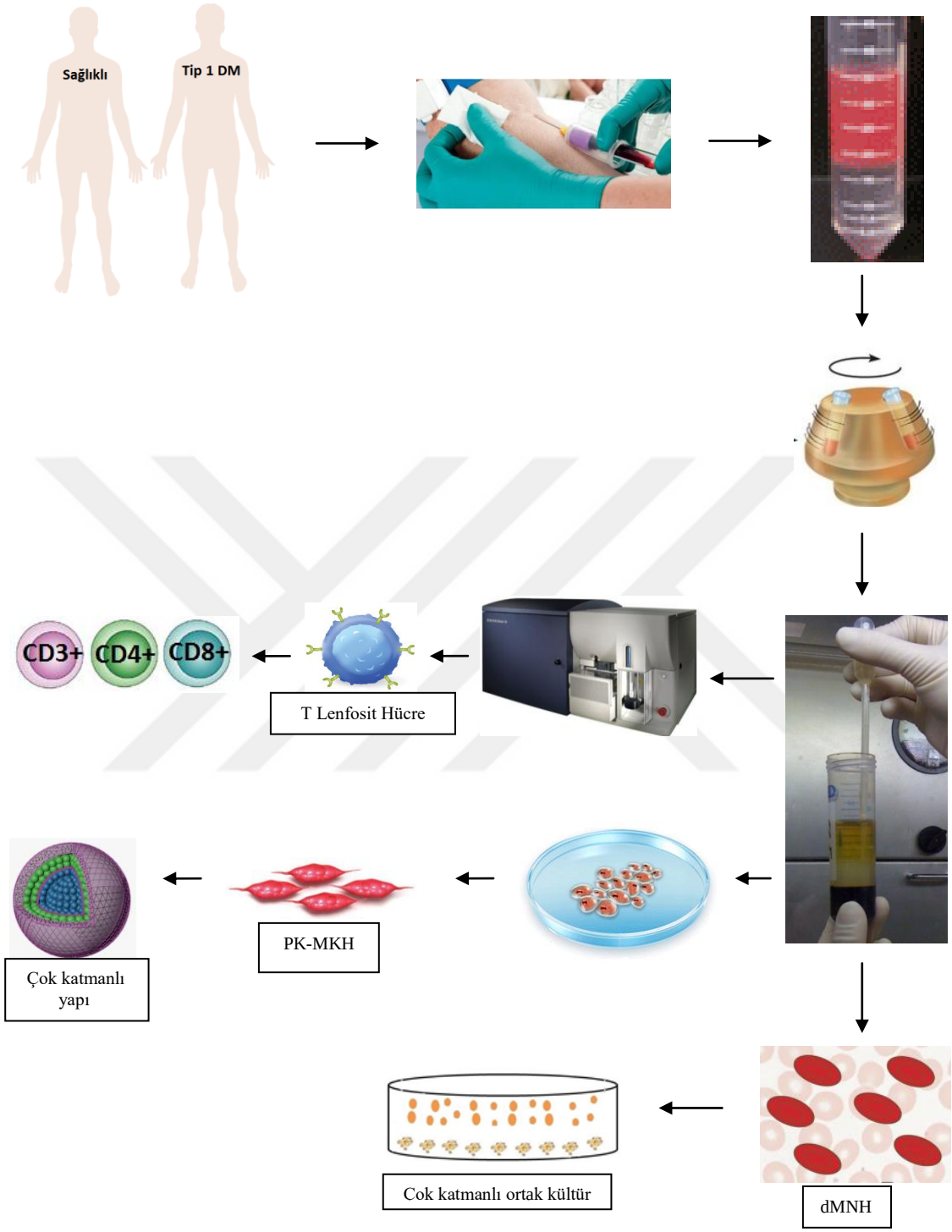
mononükleer hücrelerin izolasyonu amacıyla toplanan periferik kanlar sağlıklı havuz ve diyabetik havuz olmak üzere iki ayrı havuzda toplanılarak gerekli izolasyonlar gerçekleştirildi. Havuzlarda kullanılan periferk kan örnekleri saklanmadan direkt olarak kullanıldılar.

Deney basamaklarında kullanılmak üzere tip 1 DM (n=6) ve sağlıklı bireylerinden (n=6) gönüllülük esasına dayalı olarak periferik kan örneklerini alındı. Gönüllü T1DM bireylerin çalışmaya dahil edilme kriterleri;

- 18-35 yaş arası 3 kadın ve 3 erkek toplam 6 gönüllü T1DM'li bireyler,
- 5- 10 yıllık tip 1 diyabet ile yaşamını sürdürüyor olmaları,
- tip 1 diyabete bağlı herhangi bir komplikasyonlarının bulunamamasıdır.
- Gönüllü sağlıklı bireylerin çalışmaya dahil edilme kriterleri arasında ise;
- 18-35 yaş arası 3 kadın ve 3 erkek toplam 6 gönüllü sağlıklı birey,
- ailelerinde iki jenerasyon öncesine kadar ebeveynlarde diyabet ve herhangi bir immün yetmezlik, anemi, kanser vb hastalıkların bulunmaması yer almaktadır.

3.3. Diyabetik ve Sağlıklı İnsan Periferik Kan Kökenli MKH'lerin Saflaştırılması

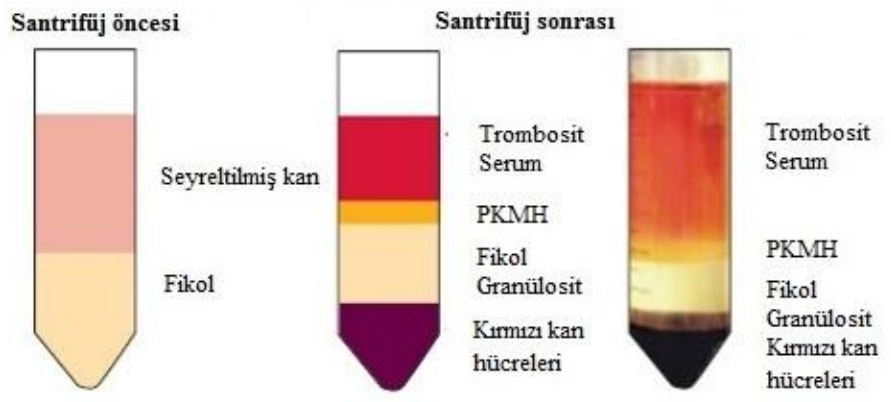
Sağlıklı [n=6, (3♀ + 3♂)] ve tip 1 DM`li bireylerden [n=6, (3♀ + 3♂)] mor kapaklı kan toplama tüpleriyle üç ml (mililitre)'lik periferik kan alındı ve bekletilmeden gerekli havuzlarda toplanıp hemen hücre eldesi için gerekli basamaklar uygulandı. Periferik kan alımında mor kapalı EDTA'lı tüplerin kullanılmasının amacı periferik kan alımı sonrası pıhtılaşma olasılığını ortadan kaldırmaktır. Sağlıklı bireylerden alınan periferik kan örnekleri sağlıklı havuzunda, T1DM'li bireylerden alınan periferik kan örnekleri ise diyabetik havuzunda toplanıldı. Uygun havuzlarda toplanan kan örnekleri Hank's Balanced Salt Solution (HBSS, Capricorn Scientific) ile 1:1 oranında seyreltildi ve ficoll-paque (yoğunluk 1,077 g/ml, GE Healtcare Life Sciences) ilave edilip 690*g* 25 dakika oda sıcaklığında santrifüj edildi. Santrifüj sonrası mononükleer hücre (MNH) eldesi için serum ve ficoll arasında bulunan bulutsu tabaka (buffy coat) toplanıldı (Şekil 3.2). Toplanılan bu hücre peleti 10 ml HBSS ile süspanse edildi ve 350g 5 dakika oda sıcaklığında yıkama işlemi için tekrardan santifüje alındı. Sıvı kısım (süpernatant) döküldükten sonra elde edilen hücreler %20 FBS (Gibco), %1 Penicilin/Streptomycin (Gibco), %0,001 insulin-transferrin-selenium (ITS; Gibco) ve L-glutamin'li RPMI-1640



Şekil 3.1. Deney basamakların *in vitro* koşullarda şematik gösterimi

[300.00 mg/L L-glutamin (L-Alanil-L-Glutamin) ve 5.30 mg/L fenol kırmızısı sodyum tuzu içeren)] (Capricorn Scientific) besiyerinde kültür edildi.

İlk 72 saat inkübatörde (%5 CO_2, 37°C) bekletildi. 72 saat sonra her üç günde bir kez



Şekil 3.2. Gradyan santrifüj yöntemi ile PK-MNH izolasyonu

mikroskopta incelendi. Tutunmayan hücreler 21 gün süresince 1:1 oranında taze besiyerin kültür kabı ortamına alınmasıyla uzaklaştırıldı. Kültür kabının yüzeyine tutunmuş olan hücreler, inkübasyona kaldırılarak PK-MKH`lerin çoğalmasını sağlamak üzere kültüre edildi. Hücreler %70-80 sıkışıklığa ulaştığında alt kültürleme (pasaj) yapmak üzere tripsin-EDTA (%0,25) (Gibco) ile kültür kabından kaldırılıp yeni kültür kaplarına uygun yoğunlukta ekildi (Beerts ve diğ., 2021; Calle ve diğ., 2021; Chen ve diğ., 2019; Chen ve diğ., 2020; Debosschere ve diğ., 2020; Fazeli ve diğ., 2021; Liu ve diğ., 2018; Longhini ve diğ., 2019; Mao ve diğ., 2022; Ouryazdanpanah ve diğ., 2018; Pang ve diğ., 2022a; Pang ve diğ., 2022b; van Hecke ve diğ., 2021; Venugopal ve diğ., 2020; Yang ve diğ., 2020; Zu ve diğ., 2021). Hücre kültüre devam edilerek elde edilen hücre grubunun, amaçlanan PK-MKH grubu olduğunu belirlemek için gerçekleştirilecek karakterizasyon analizleri için gerekli hücre sayısını elde edilinceye kadar hücreler çoğaltıldı. 3 pasaj ilerlendiğinde akım sitometri ile immunofenotipik karakterizasyon analizi yapıldı. Kalan hücreler dondurularak -152°C'de saklanmak ve deneylerde kullanılmak üzere kaldırıldı.

3.3.1. Periferik Kan Kökenli MKH'lerin Karakterizasyonu

3.3.1.1. Akım Sitometri ile İmmünofenotipik Analizi

Hücrelerin izolasyon sonrası 3 pasaj daha kültüre edilen PK-MKH'lerin ve iKİ-MKH'lerin kök hücre yüzey belirteç oranlarının belirlenmesi akım sitometri ile gerçekleştirildi. PK-MKH'lerin yüzey belirteç ekspresyonlarını karşılaştırmak amacı ile kontrol grubu olarak daha önceden ticari olarak satın alınan ve -152°C muhafaza edilen

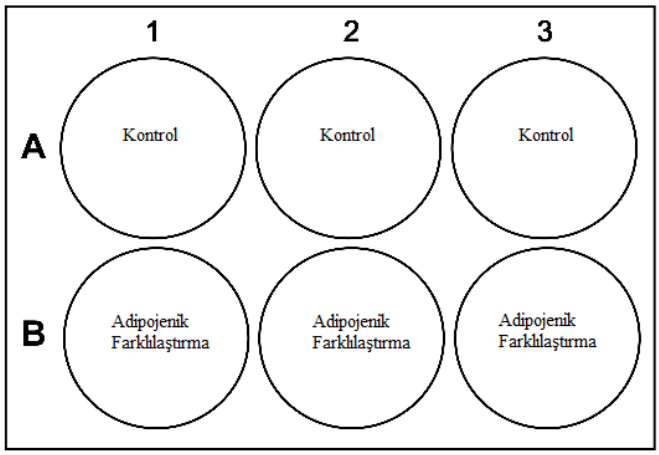
pasaj 3 aşamasında olan sağlıklı insan kemik iliği kaynaklı MKH'leri (iKİ-MKH) kullanıldı. Uluslararası Hücre Terapileri Derneği (ISCT) tarafından belirlenen kriterlere bağlı kalınarak analiz sonucunda tam panel olarak adlandırılan CD5, CD7, CD10, CD11b, CD13, CD14, CD15, CD19, CD29, CD33, CD34, CD44, CD45, CD54, CD71, CD73, CD90, CD105, CD106, CD117, CD146, CD166, CD271, HLA-A,B,C ve HLA-DR ile uygun izotip kontrolleri olan IgG1, IgG1/G2a antijen ekspresyonları belirlendi (Dominici ve diğ., 2006). Değerlendirme FACS Calibur akım sitometri cihazı kullanılarak gerçekleştrildi. Analiz sonucunda belirlenen yüzey antijenleri %90 ve üzeri ekspresyonu olanlar pozitif olarak %10 ve altı negatif olarak kabul edildi.

3.3.1.2. PK-MKH *in vitro* Adipojenik Farklılaştırma ve Oil Red-O Boyaması

Eldesi gerçekleştirilen sPK-MKH, dPK-MKH ve kontrol grubu olarak iKİ-MKH'ler 6 kuyucuklu kültür kabında lameller üzerine (coverslip) $3x10^4$ hücre/cm^2 yoğunlukta olacak şekilde ekildikten sonra hücrelerin %50-60 yoğunluğa ulaşmaları için bekletildi ve çoğalma besiyerleri [%20 FBS (Gibco), %1 Penicilin/Streptomycin (Gibco) ve L-glutamin'li RPMI-1640 (Capricorn Scientific)], adipojenik farklılaşma besiyeri olan StemPro™ Adipogenesis Differentiation Kit (Katalog no A10070-01, Gibco) ile değiştirildi ve kitin içerisinde bulunan kullanım kılavuzu doğrultusunda önerilen prosedür basamakları takip edildi. Haftada iki kez besiyer ortamı tazelendi ve hücrelerin morfolojileri zıt-faz mikroskopta düzenli olarak izlendi. Adipojenik farklılaştırma besiyerinde 21 gün süreyle kültüre edilen hücreler içinde biriken yağ oluşumları, Oil Red O (Sigma-Aldrich) histolojik boyaması yapılarak sitoplazmadaki lipid taneciklerinin boyanması kırmızı renk boyanma ile gösterildi (Şekil 3.3). PK-MKH'lerin adipojenik farklılaştırmalarını karşılaştırmak amacı ile kontrol grubu olarak önceden ticari olarak satın alınan ve -152°C muhafaza edilen pasaj 3 aşamasında olan iKİ-MKH'ler kullanıldı.

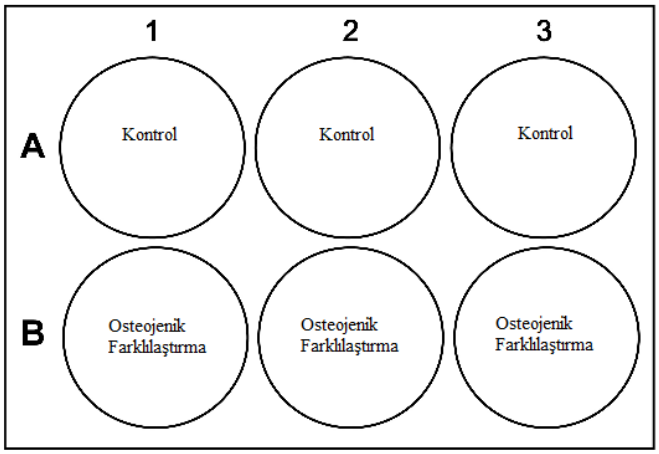
3.3.1.3. PK-MKH *in vitro* Osteojenik Farklılaştırma ve Alizerin Red-S Boyaması

Eldesi gerçekleştirilen sPK-MKH, dPK-MKH ve kontrol grubu olarak iKİ-MKH'ler 6 kuyucuklu kültür kabında lameller üzerine (coverslip) $3x10^4$ hücre/cm^2 yoğunlukta olacak şekilde ekildikten sonra hücreler %70-80 yoğunluğa ulaşmaları için bekletildi ve çoğalma besiyerleri [%20 FBS (Gibco), %1 Penicilin/Streptomycin (Gibco) ve L-gluta-



Şekil 3.3. iKİ-MKH, sPK-MKH ve dPK-MKH adipojenik farklılaştırma deney planı

min'li RPMI-1640 (Capricorn Scientific)], osteojenik farklılaşma besiyeri olan StemPro™ Osteogenesis Differentiation Kit (Katalog no A10072-01, Gibco) ile değiştirildi ve kitin içerisinde bulunan kullanım kılavuzu doğrultusunda önerilen prosedür basamakları takip edildi. Haftada iki kez besiyer ortamı tazelendi ve hücrelerin morfolojileri zıt-faz mikroskopta düzenli olarak izlendi. Osteojenik farklılaştırma besiyerinde 21 gün süreyle kültüre edile hücreler kalsiyum fosfat birikimleri Alizerin Red-S (Sigma-Aldrich) histolojik boyaması sonrasında kırmızı boyanma ile pozitif olduğu gösterildi (Şekil 3.4). PK-MKH'lerin osteojenik farklılaştırmalarını karşılaştırmak amacı ile kontrol grubu olarak önceden ticari olarak satın alınan ve -152°C muhafaza edilen pasaj 3 aşamasında olan iKİ-MKH'ler kullanıldı.



Şekil 3.4. iKİ-MKH, sPK-MKH ve dPK-MKH osteojenik farklılaştırma deney planı

3.3.1.4. Farklılaşma Sonrası RT-PCR ile Gen İfade Analizi

MKH'lerinin farklılaştırma sonrası hücrelerin birbirleriyle farklılaştırma oranlarını karşılaştırılması amacı doğrultusunda Real Time PCR (Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu, RT-PCR) ile farklılaştırılmış hücrelerin gen ifadeleri incelendi. Farklılaştırılmamış iKİ-MKH, sPK-MKH ve dPK-MKH analizin kontrol gruplarını oluştururken adipojenik ve osteojenik farklılaşmaya alınmış olan iKİ-MKh, sPK-MKh ve dPK-MKH ise analizin deney gruplarını oluşturmaktadır (Tablo 3.1). PK-MKH'lerin osteojenik ve adipojenik farklılaştırma oranlarını karşılaştırmak amacı ile kontrol grubu olarak önceden ticari olarak satın alınan ve -152°C muhafaza edilen pasaj 3 aşamasında olan iKİ-MKH'ler kullanıldı.

Analiz için gerekli hücrelerin farklılaştırma süreleri boyunca deney grupları adipojenik veya osteojenik farklılaştırma besiyerleri ile muamele edilirken kontrol grupları ise normal kültür besiyerleri [(%20 FBS (Gibco), %1 Penicilin/Streptomycin (Gibco) ve L-glutamin'li RPMI-1640 (Capricorn Scientific)] ile muamele edildi.

Tablo 3.1. RT-PCR analiz grupları

Kontrol Grupları	Deney Grupları
1. iKİ-MKH	1.iKİ-MKH adipojenik farklılaştırma hücreleri
2. sPK-MKH	2.iKİ-MKH osteojenik farklılaştırma hücreleri
3.dPK-MKH	3.sPK-MKH adipojenik farklılaştırma hücreleri
	4. sPK-MKH osteojenik farklılaştırma hücreleri
	5.dPK-MKH adipojenik farklılaştırma hücreleri
	6.dPK-MKH osteojenik farklılaştırma hücreleri

Kontrol grup hücrelerinde farklılaştırma öncesini kıyaslayabilmek, deney gruplarında ise farklılaştırma sonrası hücrelerin farklılaştırmaya gidip gitmediğini veya hangi yönde daha iyi farklılaştığını gözlemlemek adına toplam 6 gene bakıldı. Adipojenik belirteçler ADFP (Adipose differentiation-related protein; Adipojenik farklılaşma ile ilişkili protein) ve leptin, osteojenik belirteçler BMP-2 (Bone morphogenetic protein 2; kemik morfogenetik proteini 2), OPN (Osteopontin) ve cFOS, referans gen olarak β-actin (β-aktin) genlerinin ifadelerine bakıldı.

Kontrol grup hücreleri, adipojenik ve osteojenik farklılaştırma hücreleri, hücre kültürlerinin son gününde tripsin-EDTA (%0,25) (Gibco) ile kaldırılarak RNA

izolasyonları RNA izolasyon kiti (High Pure RNA Isolation Kit, Roche) kullanılarak gerçekleştirildi. İzole edilen RNA örneklerinden cDNA'lar (komplementer DNA) cDNA kiti (RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit, Thermo Fisher Scientific) kullanılarak elde edildi. Real time PCR reaksiyonu SYBR içeren MasterMix solüsyonu (Roche) ve yukarıda belirtilen genlere uygun tasarlanan primerler (Tablo 3.2) ile hazırlanarak Real time PCR cihazında (Lightcycler480-II, Roche) çalıştırıldı. RT-PCR cihazındaki sıcaklık ayarlamaları enzim aktivasyonu için 95°C'de 10 dakika, denatürasyon için 95°C'de 30 saniye, bağlanma için 55°C'de 30 saniye ve uzama aşaması için 60°C'de 1 dakika olacak şekilde 45 döngü uygulandı. Çoğalan genlerin miktar ölçümleri ΔΔCp metoduyla ile belirlendi.

Tablo 3.2. RT-PCR'da kullanılan genlere ait primer baz dizilimleri

Gen	Primer Dizisi
ADFP	ATGCTACTGTTGCAAGCGCT
	GTGATACATGTAAGCGGCTTCTC
Leptin	GAAGACATCCCGTTCACAAGA
	GTGGATCCGACAGTTAAGATCA
BMP-2	GCCGGGAATGATGAGAACTA
	TTGGGGAGGATTTGTGAAGA
OPN	GGAAGCTGCAGAAGAGATGG
	TGCACACCTTTTCAAACTCG
cFOS	GAGCTAGCAGAGATGAGCCG
	GAGAGTCATACTGCCGGTCG
β-aktin	AGAGAAGCTGTGGCTATGTTG
	GTACTCCTGCTTGCTGATCC

3.4. Sağlıklı ve Diyabetik T Lenfosit Hücre Aktivasyonların Karşılaştırılması

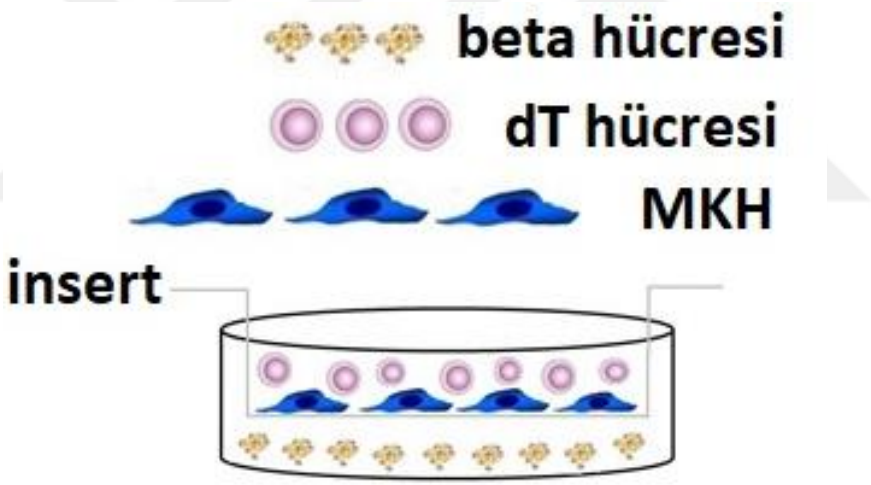
Sağlıklı ve T1DM'li periferik kan örnekleri ile oluşturulan iki ayrı havuzun her birisinden alınan 1 ml örneklerle akım sitometri cihazı aracılığıyla T lenfosit hücrelerin reaktivitelerinin karşılaştırıldı. Dışarıdan herhangi bir uyaran verilmeden BD Phosflow T Cell Activation Kit (Katalog no 560750, BD Sciences) antikor seti kullanıldı ve kitin içerisinde bulunan kullanım kılavuzu doğrultusunda önerilen prosedür basamakları takip edilerek gerçekleştirildi (Tablo 3.3). İnkübasyon sonrası yıkama solüsyonu (%0,1 sodyum asit içeren PBS) eklenerek ve santrifüj edildi (5 dk, 1300 rpm). Hazırlanan hücre süspansiyonları akım sitometri FACS Calibur Akım Sitometri (BD Sciences) cihazında okutuldu ve analizi BD CellQuest programıyla gerçekleştirildi.

Tablo 3.3. Kit içeriğindeki antikorların hedeflediği proteinler

PMA	ERK 1/2, p38MAPK
hIFN-a	STAT1
hIL-6	STAT3
hIL-2	STAT5
hIL-4	STAT6

3.5. β Hücre Döngüsü Kapasite Tayini

iPK-MKH, iKİ-MKH ve insan periferik kandan izole edilen diyabetik T hücreleri insan pankreatik beta hücreleri (hücre kültür kaplarının alt yüzeyine ekildiler) ile 1:1 oranlarında hem direkt (diyabetik T lenfosit hücreleri) hem de indirekt (MKH grupları) ortak kültüre alınmasından sonra birinci, dördüncü, yedinci, on beşinci ve otuzuncu günlerin sonunda insan pankreatik β hücreleri üzerindeki apoptoz düzeylerini saptamak amacıyla Cell Cycle kiti (BD Biosciences) kullanıldı (Şekil 3.4).



Şekil 3.5. β hücrelerin kapasite tayininde hücrelerin ortak kültür düzeneğinin şematik gösterimi

Deney boyunca %5 CO_2 içeren 37°C'lik inkübatörde muhafaza edilen deney grupları enzimatik olarak tiripsinle kaldırılıp; 15 ml'lik steril falkon tüplerde toplanıldı ve 2 kez soğuk PBS ile yıkandıktan sonra 1X tampon solüsyonu (buffer solution) ile sayısı $1x10^6$ ml olacak şekilde süspanse edildi (Tablo 3.5.) Akabinde 10'ar dakika aralıklar ile sırayla A solution (oda sıcaklığı, karanlık ortam), B solution (oda sıcaklığı, karanlık ortam) ve C solution (+4°C, karanlık ortam) eklendi. C solution eklenilmesinin akabinde steril Cell Stainer (40µm) olarak adlandırılan hücre süzgecinden geçirildikten sonra hemen

hazırlanan hücre süspansiyonu FACS Calibur akım sitometri cihazında okutularak BD Cell Quest™ programı ile hücre döngü analizi gerçekleştirildi. Bu şekilde deney süresince oluşturulan ortak kültür şartlarının insan pankreatik beta hücreleri üzerindeki etkilerini, diyabetik T hücrelerinden koruma oranlarını belirleyecek olan Sub-G1, G0/G1, S ve G2/M oranları yüzdelik olarak belirlenmesi sağlandı.

Tablo 3.4. Hücre döngüsü kapasite tayin analiz grupları

Kontrol Grubu	Deney Grupları
1. İnsan pankreatik β hücresi	1. β hücresi + iKİ-MKH + Diyabetik T hücre 2. β hücresi + sPK-MKH + Diyabetik T hücre 3. β hücresi + dPK-MKH + Diyabetik T hücre

3.6. Çok Katmanlı Yapının Oluşturulması

1.1.B4 hücreleri (ticari olarak satın alınabilen hazır insan pankreatik β hücre hattı) $1x10^6$ olacak şekilde T175 hücre kültür kaplarına ekildi ve inkübatörde (%5 CO_2, 37°C'de L-glutamin'li RPMI-1640, %10 FBS, %1 antibiyotik (Penicilin/Streptomycin) içeren besiyer ile) kültüre edildi. Hücreler %80 yoğunluğa (konfluensiye) ulaştıklarında 37°C'lik inkübatörden alınarak önce ortamdan FBS'in uzaklaştırılması amacı ile DPBS (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline - Dulbecco'nun Fosfat Tamponlu) (Gibco) ile yıkandı ve tripsin-EDTA (%0,25) (Gibco) eklenerek 3 dakika muamele edildi. Kaldırılan süspanse halindeki 1.1.B4 hücreler $1.5x10^6$ olacak şekilde önce düşük viskozite özellikli %2'lik aljinat (Sigma-Aldrich) daha sonra 10 mM $BaCl_2$ (Sigma-Aldrich) içerisinde 5 dakika bekletildi. Elde edilen tabaka 3 defa PBS (Phosphate buffered saline/ Fosfat tamponlu tuz çözeltisi) (Gibco) ile yıkandı (Duvivier-Kali ve diğ., 2001; Dranseikiene ve diğ., 2020; Hwang ve diğ. 2010; Omer ve diğ., 2005; Safley ve diğ., 2008; Tam ve diğ., 2011). Yıkama işlemi sonrası 6 kuyucuklu hücre kültür kaplarına her bir yapılarının $3x10^6$ iKİ-MKH, sPK-MKH ve dPK-MKH ile tamamen kaplanılması için 1 hafta bekletildi. Akabinde önce 2.5 µg/ml CTLA-4 (Biovision) ile aljinat (düşük viskoziteli %2'lik) daha sonra 10 mM $BaCl_2$ içersine konularak 5 dakika bekletilip çıkartıldı (Benhamou, 2002; Chen ve diğ., 2009; Ito ve diğ., 2000; Liu ve diğ., 2017; Nikpoor ve diğ., 2017; Pietrella ve diğ., 2001; Prasad ve diğ., 2018; Wang ve diğ., 2016; Zhang ve diğ., 2017). İşlem sonu PBS ile yıkama işlemi 3 defa tekrar edildi. T175 olarak adlandırılan 175 cm^2 ve 50 ml çalışma hacimli polistiren kaplı filtreli

kapağı olan hücre kültür kaplarında (%5 CO_2, 37°C) L-glutamin'li RPMI-1640, %10 FBS, %1 antibiyotik ve 10 μM/ml resveratrol (Sigma-Aldrich) içeren besiyerde bekletildi (Bortolotti ve diğ., 2009; Brouwer ve diğ., 2018; Caldarelli ve diğ., 2015; Chen ve diğ., 2007; Erdogan ve diğ., 2017; Jakab ve diğ., 2008; Lei ve diğ., 2008; Peltz ve diğ., 2012; Rouse ve diğ., 2014; Sahin ve diğ., 2016; Silva ve diğ., 2014; Tsang ve diğ., 2015; Vetterli ve diğ., 2011). Literatürde β ve adacık hücrelerinin makroenkapsülasyonları, çeşitli konsantrasyonları ve çeşitli inorganik bileşenlerle iyonların elektrik yükleri aracılığıyla aljinat ile çapraz bağlanmalarını içeren çalışmalar yer almaktadır (Duvivier-Kali ve diğ., 2001; Dranseikiene ve diğ., 2020; Hwang ve diğ., 2010; Omer ve diğ., 2005; Safley ve diğ., 2008; Tam ve diğ., 2011). Bu literatür bilgileri ışığında tek katman olarak biyouyumluluk, immün yanıtlara karşı dayanıklılık, hücre canlılıkları ve yapının yoğunluğu (kompakt) açılarından en uygun miktarlar olan ve çalışmalarda diğer oranlara kıyasla olumlu verilerin elde edildiği %2 düşük viskozite özellikli aljinat, 10 mM $BaCl_2$, 2.5 μg/ml CTLA-4 ve 10 μM/ml resveratrol seçildi ve tüm ortak kültür aşamalarında çok katmanlı yapılar bu konsantrasyon oranlıyla gerçekleştirildi.

3.7. ATP Sentez Tayin Analizi

Adenozin trifosfat olarak bilinen ATP, adenin, riboz şekeri ve üç fosfat grubunu barındıran çok fonksiyonlu bir nükleotit olup temel görevi hücre içi tüm aktiviteler için ihtiyaç duyulan kimyasal enerji taşımaktadır. Çok katmanlı yapının hücrelerin fonksiyonelliğinin ve canlılığının analizi amacıyla ATP Syntase Spesific Activity Microplate Assay Kit (Abcam) içerisinde bulunan protokol izlenerek birinci, dördüncü, yedinci, on beşinci ve otuzuncu günlerin sonunda kontrol ve deney gruplarının bulunduğu hücre kültür kaplarından alınan süpernatantlar 96 kuyucuklu mikroplatelere aktarılarak mikroplaka okuyucuda (VersaMax, Molecular Device, USA) 405 nm dalga boyunda okutuldu (Cheng ve diğ., 2022; Harrington ve diğ., 2022; Mooranian ve diğ., 2017; Rao ve diğ., 2015). Her bir kontrol ve deney grubu 5 defa tekrar edildi. Standart hata (±SD) göz önünde bulundurularak sonuçların değerlendirilmesi amacıyla veriler uygun analiz yöntemi seçilerek değerlendirildi. Çalışma ve kontrol grupları arasındaki farklar için anlamlılık düzeyi $p>0.05$ olanlar istatistiksel olarak sınırda anlamlı, $p<0.05$

olanlar istatistiksel olarak anlamlı, $p<0.01$ olanlar istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı, $p<0.001$ olanlar istatistiksel olarak çok yüksek düzeyde anlamlı sayıldı.

Tablo 3.5. ATP sentez tayin analiz grupları

Kontrol Grubu	Deney Grupları
1. İnsan pankreatik β hücresi	1. β + iKİ-MKH + ÇKE*+ CTLA-4 + RSVL
2. β hücresi + iKİ-MKH + CTLA + RSVL	2. β + sPK-MKH + ÇKE*+ CTLA-4 + RSVL
3. β hücresi + sPK-MKH + CTLA + RSVL	3. β + dPK-MKH + ÇKE*+ CTLA-4 + RSVL
4. β hücresi + dPK-MKH + CTLA + RSVL	

**ÇKE : çift kat enkapsülasyon*

3.8. Ortak Kültür

İnsan vücudunda, bireyin kendi immün hücrelerinin atakları sonucu gelişen pankreasta bulunan ve insülin üretiminden sorumlu olan β hücre destrüksiyonunun neden olduğu tip 1 diyabetinin *in vitro* koşullarda mümkün olabilecek en yakın T1DM patogenez ortamını hazırlamak amacı ile diyabetik mononüleer hücreler kullanıldı. Bu şekilde hücreleri beta hücrelerine karşı herhangi bir aktifleştirme işlemlerine maruz bırakılmadan laboratuvar koşullarında hücrelerin ortak kültürü gerçekleştirildi. Diyabetik periferik kan havuzundan alınan periferik kanın fikol üzerine yayarak bulutsu tabakanın içersindeki bulunan diyabetik mononükleer hücrelerin eldesi için sıralı santrifüj işlemleri uygulandı. Sıralı santrifüj işlemleri sonrasında PBS ile yıkanarak diyabetik mononükleer hücrelerin eldesi gerçekleştirildi. Elde edilen mononüklere hücreler $24x10^6$ olacak şekilde çok katmanlı yapı ile beraber L-glumatin'li RPMI-1640, %10 FBS, %1 antibiyotik ve 10 μM/ml resveratrol ortak besiyere alındı ve inkübatörde (%5 CO_2, 37°C) analiz aşamalarına (birinci, dördüncü, yedinci, on beşinci ve otuzuncu) kadar muhafaza edildi. Her deney en az 5 defa tekrar edildi ve standart hata (±SD) göz önünde bulundurularak sonuçlar değerlendirilmesi amacıyla veriler uygun analiz yöntemi seçilerek değerlendirildi. Çalışma ve kontrol grupları arasındaki farklar için anlamlılık düzeyi Standart hata (±SD) göz önünde bulundurularak sonuçlar değerlendirilmesi amacıyla veriler uygun analiz yöntemi seçilerek değerlendirildi. Çalışma ve kontrol grupları arasındaki farklar için anlamlılık düzeyi $p>0.05$ olanlar istatistiksel olarak sınırda anlamlı, $p<0.05$ olanlar istatistiksel olarak anlamlı, $p<0.01$ olanlar istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı, $p<0.001$ olanlar istatistiksel olarak çok yüksek düzeyde anlamlı sayıldı.

3.8.1. Ortak Kültür Sonrası Analizler

3.8.1.1. WST-1 (Water Soluble Tetrazolium-1) Analizi

Çok katmanlı yapıların canlılık analizi kolorometrik yöntemler arasında yer alan WST-1 (Suda Çözülen Tetrazolium-1, canlılık analiz tayini) analizi ile gerçekleştirildi (Tablo 3.6) Kolormetrik yöntem içerisinde yer alan WST-1 analizinin prensibi besiyer içerisindeki tetrazolium canlı hücrelerle etkileşme geçerek diğer bir deyişle aktif mitokondri tarafından tetrazolyum tuz halkasının kırılması sonucu meydana gelen renk değişimi formazan kristalleri meydana getirirken hücreler canlı olmama durumda ise formazan kristallerini oluşturamamasına dayanır (Erkekoğlu ve Baydar, 2020; Tokur ve Aksoy, 2017).

WST-1 için ortak kültürlerin bulunduğu hücre kültür ortamlarından (diyabetik mononükleer hücrelerin hücre kaplarının alt yüzeylerinde bulunmaları nedeniyle besiyerin mümkün olan en üst katmanında diğer bir deyişle dMKH'lerin olmadığı) alınan örnekler %10 WST-1 (Roche) reaktifi içeren L-glutamin'li RPMI-1640 ile 3 saat karanlık ve standart hücre kültürü koşullarında inkübe edildi. Kör okuma olarak hücre içermeyen ancak WST-1 reaktifli besiyeri içeren kuyucuğun kullanıldığı deney planında 2B (2 boyutlu) klasik kültür ortamı kullanılarak 37 °C'de % 5 CO_2'li inkübatörde 3 saat bekletildi. Sonrasında mikroplate kullanılarak 1., 4., 7., 15. ve 30. günlerde monokromatör sistemli mikroplaka okuyucuda (VersaMax, Molecular Device, USA) 480 nm dalga boyunda absorbans değeri okutuldu.

Tablo 3.6. WST-1 analiz grupları

Kontrol Grubu	Deney Grupları
1. Hücre içermeyen WST-1 reaktifli besiyer	1. β + iKİ-MKH + ÇKE*+ CTLA-4 + RSVL
2. İnsan pankreatik β hücresi	2. β+sPK-MKH + ÇKE* + CTLA-4 + RSVL
	3. β+dPK-MKH + ÇKE*+ CTLA-4 + RSVL

**ÇKE : çift kat enkapsülasyon*

3.8.1.2. ELİSA Analizi

Çok katmanlı yapıların, ELİSA analizleri için diyabetik periferik kan havuzundan elde edilen diyabetik mononükleer hücreler ile beraber 10 μM/ml resveratrol içeren besiyer ile aynı ortamda muamele edildi (Tablo 3.7) Kültür sonrası ortama salgıladıkları pro-

inflamatuar ve anti-inflamatuar sitokinler olan TGF-β1 (Elabscience), TNF-α (Arigo Biolaboratories), IL-2 (Arigo Biolaboratories), IL-12 (Elabscience), IL-1β (Elabscience), IFNγ (Elabscience) tayinlerinin 1., 4., 7., 15. ve 30. gün sonunda kültür besiyerlerinden 100µl örnek alınarak yapıldı. Ölçümler için kit içeriğinde önerilen basamaklar gerçekleştirildi ve spektrofotometrede ölçümleri yapıldı.

Tablo 3.7. ELİSA analiz grupları

Kontrol Grupları	Deney Grupları
1. Hücre içermeyen kültür besiyeri	1. β + iKİ-MKH + ÇKE*+ CTLA-4 + RSVL
2. İnsan pankreatik β hücresi	2. β+sPK-MKH + ÇKE* + CTLA-4 + RSVL
	3. β+dPK-MKH + ÇKE*+ CTLA-4 + RSVL

**ÇKE : çift kat enkapsülasyon*

3.8.1.3. İnsülin Salınım Analizi

Deney basamaklarının son aşamasında farklı hücre grupları ile oluşturulan çok katmanlı yapıların 3 saat arayla farklı glukoz miktarlarına karşı insülin proteini salınımları, insülin ELİSA (Elabscience) yöntemi ile karşılaştırıldı. Deney aşamasında öncelikle 3 saatlik süre ile düşük glukoz oranına sahip L-DMEM / 5,5 mmol/L besiyer ile inkübatörde (%5 CO_2, 37°C) muamele edildi. Hücre kültür kapları PBS ile 3 defa yıkınmasının ardından yüksek glukoz miktarı içeren HDMEM / 25 mmol/L hücre besiyeri ile 3 saat inkübatörde (%5 CO_2, 37°C) muamele edildi. Deneyin 1., 4., 7., 15. ve 30. gün sonunda hücre besiyerleri alınarak santrifüj sonrası -80°C'de saklandı. ELİSA yöntemiyle salgılanan insülin miktarının ölçüleceği gün ise öncelikle oda sıcaklığına gelmesi beklenildi ve kit içerisinde önerilen prosedür basamakları uygulandı. Son protokol basamağı uygulanan örnekler hiç bekletilmeden spektrofotometrede (VersaMax, Molecular Device, USA) 450nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı (Aijaz ve diğ., 2019; Bertolotti ve diğ., 2009; Cui ve diğ., 2006; Karimi ve diğ., 2021; Long ve diğ., 2017; Wang ve diğ., 2009) (Tablo 3.8).

Tablo 3.8. İnsülin salınım analiz grupları

Kontrol Grubu	Deney Grupları
1. İnsan pankreatik β hücresi	1. β + iKİ-MKH + ÇKE*+ CTLA-4 + RSVL
2. β hücresi + iKİ-MKH + CTLA + RSVL	2. β+sPK-MKH + ÇKE*+ CTLA-4 + RSVL
	3. β+dPK-MKH + ÇKE*+ CTLA-4 + RSVL

**ÇKE : çift kat enkapsülasyon*

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Diyabetik ve Sağlıklı İnsan Periferik Kan Kökenli MKH'lerin Saflaştırılması

Sağlıklı ve tip 1 DM`li gönüllülerden toplanan periferik kan örnekleri bekletilmeden havuzlarda toplanılarak işleme alındı. iPK-MKH eldesinde izlenen yöntemler için literatür bilgilerinden yararlanıldı (Beerts ve diğ., 2021; Calle ve diğ., 2021; Chen ve diğ., 2019; Chen ve diğ., 2020; Chong ve diğ., 2011; Debosschere ve diğ., 2020; Fazeli ve diğ., 2021; Longhini ve diğ., 2019; Liu ve diğ., 2018; Mao ve diğ., 2022; Ouryazdanpanah ve diğ., 2018; Pang ve diğ., 2022a; Pang ve diğ., 2022b; van Hecke ve diğ., 2021; Venugopal ve diğ., 2020; Yang ve diğ., 2020; Zu ve diğ., 2021) ve sıralı gradyan santrifüj yöntemi ile dPK-MKH'lerin ve sPK-MKH'lerin eldeleri sağlandı. PK-MKH'lerin eldesi için uygulanan bu yöntem basamaklarının temelinde mononükleer hücrelerin ayrıştırılmasına dayanmakta olup HBSS ile seyreltilen periferik kanlar santrifüj sonrası bulutsu tabakanın toplanmasından sonra tekrar HBSS ile yıkama işlemine alındı. Süpernatantın dökülmesinin ardından metot sonucu sağlıklı ve diyabetik MKH'lerin saflaştırılması için eldesi gerçekleştirilen hücreler, hücre kültür kaplarına %20 FBS (Gibco), %1 Penicilin/Streptomycin (Gibco), %0,001 insulin-transferrin-selenium (ITS; Gibco) ve L-glutamin'li RPMI-1640 [300.00 mg/L L-glutamin (L-Alanil-L-Glutamin) ve 5.30 mg/L fenol kırmızısı sodyum tuzu içeren)] (Capricorn Scientific) besiyeri ile beraber ekildiler (Şekil 4.1).

İlk 72 saat inkübatörde bekletilen hücreler her üç günde bir kez mikroskopta incelendi ve bu süreçte tutunamayan hücrelerin, hücre kültür ortamından uzaklaştırılması ile eldesi gerçekleşen MKH'lerin çoğalmasına zemin hazırlandı. Çoğalma eğilimdeki MKH'ler %70-80 sıkışıklığa ulaştıklarında ise pasajlama yöntemiyle yeni hücre kültür kaplarına uygun yoğunlukta ekildi (Beerts ve diğ., 2021; Calle ve diğ., 2021; Chen ve diğ., 2019; Chen ve diğ., 2020; Debosschere ve diğ., 2020; Fazeli ve diğ., 2021; Pang ve diğ., 2022a; Pang ve diğ., 2022b; Longhini ve diğ., 2019; Liu ve diğ., 2018; Mao ve diğ., 2022; Ouryazdanpanah ve diğ., 2018; van Hecke ve diğ., 2021; Venugopal ve diğ., 2020; Yang ve diğ., 2020; Zu ve diğ., 2021). 3 pasaj ilerlenmesinden sonra her pasajlama aşamasında bir miktar hücre tekrardan hücre kültüründe ekilirken bir kısmı ise -152'de muhafaza edilmek ve deneylerde kullanılmak üzere kaldırıldı (Şekil 4.2).



Şekil 4.1. PK-MKH izolasyon basamakları

Sağlıklı ve diyabetik periferik kan kaynaklı MKH'lerin saflaştırılma sürecinde dPK-MKH`lerinin sPK-MKH`lerine göre hücre kültürünün yavaş ilerlediği gözlemlendi. Literatür bilgilerinde ilk hücrelerin eldesi 2 hafta ile 4 haftalık bir süreç içerisinde ortaya çıktığı belirtilirken, gerçekleştirdiğimiz izolasyonda hücre kolonilerinin mikroskopik görüntülemedeki ilk tespiti yaklaşık olarak 4 ile 8 haftalık süre içerisinde gerçekleşmiştir (Chong ve diğ., 2011). Yine literatürde bilgileri ışığında hücrelerin ilk kültür kapların ekilmesine takiben 72 saat sonrasında ciddi hücre kayıplarının yaşanmasının önlenmesi amacıyla 21 gün boyunda 1:1 oranında kültür ortamı değiştirildi (Beerts ve diğ., 2021; Calle ve diğ., 2021; Chen ve diğ., 2019; Chen ve diğ., 2020; Chong ve diğ., 2011; Debosschere ve diğ., 2020; Fazeli ve diğ., 2021; Longhini ve diğ., 2019; Liu ve diğ., 2018; Mao ve diğ., 2022; Ouryazdanpanah ve diğ., 2018; Pang ve diğ., 2022a; Pang ve diğ., 2022b; van Hecke ve diğ., 2021; Venugopal ve diğ.,

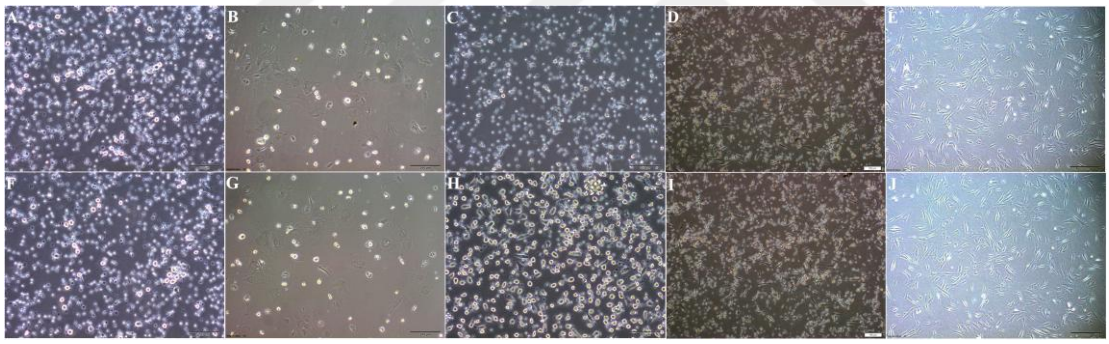
2020; Yang ve diğ., 2020; Zu ve diğ., 2021;). Kültür ortamının düzenli olarak değiştirilmesi ile hücreler için gerekli besin ortamının sağlanması ve atık maddelerin



Şekil 4.2. PK-MKH pasajlama, dondurma, çözme ve hücreleri ekme basamakları

uzaklaştırılması yanında tutunamayan ve istenmeyen hücrelerin ortamdan atılması sağlandı. Ortalama 10 haftanın sonunda ise hücre izolasyonu elde edildi. Elde edilen MKH hücreleri hücre kültür kaplarına güçlü bir şekilde tutundukları ve alt kültür (pasajlama) sırasında hücrelerin kaldırılabilmesi için normal pasajlamaya oranla (3-5

dakika) daha uzun süre beklenmesine ihtiyaç duyulduğu gözlemlendi. Ancak sağlıklı PK-MKH'lerine göre T1DM'li bireylerin periferik kanlarından daha düşük verimlilikte hücre izolasyonu gerçekleşti. Ayrıca sağlıklı deney grubu diyabetik deney grubuna kıyasla en az bir pasaj önce mikroskop ile gözlemlenebildiği tespit edildi. Ayrıca elde edilen hücrelerin çoğalma hızının da daha yavaş olduğu gözlendi. dPK-MKH'lerinin sPK-MKH'lere göre ilk 8 haftalık süreç içerisinde koloni oluşturması için geçen sürenin daha uzun olduğu fark edildi. Hücre kültür kapları ilk izolasyon sonrasında hücre kültür kaplarının ekilen yüzeylerinde çok sayıda makrofaj hücresi tespit edildi. Fakat, aynı besiyer ile hücre kültürüne devam edildikçe makrofajlar yerlerini MKH'lere bıraktığı izlendi. Dolayısıyla periferik kan kaynaklı MKH'lerin izolasyonu diğer MKH'lerin izolasyonlarına kıyasla daha yavaş ama sağlıklı şekilde ilerlediği gözlemlendi. Eldesi gerçekleşen hücrelerin (hem sağlıklı hem de diyabetik tipik uzun iğsi yapıda oldukları ve fibroblast benzeri bir morfolojiyi sahip olmalarına rağmen dPK-MKH'lerin sPK-MKH'lere göre daha granüllü yapıya sahip oldukları gözlendi (Şekil 4.3).



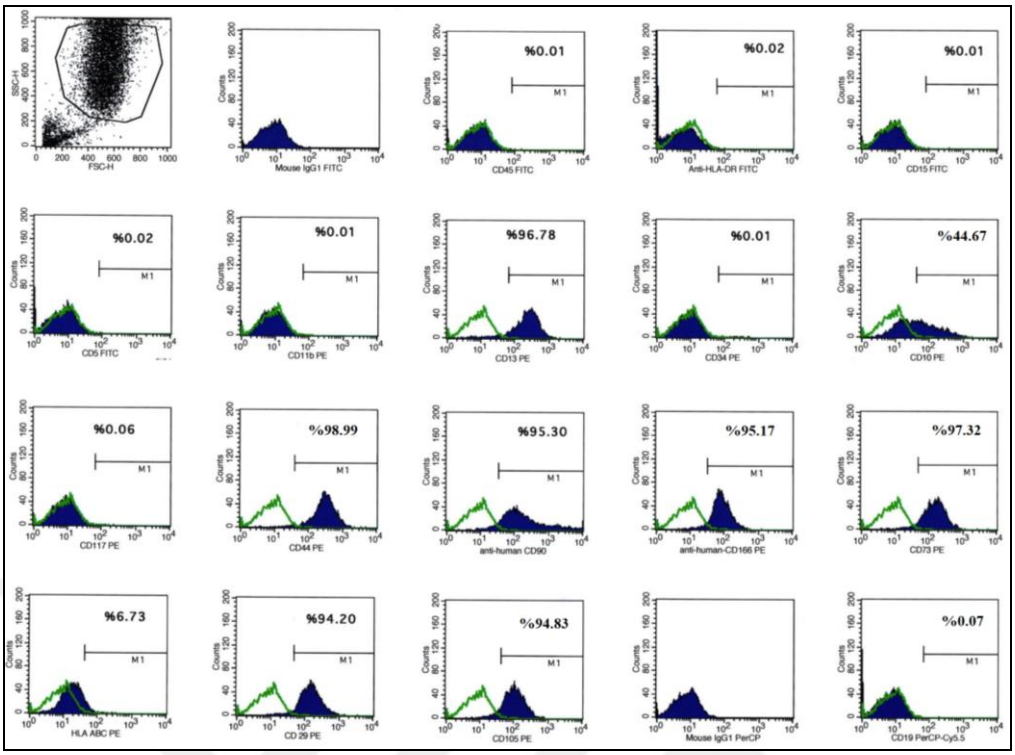
Şekil 4.3. iPK-MKH izolasyon sonrası saflaştırılması süresince alınan görüntüleri (Olympus, IX71). A,B,C,D ve E sPK-MKH hücre kültürüne aittir (ölçek çubuğu 100 µm ve 500 µm), F,G,H,I ve J dPK-MKH hücre kültürüne aittir (ölçek çubuğu 100 µm ve 500 µm). A ve F: P0G1, B ve G: P1G3, C: P2G2, H: P3G4, D:P3G5, I: P4G6, E:P5G4.

4.2. Periferik Kan Kökenli MKH'lerin Karakterizasyonu

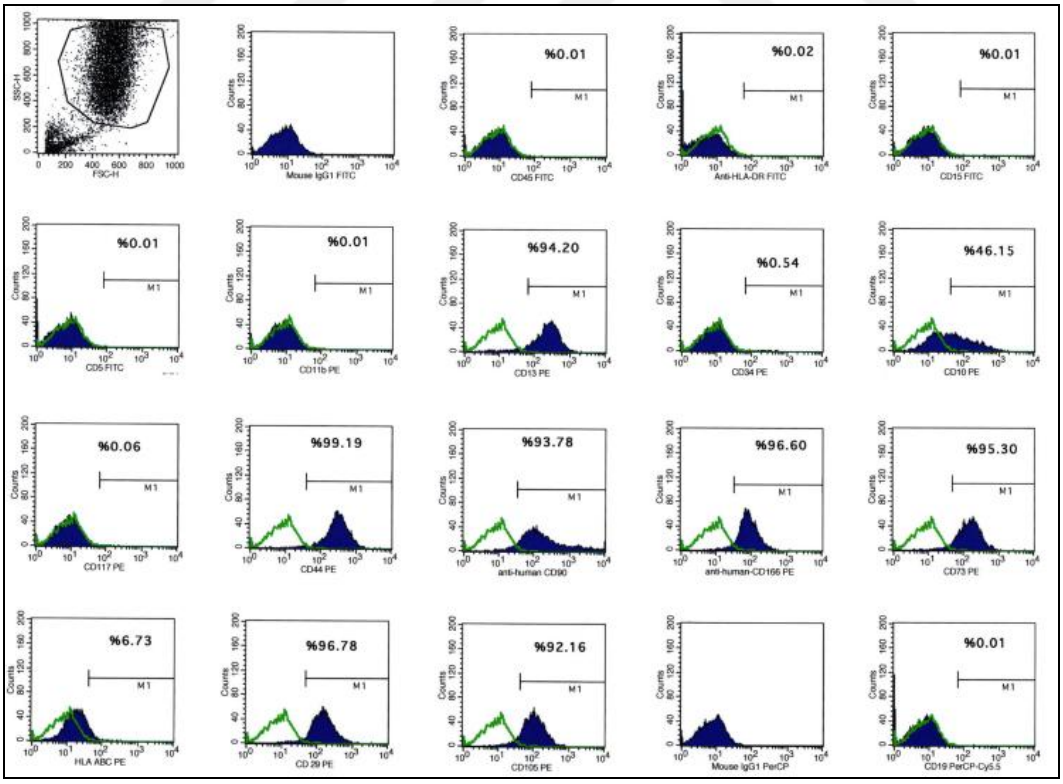
Hücre kültüre devam edilen hücre gruplarının amaçlanan MKH grubu olduğunu belirlemek için öncelikle sPK-MKH'ler P4'ten itibaren, dPK-MKH'ler ise P5'ten itibaren çoğaltıldı ve karakterizasyon basamağı için hem akım sitometrisi aracılığıyla immünfenotipleme analizine hem de adipojenik ve osteojenik farklılaştırmalara alındılar.

4.2.1. Akım Sitometri ile İmmünofenotipik Analiz Sonuçları

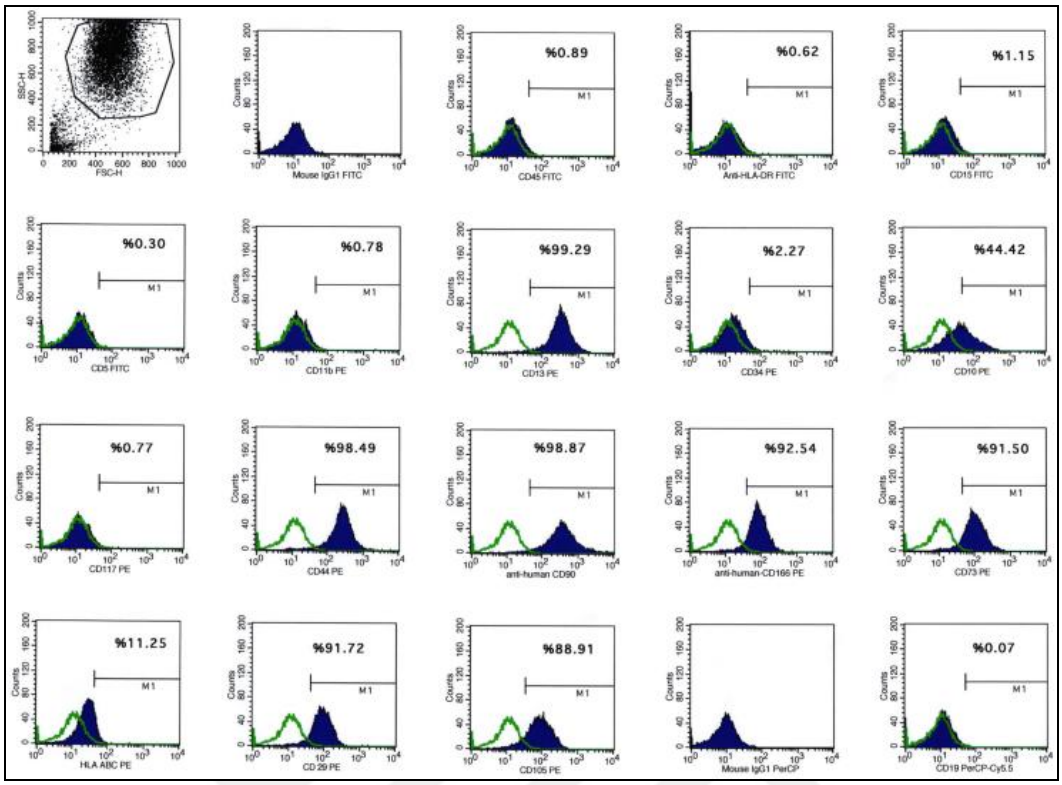
Eldesi gerçekleştirilen hücre gruplarının, MKH olduklarının saptanması amacıyla yapılan karakterizasyon deney basamağında ilk olarak immünfenotipleme analiz gerçekleştirildi. Bu karakterizasyon aşamasında mezenkimal kök hücreler için ISCT tarafından belirlenmiş olan CD13, CD29, CD34, CD44, CD45, CD73, CD90, CD105, CD117 ve HLA-A,B,C,DR yüzey belirteçleri kullanıldı (Dominici ve diğ., 2006). MKH'lerin standartizasyonları için alınan karara bağlı olarak hücrelerin CD13, CD29, CD44, CD73, CD90 ve CD105 yüzey belirteçleri için pozitiflik ve CD34, CD45, CD117 ve HLA- CD13, CD29, CD44, CD73, CD90, CD105 ve HLA-A,B,C,DR için negatiflik oranları saptandı. Analiz sonrası ortaya çıkan sonuçlarda %90 üzerinde okuma görülen örnekler pozitif, %10 altındaki değerler ise negatif olarak gruplandırıldı (Houston ve diğ., 2018; McJoy Jr, 2002; Murray ve diğ., 2014; Mushahary ve diğ., 2018). Akım sitometri (flow cytometry) analizi için sağlıklı ve diyabetik PK-MKH'leri tripsinizasyon işlemi ile kaldırıldı ve yaklaşık $1x10^6$ hücre barındıracak şekilde PBS içinde homojenize edilip belirlenen hücre yüzey işaretleyicilerine özel, fluoresan izotiyosiyonat (FITC)- ve fikoeritrin (PE)-konjuge monoklonal antikorlar (CD13, CD29, CD34, CD44, CD45, CD73, CD90, CD105, CD117 ve HLA-A,B,C,DR) ve uygun izotip kontrollerinden 10µl eklenerek oda ısısında, karanlıkta 45 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası yıkama solüsyonu eklenip santrifüj edilerek (5 dakika, 1800 rpm) 400µl hücre yıkama solüsyonu ile tekrar süspanse edildi. Hazırlanan hücre süspansiyonların okutulmasında BD FACS Calibur akım sitometri cihazı kullanıldı. Bu cihazda okutulan hücre süspansiyonlarının analizi ise BD Cell Quest TM software programı ile gerçekleştirildi. Analiz sonucunda hem sağlıklı hem de diyabetik PK-MKH'lerin hematopoietik kök hücre belirteçleri olan CD34 ve CD45 ile MHC class-II proteinlerini (HLA-DR) taşımadıkları, CD13, CD29, CD44, CD73, CD90 ve CD105 antikorlarında ise yüksek düzeyde pozitiflik oranları tespit edildi (Şekil 4.4, 4.5, 4.6). Akım sitometrisi analizleriyle elde edilen sağlıklı ve diyabetik periferik kan kaynaklı hücrelerin mezenkimal kök hücre karakterinde oldukları ve hematopoietik kök hücre olmadıkları saptandı. Akım sitometrisi ile immünofenotipleme basamağında iKi-MKH'ler P3'ten, sPK-MKH'ler P4'ten ve dPK-MKH'ler ise P5'ten kullanıldı.



Şekil 4.4. iKİ-MKH'lerin akım sitometri ile immünfenotipik analiz sonucu



Şekil 4.5. sPK-MKH'lerin akım sitometri ile immünfenotipik analiz sonucu



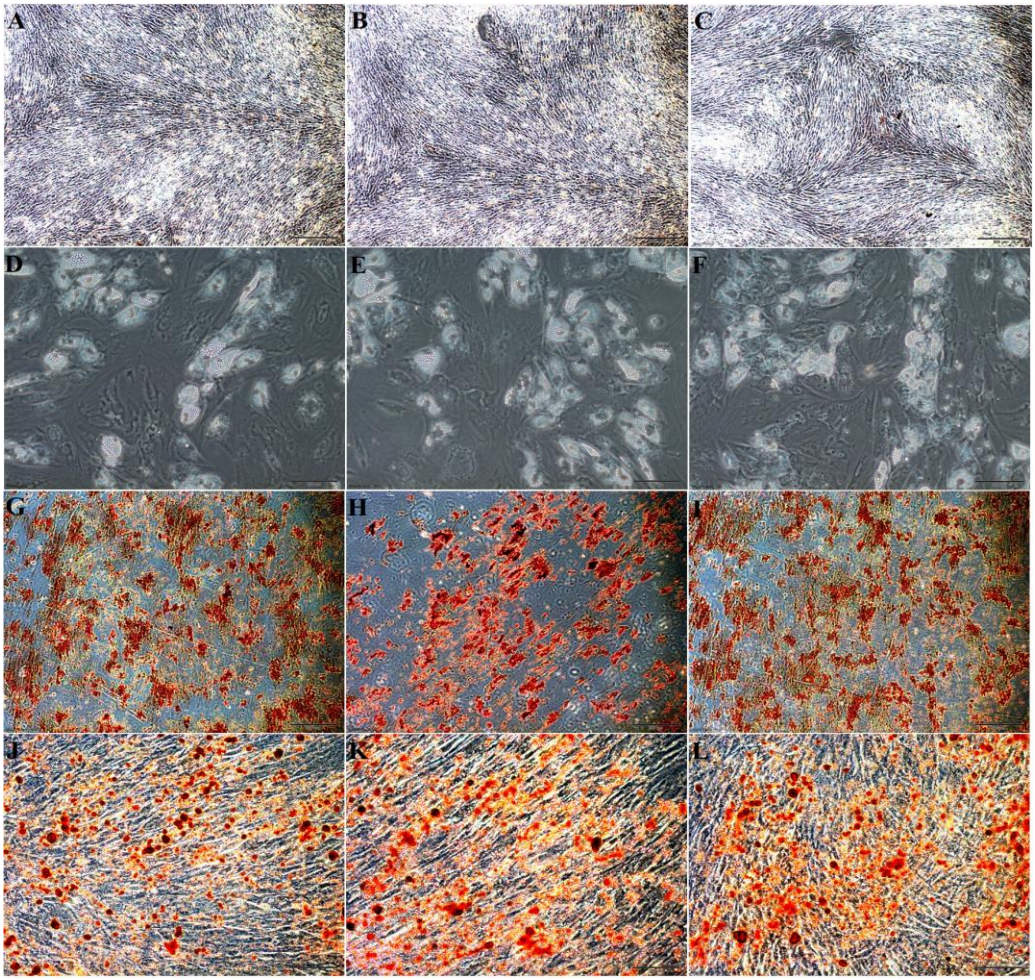
Şekil 4.6. dPK-MKH'lerin akım sitometri ile immünfenotipik analiz sonucu

4.2.2. PK-MKH *in vitro* Adipojenik Farklılaştırma Sonrası Oil Red-O Boyama Sonuçları

sPK-MKH ve dPK-MKH karakterizasyon çalışmalarının son basamağında adipojenik ve osteojenik farklılaştırmalar gerçekleştirildi. Bu basamakta kontrol grubu olarak iKİ-MKH'leri kullanıldı. Farklılaşmış hücrelerin pozitiflikleri histolojik boyamalarla mikroskobik incelemelerde gösterildi. Kimyasal uyarı yoluyla sPK-MKH ve dPK-MKH'lerin adipojenik farklılaşmalarının gösterilmesi için Oil Red O histolojik boyama yöntemi kullanıldı. Her iki hücre türünün farklılaştırma deneyinde kontrol olarak %20 FBS ve %1 Penicilin/Streptomycin içeren RPMI-1640 besiyeri kullanıldı. Tüm kontrol ve deney grupları 21 gün süre ile muamele edildi.

Adipojenik farklılaşma öncesinde sPK-MKH ve dPK-MKH'leri çoğaltılarak 6 kuyucuklu hücre kültür kabı tabakalarının %70-80'nin kaplanması için bekletildi. Besiyer ile adipojenik farklılaşma için indüklenen sPK-MKH ve dPK-MKH'ler yağ hücrelerine özgü protein sentezi ile yağ hücre fenotipi kazandığı gözlendi. Daha sonra Oil Red O boyaması ile hücre içlerinde biriken trigliseridlerin (nötral yağlar)

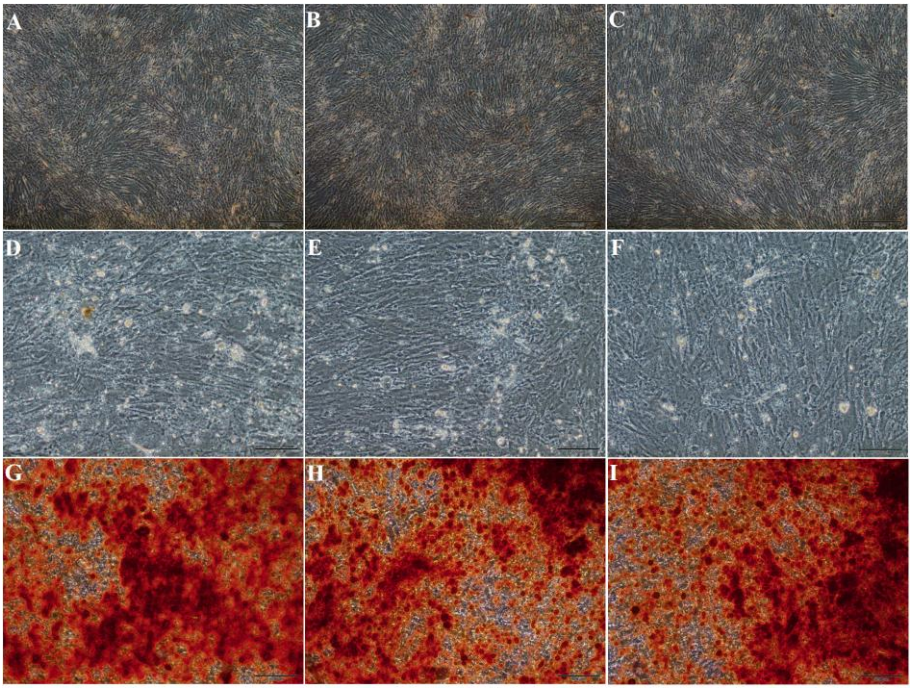
depolandığı yağ damlacıkları kırmızıya boyanarak pozitifliği belirlendi. Adipojenik farklılaşma bulgularında hücrelerin farklılaşma eğilimi içerisinde olduğu görülürken kimyasal indüklemenin kullanılmadığı MKH kontrol gruplarında ise pozitiflik gözlenmedi. iKi-MKH'ler P3'ten, sPK-MKH'ler P4'ten ve dPK-MKH'ler ise P5'ten kullanıldı. Oil Red-O boyamaları sonucu sPK-MKH'lerin ve dPK-MKH'lerin adipojenik farkılılaşmaları kontrol grubu yer alan iKİ-MKH'leri kadar iyi düzeyde farkılaştıkları saptandı (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. iKİ-MKH, sPK-MKH ve dPK-MKH adipojenik farklılaşma sonrası Oil Red-O boyama görüntüleri (Olympus, IX71). A,B ve C: sırasıyla iKİ-MKH, SPK-MKH ve dPK-MKH'lerin kimyasal uyarılma kullanılmayan besiyer ile muamele edilen kontrol grupları (ölçek çubuğu 500 µm), D,E ve F: Oil Red-O boyama öncesi görüntüleri, sırasıyla iKİ-MKH, SPK-MKH ve dPK-MKH'lerin kimyasal uyarılma yoluyla adipojenik farklılaşma grupları (ölçek çubuğu 100 µm), G,H ve I: sırasıyla iKİ-MKH, SPK-MKH ve dPK-MKH'lerin adipojenik farklılaşma sonrası Oil Red O boyama görüntüleri (ölçek çubuğu 500 µm), J,K ve L: sırasıyla iKİ-MKH, SPK-MKH ve dPK-MKH'lerin adipojenik farklılaşma sonrası Oil Red O boyama görüntüleri (ölçek çubuğu 100 µm)

4.2.3. PK-MKH *in vitro* Osteojenik Farklılaştırma Sonrası Alizerin Red-S Boyama Sonuçları

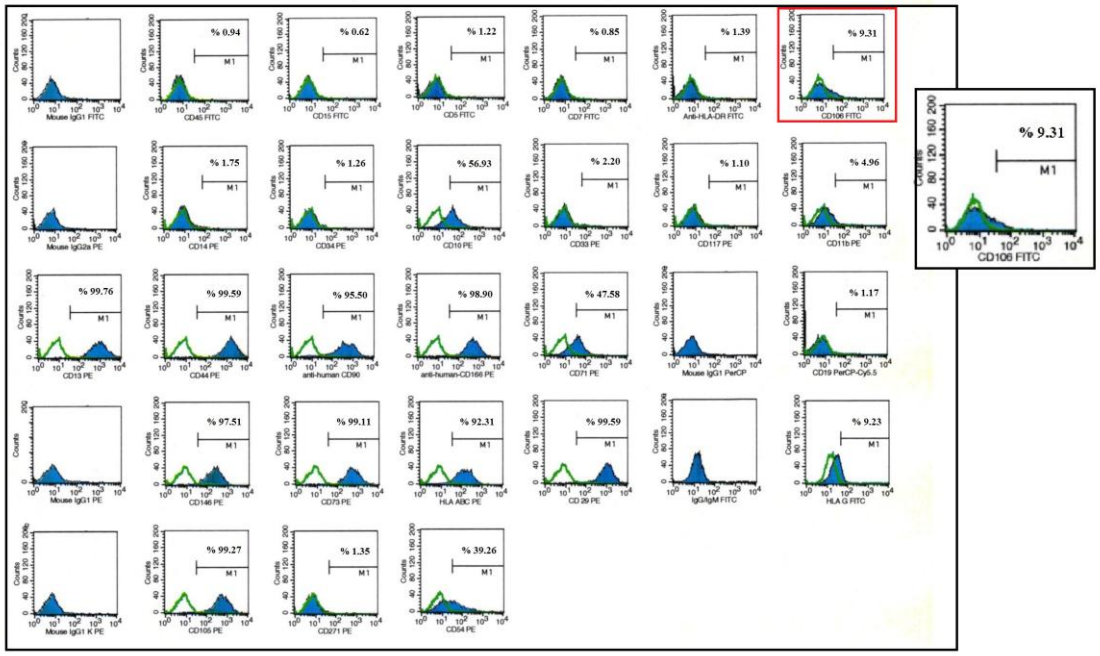
Osteojenik farklılaştırma için sPK-MKH, dPK-MKH ve iKİ-MKH'ler 6 kuyucuklu hücre kültür kaplarına ekildi ve kültür tabakalarının %70-80'nin kaplanması beklenildi. Besiyer içersindeki indüklemeyi sağlayan büyüme faktörleri sayesinde (askorbik asit, deksametazon, betagliserofosfat) hücrelerin uygun matriksi oluşturması, osteoblast progenitör hücrelerine farklılaşmaları ve hücre morfolojilerinin küboidal bir yapıya ulaşmaları sağlandı. Bu morfolojideki hücreler alkalin fosfataz, osteokalsin ve mineralize nodüllerinin varlığını işaret ettiği literatürde yer almaktadır (Chong ve diğ. 2011). Tüm kontrol ve deney grupları 21 gün süre ile muamele edildi. Osteojenik farklılaşma süreci sonrasında Alizerin Red-S ile hücreler boyanarak farklılaşmaların durumları incelendi. Kırmızı renk ile boyanan hücreler sitoplazmalarında gerçekleşen kalsifikasyon ve kalsiyum depolarının oluşumunu ifade etmektedir. iKi-MKH'ler P3'ten, sPK-MKH'ler P4'ten ve dPK-MKH'ler ise P5'ten kullanıldı. Alizerin Red-S boyamaları sonucu sPK-MKH'lerin ve dPK-MKH'lerin osteojenik farkılılaşmaları kontrol grubu yer alan iKİ-MKH'leri kadar iyi düzeyde farkılaştıkları saptandı (Şekil 4.8).



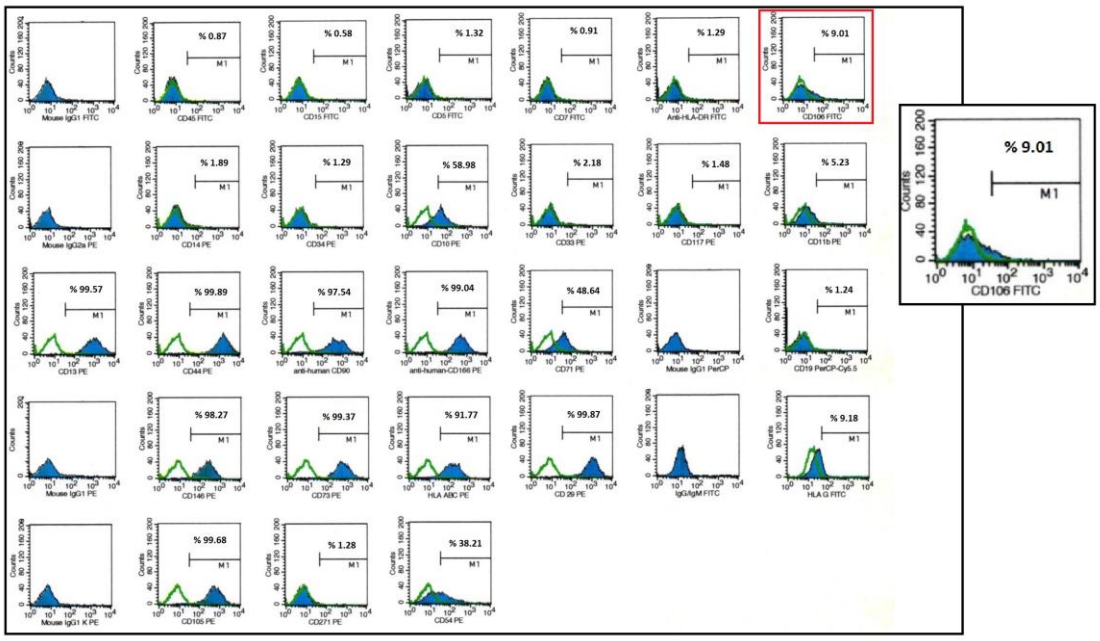
Şekil 4.8. iKİ-MKH, sPK-MKH ve dPK-MKH osteojenik farklılaşma sonrası Alizerin Red-S boyama görüntüleri (Olympus, IX71). A,B ve C: sırasıyla iKİ-MKH, SPK-MKH

ve dPK-MKH'lerin kimyasal uyarılma kullanılmayan besiyer ile muamele edilen kontrol grupları (ölçek çubuğu 500 µm), D,E ve F: Alizerin Red-S boyama öncesi görüntüleri, sırasıyla iKİ-MKH, SPK-MKH ve dPK-MKH'lerin kimyasal uyarılma yoluyla osteojenik farklılaşma grupları (ölçek çubuğu 100 µm), G,H ve I: sırasıyla iKİ-MKH, SPK-MKH ve dPK-MKH'lerin adipojenik farklılaşma sonrası Oil Red O boyama görüntüleri (ölçek çubuğu 100 µm)

PK-MKH'lerin farklılaşma deneylerinde mikroskop altında yapılan incelemelerde Alizerin Red-S boyamasının Oil Red-O boyamasına kıyasla çok daha yoğun olarak gözlenmiş olması CD106 (VCAM-1; vasküler hücre adezyon molekülü-1) yüzey belirteci ile ilişkilendirilebilir. PK-MKH akım sitometri karakterizasyon analizinde CD106 yüzey belirteci negatif (% 9.31) olarak ifade edilmiştir (Şekil 4.9) (Şekil 4.10). Literatürdeki benzer çalışmada kemik iliği kaynaklı MKH'ın CD106 belirtecini ifade etmediğinde uyarılma sonrasında osteojenik farklılaşmayı yüksek verimlilikte gerçekleştirdiği ve destekler nitelikte CD106 ifadesi artırıldığında da bu verimin düştüğü bildirilmektedir (Fukiage ve diğ., 2007; Yang ve diğ., 2013).



Şekil 4.9. sPK-MKH tam panel akım sitometrisi ve CD106 yüzde oranı



Şekil 4.10. dPK-MKH tam panel akım sitometrisi ve CD106 yüzde oranı

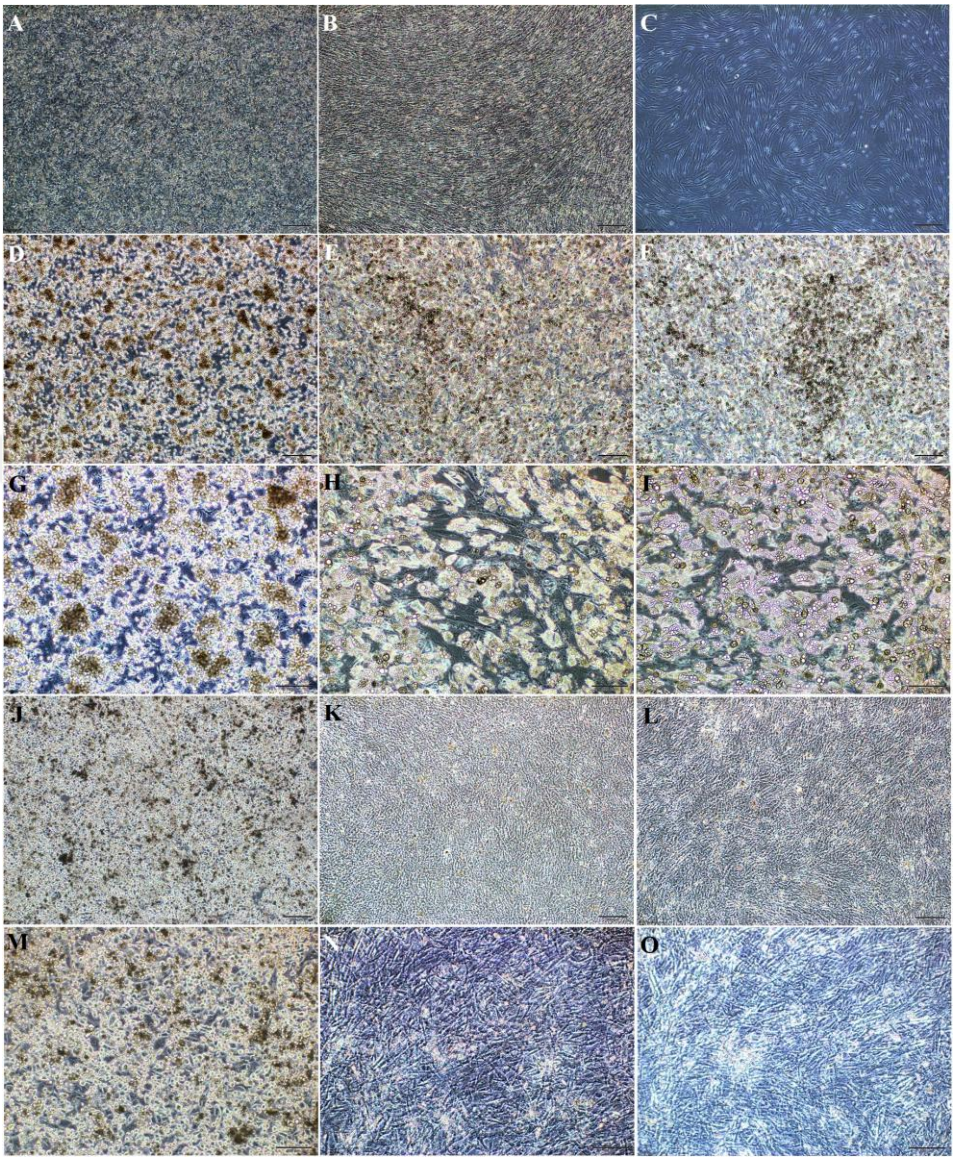
MKH'lerin en önemli özellikleri arasında mesodermal kaynaklı dokular olan adipojenik ve osteojenik dokulara farklılaşabilme yeteneği sayılmaktadır (Dominici ve diğ., 2006). CD106 yüzey belirteç ifadesi pozitif veya negatif değer aralığında olması MKH'leri hem adipojenik hem de osteojenik farklılaşma kapasitesine sahip olmalarını engellememektedir. Ancak CD106 yüzey belirtecinin pozitif olması adipojenik farklılaşmaya, CD106 negatif olması ise osteojenik farklılaşmaya yatkınlığını arttırmaktadır. MKH'ler elde edildiği yere bağlı olarak CD106 ifadesi değişiklik gösterebilmektedir (Liu ve diğ., 2008). Tez çalışmasında kan dokusundan elde edilen MKH'ların CD106 değerinin %10'un altında yer aldığı belirlendi. Literatürde yer alan bilgilere uygun olarak PK-MKH'lar osteojenik farklılaşmaya yüksek verimlilikte yönelirken adipojenik farklılaşmaya yönelmeleri düşük verimlilikte gerçekleşmiştir.

4.2.4. Farklılaşma Sonrası RT-PCR ile Gen İfade Analiz Sonuçları

MKH karakterizasyon analizlerinin son basamağı olarak gerçekleştirilen RT-PCR analizi, iKİ-MKH, sPK-MKH ve dPK-MKH'leri arasında gerçekleştirildi, her bir kontrol ve deney grubu için 3 bağımsız test analiz edildi. Hücreler ekildikleri hücre kaplarından tripsinizasyon sonucu kaldırılan hücreler $1x10^6$ olacak şekilde RT-PCR için hazırlandı. Kontrol gruplarında kimyasal uyarıcı bulunmayan hücre kültür besiyeri

kullanılırken farklılaşma gruplarında ise adipojenik veya osteojenik kimyasal uyarıları içeren hücre kültür besiyerleri kullanıldı (Şekil 4.11). Kök hücre grupları arasında RT-PCR analizi ile yapılan adipojenik farklılaştırma karşılaştırmasında ADFP genleri iKİ-MKH ve dPK-MKH'lerinde sPK-MKH'lerine göre daha yüksek çıkması iKİ-MKH ve dPK-MKH'lerinde preadiposit hücrelerin daha fazla olduğunu ve buna bağlı adipojenik farklılaştırmanın daha kuvvetli gerçekleşmesine rağmen leptin gen ekpresyonlarının düşük kalması ise adiposit hücrelerine tam olarak olgunlaşmadığını göstermektedir. dPK-MKH'lerin sPK-MKH'lerine göre daha kuvvetli bir farklılaştırma göstermesi ise T1DM tedavisinde kullanılan insülin hormonu ve adiposit hücrelerin ilişkisini kaynaklı olabilir (de Parlee ve diğ., 2014; Knudsen ve diğ., 2014; Lizunov ve diğ., 2015; McLaughlin ve diğ., 2014; Satoh, 2014; Tharp ve diğ., 2016) (Şekil 4.12, 4.13). Hücrelerin preadiposit hücre gen ekpresyonların daha yüksek olması deney süresi ile de ilişkili olabilmektedir. Farklılaşma süresini daha uzun tutulması preadiposit hücrelerin olgunlaşarak adiposit hücrelere tamamen farklılaşmasını sağlayabilir. iKi, sPK ve dPK-MKH'leri arasında osteojenik farklılaştırma oranlarını RT-PCR analizi ile değerlendirildiğinde osteoblastlar ve osteoklastlar tarafından salgılanabilen BMP-2 ve c-FOS genleri iKİ ve dPK-MKH'lerde daha yüksek seviyelerde salgılanırken OPN'in ise iKİ-MKH grubunda diğer kök hücre gruplarına nazaran yüksek oranda eksprese edildiği gözlendi (Şekil 4.12, 4.14). iKİ ve dPK-MKH'leri sPK-MKH'lerine oranla daha fazla BMP-2 ve c-FOS eksprese etmeleri kimyasal indükleme sayesinde osteojenik progenitör hücrelere (osteoprogenitör hücre) farklılaştıklarını göstermektedir. OPN geninin ekspresyon seviyesi ise bu hücrelerin olgunlaşmış kemik hücresi olan osteositlere tamamen dönüşmediklerini göstermektedir. c-Fos geninin sadece iKİ-MKH'lerinde daha fazla salgılanmasının kök hücrelerin izole edilen kaynağı hakkında diğer bir deyiş ile kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücre olması nedeni ile bağlantılı olduğunu düşündürmektedir. dPK-MKH'lerin sPK-MKH'lerine nazaran daha yüksek oranlarda osteojenik genleri eksprese etmeleri tip 1 diyabet ile kemiklerin yıkımına daha yatkın olma kaynaklı olabileceğini düşündürmektedir (Abagnale ve diğ., 2015; Bayrak ve diğ., 2014; Filion ve diğ., 2017; Granéli ve diğ., 2014; Lai ve diğ., 2014). BMP2 osteojenik farklılaşma sürecinde erken belirteçleri arasında yer alırken OPN ise osteojenik farklılaşma sürecinde ise ileri süreçleri ifade etmesi nedeni ile adipojenik farklılaşma sonuçlarında olduğu gibi osteojenik farklılaşma süresinin daha

uzun tutulması sonucu osteojenik progenitör hücrelerinin tamamen olgunlaşarak osteosit hücrelere farklılaşmasını sağlayabilir (Zhu ve diğ., 2001).

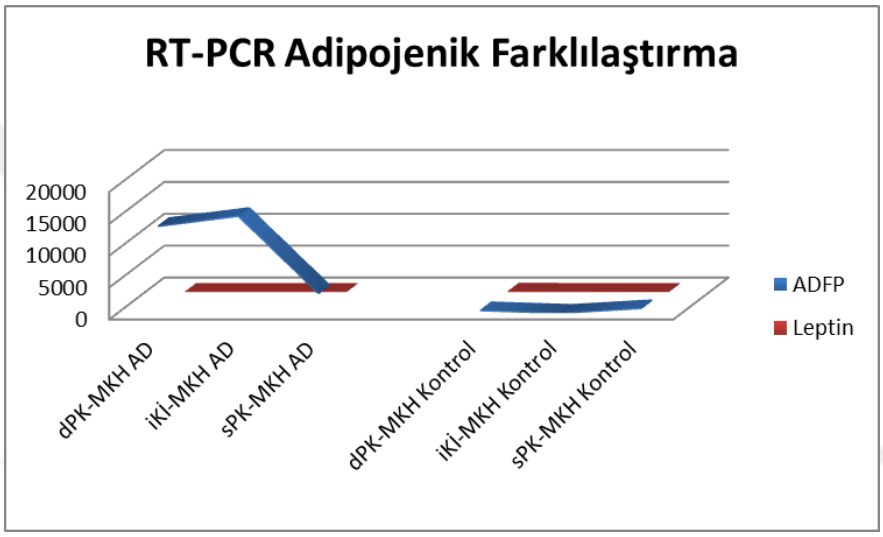


Şekil 4.11. Farklılaşma sonrası iKİ-MKH, sPK-MKH ve dPK-MKH'lerin RT-PCR öncesi hücre kültür görüntüleri (Olympus, IX71). A, B ve C: Kimyasal uyarı içermeyen hücre kültür besiyeri ile muamele edilen sırasıyla iKİ-MKH, sPK-MKH ve dPK-MKH'lerin hücre kültür görüntüleri (ölçek çubuğu 200 µm), D,E ve F: Kimyasal uyarıcı içeren besiyer ile adipojenik yönde indüklenen sırasıyla iKİ-MKH, sPK-MKH ve dPK-MKH'lerin hücre kültür görüntüleri (ölçek çubuğu 200 µm), G,H vs I: Kimyasal uyarıcı içeren besiyer ile adipojenik yönde indüklenen sırasıyla iKİ-MKH, sPK-MKH ve dPK-MKH'lerin hücre kültür görüntüleri (ölçek çubuğu 100 µm), J,K ve L: Kimyasal uyarı içeren hücre kültür besiyeri ile osteojenik yönde indüklenen sırasıyla iKİ-MKH, sPK-MKH ve dPK-MKH'lerin hücre kültür görüntüleri (ölçek çubuğu 200 µm), M,N ve O: Kimyasal uyarı içeren hücre kültür besiyeri ile osteojenik yönde indüklenen sırasıyla iKİ-MKH, sPK-MKH ve dPK-MKH'lerin hücre kültür görüntüleri (ölçek çubuğu 100 µm)

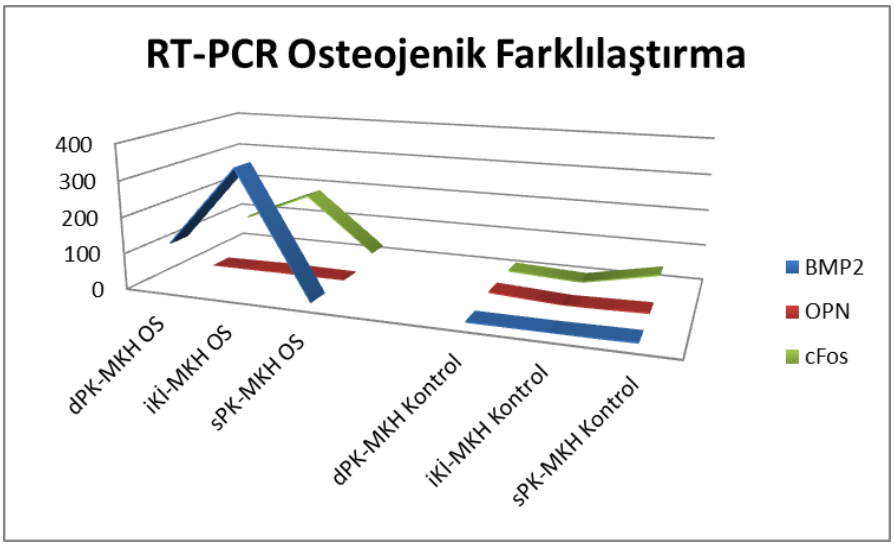
	ADFP	Leptin
dPK-MKH AD	13611,14	12,05589
iKİ-MKH AD	15207,55	0,518231
sPK-MKH AD	3015,817	0,99654
dPK-MKH Kontrol	398,9323	25,13571
iKİ-MKH Kontrol	1	1
sPK-MKH Kontrol	743,145	0,310823

	BMP2	OPN	cFos
dPK-MKH OS	123,2121	0,170558	98,58753
iKİ-MKH OS	344,0958	2,605692	181,0193
sPK-MKH OS	1,470867	0,136156	23,42537
dPK-MKH Kontrol	1,488817	13,05623	10,92832
iKİ-MKH Kontrol	1	1	1
sPK-MKH Kontrol	3,10229	5,265851	42,71488

Şekil 4.12. RT-PCR analizi sonucu iKİ-MKH, dPK-MKH ve sPK-MKH'lerin adipojenik ve osteojenik farklılaşma sonrası eksprese ettikleri gen düzeyleri



Şekil 4.13. iKİ-.MKH, sPk-MKH ve dPK-MKH'ler için adipojenik farklılaştırma sonrası RT-PCR analiz sonuçları

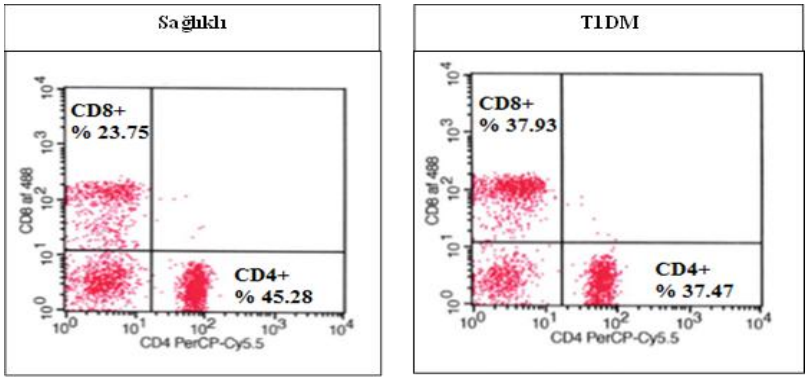


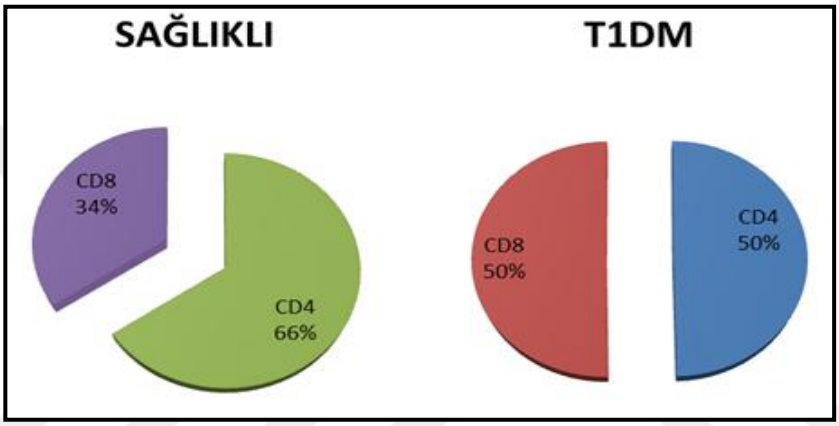
Şekil 4.14. iKİ-.MKH, sPk-MKH ve dPK-MKH'ler için osteojenik farklılaştırma sonrası RT-PCR analiz sonuçları

4.3. Sağlıklı ve Diyabetik T Lenfosit Hücre Aktivasyonların Karşılaştırılma Sonuçları

Akım sitometrisi aracılığıyla gerçekleştirilen T hücre aktivasyon analizinde sağlıklı gönüllülerin periferik kan ortak havuzundaki CD4+ (% 45,28) ve CD8+ (% 23,75) T lenfosit hücreleri arasındaki oranın yaklaşık 2:1 iken tip 1 DM'li gönüllülerin periferik kan ortak havuzundaki CD4+ (% 37,47) ve CD8+ (% 37,93) T lenfosit hücreleri arasındaki oranın 1:1 olduğu gözlendi (Şekil 4.15). Literatür bilgileri incelendiğinde sağlıklı bireylerde herhangi bir hastalık veya enfeksiyon gibi durumlar söz konusu olmadığı sürece CD4+/CD8+ T lenfosit oranı 2:1 iken T1DM'li bireylerin CD4+/CD8+ T lenfosit hücre oranlarının insülin tedavisine başlaması ile alakalıdır. Eğer birey insülin tedavisine başlamadan diğer bir deyiş ile tanı alınan dönemde bu oran 4:1'e kadar ulaşabilirken, insülin tedavisine başlamasıyla 1:1 oranına inmektedir. Bazı literatür çalışmalarında kanda bulunan glukoz seviyesinin düzenlenmesi ve süreklilik içerisinde uzun dönem kontrol altında tutulması durumunda bu oranın yükseldiği ve sağlıklı bireylerin sahip olduğu oran olan 2:1 ulaşabildikleri belirtilmiştir (al Sakkaf ve diğ., 1992; Bach, 2002; Bergman ve diğ., 2001; Curran ve diğ., 2019; Çelikbaş, 2005; Faustman ve diğ., 1991; Graser ve diğ., 2000; Orban ve diğ., 2014; Sağlam, 2004; Thomas ve diğ., 2007; Yılmaz ve Gül, 2021).

T hücre aktivasyonu analiz sonuçlarında sağlıklı ve diyabetik T hücreleri arasında ERK1/2, p38, STAT1, STAT3, STAT5 ve STAT6 sinyal yolakları karşılaştırıldı. Her bir kontrol ve deney grubu için 3 bağımsız test analiz edildi. Dışarıdan herhangi bir uyaran verilmeden periferik kan dolaşımında bulunan sağlıklı ve diyabetik gönüllülerin ortak periferik kan havuzlarındaki T hücreler ayrı ayrı analiz edilerek değerlendirildi. Sağlıklı ve diyabetik T hücre aktivite değerlerinin karşılaştırmasında ERK1/2 indükleme oranı 1:1, p38 oranı 2:1, STAT1 oranı 1:3, STAT3 oranı 1:4 ve STAT5 oranı yaklaşık 1:1 olarak bulundu. STAT6 değerlerinde ise diyabetik T hücre değeri sıfır iken sağlıklı T hücre değeri 0,13 olduğu gözlemlendi (Şekil 4.16). ERK1/2 (hücre dışından gelen sinyal ile düzenlenen kinaz) sinyal yolağı MAPK (mitojenle aktive olan protein kinaz) alt grubudur ve hücresel aktiviteler ile fizyolojik süreçlerinde görev alırlar. ERK1/2 genel olarak T hücrelerin canlılığını sağlamakla birlikte bazı durumlarda ise (TNF veya TNF'e bağlı apoptozu indükleyen ligand TRAIL) pro-apoptotik etkisi





Şekil 4.15. sPK ve dPK bulunan CD4+ ve CD8+ T lenfosit hücre oranları

bulunur (Doğan ve Güç, 2004; Goldstein ve Gabriel, 2005; Lu ve Xu, 2006; Saydam, 2005; Turanlıgil ve Uyanıkgil, 2010). Periferik kan dolaşımında bulunan her iki gruba ait T hücre canlılığının korunması için ERK1/2 yolağının aktivite değerlerinin aynı olduğu tespit edildi. p38 sinyal yolağı ise özellikle sitokinler ile aktif hale geçerek T hücrelerin farklılaşmasını veya bazı durumlarda apoptozu desteklediği bilinmektedir. p38 sinyal yolağı değerleri göz önüne alındığında diyabetik T hücrelerin sağlıklı T hücrelere göre 2 kat daha fazla farklılaşma potansiyeli göstermekte olduğu saptandı. Literatür çalışmalarında p38 sinyal yolağının özellikle otoimmün hastalıklar ile olan ilişkisi üzerine araştırmalar devam etmektedir. STAT (sinyal ileticisi ve transkripsiyon aktivatörü) proteinleri ise ilk olarak IFN aracılı gen transkripsiyonu (DNA'dan RNA'ya genetik bilginin aktarımı) ile tanımlanmış olsalar da çeşitli sitokin uyaranlarla aktif hale geçebilirler ve IFNgama'ya yanıt olarak anti-apoptotik yolların uyarılmasında görev alır. STAT1 değerleri diyabetik T hücrelerinde sağlıklı T hücrelerine kıyasla 3 kat daha fazla

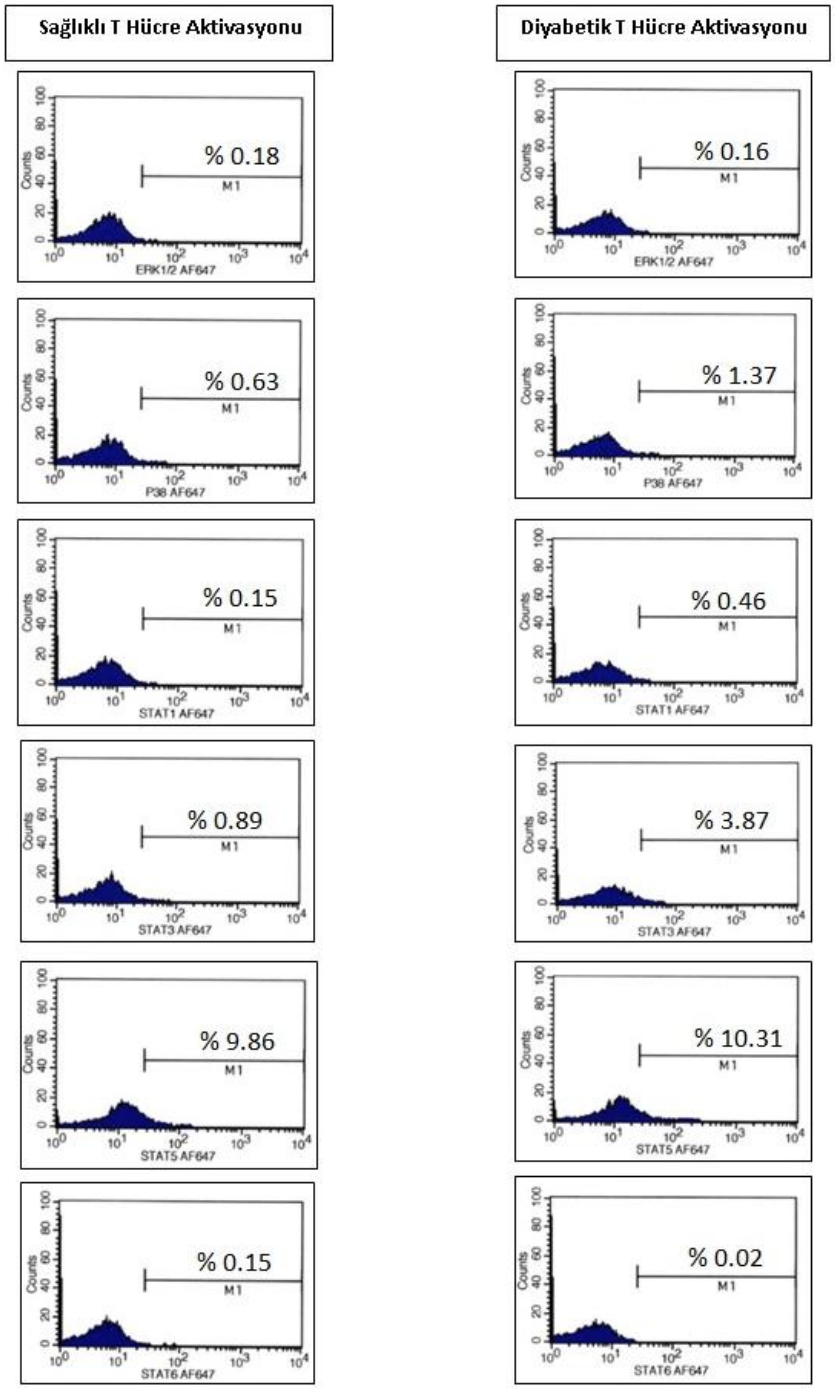
olduğunun gözlenmesi tip 1 DM'li gönüllülerde otoimmünite sebebiyle beta hücre hasarında yer alan IFNgama'ya karşılık anti-apoptotik yolların beta hücrelerini ve insülin salınımını korumak için aktifleştiği yönünde yorumlanabilir. STAT 3 ve STAT 5 değerlerinin diyabetik T hücrelerinde daha fazla görülmesi STAT yolağının sürekli aktivasyonu işaret etmektedir. Diyabetli T hücrelerin STAT 3 ve STAT 5 sürekli aktivasyonu ilk olarak malign transformasyonda rol aldıklarına ikinci olarak da beta hücre hasarı devamlılığından ötürü anti-apoptotik yolların uyarılması için aktifleştikleri sonucuna varılabilir. STAT 6 sinyal yolağı IL-4 (interlökin 4) sitokini ile ilişkilidir. IL-4 sitokini makrofaj ve Th2 (T yardımcı hücreler 2 – CD4 T lenfosit hücreler) tarafından salgılanır. IL-4 naif T yardımcı hücrelerinin Th2 hücrelerinin dönüşümünü ve antikor yanıtının oluşması ile sonuçlanan farklılaşmış Th2 hücre büyümesini teşvik ettiğini yanında IL-4 anti-enflamatuar medyatör olarak görev aldığı bildirilmiştir.27-31 Diyabetik T hücrelerde hiç ifade edilmemesi CD4+ T hücrelerde normal CD4+ T hücrelere göre farklı olduğunu ve anti-enflamatuar için gerekli görevleri yerine getiremediklerini göstermektedir.

4.4. β Hücre Döngüsü Kapasite Tayin Sonuçları

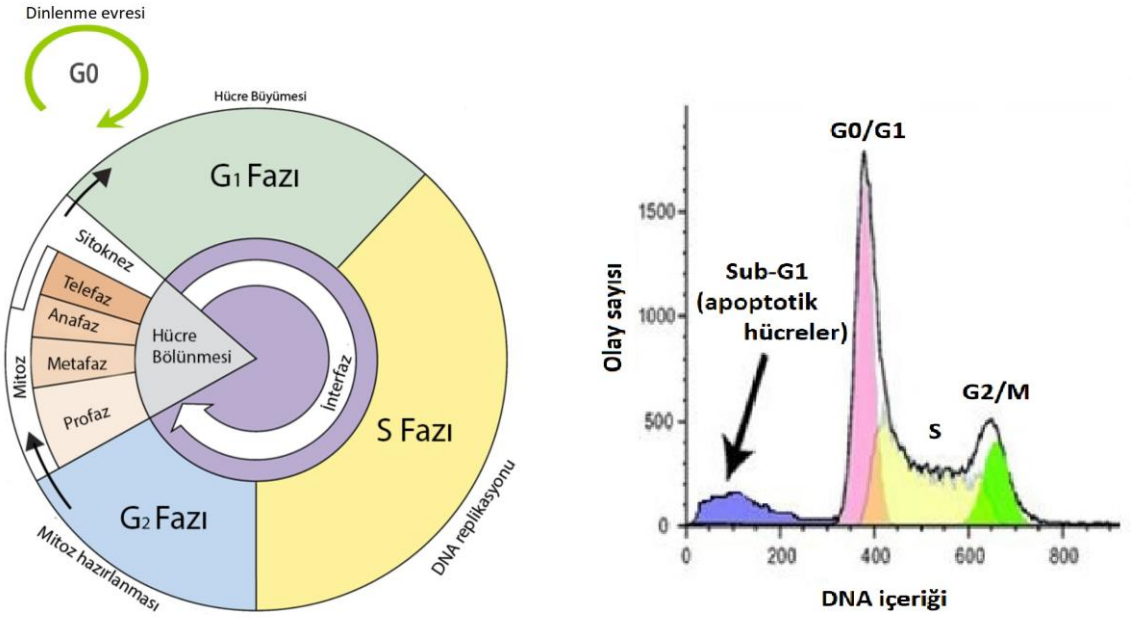
iKİ-MKH, sPK-MKH ve dPK-MKH'lerin 1.1.B4 hattı üzerinde diyabetik T hücrelerine karşı, diğer bir deyişle ortak kültür süresince çok katmanlı yapılara uygulanan *in vivo* koşullarda en yakın *in vitro* beta hücre destrüksiyonu açısından, koruyucu etkilerinin incelenmesi amacı ile ortak kültür öncesi beta hücrelerin, ortak kültür sonrası 1., 4. , 7., 15. ve 30. günlerde ise deney grupların hücre döngüsü tayinleri yapıldı (Şekil 4.17). Her bir kontrol ve deney grubu için 3 bağımsız test ile analiz edildi.

Kontrol grubunu oluşturan 1.1.B4 hücrelerin ortak kültür öncesi analiz tayini incelendiğinde, normal koşullarda hızlı çoğalan insan pankreatik hazır hücre hattı hücreleridir. Bu nedenle, hücrelerin çoğalmaya geçtiği G2 fazındaki hücre sayısı fazlayken apoptotik hücreleri ifade eden Sub-G1 fazında hücre sayısı bulunmamaktır. 1.1.B4 hücreleri ekildikleri hücre kabına tutunarak çoğalma eğilimi göstermekte olduğu anlaşılabilir. Hücre kültür ortamına herhangi bir hücreleri apoptoza yönlendirecek bir etmen eklenmediğinden ve hücrelerin kültür ortamında hem besiyer miktarının yeterli ve taze olması hem de hücrelerin her ne kadar hücre hattı hücreleri olsa da daha

yaşlanmamış diğer bir deyişle hücre kültür ortamında uzun süre muamele edilmemesi nedeniyle Sub-G1 fazının sıfır olmasını açıklamaktadır.



Şekil 4.16. Sağlıklı ve diyabetik periferik kanda bulunan T hücre aktivite durumlarının dışarıdan uyaran verilmeden sinyal yolakları üzerinden karşılaştırılma analizi



Şekil 4.17. Hücre döngüsü analiz (Cell Cycle Analysis) tayini ile apoptotik hücrelerin görüldüğü Sub-G1, DNA sentezine hazırlık evresinin görüldüğü G0/G1, DNA replikasyonunun görüldüğü S ve hücrelerin çoğalmalarının görüldüğü G2/M evrelerini yüzdelik oranlar ile değerlendirilmesini sağlamaktadır (URL-32; URL-33; URL-34)

Kontrol grubunu oluşturan 1.1.B4 hücrelerin ortak kültür öncesi analiz tayini incelendiğinde, normal koşullarda hızlı çoğalan insan pankreatik hazır hücre hattı hücreleridir. Bu nedenle, hücrelerin çoğalmaya geçtiği G2 fazındaki hücre sayısı fazlayken apoptotik hücreleri ifade eden Sub-G1 fazında hücre sayısı bulunmamaktır. 1.1.B4 hücreleri ekildikleri hücre kabına tutunarak çoğalma eğilimi göstermekte olduğu anlaşılabilir. Hücre kültür ortamına herhangi bir hücreleri apoptoza yönlendirecek bir etmen eklenmediğinden ve hücrelerin kültür ortamında hem besiyer miktarının yeterli ve taze olması hem de hücrelerin her ne kadar hücre hattı hücreleri olsa da daha yaşlanmamış diğer bir deyişle hücre kültür ortamında uzun süre muamele edilmemesi nedeniyle Sub-G1 fazının sıfır olmasını açıklamaktadır. Deney grupları ve analiz günleri karşılaştırıldığında ise beta hücre döngü analiz sonuçlarına göre iKİ-MKH'lerin diyabetik T lenfosit hücreleri ile ortak kültüründe ise en yüksek apoptotik hücre düzeyleri 4. ve 7. günde saptanırken 15. ve 30. günlerde bu oranın düştüğü tespit edildi. iKİ-MKH'lerin deney gruplarındaki en düşük orandaki apoptoz seviyesi ise ilk gün analizlerinde saptandı. sPK-MKH ile ortak kültür incelendiğinde en yüksek apoptotik hücre oranı 15. gün tespit edilirken en düşük apoptotik hücre düzeyi ise ilk gün dışında 4. günde rastlanmıştır. otuzuncu günde tespit edilen apoptotik oran ise 15. gün ile

karşılaştırıldığında ise 30. gün apoptotik hücre düzeyinde düşüş olduğu bulundu. Son deney grubunu oluşturan dPK-MKH'leri incelendiğinde ise en yüksek apoptotik hücre düzeyine 7. gün rastlanırken en düşük düzeye ise ilk gün dışında 4. ve 30. günde tespit edildi. Üç deney grubu kendi aralarında değerlendirildiğinde otuz gün içerisinde apoptotik oran ortalamasında en düşük sPK-MKH'lerde, en yüksek oran ise şaşırtıcı bir şekilde iKİ-MKH'lerinde tespit edildi. Dolayısıyla hem tüm deney grupları arasında hem de PK-MKH deney grupları arasında beta hücreleri koruma özelliği açısından hücre döngüsü analiz tayininde sPK-MKH'lerin öne çıktıkları belirlendi ve beta hücrelerini koruma açısıdan sPK-MKH'lerinin hemen arkasından ise dPK-MKH'lerin gelmekte olduğu görüldü. Beta hücre döngüsü tayininde planan deneylerde periferik kan kaynaklı mezenkimal hücrelerin kemik iliği kaynaklı mezenkimal hücrelere kıyasla daha iyi seviyede koruyabildiği gözlemlendi. Ortak kültür sonrası deney gruplarında hücre çoğalımı kıyaslandığında ise iKİ-MKH'lerinde düşüş gözlemlenirken PK-MKH'lerinde artış gözlemlendi. Hücre döngüsü analiz sonuçlarında ise diyabetik T hücreleri ile oluşturulan ortak kültür sonucu iKİ-MKH'lerin beta hücreleri sPK ve dPK-MKH'lere kıyasla daha az koruma özelliğine sahip olduğu sonucuna varıldı. Diğer bir deyiş ile diyabetik T hücreleri iKİ-MKH'leri ile ortak kültüre alınan 1.1.B4 hücrelerine diğer MKH çeşitlerine kıyasla daha yüksek oranda başarılı ataklarda bulunduğu tespit edildi.

4.5. Çok Katmanlı Yapının Oluşturulması

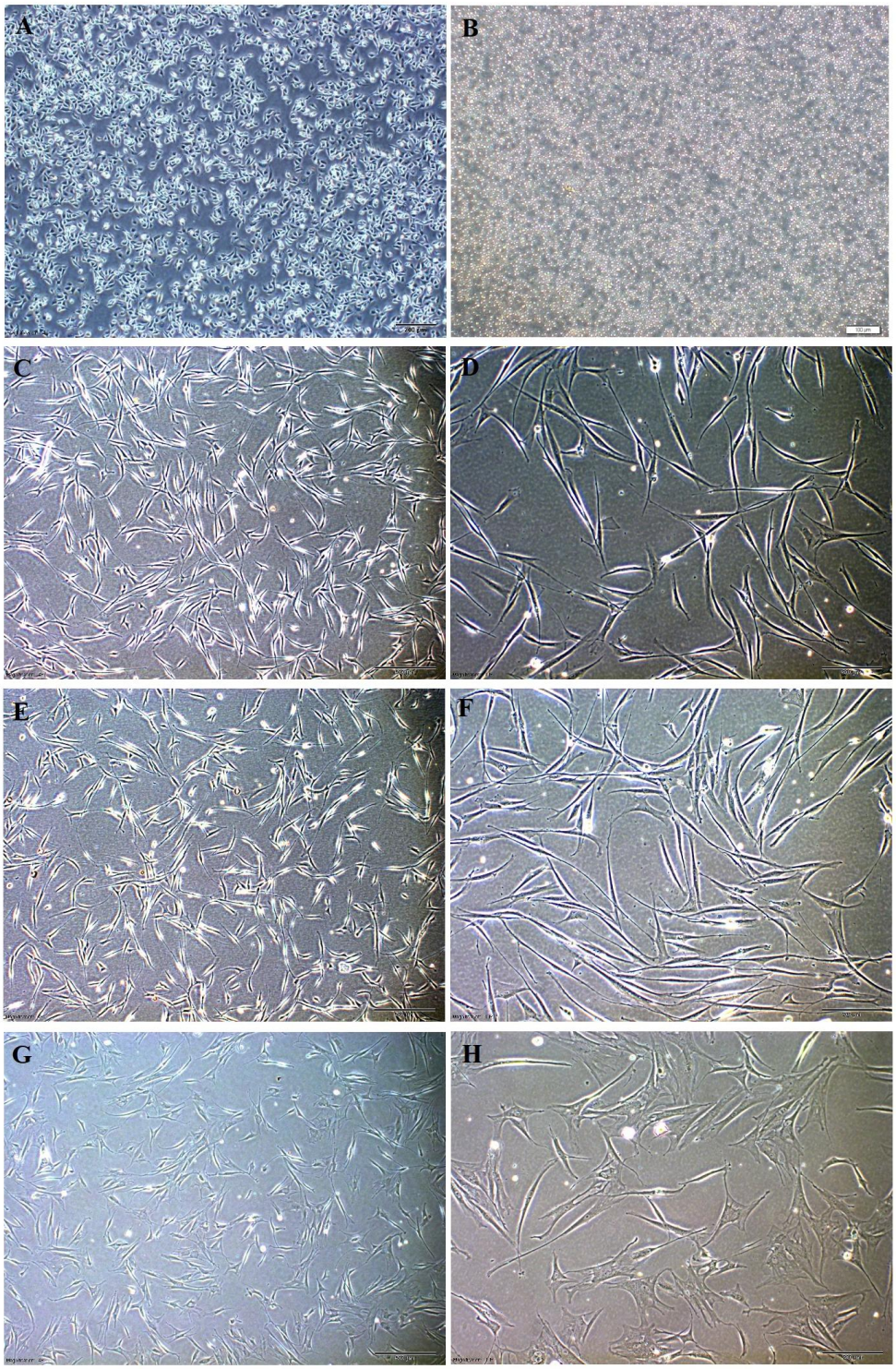
Hücre kültür ortamında oluşturulan çok katmanlı yapı planlanan ortak kültür deney grupları ile beraber *in vitro* koşullarda otuz gün boyunca kültüre edildi. Çok katmanlı yapının içerisinde en iç kısmında beta hücreleri, beta hücreleri üzerinde ilk katman, ilk katman üzerinde mezenkimal kök hücreler, mezenkimal kök hücrelerin üzerinde ikinci katman ve ikinci katman içerisinde CTLA-4 bulunmakla beraber deney grupları besiyerleri içerisinde ise resveratrol eklendi.Çok katmanlı yapı içerisinde insan kemik iliği kaynaklı MKH, sağlıklı periferik kan kaynaklı MKH veya diyabetik periferik kan kaynaklı MKH'ler kullanıldı. Çok katman yapım aşaması sonrası ortak kültüre diyabetik mononükleer hücreler ve RSVL ile alındı (Şekil 4.18).

Tablo 4.1. iKİ, sPK, dPK-MKH'lerinin ve diyabetik T hücrelerin ortak kültür öncesi ve sonrası beta hücreleri üzerindeki hünce döngü analiz tayin tablosu

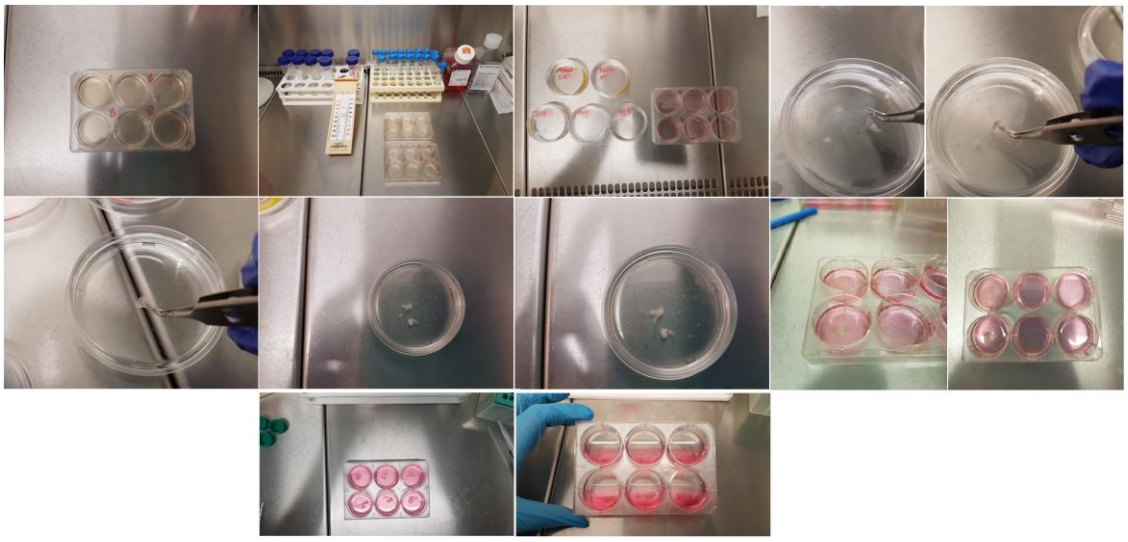
Ortak Kültür Öncesi Beta Hücresi	**Ortak Kültür Sonrası** Beta Hücreleri					
	Gruplar	**1.Gün**	**4.Gün**	**7.Gün**	**15.Gün**	**30.Gün**
G1: %33 S: %9 G2: %58 Sub-G1: %0	iKİ-MKH + Diyabetik T Hücresi	G1:%60 S:%33 G2:%5 Sub-G1:%2	G1:%78 S:%4 G2:%3 Sub-G1:%15	G1:%69 S:%14 G2:%4 Sub-G1:%13	G1:%72 S:%12 G2:%5 Sub-G1:%11	G1:%69 S: %11 G2: % 4 Sub-G1:%8
	sPK-MKH+ Diyabetik T Hücresi	G1:%87 S:%8 G2:%5 Sub-G1:%0	G1: %72 S: %15 G2: %10 Sub-G1: %3	G1: %54 S: %19 G2: %20 Sub-G1: %7	G1: % 63 S: %10 G2: %14 Sub-G1:%13	G1: % 65 S: %18 G2: %8 Sub-G1:%9
	dPK-MKH+ Diyabetik T Hücresi	G1: %82 S: %15 G2: %3 Sub-G1:%0	G1: %85 S: %2 G2: %6 Sub-G1: %7	G1: %69 S: %10 G2: %9 Sub-G1:%12	G1: %68 S: %10 G2: %11 Sub-G1:%11	G1: %73 S: %15 G2: %5 Sub-G1:%7

1.1.B4 hücreleri gerekli miktarda çoğaltıldıktan sonra kaldırılarak $1.5x10^6$ olacak şekilde önce düşük viskozite özellikli %2'lik aljinat çözeltisine daha sonra 10 mM $BaCl_2$ içerisinde 5 dakika bekletildi. Elde edilen tabaka 3 defa PBS ile yıkandı. Daha sonra her bir yapının yüzeyinin $3x10^6$ iKİ-MKH, sPK-MKH ve dPK-MKH ile tamamen kaplanılması için bir hafta boyunca hücre kültür koşullarında inkübatörde bekletildi. Mezenkimal kök hücrelerin yüzeyi kaplama aşamasından sonra ilk olarak CTLA-4 içeren düşük viskoziteli aljinat çözeltisi daha sonra ise $BaCl_2$ içersine konularak bekletildi. PBS ile yıkama işlemi sonrası tamamlanan çok katmanlı yapılar T175'lere alınarak ortak kültür sonrası analiz basamaklarına geçildi (Şekil 4.19).

Hücre kültürüne alınan çok katmanlı yapıların görüntüleri incelendiğinde en dış katmanlarının iKİ-MKH, sPk-MKH ve dPK-MKH'leri ile tamamen kaplandığı, iç katmanında bulunan 1.1.B4 hücrelerin ise hücre kültür besiyerinde yüzer pozisyonda kümeleşerek "pseudoislets" olarak adlandırılan yalancı adacık kümelerini oluşturdukları saptandı (Acarregui ve diğ., 2018; Barrientos ve diğ., 2009; Bartolomé ve diğ., 2022; Friedlander ve diğ., 2021; Kojima, 2014; Mallorqui ve diğ., 2021; Salg ve diğ., 2022; Sokolowska ve diğ., 2022; Wieland ve diğ., 2021; Zhi ve diğ., 2010).

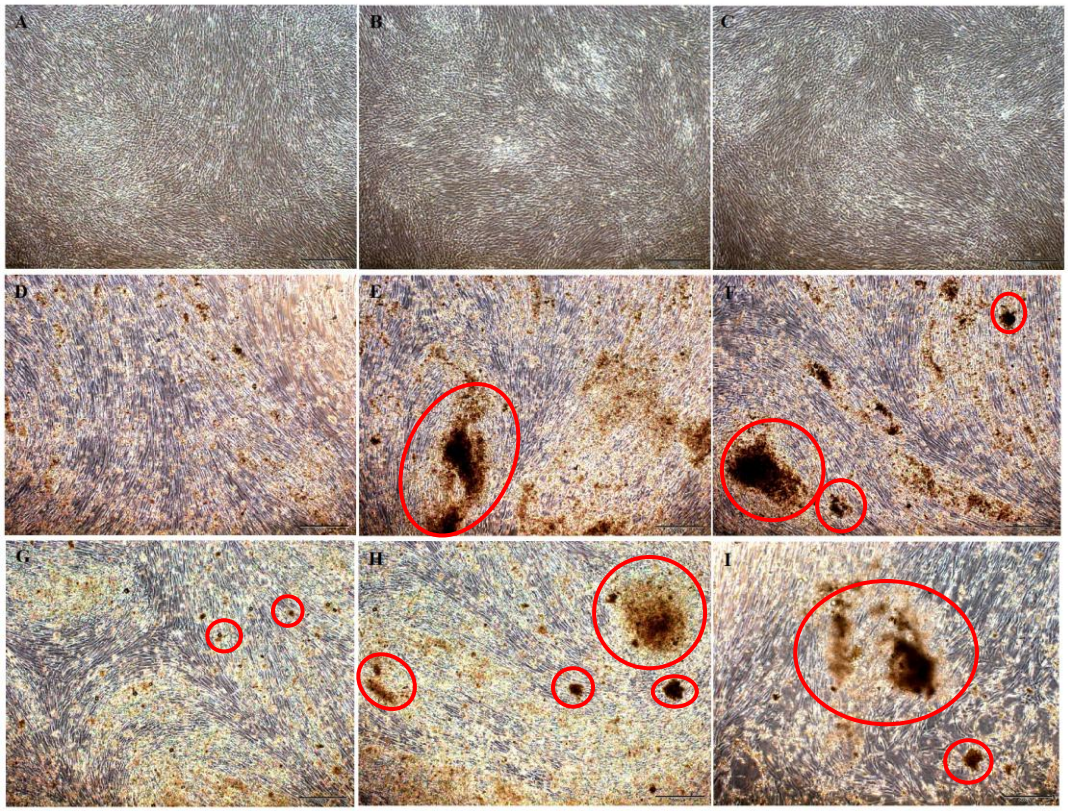


Şekil 4.18. Çok katmanlı yapının içerisinde ve ortak kültüre berber alınan hücrelerin görüntüleri (Olympus, IX71). A: 1.1B4 hücre kültür görüntüsü (ölçek çubuğu 200 µm), B: dMNH hücre kültür görüntüsü (ölçek çubuğu 100 µm), C,E ve G: sırasıyla iKİ-MKH, sPK-MKH ve dPK-MKH hücre kültür görüntüleri (ölçek çubuğu 500 µm), D,F ve H: sırasıyla iKİ-MKH, sPK-MKH ve dPK-MKH hücre kültür görüntüleri (ölçek çubuğu 200 µm)



Şekil 4.19. Çok katmanlı yapının in vitro koşullarda yapım aşamaları

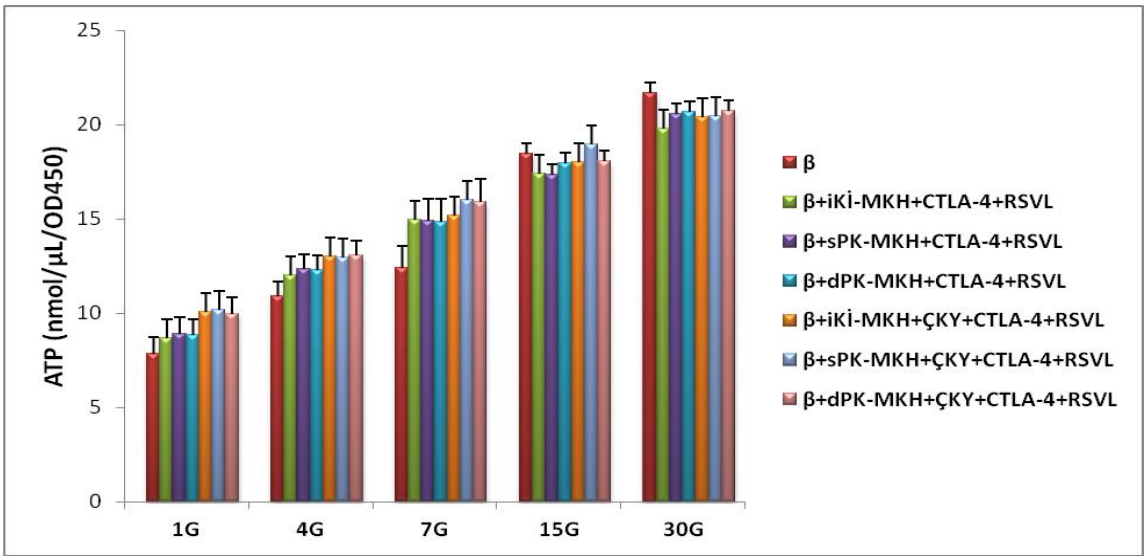
Yalancı adacık kümeleri yoğunlukla PK-MKH'leri ile yapılan çok katmanlı yapılarda büyük boyutlarda gözlemlenirken iKİ-MKH'lerle yapılan çok katmanlı yapılarda ise boyut olarak çok daha ufak kümeler halinde oldukları gözlendi (Şekil 4.20).



Şekil 4.20. Oluşturulan çok katmanlı yapının katmanlarının hücre kültür görüntüleri (Olympus, IX71) (ölçek çubuğu 500 µm). A,D ve G: iKİ-MKH'li ÇKE görüntüleri, B,E ve H: sPK-MKH'li ÇKE görüntüleri, C,F ve I: dPK-MKH'li ÇKE görüntüleri

4.6. ATP Sentez Tayin Analiz Sonuçları

Çok katmanlı yapıların bulunduğu hücre kültürü kaplarından 1., 4., 7., 15. ve 30. günlerde alınan örneklerin süpernatantları, kit içerisinde bulunan kullanım klavuzundaki prosedür basamakları uygulanılarak elde edildi. Çok katmanlı yapıların işlevselliği ve içerisinde bulunan hücrelerin canlılığı konusunda bilgi edinmek amacıyla elde edilen örnekler 96 kuyucuklu plaka içerisine yerleştirilerek 405 nm dalga boyunda mikroplaka okuyucuda okutuldu (Şekil 4.21). Her kontrol ve deney grubu için beş bağımsız test analiz edildi.



Şekil 4.21. Hücre kültürü koşullarında (*in vitro*) kontrol ve deney gruplarının ATP sentez tayin analiz sonuçları ($p<0.05$)

ATP analiz sonuçları gün temelli incelendiğinde tüm kontrol ve deney grupları 15. gün (15G) ve 30. günde (30G) en yüksek seviyede ATP sentezlediği belirlendi. Çift katlı enkapsülasyonlu (ÇKE) yapıların her bir deney grubunda en az ÇKE'siz gruplar kadar verimli olduğu saptandı. Özellikle deneyin en kritik günleri arasında bulunan 15G ve 30G'ler de bile ÇKE'li deney gruplarının kontrol grupları içerisinde yer alan sadece β hücre ve ÇKE'siz gruplara çok yakın değerlerde ATP sentez düzeyine sahip olmaları *in vitro* koşullarda bu çok katmanlı yapıların en az sadece β veya çok katmanlı yapısız deney gruplarındaki düzeylerde hücrelerin işlevselliğini ve canlılığını koruyabilmeleri adına besin ve oksijenin iç-dış ortam arasında giriş ve çıkışların gerçekleştirerek devamlılıklarını sürdürebildikleri tespit edildi. Ayrıca periferik kan kaynaklı MKH'lerle oluşturulan çok katmanlı yapıların sentezledikleri ATP düzeyi yine insan kemik iliği

kaynaklı MKH'lerle oluşturulan çok katmanlı yapılara nazaran çok büyük farklılık olmamakla beraber istatistiksel olarak anlamlı farklılıklarla daha yüksek seviyelerde olması hem MKH'lerle oluşturulan çok katmanlı yapılar arasında periferik kan kaynaklı MKH'lerin de hücre canlılık ve işlevselliği kemik iliği kaynaklı MKH'ler kadar sağlayabildikleri tespit edildi Periferik kan kaynaklı MKH'lerle oluşturulan sağlıklı ve diyabetik deney grupları arasındaki kıyaslama da ise diyabetik MKH'lerin 1., 7. ve 15. günler dışında yine en az sağlıklı periferik kan kaynaklı MKH'ler kadar sağlayabildikleri saptandı. 1. ve 15. günlerde dPK-MKH ve sPK-MKH büyük seviye farklılıkları olmamakla beraber, 7. gün verilerinde yaklaşık, 4. ve 15. günlerde ise iKİ-MKH'lerle ise çok yakın değerlere rastlandı. dPK-MKH'lerin 7. gününde iKİ-MKH'lerden, deneyde en kritik gün olan 30. gün verilerinde ise hem iKİ-MKH hem de sPK-MKH'li çok katmanlı yapılardan daha fazla ATP sentezlediği gözlemlendi.

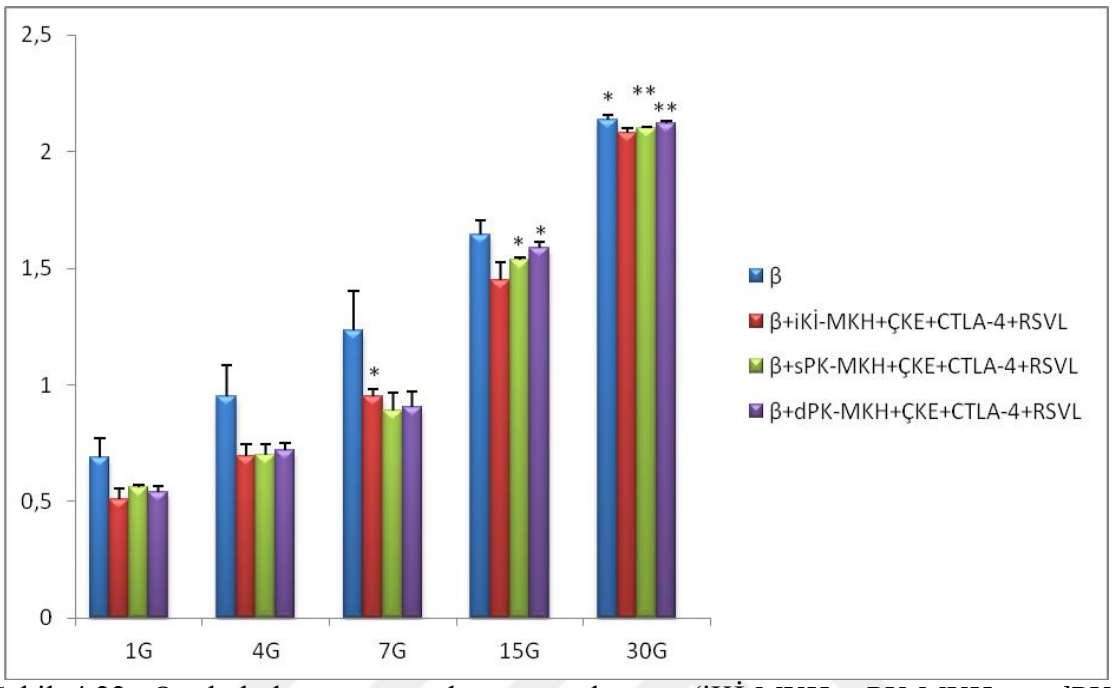
4.7. Ortak Kültür Sonrası Analizler

Çok katmanlı yapı deney grupları *in vitro* koşullarda *in vivo*'ya en yakın T1DM patogenez ortamının sağlanması açısından diyabetik MNH'ler, L-glumatin'li RPMI-1640, %10 FBS, %1 antibiyotik ve 10 μM/ml resveratrol içeren besiyer ile ortak kültüre alındı. Ortak kültür sonrası 1., 4., 7., 15. ve 30. günlerde gerekli miktarlarda örnekler alınarak her deney başına beş tekrar ile gerekli analizler yapıldı. Standart hata (±SD) göz önünde bulundurularak sonuçlar değerlendirilmesi amacıyla veriler uygun analiz yöntemi seçilerek değerlendirildi. Çalışma ve kontrol grupları arasındaki farklar için anlamlılık düzeyi $p>0.05$ olanlar istatistiksel olarak sınırda anlamlı, $p<0.05$ olanlar istatistiksel olarak anlamlı, $p<0.01$ olanlar istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı, $p<0.001$ olanlar istatistiksel olarak çok yüksek düzeyde anlamlı sayıldı.

4.7.1. WST-1 (Water Soluble Tetrazolium-1) Analiz Sonuçları

Kolorometrik yöntemlerden arasında yer alan WST-1 analizi kontrol ve deney grupları üzerinde birinci, dördüncü, yedinci, on beşinci ve otuzuncu günlerde çok katmanlı yapılar içerisinde bulunan hücrelerin canlılığı hakkında bilgi edinmek amacıyla gerçekleştirildi (Şekil 4.22). Her bir kontrol ve deney grubu beş kez tekrarlandı. Çalışma ve kontrol grupları arasındaki farklar için anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olanlar

istatistiksel olarak anlamlı, $p<0.01$ olanlar istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı sayıldı.



Şekil 4.22. Ortak kültür sonrası deney gruplarının (iKİ-MKH, sPK-MKH ve dPK-MKH'leri içeren ÇKE yapı + CTLA-4 + RSVL) birinci, dördüncü, yedinci, on beşinci ve otuzuncu günlerdeki WST-1 analiz verileri sonucu canlılık oranlarının grafik görüntüsü ($p<0.05$, * $p<0.01$, ** $p<0.001$)

WST-1 analiz verileri sonucu çok katmanlı yapıların içerdiği hücrelerin canlılık oranları incelendiğinde en yüksek canlılık verileri β hücre kontrol grubunda saptandı. Her bir kontrol ve deney gruplarının en verimli canlılık düzeyleri otuzuncu gün elde edilirken 15. ve 30. günlerdeki veriler kıyaslandığında iKİ-MKH barındıran ÇKE'li deney grubu en az verimlilikte canlılık oranı sergilediği gözlemlendi. 1., 4. ve 7. günlerdeki veriler incelendiğinde PK-MKH'li deney grupları kontrol gruplarına yakın veriler ifade edildiği saptandı. WST-1 canlılık tayinin ÇKE'nin canlılığı açısından en kritik günleri olan 15. ve 30. günlerdeki veriler aracılığıyla PK-MKH'li deney gruplarının iKİ-MKH'li yapılardan daha yüksek düzeylerde canlılık saptandı. PK-MKH grupları kendi aralarında kıyaslandığıda da diyabetik grup daha verimli seviyelerde canlılık oranları ifade ettikleri gözlemlendi. WST-1 analizi aracılıyla gerçekleştirilen çok katmanlı yapıların canlılık oranları göz önüne alındığında PK-MKH'lerin deney süresi ilerledikçe dMNH'lerin eklenmediği kontrol gruplarına verimlilik değerleri açısından yaklaşmaları, PK-MKH'lerin etken faktörlere rağmen en az iKİ-MKH ve kontrol grupları kadar

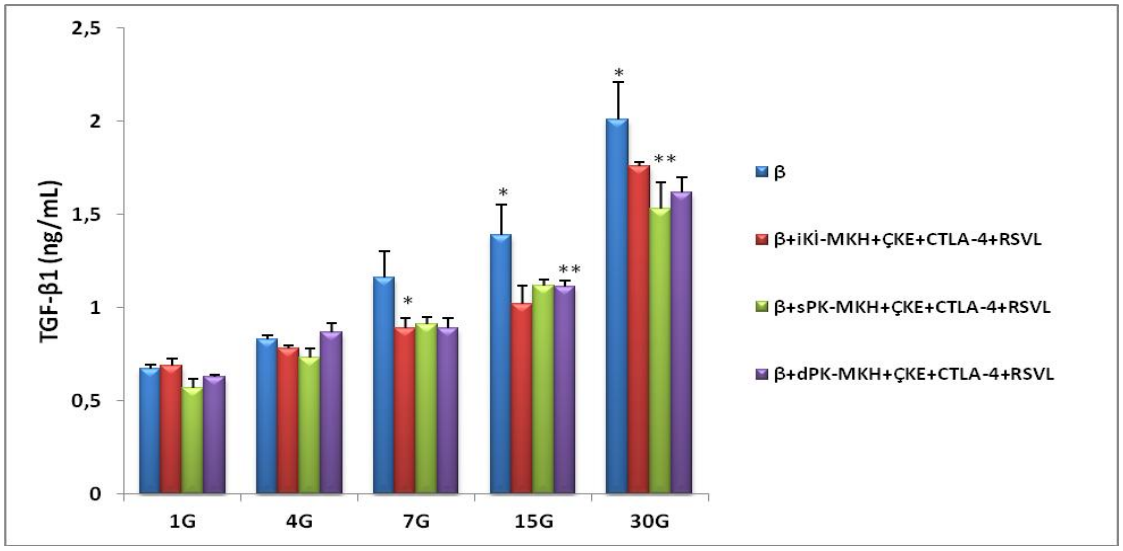
yüksek seviyelerde canlılık oranı sergileyebildiklerini dolayısıyla hücrelerin canlılıklarını destekleme potansiyeline sahip olduklarını ifade etmektedir. Aynı zamanda bu değerler vasıtasıyla çok katmanlı yapının iç-dış ortamda oksijen ve besin alışverişinin sağlanabildiğini ve dMNH'lerden koruyabilme potansiyeline sahip olduklarını göstermektedir. PK-MKH'lerin kendi aralarındaki değerlendirmelerinde ise diyabetik deney grubunun sağlıklı deney grubuna kıyasla daha iyi sonuçlar elde edilmesi diyabetik PK-MKH'li ÇKE yapılarında yardımcı faktörleri göz ardı etmeden (CTLA-4 ve RSVL) en az diğer çok katmanlı yapılar kadar yüksek potansiyel barındırdıklarını göstermektedir.

4.7.2. ELİSA Analiz Sonuçları

Çok katmanlı yapıların ortak kültür sonrası 1., 4., 7., 15. ve 30. günlerde ortama salgıladıkları TGF-β1 (Şekil 4.23), TNF-α (Şekil 4.24), IL-2 (Şekil 4.25), IL-12 (Şekil 4.26), IL-1β (Şekil 4.27) ve IFNγ (Şekil 4.28) miktarları ELİSA metoduyla belirlendi. Her bir kontrol ve deney grubu için beş tekrar yapıldı. Standart hata (±SD) göz önünde bulundurularak sonuçlar değerlendirilmesi amacıyla veriler uygun analiz yöntemi seçilerek değerlendirildi. Çalışma ve kontrol grupları arasındaki farklar için anlamlılık düzeyi $p>0.05$ olanlar istatistiksel olarak sınırda anlamlı, $p<0.05$ olanlar istatistiksel olarak anlamlı, $p<0.01$ olanlar istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı, $p<0.001$ olanlar istatistiksel olarak çok yüksek düzeyde anlamlı sayıldı.

Dönüştürücü büyüme faktörü-beta 1 (Transforming growth factor- β1) olan TGF-β1 bir proteindir ve genel olarak hücrelerde, büyümelerinden çoğalımlarına, farklılaşmalarından apoptoz gibi önemli hücresel fonksiyonelliklerin geliştiği sırada salgılanarak bu mekanizmaların kontrolünde yer alan işlevsel bir sitokindir ve hem uyarımda hem de inhibe etmekte yer alır. T1DM'de anti-inflamatuar olarak görev almaktadır. Literatür bilgileri ışığında yapılan çalışmalarda özellikle hiperglisemi gibi apoptotik uyarımlarda TGF-β1 seviyesi arttığı ve tedavi uygulanması durumda azaldığı tespit edilmiştir (Bonnet ve diğ., 2003; Cruz ve diğ., 2013; Li ve diğ., 2016; Limone ve diğ., 2002; Ziqiang ve diğ., 2016).

ELİSA analizleri aracılığıyla elde edilen verileri, hem WST-1 hem de insülin salınım analiz sonuçlarıyla bir arada değerlendirildiğinde deneyin ilk günden (1. günününden)

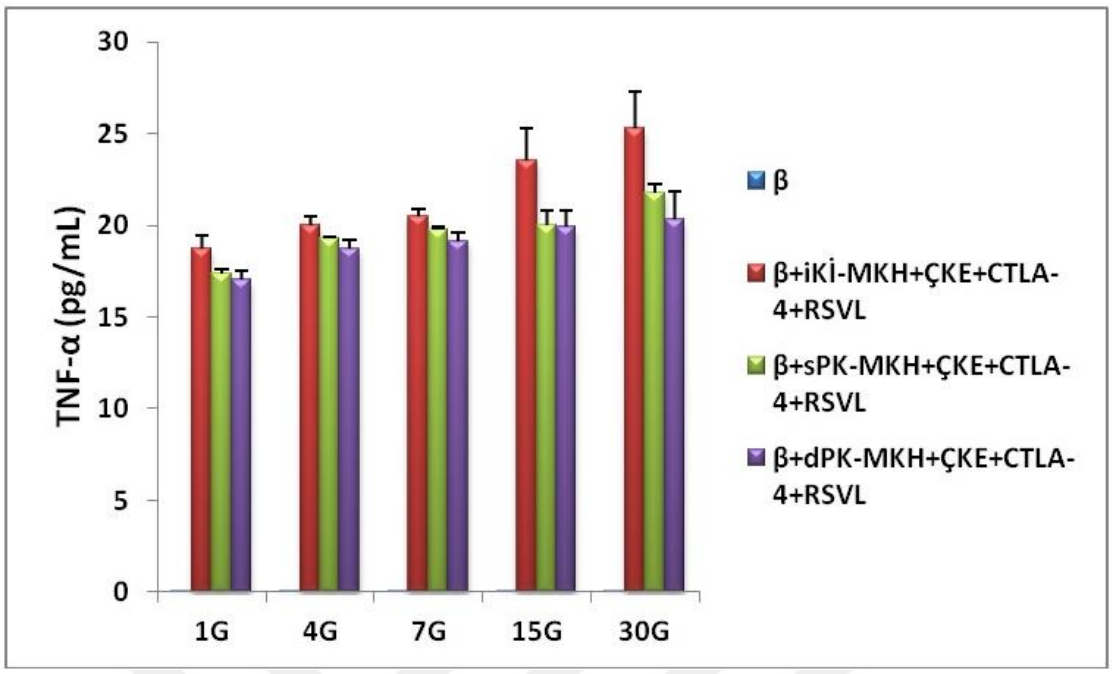


Şekil 4.23. Ortak kültür sonrası birinci, dördüncü, yedinci, on beşinci ve otuzuncu günlerde kontrol ve deney gruplarınından salınan TGF-β1 düzeyleri ($p<0.05$, * $p<0.01$, ** $p<0.001$)

itibaren sonuncu gününe kadar (30. güne kadar) bir artış söz konusudur. Kontrol grubu olan beta hücrelerin hücre kültür kabında herhangi bir etkenli besiyerin bulunmaması ve düzenli artışı elde edilen oranların hücrelerin proliferasyonu ile doğru orantılı olduğunu ifade etmektedir ve TGF-β1 apoptotik uyarımlarda veya inhibe etmekte de olan görevleri nedeniyle akla öncelikle *in vitro* koşullardaki hücrelerin deney süresince konfluensi oranı nedeniyle hücrelerin apoptoza yönelmesi dışında başka bir apoptotik yönelime sebebiyet verebilecek unsurun olmadığını göstermektedir. Fakat deney süresince konfluensi nedeniyle hücre ölümü mikroskobik görüntülemede gözlenmemiş olunması, WST-1 gibi hücrelerin ve ÇKE içerisindeki hücrelerin canlılık oranları göz önüne alındığında elde edilen TGF-β1 verilerin hücrelerin büyümesinde ve proliferasyonunda yer alan önemli bir sitokin olması diğer analizlerle bir araya geldiğinde çok katmanlı yapıların içerisindeki hücrelerin çoğalımlarına ve dolayısıyla canlılıklarına yorumlanabilir. Alınan sonuçlar ışığında 30 günlük deney süresince kontrol grubunda en yüksek düzey gözlemlenirken deney grupları arasında son deney günü olan otuzuncu güne kadar anlamlı ilerleme kaydedilirken kendi aralarındaki değerlerde anlamlı farklılıklara rastlanmadı. Son deney gününde elde edilen verilerde ise PK-MKH'lerin iKİ-MKH'lere kıyasla yakın olmaları ve kendi aralarında ise diyabetik grubun sağlıklı gruba nazaran daha verimli çıkan verileri ÇKE'li yapıların içerisinde bulunan hücreleri diyabetik T lenfosit hücrelerden koruyarak proliferasyon

gibi hücrelerin kendi doğalarını devam ettirmede diğer gruplar kadar başarılı olduğunu göstermektedir.

Tümör Nekrozis Faktör-Alfa olarak tanınan TNF-α sitokini tümör dokularında nekroza neden olması nedeniyle bu isim ile adlandırılmaktadır. TNF-α, T ve B lenfosit hücreler, makrofajlar, doğal öldürücü hücreler, monosit gibi hücrelerin oluşturduğu immün sistem hücreleri tarafından salgılanan bir sitokin türü olup yine T lenfosit ve makrofaj hücreleri aracılı inflamatuar ve immün yanıtlarda görev aldığı bilinmektedir (Dursun ve diğ., 2007; Malik ve diğ., 2018). TNF-α uyarıcıları arasında başta yine kendisi olmak üzere LPS, enfekte eritrositler, parazitler, virüsler, mantarlar, D_3 vitamini, IL-2, GM-CSF (makrofaj koloni stimüle edici faktör) ve IFNγ gelmektedir (Farrar ve Schreiber, 1993; Grau ve diğ., 1993). TNF-α hücreler üzerinde toplam üç ana başlık altında toparlanır. Bunlar arasında bu sitokine karşı direnç gösteren hücreler, sitokinin neden olduğu sitotoksitesinden etkilenen ve sitokinin hücrenin ölümüne aracı olması yer alır (Black ve diğ., 1997; Vandenabeele ve diğ., 1995). TNF-α hakkında diğer önemli bir bilgi ise bu sitokinin sadece uyarılmış T lenfosit hücreler üzerinde etki alanına sahip olmasıdır. Bu durumun sebebi ise uyarılmamış olan T lenfosit hücrelerde bu sitokinin reseptörlerini taşımamasıdır (Black ve diğ., 1997; Dursun ve diğ., 2007; Malik ve diğ., 2018; Vandenabeele ve diğ., 1995). IL-1, IL-2 ile beraber IL-7'nin aynı ortamda bulunması durumunda TNF-α edinilmiş bağışıklık sistem hücreleri arasında yer alan T ve B lenfosit hücrelerinin olgunlaşmasında görev aldığı bilinmektedir (Black ve diğ., 1997; Dursun ve diğ., 2007; Malik ve diğ., 2018; Vandenabeele ve diğ., 1995). TNF-α'nın diyabet hakkında en önemli bilgisi, bu sitokinin etkileyebildiği tek normal hücrelerin pankreatik beta hücrelerinin olmasıdır. Fakat bu sitotoksik etkisinin ortaya çıkması için hem IL-1'in hem de IFNγ'nın bulunması gereklidir. Bu nedenle son dönemlerde T1DM patogenezi ile ilgili (özellikle insülinin aracılık ettiği glukozların adipositlerde taşınması ve hiperglisemide önemli rolü bulunan GLUT4'ün translokasyonunda azalmaya neden olması) araştırmalarda son derece önemli bir sitokini olduğu saptanmıştır (Black ve diğ., 1997; Dursun ve diğ., 2007; Farrar ve Schreiber, 1993; Grau ve diğ., 1993; Malik ve diğ., 2018; Piquet, 1991; Vandenabeele ve diğ., 1995; Vasalli, 1992). Fakat TNF-α sadece patogenez ve inflamasyonlarda değil aynı zamanda yara iyileşmelerinde ve doku onarımlarında da yer almakta olduğu bilinmektedir (Black ve diğ., 1997; Dursun ve diğ., 2007; Malik ve diğ., 2018).

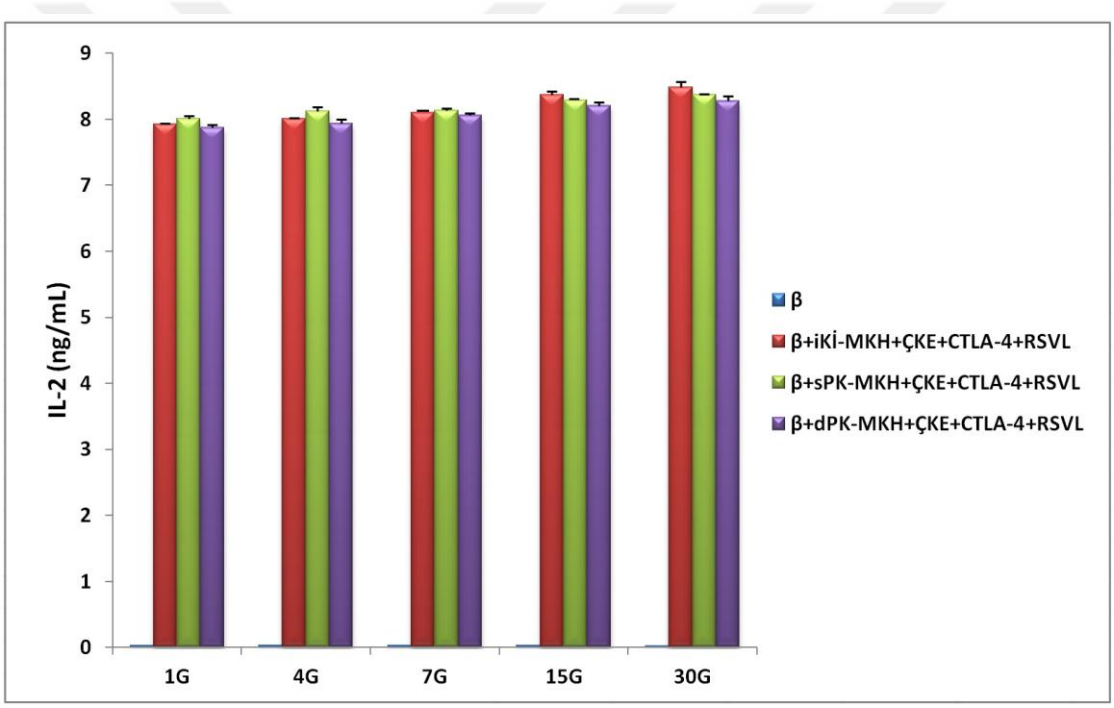


Şekil 4.24. Ortak kültür sonrası birinci, dördüncü, yedinci, on beşinci ve otuzuncu günlerde kontrol ve deney gruplarınından salınan TNF-α düzeyleri ($p<0.05$)

T ve B lenfosit hücreler, makrofajlar, doğal öldürücü hücreler ve monosit gibi hücrelerden sentezlenen TNF-α, kültür ortamına dMNH'lerden sentezlendiği ve en yüksek seviyelerin 15. ve 30. günlerde iKİ-MKH'li çok katmanlı yapıların bulunduğu ortak kültür deney grubundan elde edildiği gözlemlendi. T1DM patogenezinde TNF-α beta hücre destrüksiyonunda yer alan temel sitokinler arasındadır. Kontrol grubunda yer alan beta hücrelerin besiyerlerinde diyabetik MNH'lerin olmayışı göz önünde tutularak deney grupları gün olarak kıyaslandıklarında çok katmanlı yapıların 1.1.B4 hücrelerini korumada gerekli görevlerini yerine getirdikleri ifade edilebilir. PK-MKH barındıran çok katmanlı yapıların kendi aralarında incelendiğinde ise dPK-MKH'li yapıların pankreatik beta hücrelerini korumada verimli bir performan potansiyeline sahip olduğu sonucuna ulaşılabilir.

İnterlökin 2 (IL-2) insan vücudunda doğal olarak bulunan bir proteindir ve hem parakrin hem de otokrinde büyüme faktörüdür (Türken ve diğ., 2015). Görevleri arasında bağışıklık sistemini aktifleştirerek beyaz kan hücrelerini uyarımlarını kontrol eden görevi bulunmaktadır (Miziu, 2019; Tahvildari ve Dana, 2019; Türken ve diğ., 2015). Bu özelliği nedeni ile de böbrek kanseri gibi bazı kanser ve otoimmün tedavileriyle ilgili araştırmalarda yer almakta beraber onay alınan tedavileri bulunmaktadır. Fakat son

dönemde immünoterapilerde kendisine yer edinmiştir. IL-2 hakkında dikkat edilmesi gereken önemli nokta ise IL-2 yüksek seviyelerde toksik etkilere sahip olmasıdır ve bu nedenden ötürü son yıllada IL-2'nin sentetik formları üretilmiştir (Ou ve diğ., 2022; URL-35; Ziegler ve Bonifacio, 2021). Sentetik IL-2 özellikle kanser tedavilerinde T lenfosit hücrelerinin etkili olarak aktifleşmesini sağladığı gözlemlendiği belirtilmektedir ve IL-2'nin gelecekte protein temelli tedavilerde kullanılacağı ifade edilmektedir (Miziu, 2019; Ou ve diğ., 2022; Tahvildari ve Dana, 2019; Türken ve diğ., 2015; URL-35; Ziegler ve Bonifacio, 2021). Ayrıca T1DM ile ilgili *in vitro* koşullarında yapılan çalışmalarda D vitamininin ortama eklenmesi sonucu IL-2 sekresyonunda önemli ölçüde düşüşler saptandığı bildirilmiştir (Türken ve diğ., 2015).



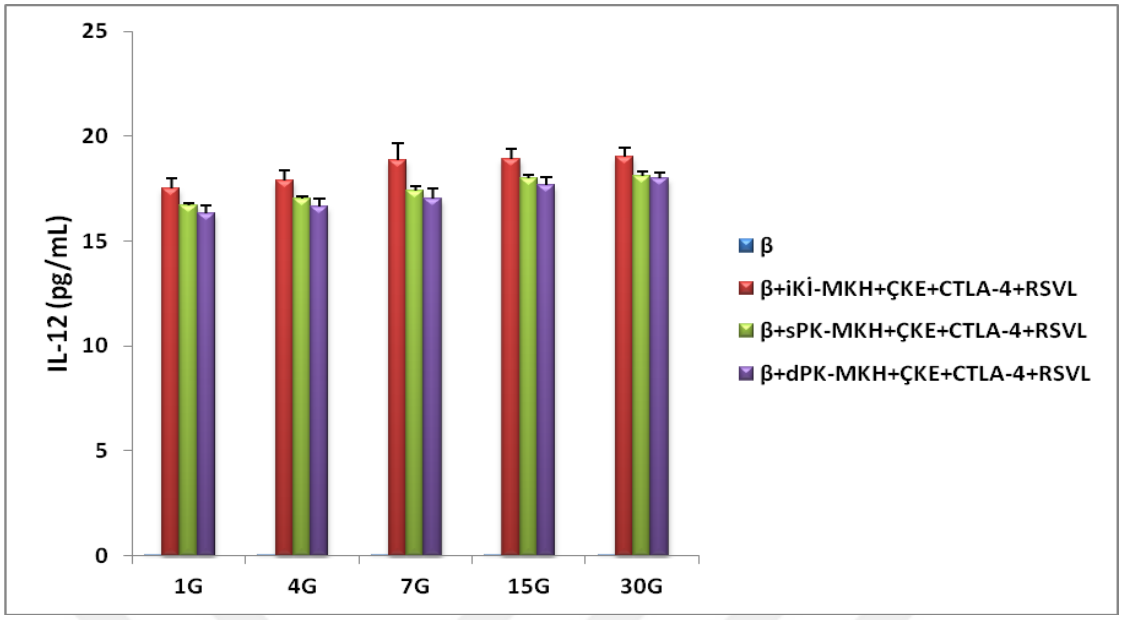
Şekil 4.25. Ortak kültür sonrası birinci, dördüncü, yedinci, on beşinci ve otuzuncu günlerde kontrol ve deney gruplarınından salınan IL-2 düzeyleri ($p<0.05$)

ELİSA yöntemi aracılığıyla elde edilen IL-2 verileri incelendiğinde kontrol grubunda IL-2 seviyesi tespit edilmemiştir. Bu durum nedenleri arasında kontrol grubu sadece pankreatik beta hücresi ve eklenti bulunmayan normal hücre kültür besiyeri bulunmasıdır. Dolayısıyla kontrol grubunda ortama IL-2 salınmaması nedeniyle deney grupları kendi aralarında değerlendirildi. Deney gruplarının IL-2 verileri karşılaştırıldığında ise elde edilen değerlerin standart aralığın alt sınırına yakınlığı saptandı. Bu veriler ışığında deney gruplarının dMNH'lerle ortak kültüre alındığı ve

ÇKE içerisinde bulunan pankreatik beta hücrelerin ortama insülin difüzyonunun gerçekleştirme düzeyleri göz önünde tutulduğunda, deney gruplarında ile kültüre edilen diyabetik MNH'lerin insülinleri algıladığı ve etkinleştiği fakat diğer ELİSA verileri ile beraber değerlendirildiğinde beta hücre destrüksiyonunu gerçekleştiremedikleri sonucuna varılabilir. Bu sonuç çok katmanlı yapının hipotez edilen görevini yerine getirmekte başarılı olduğunu göstermektedir. Ayrıca yine deney gruplarının kendi aralarında değerlendirme sürecinde özellikle diyabetik PK-MKH'lerin, kemik iliği veya sağlıklı periferik kan kaynaklı MKH'lere kıyasla pankreatik beta hücrelerini korumada daha verimli sonuçların eldesi gözlemlendi.

Doğal ve sonradan edinilmiş bağışıklık cevaplarında yer alan proinflamatuar sitokin olarak bulunan İnterlökin-12 (IL-12) sinyal iletimleri için STAT4'u kullanır. Başta Diabetes Mellitus olmak üzere birçok metabolik hastalıkta, özellikle CD8 sitotoksik T lenfosit ve doğal öldürücü hücreleri aktifleştirmesi ve etkinliklerini arttırması nedeniyle ilişkilendirilmektedir (Anand ve diğ., 2014; Wen ve diğ., 2006; Wegner ve diğ., 2008; Winkler ve diğ., 1998; Zundler ve Neurath, 2015). Yapılan çalışmalarda hiperglisemi gibi şekerin kontrol altına alınamadığı durumlarda kan plazmasında bulunan düzeylerin arttığı tespit edilmiştir (Anand ve diğ., 2014; Wen ve diğ., 2006; Wegner ve diğ., 2008; Zundler ve Neurath, 2015). Son yıllarda yapılan araştırmalarda D vitamininin proinflamatuar sitokinler üzerinde kontrol edici rollerinin keşfedilmesi üzerine özellikle T1DM, IL-12 ve D vitamini üzerine araştırmalar sürdürülmektedir (Anand ve diğ., 2014; Lyakh ve diğ., 2005; Wen ve diğ., 2006; Wegner ve diğ., 2008; Zundler ve Neurath, 2015).

Kültür ortamına salınan IL-12 miktarların belirlenmesi ELİSA yöntemi aracılığıyla elde edildi. Fakat kontrol grubunun hücre kültür ortamında IL-12'ye rastlanmadığı gözlemlendi. Kontrol grubunda IL-12'ye rastlanılmamış olunması nedeniyle deney grupları kendi aralarında kıyaslanarak incelendi. Kontrol grubu ortamında IL-12'nin bulunmamasın nedeni kontrol grubunun sadece pankreatik beta hücresi ve bu hücrelerin kendi normal hücre kültür besiyerinden oluşması ile ortak kültür koşullarında beta hücrelerine atakta bulunacak dMNH'lerin bulunmamasından kaynaklanmaktadır. Deney grupları kendi aralarında değerlendirildiğinde, IL-12 seviyelerinin standart aralığın alt sınırına yakınlığı gözlemlendi. Dolayısıyla elde edilen verilere göre deney gruplarının

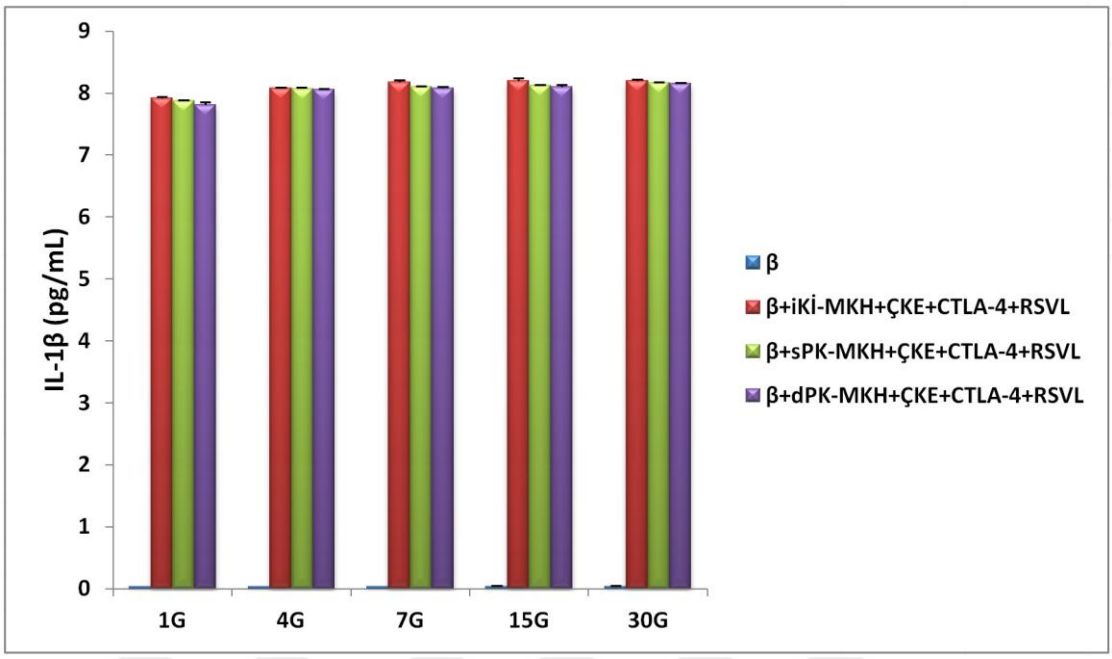


Şekil 4.26. Ortak kültür sonrası birinci, dördüncü, yedinci, on beşinci ve otuzuncu günlerde kontrol ve deney gruplarınından salınan IL-12 düzeyleri ($p<0.05$)

dMNH'ler ile ortak kültüre alındığı ve ÇKE içerisinde bulunan 1.1.B4 hücrelerin çok katmanlı yapılardan dış ortama salınan insülin difüzyon miktarları göz önünde alındığında, deney gruplarında ile kültüre edilen diyabetik MNH'lerin ortama salınan insülinin ortak kültürde bulunan dMNH'ler tarafından algıladığı ve etkinleştiği fakat diğer ELİSA verileri ile beraber değerlendirildiğinde beta hücre destrüksiyonunu gerçekleştiremedikleri sonucuna ulaşılmaktadır. Bu sonuçların yardımıyla çok katmanlı yapıların hipotez edilen görevini yerine getirmekte başarılı olduğunu gözlendi. Ayrıca yine deney gruplarının kendi aralarında değerlendirme sürecinde özellikle diyabetik ve sağlıklı PK-MKH'lerin çok yakın değerlere sahip olmaları, kemik iliği kaynaklı MKH'lere kıyasla pankreatik beta hücrelerini koruma özellikleri konusunda daha olumlu sonuçların elde edildi.

İnterlökin-1Beta (IL-1β) proinflamatuar sitokinler arasında yer almakta olup beta hücre destrüksiyonunda ile insülin reseptörlerin ekspresyonlarını azaltarak insülin sinyalizasyonunun etkisinin bozulmasında ve insülin direncinde görev almaktadır (Barksby ve diğ., 2007; Jager ve ark., 2007; Kim ve diğ., 2015; Lagathu ve diğ., 2006; Yarım ve Kazak, 2016; Zhao ve diğ., 2014).

Kontrol ve deney gruplarından elde edilen IL-1β verileri incelendiğinde ise kontrol gru-

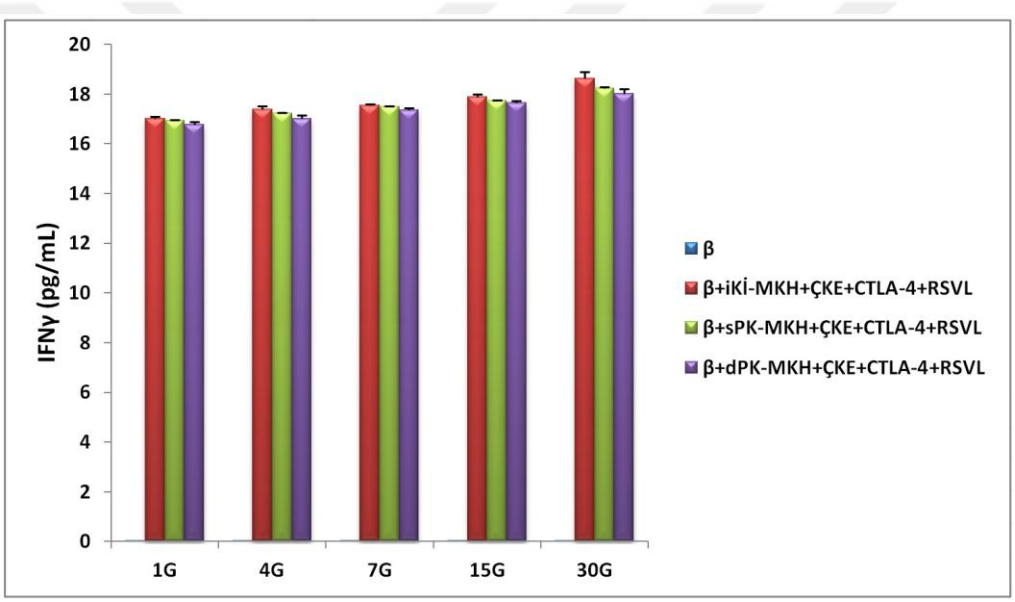


Şekil 4.27. Ortak kültür sonrası birinci, dördüncü, yedinci, on beşinci ve otuzuncu günlerde kontrol ve deney gruplarınından salınan IL-1β düzeyleri ($p<0.05$)

bunu oluşturan sadece pankreatik beta hücrelerin gerek normal hücre besiyeri ile kültüre alınması gerekse beta hücrelerine karşı immün atakta bulunabilecek herhangi bir unsurun hücre kültürüne eklenmemesi nedeniyle kontrol grubunda IL-1β'ya rastlanılmadı. Bu nedenden ötürü deney grupları diğer beta hücre destrüksiyonunda yer alan IL-2 ve IL-12 sitokinler gibi kendi aralarında değerlendirildi. Tüm deney gruplarından elde edilen IL-1β seviyeleri düşük olduğu saptanıldı. Ortak kültürden gözlemlenen IL-1β miktarlarının standart aralığının alt sınırına çok yakın olduğu tespit edildi. Deney grubunda elde edilen verilerin düşük olması, IL-2 ve IL-12 sitokin verilerinde gözlemlendiği gibi ortak hücre kültüründe bulunan dMNH'lerin ÇKE'den difüzyonu gerçekleşen insülini algıladığı fakat pankreatik beta hücre hasarını gerçekleştiremediği anlaşılmaktadır. Ayrıca diyabetik ve sağlıklı PK-MKH'li ÇKE'lerin de dahil olduğu tüm deney gruplarının çok ufak farklılarla aynı değerlere sahip olmaları, beta hücreleri koruma özelliği hakkında birbirlerine yakın ve olumlu potansiyelleri barındırdıklarını ifade etmektedir.

İnterferon-gama (IFNγ) doğal ve sonradan kazanılmış bağışıklık yanıtlarında yer almakta olup hem CD4+ ve CD8+ T lenfosit hücreleri tarafından hem de doğal öldürücü hücreler olan NK'ler tarafından sentezlenebilir. Ama en kritik görevleri arasında

makrofajları uyarması bulunmaktadır (Schoenborn ve Wilson, 2007; Yarım ve Kazak, 2016). İnterferon-gama pankreatik beta hücre destrüksiyonunda önemli rolü bulunmakla beraber JAK-STAT1 aracılığıyla adipositlerin farklılaşması baskılayarak insülin direncini arttırılmasında ve vücut ağırlıkların düzenlenmesinde, özellikle obez bireylerde CD4+ T lenfosit hücre miktarlarının ve glukoz toleransı artmasında ve insülin duyarlılığı azaltmasında, obezitede inflamatuar cevapların düzenlenmesinde, görev almakta olduğu keşfedilmiştir (McGillicuddy ve diğ., 2009; Mirhafez ve diğ., 2015; O'Rourke ve diğ., 2012; Pacifico ve diğ., 2006; Rocha ve diğ., 2008; Suk ve diğ., 2001; Wachlin ve diğ., 2003; Wada ve diğ., 2011; Wong ve diğ., 2011; Van de Velde ve diğ., 2013; Yarım ve Kazak, 2016).



Şekil 4.28. Ortak kültür sonrası birinci, dördüncü, yedinci, on beşinci ve otuzuncu günlerde kontrol ve deney gruplarınından salınan IFNγ düzeyleri ($p<0.05$)

ELİSA yöntemi ile elde edilen verilerde öncelikli olarak kontrol grubu değerlerinin tüm deney günleri için sıfır olduğu gözlemlendi. Deney grupları kendi aralarında incelendiğinde ise beta hücre yıkımında rolü bulunan IFNγ'nın ÇKE'li yapılardan değil ortak kültür ortama çok katmanlı yapıdan salınan insülin nedeniyle diyabetik MNH'lerin tarafından sentezlendiği düşünülmektedir. Tüm deney grupları birbirlerine yakın değerleri sahip oldukları ve tüm verilerin standart aralığın alt sınırına yakın olduğu gözlendi.

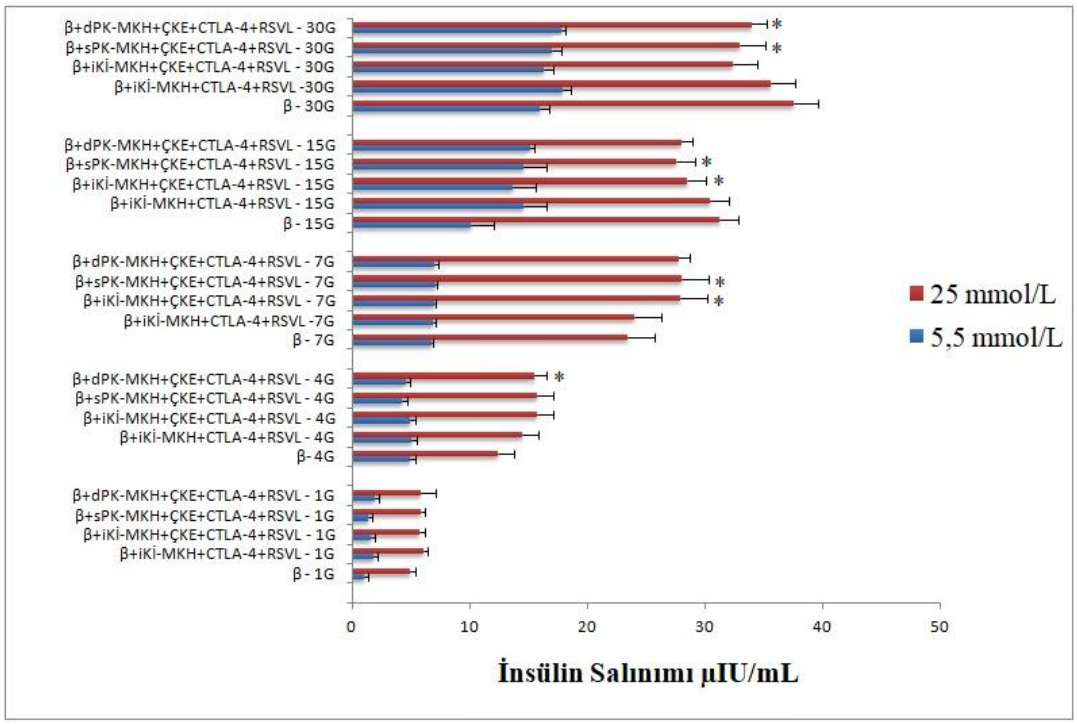
Bütün ELİSA verileri beraber değerlendirildiğinde sadece TGF-β1 kontrol ve deney gruplarında görülürken, analizleri yapılan IL-2, IL-12, IL-1β, TNF-α ve IFNγ

değerlerine kontrol grubunda rastlanılmadı. Sadece beta hücreyi içeren kontrol grubunda IL-2, IL-12, IL-1β, TNF-α ve IFNγ sitokinlerin sentezlenmemiş olması kontrol grubunun hücre kültürüne sadece besiyer eklenip dMNH'lerin eklenmemesinden kaynaklıdır. TGF-β1'nın kontrol grubunda saptanmasının yine kontrol grubu WST-1 ile canlılık oranları beraber incelendiğinde yapıların patogenez veya inflamasyon uyarımları ile alakalı olmasından çok hücre proliferasyon ve hücre kültür kabında hücrelerin konflüensi oranlarıyla ile ilgili olabileceğini düşündürmektedir. Deney gruplarında TGF-β1 dahil IL-2, IL-12, IL-1β, TNF-α ve IFNγ değerlerinin saptanmış olması ortak kültüre eklenen T ve B lenfosit, monositler, makrofaj hücreleri başta olmak üzere immün sistem hücrelerini barındıran dMNH'ler ve bu hücrelerin çok katmanlı yapılardan ortama difüzyonu gerçekleşen insülinlerin yine ilgili dMNH'lerin reseptörleri tarafından algılandığını düşündürmektedir. Ayrıca yapılan WST-1 ve insülin salınım analizleri bu düşünceyi desteklediği görülmektedir. Eğer ÇKE'lerin ve dMNH'lerin aynı koşul ve ortamda bulunduğu direkt ortak kültürde, beta hücre yıkımında yer alan sitokinlerin alt değerlere yakınlığının bulunmaması ve elde edilen WST-1 değerlerinin daha yüksek oranlarda çıkmalarının yanı sıra deneyin ilerliyen günlerinde ortama difüzyonu gerçekleşen insülin miktarının hızlı bir düşüşle azalması gereklidir. Bu sonuçların kesin tespiti için daha gelişmiş analiz ve görüntüleme tekniklerin kullanılmasının yanı sıra deney süresinin uzatılmasına da ihtiyaç duyulmaktadır.

4.7.3. İnsülin Salınım Analiz Sonuçları

Çok katmanlı yapıların bulundukları iki farklı glukoz konsantrasyonunda ortak hücre kültür ortamına insülin salınım seviyelerini belirlemek için ELİSA yöntemi ile analiz yapıldı (Şekil 4.29). Her bir kontrol ve deney grubu için beş kez tekrar gerçekleştirildi. Kontrol ve deney grupları arasındaki farklar için anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olanlar istatistiksel olarak anlamlı, $p<0.01$ olanlar ise istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı sayıldı. Gerçekleştirilen ortak kültür sonrası sıfırıncı günde insülin salınım miktarları tespit edilmemesi nedeni ile grafiğe aktarılmadı.

Hücre kültür ortamında gerçekleştirilen insülin salınım analizi sonrası kontrol grupları ve deney grupları karşılaştırılarak incelenmesi sonucu elde edilen verilere göre 1. gün deney ve kontrol gruplarının ortama salgıladıkları insülin seviyeleri, açısından deneyin



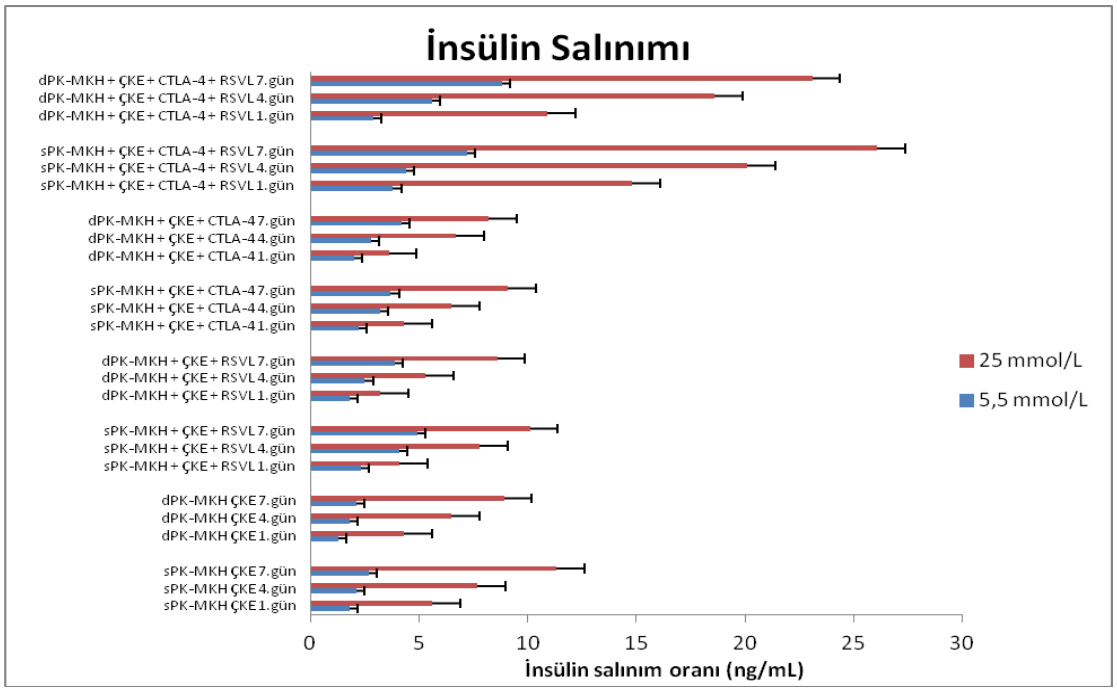
Şekil 4.29. Ortak kültür sonrası kontrol ve deney gruplarının düşük ve yüksek konsantrasyonlarda insülin salınım seviyeleri ($p<0.05$, * $p<0.01$)

diğer günlerine kıyasla hem düşük hem de yüksek glukozlu besiyerilerde daha düşük insülin seviyeleri salgıladıkları saptandı. Fakat yüksek glukozda enkapsülasyonsuz kontrol grubu ortama daha yüksek insülin salınımı gerçekleştiren grup olduğu gözlemlendi. Ayrıca ilk gün verilerinde ÇKE'li deney grupları ise birbirlerine yakın değerlerde insülin difüzyonları gerçekleştirildiği fark edildi. 4. gün verileri göz önüne alındığında düşük konsantrasyon verileri ortama en yüksek insülin salınımını enkapsülasyonsuz kontrol grubunda gözükürken iKİ-MKH'ler PK-MKH'lere nazaran daha yüksekken PK-MKH'li deney grupları kendi aralarında çok yaklaşık değerlerin elde edildiği saptandı. Yüksek konsantrasyon verilerinde ise deney gruplarında kontrol gruplarına göre daha verimli salınım sağlanırken deney grupları kendi aralarında değerlendirilmesinde iKİ-MKH'li ÇKE deney grubunun diğer deney gruplarına kıyasla daha yüksek salınıma rastlandı. 7. günün düşük ve yüksek konsantrasyon verilerinde tüm deney gruplarının ortalama verileri kontrol gruplarına göre daha verimli insülin salınımı gerçekleşirken deney gruplarının kendi aralarında incelendiğinde ise hem sağlıklı hem de diyabetik PK-MKH'li ÇKE grupları insan kemik iliği kaynaklı MKH'lere nazaran çok yakın veya daha verimli insülin difüzyonu olduğu belirlendi.

PK-MKH'leri deney grupları kendi aralarında sağlıklı ve diyabetik grupların değerlendirilmesinde çok yakın veriler elde edildi. Analizin kritik iki gününden birisi olan 15. gün hakkında düşük konsantrasyonda periferik kan kaynaklı deney grubun diğer kontrol ve deney grubuna kıyasla daha verimli difüzyon seviyesi gözlenirken hem düşük hem de yüksek konsantrasyonlarda PK-MKH'li deney grupları kendi aralarında diyabetik periferik kan kaynaklı MKH'li deney grubu en yüksek salınımı gerçekleştirdiği anlaşıldı. 15. günün yüksek konsantrasyonunda insülin difüzyonunda deney gruplarında daha yüksek seviyeler tespit edildi. Kendi aralarında bu deney gruplar değerlendirildiğinde ise birbirlerine çok yakın değerler olmakla beraber sırasıyla en verimlilerin sıralaması iKİ-MKH, dPK-MKH ve sPK-MKH olduğu saptandı. 30. gün verileri incelendiğinde ise düşük konsantrasyonda yüksek verimin elde edildiği gruplar ÇKE'siz kontrol grubu ve dPK-MKH'li deney grubu olduğu anlaşılırken yüksek konsantrasyonda ise en verimli grubun kendi aralarında yeri değişerek öncelikle dPK-MKH ve daha sonra iKİ-MKH'li deney gruplarının yer aldığı gözlemlendi. Tüm deney grupları arasında insülin difüzyon tayininde düşük ve yüksek konsantrasyon değerlendirilmelerinde en yüksek insülin salınım seviyeleri dPK-MKH grubunda tespit edildi. 30 gün boyunca devam ettirilen insülin salınım ortamında periferik kan kaynaklı MKH'lerin en az kontrol grupları ve iKİ-MKH içeren ÇKE'li deney grupları kadar insülin difüzyonları gerçekleştirebildikleri hatta deneyin kritik günleri olarak adlandırılan 15. ve 30. günlerde diğer gruplara nazaran daha verimli bulgular tespit edildi. Kontrol grupların besiyerlerinde dMNH eklenmediği göz önüne alındığında PK-MKH'lerini içeren hem diyabetik hem de sağlıklı çok katmanlı yapıların beta hücrelerini korumada işlevselliği en az diğer kontrol ve deney grupları kadar olduğu bilgisine ulaşılmaktadır.

Çok katmanlı yapılarının işlevselliği ve gerçekleştirilebilirliği üzerine yapılan ön çalışmalarımızda ortama salınan insülin miktarlarını ÇKE dışında CTLA-4 ve RSVL'in de etkili rolü olduğu gözlemlendi (Şekil 4.30). Yapılan ön çalışmada çok katmanlı yapının içerisinde eklenen CTLA-4 ve besiyer ortamına ilave edilen RSVL'lü analiz grupları karşılaştırıldığında ise RSVL grupların CTLA-4 gruplara göre daha yüksek miktarda insülin salgılandığı bulundu. Fakat en yüksek insülin salınımı CTLA-4 ve RSVL beraber kullanıldığı analiz gruplarında gözlemlendi. Gerçekleştirilen ortak kültür sonucu CTLA-4 diyabetik T hücre ataklarını engellemeye yardımcı olurken besiyerine

eklenen anti-oksidan ve anti-apoptotik RSVL çok katmanlı yapının en iç katmanından dış ortama yani besiyer içersine insülin difüzyonunun daha fazla oranla gerçekleşmesini sağladığı tespit edildi. Fakat sadece CTLA-4 veya RSVL kullanımının insülin difüzyonunu ikisinin beraber kullanıldığı deney grubuna kıyasla daha az verimli olduğu gözlendi.



Şekil 4.30. Çok katmanlı yapıların işlevselliği hakkında yapılan ön çalışmada CTLA-4, RSVL ve diyabetik T hücreler ile ortak kültür sonrası 1, 4 ve 7.günde ELİZA yöntem yardımı ile 5.5 mmol/L ve 25 mmol/L glukoz konsantrasyonları karşısında besiyer ortamına salgıladıkları insülin seviye verileri ($p<0.05$)

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Gerçekleştirilen deney basamaklarıyla periferik kandan non-invaziv yol ile MKH'ler elde edilmiş olup CTLA-4, RSVL ve enkapsülasyon metodu aracılığıyla oluşturulan çok katmanlı yapının 1.1B4 hücrelerini immün atak faktörlerine karşı koruma özelliğini barındırıp barındırmadığı ve bu ataklara karşı koruma özelliği olması durumunda ise hangi derecede ve ne kadar süre bu özelliğini koruyabildiği, enkapsülasyon içerisinde beta hücrelerin canlı kalıp kalmama durumu ve çok katmanlı yapıda iki katman ve iki farklı hücre çeşidinin bulunması nedeniyle ortama insülin salınımı gerçekleştirip gerçekleştiremediklerini, gerçekleştirmesi durumunda ise difüzyonu gerçekleşen insülinin miktarı ve ne kadar süre bu görevi yerine getirebildikleri araştırıldı.

Literatür araştırmalarına göre gerek enkapsülasyon çalışmalarında gerekse T1DM çalışmalarında PK-MKH'ler kullanımı ilk defa bu tez aracılığıyla gerçekleştirildi. dPK-MKH ve sPK-MKH'ler kendi aralarında kıyaslandığında iki deney grubunda 1.1B4 hücrelerini koruma ve ortama insülin difüzyonunun sağlandığı ve desteklediği gözlemlendi. Özellikle dPK-MKH'lerin bu özellikleri hipotez edilenin aksine en az sPK-MKH'ler ve iKİ-MKH'ler kadar verimli gerçekleştirebildikleri tespit edildi. Bu noktada dPK-MKH'lerin sPK-MKH ve iKİ-MKH'lere göre olumsuz tek yanının dPK-MKH'lerin daha hızlı yaşlanması olduğu da saptandı. Günümüze kadar *in vitro* koşullarda yapılan T1DM ilgili çalışmalara göre bu tez aracılığıyla eldesi sağlanan diğer bir ilk ise çok katmanlı yapıların (iki enkapsülasyon tabakası ve 2 farklı hücre topluluğu ve 2 farklı destekleyici faktör) aralarında çeşitli hücre türlerinin ve hem beta hücrelerinin besin ve oksijene ulaşımı ile insülin salınımı destekleyen iki önemli faktör CTLA-4 ve RSVL ile birlikte denemesi ve çok katmanlı yapıların hem içerisinde çeşitli hücrelerin kombinasyonlarının kullanılması hem de katmanların içerisine potansiyel bağışıklık düzenleyici faktörlerin kombinasyonlarının eklenmesi günümüze kadar gerçekleştirilen T1DM makrokapsülasyon araştırmalara da yenilikçi bir bakış açısı kazandırması sağlandı. Dolayısıyla gelecekte tedaviler arasında yer alabilme olasılığını barındıran çok çeşitli hücre ve/veya potansiyel bağışıklık düzenleyici kombinlerinde çok katmanlı yapıların yer almasına ve laboratuvar uygulanabilirliğine ilişkin ilk sonuçlara ulaşılmış oldu. Özellikle korunması amaçlanan pankreatik beta hücrelerin enkapsülasyonlarında diğer araştırmalara nazaran hücrelerin kendilerine daha özgün,

daha rahat bir ortamda bulunmaları sağlandı ve kendi doğal ortamlarında kendilerinin seçtikleri formlarda bırakılmalarına özen gösterildi. İncelenen sonuçlarda hem katmana eklenen CTLA-4'ün hem de hücre kültür ortamına eklenen RSVL'ün, insülin difüzyonunu desteklediği gibi aynı zamanda immün atakları yavaşlattığı bulundu. Böylece elde edilen veriler ışığında çok katmanlı yapının, deney grupları arasında CTLA-4 ve RSVL'ün beraber kullanıldığı ortak kültür grubu diğer gruplara kıyasla daha erken ve daha fazla insülin difüzyonu sağladığı, hem beta hücrelerini hem de katmanlı yapıyı diyabetik T hücrelerinden daha verimli ve uzun süre koruma potansiyeline sahip olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca yine literatür bilgileri incelendiğinde *in vitro* koşullarda yapılan T1DM deneylerinde Streptozotosin (STZ) gibi metotlar dışında yaygın olarak kullanılan ve T1DM patogenezinde de önemli bir rolü bulunan T lenfosit hücreleri arasından sadece CD4+ ve CD8+ T hücrelerin kullanıldığı tespit edildi. Fakat beta hücre destrüksiyonunda rol alan bir çok önemli faktör bulunmaktadır. Dolayısıyla gerçekleştirilen araştırmalarda, beta hücre yıkımında oluşan *in vivo* ortamı yansıtmaktaki yeterlilikleri tam anlamıyla birebir oluşturmayabilirler. Bu noktada gerçekleştirdiğimiz deney basamaklarında *in vivo* koşullarda gerçekleşen immün ataklar sonucu beta hücre destrüksiyonunu daha iyi yansıtmak adına ilk defa dMNH'lerin tamamı ayırt edilmeden, uyarılmadan tek seferde kullanıldı. Bu şekilde deney hayvanları üzerinde basamakların gerçekleştirileceği ana kadar kullanılan destrüksiyon modellerinde sadece CD4+ ve CD8+ T lenfosit hücrelerinden daha fazla patogenez faktörü taşıması *in vivo* gerçekliği adına daha yakın olup laboratuvar ortamlarında gerçekleştirilecek T1DM patogenez hem deneylerine hem de klasik metotlarda elde edilen bilgilerin sağlamasının gerçekleştirilmesi için alternatif bir basamak olarak eklenmesi sağlandı. Bu metot üzerinde durularak optimize edilmesine ve geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Ayrıca incelenen sonuçlara göre metotların yine geliştirilmesi sonucu ileride ki potansiyel deney çalışmalarında veya potansiyel tedavilerde PK-MKH kullanılması dışında dPK-MKH'lerin optimize edilmesi yoluyla otolog tedavilerin bile sağlanabileceği ihtimalini barındırmaktadır. Yapılan tez çalışmasında sadece *in vitro* aşamaların gerçekleştirilmiş olunması nedeniyle öncelikle elde edilen verilerin daha gelişmiş analiz ve görüntüleme teknikleri yardımıyla deneylerin genişletilmesinin yanı sıra deney süresinin uzatılmasına da ihtiyaç vardır. Daha sonraki aşamalarda ise *in vivo* koşullardaki çalışmalara geçilerek deney hayvanlar

üzerinde de yapılarak laboratuar koşullarında elde edilen verilerin kontrol edilmesine gerekmektedir. Deney hayvanlar üzerinde yapılacak araştırmalar sonucunda tip 1 DM hastalığının gelecekte biyoteknoloji tabanlı tedavilerin geliştirilmesi adına yenilikçi bakış açılarının kazanılmasına zemin sağlanabilir. Deney hayvanlarında elde edilen verilerin doğrulanmasından sonra hem *in vitro* hem de *in vivo* koşullarda detaylı deney basamaklarıyla araştırılması, gelecekte T1DM umut vadeden potansiyel radikal tedavilerinde çok katmanlı yapıların optimizasyonu ve biyoteknoloji temelli farklı açılardan değerlendirilip geliştirilmesi ve insan vücuduna uygun entegre edilebilecek potansiyeli barındırması, ileride tip 1 diyabetli bireylerin yaşam standartlarını arttırma potansiyeli dışında yanlış doz ayarlamaları sonucunda oluşabilecek veya kontrol altına alınamayan kötü şeker seviyeleri sonucu meydana gelebilecek sekonder komplikasyonlar gibi acil müdahale gerektiren durumlarında önüne geçilmesi de sağlanabilir.

KAYNAKLAR

Aamir, A.H., Ul-Haq, Z., Mahar, S.A., Qureshi, F.M., Ahmad, I., Jawa, A., Heald, A.H. (2019). Diabetes Prevalence Survey of Pakistan (DPS-PAK): Prevalence of Type 2 Diabetes Mellitus and Prediabetes Using HbA1c: A Population-Based Survey From Pakistan. *BMJ Open*, *9*(2), 1-9.

Abacı, A., Böber, E., Büyükgebiz, A. (2007). Tip 1 Diyabet. *Güncel Pediatri, 5*, 1-10.

Abagnale, G., Steger, M., Nguyen, V.H., Hersch, N., Sechi, A., Joussen, S., Denecke, B., Merkel, R., Hoffmann, B., Dreser, A., Schnakenberg, U., Gillner, A., Wagner, W., (2015). Surface Topography Enhances Differentiation of Mesenchymal Stem Cells Towards Osteogenic and Adipogenic Lineages. *Biomaterials, 61*, 316-326. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2015.05.030

Abba, Y., Hassim, H., Hamzah, H., Noordin, M.M. (2015). Antiviral Activity of Resveratrol Against Human and Animal Viruses. *Adv. Virol*., 184241. DOI: 10.1155/2015/184241

Abdi, R., Fiorina, P., Adra, C.N., Atkinson, M., Sayegh, M.H., (2008). Immunomodulation by Mesenchymal Stem Cells: A Potential Therapeutic Strategy for Type 1 Diabetes. *Diabetes, 57*(7), 1759–1767. DOI: 10.2337/db08-0180

Abouzeid, M., Philpot, B., Janus, E.D., Coates, M.J., Dunbar, J.A., (2013). Type 2 Diabetes Prevalence Varies by Socio-Economic Status Within and Between Migrant Groups: Analysis and Implications for Australia, *BMC Public Health*, *13*(1), 1-9.

Abuna, R.P., Stringhetta-Garcia, C.T., Fiori, L.P., Dornelles, R.C., Rosa, A.L., Beloti, M.M. (2016). Aging Impairs Osteoblast Differentiation of Mesenchymal Stem Cells Grown on Titanium by Favoring Adipogenesis. *J. Appl. Oral Sci*., *24*(4), 376-82. DOI: 10.1590/1678-775720160037

Acarregui, A., Ciriza, J., Del Burgo, L.S., Iribar, H.G., Yeste, J., Illa, X., Orive, G., Hernández, R.M., Villa, R., Pedraz, J.L. (2018). Characterization of an Encapsulated Insulin Secreting Human Pancreatic Beta Cell Line in a Modular Microfluidic Device. *J. Drug Target*, *26*(1), 36-44. DOI: 10.1080/1061186X.2017.1334208

Adorisio, S., Fierabracci, A., Gigliarelli, G., Muscari, I., Cannarile, L., Liberati, A.M., Marcotullio, M.C., Riccardi, C., Curini, M., Zepeda, R.E.R., R.E., Delfino, D.V. (2017). The Hexane Fraction of Bursera microphylla a Gray Induces p21-Mediated Antiproliferative and Proapoptotic Effects in Human Cancer-Derived Cell Lines. *Integr. Cancer Ther*., *16*(3), 426-435. DOI: 10.1177/1534735416688413

Adriaenssens, A.E., Svendsen, B., Lam, B.Y., Yeo, G.S., Holst, J.J., Reimann, F., Gribble, F.M. (2016). Transcriptomic Profiling of Pancreatic Alpha, Beta and Delta Cell Populations Identifies Delta Cells as a Principal Target for Ghrelin in Mouse Islets. *Diabetologia*, *59*(10), 2156-65. DOI: 10.1007/s00125-016-4033-1

Aggarwal, B.B., Bhardwaj, A., Aggarwal, R.S., Seeram, N.P., Shishodia, S., Takada, Y. (2004). Role of Resveratrol in Prevention and Therapy of Cancer: Preclinical and Clinical Studies. *Anticancer Res.*, *24*(5), 2783-2840.

Aggarwal, S., Pittenger, M.F. (2005). Human Mesenchymal Stem Cells Modulate Allogeneic Immune Cell Responses. *Blood*, *105*(4), 1815–1822. DOI:10.1182/blood-2004-04-1559

Aguayo-Mazzucato, C., Sanchez-Soto, C., Godinez-Puig, V., Gutierrez-Ospina, G., Hiriart, M. (2006). Restructuring of Pancreatic Islets and Insulin Secretion in a Postnatal Critical Window. *Plos One*, *1*(1), e35. DOI: 10.1371/journal.pone.0000035

Ahmad, A., Syed, F.A., Singh, S., Hadi, S.M. (2005). Prooxidant Activity of Resveratrol in the Presence of Copper Ions: Mutagenicity in Plasmid DNA. *Toxicol. Lett.*, *159*(1), 1-12. DOI: 10.1016/j.toxlet.2005.04.001

Ahmad, Z., Rafeeq, M., Collombat, P., Mansouri, A., (2015). Pax6 Inactivation in the Adult Pancreas Reveals Ghrelin as Endocrine Cell Maturation Marker. *Plos One*, *10*(12), e0144597. DOI: 10.1371/journal.pone.0144597

Ahmed, A.M. (2002). History of Diabetes Mellitus. *Saudi Medical Journal*, *23*(4), 373-378.

Ahmed, E.M. (2015). Hydrogel: Preparation, Characterization, and Applications: A Review. *J. Adv. Res.*, *6*(2),105–121. DOI: 10.1016/j.jare.2013.07.006

Aijaz, A., Teryek, M., Goedken, M., Polunas, M., Olabisi, R.M. (2019). Coencapsulation of ISCs and MSCs Enhances Viability and Function of Both Cell Types for Improved Wound Healing. *Cell Mol. Bioeng.*, *12*(5), 481-493. DOI: 10.1007/s12195-019-00582-3

Akashi, S., Sho, M., Kashizuka, H., Hamada, K., Ikeda, N., Kuzumoto, Y, Tsurui, Y., Nomi, T., Mizuno, T., Kanehiro, H., Hisanaga, M., Ko, S., Nakajima, Y. (2005). A Novel Small-Molecule Compound Targeting CCR5 and CXCR3 Prevents Acute and Chronic Allograft Rejection. Transplantation. *80*(3), 378–384. DOI: 10.1097/01.tp.0000166338.99933.e1

Akesen, E., Turan, S., Güran, T., Atay, Z., Save, D., Bereket, A. (2011). Prevalence of Type 1 Diabetes Mellitus in 6–18-Yr-Old School Children Living in Istanbul, Turkey. *Pediatric Diabetes, 12*(6), 567-571.

Akirav, E.M., Lebastchi, J., Galvan, E.M., Akirav, M., Ablamunits, V., Lizardi, P.M., Herold, K.C. (2011) Detection of β Cell Death in Diabetes Using Differentially Methylated Circulating DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, *108*(47), 19018-19023. DOI: 10.1073/pnas.1111008108

Akter, S., Rahman, M.M., Abe, S.K., Sultana, P. (2014). Prevalence of Diabetes and Prediabetes and Their Risk Factors Among Bangladeshi Adults: A Nationwide Survey. *Bulletin of the World Health Organization*, 92, 204-213.

Akturk, H.K., Kahramangil, D., Sarwal, A., Hoffecker, L., Murad, M.H., Michels, A.W. (2019). Immune Checkpoint Inhibitor-induced Type 1 Diabetes: A Systematic Review and Meta-analysis. *Diabet Med*., *36*(9), 1075-1081. DOI: 10.1111/dme.14050

Aktunç, E., Ünalacak, M., Demircan, N. (2002). Tip II Diyabet'te Patofizyoloji ve Akılcı Tedavi Yaklaşımı. *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi*, *11*, 334-336.

Albuquerque, R.V., Malcher, N.S., Amado, L.L., Coleman, M.D., Dos Santos, D.C., Borges, R.S., Valente, S.A.S., Valente, V.C., Monteiro, M.C. (2015). In Vitro Protective Effect and Antioxidant Mechanism of Resveratrol Induced by Dapsone Hydroxylamine in Human Cells. *Plos One*, *10*(8), e0134768. DOI: 10.1371/journal.pone.0134768

Alemzadeh, R., Wyatt, D.T. (2004). Diabetes Mellitus in Children. R.E. Behrman, R.M. Kliegman, H.B. Jenson (Eds.), *Nelson Textbook of Pediatrics* (17. Baskı) (1947-1972). Pennsylvania: Elsevier Saunders.

Al-Goblan, A.S., Al-Alfi, M.A., Khan, M.Z. (2014). Mechanism Linking Diabetes Mellitus and Obesity. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, *7*, 587-591.

Almeida, L., Vaz-da-Silva, M., Falcao, A., Soares, E., Costa, R., Loureiro, A.I., Fernandes-Lopes, C., Rocha, J.F., Nunes, T., Wright, L., ve diğ. (2009). Pharmacokinetic and Safety Profile of Trans-resveratrol in a Rising Multiple-dose Study in Healthy Volunteers. *Mol. Nutr. Food Res*., *53*(1), 7-15. DOI: 10.1002/mnfr.200800177

Alonso-Castro, A.J. (2014). Use of Medicinal Fauna in Mexican Traditional Medicine. *J. Ethnopharmacol.*, *152*(1), 53-70. DOI: 10.1016/j.jep.2014.01.005

Al-Quwaidhi, A.J., Pearce, M.S., Sobngwi, E., Critchley, J.A., O'Flaherty, M. (2014). Comparison of Type 2 Diabetes Prevalence Estimates in Saudi Arabia from a Validated Markov Model Against the International Diabetes Federation and Other Modelling Studies. *Diabetes Research and Clinical Practice*, *103*(3), 496-503.

Al Sakkaf, L., Pozzilli, P., Bingley, P.J., Lowdell, M.W., Thomas, J.M., Bonifacio, E., Gale, E.A., Bottazzo, G.F. (1992). Early T-cell Defects in Pre-type 1 Diabetes. *Acta Diabetol*., *28*(3-4), 189-192. DOI: 10.1007/BF00778996

Altundağ, S. (2018). Tip 1 Diyabetli Çocukların Hastalığa Uyumunda Eğitimin ve Sosyal Desteğin Etkisi. *Pamukkale Tıp Dergisi*, *11*(2), 137-144.

Alumets, J., Hakanson, R., Sundler, F. (1978). Distribution, Ontogeny and Ultrastructure of Pancreatic Polypeptide (PP) Cells in the Pancreas and Gut of the Chicken. *Cell Tissue Res.*, *194*(3), 377-386. DOI: 10.1007/BF00236159

Alzaid, A., Aideyan, O., Nawaz, S. (1993). The Size of the Pancreas in Diabetes Mellitus. *Diabet Med*, *10*(8), 759-763. DOI:10.1111/j.1464-5491.1993.tb00160.x

American Diabetes Association (2014). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, *37*(1), 81-90.

An, D., Chiu, A., Flanders, J.A., Song, W., Shou, D., Lu, Y.C., Grunnet, L.G., Winkel L., Ingvorsen, C., Christophersen, N.S., Fels, J.J., Sand, F.W., Ji, Y., Qi, L., Pardo, Y., Luo, D., Silberstein, M., Fan, J., Ma, M. (2017). Designing a Retrievable and Scalable Cell Encapsulation Device for Potential Treatment of Type 1 Diabetes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, *115*(2), 263-272. DOI: 10.1073/pnas.1708806115

An, D. Wang, L.H., Ernst, A.U., Chiu, A., Lu, Y.C., Flanders, J.A., Datta, A.K., Ma, M. (2019). An Atmosphere-Breathing Refillable Biphasic Device for Cell Replacement Therapy. *Adv. Mater.*, *31*(52), e1905135. DOI: 10.1002/adma.201905135

Anand, G., Vasanthakumar, R., Mohan, V., Babu, S., Aravindhan, V. (2014). Increased IL-12 and Decreased IL-33 Serum Levels are Associated with Increased Th1 and Suppressed Th2 Cytokine Profile in Patients with Diabetic Nephropathy (CURES-134). *Int. J. Clin. Exp. Pathol*., *7*(11), 8008-8015.

Andreoli, T.E., Carpenter, C.C.J., Plum, F., Smith, L.H. (1990). *The Pancreas - Gastrointestinal Disease: Cecil Essentials of Medicine* (2. Baskı). WB, Saunders Company.

Andrzejewska, A., Lukomska, B., Janowski, M. (2019). Concise Review: Mesenchymal Stem Cells: From Roots to Boost. *Stem Cells*, *37*(7), 855-864. DOI: 10.1002/stem.3016

Anderson, M.S., Bluestone, J.A. (2005). The NOD Mouse: A Model of Immune Dysregulation. *Annu. Rev. Immunol.*, *23*, 447-85. DOI: 10.1146/annurev.immunol.23.021704.115643

Andlauer, W., Kolb, J., Siebert, K., Fürst, P. (2000). Assessment of Resveratrol Bioavailability in the Perfused Small Intestine of the Rat. *Drugs Exp. Clin. Res.*, *26*(2), 47-55.

Ankrum, J.A., Ong, J.F., Karp, J.M. (2014). Mesenchymal Stem Cells: Immune Evasive, not Immune Privileged. *Nat. Biotechnol*., *32*(3), 252–260. DOI: 10.1038/nbt.2816

Ansari, M.J.I., Salama, A.D., Chitnis, T., Smith, R.N., Yagita, H., Akiba, H., Yamazaki, T., Azuma, M., Iwai, H., Khoury, S.J.K., Auchincloss, H., Sayegh, M.H. (2003). The Programmed Death-1 (PD-1) Pathway Regulates Autoimmune Diabetes in Nonobese Diabetic (NOD) Mice. *J. Exp. Med*., *198*(1), 63-9. DOI: 10.1084/jem.20022125

Anzalone, R., Iacono, M.L., Corrao, S. Magno, F., Loria, T., Cappello, F., ... & La Rocca, G. (2010). New Emerging Potentials for Human Wharton's Jelly Mesenchymal Stem Cells: Immunological Features and Hepatocyte-like Differentiative Capacity. *Stem Cells Dev*., *19*(4), 423-438. DOI: 10.1089/scd.2009.0299

Aragon, F., Karaca, M., Novials, A., Maldonado, R., Maechler, P., Rubi, B. (2015). Pancreatic Polypeptide Regulates Glucagon Release Through PPYR1 Receptors Expressed in Mouse and Human Alpha-cells. *Biochim. Biophys. Acta*, *1850*(2), 343-51. DOI: 10.1016/j.bbagen.2014.11.005

Araki, M., Chung, D., Liu, S., Rainbow, D.B., Chamberlain, G., Garner, V., Hunter, K.M.D., Vijayakrishnan, L., Peterson, L.B., Oukka, M., Sharpe, A.H., Sobel, R., Kuchroo, V.K., Wicker, L.S. (2009). Genetic Evidence that the Differential Expression of the Ligand-independent Isoform of CTLA-4 is the Molecular Basis of the Idd5.1 Type 1 Diabetes Region in Nonobese Diabetic Mice. *J. Immunol*., *183*(8), 5146-5157. DOI: 10.4049/jimmunol.0802610

Archibald, P.R., Williams, D.J. (2015). Using the Cost-effectiveness of Allogeneic Islet Transplantation to Inform Induced Pluripotent Stem Cell-derived b-cell Therapy Reimbursement. *Regener. Med*., *10*(8), 959–973. DOI: 10.2217/rme.15.59

Ariyanti, A.D., Sisjayawan, J., Zhang, J., Zhang, J.Q., Wang, G.X., Miyagishi, M., Wu, S.R., Kasim, V. (2017). Elevating VEGF-A and PDGF-BB Secretion by Salidroside Enhances Neoangiogenesis in Diabetic Hind-limb Ischemia. *Oncotarget*, *8*(57), 97187–97205. DOI: 10.18632/oncotarget.21907

Ariyanti, A.D., Zhang, J., Marcelina, O., Nugrahaningrum, D.A., Wang, G., Kasim, V., Wu, S. (2019). Salidroside-pretreated Mesenchymal Stem Cells Enhance Diabetic Wound Healing by Promoting Paracrine Function and Survival of Mesenchymal Stem Cells Under Hyperglycemia. *Stem Cells Transl. Med. Apr*., *8*(4), 404-414. DOI: 10.1002/sctm.18-0143

Arosio, M., Ronchi, C.L., Gebbia, C., Cappiello, V., Beck-Peccoz, P., Peracchi, M. (2003). Stimulatory Effects of Ghrelin on Circulating Somatostatin and Pancreatic Polypeptide Levels. *J. Clin. Endocrinol. Metab*., *88*(2), 701-4. DOI: 10.1210/jc.2002-021161

Arslan, M.S., Topaloğlu, O., Şahin, M., Delibaşı, T. (2013). Tip 1 Diabetes Mellitusta Onleme Calimalary Deierlendirilmesi. *Turkish Journal of Endocrinology & Metabolism*, *17*(2), 38-45.

Arimura, A., Sato, H., Dupont, A., Nishi, N., Schally, A.V. (1975). Somatostatin: Abundance of Immunoreactive Hormone in Rat Stomach and Pancreas. *Science*, *189*(4207), 1007-1009. DOI: 10.1126/science.56779

Ariyanti, A.D., Zhang, J., Marcelina, O., Nugrahaningrum, D.A., Wang, G., Kasim, V., Wu, S. (2019). Salidroside-pretreated Mesenchymal Stem Cells Enhance Diabetic Wound Healing by Promoting Paracrine Function and Survival of Mesenchymal Stem Cells Under Hyperglycemia. *Stem Cells Transl. Med. Apr*., *8*(4), 404-414. DOI: 10.1002/sctm.18-0143

Arvat, E., Di Vito, L., Broglio, F., Papotti, M., Muccioli, G., Dieguez, C., Casanueva, F.F., Deghenghi, R., Camanni, F., Ghigo, E. (2000). Preliminary Evidence that Grelin, the Natural GH Secretagogue (GHS)-receptor Ligand, Strongly Stimulates GH Secretion in Humans. *J Endocrinol Invest*., *23*(8), 493-5. DOI: 10.1007/BF03343763

Atabani, S.F., Thio, C.L., Divanovic, S., Trompette, A., Belkaid, Y., Thomas, D.L., Karp, C.L. (2005). Association of CTLA4 Polymorphism with Regulatory T Cell Frequency. *Eur. J. Immunol*., *35*(7), 2157-2162. DOI: 10.1002/eji.200526168

Atik-Altonok, Y. (2018). Tip 1 Diyabetes Mellitusda Tıbbi Beslenme Tedavisi. Z. Aycan (Ed.), *Çocukluk Çağı Diyabeti Tanı ve Tedavi Rehberi* (35-40). Ankara: Çocuk Endokrinolojisi ve Diyabet Derneği.

Atik-Altınok, Y. (2019). Tip 1 Diyabetli Çocuk ve Adölesanların Beslenme Sorunlarına Yaklaşım ve Yetişkin Kliniğe Devri. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, *47*, 52-59.

Atkinson, M.A., Bluestone, J.A., Eisenbarth, G.S. ve diğ. (2011). How does Type 1 Diabetes Develop? *Diabetes*, *60*, 1370-1379.

Atkinson, M.A., Campbell-Thompson, M., Kusmartseva, I., Kaestner, K.H. (2020). Organisation of the Human Pancreas in Health and in Diabetes. *Diabetologia*, *63*(10), 1966-1973. DOI: 10.1007/s00125-020-05203-7

Atkinson, M.A., Eisenbarth, G.S., Michels, A.W. (2014). Type 1 Diabetes. *Lancet*, *383*(9911), 69-82. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)60591-7

Atkinson, M.A., Eisenbarth, G.S. (2001). Type 1 Diabetes: New Perspectives on Disease Pathogenesis and Treatment. *Lancet*, *358*, 221-229.

Atkinson, M.A. (2012). The Pathogenesis and Natural History of Type 1 Diabetes. *CSH*, *2*, 1-18.

Augustin, M.A., Sanguansri, L., Lockett, T. (2013). Nano- and Micro-encapsulated Systems for Enhancing the Delivery of Resveratrol. *Ann. N. Y. Acad. Sci., 1290*, 107-112. DOI: 10.1111/nyas.12130

Azhar, M., Yin, M., Bommireddy, R., Duffy, J.J., Yang, J., Pawlowski, S.A., Boivin, G.P., Engle, S.J., Sanford, L.P., Grisham, C., Singh, R.R., Babcock, G.F., Doetschman, T. (2009). Generation of Mice with a Conditional Allele for Transforming Growth Factor Beta 1 Gene. *Genesis*, *47*(6), 423-431. DOI: 10.1002/dvg.20516

Bach, J.F. (2002). Immunotherapy of Type 1 Diabetes: Lessons for Other Autoimmune Diseases. *Arthritis Res*.,4 (Özel 3), 3-15. DOI: 10.1186/ar554

Baetens, D., Malaisse-Lagae, F., Perrelet, A., Orci, L. (1979). Endocrine Pancreas: Three-dimensional Reconstruction Shows two Types of Islets of Langerhans. *Science, 206*(4424), 1323-1325. DOI: 10.1126/science.390711

Bailey, J.L., Critser, P.J., Whittington, C., Kuske, J.L., Yoder, M.C, Harbin, S.L.V. (2011). Collagen Oligomers Modulate Physical and Biological Properties of Three Dimensional Self-Assembled Matrices. *Biopolymers*, *95*(2), 77–93. DOI: 10.1002/bip.21537

Bakay, M., Pandey, R., Hakonarson, H. (2013). Genes Involved in Type 1 Diabetes: An Update. *Genes*, *4*, 499-521.

Bardeesy, N., DePinho, R.A. (2002). Pancreatic Cancer Biology and Genetics. *Nat Rev Cancer*, *2*(12), 897-909. DOI: 10.1038/nrc949

Barshes, N.R., Wyllie, S., Goss, J.A. (2005). Inflammation-mediated Dysfunction and Apoptosis in Pancreatic Islet Transplantation: Implications for Intrahepatic Grafts. *J. Leukoc. Biol*., *77*(5), 587-597. DOI: 10.1189/jlb.1104649

Bartholomew, A., Sturgeon, C., Siatskas, M., Ferrer, K., McIntosh, K., Patil, S. (2002). Mesenchymal Stem Cells Suppress Lymphocyte Proliferation in Vitro and Prolong Skin Graft Survival in Vivo. *Exp. Hematol*., *30*(1), 42-48. DOI:10.1016/S0301-472X(01)00769-X

Barrientos, R., Baltrusch, S., Sigrist, S., Legeay, G., Belcourt, A., Lenzen, S. (2009). Kinetics of Insulin Secretion from MIN6 Pseudoislets after Encapsulation in a Prototype Device of a Bioartificial Pancreas. *Horm, Metab. Res*, *41*(1), 5-9. DOI: 10.1055/s-0028-1087185

Bartolomé, A., Suda, N., Yu, J., Zhu, C., Son, J., Ding, H., Califano, A., Accili, D., Pajvani, U.B. (2022). Notch-mediated Ephrin Signaling Disrupts Islet Architecture and β Cell Function. *JCI Insight*, *7*(6), e157694. DOI: 10.1172/jci.insight.157694

Barksby, H.E., Lea, S.R., Preshaw, P.M., Taylor, J.J. (2007). The Expanding Family of Interleukin-1 Cytokines and Their Role in Destructive Inflammatory Disorders. *Clin. Exp. Immunol*., *149*(2), 217-225. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2007.03441.x

Baryawno, N., Przybylski, D., Kowalczyk, M.S., Kfoury, Y., Severe, N., Gustafsson, K., Kokkaliaris, K.D., Mercier, F., Tabaka, M., Hofree, M., Dionne, D., Papazian, A., Lee, D., Ashenberg, O., Subramanian, A., Vaishnav, E.D., Rozenblatt-Rosen, O., Regev, A., Scadden, D.T. (2019). A Cellular Taxonomy of the Bone Marrow Stroma in Homeostasis and Leukemia. *Cell*, *177*(7), 1915-1932. DOI: 10.1016/j.cell.2019.04.040

Baska, A., Leis, K., Gałązka, P. (2021). Berberine in the Treatment of Diabetes Mellitus: A Review. *Endocr. Metab. Immune Disord Drug Targets*, *21*(8), 1379-1386. DOI: 10.2174/1568026620666201022144405

Basta, G., Montanucci, P., Calafiore, R. (2021). Microencapsulation of Cells and Molecular Therapy of Type 1 Diabetes Mellitus: The Actual State and Future Perspectives Between Promise and Progress. *J. Diabetes Investig*., *12*(3), 301-309. DOI: 10.1111/jdi.13372

Battaglia, M. (2014). Neutrophils and Type 1 Autoimmune Diabetes. *Curr. Opin. Hematol*., *21*(1), 8-15. DOI: 10.1097/MOH.0000000000000008

Baur, J.A., Pearson, K.J., Price, N.L., Jamieson, H.A, Lerin, C., Kalra, A, Prabhu, V.V., Allard, J.S., LopezLluch, G., Lewis, K., Pistell, P.J., Poosala, S., Becker, K.G., Boss, O., Gwinn, D., Wang, M., Ramaswamy, S., Fishbein, K.W., Spencer, R.G., Lakatta, E.G., Le Couteur, D., Shaw, R.J., Navas, P., Puigserver, P., Ingram, D.K., de cabo R., Sinclair, D.A. (2006). Resveratrol Improves Health and Survival of Mice on a High-calorie Diet. *Nature*, *444*(7117), 337-342. DOI: 10.1038/nature05354

Bayrak, E.S., Mehdizadeh, H., Akar, B., Somo, S.I., Brey, E.M., Cinar, A. (2014). Agent-based Modeling of Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells in Porous Biomaterials. *Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc*., 2924-2927. DOI: 10.1109/EMBC.2014.6944235

Becker, K.G. (1999). Comparative Genetics of Type 1 Diabetes and Autoimmune Disease. *Diabetes*, *48*(7), 1353-1358. DOI: 10.2337/diabetes.48.7.1353

Beerts, C., Brondeel, C., Pauwelyn, G., Depuydt, E., Tack, L., Duchateau, L., Xu, Y., Saunders, J.H., Peremans, K., Spaas, J.H. (2021). Scintigraphic Tracking of 99m Technetium-labelled Equine Peripheral Blood-derived Mesenchymal Stem Cells after Intravenous, Intramuscular and Subcutaneous Injection in Healthy Dogs. *Stem Cell Res. Ther*., *12*(1), 393. DOI: 10.1186/s13287-021-02457-9

Beery, M.L., Jacobsen, L.M., Atkinson, M.A., Butler, A.E., Campbell-Thompson, M. (2019). Islet Amyloidosis in a Child with Type 1 Diabetes. *Islets*, *11*(2), 44-49. DOI: 10.1080/19382014.2019.1599707

Beger, H.G., Warshaw, A.L., Hruban, R.H., Büchler, M.W., Lerch, M.M., Neoptolemos, J.P., Shimosegawa, T., Whitcomb, D.C. (Ed.). (t.y.). *The Pancreas: An Integrated Textbook of Basic Science, Medicine and Surgery* (3. Baskı). Oxford: Wiley Blackwell.

Begovich, A.B., Carlton, V.E.H., Honigberg, L.A., Schrodi, S.J., Chokkalingam, A.P., Alexander, H.C., Ardlie, K.G., Huang, Q., Smith, A.M., Spoerke, J.M., Conn, M.T., Chang, M., Chang, S.Y.P., Saiki, R.K., Catanese, J.J., Leong, D.U., Garcia, V.E., McAllister, L.B., Jeffery, D.A., Lee, A.T., Batliwalla, F., Remmers, E., Criswell, L.A., Seldin, M.F., Kastner, D.L., Amos, C.I., Sninsky, J.J., Gregersen, P.K. (2004). A Missense Single-nucleotide Polymorphism in a Gene Encoding a Protein Tyrosine Phosphatase (PTPN22) is Associated with Rheumatoid Arthritis. *Am J Hum Genet*., *75*(2), 330-337. DOI: 10.1086/422827

Benhamou P.Y. (2002). Immunomodulation with CTLA4-Ig in Islet Transplantation. *Transplantation*, *73*(1), 40-42. DOI: 10.1097/00007890-200201151-00013

Bennet, W., Groth, C.G., Larsson, R., Nilsson, B., Korsgren, O. (2000). Isolated Human Islets Trigger an Instant Blood Mediated Inflammatory Reaction: Implications for Intraportal Islet Transplantation as a Treatment for Patients with Type 1 Diabetes. *Ups. J. Med. Sci*., *105*(2), 125-133. DOI:10.1517/03009734000000059

Ben-Othman, N., Vieira, A., Courtney, M., Record, F., Gjernes, E., Avolio, F., Hadzic, B., Druelle, N., Napolitano, T., Navarro-Sanz, S., Silvano, S., Al-Hasani, K., Pfeifer, A., Lacas-Gervais, S., Leuckx, G., Marroquí, L., Thévenet, J., Madsen, O.D., Eizirik, D.L., Heimberg, H., Kerr-Conte, J., Pattou, F., Mansouri, A., Collombat, P. (2017). Long-term Gaba Administration Induces Alpha Cell-mediated Beta-like Cell Neogenesis. *Cell*, *168*(1-2), 73-85. DOI:10.1016/j.cell.2016.11.002

Berger, C., Zdzieblo, D. (2020). Glucose Transporters in Pancreatic Islets. *Pflugers Arch*, *472*(9), 1249-1272. DOI: 10.1007/s00424-020-02383-4

Bergman, M.L., Gonçalves, C.P., Lejon, K., Holmberg, D. (2001). Low Rate of Proliferation in Immature Thymocytes of the Non-obese Diabetic Mouse Maps to the Idd6 Diabetes Susceptibility Region. *Diabetologia*, *44*(8), 1054-1061. DOI: 10.1007/s001250100600

Berman, D.M., Willman, M.A., Han, D., Kleiner, G., Kenyon, N.M., Cabrera, O., Karl, J.A., Wiseman, R.W., O'Connor, D.H., Aelia M Bartholomew, A.M., Kenyon, N.S. (2010). Mesenchymal Stem Cells Enhance Allogeneic Islet Engraftment in Nonhuman Primates. *Diabetes*, *59*(10), 2558–2568. DOI: 10.2337/db10-0136

Bertelli, A.A., Giovannini, L., Bernini, W., Migliori, M., Fregoni, M., Bavaresco, L., Bertelli, A. (1996). Antiplatelet Activity of Cis-resveratrol. *Drugs Exp. Clin. Res*., *22*(2), 61-63.

Bertolotti, A., Borgogna, M., Facoetti, A., Marsich, E., Nano, R. (2009). The Effects of Alginate Encapsulation on NIT-1 Insulinoma Cells: Viability, Growth and Insulin Secretion. *Vivo*, *23*(6), 929-935.

Berts, A., Ball, A., Dryselius, G., Gylfe, E., Hellman, B. (1996). Glucose Stimulation of Somatostatin-producing Islet Cells Involves Oscillatory Ca2+ Signaling. *Endocrinology*, *137*(2), 693-697. DOI: 10.1210/endo.137.2.8593819

Beyth, S., Borovsky, Z., Mevorach, D., Liebergall, M., Gazit, Z., Aslan, H., Galun, E., Rachmilewitz, J. (2005). Human Mesenchymal Stem Cells Alter Antigen-Presenting Cell Maturation and Induce T-Cell Unresponsiveness. *Blood*, *105*(5), 2214-2219. DOI: 10.1182/blood-2004-07-2921

Bhattacharya, R., Johnson, A.P., Shailesh, T., Rahamathulla, M., Gangadharappa, H.V. (2022). Strategies to Improve Insulin Delivery through Oral Route: A Review. *Curr Drug Deliv*., *19*(3), 317-336. DOI: 10.2174/1567201818666210720145706

Bhowmick, D.C., Singh, S., Trikha, S., Jeremic, A.M. (2018). The Molecular Physiopathogenesis of Islet Amyloidosis. *Handb Exp Pharmacol*, *245*, 271–312. DOI: 10.1007/164_2017_62

Biasutto, L., Mattarei, A., Azzolini, M., La Spina, M., Sassi, N., Romio, M., Paradisi, C., Zoratti, M., (2017). Resveratrol Derivatives as a Pharmacological Tool. *Ann. N. Y. Acad. Sci*., *1403*(1), 27-37. DOI: 10.1111/nyas.13401

Bishop, E.S., Mostafa, S., Pakvasa, M., Luu, H.H., Lee, M.J., Wolf, J.M., Ameer, G.A., He, T.C., Reid, R.R. (2017). 3-D Bioprinting Technologies in Tissue Engineering and Regenerative Medicine: Current and Future Trends. *Genes Dis*., *4*(4),185-195. DOI: 10.1016/j.gendis.2017.10.002

Black, R.A., Rauch, C.T., Kozlosky, C.J., Peschon, J.J., Slack, J.L., Wolfson, M.F., Castner, B.J., Stocking, K.L., Reddy, P., Srinivasan, S., Nelson, N., Boiani, N., Schooley, K.A., Gerhart, M., Davis, R., Fitzner, J.N., Johnson, R.S., Paxton, R.J., March, C.J., Cerretti, D.P. (1997). A Metalloproteinase Disintegrin that Releases Tumour-necrosis Factor-alpha from Cells. *Nature*, *385*(6618), 729-733. DOI: 10.1038/385729a0

Block, T.J., Marinkovic, M., Tran, O.N, Gonzalez, A.O., Marshall, A., Dean, D.D., Xiao-Dong Chen, X.D. (2017). Restoring the Quantity and Quality of Elderly Human Mesenchymal Stem Cells for Autologous Cell-based Therapies. *Stem Cell Res. Ther*., *8*(1), 239-251. DOI: 10.1186/s13287-017-0688-x

Blomeier, H., Zhang, X., Rives, C., Brissova, M., Hughes, E., Baker, M., Hughes, E., Baker, M., Powers, A.C., Kaufman, D.B., Shea, L.D., Jr, W.L.L. (2006). Polymer Scaffolds as Synthetic Microenvironments for Extrahepatic Islet Transplantation. *Transplantation*, *82*(4), 452-459. DOI: 10.1097/01.tp.0000231708.19937.21

Bluestone, J.A., Herold, K., Eisenbarth, G. (2010). Genetics, Pathogenesis and Clinical Interventions in Type 1 Diabetes. *Nature, 464*, 1293-1300.

Bluestone, J.A., Liu, W., Yabu, J.M., Laszik, Z.G., Putnam, A., Belingheri, M., Gross, D.M., Townsend, R.M., Vincenti, F. (2008). The Effect of Costimulatory and Interleukin 2 Receptor Blockade on Regulatory T Cells in Renal Transplantation. *Am J Transplant*., *8*(10), 2086-2096. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2008.02377.x

Blum, S.R. (2011). The Collagen Family. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol*., *3*(1), a004978. DOI: 10.1101/cshperspect.a004978

Bolli, G.B. (2006). Insulin Treatment in Type 1 Diabetes. *Endocr Pract*, *12*(1), 105-109. DOI: 10.4158/EP.12.S1.105

Bonechi, C., Martini, S., Ciani, L., Lamponi, S., Rebmann, H., Rossi, C., Ristori, S. (2012). Using Liposomes as Carriers for Polyphenolic Compounds: The Case of Trans-resveratrol. *Plos One*, *7*(8), e41438. DOI: 10.1371/journal.pone.0041438

Bonifacio, E. (2015). Predicting Type 1 Diabetes Using Biomarkers. *Diabetes Care*, *38*, 989-996.

Bonnet, F., Cao, Z., Cooper, M.E., Cox, A.J., Kelly, D.J., Gilbert, R.E. (2003). Tranilast Attenuates Vascular Hypertrophy, Matrix Accumulation and Growth Factor Overexpression in Experimental Diabetes. *Diabetes Metab*., 29(4), 386-392. DOI: 10.1016/s1262-3636(07)70049-6

Bora, P., Majumdar, A.S. (2017). Adipose Tissue-derived Stromal Vascular Fraction in Regenerative Medicine: A Brief Review on Biology and Translation. *Stem Cell Res. Ther*., *8*(1), 145. DOI: 10.1186/s13287-017-0598-y

Bordi, C., Ferrari, C., D'Adda, T., Pilato, F., Carfagna, G., Bertele, A., Missale, G. (1986). Ultrastructural Characterization of Fundic Endocrine Cell Hyperplasia Associated with Atrophic Gastritis and Hypergastrinaemia. *Virchows Arch. A Pathol. Anat. Histopathol*., *409*(3), 335-347. DOI: 10.1007/BF00708251

Bosco, D., Armanet, M., Morel, P., Niclauss, N., Sgroi, A., Muller, Y.D., Giovannoni, L., Parnaud, G., Berney, T. (2010). Unique Arrangement of Alpha- and Betacells in Human Islets of Langerhans. *Diabetes*, *59*(5), 1202-1210. DOI: 10.2337/db09-1177.

Bortolotti, C., Kunit, T., Moder, A., Hufnagl, C., Schmidt, S., Hartl, A., Langelueddecke, C., Fürst, J., Geibel, J.P., Ritter, M., Jakab, M. (2009). The Phytostilbene Resveratrol Induces Apoptosis in INS-1E Rat Insulinoma Cells. Cell Physiol. *Biochem*., *23*(4-6), 245-254. DOI: 10.1159/000218171

Bottini, N., Musumeci, L., Alonso, A., Rahmouni, S., Nika, K., Rostamkhani, M., MacMurray, J., Meloni, G.F., Lucarelli, P., Pellecchia, M., Eisenbarth, G.S., Comings, D., Mustelin, T. (2004). A Functional Variant of Lymphoid Tyrosine Phosphatase is Associated with Type I Diabetes. *Nat. Genet*. *36*(4), 337-338. DOI: 10.1038/ng1323

Boztepe, H. (2012). Tip 1 Diyabetin Yönetiminde Riskli Bir Dönem: Ergenlik. *Hacettepe Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Dergisi*, *19*(1), 82-89.

Brady, K., Dickinson, S.C., Hollander, A.P. (2015). Changes in Chondrogenic Progenitor Populations Associated with Aging and Osteoarthritis. *Cartilage*, *6*(2), 30-35. DOI: 10.1177/1947603515574838

Brandhorst, H., Brandhorst, D., Hering, B.J., Federlin, K., Bretzel, R.G. (1995). Body Mass Index of Pancreatic Donors: A Decisive Factor for Human Islet Isolation. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, *103*(2), 23-26. DOI: 10.1055/s-0029-1211388

Braun, M., Ramracheya, R., Amisten, S., Bengtsson, M., Moritoh, Y., Zhang, Q., Johnson, P.R., Rorsman, P. (2009). Somatostatin Release, Electrical Activity, Membrane Currents and Exocytosis in Human Pancreatic Delta Cells. *Diabetologia*, *52*(8), 1566-78. DOI: 10.1007/s00125-009-1382-z

Brereton, M.F., Vergari, E., Zhang, Q., Clark, A. (2015). Alpha-, Delta- and pp-cells: Are they the Architectural Cornerstones of Islet Structure and Co-ordination ? *J. Histochem. Cytochem*., *63*(8), 575-91. DOI: 10.1369/0022155415583535

Brill, S.S., Furimsky, A.M., Ho, M.N., Furniss, M.J., Li, Y., Green, A.G., Bradford, W.W., Green, C.E., Kapetanovic, I.M., Iyer, L.V. (2006). Glucuronidation of Trans-resveratrol by Human Liver and Intestinal Microsomes and UGT Isoforms. *J. Pharm. Pharmacol*., *58*(4), 469-79. DOI: 10.1211/jpp.58.4.0006

Brissova, M., Fowler, M.J., Nicholson, W.E., Chu, A., Hirshberg, B., Harlan, D.M., Powers, A.C. (2005). Assessment of Human Pancreatic Islet Architecture and Composition by Laser Scanning Confocal Microscopy. *J. Histochem. Cytochem*., *53*(9), 1087-97. DOI: 10.1369/jhc.5C6684.2005

Broglio, F., Arvat, E., Benso, A., Gottero, C., Muccioli, G., Papotti, M., van der Lely, A.J., Deghenghi, R., Ghigo, E. (2001). Ghrelin, a Natural GH Secretagogue Produced by the Stomach, Induces Hyperglycemia and Reduces Insulin Secretion in Humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab*., *86*(10), 5083-5086. DOI: 10.1210/jcem.86.10.8098

Broglio, F., Gottero, C., Benso, A., Prodam, F., Destefanis, S., Gauna, C., Maccario, M., Deghenghi, R., van der Lely, A.J., Ghigo, E. (2003). Effects of Ghrelin on the Insulin and Glycemic Responses to Glucose, Arginine, or free Fatty Acids Load in Humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab*., *88*(9), 4268-4272. DOI: 10.1210/jc.2002-021940

Brouwer, S., Hoffmeister, T., Gresch, A., Schönhoff, L., Düfer, M. (2018). Resveratrol Influences Pancreatic Islets by Opposing Effects on Electrical Activity and Insulin Release. *Mol Nutr Food Res*., *62*(5), DOI: 10.1002/mnfr.20170090

Brunet, J.F., Denizot, F., Luciani, M.F., Roux-Dosseto, M., Suzan, M., Mattei, M.G., Golstein, P. (1987). A New Member of the Immunoglobulin Superfamily-CTLA-4. *Nature*, *328*(6127), 267–270. DOI: 10.1038/328267a0

Bundak, R. (2011). Ergenlik Çağında Diyabet Yönetimi. *Türk Pediatri Arşivi*, *46*(11), 79-81.

Butler, A.E., Galasso, R., Meier, J.J., Basu, R., Rizza, R.A., Butler, P.C. (2007). Modestly Increased b-cell Apoptosis but no Increased b-cell Replication in Recent-onset Type 1 Diabetic Patients who died of Diabetic Ketoacidosis. *Diabetologia*, 50, 2323-2331.

Cabrera, O., Berman, D.M., Kenyon, N.S., Ricordi, C., Berggren, P.O., Caicedo, A. (2006). The Unique Cytoarchitecture of Human Pancreatic Islets has Implications for Islet Cell Function. *Proc Natl Acad Sci USA*, *103*(7), 2334-2339. DOI: 10.1073/pnas.0510790103

Caglar, V., Songur, A., Yagmurca, M., Acar, M., Toktas, M., Gonul, Y. (2012). Age-Related Volumetric Changes in Pancreas: A Stereological Study on Computed Tomography. *Surg. Radiol. Anat*., *34*(10), 935-41. DOI: 10.1007/s00276-012-0988-x

Cai, J., Wu, Z., Xu, X., Liao, L., Chen, J., Huang, L., Wu, W., Luo, F., Wu, C., Pugliese, A., Pileggi, A., Ricordi, C., Tan, J. (2016). Umbilical Cord Mesenchymal Stromal Cell With Autologous Bone Marrow Cell Transplantation in Established Type 1 Diabetes: A Pilot Randomized Controlled Open-Label Clinical Study to Assess Safety and Impact on Insulin Secretion. *Diabetes Care*, *39*(1), 149-157. DOI: 10.2337/dc15-017

Caldarelli, I., Speranza, M.C., Bencivenga, D., Tramontano, A., Borgia, A., Virginia, A., Pirozzi, A., Perrotta, S., Oliva, A., Ragione, F.D., Borriello, A. (2015). Resveratrol Mimics Insulin Activity in the Adipogenic Commitment of Human Bone Marrow Mesenchymal Stromal Cells. *Int. J. Biochem. Cell Biol*., *60*, 60-72. DOI: 10.1016/j.biocel.2014.12.011

Calle, A., Reinoso, M.A.G., Re, M., Blanco, J., De la Fuente, J., Tortajada, M.M., Francesc Enric Borràs, Mó, M.Y., Ramírez, M.A. (2021). Bovine Peripheral Blood MSCs Chemotax towards Inflammation and Embryo Implantation Stimuli. *J. Cell Physiol*., *236*(2), 1054-1067. DOI: 10.1002/jcp.29915

Camastra, S., Manco, M., Mari, A., Baldi, S., Gastaldelli, A., Greco, A.V., Mingrone, G., Ferrannini, E. (2005). Beta-cell Function in Morbidly Obese Subjects During free Living: Long-term Effects of Weight Loss. *Diabetes*, *54*(8), 2382-2389. DOI: 10.2337/diabetes.54.8.2382

Campbell-Thompson, M, Fu, A., Kaddis, J.S., Wasserfall, C., Schatz, D.A., Pugliese, A., Atkinson, M.A. (2016). Insulitis and β-cell Mass in the Natural History of type 1 Diabetes. *Diabetes*, *65*(3), 719-731. DOI: 10.2337/db15-0779

Campbell-Thompson, M.L., Atkinson, M.A., Butler, A.E., Chapman, N.M., Frisk, G., Gianani, R., Giepmans, B.N., von Herrath, M.G., Hyöty, H., Kay, T.W., Korsgren, O., Morgan, N.G., Powers, A.C., Pugliese, A., Richardson, S.J., Rowe, P.A., Tracy S., In't Veld P.A. (2013). The Diagnosis of Insulitis in Human Type 1 Diabetes. *Diabetologia*, *56*(11), 2541-2543. DOI: 10.1007/s00125-013-3043-5

Campbell-Thompson, M.L., Filipp S.L., Grajo J.R., Nambam B., Beegle R., Middlebrooks E.H., Gurka M.J., Atkinson M.A., Schatz D.A., Haller M.J. (2019). Relative Pancreas Volume is Reduced in First-degree Relatives of Patients with type 1 Diabetes. *Diabetes Care*, *42*(2), 281-287. DOI: 10.2337/ dc18-1512

Can, A. (2014). *Kök Hücre – Biyolojisi, Türleri ve Tedavide Kullanımları*. Ankara: Akademisyen Tıp Kitapevi.

Cannata, F., Vadalà, G., Ambrosio, L., Papalia, R., Napoli, N. (2020). Nutritional Therapy for Athletes with Diabetes. *J Funct Morphol Kinesiol*, *5*(4), 83-94.

Canzano, J.S., Nasif, L.H., Butterworth, E.A., Fu, D.A., Atkinson, M.A., Campbell-Thompson, M. (2018). Islet Microvasculature Alterations with Loss of Beta-cells in Patients with type 1 Diabetes. *J Histochem Cytochem*, *67*(1), 41-52. DOI: 10.1369/0022155418778546

Cao, Y., Gang, X., Sun, C., Wang, G. (2017). Mesenchymal Stem Cells Improve Healing of Diabetic foot Ulcer. *J.Diabetes Res*., 9328347. DOI:10.1155/2017/9328347

Capella, C., Hage, E., Solcia, E., Usellini, L. (1978). Ultrastructural Similarity of Endocrine-like Cells of the Human Lung and Some Related Cells of the Gut. *Cell Tissue Res*., *186*(1), 25-37. DOI: 10.1007/BF00219652

Carlsson, P.O., Espes, D., Sedigh, A., Rotem, A., Zimerman, B., Grinberg, H., Goldman, T., Barkai, U., Avni, Y., Westermark, G.T., Carlbom, L., Ahlström, H., Eriksson, O., Olerud, J., Korsgren, O. (2018). Transplantation of Macroencapsulated Human Islets within the Bioartificial Pancreas bAir to Patients with type 1 Diabetes Mellitus. *Am. J. Transplant*., *18*(7), 1735–1744. DOI: 10.1111/ajt.14642

Carlsson, P.O., Palm, F., Mattsson, G. (2003). Low Revascularization of Experimentally Transplanted Human Pancreatic Islets. *J. Clin. Endocrinol. Metab*., *87*, 5418–5423. DOI: 10.1210/jc.2002-020728

Carlsson, P.O., Schwarcz, E., Korsgren, O., Le Blanc, K. (2015). Preserved b-cell Function in Type 1 Diabetes by Mesenchymal Stromal Cells. *Diabetes*, *64*(2), 587–592. DOI: 10.2337/db14-0656

Carter, L.G., D'Orazio, J.A., Pearson, K.J. (2014). Resveratrol and Cancer: Focus on in Vivo Evidence. *Endocr. Relat. Cancer*, *21*(3), 209-225. DOI: 10.1530/ERC-13-0171

Castro-Manrreza, M.E., Montesinos, J.J. (2015). Immunoregulation by Mesenchymal Stem Cells: Biological Aspects and Clinical Applications. *J. Immunol. Res*., *2015*, 394917. DOI: 10.1155/2015/394917

Catalgol, B., Batirel S., Taga, Y., Ozer, N.K. (2012). Resveratrol: French Paradox Revisited. *Front. Pharmacol*., 3, 141. DOI: 10.3389/fphar.2012.00141

Catoira, M.C., Fusaro, L., Di Francesco, D., Ramella, M., Boccafoschi, F. (2019). Overview of Natural Hydrogels for Regenerative Medicine Applications. *J. Mater. Sci. Mater. Med*., *30*(10), 115. DOI: 10.1007/s10856-019-6318-7.

Centurion, F., Basit, A.W., Liu, J., Gaisford, S., Rahim, M.A., Zadeh, K.K. (2021). Nanoencapsulation for Probiotic Delivery. *ACS Nano, 15*(12), 18653–18660. DOI: 10.1021/acsnano.1c09951.

Chang, X., Heene, E., Qiao, F., Nick, P. (2011). The Phytoalexin Resveratrol Regulates the Initiation of Hypersensitive Cell Death in Vitis Cell. *Plos One*, *6*(10), e26405. DOI: 10.1371/journal.pone.0026405

Chao K.C., Chao K.F., Fu Y.S., Liu S.H. (2008). Islet-Like Clusters Derived from Mesenchymal Stem Cells in Wharton's Jelly of the Human Umbilical Cord for Transplantation to Control Type 1 Diabetes. *Plos One*, *3*(1), e1451. DOI: 10.1371/journal.pone.0001451

Chatgilialoglu, C., Ferreri, C., Geacintov, N.E., Krokidis, M.G., Liu, Y., Masi, A., Shafirovich, V., Terzidis, M.A., Tsegay, P.S. (2019). 5',8-Cyclopurine Lesions in DNA Damage: Chemical, Analytical, Biological and Diagnostic Significance. *Cells*, *8*(6), 513. DOI: 10.3390/cells8060513

Chaudhary, Z., Subramaniam, S., Khan, G.M., Abeer, M.M., Qu, Z., Janjua, T., Kumeria, T., Batra, J., Popat, A. (2019). Encapsulation and Controlled Release of Resveratrol Within Functionalized Mesoporous Silica Nanoparticles for Prostate Cancer Therapy. *Front. Bioeng. Biotechnol*., *7*, 225. DOI: 10.3389/fbioe.2019.00225

Chelala, C., Duchatelet, S., Joffret, M.L., Bergholdt, R., Dubois-Laforgue, D., Ghandil, P., Pociot, F., Caillat-Zucman, S., Timsit, J., Julier, C. (2007). PTPN22 R620W Functional Variant in Type 1 Diabetes and Autoimmunity Related Traits. *Diabetes*, *56*(2), 522-526. DOI: 10.2337/db06-0942

Cheng Y., Yu Y., Zhang Y., Zhao G., Zhao Y. (2019). Cold-Responsive Nanocapsules Enable the Sole-Cryoprotectant-Trehalose Cryopreservation of β Cell-Laden Hydrogels for Diabetes Treatment. *Small*, *15*(50), e1904290. DOI: 10.1002/smll.201904290

Chen, J., Chen, J., Cheng, Y., Fu, Y., Zhao, H., Tang, M., Zhao, H., Lin, N., Shi, X., Lei, Y., Wang, S., Huang, L., Wu, W., Tan, J. (2020). Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes Protect Beta Cells Against Hypoxia-induced Apoptosis Via miR-21 by Alleviating ER Stress and Inhibiting p38 MAPK Phosphorylation. *Stem Cell Res. Ther*., *11*(1), 97. DOI: 10.1186/s13287-020-01610-0

Chen, J., Wang, H., Long, W., Shen, X., Wu, D., Song, S.S., Sun, Y.M., Liu, P.X., Fan, S., Fan, F., Zhang, X.D. (2013). Sex Differences in the Toxicity of Polyethylene Glycol-Coated Gold Nanoparticles in Mice. *Int. J. Nanomed*., *8*, 2409–2419. DOI: 10.2147/IJN.S46376

Chen, L.B., Jiang, X.B., Yang, L. (2004). Differentiation of Rat Marrow Mesenchymal Stem Cells into Pancreatic Islet Beta-Cells. *World J. Gastroenterol*., *10*(20), 3016–3020. DOI: 10.3748/wjg.v10.i20.3016

Chen, L., Wu, J., Wu, C., Xing, F., Li, L., He, Z., Peng, K., Xiang, Z. (2019). Three-Dimensional Co-Culture of Peripheral Blood-Derived Mesenchymal Stem Cells and Endothelial Progenitor Cells for Bone Regeneration. *J. Biomed. Nanotechnol*., *15*(2), 248-260. DOI: 10.1166/jbn.2019.2680

Chen, M., Fu, Q., Song, X., Muhammad, A., Jia, R., Zou, Y., Yin, L., Li, L., He, , C., Ye G., Lv C., Liang X., Huang J., Cui M., Yin Z. (2020). Preparation of Resveratrol dry Suspension and its Immunomodulatory and Anti-inflammatory Activity in Mice. *Pharm. Biol*., *58*(1), 8-15. DOI: 10.1080/13880209.2019.1699123

Chen, M.T., Zhao, Y.T., Zhou, L.Y., Li, M., Zhang, Q., Han, Q., Xiao, X.H. (2021). Exosomes Derived from Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Enhance Insulin Sensitivity in Insulin Resistant Human Adipocytes. *Curr. Med. Sci*., *41*(1), 87-93. DOI: 10.1007/s11596-021-2323-4

Chen, W.P., Chi, T.C., Chuang, L.M., Su, M.J. (2007). Resveratrol Enhances Insulin Secretion by Blocking K(ATP) and K(V) Channels of Beta Cells. *Eur. J. Pharmacol*., *568*(1-3), 269-277. DOI: 10.1016/j.ejphar.2007.04.062

Chen, Y.R., Yan, X., Yuan, Y.Z., Ye, J., Xu, B.B., Zhou, Z.X., Mao, Z.M., Guan, J., Song, Y.F., Sun, Z.W., Wang, X.J., Chen, Z.Y., Wang, D.Y., Fan, B.S., Yang, M., Song, S.T., Jiang, D., Yu, J.K. (2020). The Use of Peripheral Blood-Derived Stem Cells for Cartilage Repair and Regeneration in Vivo: A Review. *Front. Pharmacol*., *11*, 404. DOI: 10.3389/fphar.2020.00404

Chen, Z., Shen, S., Peng, B., Tao, J. (2009). Intratumoural GM-CSF Microspheres and CTLA-4 Blockade Enhance the Antitumour Immunity Induced by Thermal Ablation in a Subcutaneous Murine Hepatoma Model. Int. J. Hyperthermia., *25*(5), 374-382. DOI: 10.1080/02656730902976807

Cheng, L., Wang, Y., Wang, J., Qin, H., Zhu, G., Tao, L. (2022). Cytotoxic Action of Palladium-Based Compound on Prostate Stem Cells, Primary Prostate Epithelial Cells, Prostate Epithelial Cells, and Prostate Cell Lines. J. Healthc. Eng., *19*, 4993405. DOI: 10.1155/2022/4993405

Chera, S., Baronnier, D., Ghila, L., Cigliola, V., Jensen, J.N., Gu, G., Furuyama, K., Thorel, F., Gribble, F.M., Reimann, F., Herrara, P.L. (2014). Diabetes Recovery by Age-dependent Conversion of Pancreatic Delta-cells into Insulin Producers. *Nature*, *514*(7523), 503-7. DOI: 10.1038/nature13633

Chiang, J.L., Kirkman, M.S., Laffel, L.M., Peters, A.L. (2014). Type, 1 Diabetes Through The Life Span: A Position Statement of The American Diabetes Association. *Diabetes Care*, , *37*(7), 2034-2054.

Childs, B.G., Durik, M., Baker, D.J., van Deursen, J.M. (2015). Cellular Senescence in Aging and Age-related Disease: From Mechanisms to Therapy. *Nat Med*., *21*(12), 1424-1435. DOI: 10.1038/nm.4000

Choi, J.B., Uchino, H., Azuma, K., Iwashita, N., Tanaka, Y., Mochizuki, H, Migita, M., Shimada, T., Kawamori, R., Watada, H. (2003). Little Evidence of Transdifferentiation of Bone Marrow-derived Cells into Pancreatic Beta Cells. *Diabetologia*, *46*(10), 1366-1374. DOI: 10.1007/s00125-003-1182-9

Cho, K.A., Ryu, S.J., Oh, Y.S., Park, J.H., Lee, J.W., Kim, H.P., Kim, K.T., Jang, I.S., Park, S.C. (2004). Morphological Adjustment of Senescent Cells by Modulating Caveolin-1 Status. *J. Biol. Chem*., *279*(40), 42270-42278. DOI: 10.1074/jbc.M402352200

Chong, P.P., Selvaratnam, L., Abbas, A.A., Kamarul, T. (2011). Human Peripheral Blood Derived Mesenchymal Stem Cells Demonstrate Similar Characteristics and Chondrogenic Differentiation Potential to Bone Marrow Derived Mesenchymal Stem Cells. *J. Orthop. Res*., *30*(4), 634-642. DOI: 10.1002/jor.21556

Chuang, E., Fisher, T.S., Morgan, R.W., Robbins, M.D., Duerr, J.M., Vander Heiden, M.G., Gardner, J.P., Hambor, J.E., Neveu, M.J., Thompson, C.B. (2000). The CD28 and CTLA-4 Receptors Associate with the Serine/ Threonine Phosphatase Pp2a. *Immunity*, *13*(3), 313–322. DOI: 10.1016/ S1074-7613(00)00031-5

Cieślik-Boczula, K. (2018). Influence of Resveratrol on Interactions between Negatively Charged DPPC/DPPG Membranes and Positively Charged Poly-l-Lysine. *Chem. Phys. Lipids*, *214*, 24-34. DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2018.05.004

Cilaker-Mıcılı, S., Özoğul, C. (2007). Diyabette Kök Hücreler. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, *21*(2), 109-117.

Clotman, K., Janssens, K., Specenier, P., Weets, I., De Block, C.E.M. (2018). Programmed cell death-1 inhibitor-induced type 1 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.*, *103*(9), 3144-3154. DOI: 10.1210/jc.2018-00728

Cohen, O., Filetti, S., Castaneda, J., Maranghi, M., Glandt, M. (2016). When Intensive Insulin Therapy (MDI) Fails in Patients With Type 2 Diabetes: Switching to GLP-1 Receptor Agonist Versus Insulin Pump. *Diabetes Care*, *39*(Özel 2), 180-186. DOI: 10.2337/dcS15-3029

Collins, A.V., Brodie, D.W., Gilbert, R.J.C., Iaboni, A., Manso-Sancho, R., Walse, B., Stuart, D.I., van der Merwe, A., Davis, S.J. (2002). The Interaction Properties of Costimulatory Molecules Revisited. *Immunity*, *17*(2), 201-210. DOI: 10.1016/S1074-7613(02)00362-X

Collombat, P., Hecksher-Sorensen, J., Serup, P., Mansouri, A. (2006). Specifying Pancreatic Endocrine Cell Fates. *Mech. Dev.*, *123*(7), 501-512. DOI: 10.1016/j.mod.2006.05.006

Colombo, M., Gregersen, S., Xiao, J., Hermansen, K. (2003). Effects of Ghrelin and other Neuropeptides (CART, MCH, orexin A and B, and GLP-1) on the Release of Insulin from Isolated Rat Islets. *Pancreas*, *27*(2), 161-166. DOI: 10.1097/00006676-200308000-00009

Colucci, F., Bergman, M.L., Penha-Goncalves, C., Cilio, C.M., Holmberg, D. (1997). Apoptosis Resistance of Nonobese Diabetic Peripheral Lymphocytes Linked to the Idd5 Diabetes Susceptibility Region. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, *94*(16), 8670-8674. DOI: 10.1073/pnas.94.16.8670

Colberg, S.R., Kannane, J., Diawara, N. (2021). Physical Activity, Dietary Patterns and Glycemic Management in Active Individuals with Type 1 Diabetes: An Online Survey. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, *18*(17), 9332-9352.

Coppelli, A., Giannarelli, R., Vistoli, F., Del Prato, S., Rizzo, G., Mosca, F., Marchetti, P. (2005). The Beneficial Effects of Pancreas Transplant Alone on Diabetic Nephropathy. *Diabetes Care*, *28*(6), 1366-1370.

Corcione, A., Benvenuto, F., Ferretti, E., Giunti, D., Cappiello, V., Cazzanti, F., Risso, M., Gualandi, F., Mancardi, G.L., Pistoia, V., Uccelli, A. (2006). Human Mesenchymal Stem Cells Modulate B-Cell Functions. *Blood*, *107*(1), 367–372. DOI: 10.1182/blood-2005-07-2657

Coronel, M.M., Liang, J.P., Li, Y., Stabler, C.L. (2019). Oxygen Generating Biomaterial Improves the Function and Efficacy of Beta Cells within a Macroencapsulation Device. *Biomaterials*, 210, 1-11. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2019.04.017

Corrêa-Giannella, M.L., Raposo do Amaral, A.S. (2009). Pancreatic Islet Transplantation. *Diabetol Metab Syndr, 1*(1), 9. DOI: 10.1186/1758-5996-1-9

Coşansu, G.K., Nahcivan, N.Ö. (2004). Erişkinlerde Diyabet Risk Faktörlerinin Belirlenmesi, *İstanbul Üniversitesi F.N.H.Y.O. Dergisi, 13*(52), 103-120.

Cottart, C.H., Nivet-Antoine, V., Beaudeux, J.L. (2013). Review of Recent data on the Metabolism, Biological Effects and Toxicity of Resveratrol in Humans. *Mol. Nutr. Food Res*., *58*(1), 7-21. DOI: 10.1002/mnfr.201200589

Cottart, C.H., Nivet-Antoine, V., Laguillier-Morizot, C., Beaudeux, J.L. (2010). Resveratrol Bioavailability and Toxicity in Humans. *Mol. Nutr. Food. Res*., *54*(1), 7-16. DOI: 10.1002/mnfr.200900437

Cragg, G.M., Newman, D.J. (2013). Natural Products: A Continuing Source of Novel Drug Leads. Biochim. *Biophys. Acta*, *1830*(6), 3670-3695. DOI: 10.1016/j.bbagen.2013.02.008

Creutzfeldt, W. (2005). The [pre-] History of the Incretin Concept. *Regul Pept*., *128*(2), 87-91. DOI: 10.1016/j.regpep.2004.08.004

Cruz, M., Fragoso, J.M., Alvarez-León, E., Escobedo-de-la-Peña, J., Valladares, A., Juárez-Cedillo, T., Pérez-Méndez, O., Vargas-Alarcón, G. (2013). The TGF-B1 and IL-10 Gene Polymorphisms are Associated with Risk of Developing Silent Myocardial Ischemia in the Diabetic Patients. *Immunol. Lett*., *156*(1-2), 18-22. DOI: 10.1016/j.imlet.2013.09.007

Cryer, P.E. (2008). Hypoglycemia: Still the Limiting Factor in the Glycemic Management of Diabetes. *Endocr. Pract*., *14*(6), 750-756. DOI: 10.4158/EP.14.6.750

Cryer, P.E. (2006). Mechanisms of Sympathoadrenal Failure and Hypoglycemia in Diabetes. *J. Clin. Investig*., *116*(6), 1470-1473. DOI: 10.1172/JCI28735

Cryer, P.E. (2012). Minireview: Glucagon in the Pathogenesis of Hypoglycemia and Hyperglycemia in Diabetes. *Endocrinology*, *153*(3), 1039-1048. DOI: 10.1210/en.2011-1499

Cui, Y.X. Shakesheff, K.M., Gary, Adams G. (2006). Encapsulation of RIN-m5F Cells within Ba2+ Cross-linked Alginate Beads Affects Proliferation and Insulin Secretion. *J. Microencapsul*., *23*(6), 663-676. DOI: 10.1080/02652040600789245

Cui, W. Khan, K.M., Ma, X., Chen, G., Desai, C.S. (2020). Human Amniotic Epithelial Cells and Human Amniotic Membrane as a Vehicle for Islet Cell Transplantation. *Transplant. Proc., 52*(3), 982-986. DOI: 10.1016/j.transproceed.2020.01.022

Curran, M., Campbell, J., Drayson, M., Andrews, R., Narendran, P. (2019). Type 1 Diabetes Impairs the Mobilisation of Highly-differentiated CD8+T Cells During a Single bout of Acute Exercise. *Exerc. Immunol. Rev*., *25*, 64-82.

Çağlar, V., Gönül, Y., Songur, A. (2014). Pankreas Anatomisi ve Varyasyonları. *International Journal of Clinical Research*, *2*(2), 77-82.

Çakır, E.P. (2018). Tip 1 Diyabetes Mellituslu Çocuk ve Adolesanlarda Yoğun İnsülin Tedavisi. Z. Aycan (Ed.), *Çocukluk Çağı Diyabeti Tanı ve Tedavi Rehberi* (21-26). Ankara: Çocuk Endokrinolojisi ve Diyabet Derneği.

Çelik-Ateş, D. (2007). Tip 1 Diyabetes Mellituslu Hastalarda Otoimmünitenin Hba1c ile İlişkisi. Uzmanlık Tezi, İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Malatya, 387972.

Çelikbaş, A. (2005). Diyabet Seyrinde Gelişen Enfeksiyonlarda İmmünopatogenez. *Klimik Dergisi*, *18*(1), 17-20.

Çetinkalp, Ş. (2010). Tip 1 Diyabet ve Otoimmunite. *Turkiye Klinikleri J Endocrin-Special Topics*, *3*(2), 51-58.

Çetkin, E. (2013). Bir Yapay Pankreas İçin Kontrol Tasarımı. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya, 341535.

Dabelea, D., Mayer-Davis, E.J., Saydah, S., Imperatore, G., Linder, B., Divers, J., Hamman, R.F. (2014). Prevalence of Type 1 And Type 2 Diabetes Among Children and Adolescents from 2001 To 2009. *Jama*, *311*(17), 1778-1786.

da Silva Meirelles, L., Chagastelles, P.C., Nardi, N.B. (2006). Mesenchymal Stem Cells Reside in Virtually All Post-Natal Organs and Tissues. *J. Cell Sci*., *119*(11), 2204-2213. DOI: 10.1242/jcs.02932

Das, S., Das, D.K. (2007). Anti-inflammatory Responses of Resveratrol. *Inflamm. Allergy Drug Targets*, *6*(3), 168-173. DOI: 10.2174/187152807781696464

Davidov-Pardo, G., McClements, D.J. (2014). Resveratrol encapsulation: Designing Delivery Systems to Overcome Solubility, Stability and Bioavailability Issues. *Trends Food Sci. Technol*., *38*(2), 88-103. DOI: 10.1016/j.tifs.2014.05.003

Davies, L.C., Alm, J.J., Heldring, N., Moll, G., Gavin, C., Batsis, I., Qian, H., Sigvardsson, M., Nilsson, B., Kyllonen, L.E., Salmela, K.T., Carlsson, P.O., Korsgren, O., Blanc, K.L. (2016). Type 1 Diabetes Mellitus Donor Mesenchymal Stromal Cells Exhibit Comparable Potency to Healthy Controls in Vitro. *Stem Cells Transl. Med*., *5*(11), 1485-1495. DOI: 10.5966/sctm.2015-0272

Davis, N.E., Rothkopf, L.N.B., Mirsoian, A., Kojic, N., Kaplan, D.L., Barron, A.E., Fontaine, M.J. (2012). Enhanced Function of Pancreatic Islets Co-Encapsulated With ECM Proteins and Mesenchymal Stromal Cells in a Silk Hydrogel. *Biomaterials*, *33*(28), 6691-6697. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.06.015

Date, Y., Kojima, M., Hosoda, H., Sawaguchi, A., Mondal, M.S., Suganuma, T., Matsukura, S., Kangawa, K., Nakazato, M. (2000). Ghrelin, a Novel Growth Hormone-releasing Acylated Peptide, is Synthesized in a Distinct Endocrine Cell Type in the Gastrointestinal Tracts of Rats and Humans. *Endocrinology*, *141*(11), 4255-4261. DOI: 10.1210/endo.141.11.7757

Debosschere, Y., Depuydt, E., Pauwelyn, G., Beerts, C., van Hecke, L., Verhaert, L., Duchateau, L., Saunders, J., Tack, L., Spaas, J.H. (2020). Safety and Immunomodulatory Properties of Equine Peripheral Blood-derived Mesenchymal Stem Cells in Healthy Cats. *Vet. Immunol. Immunopathol*., *227*, 110083. DOI: 10.1016/j.vetimm.2020.110083

De Brito Oliveira, A.L., Monteiro, V.V.S., Navegantes-Lima, K.C., Reis, J.F., de Souza Gomes, R., Rodrigues, D.V.S., de França Gaspar, S.L., Monteiro, M.C. (2017). Resveratrol Role in Autoimmune Disease-A Mini-Review. *Nutrients*, *9*(12), 1306. DOI: 10.3390/nu9121306

Dedov, I., Shestakova, M., Benedetti, M.M., Simon, D., Pakhomov, I., Galstyan, G. (2016). Prevalence of Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) in the Adult Russian Population (NATION study). *Diabetes Research And Clinical Practice, 115*, 90-95.

De Filette, J., Jansen, Y., Schreuer, M., Everaert, H., Velkeniers, B., Neyns, B., Bert Bravenboer, B. (2016). Incidence of Thyroidrelated Adverse Events in Melanoma Patients Treated with Pembrolizumab. *J. Clin. Endocrinol. Metab*., *101*(11), 4431-4439. DOI: 10.1210/jc.2016-2300

de Klerk E., Hebrok M. (2021). Stem Cell-Based Clinical Trials for Diabetes Mellitus. *Front. Endocrinol. (Lausanne), 12*, 631463. DOI: 10.3389/fendo.2021.631463

De Miguel, M.P., Fuentes-Julián, S., Blázquez-Martınez, A., Pascual, C.Y., Aller, M.A.,́ Arias, J., Arnalich-Montiel, F. (2012). Immunosuppressive Properties of Mesenchymal Stem Cells: Advances and Applications. *Curr. Mol. Med*., *12*(5), 574–591. DOI: 10.2174/156652412800619950

Demirbilerk, H. (2018). Patofizyoloji ve Klinik. Z. Aycan (Ed.), *Çocukluk Çağı Diyabeti Tanı ve Tedavi Rehberi* (13-20). Ankara: Çocuk Endokrinolojisi ve Diyabet Derneği.

De Parlee, S., Lentz, S.I., Mori, H., MacDougald, O.A. (2014). Quantifying Size and Number of Adipocytes in Adipose Tissue. *Methods Enzymol*., *537*, 93-122. DOI: 10.1016/B978-0-12-411619-1.00006-9

Derakhshanfar, S., Mbeleck, R., Xu, K., Zhang, X., Zhong, W., Xing, M. (2018). 3D Bioprinting for Biomedical Devices and Tissue Engineering: A Review of Recent Trends and Advances. *Bioact. Mater*., *3*(2), 144–156. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2017.11.008

De Santi, C., Pietrabissa, A., Spisni, R., Mosca, F., Pacifici, G.M. (2000). Sulphation of Resveratrol, a Natural Compound Present in Wine, and its Inhibition by Natural Flavonoids. *Xenobiotica*, *30*(9), 857-866. DOI: 10.1080/004982500433282

De Schauwer, C., Goossens, K., Piepers, S., Hoogewijs, M.K., Govaere, J.L.J., Smits, K., Meyer, E., Soom, A.V., Van de Walle, G.R. (2014). *Stem Cell Res. Ther*., *5*(1):6. DOI: 10.1186/scrt395

de Vos, P., Faas, M.M., Strand, B., Calafiore, R. (2006). Alginate-Based Microcapsules for Immunoisolation of Pancreatic Islets. *Biomaterials*, *27*(32), 5603–5617. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2006.07.010

DeWeerdt, S. (2018). The Edible Skincare Diet. *Nature*, *563*(7732), 94-95. DOI: 10.1038/d41586-018-07433-7

Detampel, P., Beck, M., Krahenbuhl, S., Huwyler, J. (2012). Drug Interaction Potential of Resveratrol. *Drug Metab. Rev*., *44*(3), 253-265. DOI: 10.3109/03602532.2012.700715

Dezaki, K., Sone, H., Yada, T. (2008). Ghrelin is a Physiological Regulator of Insulin Release in Pancreatic Islets and Glucose Homeostasis. *Pharmacol. Ther*., *118*(2), 239-49. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2008.02.008

Di Gialleonardo, V., de Vries, E.F.J., Di Girolamo, M., Quintero, A.M., Dierckx, R.A.J.O, Signore, A. (2012). Imaging of β-cell Mass and Insulitis in Insulin-Dependent (Type 1) Diabetes Mellitus. *Endocr Rev*, *33*(6), 892-919. DOI: 10.1210/er.2011-1041

DiMeglio, L.A., Evans-Molina, C., Oram, R.A. (2018). Type 1 Diabetes. *The Lancet*, *391*(10138), 2449-2462.

Dimitrioglou, N., Kanelli. M., Papageorgiou, E., Karatzas T, Hatziavramidis, D. (2019). Paving the Way for Successful Islet Encapsulation, Drug Discov. *Today*, *24*(3), 737-748. DOI: 10.1016/j.drudis.2019.01.020

Dinççağ, N. (2011). Diabetes Mellitus Tanı ve Tedavisinde Güncel Durum. *İç Hastalıkları Dergisi*, *18*, 181-223.

Di Nicola, M., Carlo-Stella, C., Magni, M., Milanesi, M., Longoni, P.D., Matteucci, P., Grisanti, S., Gianni, A.M. (2002). Human Bone Marrow Stromal Cells Suppress T-Lymphocyte Proliferation Induced by Cellular or Nonspecific Mitogenic Stimuli. *Blood*, *99*(10), 3838–3843. DOI: 10.1182/blood.V99.10.3838

Di Nicola, M., Carlo-Stella, C., Magni, M., Milanesi, M., Longoni, P.D., Matteucci, P., Grisanti, S., Gianni, A.M. (2002). Human Bone Marrow Stromal Cells Suppress T-Lymphocyte Proliferation Induced by Cellular or Nonspecific Mitogenic Stimuli. *Blood*, *99*(10), 3838-3843. DOI: 10.1182/blood.V99.10.3838

Dionne, K.E., Colton, C.K., Yarmush, M.L. (1993). Effect of Hypoxia on Insulin Secretion by Isolated Rat and Canine Islets of Langerhans. *Diabetes*, *42*(1), 12-21. DOI: 10.2337/diabetes.42.1.12

Djouad, F., Charbonnier, L.M., Bouffi, C., Louis-Plence, P., Bony, C., Apparailly, F., Cantos, C., Jorgensen, C., Noël, D. (2007). Mesenchymal Stem Cells Inhibit the Differentiation of Dendritic Cells Through an Interleukin-6-dependent Mechanism. *Stem Cells*, *25*(8), 2025-2032. DOI: 10.1634/stemcells.2006-0548

Dominici, M., Le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F.C., Krause, D.S., Deans, R.J., Keating, A., Prockop, D.J., Horwitz, E.M. (2006). Minimal Criteria for Defining Multipotent Mesenchymal Stromal Cells. The International Society for Cellular Therapy Position Statement. *Cytotherapy*, *8*(4), 315-317. DOI: 10.1080/14653240600855905

Do, P., Beckwith, K.A., Cheney, C., Tran, M., Beaver, L., Griffin, B.G, Mo, X., Liu, Y., Lapalombella, R., Hertlein, E., Muthusamy, N., Byrd, J.C. (2019). Leukemic B Cell CTLA-4 Suppresses Costimulation of T Cells. *J. Immunol*., *202*(9), 2806. DOI: 10.4049/jimmunol.1801359

Dornonville de la Cour, C., Bjorkqvist, M., Sandvik, A.K., Bakke, I., Zhao, C.M., Chen, D., Hakanson, R. (2001). A-like Cells in the Rat Stomach Contain Ghrelin and do not Operate under Gastrin Control. *Regul. Pept*., *99*(2-3), 141-150. DOI: 10.1016/s0167-0115(01)00243-9

Douroudis, K., Laine, A.P., Heinonen, M., Hermann, R., Lipponen, K., Veijola, R, Simell, O., Knip, M., Uibo, R., Ilonen, J., Kisand, K. (2009). Association of CTLA4 but not ICOS Polymorphisms with Type 1 Diabetes in two Populations with Different Disease Rates. *Hum. Immunol*., *70*(7), 536-9. DOI: 10.1016/j.humimm.2009.04.023

Doğan, A.L., Güç, D. (2004). Sinyal İletimi Mekanizmaları ve Kanser. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 35, 34-42.

Draget, K.I., Strand, B., Hartmann, M., Valla, S., Smidsrød, O., Skjåk-Braek, G.S. (2000). Ionic and Acid Gel Formation of Epimerised Alginates; The Effect of Alge4. *Int. J. Biol. Macromol.*, *27*(2), 117-122. DOI: 10.1016/S0141-8130(00)00115-X

Dranseikiene, D., Schrüfer, S., Schubert, D.W., Reakasame, S., Boccaccini, A.R. (2020). Cell-laden Alginate Dialdehyde-gelatin Hydrogels Formed in 3D Printed Sacrificial gel. J. Mater. Sci. Mater. Med., *31*(3), 31. DOI: 10.1007/s10856-020-06369-7

Driver, J.P., Serreze, D.V., Chen, Y.G. (2011). Mouse Models for the Study of Autoimmune type 1 Diabetes: A NOD to Similarities and Differences to Human Disease. *Semin. Immunopathol*., *33*(1), 67-87. DOI: 10.1007/s00281-010-0204-1

Dröge, W. (2002). Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiol. Rev*., *82*(1), 47-95. DOI: 10.1152/physrev.00018.2001

Drucker, D.J. (2003). Glucagon-like Peptides: Regulators of Cell Proliferation, Differentiation, and Apoptosis. *Mol. Endocrinol*., *17*(2), 161-71. DOI: 10.1210/me.2002-0306

Duncan, A.D., Goff, L.M., Peters, B.S. (2018). Type 2 Diabetes Prevalence and its Risk Factors in HIV: A Cross-Sectional Study. *PloS One*, *13*(3), 1-11.

Dunning, B.E., Foley, J.E., Ahren, B. (2005). Alpha Cell Function in Health and Disease: Influence of Glucagon-like Peptide-1. *Diabetologia*, *48*(9), 1700-13. DOI: 10.1007/s00125-005-1878-0

Dursun, H., Cinaz, P., Bideci, A., Guven, A., Aybay, C., Elbeg, S. (2007). Serum Levels of sL-selectin and Tumour Necrosis Factor-alpha in Children with Type 1 Diabetes Mellitus. *Acta Diabetol*., *44*(1), 1-5. DOI: 10.1007/s00592-007-0233-y

Duvivier-Kali, V.F., Omer, A., Parent, R.J., O'Neil, J.J., Weir, G.C. (2001). Complete Protection of Islets Against Allorejection and Autoimmunity by a Simple Barium-Alginate Membrane. *Diabetes*, *50*(8), 1698-1705. DOI: 10.2337/diabetes.50.8.1698

Egido, E.M., Rodriguez-Gallardo, J., Silvestre, R.A., Marco, J. (2002). Inhibitory Effect of Ghrelin on Insulin and Pancreatic Somatostatin Secretion. *Eur. J. Endocrinol*., *146*(2), 241-244. DOI: 10.1530/eje.0.1460241

Ekblad, E., Sundler, F. (2002). Distribution of Pancreatic Polypeptide and Peptide YY. *Peptides*, *23*(2), 251-61. DOI: 10.1016/s0196-9781(01)00601-5

Elayat, A.A., el-Naggar, M.M., Tahir, M. (1995). An Immunocytochemical and Morphometric Study of the Rat Pancreatic Islets. *J. Anat*., *186*(3), 629-637.

Elgersma, S.V., Ha, M., Yang, J.J., Michaelis, V.K., Unsworth, L.D. (2019). Charge and Peptide Concentration as Determinants of the Hydrogel Internal Aqueous Environment. *Mater. (Basel)*, *12*(5), 832. DOI: 10.3390/ma12050832

Emamaullee, A., Shapiro, A.M.J. (2017). Factors Influencing the Loss of β-cell Mass in Islet Transplantation. *Cell Transplant.*, *16*(1), 1–8. DOI: 10.3727/000000007783464461

English, K. (2013). Mechanisms of Mesenchymal Stromal Cell Immunomodulation. *Immunol. Cell Biol*., *91*(1), 19-26. DOI: 10.1038/icb.2012.56

Ensinck, J.W., Laschansky, E.C., Vogel, R.E., Simonowitz, D.A., Roos, B.A., Francis, B.H. (1989). Circulating Prosomatostatin-derived Peptides. Differential Responses to Food Ingestion. *J. Clin. Investig*., *83*(5), 1580-9. DOI: 10.1172/JCI114055

Erkekoğlu, P., Baydar, T. (2020). Güncel in Vitro Sitotoksisite Testleri. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, *41*(1), 45-63.

Eray E., Balcı M.K. (2015). Tip 2 Diyabet Tedavisi. *Dahili Tıp Bilimleri Dergisi*, *12*(2), 66-71.

Erdogan, C.S., Mørup-Lendal, M., Dalgaard, L.T., Vang, O. (2017). Sirtuin 1 Independent Effects of Resveratrol in INS-1E β-cells. *Chem Biol Interact*., *264*, 52-60. DOI: 10.1016/j.cbi.2017.01.008

Ergün, S., Sivrikaya, S. K. (2012). Tip 1 Diyabetli Çocukların Evde Bakım Uygulamaları ve Yönetimi. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, *1*(2), 90-95.

Ernst, A.U., Bowers, D.T., Wang, L.H., Shariati, K., Plesser, M.D., Brown, N.K., Mehrabyan, T., Ma, M. (2019). Nanotechnology in Cell Replacement Therapies for Type 1 Diabetes. *Adv. Drug Deliv. Rev*., *139*, 116-138. DOI: 10.1016/j.addr.2019.01.013

Eroğlu-Altınova, A., Yetkin, İ. (2011). Tip 1 Diabetes Mellitus'a Yatkınlıkta Rolü Olabilecek Genetik Faktörler. *Marmara Medical Journal*, *24*(2), 126-130.

Ezquer, F., Ezquer, M., Contador, D., Ricca, M., Simon, V., Conget, P. (2012). The Antidiabetic Effect of Mesenchymal Stem Cells is Unrelated to Their Transdifferentiation Potential but to Their Capability to Restore Th1/Th2 Balance and to Modify the Pancreatic Microenvironment. *Stem Cells*, *30*(8), 1664-1674. DOI: 10.1002/stem.1132

Farina, M., Alexander, J.F., Thekkedath, U., Ferrari, M., Grattoni, A. (2019). Cell Encapsulation: Overcoming Barriers in Cell Transplantation in Diabetes and Beyond. *Adv. Drug Deliv. Rev*., *139*, 92-115. DOI: 10.1016/j.addr.2018.04.018

Farrar, M.A., Schreiber, R.D. (1993). The Molecular Cell Biology of Interferon-gamma and its Receptor. *Annu. Rev. Immunol*. 11, 571-611. DOI: 10.1146/annurev.iy.11.040193.003035

Fazeli, Z., Rajabibazl, M., Faramarzi, S., Omrani, M.D., Ghaderian, S.M.H., Naini, N.S. (2021). Correlation of TCF4, GSK, TERT and TERC Expressions with Proliferation Potential of Early and Late Culture of Human Peripheral Blood Mesenchymal Stem Cells. *Cell J*., *22*(4), 431-436. DOI: 10.22074/cellj.2021.6920

Ferrannini, E., Natali, A., Bell, P., Cavallo-Perin, P., Lalic, N., Mingrone, G. (1997). Insulin Resistance and Hypersecretion in Obesity. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *J. Clin. Investig*., *100*(5), 1166-1173. DOI: 10.1172/JCI119628

Farris, P., Krutmann, J., Li, Y.H., McDaniel, D., Krol, Y. (2013). Resveratrol: A Unique Antioxidant Offering a Multi-mechanistic Approach for Treating Aging Skin. *J. Drugs Dermatol*., *12*(12), 1389-1394.

Faustman, D., Schoenfeld, D., Ziegler, R. (1991). T-lymphocyte Changes Linked to Autoantibodies. Association of Insulin Autoantibodies with CD4+CD45R+ Lymphocyte Subpopulation in Prediabetic Subjects. *Diabetes*, *40*(5), 590-597. DOI: 10.2337/diab.40.5.590

Fiallo-Scharer, R., Eisenbarth, G.S. (2004). Patophysiology of Insulin-Dependent Diabetes. O.H. Pescovitz, E.A. Eugster (Ed.), *Pediatric Endocrinology* (1. Baskı), Philadelphia (USA): Lippincott Williams and Wilkins, 411-426.

Field, B.C., Chaudhri, O.B., Bloom, S.R. (2010). Bowels Control Brain: Gut Hormones and Obesity. *Nat. Rev. Endocrinol*., *6*(8), 444-453. DOI: 10.1038/nrendo.2010.93

Figliuzzi, M., Cornolti, R., Perico, N., Rota, C., Morigi, M., Remuzzi, G. (2009). Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Improve Islet Graft Function in Diabetic Rats. *Transplant Proc*., *41*(5), 1797–1800. DOI: 10.1016/j.transproceed.2008.11.015

Filion, T.M., Skelly, J.D., Huang, H., Greiner, D.L., Ayers, D.C., Song, J. (2017). Impaired Osteogenesis of T1DM Bone Marrow-derived Stromal Cells and Periosteum-derived Cells and Their Differential in-vitro Responses to Growth Factor Rescue. *Stem Cell Res. Ther*., *8*(1), 65. DOI: 10.1186/s13287-017-0521-6

Francis, L., Greco, K.V., Boccaccini, A.R., Roether, J.J., English, N.R., Huang, H., Ploeg, R., Ansari, T. (2018). Development of a Novel Hybrid Bioactive Hydrogel for Future Clinical Applications. *J. Biomater. Appl*., *33*(3), 447-465. DOI: 10.1177/0885328218794163

Friedenstein, A.J., Petrakova, K.V., Kurolesova, A.I., Frolova, G.P. (1968). Heterotopic of Bone Marrow. Analysis of Precursor Cells for Osteogenic and Hematopoietic Tissues. *Transplantation*, *6*(2), 230-247.

Friedlander, M.S.H., Nguyen, V.M., Kim, S.K., Bevacqua, R.J. (2021). Pancreatic Pseudoislets: An Organoid Archetype for Metabolism Research. *Diabetes*, *70*(5), 1051-1060. DOI: 10.2337/db20-1115

Fukiage, K., Aoyama, T., Shibata, K.R., Otsuka, S., Furu, M., Kohno, Y., Ito, K., Jin, Y., Fujita, S., Fujibayashi, S., Neo, M., Nakayama, T., Nakamura, T., Toguchida, J., (2008). Expression of Vascular Cell Adhesion Molecule-1 Indicates the Differentiation Potential of Human Bone Marrow Stromal Cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, *365*(3), 406-412. DOI: 10.1016/j.bbrc.2007.10.149

Fukuda, Y., Akagi, T., Asaoka, T., Eguchi, H., Sasaki, K., Iwagami, Y, Yamada, D., Noda, T., Kawamoto, K., Gotoh, K., Kobayashi, S., Mori, M., Doki, Y., Akashi, M. (2018). Layer-By-Layer Cell Coating Technique Using Extracellular Matrix Facilitates Rapid Fabrication and Function of Pancreatic Beta-Cell Spheroids. *Biomaterials*, *160*, 82–91. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2018.01.020

Fulda, S. (2010). Resveratrol and Derivatives for the Prevention and Treatment of Cancer. *Drug Discov. Today*, *15*(17-18), 757-65. DOI: 10.1016/j.drudis.2010.07.005

Galassetti P., Riddell M.C. (2013). Exercise and Type 1 Diabetes (T1DM). *Comprehensive Physiology*, *3*(3), 1309-1336.

Galligan, A., Xu, W., Fourlanos, S., Nankervis, A., Chiang, C., Mant, A.M., Parente, P., Rischin, D., Krishnamurthy, B., Sandhu, S., Colman, P.G. (2018). Diabetes Associated with Immune Checkpoint Inhibition: Presentation and Management Challenges. *Diabet Med*., *35*, 1283-1390. DOI: 10.1111/dme.13762

Gamble, A., Pawlick, R., Pepper, A.R., Bruni, A., Adesida, A., Senior, P.A., Korbutt, G.S., Shapiro, A.M.J. (2018). Improved Islet Recovery and Efficacy Through Co-Culture and CoTransplantation of Islets With Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Plos One*, *13*(11), 0206449. DOI: 10.1371/journal.pone.0206449

Ganong, W.F. (2001). *Tıbbi Fizyoloji* (Çev. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği) (20. Baskı). Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri.

Gao, F., Wu, D.Q., Hu, Y.H., Jin, G.X., Li, G.D., Sun, T.W., Li, F.J. (2008). In Vitro Cultivation of Islet-Like Cell Clusters From Human Umbilical Cord Blood-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Transl. Res*., *151*(6), 293-302. DOI: 10.1016/j.trsl.2008.03.003

Garcia-Garcia, F., Kumareswaran, K., Hovorka, R., Hernando, M.E. (2015). Quantifying the Acute Changes in Glucose with Exercise in Type 1 Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Medicine*, *45*(4), 587-599.

Garcia, T.S., Rech, T.H., Leitao, C.B. (2017). Pancreatic Size and Fat Content in Diabetes: A Systematic Review and Meta-analysis of Imaging Studies. *PLoS One*, *12*(7), 1-15. DOI: 10.1371/ journal.pone.0180911

Garza, B.A.M., Polishevska, K., Pepper, A.R., Korbutt, G.S. (2020). Current State and Evidence of Cellular Encapsulation Strategies in Type 1 Diabetes. *Compr. Physiol*., *10*(3), 839-878. DOI: 10.1002/cphy.c190033

Geissler, S., Textor, M., Kühnisch, J, Könnig, D., Klein, O., Ode, A., Pfitzner, T., Adjaye, J., Kasper, G., Duda, G.N. (2012). Functional Comparison of Chronological and in Vitro Aging: Differential Role of the Cytoskeleton and Mitochondria in Mesenchymal Stromal Cells. *Plos One*, *7*(12), e52700. DOI: 10.1371/journal.pone.0052700

Genc, S., Genc, K., Sercan, O., Kizildag, S., Gulay, Z., Atay, T., Dundar, B., Sakizli, M., Büyükgebiz, A. (2004). Analysis of Cytotoxic T Lymphocyte Antigen-4 (CTLA-4) Exon 1 Polymorphism in Patients with Type 1 Diabetes Mellitus in a Turkish Population. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab*., *17*(5), 731-735. DOI: 10.1515/jpem.2004.17.5.731

Gepts, W., De Mey, J. (1978). Islet Cell Survival Determined by Morphology. An Immunocytochemical Study of the Islets of Langerhans in Juvenile Diabetes Mellitus. *Diabetes*, *27*(1), 251-261.

Gepts, W. (1965). Pathologic Anatomy of the Pancreas in Juvenile Diabetes Mellitus. *Diabetes*, *14*, 619–633.

Gerace, D., Martiniello-Wilks, R., Nassif, N.T., Lal, S., Steptoe, R., Simpson, A.M. (2017). CRISPR-Targeted Genome Editing of Mesenchymal Stem Cell-Derived Therapies for Type 1 Diabetes: A Path to Clinical Success? *Stem Cell Res. Ther*., *8*(1), 62. DOI: 10.1186/s13287-017-0511-8

Gerich, J.E., Campbell, P.J. (1988). Overview of Counterregulation and its Abnormalities in Diabetes Mellitus and Other Conditions. *Diabetes Metab. Rev*., *4*(2), 93-111. DOI: 10.1002/dmr.5610040202

Gerich, J.E. (1988). Lilly Lecture 1988. Glucose Counterregulation and its Impact on Diabetes Mellitus. *Diabetes*, *37*(12), 1608-17. DOI: 10.2337/diab.37.12.1608

Ghasemi, A., Akbari, E., Imani, R. (2021). An Overview of Engineered Hydrogel-Based Biomaterials for Improved Beta-Cell Survival and Insulin Secretion. *Front Bioeng. Biotechnol*., *9*, 662084. DOI: 10.3389/fbioe.2021.662084

Ghoneim, M.A., Refaie, A.F., Elbassiouny, B.L., Gabr, M.M., Zakaria, M.M. (2020). From Mesenchymal Stromal/Stem Cells to Insulin-Producing Cells: Progress and Challenges. *Stem Cell Rev. Rep*., *16*(6), 1156-1172. DOI: 10.1007/s12015-020-10036-3

Gianchecchi, E., Fierabracci, A. (2020). Insights on the Effects of Resveratrol and Some of Its Derivatives in Cancer and Autoimmunity: A Molecule with a Dual Activity. *Antioxidants (Basel)*, *9*(2), 91. DOI: 10.3390/antiox9020091

Giannarelli, R., Coppelli, A., Sartini, M.S., Del Chiaro, M., Vistoli, F., Rizzo, G., Marchetti P. (2006). Pancreas Transplant Alone Has Beneficial Effects on Retinopathy in Type 1 Diabetic Patients. *Diabetologia*, *49*(12), 2977-2982.

Gillespie, K.M. (2006). Type 1 Diabetes: Pathogenesis and Prevention. *CMAJ*, *175*(2), 165-170.

Gimble, J.M., Katz, A.J., Bunnell, B.A. (2007). Adipose-Derived Stem Cells for Regenerative Medicine. *Circ. Res*., *100*(9), 1249-1260. DOI: 10.1161/01.RES.0000265074.83288.09

Glennie, S., Soeiro, I., Dyson, P.J., Lam, E.W.F., Dazzi, F. (2005). Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Induce Division Arrest Anergy of Activated T Cells. *Blood*, *105*(7), 2821–2827. DOI: 10.1182/blood-2004-09-3696

Gnanapavan, S., Kola, B., Bustin, S.A., Morris D.G., McGee, P., Fairclough, P., Bhattacharya S., Carpenter R., Grossman A.B., Korbonits M. (2002). The Tissue Distribution of the mRNA of Grelin and Nsubtypes of its Receptor, GHS-R, in Humans. *Clin Endocrinol Metab*., *87*(6), 2988. DOI: 10.1210/jcem.87.6.8739

Goenka, V., Borkar, T., Desai, A., Das, R.K. (2020). Therapeutic Potential of Mesenchymal Stem Cells in Treating Both Types of Diabetes Mellitus and Associated Diseases. *J. Diabetes Metab. Disord*., *19*(2), 1979-1993. DOI: 10.1007/s40200-020-00647-5

Golay, A., Ybarra, J. (2005). Link Between Obesity and Type 2 Diabetes. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism, 19*(4), 649-663.

Goldberg, D.M., Yan, J., Soleas, G.J. (2003). Absorption of Three Wine-related Polyphenols in Three Different Matrices by Healthy Subjects. *Clin. Biochem*., *36*(1), 79-87. DOI: 10.1016/s0009-9120(02)00397-1

Goldstein, D.M., Gabriel, T. (2005). Pathway to the Clinic: Inhibition of P38 MAP Kinase. A Review of Ten Chemotypes Selected for Develoment. *Curr. Top. Med. Chem., 5*(10), 1017-1029. DOI: 10.2174/1568026054985939

Gonzalez-Hunt, C.P., Wadhwa, M., Sanders, L.H. (2018). DNA Damage by Oxidative Stress: Measurement Strategies for Two Genomes. *Curr. Opin. Toxicol*., *89*(B), 122-135. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2015.01.021

Goswami, D., Lopez, D.A.D., Ward, N.A., Millman, J.R., Duffy, G.P., Dolan, E.B., Roche, E.T. (2021). Design Considerations for Macroencapsulation Devices for Stem Cell Derived Islets for the Treatment of Type 1 Diabetes. *Adv. Sci., 8*(16), e2100820. DOI: 10.1002/ADVS.202100820

Gotthardt, M. (2011). A Therapeutic Insight in Beta-cell Imaging? *Diabetes*, *60*(2), 381-382. DOI: 10.2337/db10-1591

Gökmen, F.G. (2003). *Sistematik Anatomi*. İzmir: Güven Kitabevi.

Gökşen, D. (2018). Çocukluk ve Adolesan Dönemde İnsülin İnfüzyon Pompa Kullanımı. Z. Aycan (Ed.), *Çocukluk Çağı Diyabeti Tanı ve Tedavi Rehberi* (27-34). Ankara: Çocuk Endokrinolojisi ve Diyabet Derneği.

Graham, K.L., Sutherland, R.M., Mannering, S.I. Zhao, Y., Chee, J., Krishnamurthy, B., ... Kay, T. W. (2012). Pathogenic Mechanisms in Type 1 Diabetes: The Islet is Both Target and Driver of Disease. *The Review of Diabetic Studies*, *9*(4), 148-168.

Granéli, C., Karlsson, C., Brisby, H., Lindahl, A., Thomsen, P. (2014). The Effects of PPAR-γ Inhibition on Gene Expression and the Progression of Induced Osteogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells. *Connect. Tissue Res.*, *55*(4), 262-274. DOI: 10.3109/03008207.2014.910198

Graser, R.T., DiLorenzo, T.P., Wang, F., Christianson, G.J., Chapman, H.D., Roopenian, D.C., Nathenson, S.G., Serreze, D.V. (2000). Identification of a CD8 T Cell that can Independently Mediate Autoimmune Diabetes Development in the Complete Absence of CD4 T Cell Helper Functions. *J. Immunol.*, *164*(7), 3913-3918. DOI: 10.4049/jimmunol.164.7.3913

Grau, G.E., Lambert, P.H., Vassalli, P., Piguet, P.F. (1993). Tumor Necrosis Factor/cachectin as an Effector of T Cell-dependent Immunopathology. *Int. Rev. Exp. Pathol.*, *34*(Pt B), 159-171. DOI: 10.1016/b978-0-12-364935-5.50016-x

Green, J.M., Noel, P.J., Sperling, A.I., Walunas, T.L., Gray, G.S., Bluestone, J.A., Thompson, C.B. (1994). Absence of B7-Dependent Responses in CD28-Deficient Mice. *Immunity*, *1*(6), 501-508. DOI: 10.1016/1074-7613(94)90092-2

Gregory, J.M., Moore, D.J., Simmons, J.H. (2013). Type 1 Diabetes Mellitus. *Pediatrics In Review*, *34*(5), 203-215.

Grigore C., Sarbu V., Simion S., Simion I., Poteca, T., Nedelea S. (2010). Pancreatogenic Diabetes Pacient Selection for Pancreatic Islet Transplantation. *J Med Life*, *3*(1), 84-89.

Grill, V., Gutniak, M., Roovete, A., Efendic, S. (1984). A Stimulating Effect of Glucose on Somatostatin Release is Impaired in Noninsulin-dependent Diabetes Mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab*., *59*(2), 293-297. DOI: 10.1210/jcem-59-2-293

Gromada, J., Hoy, M., Buschard, K., Salehi, A., Rorsman, P. (2001). Somatostatin Inhibits Exocytosis in Rat Pancreatic Alpha-cells by G(i2)-dependent Activation of Calcineurin and Depriming of Secretory Granules. *J. Physiol.*, *535*(2), 519-532. DOI: 10.1111/j.1469-7793.2001.00519.x

Guardado, Mendoza, R., Perego, C., Finzi, G., La Rosa, S., Capella, C., Jimenez-Ceja, L.M., Velloso, L.A., Saad, M.J., Sessa, F., Bertuzzi, F., Moretti, S., Dick Jr, E.J., Davalli, A.M., Folli, F. (2015). Delta Cell Death in the Islet of Langerhans and the Progression from Normal Glucose Tolerance to Type 2 Diabetes in Non-human Primates (Baboon, Papio Hamadryas). *Diabetologia*, *58*(8), 1814-1826. DOI: 10.1007/s00125-015-3625-5

Gu, L., Shan, T., Ma, Y.X., Tay, F.R., Niu, L. (2019). Novel Biomedical Applications of Crosslinked Collagen. *Trends Biotechnol*., *37*(5), 464-491. DOI: 10.1016/j.tibtech.2018.10.007

Gupta, P.K., Das, A.K., Chullikana, A., Majumdar, A.S. (2012). Mesenchymal Stem Cells for Cartilage Repair in Osteoarthritis. *Stem Cell Res. Ther*., *3*(4), 25. DOI: 10.1186/scrt116

Guthrie, A.R., Chow, H.H.S., Martinez, J.A. (2017). Effects of Resveratrol on Drug- and Carcinogen-metabolizing Enzymes, Implications for Cancer Prevention. *Pharmacol. Res. Perspect*., *5*(1), e00294. DOI: 10.1002/prp2.294

Gylfe, E., Gilon, P. (2014). Glucose Regulation of Glucagon Secretion. *Diabetes Res. Clin. Pract*., *103*(1), 1-10. DOI: 10.1016/j.diabres.2013.11.019

Gülcü, S., Arslan, S., Arslanoğlu, İ. (2020). Tip 1 Diyabetli Adolesanlarda Web Tabanlı Egzersiz Eğitiminin Etkinliği. *Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, *10*(3), 279-288.

Haddad, R., Araujo, F.S. (2014). Mechanisms of t-cell Immunosuppression by Mesenchymal Stromal Cells: What do we Know so Far ? *Biomed. Res. Int*., 216806. DOI: 10.1155/2014/216806

Hakonarson, H., Grant, S.F.A., Bradfield, J.B., Marchand, L., Kim, C.E., Glessner, J.T., …Polychronakos, C. (2007). A Genome-wide Association Study Identifies KIAA0350 as a Type 1 Diabetes Gene. *Nature*, *448*(7153), 591-594. DOI: 10.1038/nature06010

Haliloğlu, B., Aycan, Z., (2018). Diyabet Tiplendirmesinde Zorluklar ve Ayırıcı Tanıda Yardımcı Yöntemler. Z. Aycan (Ed.), *Çocukluk Çağı Diyabeti Tanı ve Tedavi Rehberi* (5-12). Ankara: Çocuk Endokrinolojisi ve Diyabet Derneği.

Haller, M.J., Atkinson, M.A., Schatz, D. (2005). Type 1 Diabetes Mellitus: Etiology, Presentation and Management. *Pediatr Clin North Am*, *52*, 1553-1578.

Hamedi, H., Moradi, S., Hudson, S.M., Tonelli, A.E. (2018). Chitosan Based Hydrogels and Their Applications for Drug Delivery in Wound Dressings: A Review. *Carbohydr. Polym*., *199*, 445-460. DOI: 10.1016/j.carbpol.2018.06.114

Hanley, S.C., Austin, E., Assouline-Thomas, B., Kapeluto, J., Blaichman, J., Moosavi, M., Petropavlovskaia, M., Rosenberg, L. (2010). β-cell Mass Dynamics and Islet Cell Plasticity in Human Type 2 Diabetes. *Endocrinology*, *151*(4), 1462-72. DOI: 10.1210/en.2009-1277

Hansen, E., Sahasrabudhe, D., Sievert, L. (2016). A Case Report of Insulindependent Diabetes as Immune-related Toxicity of Pembrolizumab: Presentation, Management and Outcome. *Cancer Immunol. Immunother*., *65*(6), 765-767. DOI: 10.1007/s00262-016-1835-4

Hao, Y., Cook, M.C. (2022). Inborn Errors of Immunity and Their Phenocopies: CTLA4 and PD-1. *Front Immunol*., 12, 806043. DOI: 10.3389/fimmu.2021.806043

Hannon, T.S., Rao, G., Arslanian, S.A. (2005). Childhood Obesity and Type 2 Diabetes Mellitus. *Pediatrics*, *116*(2), 473-480.

Hashemian, S.J., Kouhnavard, M., Nasli-Esfahani, E. (2015). Mesenchymal Stem Cells: Rising Concerns Over Their Application in Treatment of Type one Diabetes Mellitus. *J Diabetes Res*., 1-19.

Hashemi, M., Kalalinia, F. (2015). Application of Encapsulation Technology in Stem cell Therapy. *Life Sci., 143*, 139-146. DOI: 10.1016/j.lfs.2015.11.007

Harbo, H.F., Celius, E.G., Vartdal, F., Spurkland, A. (1999). CTLA4 Promoter and Exon 1 Dimorphisms in Multiple Sclerosis. *Tissue Antigens*, *53*(1), 106-110. DOI: 10.1034/j.1399-0039.1999.530112.x

Harrington, S., Karanu, F., Ramachandran, K., Williams, S.J., Bittel, L.S. (2022). PEGDA Microencapsulated Allogeneic Islets Reverse Canine Diabetes without Immunosuppression. *Plos One*, *17*(5), e0267814. DOI: 10.1371/journal.pone.0267814

Harris, S.S. (2005). Vitamin D in Type 1 Diabetes Prevention. *The Journal of Nutrition*, *135*(2), 323-325.

Hauge-Evans, A.C., King, A.J., Carmignac, D., Richardson, C.C., Robinson, I.C., Low, M.J., Christie, M.R., Persaud, S.J. Jones, P.M. (2009). Somatostatin Secreted by Islet Delta-cells Fulfills Multiple Roles as a Paracrine Regulator of Islet Function. *Diabetes*, *58*(2), 403-411. DOI: 10.2337/db08-0792

Hayflick, L., Moorhead, P.S. (1961). The Serial Cultivation of Human Diploid Cell Strains. *Exp. Cell Res*., *25*, 585-621. DOI: 10.1016/0014-4827(61)90192-6

He, Q., Wan, C., Li, G. (2007). Multipotent Mesenchymal Stromal Cells in Blood, *Stem Cells*, *25*(1):69-77. DOI: 10.1634/stemcells.2006-0335

Hekim, M. (2015). Tip II Diyabet, Hipertansiyon ve Obezitenin Önlenmesinde Fiziksel Aktivitenin Önemi. *Uluslararası Sosyal Araştırmalar Dergisi*, *8*(38), 1081-1086.

Hellman, B. (1959a). Actual Distribution of the Number and Volume of the Islets of Langerhans in Different Size Classes in Non-diabetic Humans of Varying Ages. *Nature*, *184*(19), 1498-1499. DOI: 10.1038/1841498a0

Hellman, B. (1959b). The Numerical Distribution of the Islets of Langerhans at Different Ages of the Rat. *Acta Endocrinol*., *32*, 63-77. DOI: 10.1530/acta.0.xxxii0063

Hellman, B. (1959c). The Volumetric Distribution of the Pancreatic Islet Tissue in Young and Old Rats. *Acta Endocrinol*., *31*(1), 91-106. DOI: 10.1530/acta.0.xxxi0091

Henderson, J.R., Daniel, P.M., Fraser, P.A. (1981). The Pancreas as a Single Organ: The Influence of the Endocrine upon the Exocrine Part of the Gland. *Gut*, *22*(2), 158-167. DOI: 10.1136/gut.22.2.158

Herbst, A., Kordonouri, O., Schwab, K.O., Schmidt, F., Holl, R.W. (2007). Impact of Physical Activity on Cardiovascular Risk Factors in Children With Type 1 Diabetes: A Multicenter Study of 23,251 Patients. *Diabetes Care*, *30*(8), 2098-2100.

Hering, B.J., Wijkstrom, M., Graham, M.L., Hardstedt, M., Aasheim, T.C., Jie, T., … Schuurman, H.J. (2006). Prolonged Diabetes Reversal after Intraportal Xenotransplantation of Wild-Type Porcine Islets in Immunosuppressed Nonhuman Primates. *Nat. Med*., *12*(3), 301–303. DOI: 10.1038/nm1369

Hermanns, N., Kulzer, B., Ehrmann, D., Bergis-Jurgan, N., Haak, T. (2013). The Effect of a Diabetes Education Programme (PRIMAS) for People with Type 1 Diabetes: Results of a Randomized Trial. *Diabetes Research and Clinical Practice*, *102*(3), 149-157.

Hern, D.L., Hubbell, J.A. (1998). Incorporation of Adhesion Peptides Into Nonadhesive Hydrogels Useful for Tissue Resurfacing. *J. BioMed. Mater. Res.*, *39*(2), 266–276. DOI: 10.1002/(sici)1097-4636(199802)39:2<266::aid-jbm14>3.0.co;2-b

Herold, K.C., Bundy, B.N., Long, S.A., Bluestone, J.A., DiMeglio, L.A., Dufort, M.J., Gitelman, S.E., Gottlieb, P.A., Krischer, J.P., Linsley, P.S., Marks, J.B., Moore, W., Moran, A., Rodriguez, H., Russell, W.E., Schatz, D., Skyler, J.S., Tsalikian, E., Wherrett, D.K., Ziegler, A.G., Greenbaum, C.J. (2019). Type 1 Diabetes TrialNet Study Group, An Anti-CD3 Antibody, Teplizumab, in Relatives at Risk for Type 1 Diabetes. *N. Engl. J. Med*., *381*(7), 603-613. DOI: 10.1056/NEJMoa1902226

Herrera, M.B., Bussolati, B., Bruno, S., Fonsato, V., Romanazzi, G.M., Camussi, G. (2004). Mesenchymal Stem Cells Contribute to the Renal Repair of Acute Tubular Epithelial Injury. *Int. J. Mol. Med*.,*14*(6), 1035-1041.

Hillberg, A.L., Kathirgamanathan, K., Lam, J.B., Law, L.Y., O. Garkavenko, Elliott, R.B. (2013). Improving Alginate-poly-L-ornithine-alginate Capsule Biocompatibility Through Genipin Crosslinking. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, *101*(2), 258-268. DOI: 10.1002/jbm.b.32835

Hill, R.S., Cruise, G.M., Hager, S.R., Lamberti, F.V., Yu, X., Garufis, C.L., Yu, Y., Mundwiler, K.E., Cole, J.F., Hubbell, J.A., Hegre, O.D., Scharp, D.W. (1997). Immunoisolation of Adult Porcine Islets for the Treatment of Diabetes Mellitus. The Use of Photopolymerizable Polyethylene Glycol in the Conformal Coating of Mass-Isolated Porcine Islets. *Ann. N. Y. Acad. Sci*., *831*, 332–343. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1997.tb52208.x

Hofmann, J.W., McBryan, T., Adams, P.D., Sedivy, J.M. (2014). The Effects of Aging on the Expression of Wnt Pathway Genes in Mouse Tissues. *Age (Dordr), 36*(3), 9618. DOI: 10.1007/s11357-014-9618-3

Hokfelt, T., Efendic, S., Hellerstrom, C., Johansson, O., Luft, R., Arimura, A. (1975a). Cellular Localization of Somatostatin in Endocrine-like Cells and Neurons of the Rat with Special References to the A1-cells of the Pancreatic Islets and to the Hypothalamus. *Acta Endocrinol., 200*, 5-41.

Hokfelt, T., *Johansson, O., Efendic, S., Luft, R., Arimura, A. (1975b). Are there* Somatostatin-containing Nerves in the Rat Gut? Immunohistochemical Evidence for a New Type of Peripheral Nerves. *Experientia*, *31*(7), 852-854. DOI: 10.1007/BF01938502

Holzer, P., Reichmann, F., Farzi, A. (2012). Neuropeptide Y, Peptide YY and Pancreatic Polypeptide in the Gut-Brain Axis. *Neuropeptides, 46*(6), 261-274. DOI: 10.1016/j.npep.2012.08.005

Hopkins, M., Beaulieu, K., Finlayson, G. (2020). Psychobiology of Appetite and Food Reward in Adults with Type 1 and Type 2 Diabetes: Is there a Role for Exercise? *Can J Diabetes*, *44*(8), 768-774.

Hornblad, A., Cheddad, A., Ahlgren, U. (2011). An Improved Protocol for Optical Projection Tomography Imaging Reveals Lobular Heterogeneities in Pancreatic Islet and Beta-cell Mass Distribution. *Islets*, *3*(4), 204-208. DOI: 10.4161/isl.3.4.16417

Houston, J.P., Yang, Z., Sambrano, J., Li, W., Nichani, K., Vacca, G. (2018). Overview of Fluorescence Lifetime Measurements in Flow Cytometry. *Methods Mol. Biol., 1678,* 421-446. DOI: 10.1007/978-1-4939-7346-0_18

Howells, L.M., Berry, D.P., Elliott, P.J., Jacobson, E.W., Hoffmann, E., Hegarty, B., Brown, K., Steward, W.P., Gescher, A.J. (2011). Phase I randomized, double-blind pilot study of micronized resveratrol (SRT501) in patients with hepatic metastases – safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics. *Cancer Prevention Res., 4*(9), 1419-1425. DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-11-0148

Hryhorowicz, M., Lipinski, D., Hryhorowicz, S., Nowak-Terpilowska, A., Ryczek, N., Zeyland, J. (2020). Application of Genetically Engineered Pigs in Biomedical Research. *Genes (Basel), 11*(6), 670. DOI: 10.3390/genes11060670

Hu, S., de Vos, P. (2019). Polymeric Approaches to Reduce Tissue Responses Against Devices Applied for Islet-cell Encapsulation. *Front. Bioeng. Biotechnol., 7*, 134. DOI: 10.3389/fbioe.2019.00134

Huang, L., Xiang, J., Cheng, Y., Xiao, L., Wang, Q., Zhang, Y., Xu, T., Chen, Q., Xin, H., Wang, X. (2021). Regulation of Blood Glucose Using Islets Encapsulated in a Melanin-Modified ImmuneShielding Hydrogel. *ACS Appl. Mater. Interf*., *13*(11), 12877–12887. DOI:10.1021/acsami.0c23010

Huang, W., Connor, E., Rosa, T.D., Muir, A., Schatz, D., Silverstein, J., Crockett, S., She, J.X., Maclaren, N.K. (1996). Although DR3-DQB1*0201 May be Associated with Multiple Component Diseases of the Autoimmune Polyglandular Syndromes, The human Leukocyte Antigen DR4-DQB1*0302 Haplotype is Implicated Only in Beta-cell Autoimmunity. *J. Clin. Endocrinol. Metab*., *81*(7), 2559-2563. DOI: 10.1210/jcem.81.7.8675578

Huising, M.O. (2015). Tuning to the Right Signal. *Diabetologia*, *58*(6), 1146-1148. DOI: 10.1007/s00125-015-3567-y

Hummel, S., Pflüger, M., Hummel, M., Bonifacio, E., Ziegler, A. G. (2011). Primary Dietary Intervention Study to Reduce the Risk of Islet Autoimmunity in Children at Increased Risk for Type 1 Diabetes: The Babydiet Study. *Diabetes Care*, *34*(6), 1301-1305.

Husseiny, M.I., Kaye, A., Zebadua, E., Kandeel, F., Ferreri, K. (2014). Tissue-specific Methylation of Human Insulin Gene and PCR Assay for Monitoring Beta Cell Death. *Plos One*, *9*(4), e94591. DOI: 10.1371/journal.pone.0094591

Husseiny, M.I., Kuroda, A., Kaye, A.N., Nair, I., Kandeel, F., Ferreri, K. (2012). Development of a Quantitative Methylation-specific Polymerase Chain Reaction Method for Monitoring Beta Cell Death in Type 1 Diabetes. *Plos One*, *7*(10), e47942. DOI: 10.1371/journal.pone.0047942

Hwang, C.M., Sant, S., Masaeli, M., Kachouie, N.N., Zamanian, B., Lee, S.H., Khademhosseini, A. (2010). Fabrication of Three-dimensional Porous Cell-laden Hydrogel for Tissue Engineering. *Biofabrication*, *2*(3), 035003. DOI: 10.1088/1758-5082/2/3/035003

Hwang, E.S. (2014). Senescence Suppressors: Their Practical Importance in Replicative Lifespan Extension in Stem Cells. *Cell Mol. Life Sci*., *71*(21), 4207-4219. DOI: 10.1007/s00018-014-1685-1

Hwang, G., Jeong, H., Yang, H.K., Kim, H.S., Hong, H., Kim, N.J., Oh, I.H., Yim, H.W. (2019). Efficacies of Stem Cell Therapies for Functional Improvement of the b Cell in Patients with Diabetes: A Systematic Review of Controlled Clinical Trials. *Int. J. Stem Cells*, *12*(2), 195-205. DOI: 10.15283/ijsc18076

Hwang, P.T., Shah, D.K., Garcia, J.A., Bae, C.Y., Lim, D.J., Huiszoon, R.C., Grant C Alexander, G.C., Jun, H.W. (2016). Progress and Challenges of the Bioartificial Pancreas. Nano Converg., *3*(1), 28. DOI: 10.1186/s40580-016-0088-4

Hyun, U., Sohn, J.W. (2022). Autonomic Control of Energy Balance and Glucose Homeostasis. *Exp Mol Med*. DOI: 10.1038/s12276-021-00705-9

Iavicoli, I., Fontana, L., Nordberg, G. (2016). The Effects of Nanoparticles on the Renal System. Crit. *Rev. Toxicol.*, *46*(6), 490–560. DOI: 10.1080/10408444.2016.1181047

İlhan, T., Erdost, H. (2009). Ghrelin. *Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med*., *28*(1), 67-74.

Ichii, H., Inverardi, L., Pileggi, A., Molano, R.D., Cabrera, O., Caicedo, A., Messinger, S., Kuroda, Y., Berggren, P.O., Ricordi, C. (2005). A Novel Method for the Assessment of Cellular Composition and Beta-cell Viability in Human Islet Preparations. *Am. J. Transplant*., *5*(7), 1635-1645. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2005.00913.x

Ihara, K., Ahmed, S., Nakao, F., Kinukawa, N., Kuromaru, R., Matsuura, N., Iwata, I., Nagafuchi, S., Kohno, H., Miyako, K., Hara, T. (2001). Association Studies of CTLA-4, CD28, and ICOS Gene Polymorphisms with Type 1 Diabetes in the Japanese Population. *Immunogenetics*, *53*(6), 447-54. DOI: 10.1007/s002510100351

Ikegami, H., Noso, S., Babaya, N., Kawabata, Y. (2011). Genetics and Pathogenesis of Type 1 Diabetes: Prospects for Prevention and Intervention. *Journal of Diabetes Investigation*, *2*(6), 415-420,

Imkampe, A.K., Gulliford, M.C. (2011). Increasing Socio-Economic İnequality in Type 2 Diabetes Prevalence—Repeated Cross-Sectional Surveys in England 1994-2006. *The European Journal of Public Health*, *21*(4), 484-490.

In't Veld, P., Marichal, M. (2010). Microscopic Anatomy of the Human Islet of Langerhans. *Adv Exp Med Biol*, *654*, 1-19. DOI: 10.1007/978-90-481-3271-3_1

Ionescu-Tirgoviste, C., Gagniuc, P.A., Gubceac, E., Mardare, L., Popescu, I., Dima, S., Militaru, M. (2015). A 3D Map of the Islet Routes Throughout the Healthy Human Pancreas. *Sci. Rep*., 5, 14634. DOI: 10.1038/srep14634

Irwin, N., Flatt, P.R. (2013). Enteroendocrine Hormone Mimetics for the Treatment of Obesity and Diabetes. *Curr. Opin. Pharmacol*., *13*(6), 989-995. DOI: 10.1016/j.coph.2013.09.009

Ito, D., Ogasawara, K., Iwabuchi, K., Inuyama, Y., Onoé, K. (2000). Induction of CTL Responses by Simultaneous Administration of Liposomal Peptide Vaccine with Anti-CD40 and Anti-CTLA-4 MAB. *J. Immunol*., *164*(3), 1230-1235. DOI: 10.4049/jimmunol.164.3.1230

Ito, T., Itakura, S., Todorov, I., Rawson, J., Asari, S., Shintaku, J., Nair, I., Ferreri, K., Kandeel, F., Mullen, Y. (2010). Mesenchymal Stem Cell and Islet Co-Transplantation Promotes Graft Revascularization and Function. *Transplantation*, *89*(12), 1438-1445. DOI: 10.1097/TP.0b013e3181db09c4

Ivakine, E.A., Gulban, O.M., Mortin-Toth, S.M., Wankiewicz, E., Scott, C., Spurrell, D., Canty, A., Danska, J.S. (2006). Molecular Genetic Analysis of the Idd4 Locus Implicates the IFN Response in Type 1 Diabetes Susceptibility in Nonobese Diabetic Mice. *J. Immunol.*, *176*(5), 2976-2990. DOI: 10.4049/jimmunol.176.5.2976

Iwasaki, O., Tanizawa, H., Kim, K.D., Kossenkov, A., Nacarelli, T., Tashiro, S., Majumdar, S., Showe, L.C., Zhang, R., Noma, K.I. (2019). Involvement of Condensin in Cellular Senescence Through Gene Regulation and Compartmental Reorganization. *Nat. Commun*., *10*(1), 5688. DOI: 10.1038/s41467-019-13604-5

İmamoğlu, Ş., Özyardımcı Ersoy, C. (2009). *Diabetes Mellitus 2009*. İstanbul: Deomed.

İnan, S., Özbilgin, K. (2011). Kök Hücre Biyolojisi. *Sağlıkta Birikim Dergisi*, *5*, 11-21,

Jager, J., Grémeaux, T., Cormont, M., Le Marchand-Brustel, Y.,Tanti, J.F. (2007). Interleukin-1beta-induced Insulin Resistance in Adipocytes Through Down-regulation of Insulin Receptor Substrate-1 Expression. *Endocrinology*, *148*(1), 241-251. DOI: 10.1210/en.2006-0692

Jakab, M., Lach, S., Bacová, Z., Langelüddecke, C., Strbák, V., Schmidt, S., Iglseder, E., Paulmichl, M., Geibel, J., Ritter, M. (2008). Resveratrol Inhibits Electrical Activity and Insulin Release from Insulinoma Cells by Block of Voltage-gated Ca+ Channels and Swelling-dependent Cl- Currents. *Cell Physiol Biochem*., *22*(5-6), 567-578. DOI: 10.1159/000185541

Jang M., Cai, L., Udeani, G.O., Slowing, K.V., Thomas, C.F., Beecher, C.W., Fong, H.H., Farnsworth, N.R., Kinghorn, A.D., Mehta, R.G., Moon, R.C., Pezzuto, J.M., (1997). Cancer Chemopreventive Activity of Resveratrol, A Natural Product Derived from Grapes. *Science*, *275*(5297), 218-220. DOI: 10.1126/science.275.5297.218

Jang, J.Y., Lee, D.Y., Park, S.J., Byun, Y. (2004). Immune Reactions of Lymphocytes and Macrophages Against PEG-Grafted Pancreatic Islets. *Biomaterials*, *25*(17), 3663–3669. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2003.10.062

Jansen, L.E., Amer, L.D., Chen, E.Y., Nguyen, T.V., Saleh, L.S., Emrick, T., Liu, W.F., Bryant, S.J., Peyton, S.R. (2018). Zwitterionic PEG-PC Hydrogels Modulate the Foreign Body Response in a Modulus-Dependent Manner. *Biomacromolecules*, *19*(7), 2880–2888. DOI: 10.1021/acs.biomac.8b00444

Jansson, L., Barbu, A., Bodin, B., Drott, C.J., Espes, D., Gao, X., Grapensparr, L., Källskog, Ö., Lau, J., Liljebäck, H., Palm, F., Quach, M., Sandberg, M., Strömberg, V., Ullsten, S., Carlsson, P.O. (2016). Pancreatic Islet Blood Flow and its Measurement. *Ups. J. Med. Sci*., *121*(2), 81-95. DOI: 10.3109/03009734.2016.1164769

Jeandet, P., Bessis, R., Maume, B.F., Meunier, P., Peyron, D., Trollat, P. (1995). Effect of Enological Practices on the Resveratrol Isomer Content of Wine. *J. Agric. Food Chem*., *43*(2), 316–319. DOI: 10.1021/jf00050a010

Jeandet, P., Delaunois, B., Conreux, A., Donnez, D., Nuzzo, V., Cordelier, S., Clément, C., Courot, E. (2010). Biosynthesis, Metabolism, Molecular Engineering, and Biological Functions of Stilbene Phytoalexins in Plants. *Biofactors*, *36*(5), 331-341. DOI: 10.1002/biof.108

Jeandet, P., Sobarzo-Sánchez, E., Clément, C., Nabavi, S.F., Habtemariam, S., Nabavi, S.M., Cordelier, S. (2018). Engineering Stilbene Metabolic Pathways in Microbial Cells. *Biotechnol. Adv*., *36*(8), 2264-2283. DOI 10.1016/j.biotechadv.2018.11.002

Jeandet, P., Sobarzo-Sánchez, E., Sanches, Silva, A., Clément, C., Nabavi, S.F., Battino, M., Rasekhian, M., Belwal, T., Habtemariam, S., Koffas, M., Nabavi, S.M. (2019). Whole-cell Biocatalytic, Enzymatic and Green Chemistry Methods for the Production of Resveratrol and its Derivatives. *Biotechnol. Adv*., 39, 107461. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2019.107461

Jhou, J.P., Chen, S.J., Huang, H.Y., Lin, W.W., Huang, D.Y., Tzeng, S.J. (2017). Upregulation of FcγRIIB by Resveratrol via NF-κB Activation Reduces B-cell Numbers and Ameliorates Lupus. *Exp. Mol. Med*., *49*(9), e381. DOI: 10.1038/emm.2017.144

Jiang, W., Xu J. (2020). Immune Modulation by Mesenchymal Stem Cells. *Cell Prolif*., *53*(1), e12712. DOI: 10.1111/cpr.12712

Jiang, X.X., Zhang, Y., Liu, B., Zhang, S.X., Wu, Y., Yu, X.D., Mao, N. (2005). Human Mesenchymal Stem Cells Inhibit Differentiation and Function of Monocyte-derived Dendritic Cells. *Blood*, *105*(10), 4120-4126. DOI: 10.1182/blood-2004-02-0586

Jiang, Y., Mishima, H., Sakai, S., Liu, Y.K., Ohyabu, Y., Uemura, T. (2008). Gene Expression Analysis of Major Lineage-defining Factors in Human Bone Marrow Cells: Effect of Aging, Gender, and Age-related Disorders. *J.Orthop. Res*., *26*(7), 910-917. DOI: 10.1002/jor.20623

Johnson, J.J., Nihal, M., Siddiqui, I.A., Scarlett, C.O., Bailey, H.H., Mukhtar, H., Ahmad, N. (2011). Enhancing the Bioavailability of Resveratrol by Combining it with Piperine. *Mol. Nutr. Food Res*., *55*(8),1169-1176. DOI: 10.1002/mnfr.201100117.

Jones, B.C., Ford, C. (2017). Islet cell replacement therapy for insulin-dependent diabetes. CADTH Issues in Emerging Health Technologies. *Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health*, 157, 1-9.

Joseph, A., Baur, S., David, A.S. (2006). Therapeutic Potential of Resveratrol: The in Vivo Evidence. *Nature Reviews Drug Discover*, *5*, 493-506.

Juan, M.E., Buenafuente, J., Casals, I., Planas, J.M. (2002). Plasmatic Levels of Trans-Resveratrol in Rats. *Food Res. Int*., *35*(2-3), 195-199. DOI: 10.1016/S0963-9969(01)00183-1

Juárez, G.A.P., Spasojevic, M., Faas, M.M., de Vos, P. (2014). Immunological and Technical Considerations in Application of Alginate-Based Microencapsulation Systems. *Front. Bioeng. Biotechnol*., *2*, 26. DOI: 10.3389/fbioe.2014.00026

Jung, E.M., Kwon, O., Kwon, K.S., Cho, Y.S., Rhee, S.K., Min, J.K., Oh, D.B. (2011). Evidences for Correlation Between the Reduced VCAM-1 Expression and Hyaluronan Synthesis During Cellular Senescence of Human Mesenchymal Stem Cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun*., *404*(1), 463-469. DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.12.003

Jung, H.J., Hwang, I.A., Sung, W.S., Kang, H., Kang, B.S., Seu, Y.B., Lee, D.G. (2005). Fungicidal Effect of Resveratrol on Human Infectious Fungi. *Arch. Pharm. Res*., *28*(5), 557-560. DOI: 10.1007/BF02977758

Jung, Y., Bauer, G., Nolta, J.A. (2012). Concise Review: Induced Pluripotent Stem Cell-derived Mesenchymal Stem Cells: Progress Toward Safe Clinical Products. *Stem Cells*, *30*(1), 42-7. DOI: 10.1002/stem.727

Junker, K., Egeberg, J., Kromann, H., Nerup, J. (1977). An Autopsy Study of the Islets of Langerhans in Acuteonset Juvenile Diabetes Mellitus. *Acta Pathol Microbiol Scand A*, *85*, 699–706.

Jurgens, C.A, Toukatly, M.N, Fligner, C.L, Udayasankar, J., Subramanian. S.L., Zraika, S., Aston-Mourney, K., Carr, D.B., Westermark, P., Westermark, G.T., Kahn, S.E., Hull, R.L. (2011). β-Cell loss and β-cell Apoptosis in Human Type 2 Diabetes are Related to Islet Amyloid Deposition. *Am J Pathol*, *178*(6), 2632-2640. DOI: 10.1016/ j.ajpath.2011.02.036

Kahanovitz, L., Sluss, P.M., Russell, S.J. (2017). Type 1 Diabetes–A Clinical Perspective. *Point of Care*, *16*(1), 37-40.

Kailey, B., van de Bunt, M., Cheley, S., Johnson, P.R., MacDonald, P.E., Gloyn, A.L., Rorsman, P., Braun M. (2012). Sstr2 is the Functionally Dominant Somatostatin Receptor in Human Pancreatic Beta- and Alpha-cells. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*., *303*(9), E1107-E1116. DOI: 10.1152/ajpendo.00207.2012

Kalra, S., Kalra, B., Sharma, A. (2010). Prevalence of Type 1 Diabetes Mellitus in Karnal District, Haryana State, India. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, *2*(1), 1-3.

Kang, E.J., Byun, J.H., Choi, Y.J., Maeng, G.H., Lee, S.L., Kang, D.H., Lee, J.S., Rho, G.J., Park, B.W. (2010). In Vitro and in Vivo Osteogenesis of Porcine Skin-Derived Mesenchymal Stem Cell-Like Cells With a Demineralized Bone and Fibrin Glue Scaffold. *Tissue Eng. Part A.*, *16*(3), 815–827. DOI: 10.1089/ten.tea.2009.0439

Kang, E.J., Lee, Y.H., Kim, M.J., Lee, Y.M., Kumar, B.M., Jeon, B.G., Sun-A Ock, K.H.J., Rho. G.J. (2013). Transplantation of Porcine Umbilical Cord Matrix Mesenchymal Stem Cells in a Mouse Model of Parkinson's Disease. *J. Tissue Eng. Regener. Med*., *7*(3),169-182. DOI: 10.1002/term.504

Karamanou, M., Protogerou, A., Tsoucalas, G., Androutsos, G., Poulakou-Rebelakou, E. (t.y.). Milestones in the History Of Diabetes Mellitus: The Main Contributors. *World Journal of Diabetes*, *7*(1), 1-7.

Karaöz, E., Ovalı, E. (2004). *Kök Hücreler*. Türkiye Derya Kitapevi.

Karaöz, E. (2002). *Özel Histoloji*. Isparta: SDÜ Basımevi.

Karimi, R., Barabadi, Z., Larijani, B., Tavoosidana, G., Lotfibakhshaiesh, N., Absalan, M., Jabbarpour, Z., Ostad, S.N., Ai, J. (2021). Comparison of Insulin Secretion by Transduced Adipose-derived and Endometrial-derived Stem Cells in 2D and 3D Cultures on Fibrin Scaffold. *J. Biomed. Mater. Res. A*, *109*(6), 1036-1044. DOI: 10.1002/jbm.a.37094

Karnieli, O., Izhar-Prato, Y., Bulvik, S., Efrat, S. (2007). Generation of Insulin-Producing Cells from Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells by Genetic Manipulation. *Stem Cells*, *25*(11), 2837-2844. DOI: 10.1634/stemcells.2007-0164

Kashyap, N., Kumar, N., Kumar, M.N. (2005). Hydrogels for Pharmaceutical and Biomedical Applications. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst*., *22*(2), 107-149. DOI: 10.1615/CritRevTherDrugCarrierSyst.v22.i2.10

Kassis, I., Zangi, I., Rivkin, R., Lendansky, L., Samuel, S., Marx, G., Gorodetsky. (2006). Isolation Of Mesenchymal Stem Cells From G-CSF-Mobilized Human Peripheral Blood Using fibrin Microbeads. *Bone Marrow Transplant*, *37*(10), 967-76. DOI: 10.1038/sj.bmt.1705358

Kaufman, K.A. Bowen, J.A. Tsai, A.F., Bluestone, J.A., Hunt, J.S., Ober, C. (1999). The CTLA-4 Gene is Expressed in Placental Fibroblasts. *Mol. Hum. Reprod*., *5*(1), 84-87. DOI: 10.1093/molehr/5.1.84

Kaur, G., Padiya, R., Adela, R., Putcha, U.K., Reddy, G.S., Reddy, B.R., Kumar, K.P., Chakravarty, S., Banerjee, S.K. (2016). Garlic and Resveratrol Attenuate Diabetic Complications, Loss of β-cells, Pancreatic and Hepatic Oxidative Stress in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Front. Pharmacol*., 7, 360. DOI: 10.3389/fphar.2016.00360

Kavvoura, F.K., Ioannidis, J.P. (2005). CTLA-4 Gene Polymorphisms and Susceptibility to Type 1 Diabetes Mellitus: A HuGE Review and Meta-analysis. *Am. J. Epidemiol*., *162*(1), 3-16. DOI: 10.1093/aje/kwi165

Kendall, D.M., Sutherland, D.E., Najarian, J.S., Goetz, F.C., Robertson, R.P. (1990). Effects of Hemipancreatectomy on Insulin Secretion and Glucose Tolerance in Healthy Humans. *N. Engl. J. Med*., *322*(13), 898–903. DOI: 10.1056/NEJM199003293221305

Kenyon, N.S., Willman, M.A., Han, D., Leeman, R.S., Rabassa, A., Diaz, W.L., Geary, J.C., Poumian-Ruiz, E., Griswold, A.J., Booven, D.J.V., Thompson, R., Ordoukhanian, P., Head, S.R., Kenyon, N.M., McHenry, K.G., Salomon, D.R., Bartholomew, A.M., Berman, D.M. (2021). Extended Survival vs Accelerated Rejection of Nonhuman Primate Islet Allografts: Effect of Mesenchymal Stem Cell Source and Timing. *Am. J. Transplant*., *21*(11), 3524–3537. DOI: 10.1111/ajt.16693

Kern, S., Eichler, H., Stoeve, J., Klüter, H., Bieback, K. (2006). Comparative Analysis of Mesenchymal Stem Cells From Bone Marrow, Umbilical Cord Blood, or Adipose Tissue. *Stem Cells*, *24*(5), 1294-1301. DOI: 10.1634/stemcells.2005-0342

Kim, A., Miller, K., Jo, J., Kilimnik, G., Wojcik, P., Hara, M. (2009). Islet Architecture: A Comparative Study. *Islets*, *1*(2), 129-136. DOI: 10.4161/isl.1.2.9480

Kim, A.Y., Kim, H.S., Kang, J.H., Yang, M.P. (2015). Serum Adipokine Concentrations in Dogs with Diabetes Mellitus: A Pilot Study. *J. Vet. Sci*., *16*(3), 333-340. DOI: 10.4142/jvs.2015.16.3.333

Kinnaird, T., Stabile, E., Burnett, M.S., Lee, C.W., Barr, S., Fuchs, S., Epstein, S.E. (2004). MarrowDerived Stromal Cells Express Genes Encoding a Broad Spectrum of Arteriogenic Cytokines and Promote in Vitro and in Vivo Arteriogenesis Through Paracrine Mechanisms. *Circ. Res*., *94*(5), 678–685. DOI: 10.1161/01.RES.0000118601.37875.AC

Kirchmajer, D.M., Gorkin, R.L., Panhuis, M. (2015). An Overview of the Suitability of Hydrogel-Forming Polymers for Extrusion-Based 3D-Printing. *J. Mater. Chem. B*, *3*(20), 4105-4117. DOI: 10.1039/C5TB00393H

Klöck, G., Pfeffermann, A., Ryser, C., Gröhn, P., Kuttler, B., Hahn, H.J., Zimmermann, U. (1997). Biocompatibility of Mannuronic Acid-Rich Alginates. *Biomaterials*, *18*(10), 707-713. DOI: 10.1016/S0142-9612(96)00204-9

Koç, O.N., Gerson, S.L., Cooper, B.W., Dyhouse, S.M., Haynesworth, S.E., Caplan, A.I., Lazarus, H.M. (2000). Rapid Hematopoietic Recovery After Coinfusion of Autologous-Blood Stem Cells and Culture-Expanded Marrow Mesenchymal Stem Cells in Advanced Breast Cancer Patients Receiving High-Dose Chemotherapy. *J. Clin. Oncol*., *18*(2), 307-316. DOI: 10.1200/JCO.2000.18.2.307

Kojima, N. (2014). In Vitro Reconstitution of Pancreatic Islets. *Organogenesis, 10*(2), 225-230. DOI: 10.4161/org.28351

Kostina, N.Y., Sharifi, S., de Los Santos Pereira, A., Michálek, J., Grijpma, D.W., Rodriguez-Emmenegger, C. (2013). Novel Antifouling Self-Healing Poly (Carboxybetaine Methacrylamide-Co-HEMA) Nanocomposite Hydrogels with Superior Mechanical Properties. *J. Mater. Chem. B., 1*(41), 5644-5650. DOI: 10.1039/c3tb20704h

Kristiansen, O., Larsen, Z., Pociot, F. (2000). CTLA- 4 in Autoimmune Diseases: A General Susceptibility Gene to Autoimmunity? *Genes Immun*., *1*(3), 170-184. DOI: 10.1038/sj.gene.6363655

Kyogoku, C, Langefeld, C.D., Ortmann, W.A., Lee, A., Selby, S., Carlton, V.E.H., Chang, M., Ramos, P., Baechler, E.C., Batliwalla, F.M., Novitzke, J., Williams, A.H., Gillett, C., Rodine, P., Graham, R.R., Ardlie, K.G., Gaffney, P.M., Moser, K.L., Petri, M., Begovich, A.B., Gregersen, P.K., Behrens, T.W. (2004). Genetic Association of the R620W Polymorphism of Protein Tyrosine Phosphatase PTPN22 with Human SLE. *Am J Hum Genet*., *75*(3), 504-507. DOI: 10.1086/423790

Kendall, D.M., Sutherland, D.E., Najarian, J.S., Goetz, F.C., Robertson, R.P. (1990). Effects of Hemipancreatectomy on Insulin Secretion and Glucose Tolerance in Healthy Humans. *N. Engl. J. Med*., *322*(13), 898-903. DOI: 10.1056/NEJM199003293221305

Kennedy, A., Nirantharakumar, K., Chimen, M., Pang, T.T., Hemming, K., Andrews RC., Narendran, P. (2013). Does Exercise Improve Glycaemic Control in Type 1 Diabetes? A Systematic Review and Meta-Analysis. *Plos One, 8*(3), e58861.

Keser, A. (2018). Diyabetes Mellitusun Tedavisinde Karbonhidrat Sayımı Yöntemi. Z. Aycan (Ed.), *Çocukluk Çağı Diyabeti Tanı ve Tedavi Rehberi* (41-46). Ankara: Çocuk Endokrinolojisi ve Diyabet Derneği.

Khodaeian, M., Enayati, S., Tabatabaei-Malazy, O., Amoli, M.M. (2015). Association between Genetic Variants and Diabetes Mellitus in Iranian Populations: A Systematic Review of Observational Studies. *Journal of Diabetes Research*, 585917. DOI: 10.1155/2015/585917

Kim, H.O., Lee, S.H., Na, W., Lim, J.W., Park, G., Park, C. (2020). Cell-Mimic Polymersome-Shielded Islets for Long-Term Immune Protection of Neonatal Porcine Islet-Like Cell Clusters. *J. Mater. Chem. B.*, *8*(12), 2476–2482. DOI: 10.1039/C9TB02270H

Kizilel, S., Scavone, A., Liu, X., Nothias, J.M., Ostrega, D., Witkowski, P., Millis, M. (2010). Encapsulation of Pancreatic Islets Within Nano-Thin Functional Polyethylene Glycol Coatings for Enhanced Insulin Secretion. *Tissue Eng. Part A*, *16*(7), 2217-2228. DOI: 10.1089/ten.tea.2009.0640

Kloppel, G., Drenck, C.R., Oberholzer, M., Heitz, P.U. (1984). Morphometric Evidence for a Striking B-cell Reduction at the Clinical Onset of Type 1 Diabetes. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*, 403, 441-452.

Knight, J., Nigam, Y., Andrade, M. (2017). Diabetes Management 1: Disease Types. *Symptoms and Diagnosis, Nursing Times*, *113*(4), 40-44.

Knip, M., Veijola, R., Virtanen, S.M., Hyoty, H., Vaarala, O., Akerblom, H.K. (2005). Environmental Triggers and Determinants of Type 1 Diabetes. *Diabetes*, *54*(2), 125-136. DOI: 10.2337/diabetes.54.suppl_2.s125

Knip M., Virtanen, S.M., Becker, D., Dupre, J., Krischer, J.P., Akerblom, H. (2011). Early Feeding and Risk of Type 1 Diabetes: Experiences from the Trial to Reduce Insulin-Dependent Diabetes Mellitus in the Genetically at Risk (TRIGR). *Am J Clin Nutr*, *94*, 1814-1820.

Knudsen, L., Hansen, B.F., Jensen, P., Pedersen, T.A., Vestergaard, K., Schäffer, L., Blagoev B., Oleksiewicz M.B., Kiselyov V.V., De Meyts P. (2014). Agonism and Antagonism at the Insulin Receptor. *PLoS One*, *7*(12), e51972. DOI: 10.1371/journal.pone.0051972

Kochupurakkal, N.M., Kruger, A.J., Tripathi, S., Zhu, B., Adams, L.T., Rainbow, D.B., Rossini, A., Greiner, D.L., Sayegh, M.H., Wicker, L.S., Guleria, I. (2014). Blockade of the Programmed Death-1 (PD1) Pathway Undermines Potent Genetic Protection from Type 1 Diabetes. *Plos One*, *9*(2), e89561. DOI: 10.1371/journal.pone.0089561

Koehler, N., Buhler, L., Egger, B., Gonelle-Gispert, C. (2022). Multipotent Mesenchymal Stromal Cells Interact and Support Islet of Langerhans Viability and Function. F*ront. Endocrinol. (Lausanne)*, *13*, 822191. DOI: 10.3389/fendo.2022.822191

Kogawa, R., Nakamura, K., Mochizuki, Y. (2020). A New Islet Transplantation Method Combining Mesenchymal Stem Cells with Recombinant Peptide Pieces, Microencapsulated Islets and Mesh Bags. *Biomedicines*, *8*(9), 299. DOI: 10.3390/biomedicines8090299

Kojima, M., Hosoda, H., Date, Y., Nakazato, M., Matsuo, H., Kangawa, K. (1999). Ghrelin is a Growth-hormone-releasing Acylated Peptide from Stomach. *Nature*, *402*(6762), 656-660. DOI: 10.1038/45230

Kojima, M., Hosoda, H., Matsuo, H., Kangawa, K. (2001). Ghrelin: Discovery of the Natural Endogenous Ligand for the Growth Hormone Secretagogue Receptor. *Trends. Endocrinol. Metab*., *12*(3), 118-22. DOI: 10.1016/s1043-2760(00)00362-3

Kolb, H., Marti, S. (2017). Environmental/Lifestyle Factors in the Pathogenesis and Prevention Of Type 2 Diabetes. *BMC Medicine*, *15*(1), 1-11.

Kong, K.F., Fu, G., Zhang, Y., Yokosuka, T., Casas, J., Canonigo-Balancio, A.J., Becart, S., Kim, G., Yates, J.R., Kronenberg, M., Saito, T., Gascoigne, N.R.J., Altman, A. (2014). Protein Kinase C- η Controls CTLA-4-Mediated Regulatory T Cell Function. *Nat. Immunol*., *15*(5), 465-472. DOI: 10.1038/ni.2866

Korbonits, M., Goldstone, A.P., Gueorguiev, M., Grossman, A.B. (2004). Ghrelin—A Hormone with Multiple Functions. *Front. Neuroendocrinol*., *25*(1), 27-68. DOI: 10.1016/j.yfrne.2004.03.002

Kotwal, A., Haddox, C., Block, M., Kudva, Y.C. (2019). Immune Checkpoint Inhibitors: An Emerging Cause of Insulin-dependent Diabetes. *BMJ Open Diabetes Res Care*, *7*(1), e000591. DOI: 10.1136/bmjdrc-2018-000591

Kouki, T., Gardine, C.A., Yanagawa, T., Degroot, L.J. (2002). Relation of Three Polymorphisms of the CTLA-4 Gene in Patients with Graves' Disease. *J. Endocrinol. Invest*., *25*(3), 208-213. DOI: 10.1007/BF03343992

Kouki, T., Sawai, Y., Gardine, C.A., Fisfalen, M.E., Alegre, M.L., DeGroot, L.J. (2000). CTLA-4 Gene Polymorphism at Position 49 in Exon 1 Reduces the Inhibitory Function of CTLA-4 and Contributes to the Pathogenesis of Graves Disease. *J Immunol*., *165*(11), 6606-6611. DOI: 10.4049/jimmunol.165.11.6606

Kousar, S. (2019). Type 1 Diabetes: Causes, Symptoms and Treatments, Review with Personal Experience. *Current Research in Diabetes & Obesity Journal*, *11*(4), 77-83.

Kozlovskaya, V., Zavgorodnya, O., Chen, Y., Ellis, K., Tse, H.M., Cui, W., Thompson, J.A., Kharlampieva, E. (2012). Ultrathin Polymeric Coatings Based on Hydrogen-Bonded Polyphenol for Protection of Pancreatic Islet Cells. *Adv. Funct. Mater*., *22*(16), 3389–3398. DOI: 10.1002/adfm.201200138

Köse, B., Asırlı, G. (2017). Tip 1 Diyabetli Sporcularda Glisemik Komplikasyonlar: Önlenmesi ve Yönetimi, *Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi-BÜSBİD*, *2*(1), 27-43.

Krampera, M., Glennie, S., Dyson, J., Scott, D., Laylor, R., Simpson, E., Dazzi, F. (2003). Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Inhibit the Response of Naive and Memory Antigen-Specific T Cells to Their Cognate Peptide. *Blood, 101*(9), 3722–3729. DOI: 10.1182/blood-2002-07-2104

Krol, S., del Guerra, S., Grupillo, M., Diaspro, A., Gliozzi, A., Marchetti, P. (2006). Multilayer Nanoencapsulation. New Approach for Immune Protection of Human Pancreatic Islets. *Nano Lett., 6*(9), 1933-1939. DOI: 10.1021/nl061049r

Kumar, M., Janani, G., Fontaine, M.J., Kaplan, D.L., Mandal, B.B. (2020). Silk-Based Encapsulation Materials to Enhance Pancreatic Cell Functions. *Transplantation, Bioengineering and Regeneration of the Endocrine Pancreas*, 329-337. DOI: 10.1016/B978-0-12-814831-0.00024-5

Kumar, M., Nandi, S.K., Kaplan, D.L., Mandal, B.B. (2017). Localized Immunomodulatory Silk Macrocapsules for Islet-Like Spheroid Formation and Sustained Insulin Production. ACS Biomater. *Sci. Eng*., *3*(10), 2443–2456. DOI: 10.1021/acsbiomaterials.7b00218

Lagathu, C., Yvan-Charvet, L., Bastard, J.P., Maachi, M., Quignard-Boulangé, A., Capeau, J., Caron, M. (2006). Long-term Treatment with Interleukin-1beta Induces Insulin Resistance in Murine and Human Adipocytes. *Diabetologia*, *49*(9), 2162-2173. DOI: 10.1007/s00125-006-0335-z

Lai, G.J., Shalumon, K.T., Chen, S.H., Chen, J.P. (2014). Composite Chitosan/silk Fibroin Nanofibers for Modulation of Osteogenic Differentiation and Proliferation of Human Mesenchymal Stem Cells. *Carbohydr. Polym*., *111*, 288-297. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.04.094

Lai, L., Kolber-Simonds, D., Park, K.W., Cheong, H.T., Greenstein, J.L., Im, G.S., Samuel, M., Bonk, A., Rieke, A., Day, B.N., Murphy, C.N., Carter, D.B., Hawley, R.J., Prather, R.S. (2002). Production of Alpha-1,3-Galactosyltransferase Knockout Pigs by Nuclear Transfer Cloning. *Science*, *295*(5557), 1089-1092. DOI: 10.1126/science.1068228

Lai, J.Y., Li, Y.T. (2010). Functional Assessment of Cross-Linked Porous Gelatin Hydrogels for Bioengineered Cell Sheet Carriers. *Biomacromolecules*, *11*(5), 1387-1397. DOI: 10.1021/bm100213f

Lalu, M.M., McIntyre, L., Pugliese, C., Fergusson, D., Winston, B.W., Marshall, J.C., Granton, J., Stewart, D.J. (2012). Canadian Critical Care Trials Group, Safety of Cell Therapy with Mesenchymal Stromal Cells (Safecell): A Systematic Review and Meta-Analysis of Clinical Trials. *Plos One*, *7*(10), e47559. DOI: 10.1371/journal.pone.0047559

Lamming, D.W., Ye, L., Katajisto, P., Goncalves, M.D., Saitoh, M., Stevens, D.M., Davis, J.G., Salmon, A.B., Richardson, A., Ahima, R.S., Guertin, D.A., Sabatini, D.M., Baur, J.A. (2012). Rapamycin-Induced Insulin Resistance is Mediated by Mtorc2 Loss and Uncoupled From Longevity. *Science*, *335*(6076), 1638-1643. DOI: 10.1126/science.1215135

Lane, P. (1997). Regulation of T and B Cell Responses by Modulating Interactions between CD28/CTLA4 and Their Ligands, CD80 and CD86. *Ann. NY Acad. Sci.*, *815*, 392-400. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1997.tb52090.x

Laporte, C., Tubbs, E., Pierron, M., Gallego, A., Moisan, A., Lamarche, F., Lozano, T., Hernandez, A., Cottet-Rousselle, C., Gauchez, A.S., Persoons, V., Bottausci, F., Fontelaye, C., Boizot, F., Lablanche, S., Rivera, F. (2020). Improved Human Islets' Viability and Functionality with Mesenchymal Stem Cells and Arg-Gly-Asp Tripeptides Supplementation of Alginate MicroEncapsulated Islets in Vitro. *Biochem. Biophys. Res. Commun*., *528*(4), 650-657. DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.05.107

Larsen, J.L., Colling, C.W., Ratanasuwan, T., Burkman, T.W., Lynch, T.G., Erickson, J.M., Mack-Shipman, L.R. (2004). Pancreas Transplantation Improves Vascular Disease in Patients with Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*, *27*(7), 1706-1711.

Larsen, Z.M., Kristiansen, O.P., Mato, E., Johannesen, J., Puig-Domingo, M., de Leiva, A., Nerup, J., Pociot, F. (1999). IDDM12 (CTLA4) on 2q33 and IDDM13 on 2q34 in Genetic Susceptibility to Type 1 Diabetes (insulin-dependent). *Autoimmunity*, *31*(1), 35-42. DOI: 10.3109/08916939908993857

Larsson, L.I., Sundler, F., Hakanson, R. (1975). Immunohistochemical Localization of Human Pancreatic Polypeptide (HPP) to a Population of ıslet Cells. *Cell Tissue Res*., *156*(2), 167-171. DOI: 10.1007/BF00221800

Larsson, L.I., Sundler, F., Hakanson, R. (1976). Pancreatic Polypeptide-A Postulated New Hormone: Identification of its Cellular Storage Site by Light and Electron Microscopic ımmunocytochemistry. *Diabetologia*, *12*(3), 211-226. DOI: 10.1007/BF00422088

Laschober, G.T., Brunauer, R., Jamnig, A., Fehrer, C., Greiderer, B., Lepperdinger, G. (2009). Leptin Receptor/CD295 is Upregulated on Primary Human Mesenchymal Stem Cells of Advancing Biological Age and Distinctly Marks the Subpopulation of Dying Cells. *Exp. Gerontol*., *44*(1-2), 57-62. DOI: 10.1016/j.exger.2008.05.013

Lechner, A., Yang, Y.G., Blacken, R.A., Wang, L., Nolan, A.L., Habener, J.F. (2004). No Evidence for Significant Transdifferentiation of Bone Marrow into Pancreatic Beta-cells in vivo. *Diabetes*, *53*(3), 616-623. DOI: 10.2337/diabetes.53.3.616

Leclercq-Meyer, V., Marchand, J., Malaisse, W.J. (1985). Insulin and Glucagon Release from the Ventral and Dorsal Parts of the Perfused Pancreas of the Rat. Effects of Glucose, Arginine, Glucagon and Carbamylcholine. *Horm. Res*., *21*(1), 19-32. DOI: 10.1159/000180021

Lee, K.M., Chuang E., Griffin M., Khattri R., Hong D.K., Zhang W., Straus D., Samelson L.E., Thompson C.B., Bluestone J.A. (1998). Molecular Basis of T Cell Inactivation by CTLA-4. *Science*, *282*(5397), 2263-2266. DOI: 10.1126/science.282.5397.2263

Lee, M.S. (2014). Role of Innate Immunity in the Pathogenesis of Type 1 and Type 2 Diabetes. *JKMS*, *29*(8), 1038-1041.

Lee, R.H., Seo, M.J., Reger, R.L., Spees, J.L., Pulin, A.A., Olson, S.D., Prockop, D.J. (2006). Multipotent Stromal Cells from Human Marrow Home to and Promote Repair of Pancreatic Islets and Renal Glomeruli in Diabetic NOD/scid Mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, *103*(46), 17438-17443. DOI: 10.1073/pnas.0608249103

Lee, S.J., Lee, J.B., Park, Y.W., Lee, D.Y. (2018). 3D Bioprinting for Artificial Pancreas Organ. *Adv. Exp. Med. Biol*., *1064*, 355–374. DOI: 10.1007/978-981-13-0445-3_21

Lee, S.M., Yang, H., Tartar, D.M., Gao, B., Luo, X., Ye, S.Q., Zaghouani, H., Fang, D. (2011). Prevention and Treatment of Diabetes with Resveratrol in a Non-obese Mouse Model of Type 1 Diabetes. *Diabetologia*, *54*(5), 1136-1146. DOI: 10.1007/s00125-011-2064-1

Leete, P., Willcox, A, Krogvold, L, Dahl-Jørgensen, K., Foulis, A.K., Richardson, S.J., Morgan, N.G. (2016). Differential Insulitic Profiles Determine the Extent of β-cell Destruction and the Age at Onset of Type 1 Diabetes. *Diabetes*, *65*(5), 1362-1369. DOI:10.2337/ db15-1615

Lei, M., Liu, S.Q., Liu, Y.L. (2008). Resveratrol Protects Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Derived Chondrocytes Cultured on Chitosan-gelatin Scaffolds from the Inhibitory Effect of Interleukin-1beta. *Acta Pharmacol. Sin*., *29*(11), 1350-1356. DOI: 10.1111/j.1745-7254.2008.00880.x

Leon, D., Uribe, E., Zambrano, A., Salas, M. (2017). Implications of Resveratrol on Glucose Uptake and Metabolism. *Molecules*, *22*(3), 398. DOI: 10.3390/molecules22030398

Lernmark, A., Kloppel, G., Stenger, D. ve diğ. (1995). Heterogeneity of Islet Pathology in Two Infants with Recent Onset Diabetes Mellitus. *Virchows Arch*, *425*, 631-640.

Le Rond, S., Azéma, C., Radanne, I.K., Durrbach, A., Guettier, C., Carosella, E.D., Rouas-Freiss, N. (2006). Evidence to Support the Role of HLA-G5 in Allograft Acceptance Through Induction of Immunosuppressive/ Regulatory t Cells. *J. Immunol*., *176*(5), 3266-3276. DOI: 10.4049/jimmunol.176.5.3266

Leung, P.S. (2010). The Renin-angiotensin System: Current Research Progressin the Pancreas. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 690. DOI: 10.1007/978-90-481-9060-7_1

Li, S., Huang, K.J., Wu, J.C., Hu, M.S., Sanyal, M., Hu, M., Longaker, M.T., Lorenz, H.P. (2015). Peripheral Blood-Derived Mesenchymal Stem Cells: Candidate Cells Responsible For Healing Critical-Sized Calvarial Bone Defects. *Stem Cells Transl. Med*., *4*(4):359-368. DOI: 10.5966/sctm.2014-0150

Li, W.Z., Wang, X.H., Zhang, H.X., Mao, S.M., Zhao, C.Z. (2016). Protective Effect of the n-butanol Toona Sinensis Seed Extract on Diabetic Nephropathy Rat Kidneys. *Genet. Mol. Res.*, *15*(1), DOI: 10.4238/gmr.15017403

Liang, J.P., Accolla, R.P., Soundirarajan, M., Emerson, A., Coronel, M.M., Stabler, C.L. (2021). Engineering an Macroporous Oxygen-Generating Scaffold for Enhancing Islet Cell Transplantation within an Extrahepatic Site. *Acta Biomater*., *130*, 268-280. DOI: 10.1016/j.actbio.2021.05.028

Ligers, A., Teleshova, N., Masterman, T., Huang, W.X., Hillert, J. (2001). CTLA-4 Gene Expression is Influenced by Promoter and Exon 1 Polymorphisms. *Genes and Immunity*, *2*(3), 145-152. DOI: 10.1038/sj.gene.6363752

Lillioja, S., Mott, D.M., Spraul, M., Ferraro, R., Foley, J.E., Ravussin, E., Knowler, W.C., Bennett, P.H., Bogardus, C. (1993). Insulin Resistance and Insulin Secretory Dysfunction as Precursors of Non-insulin-dependent Diabetes Mellitus. Prospective Studies of Pima Indians. *N. Engl. J. Med.*, *329*(27), 1988-1992. DOI: 10.1056/NEJM199312303292703

Limone, P., Berardi, C., Pomero, F., Del Rizzo, P., Allione, A., Beltramo, E., D'alu, F., Ponte, E., Pellissetto, C., Lacaria, A., Barberis, A.M., Porta, M. (2002). Failure of Angiotensin II and Insulin to Stimulate Transforming Growth Factor-beta1. Release from Cultured Bovine Retinal Pericytes. *Diabetes Metab*., *28*(6), 499-503.

Liu, F., Akiyama, Y., Tai, S., Maruyama, K., Kawaguchi, Y., Muramatsu, K., Yamaguchi, K. (2008). Changes in the Expression of CD106, Osteogenic Genes, and Transcription Factors Involved in the Osteogenic Differentiation of Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells. *J. Bone Miner. Metab*., *26*(4), 312-320. DOI: 10.1007/s00774-007-0842-0

Lim, F., Sun, A.M. (1980). Microencapsulated Islets as Bioartificial Endocrine Pancreas. *Science*, *210*(4472), 908–910. DOI: 10.1126/science.6776628

Linsley, P.S., Greene, J.L., Tan, P., Bradshaw, J., Ledbetter, J.A., Anasetti, C., Damle N.K. (1992). Coexpression and Functional Cooperation of CTLA-4 and CD28 on Activated T Lymphocytes. *J. Exp. Med*., *176*(6), 1595–1604. DOI: 10.1084/jem.176.6.1595

Liu, K., Zhang, W., Li, Y., Ding, Q., Bai, Y., Wang, F., Xu, G. (2018). Human Peripheral Blood-derived Mesenchymal Stem Cells with NTRK1 Over-expression Enhance Repairing Capability in a rat Model of Parkinson's Disease. *Cytotechnology*, *70*(5), 1291-1299. DOI: 10.1007/s10616-017-0175-3

Liu, L., DiGirolamo, C.M., Navarro, P.A., Blasco, M.A., Keefe, D.L. (2004). Telomerase Deficiency Impairs Differentiation of Mesenchymal Stem Cells. *Exp. Cell Res*., *294*(1), 1-8. DOI: 10.1016/j.yexcr.2003.10.031

Liu, Q., Chiu, A., Wang, L., An, D., Li, W., Chen, E.Y. (2020). Developing Mechanically Robust, Triazole-Zwitterionic Hydrogels to Mitigate Foreign Body Response (FBR) for Islet Encapsulation. *Biomaterials*, *230*, 119640. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2019.119640

Liu, Q., Chiu, A., Wang, L.H., An, D., Zhong, M., Smink, A.M., de Haan, B.J., de Vos, P., Keane, K., Vegge, A., Chen, E.Y., Song, W., Liu, W.F., Flanders, J., Rescan, C., Grunnet, L.G., Wang, X., Ma, M. (2019). Zwitterionically Modified Alginates Mitigate Cellular Overgrowth for Cell Encapsulation. *Nat. Commun*., *10*(1), 5262. DOI: 10.1038/s41467-019-13238-7

Liu, Q., Ma, P., Liu, L., Ma, G., Ma, J., Liu, X., Liu, Y., Lin, W., Zhu, Y. (2017). Evaluation of PLGA Containing anti-CTLA4 Inhibited Endometriosis Progression by Regulating CD4+CD25+Treg Cells in Peritoneal Fluid of Mouse Endometriosis Model. *Eur. J. Pharm.*, *96*, 542-550. DOI: 10.1016/j.ejps.2016.10.031

Liu, Q., Wang, X., Chiu, A., Liu, W., Fuchs, S., Wang, B., Wang, L.H., Flanders, J., Zhang, Y., Wang, K., Martin, J.M.M., Ma, M. (2021). A Zwitterionic Polyurethane Nanoporous Device with Low Foreign-Body Response for Islet Encapsulation. *Adv. Mater*., *33*(39), e2102852. DOI: 10.1002/adma.202102852

Liu, Z., Hu, W., He, T., Dai, Y., Hara, H., Bottino, R., Cooper, D.K.C., Cai, Z., Mou, L. (2017). Pig-to-Primate Islet Xenotransplantation: Past, Present, and Future. *Cell Transplant*., *26*(6), 925-947. DOI: 10.3727/096368917X694859

Li, X., Qiu, S., Shi, J., Wang, S., Wang, M., Xu, Y., Nie, Z., Liu, C., Liu, C. (2019). A New Function of Copper Zinc Superoxide Dismutase: As a Regulatory DNA-Binding Protein in Gene Expression in Response to Intracellular Hydrogen Peroxide. *Nucleic Acids Res*., *47*(10), 5074-5085. DOI: 10.1093/nar/gkz256

Li, Y., Wu, Q., Wang, Y., Li, L., Bu, H., Bao, J. (2017). Senescence of Mesenchymal Stem Cells (Review). *Int. J. Mol. Med*., *39*(4), 775-782. DOI: 10.3892/ijmm.2017.2912

Lizunov, V.A., Stenkula, K.G., Blank, P.S., Troy, A., Lee, J.P., Skarulis, M.C., Cushman, S.W., Zimmerberg, J. (2015). Human Adipose Cells in Vitro are Either Refractory or Responsive to Insulin, Reflecting Host Metabolic State. *PLoS One*, *10*(3), e0119291. DOI:10.1371/ journal .pone.0119291

Lock, L.T., Tzanakakis, E.S. (2007). Stem/Progenitor Cell Sources of Insulin-producing Cells for the Treatment of Diabetes. *Tissue Eng*., *13*(7), 1399-1412.

Longhini, A.L.F., Salazar, T.E., Vieira, C.V., Trinh, T., Duan, Y., Pay, L.M., Calzi, S.L., Losh, M., Johnston, N.A., Xie, H., Kim, M., Hunt, R.J., Yoder, M.C., Santoro, D., McCarrel, T.M., Grant, M.B. (2019). Peripheral Blood-derived Mesenchymal Stem Cells Demonstrate Immunomodulatory Potential for Therapeutic Use in Horses. *PLoS One*, *14*(3), e0212642. DOI: 10.1371/journal.pone.0212642

Longnecker, D.S., Gorelick, F., Thompson, E.D. (2018). *Anatomy, Histology, and Fine Structure of the Pancreas.* Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.

Long, R., Liu, Y., Wang, S., Ye, L., He, P. (2017). Co-microencapsulation of BMSCs and Mouse Pancreatic β cells for Improving the Efficacy of Type I Diabetes Therapy. *Int. J. Artif. Organs*,. *40*(4), 169-175. DOI: 10.5301/ijao.5000555

Long, S.A., Cerosaletti, K., Wan, J.Y., Ho, J.C., Tatum, M., Wei, S., Shilling, H.G., J H Buckner, J.H., (2011). An Autoimmune-associated Variant in PTPN2 Reveals an Impairment of IL-2R Signaling in CD4(+) T Cells. *Genes Immun*. *12*(2),116-125. DOI: 10.1038/gene.2010.54

Long, Y., Cheng, X., Tang, Q., Chen, L. (2021). The Antigenicity of Silk-Based Biomaterials: Sources, Influential Factors and Applications. *J. Mater. Chem. B*, *9*(40), 8365–8377. DOI: 10.1039/D1TB00752A

Lopes, L., Setia, O., Aurshina, A., Liu, S., Hu, H., Isaji, T., Liu, H., Wang, T., Ono, S., Guo, X., Yatsula, B., Guo, J., Gu, Y., Navarro, T., Dardik, A. (2018). Stem Cell Therapy for Diabetic Foot Ulcers: A Review of Preclinical and Clinical Research. *Stem Cell Res. Ther*., *9*(1), 188. DOI: 10.1186/s13287-018-0938-6

Lopez, D.A.D., Lattanzi, G., Schreiber, L.H.J., Wallace, E.J., Wylie, R., O'Sullivan, J., Dolan, E.B., Duffy, G.P. (2022). Medical Devices, Smart Drug Delivery, Wearables and Technology for the Treatment of Diabetes Mellitus. *Adv. Drug Deliv. Rev*., *185*, 114280. DOI: 10.1016/j.addr.2022.114280

Ludwig, B., Reichel, A., Steffen, A., Zimerman, B., Schally, A.V, Block, N.L., Colton, C.K., Ludwig, S., Kersting, S., Bonifacio, E., Solimena, M., Gendler, Z., Rotem, A., Barkai, U., Bornstein, S.R. (2013). Transplantation of Human Islets Without Immunosuppression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, *110*(47), 19054-19058. DOI: 10.1073/pnas.1317561110

Ludwig, B., Zimerman, B., Steffen, A., Yavriants, K., Azarov, D., Reichel, A., Vardi, P., German, T., Shabtay, N., Rotem, A., Evron, Y., Neufeld, T., Mimon, S., Ludwig, S., Brendel, M.D., Bornstein, S.R., Barkai, U. (2010). Novel Device for Islet Transplantation Providing Immune Protection and Oxygen Supply. *Horm. Metab. Res., 42*(13), 918-922. DOI: 10.1055/s0030-1267916

Luft, R., Efendic, S., Hokfelt, T. (1978). Somatostatin—Both Hormone and Neurotransmitter ? *Diabetologia, 14*(1), 1-13. DOI: 10.1007/BF00429702

Lu, H., Li, Y., Zhang, T., Liu, M., Chi, Y., Liu, S., Shi, Y. (2017). Salidroside Reduces High-glucose-induced Podocyte Apoptosis and Oxidative Stress Via Upregulating Heme Oxygenase-1 (HO-1) Expression. *Med. Sci. Monit*., *23*, 4067–4076. DOI: 10.12659/msm.902806

Lu, J., Shen, S.M., Ling, Q., Wang, B, Li, L.R., Zhang, W., Qu, D.D., Bi, Y., Zhu, D.L. (2021). One Repeated Transplantation of Allogeneic Umbilical Cord Mesenchymal Stromal Cells in Type 1 Diabetes: An Open Parallel Controlled Clinical Study. *Stem Cell Res. Ther*., *12*(1), 340. DOI: 10.1186/s13287-021-02417-3

Lu, L., Yuan, S., Wang, J., Shen, Y., Deng, S., Xie, L., Yang, Q. (2018). The Formation Mechanism of Hydrogels. *Curr. Stem Cell Res. Ther*., *13*(7), 490-496. DOI: 10.2174/1574888X12666170612102706

Lu, Z., Xu, S. (2006). ERK1/2 MAP Kinases in Cell Survival and Apoptosis. *IUBMB Life, 58*(11), 621-631. DOI: 10.1080/15216540600957438

Lukic, M.L., Pejnovic, N., Lukic, A. (2014). New Insight into Early Events in Type 1 Diabetes: Role for Islet Stem Cell Exosomes. *Diabetes*, *63*, 835-837.

Lund, A., Vilsboll T.; Bagger, J.I., Holst, J.J., Knop, F.K. (2011). The Separate and Combined Impact of the Intestinal Hormones, GIP, GLP-1 and GLP-2, on Glucagon Secretion in Type 2 Diabetes. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*., *300*(6), E1038-E1046. DOI: 10.1152/ajpendo.00665.2010

Lühder, F., Höglund, P., Allison, J.P., Benoist, C., Mathis, D. (1998). Cytotoxic T Lymphocyte-associated Antigen 4 (CTLA-4) Regulates the Unfolding of Autoimmune Diabetes. *J. Exp. Med*., *187*(3), 427-432. DOI: 10.1084/jem.187.3.427

Lv, F.J., Tuan, R.S., Cheung, K.M., Leung, V.Y. (2014). Concise Review: The Surface Markers and Identity of Human Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells, 32*(6), 1408-1419. DOI: 10.1002/stem.1681

Lyakh, L.A., Sanford, M., Chekol, S., Young, H.A., Roberts, A.B. (2005). TGF-beta and Vitamin D3 Utilize Distinct Pathways to Suppress IL-12 Production and Modulate Rapid Differentiation of Human Monocytes into CD83+ Dendritic Cells. *J. Immunol*., *174*(4), 2061-2070. DOI: 10.4049/jimmunol.174.4.2061

Lyons, M.M., Yu, C., Toma, R.B., Cho, S.Y., Reiboldt, W., Lee, J., van Breemen, R.B. (2003). Resveratrol in Raw and Baked Blueberries and Bilberries. *J. Agric. Food Chem*., *51*(20), 5867-5870. DOI: 10.1021/jf034150f

Lyons, P.A., Hancock, W.W., Denny, P., Lord, C.J., Hill, N.J., Armitage, N., Siegmund, T., Todd, J.A., Phillips, M.S., Hess, J.F., Chen, S.L., Fischer, P.A., Peterson, L.B., Wicker, L.S. (2000). The NOD Idd9 Genetic Interval Influences the Pathogenicity of Insulitis and Contains Molecular Variants of Cd30, Tnfr2, and Cd137. *Immunity*, *13*(1), 107-115. DOI: 10.1016/s1074-7613(00)00012-1

Maby-El, Hajjami, H, Amé-Thomas, P., Pangault, C., Tribut, O., DeVos, J., Jean, R., Bescher, N., Monvoisin, C., Dulong, J., Lamy, T., Fest, T., Tarte, K. (2009). Functional Alteration of the Lymphoma Stromal Cell Niche by the Cytokine Context: Role of Indoleamine-2,3 Dioxygenase. *Cancer Res. Apr*., *69*(7), 3228-3237. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-3000

MacDonald, L., Foster, B.C., Akhtar, H. (2009). Food and Therapeutic Product Interactions: A Therapeutic Perspective. *J. Pharm. Pharm. Sci*., *12*(3), 367-377. DOI: 10.18433/j30p4c

Madrigal, M., Rao, K.S., Riordan, N.H. (2014). A Review of Therapeutic Effects of Mesenchymal Stem Cell Secretions and Induction of Secretory Modification by Different Culture Methods. *J. Transl. Med*., *12*(1), 260. DOI: 10.1186/s12967-014-0260-8

Madsen, S.D., Jones, S.H., Tucker, H.A., Giler, M.K., Muller, D.C., Discher, C.T., Russell, K.C., Dobek, G.L., Sammarco, M.C., Bunnell, B.A., O'Connor, K.C. (2020). Survival of Aging CD264+ and CD264- Populations of Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells is Independent of Colony-forming Efficiency. *Biotechnol. Bioeng*., *117*(1), 223-237. DOI: 10.1002/bit.27195

Magisson, J., Sassi, A., Xhema, D., Kobalyan, A., Gianello, P., Mourer, B., Tran, N., Burcez, C.T., Aoun, R.B., Sigrist, S. (2020). Safety and Function of a New Pre-vascularized Bioartificial Pancreas in an Allogeneic Rat Model. *J. Tissue Eng*., *11*, 2041731420924818. DOI: 10.1177/2041731420924818

Ma, D.S.L., Tan, L.T., Chan, K.G., Yap, W.H., Pusparajah, P., Chuah, L.H., Ming, L.C., Khan, T.M., Lee, L.H., Goh, B.H. (2018). Resveratrol-Potential Antibacterial Agent against Foodborne Pathogens. *Front. Pharmacol*., *9*, 102. DOI: 10.3389/fphar.2018.00102

Malaguarnera, L. (2019). Influence of Resveratrol on the Immune Response. *Nutrients*, *11*(5), 946. DOI: 10.3390/nu11050946

Maldonado, M., Huang, T., Yang, L., Xu, L., Ma, L. (2017). Human Umbilical Cord Wharton Jelly Cells Promote Extra-Pancreatic Insulin Formation and Repair of Renal Damage in STZ-Induced Diabetic Mice. *Cell Commun. Signal*, *15*(1), 43. DOI: 10.1186/s12964-017-0199-5

Malik, A., Morya, R.K., Bhadada, S.K., Rana, S. (2018). Type 1 Diabetes Mellitus: Complex Interplay of Oxidative Stress, Cytokines, Gastrointestinal Motility and Small Intestinal Bacterial Overgrowth. *Eur. J. Clin Invest*., *48*(11), e13021. DOI: 10.1111/eci.13021

Mallorqui, F.V., Rodríguez-Comas, J., Javier, Ramón-Azcón, J. (2021). Cellulose-based Scaffolds Enhance Pseudoislets Formation and Functionality. *Biofabrication*, *13*(3), DOI: 10.1088/1758-5090/ac00c3

Ma, M., Chiu, A., Sahay, G., Doloff, J.C., Dholakia, N., Thakrar, R., Cohen, J., Vegas, A., Chen, D., Bratlie, K.M., Dang, T., York, R.L., Lock, J.H., Weir, G.C., Anderson, D.G. (2013). Core-Shell Hydrogel Microcapsules for Improved Islets Encapsulation. *Adv. Healthc. Mater*., *2*(5), 667–672. DOI: 10.1002/adhm.201200341

Mao, B., Zhang, Z., Lai, S., Zhang, K., Li, J., Fu, W. (2022). Demineralized Cortical Bone Matrix Augmented with Peripheral Blood-Derived Mesenchymal Stem Cells for Rabbit Medial Meniscal Reconstruction. *Front. Bioeng. Biotechnol*., *10*, 855103. DOI: 10.3389/fbioe.2022.855103.

Mao D., Zhu M., Zhang X., Ma R., Yang X., Ke, T. (2017). A Macroporous Heparin-Releasing Silk Fibroin Scaffold Improves Islet Transplantation Outcome by Promoting Islet Revascularisation and Survival. *Acta Biomater*., *59*, 210-220. DOI: 10.1016/j.actbio.2017.06.039

Marchioli, G., Luca, A.D., de Koning, E., Engelse, M., Van, Blitterswijk, C.A., Karperien, M., van Apeldoorn, A.A., Moroni, L. (2016). Hybrid Polycaprolactone/Alginate Scaffolds Functionalized with VEGF to Promote De Novo Vessel Formation for the Transplantation of Islets of Langerhans. *Adv. Healthc. Mater*., *5*(13), 1606-1616. DOI: 10.1002/adhm.201600058

Marchioli, G., van Gurp L., van Krieken, P.P., Stamatialis, D., Engelse, M., van Blitterswijk, C.A., Karperien, M.B.J., de Koning, E., Alblas, J., Moroni, L., van Apeldoorn, A.A. (2015). Fabrication of Three-Dimensional Bioplotted Hydrogel Scaffolds for Islets of Langerhans Transplantation. *Biofabrication, 7*(2), 025009. DOI: 10.1088/1758-5090/7/2/025009

Marklein, R.A., Surdo, J.L.L., Bellayr, I.H., Godil, S.A., Puri, R.K, Bauer, SR. (2016). High Content Imaging of Early Morphological Signatures Predicts Long Term Mineralization Capacity of Human Mesenchymal Stem Cells Upon Osteogenic Induction. *Stem Cells*, *34*(4), 935-947. DOI: 10.1002/stem.2322

Mareschi, K., Ferrero, I., Rustichelli, D., Aschero, S., Gammaitoni, L., Aglietta, M., Madon, E., Fagioli, F. (2006). Expansion of Mesenchymal Stem Cells Isolated from Pediatric and Adult Donor Bone Marrow. *J. Cell Biochem*., *97*(4), 744-754. DOI: 10.1002/jcb.20681

Martínez-Zamudio, R.I., Roux, P.F., de Freitas, J.A.N.L.F., Robinson, L., Doré, G., Sun, B., Belenki, D., Milanovic, M., Herbig, U., Schmitt, C.A., Gil, J., Bischof, O., (2020). AP-1 Imprints a Reversible Transcriptional Programme of Senescent Cells. *Nat. Cell Biol*., *22*(7), 842-855. DOI: 10.1038/s41556-020-0529-5

Martin, L.B., Shewan, A., Millar, C.A., Gould, G.W., James, D.E. (1998). Vesicle-Associated Membrane Protein 2 Plays a Specific Role in the Insulin-dependent Trafficking of the Facilitative Glucose Transporter GLUT4 in 3T3-L1 Adipocytes. *J Biol Chem*., *273*(3), 1444-1452. DOI: 10.1074/jbc.273.3.1444

Martino, L, Masini, M., Bugliani, M., Marselli, L., Suleiman, M., Boggi, U., Nogueira, T.C., Filipponi, F., Occhipinti, M., Campani, D., Dotta, F., Syed, F., Eizirik, D.L., Marchetti, P., De Tata, V. (2015). Mast Cells Infiltrate Pancreatic Islets in Human Type 1 Diabetes. *Diabetologia*, *58*(11), 2554–2562. DOI: 10.1007/s00125-015-3734-1

Masteller, E.L., Chuang, E., Mullen, A.C., Reiner, S.L., Thompson, C.B. (2000). Structural Analysis of CTLA-4 Function. *J Immunol*., *164*(10), 5319-5327. DOI: 10.4049/jimmunol.164.10.5319

Mastrandrea, L.D. (2017). An Overview of Organ-Specific Autoimmune Diseases Including Immunotherapy. *Immunol. Investig*., *44*(8), 803-816. DOI: 10.3109/08820139.2015.1099409

Matsumoto, I., Sawada, T., Nakano, M., Sakai, T., Liu, B., Ansite, J.D., Zhang, H.J., Kandaswamy, R., Sutherland, D.E., Hering, B.J. (2004). Improvement in Islet Yield from Obese Donors for Human Islet Transplants. *Transplantation*, *78*(6), 880-885. DOI: 10.1097/01.tp.0000134396.03440.1e

Mattio, L.M., Dallavall, S., Musso, L., Filardi, R., Franzetti, L., Pellegrino, L., D'Incecco, P., Mora, D., Pinto, A., Arioli, S. (2019). Antimicrobial Activity of Resveratrol-derived Monomers and Dimers Against Foodborne Pathogens. *Sci. Rep*., *9*(1), 19525. DOI: 10.1038/s41598-019-55975-1

Matveyenko, A.V., Butler, P.C. (2008). Relationship between Beta-cell Mass and Diabetes Onset. *Diabetes Obes Metab*., *4*(4), 23-31. DOI: 10.1111/j.1463-1326.2008.00939.x

McGillicuddy, F.C., Chiquoine, E.H., Hinkle, C.C., Kim, R.J., Shah, R., Roche, H.M., Smyth, E.M., Reilly, M.P. (2009). Interferon Gamma Attenuates Insulin Signaling, Lipid Storage, and Differentiation in Human Adipocytes Via Activation of the JAK/STAT Pathway. *J. Biol. Chem*., *284*(46), 31936-31944. DOI: 10.1074/jbc.M109.061655

McHugh, D., Gil, J. (2018). Senescence and Aging: Causes, Consequences, and Therapeutic Avenues. *J Cell Biol*., *217*(1), 65-77. DOI: 10.1083/jcb.201708092

McJoy, Jr. (2002). Basic Principles of Flow Cytometry. Hematol. *Oncol. Clin. North Am., 16*(2), 229-243. DOI: 10.1016/s0889-8588(01)00015-6

McLaughlin, T., Lamendola, C., Coghlan, N., Liu, T.C., Lerner, K., Sherman, A., Cushman, S.W. (2014). Subcutaneous Adipose Cell Size and Distribution: Relationship to Insulin Resistance and Body Fat. *Obesity (Silver Spring), 22*(3), 673-680. DOI: 10.1002/oby.20209

Medina A., Scott P.G., Ghahary A., Tredget E.E. (2005). Pathophysiology of Chronic Nonhealing Wounds. *J. Burn Care Rehabil*., *26*(4), 306-319. DOI: 10.1097/01.bcr.0000169887.04973.3a

Meisel, R., Zibert, A., Laryea, M., Gobel, U., Daubener, W., Dilloo, D. (2004). Human Bone Marrow Stromal Cells Inhibit Allogeneic T-cell Responses by Indoleamine 2,3-dioxygenase-mediated Tryptophan Degradation. *Blood, 103*(12), 4619–4621. DOI: 10.1182/blood-2003-11-3909

Menge, B.A., Breuer, T.G., Ritter, P.R., Uhl, W., Schmidt, W.E., Meier, J.J. (2012). Long-term Recovery of Beta-cell Function after Partial Pancreatectomy in Humans. *Metabolism, 61*(5), 620-624. DOI: 10.1016/j.metabol.2011.09.019

Menge, B.A., Schrader, H., Breuer, T.G., Dabrowski, Y., Uhl, W., Schmidt, W.E., Meier, J.J. (2009). Metabolic Consequences of a 50% Partial Pancreatectomy in Humans. *Diabetologia, 52*(2), 306-317. DOI: 10.1007/s00125-008-1219-1

Menge, B.A., Tannapfel, A., Belyaev, O., Drescher, R., Muller, C., Uhl, W., Schmidt, W.E., Meier, J.J. (2008). Partial Pancreatectomy in Adult Humans does not Provoke beta-cell Regeneration. *Diabetes, 57*(1), 142-149. DOI: 10.2337/db07-1294

Menke, A., Orchard, T.J., Imperatore, G., Bullard, K.M., Mayer-Davis, E., Cowie, C.C. (2013). The Prevalence of Type 1 Diabetes in The United States. *Epidemiology, 24*(5), 773-774.

Mesples, A, Majeed, N, Zhang, Y, Hu, X. (2013). Early Immunotherapy Using Autologous Adult Stem Cells Reversed the Effect of Anti-pancreatic Islets in Recently Diagnosed Type 1 Diabetes Mellitus: Preliminary Results. *Med. Sci. Monit., 19*, 852–857. DOI: 10.12659/MSM.889525

Mezghenna, K., Pomies, P., Chalancon, A., Castex, F., Leroy, J., Niclauss, N., Nadal, B., Cambier, L., Cazevieille, C., Petit, P., Gomis, R., Berney, T., Gross, R., Lajoix, A.D. (2011). Increased Neuronal Nitric Oxide Synthase Dimerisation is Involved in Rat and Human Pancreatic Beta Cell Hyperactivity in Obesity. *Diabetologia, 54*(11), 2856-2866. DOI: 10.1007/s00125-011-2264-8

Mobasseri, M., Shirmohammadi, M., Amiri, T., Vahed, N., Fard, H.H., Ghojazadeh, M. (2020). Prevalence and Incidence of Type 1 Diabetes in the World: A Systematic Review and Meta-Analysis, *Health Promotion Perspectives, 10*(2), 98-115.

Miernik, K., Karasinski, J. (2012). Porcine Uterus Contains a Population of Mesenchymal Stem Cells. *Reproduction*, *143*(2), 203–209. DOI: 10.1530/REP-11-0202

Miettinen, T.P., Pessa, H.K., Caldez, M.J., Fuhrer, T., Diril, M.K., Sauer, U., Kaldis, P., Björklund, M. (2014). Identification of Transcriptional and Metabolic Programs Related to Mammalian Cell Size. *Curr Biol*., *24*(6), 598-608. DOI: 10.1016/j.cub.2014.01.071

Milne, J.C., Lambert, P.D., Schenk, S., Carney, D.P., Smith, J.J., Gagne, D.J., Jin, L., Boss, O., Perni, R.B, Vu, C.B., Bemis, J.E., Xie, R., Disch, J.S., Ng, P.Y., Nunes, J.J., Lynch, A.V., Yang, H., Galonek, H., Israelian, K., Choy, W., Iffland, A., Lavu, S., Medvedik, O., Sinclair, D.A., Olefsky, J.M., Jirousek, M.R., Elliott, P.J., Westphal, C.H. (2007). Small Molecule Activators of SIRT1 as Therapeutics for the Treatment of Type 2 Diabetes. *Nature*, *450*(7170), 712-716. DOI: 10.1038/nature06261

Minakawa, M., Miura, Y., Yagasaki, K. (2012). Piceatannol, a Resveratrol Derivative, Promotes Glucose Uptake Through Glucose Transporter 4 Translocation to Plasma Membrane in L6 Myocytes and Suppresses Blood Glucose Levels in Type 2 Diabetic Model db/db Mice. *Biochem Biophys Res Commun*, *422*, 469-475.

Mirhafez, S.R., Pasdar, A., Avan, A., Esmaily, H., Moezzi, A., Mohebati, M., Meshkat, Z., Mehrad-Majd, H., Eslami, S., Rahimi, H.R., Ghazavi, H., Ferns, G.A., Ghayour-Mobarhan, M. (2015). Cytokine and Growth Factor Profiling in Patients with the Metabolic Syndrome. *Br. J. Nutr*., *113*(12), 1911-1919. DOI: 10.1017/S0007114515001038

Mizui, M. (2019). Natural and Modified IL-2 for the Treatment of Cancer and Autoimmune Diseases. *Clin. Immunol*., *206*, 63-70. DOI: 10.1016/j.clim.2018.11.002

Moberg, L. (2005). The Role of the Innate Immunity in Islet Transplantation. *Ups. J. Med. Sci*., *110*(1), 17–55. DOI: 10.3109/2000-1967-181

Mohammadpour, R., Dobrovolskaia, M.A., Cheney, D.L., Greish, K.F., Ghandehari, H. (2019). Subchronic and Chronic Toxicity Evaluation of Inorganic Nanoparticles for Delivery Applications. *Adv. Drug Deliv. Rev*., *144*, 112–132. DOI: 10.1016/j.addr.2019.07.006

Moltchanova, EV., Schreier, N., Lammi, N., Karvonen, M. (2009). Seasonal Variation of Diagnosis of Type 1 Diabetes Mellitus in Children Worldwide. *Diabetic Medicine*, *26*(7), 673-678.

Montanucci, P., Alunno, A., Basta, G., Bistoni, O., Pescara, T., Caterbi, S., Pennoni, I., Bini, V., Gerli, R., Calafiore, R. (2016). Restoration of T Cell Substes of Patients With Type 1 Diabetes Mellitus by Microencapsulated Human Umbilical Cord Wharton Jelly-Derived Mesenchymal Stem Cells: An in Vitro Study. *Clin. Immunol*., *163*, 34-41. DOI: 10.1016/j.clim.2015.12.002

Montanucci, P., Pescara, T., Alunno, A., Bistoni, O., Basta, G., Calafiore, R. (2019). Remission of Hyperglycemia in Spontaneously Diabetic NOD Mice Upon Transplant of Microencapsulated Human Umbilical Cord Wharton JellyDerived Mesenchymal Stem Cells (hUCMS). *Xenotransplantation*, *26*(2), e12476. DOI: 10.1111/xen.12476

Moon, K.C., Suh, H.S., Kim, K.B., Han, S.K., Young, K.W., Lee, J.W., Kim, M.H. (2019). Potential of Allogeneic Adipose-derived Stem Cell–hydrogel Complex for Treating Diabetic Foot Ulcers. *Diabetes*, *68*(4), 837-846. DOI: 10.2337/db18-0699

Mooranian, A., Tackechi, R., Jamieson, E., Morahan, G., Hani, Al-Salami, H. (2017). Innovative Microcapsules for Pancreatic β-Cells Harvested from Mature Double-Transgenic Mice: Cell Imaging, Viability, Induced Glucose-Stimulated Insulin Measurements and Proinflammatory Cytokines Analysis. *Pharm. Res*., *34*(6), 1217-1223. DOI: 10.1007/s11095-017-2138-y

Morales, A.E., She, J.X., Schatz, D.A. (2004). Genetics of Type 1 Diabetes. O.H. Pescovitz E.A. Eugster (Ed.), *Pedaitric Endocrinology* (1. Baskı) (403-410). Philadelphia (USA): Lippincott Williams and Wilkins.

Moussa, M.A., Alsaeid, M., Abdella, N., Refai, T.M., Al-Sheikh, N., Gomez, J.E. (2005). Prevalence of Type 1 Diabetes Among 6-To 18-Year-Old Kuwaiti Children. *Medical Principles and Practice*, *14*(2), 87-91.

Mo, X., Zhang, H., Preston, S., Martin, K., Zhou, B., Vadalia, N., Gamero, A.M., Soboloff, J., Tempera, I.M., Raza, Z., (2017). Interferon-g Signaling in Melanocytes and Melanoma Cells Regulates Expression of CTLA-4. *Cancer Res*., *78*(2), 436-450. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-17-1615

Muratoğlu-Şahin, N. (2018). Diyabet Tanımı. Z. Aycan (Ed.), *Çocukluk Çağı Diyabeti Tanı ve Tedavi Rehberi* (1-4). Ankara: Çocuk Endokrinolojisi ve Diyabet Derneği.

Murray, I.R., West, C.C., Hardy, W.R., James, A.W., Park, T.S., Nguyen, A., Tawonsawatruk, T., Lazzari, L., Soo, C., Péault, B. (2014). Natural History of Mesenchymal Stem Cells, from Vessel Walls to Culture Vessels. *Cell Mol. Life Sci*., *71*(8), 1353-1374. DOI: 10.1007/s00018-013-1462-6

Mushahary, D., Spittler, A., Kasper, C., Weber, V., Charwat, V. (2018). Isolation, Cultivation and Characterization of Human Mesenchymal Stem Cells. *Cytometry A.*, *93*(1), 19-31. DOI: 10.1002/cyto.a.23242

Musina, R.A., Bekchanova, E.S., Sukhikh, G.T. (2005). Comparison of Mesenchymal Stem Cells Obtained from Different Human Tissues. *Bull. Exp. Biol. Med.*, *139*(4), 504-509. DOI: 10.1007/s10517-005-0331-1

Nacarelli, T., Lau, L., Fukumoto, T., Zundell, J., Fatkhutdinov, N., Wu, S., Aird, K.M., Iwasaki, O., Kossenkov, A.V., Schultz, D., Noma, K.I., Baur, J.A., Schug, Z., Tang, H.Y., Speicher, D.W., David, G., Zhang, R. (2019). NAD+ metabolism Governs the Proinflammatory Senescence-associated Secretome. *Nat. Cell Biol.*, *21*(3), 397-407. DOI: 10.1038/s41556-019-0287-4

Nair, G.G., Tzanakakis, E.S., Hebrok, M. (2020). Emerging Routes to the Generation of Functional Beta-cells for Diabetes Mellitus Cell Therapy. *Nat. Rev. Endocrinol.*, *16*(9), 506-518. DOI: 10.1038/s41574-020-0375-3

Najar, M., Raicevic, G., Crompot, E., Fayyad-Kazan, H., Bron, D., Toungouz, M., Lagneaux, L. (2016). The Immunomodulatory Potential of Mesenchymal Stromal Cells: A Story of a Regulatory Network. *J. Immunother.*, *39*(2), 45-59. DOI: 10.1097/CJI.0000000000000108

Nansel, T.R., Laffel, L.M., Haynie, D.L., Mehta, S.N., Lipsky, L.M., Volkening, L.K., Liu, A. (2015). Improving Dietary Quality in Youth with Type 1 Diabetes: Randomized Clinical Trial of a Family-Based Behavioral Intervention, International. *Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity*, *12*(1), 1-11.

Napolitano, T., Avolio, F., Courtney, M., Vieira, A., Druelle, N., Ben-Othman, N., Hadzic, B., Navarro, S., Collombat, P. (2015). Pax4 Acts as a Key Player in Pancreas Development and Plasticity. *Semin. Cell Dev. Biol*., 44, 107-114. DOI: 10.1016/j.semcdb.2015.08.013

Nasef, A, Zhang, Y.Z., Mazurier, C., Bouchet, S., Bensidhoum, M., Francois, S., Gorin, N.C., Lopez, M., Thierry, D., Fouillard, L., Chapel, A. (2009). Selected Stro-1-Enriched Bone Marrow Stromal Cells Display a Major Suppressive Effect on Lymphocyte Proliferation. *Int. J. Lab. Hematol*., *31*(1), 9-19. DOI: 10.1111/j.1751-553X.2007.00997.x

Narayanan, N.K., Nargi, D., Randolph, C., Narayanan, B.A. (2009). Liposome Encapsulation of Curcumin and Resveratrol in Combination Reduces Prostate Cancer Incidence in PTEN Knockout Mice. *Int. J. Cancer*., *125*(1), 1-8. DOI: 10.1002/ijc.24336

Nauta, A.J., Fibbe, W.E. (2007). Immunomodulatory Properties of Mesenchymal Stromal Cells. *Blood*, *110*(10), 3499–3506. DOI: 10.1182/blood-2007-02-069716

Nakamura, K. (2019). CellSaic, a Cell Aggregate-Like Technology Using Recombinant Peptide Pieces for MSC Transplantation. *Curr. Stem Cell Res. Ther*., *14*(1), 52-56. DOI: 10.2174/1574888X13666180912125157

Niknejad, H., Peirovi, H., Jorjani, M., Ahmadiani, A., Ghanavi, J., Seifalian, A.M. (2008). Properties of the Amniotic Membrane for Potential Use in Tissue Engineering. *Eur. Cell Mater*., 15, 88-99. DOI: 10.22203/eCM.v015a07

Nikpoor, A.R., Tavakkol-Afshari, J., Sadri, K., Jalali, S.A., Jaafari, M.R. (2017). Improved Tumor Accumulation and Therapeutic Efficacy of CTLA-4-blocking Antibody Using Liposome-encapsulated Antibody: In Vitro and in Vivo Studies. *Nanomedicine, 13*(8), 2671-2682. DOI: 10.1016/j.nano.2017.08.010

Nguyen, D.D., Lai, J.Y. (2020). Advancing the Stimuli Response of Polymer-Based Drug Delivery Systems for Ocular Disease Treatment. *Polymer Chem*., *11*(44), 6988-7008. DOI: 10.1039/D0PY00919A

Nguyen, D.D., Lai, J.Y. (2022). Synthesis, Bioactive Properties and Biomedical Applications of Intrinsically Therapeutic Nanoparticles for Disease Treatment. *Chem. Eng. J., 435*, 134970. DOI: 10.1016/j.cej.2022.134970

Nistico, L., Buzzetti, R., Pritchard, L.E., Van der Auwera, B., Giovannini C., Bosi, E., Larrad, M.T., Rios, M.S., Chow, C.C., Cockram, C.S., Jacobs, K., Mijovic, C., Bain, S.C., Barnett, A.H., Vandewalle, C.L., Schuit, F., Gorus, F.K., Tosi, R., Pozzilli, P., Todd, J.A. (1996). The CTLA-4 Gene Region of Chromosome 2q33 is Linked to and Associated with, Type 1 Diabetes. Belgian Diabetes Registry. *Hum. Mol. Genet*., *5*(7), 1075-1080. DOI: 10.1093/hmg/5.7.1075

Nolta, JA. (2006). Genetic Engineering of Mesenchymal Stem Cells. *Springer*.

Norris, A.W., Wolfsdorf, J.I. (2005). Diabetes Mellitus. G.D.C. Brook, P.E. Clayton, R.S. M.O. Brown Savage (Ed.), *Clinical Pediatric Endocrinology* (5. Baskı) (436-491). Massachussetts (USA): Blackwell Publishing Ltd.

Novelle, M.G., Wahl, D., Dieguez, C., Bernier, M., de Cabo, R. (2015). Resveratrol Supplementation: Where are we Now and Where Should we Go? *Ageing Res. Rev*., *21*, 1-15. DOI: 10.1016/j.arr.2015.01.002

Oberdorster, G. (1996). Significance of Particle Parameters in the Evaluation of Exposure-Dose-Response Relationships of Inhaled Particles. *Inhal. Toxicol., 8*, 73-89. DOI: 10.1080/02726359608906690

Oja, S., Komulainen, P., Penttilä, A., Nystedt, J., Korhonen, M. (2018). Automated Image Analysis Detects Aging in Clinical-grade Mesenchymal Stromal Cell Cultures. *Stem Cell Res, Ther*., *9*(1), 6. DOI: 10.1186/s13287-017-0740-x

Okere, B., Alviano, F., Costa, R., Quaglino, D., Ricci, F., Dominici, M., Paolucci, P., Bonsi, L., Iughetti, L. (2015). In Vitro Differentiation of Human Amniotic Epithelial Cells into Insulin-Producing 3D Spheroids. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol*., *28*(3), 390-402. DOI: 10.1177/0394632015588439

Olgun, N., Yalın, H., Demir, H.G. (2011). Diyabetle Mücadelede Diyabet Risklerinin Belirlenmesi ve Tanılama. *Family Physician*, *2*(2), 36-44.

Omer, A., Kali, V.D., Fernandes, J., Tchipashvili, V., Colton, C.K., Weir, G.C. (2005). Long-term Normoglycemia in Rats Receiving Transplants with Encapsulated Islets. *Transplantation*, *79*(1), 52-58. DOI: 10.1097/01.tp.0000149340.37865.46

Orban, T., Bundy, B., Becker, D.J., DiMeglio, L.A., Gitelman, S.E., Goland, R., Gottlieb, P.A., Greenbaum, C.J., Marks, J.B., Monzavi, R., Moran, A., Raskin, P., Rodriguez, H., Russell, W.E., Schatz, D., Wherrett, D., Wilson, D.M., Krischer, J.P., Skyler, J.S. (2011). Type 1 Diabetes TrialNet Abatacept Study Group. Co-Stimulation Modulation with Abatacept in Patients with Recent-onset type 1 Diabetes: A Randomised, Doubleblind, Placebo-controlled Trial. *Lancet*, *378*(9789), 412-419. DOI: 10.1016/S0140-6736(11)60886-6

Orban, T., Bundy, B., Becker, D.J., Dimeglio, L.A., Gitelman, S.E., Goland, R., Gottlieb, P.A., Greenbaum, C.J., Marks, J.B., Monzavi, R., Moran, A., Peakman, M., Raskin, P., Russell, W.E., Schatz, D., Wherrett, D.K., Wilson, D.M., Krischer, J.P., Skyler, J.S. (2014). Type 1 Diabetes TrialNet Abatacept Study Group Costimulation Modulation with Abatacept in Patients with Recent-onset Type 1 Diabetes: Follow-up 1 Year After Cessation of Treatment. *Diabetes Care*, *37*(4), 1069-1075. DOI: 10.2337/dc13-0604

Orban, T., Beam, C.A., Xu, P., Moore, K., Jiang, Q., Deng, J., Muller, S., Gottlieb, P., Spain, L., Peakman, M., Type 1 Diabetes TrialNet Abatacept Study Group, (2014). Reduction in CD4 Central Memory T-cell Subset in Costimulation Modulator Abatacept-treated Patients with Recent-onset Type 1 Diabetes is Associated with Slower C-peptide Decline. *Diabetes*, *63*(10), 3449-3457. DOI: 10.2337/db14-0047

Orive, G., Hernandez, R.M., Gascon, A.R., Calafiore, R., Chang, T.M., de Vos, P., Hortelano, G., Hunkeler, D., Lacik, I., Pedraz, J.L. (2004). History, Challenges and Perspectives of Cell Microencapsulation. *Trends Biotechnol*., *22*(2), 87-92. DOI: 10.1016/j.tibtech.2003.11.004

Orive, G., Santos, E., Pedraz, J.L., Hernandez, R.M. (2014). Application of Cell Encapsulation for Controlled Delivery of Biological Therapeutics. *Adv. Drug Deliv. Rev*., 67-68, 3-14. DOI: 10.1016/j.addr.2013.07.009

O'Rourke, R.W., White, A.E., Metcalf, M.D., Winters, B.R., Diggs, B.S., Zhu, X., Marks, D.L. (2012). Systemic Inflammation and Insulin Sensitivity in Obese IFN-γ Knockout Mice. *Metabolism*, *61*(8), 1152-1161. DOI: 10.1016/j.metabol.2012.01.018

Osei-Hyiaman, D., Hou L., Zhiyin R., Zhiming, Z., Yu, H., Amankwah, A.A., Harada, S. (2001). Association of a Novel Point Mutation (C159G) of the CTLA4 Gene with Type 1 Diabetes in West Africans but not in Chinese. *Diabetes*, *50*(9), 2169-2171. DOI: 10.2337/diabetes.50.9.2169

O'Sullivan, E.S., Vegas, A., Anderson, D.G., Weir, G.C. (2011). Islets Transplanted in Immunoisolation Devices: A Review of the Progress and the Challenges That Remain. *Endocr. Rev.*, *32*(6), 827-844. DOI: 10.1210/er.2010-0026

Otterlei, M., Østgaard, K., Bræk, G.S., Smidsrød, O., Shiong, P.S., Espevik, T. (1991). Induction of Cytokine Production from Human Monocytes Stimulated with Alginate. *J. Immunother*., *10*(4), 286–291. DOI: 10.1097/00002371-199108000-00007

Ouryazdanpanah, N., Dabiri, S., Derakhshani, A., Vahidi, R, Farsinejad, A. (2018). Peripheral Blood-Derived Mesenchymal Stem Cells: Growth Factor-Free Isolation, Molecular Characterization and Differentiation. *Iran J. Pathol*., *13*(4), 461-466.

Ouyang, L., Dan, Y., Shao, Z., Yang, S., Yang, C., Liu, G., Duan, D. (2019). MMP-Sensitive PEG Hydrogel Modified With RGD Promotes bFGF, VEGF and EPC-Mediated Angiogenesis. *Exp. Ther. Med*., *18*(4), 2933–2941. DOI: 10.3892/etm.2019.7885

Oyewole-Said, D., Konduri, V., Vazquez-Perez, J., Weldon, S.A., Levitt, J.M., Decker, W.K. (2020). Beyond T-Cells: Functional Characterization of CTLA-4 Expression in Immune and Non-Immune Cell Types. *Front. Immunol*., *11*, 608024. DOI: 10.3389/fimmu.2020.608024

Öber, A., İzzetoğlu, G.T. (2006). *Histoloji* (1. Baskı). Ankara: Nobel Yayın Dağıtım.

Öngün-Yılmaz, H. (2017). Tip 1 Diyabette Tıbbi Beslenme Tedavisi. *Turkiye Klinikleri J Nutr Diet-Special Topics*, *3*(3), 164-72.

Özbek, M.N. (2018). Tip 1 Diyabette Egzersiz. Z. Aycan (Ed.), *Çocukluk Çağı Diyabeti Tanı ve Tedavi Rehberi* (47-53). Ankara: Çocuk Endokrinolojisi ve Diyabet Derneği.

Özdemir, İ., Hocaoğlu, Ç. (2009). Tip 2 Diabetes Mellitus ve Yaşam Kalitesi: Bir Gözden Geçirme. *Göztepe Tıp Dergisi*, *24*(2), 73-78.

Özen, G., Civil, T. (2019). Tip 1 Diyabetik Hastalarda Egzersizin Glisemik Kontrole Etkisi: Bir Meta-Analiz Çalışma. *Spormetre Beden Eğitimi ve Spor Bilimleri Dergisi*, *17*(3), 35-47.

Özer, M. (2017). Biyoyapay Pankreas: Pankreas Hücrelerinin Enkapsülasyonu ile Hücre Tedavileri. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 455728.

Pacifico, L., Di Renzo, L., Anania, C., Osborn, J.F., Ippoliti, F., Schiavo, E., Chiesa, C. (2006). Increased T-helper Interferon-gamma-secreting Cells in Obese Children. *Eur. J. Endocrinol*., *154*(5), 691-697. DOI: 10.1530/eje.1.02138

Pagliuca, F.W., Millman, J.R., Gurtler, M., Segel, M., Van Dervort, A., Ryu, J.H., Peterson, Q.P., Greiner, D., Melton, D.A. (2014). Generation of Functional Human Pancreatic Beta Cells in Vitro. *Cell*, *159*(2), 428-439. DOI: 10.1016/j.cell.2014.09.040

Palsamy, P., Subramanian, S. (2008). Resveratrol, a Natural Phytoalexin, Normalizes Hyperglycemia in Streptozotocin-nicotinamide Induced Experimental Diabetic Rats. *Biomed. Pharmacother*., *62*(9), 598-605. DOI: 10.1016/j.biopha.2008.06.037

Pandol, S.J. (2010). *The Exocrine Pancreas*. San Rafael, CA, USA: Morgan & Claypool Life Sciences. DOI: 10.4199/C00026ED1V01Y201102ISP014

Pang, Q.M., Qian, N.N., Zou, W.H., Yang, Y.C., Chen, H., Zhang, M., Zhang, Q., Ao, J., ,Zhang, T. (2022). PBMSCs Transplantation Facilitates Functional Recovery after Spinal Cord Injury by Regulating Microglia/macrophages Plasticity. *Transpl. Immunol., 72*, 101592. DOI: 10.1016/j.trim.2022.101592

Pang, Q.M., Yang, R., Zhang, M., Zou, W.H., Qian, N.N., Xu, Q.J., Chen, H., Peng, J.C., Luo, X.P., Zhang, Q., Zhang, T. (2022). Peripheral Blood-Derived Mesenchymal Stem Cells Modulate Macrophage Plasticity through the IL-10/STAT3 Pathway. *Stem Cells Int*., 5181241. DOI: 10.1155/2022/5181241

Papotti, M., Ghe, C., Cassoni, P., Catapano, F., Deghanghi, R., Ghigo, E., Muccioli, G. (2000). Growth Hormone Secratagogue Binding Sites in Peripheral Humsan Tissues. *J. Clin. Endocrinol. Metab*., *85*(10), 3803-7. DOI: 10.1210/jcem.85.10.6846

Pardoll, D.M. (2012). The Blockade of Immune Checkpoints in Cancer Immunotherapy. *Nat. Rev. Cancer*, *12*(4), 252-264. DOI: 10.1038/nrc3239

Park, B.W., Kang, D.H., Kang, E.J., Byun, J.H., Lee, J.S. (2012). Peripheral Nerve Regeneration Using Autologous Porcine Skin-Derived Mesenchymal Stem Cells. *J. Tissue Eng. Regener. Med*., *6*(2), 113-124. DOI: 10.1002/term.404

Paschou, S.A., Papadopoulou-Marketou, N., Chrousos, G.P., Kanaka-Gantenbein, C. (2018). On Type 1 Diabetes Mellitus Pathogenesis. *Endocr Connect*, *7*(1), 38-46. DOI: 10.1530/EC-17-0347

Passemard, S., Szabo, L., Noverraz, F., Montanari, E., Gonelle-Gispert, C., Buhler, L.H., Wandrey, C., Gerber-Lemaire, S. (2017). Synthesis Strategies to Extend the Variety of Alginate-Based Hybrid Hydrogels for Cell Microencapsulation. *Biomacromolecules*, *18*(9), 2747–2755. DOI: 10.1021/acs.biomac.7b00665

Patel, D.M., Shah, J., Srivastava, A.S. (2013). Therapeutic Potential of Mesenchymal Stem Cells in Regenerative Medicine. *Stem Cells Int*., 496218. DOI: 10.1155/2013/496218

Patel, P., Macerollo, A. (2010). Diabetes Mellitus: Diagnosis And Screening. *American Family Physician*, 2*81*(7), 863-870.

Patel, S.A., Meyer, J.R., Greco, S.J., Corcoran, K.E., Bryan, M., Rameshwar, P. (2010). Mesenchymal Stem Cells Protect Breast Cancer Cells Through Regulatory T Cells: Role of Mesenchymal Stem Cell-Derived TGF-Beta. *J. Immunol*., *184*(10), 5885–5894. DOI: 10.4049/jimmunol.0903143

Pathak, S., Pham, T.T., Jeong, J.H., Byun, Y. (2019). Immunoisolation of Pancreatic Islets via Thin-Layer Surface Modification. *J. Control Rel*., *305*, 176–193. DOI:10.1016/j.jconrel.2019.04.034

Pathak S., Regmi, S., Gupta, B., Poudel, B.K., Pham, T.T., Kim, J.R., Park, P.H., Yong, C.S., Kim, J.O., Bae, Y.K., Kim, S.Y., Jeong, J.H. (2016). Hybrid Congregation of Islet Single Cells and Curcumin-Loaded Polymeric Microspheres as an Interventional Strategy to Overcome Apoptosis Associated with Pancreatic Islets Transplantation. *ACS Appl Mater Interfaces*, *8*(39), 25702-25713. DOI: 10.1021/acsami.6b07897

Päth, G., Perakakis, N., Mantzoros, C.S., Seufert, J. (2019). Stem Cells in the Treatment of Diabetes Mellitus: Focus on Mesenchymal Stem Cells. *Metabolism*, *90*, 1-15. DOI: 10.1016/j.metabol.2018.10.005

Patterson, C., Guariguata, L., Dahlquist, G., Soltész, G., Ogle, G., Silink, M. (2014). Diabetes in the Young-A Global View and Worldwide Estimates of Numbers of Children with Type 1 Diabetes. *Diabetes Research And Clinical Practice*, *103*(2), 161-175.

Paul, B., Masih, I., Deopujari, J., Charpentier, C. (1999). Occurrence of Resveratrol and Pterostilbene in Age-old Darakchasava, an Ayurvedic Medicine from India. *J. Ethnopharmacol*., *68*(1-3), 71-76. DOI: 10.1016/s0378-8741(99)00044-6

Peltz, L,, Gomez, J., Marquez, M., Alencastro, F., Atashpanjeh, N., Quang, T., Bach, T., Zhao, Y. (2012). Resveratrol Exerts Dosage and Duration Dependent Effect on Human Mesenchymal Stem Cell Development. *Plos One*, *7*(5), e37162. DOI: 10.1371/journal.pone.0037162

Pepper, R., Pawlick, R., B. Lopez, B.G., MacGillivary, A., Mazzuca, D.M., White, D.J.G., Toleikis, P.M., Shapiro, A.M.J. (2015). Diabetes is Reversed in a Murine Model by Marginal Mass Syngeneic Islet Transplantation Using a Subcutaneous Cell Pouch Device. *Transplantation*, *99*(11), 2294–2300. DOI: 10.1097/TP.0000000000000864

Perillo, M., Paganos, P., Mattiello, T., Cocurullo, M., Oliveri, P., Arnone, M.I. (2018). New Neuronal Subtypes with a "Pre-Pancreatic" Signature in the Sea Urchin Stongylocentrotus Purpuratus. *Front. Endocrinol*., *9*, 650. DOI:10.3389/fendo.2018.00650

Petrovski, G., Gurusamy, N., Das, D.K. (2011). Resveratrol in Cardiovascular Health and Disease. *Ann. N. Y. Acad. Sci*., *1215*, 22-33. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2010.05843.x

Phadnis, S.M., Joglekar, M.V., Dalvi, M.P., Muthyala, S., Nair, P.D., Ghaskadbi, S.M. (2011). Human Bone Marrow-derived Mesenchymal Cells Differentiate and Mature into Endocrine Pancreatic Lineage in Vivo. *Cytotherapy*, *13*(3), 279–293. DOI: 10.3109/14653249.2010.523108

Phelps, C.J., Koike, C., Vaught, T.D., Boone, J., Wells, K.D., Chen, S.H, Ball, S., Specht, S.M., Polejaeva, I.A., Monahan, J.A., Jobst, P.M., Sharma, S.B., Lamborn, A.E., Garst, A.S., Moore, M., Demetris, A.J., Rudert, W.A., Bottino, R., Bertera, S., Trucco, M., Starzl, T.E., Dai, Y., Ayares, D.L. (2003). Production of Alpha 1,3-Galactosyltransferase-Deficient Pigs. *Science*, *299*(5605), 411-414. DOI: 10.1126/science.1078942

Phelps, E.A., Templeman, K.L., Thule, P.M., Garcia, A.J. (2015). Engineered VEGF Releasing PEG-MAL Hydrogel for Pancreatic Islet Vascularization. Drug Deliv. *Transl. Res*., *5*(2), 125-136. DOI: 10.1007/s13346-013-0142-2

Pietrella, D., Perito, S., Bistoni, F., Vecchiarelli, A. (2001). Cytotoxic T lymphocyte Antigen Costimulation Influences T-cell Activation in Response to Cryptococcus Neoformans. *Infect. Immun*., *69*(3), 1508-1514. DOI: 10.1128/IAI.69.3.1508-1514.2001

Pietropaolo, M., Surhigh, J.M., Nelson, P.W. (2008). Primer: Immunity and Autoimmunity. *Diabetes*, *57*, 2872-2882.

Piguet, P.F., Grau, P.E., Vassalli, P. (1991). Tumor Necrosis Factor and Immunopathology. *Immunol. Res*., *10*(2), 122-140. DOI: 10.1007/BF02918160

Pistillo, M.P., Tazzari, P.L., Palmisano, G.L., Pierri, I., Bolognesi, A., Ferlito, F., Ferrara, G. B. (2003). CTLA-4 Is Not Restricted to the Lymphoid Cell Lineage and Can Function as a Target Molecule for Apoptosis Induction of Leukemic Cells. *Blood*, *101*(1), 202–209. DOI: 10.1182/blood-2002-06-1668

Polat, M.G. (2016). Tip II Diyabette Fiziksel Aktivite/Egzersiz. *Turkiye Klinikleri J Physiother Rehabil-Special Topics, 2*(1), 57-62.

Polychronakos, C., Li, Q. (2011). Understanding Type 1 Diabetes Through Genetics: Advances and Prospects. *Nat. Rev. Genet*., *12*(11), 781-792. DOI: 10.1038/nrg3069

Popovic, V., Miljic, D., Pekic, S., Pesko, P., Djurovic, M., Doknic, M., Damjanovic, S., Micic, D., Cvijovic, G., Glodic, J., Dieguez, C., Casanueva, F.F. (2005). Low Plasma Ghrelin Level in Gastrectomized Patients is Accompanied by Enhanced Sensitivity to the Ghrelin-induced Growth Hormone Release. *J. Clin. Endocrinol. Metab*., *90*(4), 2187-2191. DOI: 10.1210/jc.2004-1888

Poradzka, A., Wroński, J., Jasik, M., Karnafel, W., Fiedor P. (2013). Insulin Replacement Therapy in Patients with Type 1 Diabetes by Isolated Pancreatic Islet Transplantation. *Acta Pol Pharm*, *70*(6), 943-950.

Poto, R., Troiani, T., Criscuolo, G., Marone, G., Ciardiello, F., Tocchetti, C.G., Varricchi, G. (2022). Holistic Approach to Immune Checkpoint Inhibitor-Related Adverse Events. *Front Immunol*., *13*, 804597. DOI: 10.3389/fimmu.2022.804597

Poznyak, A., Grechko, A.V., Poggio, P., Myasoedova, V.A., Alfieri, V., Orekhov, A.N. (2020). The Diabetes Mellitus–Atherosclerosis Connection: The Role of Lipid and Glucose Metabolism and Chronic Inflammation. *Int. J. Mol. Sci*., *21*(5), 1835. DOI: 10.3390/ijms21051835

Pozzesi, N., Pierangeli, S., Vacca, C., Vacca, C., Falchi, L., Pettorossi, V., Martelli, M.P., Thuy, T.T., Ninh, P.T., Liberati, A.M., Riccardi, C., Sung, T.V., Delfino, D.V. (2011). Maesopsin 4-O-betad-glucoside, A Natural Compound Isolated from the Leaves of Artocarpus Tonkinensis, Inhibits Proliferation and up-regulates HMOX1, SRXN1 and BCAS3 in Acute Myeloid Leukemia. *J. Chemother*., *23*(3), 150-157. DOI: 10.1179/joc.2011.23.3.150

Prabakar, K.R., Domınguez-Bendala, J., Molano, R.D., Pileggi, A., Villate, S.,´ Ricordi, C., Inverardi, L. (2012). Generation of Glucose-responsive, Insulin-producing cells from Human Umbilical Cord Blood-derived Mesenchymal Stem Cells. *Cell Transplant*., *21*(6), 1321-1339. DOI: 10.3727/096368911X612530

Prasad, S., Neef, T., Xu, D., Podojil, J.R., Getts, D.R., Shea, L.D., Miller, S.D. (2018). Tolerogenic Ag-PLG Nanoparticles Induce Tregs to Suppress Activated Diabetogenic CD4 and CD8 T Cells. *J. Autoimmun., 89*, 112-124. DOI: 10.1016/j.jaut.2017.12.010

Qomi, R.T., Sheykhhasan, M. (2017). Adipose-derived Stromal Cell in Regenerative Medicine: A review. *World J. Stem Cells*, *9*(8), 107-117. DOI: 10.4252/wjsc.v9.i8.107

Qu, G., Chen, J., Li, Y., Yuan, Y., Liang, R., Li, B. (2022). Current Status and Perspectives of Regulatory T Cell-based Therapy. *J. Genet. Genomics*, *8527*(22), 156-164. DOI: 10.1016/j.jgg.2022.05.005

Qureshi, O.S., Zheng, Y., Nakamura, K., Attridge, K., Manzotti, C., Schmidt, E.M., Baker, J., Jeffery, L.E., Kaur, S., Briggs, Z., Hou, T.Z., Futter, C.E., Anderson, G., Walker, L.S.K., Sansom, D.M. (2011). Trans-Endocytosis of CD80 and CD86: A Molecular Basis for the Cell Extrinsic Function of CTLA-4. *Science*, *332*(6029), 600–603. DOI: 10.1126/science.1202947

Quandt, D., Hoff, H., Rudolph, M., Fillatreau, S., Brunner-Weinzierl, M.C. (2007). A New Role of CTLA-4 on B Cells in Thymus-Dependent Immune Responses in Vivo. *J. Immunol*., *179*(11), 7316-7324. DOI: 10.4049/jimmunol.179.11.7316

Quandt, Z., Young, A., Anderson, M. (2020). Immune Checkpoint Inhibitor Diabetes Mellitus: A Novel form of Autoimmune Diabetes. *Clin. Exp. Immunol*., *200*(2), 131-140. DOI: 10.1111/cei.13424

Raal, A., Pokk, P., Arend, A., Aunapuu, M., Jõgi, J., Okva, K., Püssa, T. (2009). Trans-Resveratrol Alone and Hydroxystilbenes of Rhubarb (Rheum rhaponticum L.) Root Reduce Liver Damage Induced by Chronic Ethanol Administration: A Comparative Study in Mice. *Phytother. Res*., *23*(4), 525-32. DOI: 10.1002/ptr.2665

Raffaghello, L., Bianchi, G., Bertolotto, M., Montecucco, F., Busca, A., Dallegri, F., Ottonello, L., Pistoia, V. (2008). Human Mesenchymal Stem Cells Inhibit Neutrophil Apoptosis: A Model for Neutrophil Preservation in the Bone Marrow Niche. *Stem Cells*, *26*(1), 151-162. DOI: 10.1634/stemcells.2007-0416

Rahal, K., Schmiedlin-Ren, P., Adler, J., Dhanani, M., Sultani, V., Rittershaus, A. C., ... Zimmermann, E. M. (2012). Resveratrol has Antiinflammatory and Antifibrotic Effects in the Peptidoglycan-polysaccharideratt Model of Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*, *18*, 613-623.

Rahier, J., Wallon, J., Loozen, S., Lefevre, A., Gepts, W., Haot, J. (1983). The Pancreatic Polypeptide Cells in the Human Pancreas: The Effects of Age and Diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab*., *56*(3), 441-444. DOI: 10.1210/jcem-56-3-441

Ramadori, G., Gautron, L., Fujikawa, T., Vianna, C.R., Elmquist, J.K., Coppari, R., (2009). Central Administration of Resveratrol Improves Diet-induced Diabetes. *Endocrinology*, *150*(12), 5326-5333. DOI: 10.1210/en.2009-0528

Rao, G., Hedrick, A.F., Yadav, V.R., Xie, J., Hussain, A., Awasthi, V. (2015). The Brain Metabolic Activity after Resuscitation with Liposome-encapsulated Hemoglobin in a Rat Model of Hypovolemic Shock. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, *35*(9), 1528-1536. DOI: 10.1038/jcbfm.2015.82

Rasmusson, I., Uhlin, M., Le Blanc, K., Levitsky, V. (2007). Mesenchymal Stem Cells Fail to Trigger Effector Functions of Cytotoxic T Lymphocytes. *J. Leukocyte Biol*., *82*(4), 887-893. DOI: 10.1189/jlb.0307140

Read, S., Malmstrom, V., Powrie, F. (2000). Cytotoxic T Lymphocyteassociated Antigen 4 Plays an Essential Role in the Function of CD25(+)CD4(+) regulatory Cells that Control Intestinal Inflammation. *J Exp Med*., *192*(2), 295-302. DOI: 10.1084/jem.192.2.295

Redondo, M.J., Fain, PR., Eisenbarth, G.S. (2001). Genetics of Type 1A Diabetes. *Recent Prog Horm Res*, *56*, 69-89.

Reimer, M.K., Pacini, G., Ahren, B. (2003). Dose-dependent Inhibition by Ghrelin of Insulin Secretion in the Mouse. *Endocrinology, 144*(3), 916-921. DOI: 10.1210/en.2002-220819

Ren, G., Zhang, L., Zhao, X., Xu, G., Zhang, Y., Roberts, A.I., Zhao, R.C., Shi, Y. (2008). Mesenchymal Stem Cell-Mediated Immunosuppression Occurs via Concerted Action of Chemokines and Nitric Oxide. *Cell Stem Cell, 2*(2), 141-150. DOI:10.1016/j.stem.2007.11.014

Ribas, A., Wolchok, J.D. (2018). Cancer Immunotherapy Using Checkpoint Blockade. *Science, 359*(6382), 1350-1355. DOI: 10.1126/science.aar4060

Riche, D.M., McEwen, C.L., Riche, K.D., Sherman, J.J., Wofford, M.R., Deschamp, D., Griswold, M. (2013). Analysis of Safety from a Human Clinical Trial with Pterostilbene. *J. Toxicol., 2013*, 463595. DOI: 10.1155/2013/463595

Rider, P., Alkildani, S., Retnasingh, S., Barbeck, M. (2018). Bioprinting of Tissue Engineering Scaffolds. *J. Tissue Eng., 9*, 2041731418802090. DOI: 10.1177/2041731418802090

Rindi, G., Necchi, V., Savio, A., Torsello, A., Zoli, M., Locatelli, V., Raimondo, F., Cocchi, D., Solcia, E. (2002a). Characterisation of Gastric Ghrelin Cells in Man and Other Mammals: Studies in Adult and Fetal Tissues. *Histochem. Cell Biol., 117*(6), 511-519. DOI: 10.1007/s00418-002-0415-1

Rindi, G., Savio, A., Torsello, A., Zoli, M., Locatelli, V., Cocchi, D., Paolotti, D., Solcia, E. (2002b). Ghrelin Expression in Gut Endocrine Growths. *Histochem. Cell Biol., 117*(6), 521-525. DOI: 10.1007/s00418-002-0416-0

Rocha, V.Z., Folco, E.J., Sukhova, G., Shimizu, K., Gotsman, I., Vernon, A.H., Libby, P. (2008). Interferon-gamma, a Th1 Cytokine, Regulates fat Inflammation: A Role for Adaptive Immunity in Obesity. *Circ. Res., 103*(5), 467-476. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.108.177105

Rossi, S.J., Schroeder, T.J., Hariharan, S., First, M.R. (1993). Prevention and Management of the Adverse Effects Associated With Immunosuppressive Therapy. *Drug Saf., 9*(2), 104-131. DOI: 10.2165/00002018-199309020-00004

Roorda, W.E., Boddé, H.E., De Boer, A.G., Bouwstra, J.A., Junginer, H.E. (1986). Synthetic Hydrogels as Drug Delivery Systems. *Pharm. Weekbl. Sci., 8*(3), 165-189. DOI: 10.1007/BF01959775

Rosenstock, J., Del Prato, S. (2022). Basal Weekly Insulins: The Way of the Future! *Metabolism, 126*, 154924. DOI: 10.1016/j.metabol.2021.154924

Rorsman, P., Renstrom, E. (2003). Insulin Granule Dynamics in Pancreatic Beta Cells. *Diabetologia, 46*(8), 1029-1045. DOI: 10.1007/s00125-003-1153-1

Rossi, M., Caruso, F., Antonioletti, R., Viglianti, A., Traversi, G., Leone, S., Basso, E., Cozzi, R. (2013). Scavenging of Hydroxyl Radical by Resveratrol and Related Natural Stilbenes after Hydrogen Peroxide Attack on DNA. *Chem. Biol. Interact*., *206*(2), 175.

Rouse, M., Younès, A., Egan, J.M. (2014). Resveratrol and Curcumin Enhance Pancreatic β-cell Function by Inhibiting Phosphodiesterase Activity. *J. Endocrinol*., *223*(2), 107-117. DOI: 10.1530/JOE-14-0335

Roy, D., Cambre, J.N., Sumerlin, B.S. (2010). Future Perspectives and Recent Advances in Stimuli-Responsive Materials. *Prog. Polymer Sci*., *35*(1-2), 278–301. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2009.10.008

Rudolf, E., Andelová, H., Cervinka, M. (2007). Polyphenolic Compounds in Chemoprevention of Colon Cancer-targets and Signaling Pathways. *Anticancer Agents Med. Chem*., *7*(5), 559-575. DOI: 10.2174/187152007781668670

Rui, J., Deng, S., Arazi, A., Perdigoto, A.L., Liu, Z., Herold, K.C. (2017). Beta Cells that Resist Immunological Attack Develop During Progression of Autoimmune Diabetes in NOD Mice. *Cell Metab*., *25*(3), 727-738. DOI: 10.1016/j.cmet.2017.01.005

Rui, J., Deng, S., Lebastchi, J., Clark, P.L., Usmani-Brown, S., Herold, K.C. (2016). Methylation of Insulin DNA in Response to Proinflammatory Cytokines During the Progression of Autoimmune Diabetes in NOD Mice. *Diabetologia*, *59*(5), 1021-1029. DOI: 10.1007/s00125-016-3897-4

Ryan, E.A., Paty, B.W., Senior, P.A., Bigam, D., Alfadhli, E., Kneteman, N.M., Lakey, J.R.T., Shapiro, A.M.J. (2005). Five-year Follow-up after Clinical Islet Transplantation. *Diabetes*, *54*(7), 2060-2069. DOI: 10.2337/diabetes.54.7.2060

Ryan, J.M., Barry, F., Murphy, J.M., Mahon, B.P. (2007). Interferon-gamma does not Break, but Promotes the Immunosuppressive Capacity of Adult Human Mesenchymal Stem Cells. *Clin. Exp. Immunol*., *149*(2), 353–363. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2007.03422.x

Ryan, J.M., Barry, F.P., Murphy, J.M., Mahon, B.P. (2005). Mesenchymal Stem Cells Avoid Allogeneic Rejection. *J. Inflamm. (London England)*, *2*, 8. DOI: 10.1186/1476-9255-2-8

Sabek, O.M., Ferrati, S., Fraga, D.W., Sih, J., Zabre, E.V., Fine, D.H., Mauro Ferrari, G.A.O., Grattoni A. (2013). Characterization of a Nanogland for the Autotransplantation of Human Pancreatic Islets. *Lab Chip*, *13*(18), 3675-3688. DOI: 10.1039/c3lc50601k

Sabolovic, N., Humbert, A.C., Radominska-Pandya, A., Magdalou, J. (2006). Resveratrol is Efficiently Glucuronidated by UDP-glucuronosyltransferases in the Human Gastrointestinal Tract and in Caco-2 cells. *Biopharm. Drug Dispos*., *27*(4), 181-189. DOI: 10.1002/bdd.498

Sachlos, E., Czernuszka, J.T. (2003). Making Tissue Engineering Scaffolds Work. Review: The Application of Solid Freeform Fabrication Technology to the Production of Tissue Engineering Scaffolds. *Eur. Cell Mater*., *5*, 29-40. DOI: 10.22203/eCM.v005a03

Safley, S.A., Cui, H., Cauffiel, S., Tucker-Burden, C., Collin, J., Weber, C.J. (2008). Biocompatibility and Immune Acceptance of Adult Porcine Islets Transplanted Intraperitoneally in Diabetic NOD Mice in Calcium Alginate Poly-L-lysine Microcapsules Versus Barium Alginate Microcapsules without Poly-L-lysine. *J. Diabetes Sci. Technol*., *2*(5), 760-767. DOI: 10.1177/193229680800200503

Sağlam, H. (2004). Diyabet ve Enfeksiyonlar. *Güncel Pediatri, 2*, 44-52.

Sahin, E., Baycu, C., Koparal, A.T., Donmez, D.B., Bektur, E. (2016). Resveratrol Reduces IL-6 and VEGF Secretion from Co-cultured A549 Lung Cancer Cells and Adipose-derived Mesenchymal Stem Cells. *Tumour Biol*., *37*(6), 7573-7582. DOI: 10.1007/s13277-015-4643-0

Saisho, Y., Butler, A.E., Meier J.J., Monchamp, T., Allen-Auerbach, M., Rizza, R.A., Butler, P.C. (2007). Pancreas Volumes in Humans from Birth to Age one Hundred Taking into Account Sex, Obesity and Presence of Type-2 Diabetes. *Clin Anat*, *20*(8), 933-942. DOI: 10.1002/ca.20543

Saisho, Y., Butler, A.E., Manesso, E., Elashoff, D., Rizza, R.A., Butler, P.C. (2013). Beta-cell Mass and Turnover in Humans: Effects of Obesity and Aging. *Diabetes Care, 36*(1),111-7. DOI: 10.2337/dc12-0421

Saito, K., Iwama, N., Takahashi, T. (1978). Morphometrical Analysis on Topographical Difference in Size Distribution, Number and Volume of Islets in the Human Pancreas. *Tohoku J. Exp. Med*., *124*(2), 177-186. DOI: 10.1620/tjem.124.177

Sajadimajd, S., Bahramsoltani, R., Iranpanah, A., Patra, K.J., Das, G., Gouda, S., Rahimi, R., Rezaeiamiri, E., Cao, H., Giampieri, F., Battino, M., Tundis, R., Campos, M.G., Farzaei, M.F., Xiao, J. (2019). Advances on Natural Polyphenols as Anticancer Agents for Skin Cancer. *Pharmacol. Res*., *151*, 104584. DOI: 10.1016/j.phrs.2019.104584

Salehi, A., Dornonville de la Cour, C., Hakanson, R., Lundquist, I. (2004). Effects of Ghrelin on Insulin and Glucagon Secretion: A Study of Isolated Pancreatic Islets and Intact Mice. *Regul. Pept*., *118*(3), 143-150. DOI: 10.1016/j.regpep.2003.12.001

Sales, J.M., Resurreccion, A.V.A. (2014). Resveratrol in Peanuts. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*., *54*(6), 734-770. DOI: 10.1080/10408398.2011.606928

Salg, G.A., Poisel, E., Munoz, M.N., Gerhardus, J., Cebulla, D., Philipp, C.B., Vieira, V., Nickel, F., Herr, I., Blaeser, A., Giese, N.A., Hackert, T., Kenngott, H.G. (2022). Toward 3D-bioprinting of an Endocrine Pancreas: A Building-block Concept for Bioartificial Insulin-secreting Tissue. *J. Tissue Eng.*, 13, 20417314221091033. DOI: 10.1177/20417314221091033

Salman, S., Satman, I. (2011). Diyabete Özgü Antikorlar ve Klinik Pratikte Kullanımları. *Turkish Journal of Endocrinology & Metabolism*, *15*(1), 8-12.

Salazar, K.D., Lankford, S.M., Brody, A.R. (2009). Mesenchymal Stem Cells Produce Wnt Isoforms and TGF-Beta1 That Mediate Proliferation and Procollagen Expression by Lung Fibroblasts. *Am J Physiol Lung Cell Mol. Physiol*., *297*(5), 1002-1011. DOI: 10.1152/ajplung.90347.2008

Salgado, A.J., Reis, R.L., Sousa, N.J., Gimble, J.M. (2010). Adipose Tissue Derived Stem Cells Secretome: Soluble Factors and Their Roles in Regenerative Medicine. *Curr. Stem Cell Res. Ther*., *5*(2), 103-110. DOI: 10.2174/157488810791268564

Saraç, H., Soyuer, F. (2014). Diyabetli Çocuk ve Egzersiz. *Duzce Medical Journal*, *16*(1), 66-69.

Sato, K., Ozaki, K., Oh, I., Meguro, A., Hatanaka, K., Nagai, T., Muroi, K., Ozawa, K. (2007). Nitric Oxide Plays a Critical Role in Suppression of T-Cell Proliferation by Mesenchymal Stem Cells. *Blood*, *109*(1), 228-234. DOI: 10.1182/blood-2006-02-002246

Satoh, T. (2014). Molecular Mechanisms for the Regulation of Insulin-stimulated Glucose Uptake by Small Guanosine Triphosphatases in Skeletal Muscle and Adipocytes. *Int. J. Mol. Sci*., *15*(10), 18677-18692. DOI: 10.3390/ijms151018677

Saverino, D., Simone, R., Bagnasco, M., Pesce, G. (2010). The Soluble CTLA-4 Receptor and its Role in Autoimmune Diseases: An Update. *Autoimmun Highlights*, *1*, 73-81.

Saydam, G. (2005). *Hematolojik Malignitelerde Sinyal İleti Sistemleri*. Moleküler Hematoloji ve Sitogenetik Alt Komitesi.

Seay, H.R, Yusko, E, Rothweiler, S.J, Zhang, L., Posgai, A.L., Campbell-Thompson, M., Vignali, M., Emerson, R.O., Kaddis, J.S., Ko, D., Nakayama, M., Smith, M.J., Cambier, J.C., Pugliese, A., Atkinson, M.A., Robins, H.S., Brusko, T.M. (2016). Tissue Distribution and Clonal Diversity of the T and B Cell Repertoire in Type 1 Diabetes. *JCI Insight*, *1*(20), 1-19. DOI: 10.1172/jci.insight.88242

Selmani, Z, Naji, A., Zidi, I., Favier, B., Gaiffe, E., Obert, L., Borg, C., Saas, P., Tiberghien, P., Rouas-Freiss, N., Carosella, E.D., Deschaseaux, F. (2008). Human Leukocyte Antigen-G5 Secretion by Human Mesenchymal Stem Cells is Required to Suppress T Lymphocyte and Natural Killer Function and to Induce CD4+CD25highFOXP3+ Regulatory T Cells. *Stem Cells*, *26*(1), 212-222. DOI: 10.1634/stemcells.2007-0554

Scharp, D.W., Marchetti, P. (2014). Encapsulated Islets for Diabetes Therapy: History, Current Progress and Critical Issues Requiring Solution. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, *67–68*, 35-73. DOI: 10.1016/j.addr.2013.07.018

Scheiner, K.C., Bakker, R.F.M., Nguyen, T.T., Duarte, A.M., Hendriks, G., Sequeira, L., Duffy, G.P., Steendam, R., Hennink, W.E., Kok, R.J. (2019). Sustained Release of Vascular Endothelial Growth Factor from Poly(e-caprolactone-PEG-e-caprolactone)-b-Poly(L-lactide) Multiblock Copolymer Microspheres. *ACS Omega*, *4*(7), 11481-11492. DOI: 10.1021/acsomega.9b01272

Schneider, H., Downey, J., Smith, A., Zinselmeyer, B.H., Rush, C., Brewer, J.M., Wei, B., Hogg, N., Garside, P., Rudd, C.E. (2006). Reversal of the TCR Stop Signal by CTLA-4. *Science*, *313*(5795), 1972-1975. DOI: 10.1126/science.1131078

Schneider, H., Mandelbrot, D.A., Greenwald, R.J., Ng, F., Lechler, R., Sharpe, A.H. Rudd, C. E. (2002). Cutting Edge: CTLA-4 (CD152) Differentially Regulates MitogenActivated Protein Kinases (Extracellular Signal-Regulated Kinase and C-Jun N-Terminal Kinase) in CD4+ T Cells From Receptor/Ligand-Deficient Mice. *J. Immunol*., *169*(7), 3475-3479. DOI: 10.4049/jimmunol.169.7.3475

Schoenborn, J.R., Wilson, C.B. (2007). Regulation of Interferon-gamma During Innate and Adaptive Immune Responses. *Adv. Immunol*., *96*, 41-101. DOI: 10.1016/S0065-2776(07)96002-2.

Schwartz, M., Shechter, R. (2010). Systemic Inflammatory Cells Fight off Neurodegenerative Disease. *Nat. Rev. Neurol*., *6*(7), 405-410. DOI: 10.1038/nrneurol.2010.71

Schwartz, T.W. (1983a). Pancreatic Polypeptide: A Hormone Under Vagal Control. *Gastroenterology*, *85*(6), 1411-1125. DOI: 10.1016/S0016-5085(83)80027-4

Schwartz, T.W. (1983b). Pancreatic Polypeptide: A Unique Model for Vagal Control of Endocrine Systems. *J. Auton. Nerv. Syst*., *9*(1), 99-111. DOI: 10.1016/0165-1838(83)90134-0

Seay, H.R, Yusko, E, Rothweiler, S.J, Zhang, L., Posgai, A.L., Campbell-Thompson, M., Vignali, M., Emerson, R.O., Kaddis, J.S., Ko, D., Nakayama, M., Smith, M.J., Cambier, J.C., Pugliese, A., Atkinson, M.A., Robins, H.S., Brusko, T.M. (2016). Tissue Distribution and Clonal Diversity of the T and B Cell Repertoire in Type 1 Diabetes. *JCI Insight*, *1*(20), 1-19. DOI: 10.1172/jci.insight.88242

Seissler, J., Scherbaum, W.A. (2006). Autoimmune Diagnostics in Diabetes Mellitus. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, *44*(2), 133-137.

Sen, P., Lan, Y., Li, C.Y., Sidoli, S., Donahue, G., Dou, Z., Frederick, B., Chen, Q., Luense, L.J., Garcia, B.A., Dang, W., Johnson, F.B., Adams, P.D., Schultz, D.C., Berger, S.L. (2009). Histone Acetyltransferase p300 Induces de Novo Super-enhancers to Drive Cellular Senescence. *Mol. Cell*, *73*(4), 684-698. DOI: 10.1016/j.molcel.2019.01.021

Senior, P.A., Pettus, J.H. (2019). Stem Cell Therapies for Type 1 Diabetes: Current Status and Proposed Road Map to Guide Successful Clinical Trials. *Diabet Med*, *36*(3), 297-307. DOI: 10.1111/dme.13846

Sergides, C., Chirilă, M., Silvestro, L., Pitta, D., Pittas, A. (2016). Bioavailability and Safety Study of Resveratrol 500 mg Tablets in Healthy Male and Female Volunteers. *Exp. Ther. Med.*, *11*(1), 164-170. DOI: 10.3892/etm.2015.2895

Shankar, S., Singh, G., Srivastava, R.K. (2007). Chemoprevention by Resveratrol: Molecular Mechanisms and Therapeutic Potential. *Front. Biosci*., *12*, 4839-4854. DOI: 10.2741/2432

Shapiro, A.M., Lakey, J.R., Rajotte, R.V., Warnock, G.L., Friedlich, M.S., Jewell, L.D., Kneteman, N.M. (1995). Portal Vein Thrombosis after Transplantation of Partially Purified Pancreatic Islets in a Combined Human Liver/Islet Allograft. *Transplantation*, *59*(7), 1060-1063. DOI: 10.1097/00007890-199504150-00027

Shapiro, A.M., Lakey, J.R., Ryan, E.A., Korbutt, G.S., Toth, E., Warnock, G.L, Kneteman, N.M., Rajotte, R.V. (2000). Islet Transplantation in Seven Patients With Type 1 Diabetes Mellitus Using a Glucocorticoid-Free Immunosuppressive Regimen. *N. Engl. J. Med*., *343*(4), 230–238. DOI: 10.1056/NEJM200007273430401

Sharma, S., Chopra, K., Kulkarni, S.K., Agrewala, J.N. (2007). Resveratrol and Curcumin Suppress Immune Response Through CD28/CTLA-4 and CD80 co-Stimulatory Pathway. *Clin. Exp. Immunol.*, *147*(1), 155-163. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2006.03257.x

Sharma, S., Misra, C.S., Arumugam, S., Roy, S., Shah, V., Davis, J.A., Shirumalla, R.K., Ray, A. (2011). Antidiabetic Activity of Resveratrol, a Known SIRT1 Activator in a Genetic Model for Type-2 Diabetes. *Phytother. Res*., *25*(1), 67-73. DOI: 10.1002/ptr.3221

Shaw, A.C., Goldstein, D.R., Montgomery, R.R. (2013). Age-dependent Dysregulation of Innate Immunity. *Nat. Rev. Immunol*., *13*(12), 875-887. DOI: 10.1038/nri3547

She, J.X., Marron, M.P. (1998). Genetic Susceptibility Factors in Type 1 Diabetes: Linkage, Disequilibrium and Functional Analyses. *Curr Opin Immunol*, *10*, 682-689.

Shigemoto-Kuroda, T., Oh, J.Y., Kim, D.K., Jeong, H.J., Park, S.Y., Lee, H.J. (2017). MSC-Derived Extracellular Vesicles Attenuate Immune Responses in Two Autoimmune Murine Models: Type 1 Diabetes and Uveoretinitis. *Stem Cell Rep*., *8*(5), 1214-1225. DOI: 10.1016/j.stemcr.2017.04.008

Shi, K., Wang, X., Zhu, J., Cao, G., Zhang, K., Su, Z. (2015). Salidroside Protects Retinal Endothelial Cells Against Hydrogen Peroxide-induced Injury Via Modulating Oxidative Status and Apoptosis. *Biosci. Biotechnol. Biochem*., *79*(9), 1406-1413. DOI: 10.1080/09168451.2015.1038212

Shi, M., Liu, Z.W., Wang, F.S. (2011). Immunomodulatory Properties and Therapeutic Application of Mesenchymal Stem Cells. *Clin. Exp. Immunol*., *164*(1), 1-8. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2011.04327.x

Shin, J.S., Kim, J.M., Kim, J.S., Min, B.H., Kim, Y.H., Kim, H.J., Jang, J.Y., Yoon, I.H., Kang, H.J., Kim, J., Hwang, E.S., Lim, D.G., Lee, W.W., Ha, J., Jung, K.C., Park, S.H., Kim, S.J., Park, C.G. (2015). Long-Term Control of Diabetes in Immunosuppressed Nonhuman Primates (NHP) by the Transplantation of Adult Porcine Islets. *Am. J. Transplant*, *15*(11), 2837-2850. DOI: 10.1111/ajt.13345

Shin, J.S., Kim, J.M., Min, B.H., Yoon, I.H., Kim, H.J., Kim, J.S., Kim, Y.H., Kang, S.J., Kim, J., Kang, H.J., Lim, D.G., Hwang, E.S., Ha, J., Kim, S.J., Park, W.B., Park, C.G. (2018). Pre-Clinical Results in Pig-to-Non-Human Primate Islet Xenotransplantation Using AntiCD40 Antibody (2C10R4)-Based Immunosuppression. *Xenotransplantation*, *25*(1). DOI: 10.1111/xen.12356

Shiong, P.S., Heintz, R.E., Merideth, N., Yao, Q.X., Yao, Z., Zheng, T., Murphy, M., Moloney, M.K., Schmehl, M., Harris, M., Mendez, M., Mendez, R., Sandford, P.A. (1994) Insulin Independence in a Type 1 Diabetic Patient after Encapsulated Islet Transplantation. *Lancet*, *343*(8903), 950-951. DOI: 10.1016/s0140-6736(94)90067-1

Siemann, E.H., Creasy, L.L. (1992). Concentration of the Phytoalexin Resveratrol in Wine. *Am. J. Enol. Vitic*., *43*(1), 49-52.

Silva, A.M., Oliveira, M.I., Sette, L., Almeida, C.R., Oliveira, M.J., Barbosa, M.A., Santos, S.G. (2014). Resveratrol as a Natural Anti-tumor Necrosis Factor-α Molecule: Implications to Dendritic Cells and Their Crosstalk with Mesenchymal Stromal Cells. *Plos One*, *9*(3), e91406. DOI: 10.1371/journal.pone.0091406

Silva, M.E., Vezozzo, D.P., Ursich, M.J., Rocha, D.M., Cerri, G.G., Wajchenberg, B.L. (1993). Ultrasonographic Abnormalities of the Pancreas in IDDM and NIDDM Patients. *Diabetes Care*, *16*(9), 1296-1297. DOI: 10.2337/diacare.16.9.1296

Simmons, P.J., Torok-Storb, B. (1991). Identification of Stromal Cell Precursors in Human Bone Marrow by a Novel Monoclonal Antibody, STRO-1. *Blood*, *78*(1), 55-62. DOI: 10.1182/blood.V78.1.55.55

Singh, C.K., Kumar, A., Hitchcock, D.B., Fan, D., Goodwin, R., Lavoie, H.A., Nagarkatti, P., Dipette, D.J, Singh, U.S. (2011). Resveratrol Prevents Embryonic Oxidative Stress and Apoptosis Associated with Diabetic Embryopathy and Improves Glucose and Lipid Profile of Diabetic Dam. *Mol. Nutr. Food. Res*., *55*(8), 1186-1196. DOI: 10.1002/mnfr.201000457

Singh, C.K., Kumar, A., Lavoie, H.A., Dipette, D.J., Singh, U.S. (2013). Diabetic Complications in Pregnancy: is Resveratrol a Solution? *Exp. Biol. Med. (Maywood), 238*(5), 482-490. DOI: 10.1177/1535370212473704

Skandalakis, J.E., Skandalakis, P.N., Skandalakis, L.J. (2000). *Surgical Anatomy and Technique; a Pocket Manual* (2. Baskı). USA: Springer Science Inc.

Skyler, J.S., Bakris, G.L., Bonifacio, E., Darsow, T., Eckel, R.H., Groop, L., Groop, P.H., Handelsman, Y., Insel, R.A., Mathieu, C., McElvaine, A.T., Palmer, J.P., Pugliese, A., Schatz, D.A., Sosenko, J.M., Wilding, J.P.H., Ratner, R.E. (2017). Differentiation of Diabetes by Pathophysiology, Natural History, and Prognosis. *Diabetes*, *66*(2), 241-255. DOI: 10.2337/db16-0806

Soetedjo, A.A.P., Lee, J.M., Lau, H.H., Goh, G.L., An, J., Koh, Y., Yeong, W.Y., Teo, A.K.K. (2021). Tissue Engineering and 3D Printing of Bioartificial Pancreas for Regenerative Medicine in Diabetes. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, *32*(8), 609-622

Sokolowska, P., Jastrzebska, E., Dobrzyn, A., Brzozka, Z. (2022). Investigation of the Therapeutic Potential of New Antidiabetic Compounds Using Islet-on-a-Chip Microfluidic Model. *Biosensors (Basel), 12*(5), 302. DOI: 10.3390/bios12050302

Solcia, E., Usellini, L., Buffa, R., Rindi, G., Villani, L., Zampatti, C., Silini, E. (1987). Endocrine Cells Producing Regulatory Peptides. *Experientia*, *43*(7), 839-850. DOI: 10.1007/BF01945362

Soleymaninejadian, E., Pramanik, K., Samadian, E. (2012). Immunomodulatory Properties of Mesenchymal Stem Cells: Cytokines and Factors. *Am. J. Reprod. Immunol., 67*(1), 1-8. DOI: 10.1111/j.1600-0897.2011.01069.x

Song, N., Scholtemeijer, M., Shah, K. (2020). Mesenchymal Stem Cell Immunomodulation: Mechanisms and Therapeutic Potential. *Trends Pharmacol. Sci*., *41*(9), 653–664. DOI: 10.1016/j.tips.2020.06.009

Songur, A., Çağlar, V., Gönül, Y., Özen, O.A. (2009). Safra Kesesi ve Safra Yolları Anatomisi. *J. Surg. Arts*., *2*(2), 1-8.

Son, Y., Chung, H.T., Pae, H.O. (2014). Differential Effects of Resveratrol and its Natural Analogs, Piceatannol and 3,5,4’-trans-trimethoxystilbene, on Anti-Inflammatory Heme Oxigenase-1 Expression in RAW264.7 Macrophages. *Biofactors*, *40*(1), 138-145. DOI: 10.1002/biof.1108

Song, S., Roy, S. (2016). Progress and Challenges in Macroencapsulation Approaches for Type 1 Diabetes (T1D) Treatment: Cells, Biomaterials and Devices. *Biotechnol. Bioeng*., *113*(7), 1381-1402. DOI: 10.1002/bit.25895

Spaggiari, G.M., Capobianco, A., Becchetti, S., Mingari, M.C., Moretta, L. (2006). Mesenchymal Stem Cell-Natural Killer Cell Interactions: Evidence That Activated NK Cells Are Capable of Killing Mscs, Whereas Mscs can Inhibit IL-2-Induced NK-Cell Proliferation. *Blood*, *107*(4), 1484-1890. DOI:10.1182/blood-2005-07-2775

Spanheimer, R.G. (1992). Correlation between Decreased Collagen Production in Diabetic Animals and in Cells Exposed to Diabetic Serum: Response to Insulin. *Matrix. Apr.,12*(2), 101-107. DOI: 10.1016/s0934-8832(11)80051-x

Spence, A., Tang, Q. (2016). Restoring Regulatory T Cells in Type 1 Diabetes. *Curr. Diab. Rep*., *16*(11), 110. DOI: 10.1007/s11892-016-0807-6

Sperling, M.A. (2003). *Type 1 Diabetes: Etiology and Treatment*. Humana Press.

Spiegel, G., Bortsov, A., Bishop, F.K., Owen, D., Klingensmith, G. J., Mayer-Davis, E.J., Maahs, D.M. (2012). Randomized Nutrition Education Intervention to Improve Carbohydrate Counting in Adolescents with Type 1 Diabetes Study: Is More İntensive Education Needed? *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, *112*(11), 1736-1746.

Sponchioni, M., Capasso Palmiero, U., Moscatelli, D. (2019). Thermo-Responsive Polymers: Applications of Smart Materials in Drug Delivery and Tissue Engineering. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.*, *102*, 589-605. DOI: 10.1016/j.msec.2019.04.069

Stamatouli, A.M., Quandt, Z., Perdigoto, A.L., Clark, P.L., Kluger, H., Weiss, S.A., Gettinger, S., Sznol, M., Young, A., Rushakoff, R., Lee, J., Bluestone, J.A., Anderson, M., Herold, K.C. (2018). Collateral damage: insulin-dependent diabetes induced with checkpoint inhibitors. *Diabetes*, *67*(8), 1471-1480. DOI: 10.2337/dbi18-0002

Standring, S. (2008). *Gray's Anatomi: The Anatomical Basis of Clinical Practice* (40. Baskı). UK: Churchill Livingstone Elsevier.

Stefan, Y., Grasso, S., Perrelet, A., Orci, L. (1982). The Pancreatic Polypeptide-rich Lobe of the Human Pancreas: Definitive Identification of its Derivation from the Ventral Pancreatic Primordium. *Diabetologia*, *23*(2), 141-2. DOI: 10.1007/BF01271177

Stefan, Y., Orci, L., Malaisse-Lagae, F., Perrelet, A., Patel, Y., Unger, R.H. (1982). Quantitation of Endocrine Cell Content in the Pancreas of Nondiabetic and Diabetic Humans. *Diabetes*, *31*(8), 694-700. DOI: 10.2337/diab.31.8.694

Steiner, D.J., Kim, A., Miller, K., Hara, M. (2010). Pancreatic Islet Plasticity: Interspecies Comparison of Islet Architecture and Composition. *Islets*, *2*(3), 135-45. DOI: 10.4161/isl.2.3.11815

Stenderup, K., Justesen, J., Clausen, C., Kassem, M. (2003). Aging is Associated with Decreased Maximal Life Span and Accelerated Senescence of Bone Marrow Stromal cells. *Bone*, *33*(6), 919-926. DOI: 10.1016/j.bone.2003.07.005

Stephens, C.H., Orr, K.S., Acton, A.J., Tersey, S.A., Mirmira, R.G., Considine, R.V., Harbin, S.L.V. (2018). In Situ Type I Oligomeric Collagen Macroencapsulation Promotes Islet Longevity and Function in Vitro and in Vivo. Am. *J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, *315*(4), 650–661. DOI: 10.1152/ajpendo.00073.2018

Stock, A.A., Manzoli, V., De Toni, T., Abreu, M.M., Poh, Y.C., Ye, L., Roose, A., Pagliuca, F.W., Thanos, C., Ricordi, C., Tomei, A.A. (2020). Conformal Coating of Stem Cell- Derived Islets for b Cell Replacement in Type 1 Diabetes. *Stem Cell Reports*, *14*(1), 91-104. DOI: 10.1016/j.stemcr.2019.11.004

Strand, B.L., Coron, A.E., Braek, G.S. (2017). Current and Future Perspectives on Alginate Encapsulated Pancreatic Islet. *Stem Cells Transl. Med*., *6*(4), 1053-1058. DOI: 10.1002/sctm.16-0116

Subbarao, R.B., Ullah, I., Kim, E.J., Jang, S.J., Lee, W.J., Jeon, R.H., Kang, D., Lee, S.L., Park, B.W., Rho, G.J. (2015). Characterization and Evaluation of Neuronal Trans-Differentiation with Electrophysiological Properties of Mesenchymal Stem Cells Isolated from Porcine Endometrium. *Int. J. Mol. Sci*., *16*(5), 10934–10951. DOI: 10.3390/ijms160510934

Sudo, K., Kanno, M., Miharada, K., Ogawa, S., Hiroyama, T., Saijo, K., Nakamura, Y. (2007). Mesenchymal Progenitors Able to Differentiate into Osteogenic, Chondrogenic, and/or Adipogenic Cells in Vitro are Present in Most Primary Fibroblast-Like Cell Populations. *Stem Cells*, *25*(7), 1610–1617. DOI: 10.1634/stemcells.2006-0504

Suissa, Y., Magenheim, J., Stolovich-Rain, M., Hija, A., Collombat, P., Mansouri, A., Sussel, L., Sosa-Pineda, B., McCracken, K., Wells, J.M., Heller, R.S., Dor, Y., Glaser, B. (2013). Gastrin: A Distinct Fate of Neurogenin3 Positive Progenitor Cells in the Embryonic Pancreas. *Plos One*, *8*(8), 70397. DOI: 10.1371/journal.pone.0070397

Suk, K., Kim, S., Kim, Y.H., Kim, K.A., Chang, I., Yagita, H., Shong, M., Lee, M.S. (2001). IFN-gamma/TNF-alpha Synergism as the Final Effector in Autoimmune Diabetes: A Key Role for STAT1/IFN Regulatory Factor-1 Pathway in Pancreatic Beta Cell Death. *J. Immunol.*, *166*(7), 4481-4489. DOI: 10.4049/jimmunol.166.7.4481

Sun, Y., Ma, X., Zhou, D., Vacek, I., Sun, A.M. (1996). Normalization of Diabetes in Spontaneously Diabetic Cynomologus Monkeys by Xenografts of Microencapsulated Porcine Islets Without Immunosuppression. *J. Clin. Invest.*, *98*(6), 1417–1422. DOI: 10.1172/JCI118929

Sunay-Erten, G., Ergün, S., Özyazıcıoğlu, N. (2021). Tip 1 Diyabetli Çocuk ve Adolesanlarda Metabolik Kontrol. *YOBU Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, *2*(1), 28-37.

Sundler, F., Hakanson, R., Larsson, L.I. (1977). Ontogeny of Rat Pancreatic Polypeptide (PP) Cells. *Cell Tissue Res*., *178*(3), 303-306. DOI: 10.1007/BF00218694

Švajger, U., Jeras, M. (2012). Anti-inflammatory Effects of Resveratrol and its Potential use in Therapy of Immune-mediated Diseases. *Int. Rev. Immunol*., *31*(3), 202-222. DOI: 10.3109/08830185.2012.665108

Swartzlander, M.D., Barnes, C.A., Blakney, A.K., Kaar, J.L., Kyriakides, T.R., Bryant, S.J. (2015). Linking the Foreign Body Response and Protein Adsorption to PEG Based Hydrogels Using Proteomics. *Biomaterials*, 41, 26–36. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2014.11.026

Szablewski, L. (2014). Role of Immune System in Type 1 Diabetes Mellitus Pathogenesis. *Int Immunopharmacol*, *22*(1), 182-191. DOI: 10.1016/j.intimp.2014.06.033

Şanlıer, N., Ersoy, Y. (2005). *Beslenme Prensipleri*. Ankara: Morpa Kültür Yayıncılık.

Şanlıoğlu, A.D. (2019). Diyabette Uyarılmış Pluripotent Kök Hücre (Upkh) Teknolojisi: Hastalık Modeli Olarak Potansiyeli ve Terapötik Yaklaşımlardaki Yeri. A.O. Gürol (Ed.), *Kök Hücre ve Transplantasyon İmmünolojisi* (1. Baskı). Ankara: Türkiye Klinikleri.

Tahvildari, M., Dana, R. (2019). Low-Dose IL-2 Therapy in Transplantation, Autoimmunity and Inflammatory Diseases. *J. Immunol*., *203*(11), 2749-2755. DOI: 10.4049/jimmunol.1900733

Tajima, N., Morimoto, A. (2012). Epidemiology of Childhood Diabetes Mellitus in Japan. *Pediatric Endocrinology Reviews*, *10*, 44-50.

Tam, S.K., Dusseault, J., Bilodeau, S., Langlois, G., Hallé, J.P., Yahia, L.H. (2011). Factors Influencing Alginate Gel Biocompatibility. *J. Biomed. Mater. Res. A*, *98*(1), 40-52. DOI: 10.1002/jbm.a.33047

Tang, D.Q., Wang, Q., Burkhardt, B.R., Litherland, S.A., Atkinson, M.A., Yang, L.J. (2012). In Vitro Generation of Functional Insulin-producing Cells from Human Bone Marrow-derived Stem Cells, but Long-term Culture Running risk of Malignant Transformation. *Am. J. Stem Cells*, *1*(2), 114-127.

Tang, F., Xie, Y., Cao, H., Yang, H., Chen, X., Xiao, J. (2017). Fetal Bovine Serum Influences the Stability and Bioactivity of Resveratrol Analogues: A Polyphenol-Protein Interaction Approach. *Food Chem., 219*, 321-328. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.09

Tang, S.C., Jessup, C.F., Campbell-Thompson, M. (2018). The Role of Accessory Cells in Islet Homeostasis. *Curr Diab Rep, 18*(11), 117-136. DOI: 10.1007/s11892-018-1096-z

Tang, S., Tang, H., Zhang, Q., Wang, C., Wang, Y., Peng, W. (2012). Association of Cytotoxic T-lymphocyte Associated Antigen 4 Gene Polymorphism with Type 1 Diabetes Mellitus: A Meta-analysis. *Gene, 508*(2), 165-87. DOI: 10.1016/j.gene.2012.07.044

Tang, Q., Boden, E.K., Henriksen, K.J., Bour-Jordan, H., Bi, M., Bluestone, J.A. (2004). Distinct Roles of CTLA-4 and TGF-β in CD4 + CD25+ Regulatory T cell Function. *Eur. J. Immunol., 34*(11), 2996-3005. DOI: 10.1002/eji.200425143

Tan, T.M., Bloom, S.R. (2013). *Pancreatic Polypeptide: Handbook of Biologically Active Peptides* (2. Baskı). Cambridge, MA, USA: Academic Press. DOI: 10.1016/B978-0-12-385095-9.00176-7

Tasaka, Y., Matsumoto, H., Inoue, Y., Hirata, Y. (1989). Contents and Secretion of Glucagon and Insulin in Rat Pancreatic Islets from the Viewpoint of Their Localization in Pancreas. *Tohoku J. Exp. Med., 159*(2), 123-130. DOI: 10.1620/tjem.159.123

Teramura, Y., Iwata, H. (2009). Islet Encapsulation with Living Cells for Improvement of Biocompatibility. *Biomaterials, 30*(12), 2270–2275. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2009.01.036

Teramura, Y., Iwata, H. (2010). Bioartificial Pancreas Microencapsulation and Conformal Coating of Islet of Langerhans. *Adv. Drug Deliv. Rev., 62*(7-8), 827-840. DOI: 10.1016/j.addr.2010.01.005

Tharp, W.G. Gupta, D., Smith, J., Jones, K.P., Jones, A.M., Richard, E., Pratley, R.E. (2016). Effects of Glucose and Insulin on Secretion of Amyloid-β by Human Adipose Tissue Cells. *Obesity (Silver Spring), 24*(7), 1471-1479. DOI: 10.1002/oby.21494

Thevissen, D.J.T., Chintinne, M., Ling, Z., Gillard, P., Schoonjans, L., Delvaux, G., Strand, B.L., Gorus, F., Keymeulen, B., Pipeleers, D., Beta Cell Therapy Consortium EU-FP7 (2013). Sustained Function of Alginate Encapsulated Human Islet Cell Implants in the Peritoneal Cavity of Mice Leading to a Pilot Study in a Type 1 Diabetic Patient. *Diabetologia, 56*(7), 1605-1614. DOI: 10.1007/s00125-013-2906-0

Thomas, H.R., Gitelman, S.E. (2013). Altering the Course of Type 1 Diabetes: An Update on Prevention and New Onset Clinical Trials. *Pediatr Diabetes, 14*(5), 311-321.

Thomas, J.I., de Marquesini, L.G.P., Ravanan, R., Smith, R.M., Guerder, S., Flavell, R.A., Wraith, D.C., Wen, L., Wong, F.S. (2007). CD86 has Sustained Costimulatory Effects on CD8 T Cells. *J. Immunol., 179*(9), 5936-5946. DOI: 10.4049/jimmunol.179.9.5936

Thurber, A.E., Omenetto, F.G., Kaplan, D.L. (2015). In Vivo Bioresponses to Silk Proteins. *Biomaterials, 71,* 145-157. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2015.08.039

Tiwari, P. (2015). Recent Trends in Therapeutic Approaches for Diabetes Management: A Comprehensive Update. *J. Diabetes Res*., 340838–340911. DOI: 10.1155/2015/340838

Tivol, E.A. Borriello, F. Schweitzer, A.N., Lynch, W.P., Bluestone, J.A., Sharpe, A.H. (1995). Loss of CTLA-4 Leads to Massive Lymphoproliferation and Fatal Multiorgan Tissue Destruction, Revealing a Critical Negative Regulatory Role of CTLA-4. *Immunity*, *3*(5), 541-547. DOI: 10.1016/1074-7613(95)90125-6

Todd, J.A. (2010). Etiology of Type 1 Diabetes. *Immunity*, *32*(4), 457-467. DOI: 10.1016/j.immuni.2010.04.001

Tokur, O. , Aksoy, A. (2017). In Vitro Sitotoksisite Testleri. *Harran Üniv. Vet. Fak. Derg.*, *6*(1), 112-118. DOI: 10.31196/huvfd.325794

Tolar, J., Nauta, A.J., Osborn, M.J., Mortari, A.P.,McElmurry, R.T., Bell, S., Xia, L., Zhou, N., Riddle, M., Schroeder, T.M., Westendorf, J.J., McIvor, R.S., Hogendoorn, P.C.W., Szuhai, K., Oseth, L., Hirsch, B., Yant, S.R., Kay, M.A., Peister, A., Prockop, D.J., Fibbe, W.E., Blazar, B.R. (2007). Sarcoma Derived from Cultured Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells*, *25*(2), 371–379. DOI: 10.1634/stemcells.2005-0620

Tomasetto, C., Karam, S.M., Ribieras, S., Masson, R., Lefebvre, O., Staub, A., Alexander, G., Chenard, M.P., Rio, M.C. (2000). Identification and Characterization of a Novel Gastric Peptide Hormone: The Motilin-related Peptide. *Gastroenterology*, *119*(2), 395-405. DOI: 10.1053/gast.2000.9371

Tomei, A.A., Manzoli, V., Fraker, C.A., Giraldo, J., Velluto, D., Najjar, M, Pileggi, A., Molano, R.D., Ricordi, C., Stabler, C.L., Hubbell, J.A. (2014). Device Design and Materials Optimization of Conformal Coating for Islets of Langerhans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, *111*(29), 10514-10519. DOI: 10.1073/pnas.1402216111

Tomei, A.A., Villa, C., Ricordi, C. (2015). Development of an Encapsulated Stem Cell-Based Therapy for Diabetes. *Expert Opinion on Biological Therapy*, *15*(9), 1321-1336. DOI: 10.1517/14712598.2015.1055242

Toshinai, K., Mondal, M.S., Nakazato, M., Date, Y., Murakami, N., Kojima, M., Kangawa, K., Matsukura, S. (2001). Upregulation of Ghrelin Expression in the Stomach Upon Fasting, Insulin-induced Hypoglycemia, and Leptin Administration. *Biochem. Biophys. Res. Commun*., *281*(5), 1220-1225. DOI: 10.1006/bbrc.2001.4518

Trimble, E.R., Halban, P.A., Wollheim, C.B., Renold, A.E. (1982). Functional Differences between Rat Islets of Ventral and Dorsal Pancreatic Origin. *J. Clin. Investig*., *69*(2), 405-413. DOI: 10.1172/jci110464

Trimble, E.R., Renold, A.E. (1981). Ventral and Dorsal Areas of Rat Pancreas Islet Hormone Content and Secretion. *Am.J.Physiol*., *240*(4), 422-427. DOI: 10.1152/ajpendo.1981.240.4.E422

Trinh, B., Donath, M.Y., Läubli, H. (2019). Successful Treatment of Immune Checkpoint Inhibitor-induced Diabetes with Infliximab. *Diabetes Care*, *42*(9), 153-154. DOI: 10.2337/dc19-0908

Trivanović, D., Kocić, J., Mojsilović, S., Krstić, A., Ilić, V., Djordjević, I.O., Santibanez, J.F., Jovcić, G., Terzić, M., Bugarski, D. (2013). Mesenchymal Stem Cell Isolated From Peripheral Blood And Umbilical Cord Wharton's Jelly. *Srp. Arh. Celok. Lek.*, *141*(3-4):178-186. DOI: 10.2298/sarh1304178t

Tsang, S.W., Zhang, H., Lin, Z., Mu, H., Bian, Z.X. (2015). Anti-fibrotic Effect of Trans-resveratrol on Pancreatic Stellate Cells. *Biomed. Pharmacother*., *71*, 91-97. DOI: 10.1016/j.biopha.2015.02.013

Tsang, V.H.M., McGrath, R.T., Clifton-Bligh, R.J., Scolyer, R.A., Jakrot, V., Guminski, A.D., Long, G.V., Menzies, A.M. (2019). Checkpoint Inhibitor Associated Autoimmune Diabetes (CIADM) is Distinct from Type 1 Diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab*., *104*(11), 5499-5506. DOI: 10.1210/jc.2019-00423

Tschop, M., Smiley, D.L., Heiman, M.L. (2000). Ghrelin Induces Adiposity in Rodents. *Nature*, *407*(6806), 908-913. DOI: 10.1038/35038090

Todd, J.A. (1991). A Protective Role of the Environment in the Development of Type 1 Diabetes? *Diabet. Med*., *8*(10), 906-910. DOI: 10.1111/j.1464-5491.1991.tb01528.x

Todd, J.A., Wicker, L.S. (2001). Genetic Protection from the Inflammatory Disease Type 1 Diabetes in Humans and Animal Models. *Immunity*, *15*(3), 387-395. DOI: 10.1016/s1074-7613(01)00202-3

Toren, E., Burnette, K.S., Banerjee, R.R., Chad S Hunter, C.S., Tse, H.M. (2021). Partners in Crime: Beta-Cells and Autoimmune Responses Complicit in Type 1 Diabetes Pathogenesis. *Front Immunol*, 12, 756548. DOI: 10.3389/fimmu.2021.756548

Traversi, G., Staid, D.S., Fiore, M., Percario, Z., Trisciuoglio, D., Antonioletti, R., Morea, V., Degrassi, F., Cozzi, R. (2019). A Novel Resveratrol Derivative Induces Mitotic Arrest, Centrosome Fragmentation and Cancer Cell Death by Inhibiting γ-tubulin. *Cell Div*., 14, 3. DOI: 10.1186/s13008-019-0046-8

Tura-Bahadır, Ç., Atmaca, M.H. (2012). Diyabet ve Egzersiz. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*, *29*(1), 16-22.

Turanlıgil, N.C.S., Uyanıkgil, Y. (2010). Hücre İçi Sinyal Yolakları ve Klinik Yansımaları. *Dergi Park*, *19*,180-191.

Tümer, G., Çolak, R. (2012). Tip 2 Diabetes Mellitusda Tıbbi Beslenme Tedavisi. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*, *29*(1), 12-15.

Türk Diyabet Vakfı (2017). *Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi*. İstanbul: Türk Diyabet Vakfı Yayınları.

Türken, M., Yılmaz, S., Çolpan, L., Aydınol, B., Tuzcu, A.K. (2015). Tip 1 Diyabetli Erişkinlerde D Vitamini Eksikliğinin Serum sIL-2R, IL-6 ve TNF-alfa Düzeyleri Üzerine Etkisi. *Dicle Tıp Dergisi*, *42*(4), 432-437. DOI: 10.5798/diclemedj.0921.2015.04.0604

Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği (2021). *Tip 1 Diabetes Mellitus*. Ankara: Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği Yayınları.

Tylek, T., Blum, C., Hrynevich, A., Schlegelmilch, K., Schilling, T., Dalton, P.D., Groll, J. (2020). Precisely Defined Fiber Scaffolds With 40 mm Porosity Induce Elongation Driven M2-Like Polarization of Human Macrophages. *Biofabrication*, *12*(2), 25007. DOI: 10.1088/1758-5090/ab5f4e

Uccelli, A., Moretta, L., Pistoia, V. (2008). Mesenchymal Stem Cells in Health and Disease. *Nat. Rev. Immunol*., *8*(9), 726-736. DOI: 10.1038/nri2395.

Uçar, A., Saka, H.N. (2016). Çocukluk Çağında Tip 1 Diyabet. *Klinik Tıp Pediatri Dergisi*, *8*(6), 22-32.

Ueda, H., Howson, J.M.M., Esposito, L., Heward, J., Snook, H., Chamberlain, G., Rainbow, D.B., Hunter, K.M.D., Smith, A.N., Di Genova, G., Herr, M.H., Dahlman, I., Payne, F., Smyth, D., Lowe, C., Twells, R.C.J., Howlett, S., Healy, B, Nutland, S., Rance, H.E., Everett, V., Smink, L.J., Lam, A.C., Cordell, H.J., Walker, N.M., Bordin, C., Hulme, J., Motzo, C., Cucca, F., Hess, J.F., Metzker, M.L., Rogers, J., Gregory, S., Allahabadia, A., Nithiyananthan, R., Tuomilehto-Wolf, E., Tuomilehto, J., Bingley, P., Gillespie, K.M., Undlien, D.E., Rønningen, K.S., Guja, C., Ionescu-Tîrgovişte, C., Savage, D.A., Maxwell, A.P., Carson, D.J., Patterson, C.C., Franklyn, J.A., Clayton, D.G., Peterson, L.B., Wicker, L.S., Todd, J.A., Gough, S.C.L. (2003). Association of the T-cell Regulatory Gene CTLA4 with Susceptibility to Autoimmune Disease. *Nature*, *423*(6939), 506-511. DOI: 10.1038/nature01621

Um, J.H., Park, S.J., Kang, H., Yang, S., Foretz, M., McBurney, M.W., Kim, M.K., Viollet, B., Chung, J.H. (2010). AMP-activated Protein Kinase-deficient Mice are Resistant to the Metabolic Effects of Resveratrol. *Diabetes*, *59*(3), 554-563. DOI: 10.2337/db09-0482

Unger, R.H., Orci, L. (1975). The Essential role of Glucagon in the Pathogenesis of Diabetes Mellitus. *Lancet*, *1*(7897), 14-6. DOI: 10.1016/s0140-6736(75)92375-2

URL-1 : https://diabetesatlas.org/atlas/tenth-edition/, (Ziyaret tarihi: 11 Aralık 2021).

URL-2: https://enginaltinkayasite.wordpress.com/pancreas-in-situ-anatomy/,(Ziyaret tarihi: 10 Kasım 2021).

URL-3: https://www.pankreasnedir.com/Videolar/34/pankreas-anatomisi-pankreatit-tumorler-ve-whipple-ameliyati, (Ziyaret tarihi: 16 Kasım 2021).

URL-4: http://www.turkcerrahi.com/makaleler/pankreas/pankreas-anatomisi-embriyolojisi-gelisimi/, (Ziyaret tarihi: 5 Kasım 2021).

URL-5: https://www.turkcerrahi.com/makaleler/pankreas/pankreas-fizyolojisi-histolojisi/, (Ziyaret tarihi: 20 Kasım 2021).

URL-6: http://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=&term=Resveratrol&cntry=&state=&city=&dist=, (Ziyaret tarihi: 10 Mayıs 2022).

URL-7: http://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=Type+1+Diabetes+Mellitus+with+mesenchymal+stem+cell&term=&cntry=&state=&city=&dist=/, (Ziyaret tarihi: 16 Mayıs 2022).

URL-8: https://sernova.com/press/release/?id=328, (Ziyaret tarihi: 24 Mayıs 2022).

URL-9: http://www.cafepharma.com/cpwire/article/First-of-its-Kind-Bio-Artificial-Pancreas-on-Track-for-Type-I-Diabetes-Cure/90161, (Ziyaret tarihi: 24 Mayıs 2022).

URL-10: https://defymed.com/mailpan/, (Ziyaret tarihi: 24 Mayıs 2022).

URL-11: https://www.defymed.com/defymed-enters-partnership-with-semma-therapeutics/, (Ziyaret tarihi: 24 Mayıs 2022).

URL-12: http://ipscell.com/2019/09/viacyte-qa-crispr-tx-quick-progress-ongoing-diabetes-trial-more/, (Ziyaret tarihi: 24 Nisan 2022).

URL-13: http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02239354?term=viacyte&draw=2&rank=4, (Ziyaret tarihi: 24 Nisan 2022).

URL-14: http://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT02939118?term=viacyte&draw=&&rank=3, (Ziyaret tarihi: 24 Nisan 2022).

URL-15: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT04678557, (Ziyaret tarihi: 24 Nisan 2022).

URL-16: http://viacyte.com/press-releases/viacyte-announces-initiation-of-phase-2-study-of-encapsulated-cell-ther-apy-for-type-1-diabetes-patients/,(Ziyaret tarihi: 24 Nisan 2022).

URL-17: http://www.genengnews.com/topics/drug-discovery/lilly-sigilon-launch-up-to-473m-type-1-diabetes-partnership/, (Ziyaret tarihi: 22 Nisan 2022).

URL-18: http://www.medgadget.com/2018/03/interview-devyn-smith-phd-coo-sigilon - therapeutics.html, (Ziyaret tarihi: 22 Nisan 2022).

URL-19: https://lctglobal.com/current-partnerships, (Ziyaret tarihi: 22 Nisan 2022).

URL-20: http://dolglobal.com/diabecell, (Ziyaret tarihi: 22 Nisan 2022).

URL-21: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT03162926?term=viacyte&draw=2&rank=2, (Ziyaret tarihi: 24 Nisan 2022).

URL-22: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT03163511?term=viacyte&draw=2&rank=1, (Ziyaret tarihi: 24 Nisan 2022).

URL-23: https://www.the-scientist.com/bio-business/biotechs-race-to-develop-stemcell-treatments-for-diabetes--66100, (Ziyaret tarihi: 24 Nisan 2022).

URL-24: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT02939118?term=viacyte&draw=2&rank=3, (Ziyaret tarihi: 24 Nisan 2022).

URL-25: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT05210530?term=vctx210&draw=2&rank=1, (Ziyaret tarihi: 24 Nisan 2022).

URL-26: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00940173?term=diabecell&cond=Type+1+Diabetes&draw=2&rank=3, (Ziyaret tarihi: 24 Nisan 2022).

URL-27: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT01739829?term=diabecell&cond=Type+1+Diabetes&draw=2&rank=2, (Ziyaret tarihi: 24 Nisan 2022).

URL-28: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT01736228?term=living+cell+Technologies&cond=Type+1+Diabetes&draw=2&rank=1&view=record, (Ziyaret tarihi: 24 Nisan 2022).

URL-29: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03513939?term=cell+pouch&draw=2&rank=1, (Ziyaret tarihi: 24 Nisan 2022).

URL-30: https://www.sernova.com/press/, (Ziyaret tarihi: 24 Nisan 2022).

URL-31: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02064309, (Ziyaret tarihi: 24 Nisan 2022).

URL-32: https://www.thermofisher.com/tr/en/home/life-science/cell-analysis/cellviability-and-regulation/cell-cycle.html#dnacontentdistribution, (Ziyaret tarihi: 16 Mart 2022).

URL-33: https://www.bdbiosciences.com/content/dam/bdb/marketing-documents/BD_Reagents_Apoptosis_Brochure.pdf, (Ziyaret tarihi: 16 Mart 2022).

URL-34: https://ogreniyo.com/mitoz-bolunme/, (Ziyaret tarihi: 16 Mart 2022).

URL-35: https://www.drozdogan.com/il-2-interlokin-daha-az-yan-etki-sentetik-immunoterapi/, (Ziyaret tarihi: 22 Mart 2022).

Urusova, I.A., Farilla, L., Hui, H., D'Amico, E., Perfetti, R. (2004). GLP-1 Inhibition of Pancreatic Islet Cell Apoptosis. *Trends Endocrinol. Metab*., *15*(1), 27-33. DOI: 10.1016/j.tem.2003.11.006

Uygur, M.M., Gogas-Yavuz, D. (2017). Diyabet Tanısı ve Sınıflandırılması. *Turkiye Klinikleri J Nutr Diet-Special Topics*, *3*(3), 120-129.

Uzura, S., Sekine-suzuki, E., Nakanishi, I., Sonoda, M., Tanimori, S. (2016). A Facile and Rapid Access to Resveratrol Derivatives and Their Radioprotective Activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett*., *26*(16), 3886-3891. DOI: 10.1016/j.bmcl.2016.07.018

Ünver, S., Fındık, Ü.Y. (2021). Organ Naklinde İmmünsupresif Tedavi ve Bakım. *Türkiye Klinikleri Cerrahi, Hastalıkları Hemşireliği, Organ Nakilleri ve Hemşirelik Bakımı*, *1*, 24-30.

Vaidya, B., Pearce, S.H.S., Charlton, S., Marshall, N., Rowan, A.D., Griffiths, I.D., Kendall-Taylor, P., Cawston, T.E., Young-Min, S. (2002). An Association between the CTLA4 exon 1 Polymorphism and Early Rheumatoid Arthritis with Autoimmune Endocrinopathies. *Rheumatology (Oxford)*, *41*(2), 180-183. DOI: 10.1093/rheumatology/41.2.180

Vaithilingam, V., Bal, S., Tuch, B.E. (2017). Encapsulated Islet Transplantation: Where Do We Stand? *Rev. Diabetes Stud*., *14*(1), 51-78. DOI: 10.1900/RDS.2017.14.51

Vandenabeele, P., Declercq, W., Beyaert, R., Fiers, W. (1995). Two Tumour Necrosis Factor Receptors: Structure and Function. *Trends Cell Biol*., *5*(10), 392-399. DOI: 10.1016/s0962-8924(00)89088-1

Van de Velde, H., Janssens, G.P., de Rooster, H., Polis, I., Peters, I., Ducatelle, R., Nguyen, P., Buyse, J., Rochus, K., Xu, J., Verbrugghe, A., Hesta, M. (2013). The Cat as a Model for Human Obesity: Insights into Depotspecific Inflammation Associated with Feline Obesity. *Br. J. Nutr*., *110*(7), 1326-1335. DOI: 10.1017/S0007114513000226

Van der Horst, A., Burgering, B.M.T. (2007). Stressing the Role of FoxO Proteins in Lifespan and Disease. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*., *8*(6), 440-450. DOI: 10.1038/nrm2190

Van der Meulen, T., Donaldson, C.J., Caceres, E., Hunter, A.E., Cowing-Zitron, C., Pound, L.D., Adams, M.W., Zembrzycki, A., Grove, K.L., Huising, M.O. (2015). Urocortin3 Mediates Somatostatin-dependent Negative Feedback Control of Insulin Secretion. *Nat. Med*., *21*(7), 769-776. DOI: 10.1038/nm.3872

Van Duursen, M.B.M. (2017). Modulation of Estrogen Synthesis and Metabolism by Phytoestrogens in Vitro and the Implications for Women's Health. *Toxicol. Res*., *6*(6), 772-794. DOI: 10.1039/c7tx00184c

Van Hecke, L., Magri, C., Duchateau, L., Beerts, C., Geburek, F., Suls, M., da Dalt, L., Patruno, M., Saunders, J., Broeckx, S.Y., Depuydt, E., Spaas, J.H. (2021). Repeated Intra-articular Administration of Equine Allogeneic Peripheral Blood-derived Mesenchymal Stem Cells Does not Induce a Cellular and Humoral Immune Response in Horses. *Vet. Immunol. Immunopathol*., *39*, 110306. DOI: 10.1016/j.vetimm.2021.110306

Van Megen, K.M., van 't Wout, E.T., Motta, J.L., Dekker, B., Nikolic, T., Roep, B.O. (2019). Activated Mesenchymal Stromal Cells Process and Present Antigens Regulating Adaptive Immunity. *Front. Immunol*., *10*, 694. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00694

Vasalli, P. (1992). The Pathophysiology of Tumor Necrosis Factors. *Annu. Rev. Immunol*., *10*, 411-452. DOI: 10.1146/annurev.iy.10.040192.002211

Vasiljević, J., Torkko, J.M., Knoch, K.P., Solimena, M. (2020). The Making of Insulin in Health and Disease. *Diabetologia*, *63*(10), 1981-1989. DOI: 10.1007/s00125-020-05192-7

Vaz-da-Silva, M., Loureiro, A.I., Falcao, A., Nunes, T., Rocha, J.F., Fernandes-Lopes, C., Soares, E., Wright, L., Almeida, L., Soares-da-Silva, P. (2008). Effect of Food on the Pharmacokinetic Profile of Transresveratrol. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther*., *46*(11), 564-570. DOI: 10.5414/cpp46564

Vegas, J., Veiseh, O., Doloff, J.C., Ma, M., Tam, H.H., Bratlie, K., Li, J., Bader, A.R., Langan, E., Olejnik, K., Fenton, P., Kang, J.W., Locke, J.H., Bochenek, M.A., Chiu, A., Siebert, S., Tang, K., Jhunjhunwala, S., Dasilva, S.A., Dholakia, N., Thakrar, R., Vietti, T., Chen, M., Cohen, J., K. Siniakowicz, K., Qi, M., McGarrigle, J., Lyle, S., Harlan, D.M., Greiner, D.L., Oberholzer, J., Weir, G.C., Langer, R., Anderson, D.G. (2016). Combinatorial Hydrogel Library Enables Identification of Materials that Mitigate the Foreign Body Response in Primates. *Nat. Biotechnol*., *34*(3), 345-352. DOI: 10.1038/nbt.3462

Veld, P.I., Marichal, M. (2010). Microscopic Anatomy of the Human Islet of Langerhans. *Adv Exp Med Biol*., *654*, 1-19. DOI: 10.1007/978-90-481-3271-3_1

Venugopal, B., Mohan, S., Kumary, T.V., Kumar, P.R.A. (2020). Peripheral Blood As a Source of Stem Cells for Regenerative Medicine: Emphasis Towards Corneal Epithelial Reconstruction-An In Vitro Study. *Tissue Eng. Regen. Med*., *17*(4), 495-510. DOI: 10.1007/s13770-020-00273-5

Vetterli, L., Brun, T., Giovannoni, L., Bosco, D., Maechler, P. (2011). Resveratrol Potentiates Glucose-stimulated Insulin Secretion in INS-1E beta-cells and Human Islets Through a SIRT1-dependent Mechanism. *J Biol Chem*., *286*(8), 6049-6060. DOI: 10.1074/jbc.M110.176842

Vetterli, L., Maechler, P. (2011). Resveratrol-activated SIRT1 in Liver and Pancreatic β-cells: A Janus Head Looking to the Same Direction of Metabolic Homeostasis. *Aging*, *3*(4), 444-449.

Vives-Pi, M., Rodríguez-Fernández, S., Pujol-Autonell, I. (2015). How Apoptotic β-Cells Direct Immune Response to Tolerance or to Autoimmune Diabetes: A Review. *Apoptosis*, *20*(3), 263-272. DOI: 10.1007/s10495-015-1090-8

Vojtassak, J, Danisovic, L., Kubes, M., Bakos, D., Jarábek, L., Ulicná, M., Blasko, M. (2006). Autologous Biograft and Mesenchymal Stem Cells in Treatment of the Diabetic Foot. *Neuro. Endocrinol. Lett*., *27*(2), 134-137.

Volarevic, V., Al-Qahtani, A., Arsenijevic, N., Pajovic, S., Lukic, M.L. (2010). Interleukin-1 Receptor Antagonist (IL-1Ra) and IL-1Ra Producing Mesenchymal Stem Cells as Modulators of Diabetogenesis. *Autoimmunity*, *43*(4), 255–263. DOI: 10.3109/08916930903305641

Volarevic, V., Arsenijevic, N., Lukic, M.L., Stojkovic, M. (2011). Concise Review: Mesenchymal Stem Cell Treatment of the Complications of Diabetes Mellitus. *Stem Cells*, *29*(1), 5-10. DOI: 10.1002/stem.556

Volonte, D., Galbiati, F. (2020). Caveolin-1, A Master Regulator of Cellular Senescence. *Cancer Metastasis Rev*., *39*(2), 397-414. DOI: 10.1007/s10555-020-09875-w

Wachlin, G., Augstein, P., Schröder, D., Kuttler, B., Klöting, I., Heinke, P., Schmidt, S. (2003). IL-1beta, IFN-gamma and TNF-alpha Increase Vulnerability of Pancreatic Beta Cells to Autoimmune Destruction. *J. Autoimmun*., *20*(4), 303-312. DOI: 10.1016/s0896-8411(03)00039-8

Wada, T., Hoshino, M., Kimura, Y., Ojima, M., Nakano, T., Koya, D., Tsuneki, H., Sasaoka, T. (2011). Both Type I and II IFN Induce Insulin Resistance by Inducing Different Isoforms of SOCS Expression in 3T3-L1 Adipocytes. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*., *300*(6), 1112-1123. DOI: 10.1152/ajpendo.00370.2010

Wahab, A., Gao, K., Jia, C., Zhang, F., Tian, G., Murtaza, G., Chen, J. (2017). Significance of Resveratrol in Clinical Management of Chronic Diseases. *Molecules*, *22*(8), 1329. DOI: 10.3390/molecules22081329

Wahren-Herlenius, M., Dorner, T. (2013). Immunopathogenic Mechanisms of Systemic Autoimmune Disease. *Lancet*, *382*(9894), 819-831. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)60954-X

Walle, T. (2011). Bioavailability of Resveratrol. *Ann. N. Y. Acad. Sci*., *1215*, 9-15. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2010.05842.x

Walle, T., Hsieh, F., DeLegge, M.H., Oatis, J.E. Jr., Walle, U.K. (2004). High Absorption but Very Low Bioavailability of Oral Resveratrol in Humans. *Drug Metab Dispos*., *32*(12), 1377-1382. DOI: 10.1124/dmd.104.000885

Walunas, T.L., Bakker, C.Y., Bluestone, J.A. (1996). CTLA4 Ligation Blocks CD28-Dependent T Cell Activation. *J Exp Med*., *183*(6), 2541-2450. DOI: 10.1084/jem.183.6.2541

Walunas, T.L., Lenschow, D.J., Bakker, C.Y., Linsley, P.S., Freeman, G.J., Green, J.M., Thompson, C.B., Bluestone, J.A. (1994). CTLA-4 Can Function as a Negative Regulator of T Cell Activation. *Immunity*, *1*(5), 405-413. DOI: 10.1016/1074-7613(94)90071-x

Wang, B., Du, W., Jia, Y., Zhang, X., Ma, G. (2017). Cytotoxic T-lymphocyte-Associated Protein 4 +49A/G Polymorphisms Contribute to the Risk of Type 1 Diabetes in Children: An Updated Systematic Review and Meta-analysis with Trial Sequential Analysis. *Oncotarget*, *8*(6), 10553-10564. doi: 10.18632/oncotarget.14457

Wang, C., Ye, Y., Hochu, G.M., Sadeghifar, H., Gu, Z. (2016). Enhanced Cancer Immunotherapy by Microneedle Patch-Assisted Delivery of Anti-PD1 Antibody. *Nano Lett*., *16*(4), 2334-2340. DOI: 10.1021/acs.nanolett.5b05030

Wang, F., Li, Z., Khan, M., Tamama, K., Kuppusamy, P., Wagner, W.R., Sen, C.K., Guan, J. (2010). Injectable, Rapid Gelling and Highly Flexible Hydrogel Composites as Growth Factor and Cell Carriers. *Acta Biomater*, *6*(6), 1978–1991. DOI: 10.1016/j.actbio.2009.12.011

Wang, J., Liu, L., Ma, J., Sun, F., Zhao, Z., Gu, M. (2014). Common Variants on Cytotoxic T Lymphocyte Antigen-4 Polymorphisms Contributes to Type 1 Diabetes Susceptibility: Evidence Based on 58 Studies. *Plos One*, *9*(1), e85982. DOI: 10.1371/journal.pone.0085982

Wang, L.H., Ernst, A.U., An, D., Datta, A.K., Epel, B., Kotecha, M., Ma, M. (2021a). A Bioinspired Scaffold for Rapid Oxygenation of Cell Encapsulation Systems. *Nat. Commun.*, *12*(1), 5846. DOI: 10.1038/s41467-021-26126-w

Wang, L.H., Ernst, A.U., Flanders, J.A., Liu, W., Wang, X., Datta, A.K., Epel, B., Kotecha, M., Papas, K.K., Ma, M. (2021b). An Inverse-breathing Encapsulation System for Cell Delivery. *Sci. Adv*., *7*(20), eabd5835. DOI: 10.1126/sciadv.abd5835

Wang, N., Adams, G., Buttery, L., Falcone, F.H., Stolnik, S. (2009). Alginate Encapsulation Technology Supports Embryonic Stem Cells Differentiation into Insulin-producing Cells. *J. Biotechnol*, *144*(4), 304-312. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2009.08.008

Wangler, S., Menzel, U., Li, Z., Ma, J., Hoppe, S., Benneker, L.M., Alini, M., Grad, S., Peroglio, M. (2019). CD146/MCAM Distinguishes Stem Cell Subpopulations with Distinct Migration and Regenerative Potential in Degenerative Intervertebral Discs. *Osteoarthritis Cartilage*, *27*(7), 1094-1105. DOI: 10.1016/j.joca.2019.04.002

Wang, F., Li, Z., Khan, M., Tamama, K., Kuppusamy, P., Wagner, W.R., Sen, C.K., Guan, J. (2010). Injectable, Rapid Gelling and Highly Flexible Hydrogel Composites as Growth Factor and Cell Carriers. *Acta Biomater*, *6*(6), 1978–1991. DOI: 10.1016/j.actbio.2009.12.011

Wang, Q., Ding, G., Xu, X. (2016). Immunomodulatory Functions of Mesenchymal Stem Cells and Possible Mechanisms. *Histol. Histopathol*., *31*(9), 949-959. DOI:10.14670/HH-11-750

Wang, W.Y., Barratt, B.J., Clayton, D.G., Todd, J.A. (2005). Genome-wide Association Studies: Theoretical and Practical Concerns. *Nat. Rev. Genet*., *6*(2), 109-118. DOI: 10.1038/nrg1522

Wang, X., Misawa, R., Zielinski, M.C., Cowen, P., Jo, J., Periwal, V., Ricordi, C., Khan, A., Szust, J., Shen, J., Millis, M. Witkowski, P. Hara M. (2013). Regional Differences in Islet Distribution in the Human Pancreas–preferential Beta-cell Loss in the Head Region in Patients with Type 2 Diabetes. *Plos One*, *8*(6), e67454. DOI: 10.1371/journal.pone.0067454

Wang X., Niu, D., Li, P., Wu, Q., Bo, X., Liu, B, Bao, S., Su, T., Xu, H., Wang, Q. (2015). Dual-Enzyme-Loaded Multifunctional Hybrid Nanogel System for Pathological Responsive Ultrasound Imaging and T2-Weighted Magnetic Resonance Imaging. *ACS Nano*, *9*(6), 5646–5656. DOI: 10.1021/nn5068094

Wang, Y., Kim, H.J., Novakovic, G.V., Kaplan, D.L. (2006). Stem Cell-Based Tissue Engineering with Silk Biomaterials. *Biomaterials*, *27*(36), 6064–6082. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2006.07.008

Wang, Y.J., Traum, D., Schug, J., Gao, L., Liu, C., Consortium, H., Atkinson, M.A., Powers, A.C., Feldman, M.D., Naji, A., Chang, K.M., Kaestner, K.H. (2019). Multiplexed in Situ Imaging Mass Cytometry Analysis of the Human Endocrine Pancreas and Immune System in Type 1 Diabetes. *Cell Metab*, *29*(3), 769-783. DOI: 10.1016/j.cmet.2019.01.003

Wang, Z., Dabrosin, C., Yin, X., Fuster, M.M., Arreola, A., Rathmell, W.K., Generali, D., Nagaraju, G.P., El-Rayes, B., Ribatti, D., Chen, Y.C., Honoki, K., Fujii, H., Georgakilas, A.G., Nowsheen, S., Amedei, A., Niccolai, E., Amin, A., Ashraf, S.S., Helferich, B., Yang, X., Guha, G., Bhakta, D., Ciriolo, M.R., Aquilano, K., Chen, S., Halicka, D., Mohammed, S.I., Azmi, A.S., Bilsland, A., Keith, W.N., Jensen, L.D. (2015). Broad Targeting of Angiogenesis for Cancer Prevention and Therapy. *Semin. Cancer Biol*., *35*, 224-243. DOI: 10.1016/j.semcancer.2015.01.001

Wan, X.X., Zhang, D.Y., Khan, M.A., Zheng, S.Y., Hu, X.H., Zhang, Q., Yang, R.H., Xiong, K. (2022). Stem Cell Transplantation in the Treatment of Type 1 Diabetes Mellitus: From Insulin Replacement to Beta-Cell Replacement. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, *18*(13), 859638. DOI: 10.3389/fendo.2022.859638

Waterhouse, P., Penninger, J.M., Timms, E., Wakeham, A., Shahinian, A., Lee, K.P., Thompson, C.B., Griesser, H., Mak, T.W. (1995). Lymphoproliferative Disorders with Early Lethality in Mice Deficient in CTLA-4. *Science*, *270*(5238), 985-988. DOI: 10.1126/science.270.5238.985

Weaver, J.D., Headen, D.M., Coronel, M.M., Hunckler, M.D., Shirwan, H., Garcıá, A.J. (2019). Synthetic Poly(Ethylene Glycol)-Based Microfluidic Islet Encapsulation Reduces Graft Volume for Delivery to Highly Vascularized and Retrievable Transplant Site. *Am. J. Transplant*., *19*(5), 1315–1327. DOI: 10.1111/ajt.15168

Weber, L.M., Anseth, K.S. (2008). Hydrogel Encapsulation Environments Functionalized with Extracellular Matrix Interactions Increase Islet Insulin Secretion. Matrix Biol, *27*(8), 667-673. DOI: 10.1016/j.matbio.2008.08.001

Wegner, M., Winiarska, H., Bobkiewicz-Kozłowska, T., Dworacka, M. (2008). IL-12 Serum Levels in Patients with Type 2 Diabetes Treated with Sulphonylureas. Cytokine, *42*(3), 312-316. DOI: 10.1016/j.cyto.2008.02.014

Wells, A.D., Walsh, M.C., Bluestone, J.A., Turka, L.A. (2001). Signaling Through CD28 and CTLA-4 Controls two Distinct forms of T Cell Anergy. *J. Clin. Invest*., *108*(6), 895-903. DOI: 10.1172/JCI13220

Weintrob, N., Shalitin, S., Phillip, M. (2004). Why Pumps? Continuous Subcutaneous Insulin Infusion for Children and Adolescents with Type 1 Diabetes. *Isr Med Assoc J*., *6*(5), 271-275.

Weir, G.C., Samols, E., Loo, S., Patel, Y.C., Gabbay, K.H. (1979). Somatostatin and Pancreatic Polypeptide Secretion: Effects of Glucagon, Insulin and Arginine. *Diabetes*, *28*(1), 35-40. DOI: 10.2337/diab.28.1.35

Welsch, C.A., Rust, W.L., Csete, M. (2019). Concise Review: Lessons Learned from Islet Transplant Clinical Trials in Developing Stem Cell Therapies for Type 1 Diabetes. *Stem Cells Transl Med*, *8*(3), 209-214. DOI: 10.1002/sctm.18-0156

Wen, Y., Gu, J., Li, S.L., Reddy, M.A., Natarajan, R., Nadler, J.L. (2006). Elevated Glucose and Diabetes Promote Interleukin-12 Cytokine Gene Expression in Mouse Macrophages. *Endocrinology*, *147*(5), 2518-2525. DOI: 10.1210/en.2005-0519

Weng, J., Zhou, Z., Guo, L., Zhu, D., Ji, L., Luo, X., Jia, W. (2018). Incidence of Type 1 Diabetes in China, 2010-13: Population Based Study. *BMJ*, *360*, 1-9.

Weng, Z., Wang, Y., Ouchi, T., Liu, H., Qiao, X., Wu, C., Zhao, Z., Li, L., Li, B. (2022). Mesenchymal Stem/Stromal Cell Senescence: Hallmarks, Mechanisms, and Combating Strategies. *Stem Cells Transl. Med*., *11*(4), 356-371. DOI: 10.1093/stcltm/szac004

Wen, X., Walle, T. (2006). Methylated Flavonoids Have Greatly Improved Intestinal Absorption and Metabolic Stability. *Drug Metab. Dispos*., *4*(10), 1786-1792. DOI: 10.1124/dmd.106.011122

Westermark, G.T., Krogvold, L., Dahl-Jørgensen, K., Ludvigsson, J. (2017). Islet Amyloid in Recentonset Type 1 Diabetes-the DiViD Study. *Ups J Med Sci*, *122*(3), 201-203. DOI: 10.1080/03009734.2017.1359219

White, F.M., Kahn, C.R. (2021). Insulin Action at a Molecular Level - 100 Years of Progress. *Mol. Metab*., *52*, 101304. DOI: 10.1016/j.molmet.2021.101304

Wieland, F.C., Sthijns, M.M.J.P.E., Geuens, T., van Blitterswijk, C.A., Vanessa, L.S., LaPointe, V.L.S. (2021). The Role of Alpha Cells in the Self-Assembly of Bioengineered Islets. *Tissue Eng. Part A*, *27*(15-16), 1055-1063. DOI: 10.1089/ten.TEA.2020.0080

Wierup, N., Bjorkqvist, M., Westrom, B., Pierzynowski, S., Sundler, F., Sjolund, K. (2007). Ghrelin and Motilin are Cosecreted from a Prominent Endocrine Cell Population in the Small Intestine. *J. Clin. Endocrinol. Metab*., *92*(9), 3573-3781. DOI: 10.1210/jc.2006-2756

Wierup, N., Sundler, F. (2004). Circulating Levels of Ghrelin in Human Fetuses. *Eur. J. Endocrinol*., *150*(3), 405. DOI: 10.1530/eje.0.1500405

Wierup, N., Svensson, H., Mulder, H., Sundler, F. (2002). The Ghrelin Cell: A Novel Developmentally Regulated Islet Cell in the Human Pancreas. *Regul. Pept*., *107*(1-3), 63-69. DOI: 10.1016/s0167-0115(02)00067-8

Wierup, N., Sundler, F., Heller, R.S. (2014). The Islet Ghrelin Cell. *J. Mol. Endocrinol*., *52*(1), 35-49. DOI: 10.1530/JME-13-0122

Willi, S.M., Planton, J., Egede, L., Schwarz, S. (2003). Benefits of Continuous Subcutaneous Insulin Infusion in Children with Type 1 Diabetes. *J. Pediatr*, *143*(6), 796-801.

Wing, K., Onishi, Y., Prieto-Martin, P., Yamaguchi, T., Miyara, M., Fehervari, Z., Nomura, T., Sakaguchi, S. (2008). CTLA-4 Control Over Foxp3+ Regulatory T Cell Function. *Science*, *322*(5899), 271-275. DOI: 10.1126/science.1160062

Winkler, G., Dworak, O., Salamon, F., Salamon, D., Speer, G., Cseh, K. (1998). Increased Interleukin-12 Plasma Concentrations in Both, Insulin-dependent and Non-insulin-dependent Diabetes Mellitus. *Diabetologia*, *41*(4), 488. DOI: 10.1007/s001250050935

Wong, N., Fam, B.C., Cempako, G.R., Steinberg, G.R., Walder, K., Kay, T.W., Proietto, J., Andrikopoulos, S. (2011). Deficiency in Interferon-gamma Results in Reduced Body Weight and Better Glucose Tolerance in Mice. *Endocrinology*, *152*(10), 3690-3699. DOI: 10.1210/en.2011-0288

Wren, A.M., Seal, L.J., Cohen, Mac., Brynes, A.E., Frost, G.S., Murphy, K.G., Dhillo, W.S., Mac, G., Bloom, S.R. (2001). Grelin Enhances Appetite and Increases Food Intake in Humans. *J Clin Endocrinol Metab*., *86*(12), 5992. DOI: 10.1210/jcem.86.12.8111

Wright, J.J., Salem, J., Johnson, D.B., Lebrun-Vignes, B., Stamatouli, A., Thomas, J.W., Herold, K.C., Moslehi, J., Powers, A.C. (2018). Increased Reporting of Immune Checkpoint Inhibitor–associated Diabetes. *Diabetes Care*, *41*(12), e150-e151. DOI: 10.2337/dc18-1465

Wu, L.F., Wang, N.N., Liu, Y.S., Wei, X. (2009). Differentiation of Wharton's Jelly Primitive Stromal Cells into Insulin-producing Cells in Comparison with Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells. *Tissue Eng. Part A*, *15*(10), 2865–2873. DOI: 10.1089/ten.tea.2008.0579

Wu, S., Wang, L., Fang, Y., Huang, H., You, X., Wu, J. (2021). Advances in Encapsulation and Delivery Strategies for Islet Transplantation. *Adv. Healthc. Mater.*, *10*(20), e2100965. DOI: 10.1002/adhm.202100965

Wu, Y., Ding, Y., Tanaka, Y., Zhang, W. (2014). Risk Factors Contributing to Type 2 Diabetes and Recent Advances in the Treatment and Prevention. *International Journal of Medical Sciences*, *11*, 1185-1200.

Xavier, G.D.S. (2018). The Cells of the Islets of Langerhans. *J Clin Med*, *7*(3), 54. DOI: 10.3390/jcm7030054

Xu, C., Wang, J., Zhu, T., Shen, Y., Tang, X., Fang, L., Xu, Y. (2016). Cross-talking between PPAR and WNT Signaling and its Regulation in Mesenchymal Stem Cell Differentiation. *Curr. Stem Cell Res. Ther*., *11*(3), 247-254. DOI: 10.2174/1574888x10666150723145707

Xu, G., Zhang, Y., Zhang, L., Ren, G., Shi, Y. (2007). The role of IL-6 in Inhibition of Lymphocyte Apoptosis by Mesenchymal Stem Cells. Biochem. *Biophys. Res. Commun. 361*(3), 745–750. DOI: 10.1016/j.bbrc.2007.07.052

Xu, G., Zhao, X., Fu, J., Wang, X. (2019). Resveratrol Increase Myocardial Nrf2 Expression in Type 2 Diabetic Rats and Alleviate Myocardial Ischemia/reperfusion Injury (MIRI). *Ann. Palliat. Med*., *8*(5), 565-575. DOI: 10.21037/apm.2019.11.25

Xu, L., Guo, Y., Huang, Y., Xu, Y., Lu, Y., Wang, Z. (2019). Hydrogel Materials for the Application of Islet Transplantation. *J. Biomater. Appl*., *33*(9), 1252–1264. DOI: 10.1177/0885328219831391

Yanagawa, T., Maruyama, T., Gomi, K., Taniyama, M., Kasuga, A., Ozawa, Y., Terauchi, M., Hirose, H., Maruyama, H., Saruta, T. (1999). Lack of Association between CTLA-4 Gene Polymorphism and IDDM in Japanese Subjects. *Autoimmunity*, *29*(1), 53-56. DOI: 10.3109/08916939908995972

Yang, F., Zhang, T., Ito, Y. (2001). Large-scale Separation of Resveratrol, Anthraglycoside A and Anthraglycoside B from Polygonum Cuspidatum Sieb. et Zucc by High-speed Counter-current Chromatography. *J. Chromatogr. A*., *919*(2), 443-448. DOI: 10.1016/s0021-9673(01)00846-9

Yang, H.K., Yoon, K.H. (2015). Current Status of Encapsulated Islet Transplantation. *J. Diabetes Complications*, *29*(5), 737-743. DOI: 10.1016/j.jdiacomp.2015.03.017

Yang, L., Yang, G., Li, X. (2021). Clinical and Demographic Features Among Patients with Type 1 Diabetes Mellitus in Henan, China. *BMC Endocrine Disorders*, *21*(131), 1-10.

Yang, R., Gao, H., Chen, L., Fang, N., Chen, H., Song, G., Yu, L., Zhang, Q., Zhang, T. (2020). Effect of Peripheral Blood-derived Mesenchymal Stem Cells on Macrophage Polarization and Th17/Treg Balance in Vitro. *Regen. Ther*., *14*, 275-283. DOI: 10.1016/j.reth.2020.03.008

Yang, Y., Paik, J.H., Cho, D., Cho, J.A., Kim, C.W. (2008). Resveratrol Induces the Suppression of Tumor-derived CD4+CD25+ Regulatory T Cells. *Int. Immunopharmacol*., *8*(4), 542-547. DOI: 10.1016/j.intimp.2007.12.006

Yang, Z.X., Han, Z.B., Ji, Y.R. , Wang, Y.W., Liang, L., Chi, Y., Yang, S.G., Li, L.N., Luo, W.F., Li, J.P., Chen, D.D., Du, W.J., Cao, X.C., Zhuo, G.S., Wang, T., Han, Z.C. (2013). CD106 Identifies a Subpopulation of Mesenchymal Stem Cells with Unique Immunomodulatory Properties. *Plos One*, *8*(3), e59354. DOI: 10.1371/journal.pone.0059354

Yardley, J.E., Hay, J., Abou-Sett,a A.M., Marks, S.D., McGavock, J. (2014). A Systematic Review and Meta-Analysis of Exercise Interventions in Adults with Type 1 Diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice*, *106*(3), 393-400.

Yaribeygi, H., Maleki. M., Sathyapalan. T., Jamialahmadi. T., Sahebkar. A. (2021). Obesity and Insulin Resistance: A Review of Molecular Interactions. *Curr. Mol. Med*., *21*(3), 182-193. DOI: 10.2174/1566524020666200812221527

Yarım, G.F., Kazak, F. (2016). Metabolik Sendrom ve Bileşenlerinde Sitokin Yanıtı. *Harran Üniv. Vet. Fak. Derg*., *5*(1), 90-99.

Yeşilkaya, E., Cinaz, P., Andıran, N., Bideci, A., Hatun, Ş., Sarı, E., Türker, T., Akgül, Ö., Saldır, M., Kılıçaslan, H., Açıkel, C., Craig, M. E. (2017). First Report on the Nationwide Incidence and Prevalence of Type 1 Diabetes among Children in Turkey. *Diabetic Medicine, 34*(3), 405-410.

Yeung, T.Y., Seeberger, K.L., Kin, T., Adesida, A., Jomha, N., Shapiro, A.M.J., Korbutt, G.S. (2012). Human Mesenchymal Stem Cells Protect Human Islets from Pro-inflammatory Cytokines. *Plos One*, *7*(5), 1–9. DOI: 10.1371/journal.pone.0038189

Yıldırım-Şimşir, I., Çetinkalp, Ş. (2017). Yapay Pankreas: Bugünü ve Yarını. *Klinik Tıp Bilimleri*, *5*(4), 58-59.

Yılmaz, T., Kamile, G. (2021). *Diyabette insülin tedavisi – 2021* (1. Baskı). İstanbul: Türkiye Diyabet Vakfı.

Yokosuka, T., Kobayashi, W., Takamatsu, M., Sakata-Sogawa, K., Zeng, H., Hashimoto-Tane, A., Yagita, H., Tokunaga, M., Saito, T. (2010). Spatiotemporal Basis of CTLA-4 Costimulatory Molecule-Mediated Negative Regulation of T Cell Activation. *Immunity, 33*(3), 326-339. DOI: 10.1016/j.immuni.2010.09.006

Yonamine, C.Y., Pinheiro-Machado, E., Michalani, M.L., Freitas, H.S., Okamoto, M.M., Corrêa-Giannella, M.L., Machado, U.F. (2016). Resveratrol Improves Glycemic Control in Insulin-treated Diabetic Rats: Participation of the Hepatic Territory. *Nutr. Metab*., *13*, 44. DOI: 10.1186/s12986-016-0103-0

Yoneda, S., Imagawa, A., Hosokawa, Y., Baden, M.Y., Kimura, T., Uno, S., Fukui, K., Goto, K., Uemura, M., Eguchi, H., Iwahashi, H., Kozawa, J., Shimomura, I. (2019). T-lymphocyte Infiltration to Islets in the Pancreas of a Patient Who Developed Type 1 Diabetes after Administration of Immune Checkpoint Inhibitors. *Diabetes Care*, *42*(7), e116-e118. DOI: 10.2337/dc18-2518

Yoon, K.H., Ko, S.H., Cho, J.H., Lee, J.M., Ahn, Y.B., Song, K.H., Yoo, S.J., Kang, M.I., Cha, B.Y., Lee, K.W., Son, H.Y., Kang, S.K., Kim, H.S., Lee, I.K., Bonner-Weir, S. (2003). Selective Beta-cell Loss and Alpha-cell Expansion in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus in Korea. *J. Clin. Endocrinol. Metab*., *88*(5), 2300-2308. DOI: 10.1210/jc.2002-020735

Yoon, K.H., Lee, J.H., Kim, J.W., Cho, J.H., Choi, Y.H., Ko, S.H., Son, H.Y. (2006). Epidemic Obesity and Type 2 Diabetes in Asia. *The Lancet*, *368*(9548), 1681-1688.

You, S., Chatenoud, L. (2016). Autoimmune Diabetes: An Overview of Experimental Models and Novel Therapeutics. *Methods Mol. Biol*., 1371, 117-142. DOI: 10.1007/978-1-4939-3139-2_8

Yuan, Z., Yuan, X., Zhao, Y., Cai, Q., Wang, Y., Luo, R., Yu, S., Wang, Y., Han, J., Ge, L., Huang, J., Xiong, C. (2021). Injectable GelMA Cryogel Microspheres for Modularized Cell Delivery and Potential Vascularized Bone Regeneration. *Small*, *17*(11), e2006596. DOI: 10.1002/smll.202006596

Yukawa, M., Takeuchi, T., Watanabe, T., Kitamura, S. (1999). Proportions of Various Endocrine Cells in the Pancreatic Islets of Wood Mice (Apodemus Speciosus). *Anat. Histol. Embryol*., *28*(1), 13-16. DOI: 10.1046/j.1439-0264.1999.00148.x

Yu, M.G., Keenan, H.A., Shah, H.S., Frodsham, S.G., Pober, D., He, Z., Wolfson, E.A., D'Eon, S., Tinsley, L.J., Bonner-Weir, S., Pezzolesi, M.G., King, G.L. (2019). Residual β Cell Function and Monogenic Variants in Long-duration Type 1 Diabetes Patients. *J Clin Invest*, *129*(8), 3252-3263. DOI: 10.1172/JCI127397

Yun, J.M., Chien, A., Jialal, I., Devaraj, S. (2012). Resveratrol Up-regulates SIRT1 and Inhibits Cellular Oxidative Stres in the Diabetic Milieu: Mechanistic Insights. *J. Nutr. Biochem*., *23*(7), 699-705. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2011.03.012

Zarychta, B., Gianopoulos, C.G., Pinkerton, A.A. (2016). Revised Structure of Trans-Resveratrol: Implications for its Proposed Antioxidant Mechanism. *Bioorg. Med. Chem. Lett*., *26*(5), 1416-1418. DOI: 10.1016/j.bmcl.2016.01.070

Zhang, D.Y., Wang, H.J., Tan, Y.Z. (2011). Wnt/β-catenin Signaling Induces the Aging of Mesenchymal Stem Cells Through the DNA Damage Response and the p53/p21 Pathway. *Plos One*, *6*(6), e21397. DOI: 10.1371/journal.pone.0021397

Zhang, J, Kasim, V., Xie, Y.D., Huang, C, Sisjayawan, J., Ariyanti, A.D., Yan, X.S., Wu, X.Y., Liu, C.P., Yang, L., Miyagishi, M., Wu, S.R. (2017). Inhibition of PHD3 by Salidroside Promotes Neovascularization Through Cell-cell Communications Mediated by Muscle-secreted Angiogenic Factors. *Sci. Rep*., *7*:43935. DOI: 10.1038/srep43935

Zhang, J., McKenna, L.B., Bogue, C.W., Kaestner, K.H. (2014). The Diabetes Gene Hhex Maintains Delta-cell Differentiation and Islet Function. *Genes Dev*., *28*(8), 829-834. DOI: 10.1101/gad.235499.113

Zhang, J., Zhu, Y., Song, J., Xu, T., Yang, J., Du, Y., Zhang, L. (2019). Rapid and Long-Term Glycemic Regulation with a Balanced Charged Immune-Evasive Hydrogel in T1DM Mice. *Adv. Funct. Mater*., *29*(19), 1900140. DOI: 10.1002/adfm.201900140

Zhang, L., Li, K., Xiao, W., Zheng, L., Xiao, Y., Fan, H, Zhang, X. (2011). Preparation of Collagen–Chondroitin Sulfate–Hyaluronic Acid Hybrid Hydrogel Scaffolds and Cell Compatibility in Vitro. *Carbohydr. Polymers*, *84*(1), 118–125. DOI: 10.1016/j.carbpol.2010.11.009

Zhang, L., Wang, L., Shahzad, K.A., Xu, T., Wan, X., Pei, W., Chuanlai Shen, C. (2017). Paracrine Release of IL 2 and Anti CTLA 4 Enhances the Ability of Artifcial Polymer Antigen Presenting Cells to Expand Antigen Specifc T Cells and Inhibit Tumor Growth in a Mouse Model. *Cancer Immunol. Immunother*., *66*(9), 1229-1241. DOI: 10.1007/s00262-017-2016-9

Zhang, Q., Bengtsson, M., Partridge, C., Salehi, A., Braun, M., Cox, R., Eliasson, L., Johnson, P.R., Renstrom, E., Schneider, T., Berggren, P.O., Göpel, S., Ashcroft, F.M., Rorsman, P. (2007). R-type Ca2+-channel-evoked Cicr Regulates Glucose-Induced Somatostatin Secretion. *Nat. Cell Biol*., *9*(4), 453-60. DOI: 10.1038/ncb1563

Zhang, Q., Gonelle-Gispert, C., Li, Y., Geng, Z., Gerber-Lemaire, S., Wang, Y., Buhler, L. (2022). Islet Encapsulation: New Developments for the Treatment of Type 1 Diabetes. *Front. Immunol*., *13*, 869984. DOI: 10.3389/fimmu.2022.8

Zhang, R., Cai, X.L., Liu, L., Han, X.Y., Ji, L.N. (2020). Type 1 Diabetes Induced by Immune Checkpoint Inhibitors. *Chin.Med.J.(Engl)*, *133*(21), 2595-2598. DOI: 10.1097/CM9.0000000000000972

Zhou, X., Hong, Y., Zhang, H., Li, X. (2020). Mesenchymal Stem Cell Senescence and Rejuvenation: Current Status and Challenges. *Front Cell Dev Biol*., *8*, 364. DOI: 10.3389/fcell.2020.00364

Zhang, W., Liu, X.C., Yang, L., Zhu, D.L., Zhang, Y.D., Chen, Y. (2013). Wharton's JellyDerived Mesenchymal Stem Cells Promote Myocardial Regeneration and Cardiac Repair After Miniswine Acute Myocardial Infarction. *Coron Artery Dis*., *24*(7), 549–558. DOI: 10.1097/MCA.0b013e3283640f00

Zhao, G., Dharmadhikari, G., Maedler, K., Meyer-Hermann, M. (2014). Possible Role of Interleukin-1β in type 2 Diabetes Onset and Implications for Anti-inflammatory Therapy Strategies. *Plos Comput. Biol*., *10*(8), e1003798. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1003798

Zhao, Y. (2012). Stem Cell Educator Therapy and Induction of Immune Balance. *Curr. Diabetes Rep*., *12*(5), 517-523. DOI: 10.1007/s11892-012-0308-1

Zhao, Y., Lin, B., Darflinger, R., Zhang, Y.., Holterman, M.J., Skidgel, R.A. (2009). Human Cord Blood Stem Cell-modulated Regulatory T Lymphocytes Reverse the Autoimmune-caused type 1 Diabetes in Nonobese Diabetic (NOD) Mice. *Plos One*, *4*(1), e4226. DOI: 10.1371/journal.pone.0004226

Zhao, Y., Wang, Y., Ran, F., Cui, Y., Liu, C., Zhao, Q., Gao, Y., Wang, D., Wang, S. (2017). A Comparison Between Sphere and Rod Nanoparticles Regarding Their in Vivo Biological Behavior and Pharmacokinetics. *Sci. Rep.*, *7*(1), 4131. DOI: 10.1038/s41598-017-03834-2

Zhi, Z.L., Khan, F., Pickup, J.C. (2013). Multilayer Nanoencapsulation: A Nanomedicine Technology for Diabetes Research and Management. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, *100*(2), 162-169. DOI: 10.1016/j.diabres.2012.11.027

Zhi, Z.L., Liu, B., Jones, P.M., Pickup, J.C. (2010). Polysaccharide Multilayer Nanoencapsulation of Insulin-producing Beta-cells Grown as Pseudoislets for Potential Cellular Delivery of Insulin. *Biomacromolecules*, *11*(3), 610-616. DOI: 10.1021/bm901152k

Zhou, Z., Zhu, X., Huang, H., Xu, Z., Jiang, J., Chen, B., Zhu, H. (2022). Recent Progress of Research Regarding the Applications of Stem Cells for Treating Diabetes Mellitus. *Stem Cells Dev*., *31*(5-6), 102-110. DOI: 10.1089/scd.2021.0083

Zhu, D., Muljadi, R., Chan, S.T., Vosdoganes, P., Lo, C., Mockler, J.C., Wallace, E.M., Lim, R. (2016). Evaluating the Impact of Human Amnion Epithelial Cells on Angiogenesis. *Stem Cells Int*., 4565612. DOI: 10.1155/2016/4565612

Zhu, H.T., Lu, L., Liu, X.Y., Yu, L., Lyu, Y., Wang, B. (2015). Treatment of Diabetes with Encapsulated Pig Islets: An Update on Current Developments. J. *Zhejiang Univ. Sci. B*, *16*(5), 329-343. DOI: 10.1631/jzus.B1400310

Zhu, J.X., Sasano, Y., Takahashi, I., Mizoguchi, I., Kagayama, M. (2001). Temporal and Spatial Gene Expression of Major Bone Extracellular Matrix Molecules During Embryonic Mandibular Osteogenesis in Rats. *Histochem. J*., *33*(1), 25-35. DOI: 10.1023/a:1017587712914

Ziegler, A.G., Bonifacio, E. (2021). Shortening the Paths to Type 1 Diabetes Mellitus Prevention. *Nat. Rev. Endocrinol*., *17*(2), 73-74. DOI: 10.1038/s41574-020-00450-5

Ziegler, A.G., Nepom, GT. (2010). Prediction and Pathogenesis in Type 1 Diabetes. *Immunity*, *32*(4), 468-478.

Ziqiang, X., Yunqiang, H., Hongxing, F., Jinjun, W., Yong, C. (2016). Islet Transplantation Restores the Damage of Glomerulus Filtration Membrane in a Rat Model of Streptozotocin-induced Diabetic Nephropathy. J. *Pak. Med. Assoc*., *66*(3), 296-301.

Zu, Y., Zhou, J., Fu, Y., Fang, B., Liu, X., Zhang, Y., Yu, F., Zuo, W., Zhou, H., Ruirui, Gui, R., Li, Z., Liu, Y., Zhao, H., Zhang, C., Song, Y. (2021). Feasibility of Reduced-dose Posttransplant Cyclophosphamide and Cotransplantation of Peripheral Blood Stem Cells and Umbilical Cord-derived Mesenchymal Stem Cells for SAA. *Sci. Rep*., *11*(1), 253. DOI: 10.1038/s41598-020-80531-7

Zundler, S., Neurath, M.F. (2015). Interleukin-12: Functional Activities and Implications for Disease. Cytokine Growth Factor Rev., *26*(5), 559-568. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2015.07.003

EKLER

Ek-A

Kocaeli Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu



T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU



Etik Kurul Bilgileri	Adı	Kocaeli Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu	
	Adres	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu, 3. Kat, 41380 Umuttepe Yerleşkesi /KOCAELİ	
	Tel / Faks / E-posta		
Başvuru Bilgileri	Araştırmanın Adı	Deneysel Sıçan Pankreatik Beta Hücresi Hasar Modelinde CTLA-4 Proteini ile Mezenkimal Kök Hücrelerin Sinerjik Etkisinin Potansiyel Tedavi Stratejilerindeki Rolünün Araştırılması	
	Sorumlu Araştırmacı	Dr. Öğr. Üyesi Gülçin Gacar	
	Sorumlu Ars. Uzmanlığı	Klinik Mikrobiyoloji	
	Araştırma Merkez(ler)i	Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi	
	Destekleyici		
	Araştırmanın Türü		
	Araştırmanın Tipi		
Karar ve Dayanak	**Tarih : 02/12/2021**	**Karar No: KÜ GOKAEK-2021/21.01**	**Proje No: 2021/327**
	Hasta Hakları Yönetmeliği (01.08.1998/23420); Biyoloji ve Tıbbın Uygulanması Bakımından İnsan Hakları ve İnsan Haysiyetinin Korunması Sözleşmesi: İnsan Hakları ve Biyotıp Sözleşmesinin Uygun Bulunduğuna Dair Kanun (09.12.2003/25311); Biyotıp Araştırmalarına İlişkin İnsan Hakları ve Biyotıp Sözleşmesine Ek Protokolün Onaylanmasının Uygun Bulunduğuna Dair Kanun (29.03.2011/27899); İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik (13.04.2013/28617); Tıbbi Cihaz Klinik Araştırmaları Yönetmeliği (06.09.2014/29111); Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi; İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu; Türk Tabipleri Birliği Hekimlik Meslek Etiği Kuralları; Türk Tabipleri Birliği Araştırma Etiği Bildirgesi ilgili maddelerine göre; yukarıda ismi geçmekte olan araştırmacının sorumluluğunda yapılan ve yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler, araştırmanın gerekçesi, amacı, yaklaşım ve yöntemleri, gönüllüler için beklenen yarar ve riskler dikkate alınarak değerlendirilmiş ve araştırmanın ilgili protokol doğrultusunda belirtilen merkezlerde yürütülmesi etik ve bilimsel açıdan, ☒ Uygun bulunmuştur. ☐ Uygun bulunmamıştır. ☐ Kapsam dışı olarak değerlendirilmiştir.		

ETİK KURUL ÜYELERİ						
Unvanı/Adı/Soyadı	**Uzmanlık Alanı**	**Kurumu**	**Cinsiyet**	**Toplantıda Bulunma**		**İmza**
Prof. Dr. Nurettin Özgür DOĞAN Başkan	Acil Tıp	Kocaeli Üni. Tıp Fakültesi	Erkek	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Cem CERİT Başkan Yardımcısı	Psikiyatri	Kocaeli Üni. Tıp Fakültesi	Erkek	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Canan BAYDEMİR Üye	Biyoistatistik	Kocaeli Üni. Tıp Fakültesi	Kadın	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Yusufhan YAZIR Üye	Histoloji ve Embriyoloji	Kocaeli Üni. Tıp Fakültesi	Erkek	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Ceyla ERALDEMİR Üye	Biyokimya	Kocaeli Üni. Tıp Fakültesi	Kadın	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Çiğdem VURAL Üye	Patoloji	Kocaeli Üni. Tıp Fakültesi	Kadın	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Evren DEMİRSOY Üye	Dermatoloji	Kocaeli Üni. Tıp Fakültesi	Kadın	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Enver Alper SİNANOĞLU Üye	Ağız Diş Ve Çene Radyolojisi	Kocaeli Üni. Diş Hek. Fak.	Erkek	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Aslıhan AKPINAR Raportör	Tıp Tarihi ve Etik	Kocaeli Üni. Tıp Fakültesi	Kadın	E ☒	H ☐	

KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER

Gacar, G, **Yusufoglu, S**., Gacar, N., Ünal, Z.S., Utkan, T. (2015). The Therapeutic Effects of Resveratrol on MSCs Cell-based Strategies on Degenerative Bone Disease. J*ournal of Biotechnology*, *208*, 35. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2015.06.096

Gacar, G., Halbutoğulları, Z.S., Gültekin, A., İşgören, S., Duruksu, G., Kaya, A., **Yusufoğlu, S**., Kılıç, K.C., Öztürk, A., Yazır, Y., Gacar, M.N. (2018). The Comparative Investigation of Healing and Anti-Cancer Effects of Resveratrol with CD8+ T Cell Assisted, Mesenchymal Stem Cell – Based Treatment in Animal Model of Chondrosarcoma. *7. Multidisipliner Kanser Araştırma ve 1. Temel Onkoloji Kongresi*, İzmir, Türkiye, 11-14 Ekim 2018.

Gacar, G., Ünal, E.D., **Yusufoğlu, S**. (2020). *Cancer: A Comprehensive Review* (1. Baskı). Ankara: Akademisyen Kitabevi.

Gacar, G., Vahapoğlu, M.H., **Yusufoğlu, S**. (2021). Pseudomonas Aeruginosa (PAO1) Suşunun Değişik Isı ve Değişik Üreme Fazlarında Housekeeping Gen Anlatımı Düzeyleri. A. Pakdemirli, M. Eraslan (Ed.), *6th International Hippocrates Congress On Medical And Health Science Proceeding Book* (1. Baskı) (51-63). Elazığ: Asos Yayınevi.

Gacar, G., Vahapoğlu, M.H., **Yusufoğlu, S**. (2021). Pseudomonas Aeruginosa (PAO1) Suşunun Değişik Isı ve Değişik Üreme Fazlarında Housekeeping Gen Anlatımı Düzeyleri. *6th International Hippocrates Congress On Medical And Health Science*, Türkiye, 30 Nisan-1 Mayıs 2021.

Karaöz, K., Aksoy, A., **Yusufoğlu, S**., İnci, Ç., Sağlam, Ö., Erman, G. (2014). Tip 1 Diyabetik ve Sağlıklı Hastalardan Elde Edilen CD4+ ve CD8+ T Hücrelerinin İnsan Beta Hücrelerine Etkisi. *1.Uluslararası Katılımlı Kök Hücre ve Hücresel Tedaviler Kongresi*, Kocaeli, Türkiye, 20-23 Mart 2014.

Kaya, A., Gacar, G., Halbutoğulları, Z.S., Duruksu, G., **Yusufoğlu, S**., Yazır, Y., (2018). The Anticarcinogenic Effect of Boswellia Serrata on Anaplastic Thyroid CancerTogether with Mesenchymal Stem Cells. *7. Multidisipliner Kanser Araştırma ve 1. Temel Onkoloji Kongresi*, İzmir, Türkiye, 11-14 Ekim 2018.

Teke, K., Yılmaz, H., Kosem, M.E., Yuksekkaya, M., **Yusufoglu, S**., Gencer, B.Y., Yazir, Y., Yildiz, D.K., Dillioglugil, O., (2019). Implantable Orthotopic Bladder Cancer Model in Wistar Rats: A Pilot and Feasibility Study. *Revista Română de Medicină de Laborator*, *27*(1), 35-42. DOI: 10.2478/rrlm-2019-0002

Teke, K., Yılmaz, H., Şimşek, E., Kosem, M.E., Yuksekkaya, M., **Yusufoglu, S**., Gencer, B.Y., Yazir, Y., Yildiz, D.K., Dillioglugil, O. (2016). Wistar Sıçanlarda İmplante Edilebilen Ortotopik Mesane Kanseri Modeli: Pilot Çalışma. *25. Ulusal Üroloji Kongresi*, Girne, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti, 6-9 Ekim 2016.

Uzun, E.D., Gacar, G., **Yusufoğlu, S**. (2019). Immunotherapeutic CAR-T Cell Engineering. *J. Immunol. Clin. Microbiol*., *4*(2), 34-51.

Yusufoglu, S., Gacar, G., Ünal, Z.S. (2015). The Effects of Pathogenic Mechanisms with Long-term Insulin Therapy in Type 1 Diabetes Mellitus Patients on Human Pancreatic β-cells. *Journal of Biotechnology*, *208*(Özel), 22. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2015.06.055

Yusufoğlu, S., Aksoy, A., İnci, Ç., Sağlam, Ö., Erman, G., Karaöz, E., (2014). Effects of CD4+ and CD8+ T Cells Derived From Type 1 Diabetic Patients and Healthy Individuals on Human β Cells. *Beta Cells in Health and Disease*, Kocaeli, Türkiye, 21-22 Mayıs 2014.

Yusufoğlu, S., Aksoy, A., İnci, Ç., Sağlam, Ö., Erman, G., Karaöz, E. (2014). The Effects Of Cd4+ and Cd8+ T Cells On Human B Cells Derived from Type 1 Diabetic Patients and Healthy Individuals. *Frontiers in Medical Sciences: Diabetes, Cancer and Their Connection*, İstanbul, Türkiye, 6-8 Temmuz 2014.

Yusufoğlu, S., İnci, Ç., Sağlam, Ö., Erman, G., Karaöz, E., (2014). Uzun Süreli Tip 1 Diabetes Mellitus`lu Hastalardan ve Sağlıklı Bireylerden Elde Edilen CD4+ ve CD8+ T Hücrelerinin İnsan β Hücreleri Üzerindeki Etkilerinin Karşılaştırmalı Olarak İncelenmesi. *16. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi*, Antalya, Türkiye, 15-19 Ekim 2014.

Yusufoğlu, S., Ünal, Z.S., Gacar, G., Karaöz, E. (2015). Uzun Dönem İnsülin Tedavisi Alan Tıp 1 Diabetes Mellitus'lu Hastaların Patogenez Mekanizmalarının İnsan Pankreatik β Hücreleri Üzerine Etkileri. *51. Ulusal Diyabet Kongresi*, Antalya, Türkiye, 22-26 Nisan 2015.

ÖZGEÇMİŞ

İlköğretimini İstanbul'da devlet okulunda, lise eğitimini de İstanbul'da burslu olarak Özel Saint Benoît Fransız Lisesi'nde tamamladı. Lisans ve yüksek lisans eğitimlerini de Bükreş Üniversitesi'nde İngilizce ve Rumence olarak Genetik Mühendisliği ve Biyoteknoloji alanlarında burs alarak tamamladı. Aldığı lisans ve yüksek lisans eğitimler sonrası Uzman Genetik Mühendisi unvanını almaya hak kazandı. Doktora eğitimi için Kocaeli Üniversitesi'ne geldi. Genetik Mühendisliği, Kök Hücre, Kanser Tip 1 Diabetes Mellitus ve Biyotekonoloji alanlarında çalışmaları bulunmaktadır.