



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİR GRUP TÜRK TİP II DİYABET HASTALARINDA
BAZI GEN VARYASYONLARININ (TNF- α , PPARG,
CALPAIN 10) HASTALIK GELİŞİMİ ÜZERİNE OLASI
ETKİLERİNİN İRDELENMESİ**

Ceren Albina KUŞ

FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. İlker ATEŞ

ANKARA

2021

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİR GRUP TÜRK TIP II DİYABET HASTALARINDA
BAZI GEN VARYASYONLARININ (TNF- α , PPARG,
CALPAIN 10) HASTALIK GELİŞİMİ ÜZERİNE OLASI
ETKİLERİNİN İRDELENMESİ**

Ceren Albina KUŞ

FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. İlker ATEŞ

ANKARA

2021

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Bir Grup Türk Tip II Diyabet Hastalarında Bazı Gen Varyasyonlarının (TNF- α , PPARG, Calpain 10) Hastalık Gelişimi Üzerine Olası Etkilerinin İrdelenmesi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Ceren Albina KUŞ

Tarih:

İmza:

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalında Ceren Albina KUŞ tarafından hazırlanan “Bir Grup Türk Tip II Diyabet Hastalarında Bazı Gen Varyasyonlarının (TNF- α , PPARG, Calpain 10) Hastalık Gelişimi Üzerine Olası Etkilerinin İrdelenmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından yüksek lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı

Üniversitesi

Jüri Başkanı

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı

Üniversitesi

Raportör

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı

Üniversitesi

Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vii
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	xi
Çizelgeler	xii

1.GİRİŞ

1.1. Amaç	1
1.2. Diabetes Mellitus (DM) Epidemiyolojisi	4
1.2.1. Diyabet (Diabetes Mellitus) Tanımı	7
1.2.2. Diyabetin Sınıflandırılması	8
1.2.3. Diyabetin Fizyopatolojisi	20
1.2.4. Diyabetin Komplikasyonları	21
1.2.4.1. Diyabetin Akut Komplikasyonları	24
1.2.4.1.1. Diyabetik Ketoasidoz	24
1.2.4.1.2. Hiperglisemik Hiperozmolor Durum	25
1.2.4.1.3. Laktik Asidoz	26
1.2.4.1.4. Hipoglisemi	27
1.2.4.2 Diyabetin Kronik Komplikasyonları	28
1.2.4.2.1. Diyabetin Mikrovasküler Komplikasyonları	28
1.2.4.2.1.1.Diyabetik Nefropati	28
1.2.4.2.1.2. Diyabetik Retinopati	30
1.2.4.2.1.3.Diyabetik Nöropati	32
1.2.4.2.2.Diyabetin Makrovasküler Komplikasyonları	34
1.3. Sitokinler	36
1.3.1. Sitokinlerin Tanımı	36
1.3.2. Sitokinlerin Sınıflandırılması	38

1.3.3. Sitokinler ile Diabetes Mellitus İlişkisi	40
1.4. Gen Polimorfizmi	42
1.4.1. Tümör Nekroz Faktör (TNF- α)	43
1.4.2. Calpain 10	46
1.4.3. PPARG	49
2. GEREÇ VE YÖNTEM	52
2.1. Kullanılan Malzemeler	52
2.1.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler	52
2.1.2. Kullanılan Cihazlar	52
2.2. Kullanılan Yöntemler	53
2.2.1. Deney Kurgusu	53
2.2.2. Genotiplerin Belirlenmesi	54
2.2.2.1. TNF- α (308) Polimorfizminin Belirlenmesi	54
2.2.2.2. Calpain 10 (SNP 44) Polimorfizminin Belirlenmesi	56
2.2.2.3. PPARG (P12A) Polimorfizminin Belirlenmesi	57
2.2.3. Kullanılan İstatiksel Yöntemler	59
3. BULGULAR	60
3.1. Demografik Bulgular ve Anamnez Bulguları	60
3.2. Biyokimyasal Bulgular	61
3.3. Genotipik Bulgular	63
3.3.1. TNF- α (-308) Genotip Bulguları	63
3.3.2. PPARGP12A Genotip Bulguları	64
3.3.3. Calpain 10 SNP-44 Genotip Bulguları	64
4. TARTIŞMA	78
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	81
ÖZET	82
SUMMARY	83
KAYNAKLAR	84
EKLER	92

Ek-1 Etik Kurul Kararı	92
Ek-2 Olgu Rapor Formu	94
Ek-3 Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	95
ÖZGEÇMİŞ	98



ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında TNF- α , PPAR γ , Calpain 10 gen polimorfizimlerinin bir grup Türk popülasyonunda diyabet hastalığı gelişimi üzerine etkisinin olup olmadığının araştırılması hedeflenmiştir.

Uzmanlık eğitimim boyunca her an yanımda olan ve benden yardımlarını esirgemeyen Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Üyesi Doç.Dr. İlker ATEŞ'e ve tez arkadaşım Ecz. Safiye ARAZI ERDEM'e;

Tez çalışmalarım hep desteğini hissettiğim eşim Dinçer KUŞ'a, minik kızıma, kardeşim Seren GÜMÜŞ'e ve tüm aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

α	Alfa
β	Beta
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ADA	American Diabetes Association (Amerika Diyabet Birliği)
AKO	Albümin/Kreatin Oranını
AKŞ	Açlık Kan Şekeri
BKİ	Beden Kitle Endeksi
CAPN10	Calpain-10 (Kalpain-10)
CI	Confidence İnterval
COX-2	Siklooksijenaz-2
CSF	Koloni Uyarıcı Faktör
DKA	Diyabetik Ketoasidoz
DM	Diabetes Mellitus
DN	Diyabetik Nefropati
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DPN	Diyabetik Periferel Nöropati
DR	Diyabetik Retinopati
EDTA	Etilendiamintetraasetik Asit
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
ERG	Elektroretinografi
GDM	Gestasyonel Diabetes Mellitus
GLP	Glukagon benzeri peptit
GLUT	Glucose Transporter Type (Glikoz Taşıyıcı Tipi)
HbA1C	Hemoglobin A1c- Glikozillenmiş Hemoglobin
HDL	High Density Lipoprotein (Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein)

HHD	Hiperglisemik Hiperozmolar Durum
HIV/AIDS	Human Immunodeficiency Virus (İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü)
IDDM	İnsülin Bağımlı Diabetes Mellitus
IDF	International Diabetes Federation (Uluslararası Diyabet Federasyonu)
IFD	Bozulmuş Açlık Glukozu
IFN	İnterferon
IGT	İmproved Glucose Tolerance (Gelişmiş Glikoz Toleransı)
IL	İnterlökin
IRS	İnsülin Reseptör Substratı
KAH	Koroner Arter Hastalığı
KOAH	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
LADA	Latent autoimmune diabetes of adult (Yetişkinlerde gizli otoimmün diyabet)
LDL	Low Density Lipoprotein (Düşük Yoğunluklu Lipoprotein)
LPL	Lipoprotein Lipaz
LPS	Lipopolisakkarit
MFH	Mononükleer Fagositik Hücreler
mRNA	Messenger Ribonucleic Acid (Mesajcı Ribonükleik Asit)
MODY	Maturity-Onset Diabetes Of The Young (Gençlerin Erişkin Tipi Diyabeti)
MS	Multipl Skleroz
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
NaCl	Sodyum Klorür
NIDDM	İnsülin Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus
NK	Natural Killer (Doğal Öldürücüler)
NPDR	Non-Proliferative Diabetic Retinopathy (Proliferatif Olmayan Diyabetik Retinopati)
OR	Odds Ratio
PAI	Plazminojen Aktivatör İnhibitörü

PCOS	Polikistik over sendromu
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PDM	Pankreatojenik Diyabet
PDR	Proliferatif Diabetik Retinopati
PPARG	Peroxisome proliferator activated receptor (Peroksizom Proliferatör Aktive Reseptör Gama)
RA	Romatoid Artrit
RDS	Respiratuar Distress Syndrome (Respiratuar Tehlike Sendromu)
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RXR	Retinoid X Reseptörü
SDBY	Son Dönem Böbrek Yetmezliği
SGLT2	Sodyum-Glukoz Transporter
SLE	Sistemik Lupus Eritematozus
SNP	Single Nucleotide Polymorphism (Tek Nükleotit Polimorfizmi)
TBE	Tris Borat EDTA
TCF	Transkripsiyon Faktörü
T2DM	Tip II Diabetes Mellitus
TDP	Türkiye Diyabet Programı
TDV	Türkiye Diyabet Vakfı
TEMĐ	Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği
TGF- β	Transforming Growth Factor- β (Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta)
TNF	Tümör Nekroz Faktör
TÜDEP	Türkiye Diyabet Epidemiyolojisi
VKİ	Vücut Kitle İndeksi
VLDL	Very Low Density Lipoprotein (Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein)
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. 2017 ve 2045'te Kıtalarda ve dünyada diyabetli kişilerin sayısı (20-79 yaş)	6
Şekil 1.2. Tip 1 Diyabetin Semptomları	12
Şekil 1.3. Tip 2 Diyabetin Semptomları	14
Şekil 1.4. Diyabetes Mellitusun komplikasyonları	23
Şekil 1.5. Türkiye’de Hemodiyaliz Hastalarının Etiyolojisi	28
Şekil 1.6. Diyabetik Retinopati	30
Şekil 1.7. Diyabetik Nöropati	34
Şekil 1.8. Sitokin Ağı; Lenfositler, makrofajlar ve bağışıklık sisteminin diğer bileşenleri arasında ilişki	39
Şekil 1.9. Calpain’in Yapısı	47

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Diyabet Tanı Kriterleri	8
Çizelge 1.2. Diabetes Mellitus'un Etiyolojik Sınıflaması	10
Çizelge 1.3. Tip 1 Diyabetin Evreleri	11
Çizelge 1.4. Diyabetes Mellitusun komplikasyonları	22
Çizelge 1.5. TNF- α 'nın Etkileri	45
Çizelge 1.6. PPAR alt türleri ve özellikleri	50
Çizelge 3.1. Kontrol ve hasta grubundaki deneklere ait demografik bilgiler	60
Çizelge 3.2. Kontrol ve hasta grubuna ait anamnez bulguları	61
Çizelge 3.3. Kontrol ve hasta gruplarına ait biyokimyasal parametrelerin Karşılaştırılması	62
Çizelge 3.4. Tip 2 Diyabet hastalığının olası risk faktörlerinin çoklu regresyon analizi	62
Çizelge 3.5. Kontrol Grubu Genotipleri	65
Çizelge 3.6. Hasta Grubu Genotipleri	69
Çizelge 3.7. İncelenen Gen Polimorfizmlerine Göre Hesaplanan Alel Frekansları	76
Çizelge 3.8. Genotip Dağılım Sayıları ve Hesaplanan OR/CI Değerleri	77

1. GİRİŞ

1.1. Amaç

Tip II Diabetes Mellitus (T2DM) en çok görülen diyabet şeklidir. Genelde 30 yaş üzerinde ortaya çıkar. Ancak obezite sıklığının artmasına bağlı olarak adölesan dönem dahil olmak üzere daha genç yaşlarda da Tip 2 diyabet hastalığı görülebilmektedir. Günün herhangi bir vaktinde ölçülen kan şekerinin 200 mg/dL'nin üstünde olması, açlık kan şekerinin 126 mg/dL veya üstünde olması, 75 g glukoz çözeltisi kullanılarak yapılan şeker yüklemesi testinden sonraki 2. saatte kan şekeri düzeyinin 200 mg/dL veya üstünde olması, HbA1C (Son üç aylık şeker ortalaması) değerinin 6,5 mg/dL'nin üzerinde olması durumlarından herhangi birinin varlığı kişinin T2DM hastası olduğunu gösterir (ADA,2006; TDV,2010).

T2DM çevresel ve genetik faktörlerin etkileşimi sonucu ortaya çıkan küresel bir sağlık problemidir. Diyabet Türkiye'de ve tüm dünyada sürekli artan insidansı ile en önemli morbidite ve mortalite nedeni olarak yaygın halk sağlığı sorunları arasında yer alır (Dık ve ark., 2018). T2DM'nin neden olduğu mikro ve makrovasküler komplikasyonlar kalp, böbrek, periferik sinir sistemi ve göz gibi birçok organ ve sistemde ciddi hasara yol açar (Patel ve ark., 2016). Yıllardır yapılan çalışmalar T2DM'nin genetik faktörlerle ilişkili olduğunu göstermektedir. Son 20 yılda yapılan çalışmalar yaklaşık 70 genin T2DM ile ilişkili olduğunu varsaymaktadır (Büyüköztürk, 2007).

Diyabet; insülinin tam eksikliğine, kısmi eksikliğine veya periferik dokulardaki insülin direncine bağlı olarak hiperglisemi ataklarıyla seyreder (Bouhaha ve ark., 2010). Yapılan çalışmalar diyabet ve komplikasyonların oluşumunda,

oksidatif stres ile sitokin üretimi ve salınımindaki artış sonucu oluşan enflamasyonun çok büyük önemi olduğunu göstermektedir (Kishimoto ve ark., 1994).

Sitokinler, hücre içi sinyalleri gönderen spesifik hücre yüzey reseptörleri sayesinde biyolojik fonksiyonlarını gösteren ve çeşitli hücre tipleri tarafından üretilen, hormonlara benzeyen peptid veya glikoprotein yapısındaki mediatörlerdir. Sitokinler bağışıklık sisteminin önemli elemanlarıdır. Bağışıklık sisteminin ksenobiyotiklere karşı gösterdiği bir savunma mekanizması olan inflamasyonun gelişiminde sitokinlerin rolü büyüktür. Ksenobiyotiğe maruziyet kronik hale gelmeye başlayınca inflamasyon artık savunma değil hastalık gelişiminde rol oynamaya başlar. Diyabet gibi pek çok hastalığın etiyolojisinde inflamasyon yatmaktadır ve sitokinler de bu hastalıkların gelişiminde rol oynar hale gelirler (Kishimoto ve ark., 1994).

Bu çalışmada seçilen genler TNF- α (Tümör nekrozu faktörü), PPARG (Peroksisom Proliferatör Aktive Reseptör Gama), Calpain 10'dir.

Tümör nekrozu faktörü (TNF), birçok hücre tipi tarafından salgılanan ve kanserli hücrelerin yıkımını sağlayan bir sitokindir. 185 amino asitlik bir glikoprotein hormonudur ancak bazı hücreler daha uzun veya daha kısa izoformlarını salgılayabilir. İnsanlarda 7. kromozomda kodlanır. TNF- α ve TNF- β olmak üzere iki formu bulunmaktadır. Sitokin tümör nekrolizan faktör alfa (TNF- α) obeziteye bağlı insülin direncine aracılık etmektedir (Çeviker ve ark., 2008). Tip 2 Diyabette ettirgen bir faktör olan TNF- α için yapılan çalışmada TNF- α (-308) polimorfizminin 45 yaş üzeri yaş grubunda risk oluşturduğu bildirilmiştir (Jamil ve ark., 2017).

Diğer bir çalışmada ise Tip 2 diyabette, TNF- α geninin 308'deki polimorfizminin belirleyici özellikte olduğu düşünülmektedir (Kubaszek ve ark.,

2003). Bizim bu çalışmada amacımız ise Türk popülasyonunda TNF- α (-308) geninin Tip 2 diyabette ne derece etkili olduğu hakkında bilgi sahibi olmaktır.

Peroksizom Proliferatör Aktive Reseptör Gama (PPARG), esas olarak yağ dokusu, kolon ve makrofajlarda bulunur. İnsanda ve farede PPARG'nin iki izoformu bulunur: PPAR- γ 1 (kas dışındaki hemen hemen tüm dokularda bulunur) ve PPAR- γ 2 (çoğunlukla yağ dokusu ve bağırsakta bulunur). PPARG, yağ asidi depolamasını ve glikoz metabolizmasını düzenler. PPARG Pro12A(P12A), diyabetli hastalarda glukoz toleransına etkilidir. PPARGP12A'nın Tip 2 diyabetli kadınlarla güçlü bağlantısı olduğu ancak erkeklerle olmadığı gösterilmiştir. PPARGP12A genini taşıyan kadınların, taşımayanlara göre diyabete erken yaşta yakalanma olasılığı daha yüksektir (Hegele ve ark., 2019). Yapılan başka bir çalışmaya göre PPARGP12A geninin Tip 2 diyabetli hastalarda mortaliteyi anlamlı şekilde etkilemediği düşünülmektedir (Pacilli ve ark., 2016). Diğer bir çalışmada ise Çin Popülasyonunda PPARG'nin T2DM hastalığına katkıda bulunduğunu göstermiştir (Hu ve ark., 2009). Bu çalışmamızda Türk popülasyonunda PPARG P12A gen polimorfizminin T2DM üzerine olası etkisini inceleyeceğimiz çalışmalarda bulunmayı amaçlamaktayız.

Calpain 10 (Kalpain 10), insanlarda CAPN10 geni tarafından kodlanan bir proteindir. Kalpainler Ca^{+2} bağımlı sistein proteazlarıdır. Kalpain-10 pankreatik β hücrelerinin fonksiyonunu etkileyerek insülin ile uyarılmış glukoz alımına ve Tip 2 diyabete duyarlı olduğu gösterilmiştir (Panico ve ark., 2014). Bu genler Tip 2 ve insüline bağlı olmayan Tip 1 diyabetle ilişkilidir. Calpain 10 geninin varyasyonu, T2DM ile ilgili klinik metabolik parametre seviyelerinin varyasyonu üzerinde etkilidir (Xiang ve ark., 2001). Avrupa popülasyonunda yapılan çalışmada SNP-44 gen allelinin T2DM riskini arttığı gösterilmiştir (Panico ve ark., 2014). Calpain 10 geninin, kardiyovasküler hastalık ve diyabet patogeneğinde genetik rolünde aday olduğu düşünülmektedir (Buracznska ve ark. 2013). Bu çalışmamızda Calpain-10 SNP-44 gen polimorfizminin Türk popülasyonunda T2DM hastaları üzerindeki etkisi hakkında bilgi sahibi olmayı amaçlamaktayız.

T2DM, birçok farklı genin birbirleri ve çevre ile karşılıklı etkileşimi sonucu ortaya çıktığı için klinik görünümü de daha karmaşık ve heterojendir. Bu karmaşık genetik yapının incelenmesi T2DM patogenezinin aydınlatılması, diyabet ve komplikasyonların gelişimi açısından riskli bireylerin belirlenmesi, genom-ilaç etkileşimlerinin aydınlatılarak hastaların etkin bir şekilde tedavi edilebilmesi için önemli bilgiler sağlayabilir (Kaya ve ark., 2017).

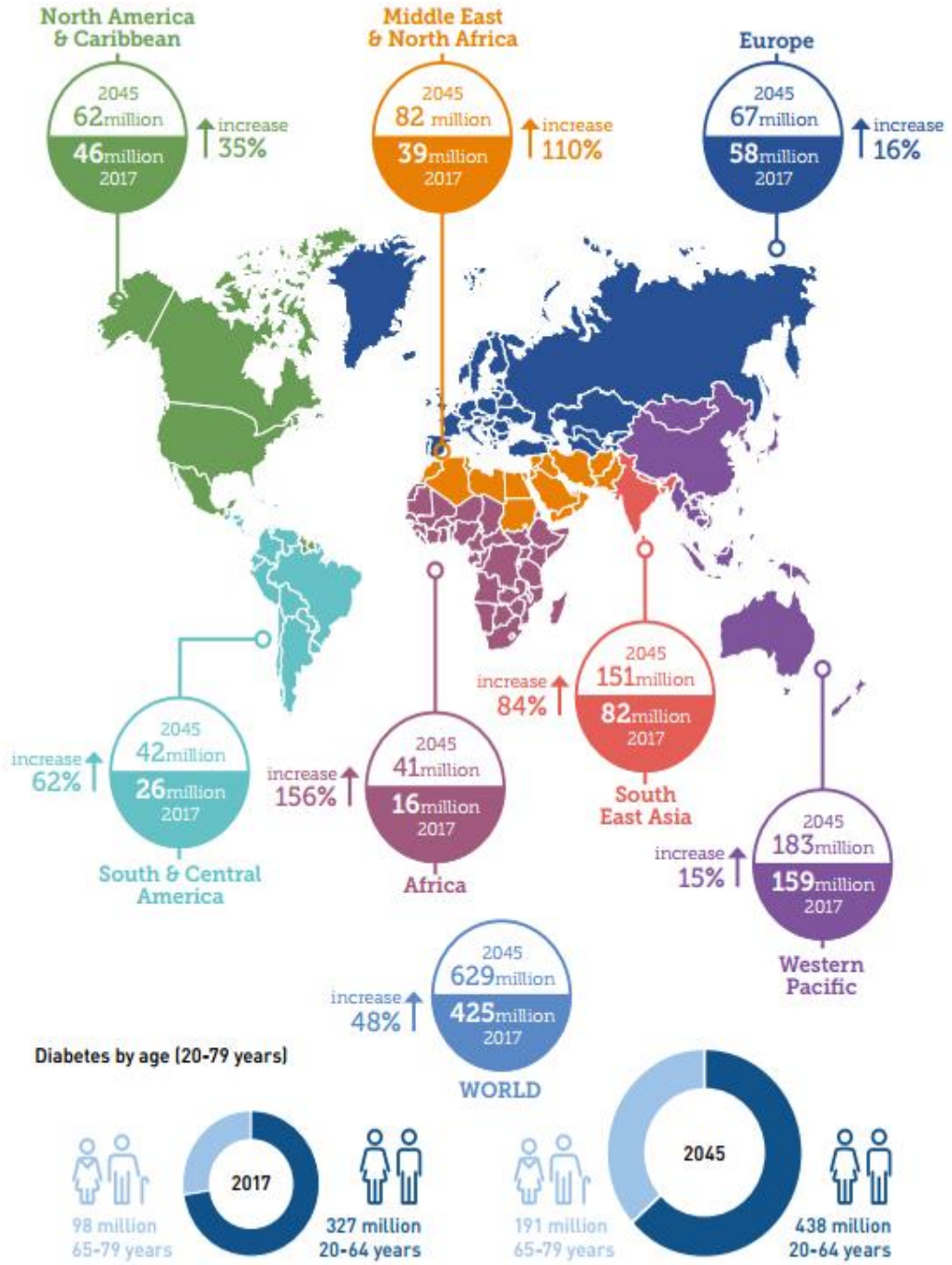
1.2. Diabetes Mellitus (DM) Epidemiyolojisi

Uluslararası Diyabet Federasyonu'nun (International Diabetes Federation-IDF) 2017 Diyabet Atlas'ına göre; 2017 yılı ile 2045 yılında tüm kıtalar ve dünyadaki 20-79 yaş aralığındaki diyabetli hastaların sayısı karşılaştırıldığında sayının giderek arttığı görülmektedir. 2017 yılında 425 milyon olan diyabetli hasta sayısının 2045'te 629 milyona çıkacağı yaklaşık %48 artacağı öngörülmüştür. Bu tahminlere göre her on kişiden birinin diyabet hastası olacağı belirtilmektedir. Verilere göre diyabet hastası artışının en çok olacağı kıta Afrika kıtası onu Orta Doğu ve Kuzey Afrika'nın takip ettiği görülmektedir. Bu tahminlere göre Türkiye'de en çok diyabetli hastaların olacağı ülkelerin arasındadır (IDF,2017).

Diyabet tüm dünyada ölüm nedenleri arasında iskemik kalp hastalığı, inme, alt solunum yolu infeksiyonları, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), diyare ile ilişkili hastalıklar, insan immun eksiklik virüsü/akiz immun eksiklik sendromu (human immune deficiency virüs/acquired immune deficiency syndrome, HIV/AIDS) ve solunum yolu kanserlerinden sonra 8. sırada yer almaktadır. 2013 yılında tüm dünyada 5,1 milyon insanın diyabet ve komplikasyonları nedeniyle hayatını kaybettiği raporlanmıştır. Bu ölümlerin yaklaşık yarısı 60 yaş ve altı hastalarda görülmektedir ki bu oran az gelişmiş bölgelerde %75'e kadar çıkmaktadır (TDP, 2015).

İnsan sağlığını tehdit eden kronik bir hastalık olmasının yanında, diyabetin hem bireye hem de ÷lkelerin sağlık sistemlerine maliyeti oldukça y÷ksektir. T÷m d÷nyada diyabet ve ilişkili hastalıklar için harcanan para 2013 yılında 548 milyar Amerikan doları olarak belirlenmiştir. Diyabet ve ilişkili hastalıkların takip ve tedavi maliyetlerinden kaynaklanan doğrudan maliyetler yanında, bireyin iş verimliliğinin azalması, yaşam s÷resinin kısılması ve dolaylı maliyetlerin de g÷z önünde bulundurulması gerekir. T÷m d÷nyada diyabetli bireylerin %46'sını hen÷z tanı konulmamış vakalar oluşturmaktadır. T÷rkiye'de de diyabetli hastaların %45,5'i hastalıklarının varlığından haberdar değildir. Diyabetin kişiye ve topluma y÷k÷n÷ azaltmak için hastalığın ve gelişebilecek komplikasyonların olabildiğince erken d÷nemde tanınması ve uygun şekilde tedavi edilmesi gerekmektedir (TDP, 2015).

Diyabet gelişmekte olan ÷lkelerde yaklaşık olarak %5, gelişmiş ÷lkelerde ise %10 oranında g÷r÷lmektedir. Sıklığı yaşla birlikte artar. Ayrıca her geçen g÷n diyabete bağlı hastalık ve ÷l÷m oranı da artmaktadır. ABD'de ÷l÷m nedenleri arasında üç÷nc÷ sıradadır. Yaşam s÷resi, 40-49 yaşları arasında diyabet ortaya çıkanlarda 7-10 yıl, 60-69 yaşları arasında ortaya çıkanlarda ise 3-5 yıl kısalmaktadır. ÷lkemizdeki oranlar da diğer b÷lgelerdekilere benzer şekilde artmaktadır. T÷rkiye Diyabet Epidemiyolojisi (T÷DEP) alışmasında diyabet sıklığı 20-80 yaş grubunda %7,2 olarak belirlenmiştir. Bozulmuş glikoz toleransı (IGT) oranı ise %6,7'dir. Diyabet, çok sayıda ve seçilmiş bazı merkezlerde yapılan DİABCOST alışması sonuçlarına g÷re toplumsal tedavi, tanı ve hizmet giderlerinden oluşan doğrudan maliyet etkisi yanında çok sayıda dolaylı maliyet getiren bir hastalıktır (Durna, 2002).



Şekil 1.1. 2017 ve 2045'te Kıtalarda ve dünyada diyabetli kişilerin sayısı (20-79 yaş)(IDF,2017)

1.2.1. Diyabet (Diabetes Mellitus) Tanımı

Diabetes Mellitus (DM), insülin salınımı, insülin etkisi veya bu faktörlerin her ikisinde de bozukluk nedeniyle ortaya çıkan hiperglisemi ile karakterize kronik metabolik bir hastalıktır. Kronik hiperglisemi ile görülen diyabetin uzun vadede farklı organlarda özellikle gözler, böbrekler, sinir sistemi, kalp ve kan damarlarının yetersizliği ile ilişkili hasarlara neden olur (ADA, 2014).

Diyabet gelişiminde çeşitli patojenik süreçler söz konusudur. Bunlar; pankreas hücrelerinin otoimmün yıkımından sonuçlanan insülin eksikliği ve insüline direnç ile sonuçlanan anormalliklere kadar uzanmaktadır. Diyabetteki karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki anormalliklerin temeli, insülinin hedef dokular üzerindeki yetersiz etkisidir. Yetersiz insülin etkisi, yetersiz insülin sekresyonu ve /veya hormon etkisinin karmaşık yollarında bir veya daha fazla noktada insüline verilen doku yanıtlarından kaynaklanır. (ADA, 2014).

Diyabet, yağların ve proteinlerin metabolizmasının bozulmasının eşlik ettiği yüksek kan glukoz seviyeleri ile karakterize kronik bir hastalıktır. Kan glukozu, pankreasın insülin üretimi eksikliğinden veya hücrelerin üretilmekte olan insülini etkin şekilde kullanamamalarından dolayı hücrelerde metabolize edilememesi nedeniyle yükselir.

Çizelge 1.1. Diyabet Tanı Kriterleri (IDF,2017)

Aşağıdaki kriterlerden BİR VEYA DAHA FAZLA karşılanırsa, diyabetler teşhis edilmelidir.	GELİŞMİŞ GLUKOZ TOLERANSI (IGT) Aşağıdaki kriterlerden her ikisinin de karşılanması durumunda teşhis edilmelidir.	BOZULMUŞ AÇLIK GLUKOZU (IFG) Aşağıdaki kriterlerden her ikisinin de karşılanması durumunda teşhis edilmelidir.
Açlık plazma glukozu $\geq 7,0$ mmol/L (126 mg/dL) Veya	Açlık plazma glukozu $\geq 7,0$ mmol/L (126 mg/dL) Ve	Açlık plazma glukozu 6,1-6,9 mmol/L (110 ile 125 mg/ dL) Ve
75 g oral glukoz yüklenmesinden iki saat sonra plazma glukozu $\geq 11,1$ mmol/L (200 mg/dL) Veya	75 g oral glukoz yüklenmesinden iki saat sonra plazma glukozu $\geq 7,8 < 11,1$ mmol/L (≥ 140 ile < 200 mg/dL)	75 g oral glukoz yüklenmesinden iki saat sonra plazma glukozu $< 7,8$ mmol/L (140mg/dL)
Rastgele bir glikoz $> 11,1$ mol / L (200 mg / dL) veya HbA1c ≥ 48 mmol / mol (%6,5'e eşdeğer)		

1.2.2. Diyabetin Sınıflandırılması

WHO'nun yaptığı sınıflama kliniksel olup aynı zamanda diyabeti terminolojik olarak insüline bağımlı (IDDM) ve insüline bağımlı olmayan (NIDDM) olarak da adlandırılmıştı. IDDM ve NIDDM heterojen olduğundan WHO sınıflamasının genel uygulanabilirliği sınırlıdır. Daha sonra ADA tarafından 1998 yılında önerilen yeni sınıflama ile etiyolojik olup insüline bağımlı ve insüline bağımlı olmayan diyabet yerine tip 1 ve tip 2 diyabet terminolojisini de önermektedir (Çizelge 1.2).

Üç ana diyabet türü vardır: (a) Pankreasın insülin üretmediği Tip 1; (b) vücut hücrelerinin üretilmekte olan insülinin etkisine dirençli olduğu ve zamanla insülin üretiminin azaldığı Tip 2; (c) hamilelikte ortaya çıkan ve hamilelik sırasında ve doğumda bazı komplikasyonlara neden olabilen gebelik diyabeti ve annede Tip 2 diyabet riskini ve yavrularda obezite riskini arttırır (Roglic, 2016).

Tip 2 diyabet, diyabet vakalarının yaklaşık %90'ını oluşturan en yaygın diyabet tipidir. Tip 2 diyabette, hiperglisemi, yetersiz bir insülin üretiminin ve vücudun insüline direnç olarak tanımlanan insüline tam olarak yanıt verememesinin sonucudur. Tip 2 diyabet en yaygın yetişkinlerde görülür, ancak artan obezite, fiziksel hareketsizlik ve zayıf beslenme nedeniyle çocuklarda, ergenlerde ve genç erişkinlerde giderek artmaktadır (IDF, 2017).

Tip 2 diyabetin semptomları Tip 1 diyabetin semptomlarıyla aynı olabilir (Şekil 1.1). Özellikle susuzluk, sık idrara çıkma, yorgunluk, yavaş iyileşen yaralar, tekrarlayan enfeksiyonlar ve ellerde ve ayaklarda karıncalanma veya uyuşma (Şekil 1.2). Ancak, Tip 2 diyabet başlangıcı genellikle yavaştır (IDF, 2017).

Çizelge 1.2. Diabetes Mellitus'un Etiyolojik Sınıflaması (ADA, 2014)

I. Tip 1 diyabet [Genellikle mutlak insülin noksanlığına sebep olan β -hücre yıkımı vardır] A. İmmün aracılıklı B. İdiyopatik	
II. Tip 2 diyabet [İnsülin direnci zemininde ilerleyici insülin sekresyon defekti ile karakterizedir]	
III. Gestasyonel diabetes mellitus (GDM) [Gebelik sırasında ortaya çıkan ve genellikle doğumla birlikte düzelen diyabet formudur]	
IV. Diğer spesifik diyabet tipleri	
A. β-hücre fonksiyonlarının genetik defekti (monogenik diyabet formları) 20. Kromozom, HNF-4α (MODY1) 7. Kromozom, Glukokinaz (MODY2) 12. Kromozom, HNF-1α (MODY3) 13. Kromozom, IPF-1 (MODY4) 17. Kromozom, HNF-1β (MODY5) 2. Kromozom, NeuroD1 (MODY6) 2. Kromozom, KLF11 (MODY7) 9. Kromozom, CEL (MODY8) 7. Kromozom, PAX4 (MODY9) 11. Kromozom, INS (MODY10) 8. Kromozom, BLK (MODY11) - Mitokondriyal DNA 11. Kromozom, Neonatal DM (Kir6.2, ABCC8, KCNJ11 mutasyonu) 11. Kromozom, KJN11 (MODY13) 3. Kromozom, APL1 (MODY14) - Diğerleri	E. İlaç veya kimyasal ajanlar - Atipik anti-psikotikler - Anti-viral ilaçlar β-adrenerjik agonistler - Diazoksit - Fenitoin - Glukokortikoidler α-İnterferon - Nikotinik asit - Pentamidin - Proteaz inhibitörleri - Tiyazid grubu diüretikler - Tiroid hormonu - Vacor - Statinler - Diğerleri [Transplant rejeksiyonunu önlemek için kullanılan ilaçlar]
B. İnsülinin etkisindeki genetik defektler - Leprechaunism - Lipoatrofik diyabet - Rabson-Mendenhall sendromu - Tip A insülin direnci - Diğerleri	F. İmmün aracılıklı nadir diyabet formları - Anti insülin-reseptör antikortarı "Stiff-man" sendromu - Diğerleri
C. Pankreasın ekzokrin doku hastalıkları - Fibrokalkülöz pankreatopati - Hemokromatoz - Kistik fibroz - Neoplazi - Pankreatit - Travma/pankreatektomi - Diğerleri	G. Diyabetle ilişkili genetik sendromlar - Alström sendromu - Down sendromu - Friedreich tipi ataksi - Huntington korea - Klinefelter sendromu - Laurence-Moon-Biedl sendromu - Miyotonik distrofi - Porfiriya - Prader-Willi sendromu - Turner sendromu - Wolfram (DIDMOAD) sendromu - Diğerleri
D. Endokrinopatiler - Akromegali - Aldosteronoma - Cushing sendromu - Feokromositoma - Glukagonoma - Hipertiroidi - Somatostatinoma - Diğerleri	H. Enfeksiyonlar - Konjenital rubella - Sitomegalovirus - Koksaki B - Diğerleri [adenovirus, kabakulak]

HNF-1a: Hepatosit nükleer faktör-1a, MODY1-11: Gençlerde görülen erişkin tipi diyabet formları 1-11 (maturity onset diabetes of the young 1-11), HNF-4a: Hepatosit nükleer faktör-4a, HNF-1a: Hepatosit nükleer faktör-1a, IPF-1: İnsülin promotör faktör-1, HNF-1b: Hepatosit nükleer faktör-1b, NeuroD1: Nörojenik diferansiyasyon 1, BLK: Beta lenfosit-spesifik kinaz, DNA: Deoksiribonükleik asit, HIV: İnsan immün eksiklik virusu, DIDMOAD sendromu: Diabetes insipidus, diabetes mellitus, optik atrofi ve sağırılık (deafness) ile seyreden sendrom (Wolfram sendromu), KLF11: Kruppel like factor 11, CEL: Carboxyl ester lipase (bile salt-dependent lipase), PAX4: Paired box4, ABCC8: ATP-binding cassette C8, KCNJ11: Potassium inwardly-rectifying channel J11, INS: İnsülin.

Tip 1 Diabetes Mellitus

Mutlak insülin eksikliği vardır. Hastaların %90'ında otoimmün, %10 kadarında ise nonotoimmün b-hücre yıkımı söz konusudur. Genetik yatkınlığı (riskli doku grupları) bulunan kişilerde çevresel tetikleyici faktörlerin (virüsler, toksinler, emosyonel stres) etkisiyle otoimmünite tetiklenir ve ilerleyici b-hücre hasarı başlar. B-hücre rezervi %80-90 oranında azaldığı zaman klinik diyabet semptomları ortaya çıkar. Erken evreleri yukarıda bahsedilen Tip 1A diyabetin, Evre 3 başlangıcında kanda adacık oto antikorları pozitif bulunur. Bu antikorlar, genellikle birinci yılın sonuna doğru kanda kaybolur. Otoimmün Tip 1 diyabetin klinik evreleri Tablo 2'de özetlenmiştir.

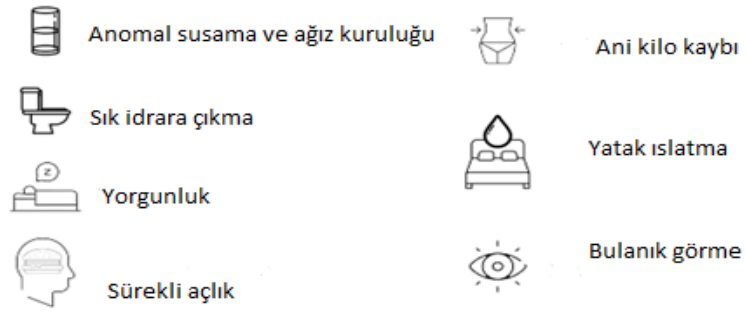
Çizelge 1.3. Tip 1 Diyabetin Evreleri

	Evre 1	Evre 2	Evre 3
Fenotipik özellikler	Otoimmünite	Otoimmünite	Yeni başlamış hiperglisemi
	Normoglisemi	Disglisemi	Semptomatik
	Presemptomatik	Presemptomatik	
Tanı kriterleri	Çoklu otoantikorlar	Çoklu otoantikorlar	Klinik semptomlar
	Normal glukoz toleransı	Disglisemi: (BAG / BGT / YRG / $\geq$ %10 A1C artışı)	Standart kriterlerle tanı almış diyabet

BAG: APG 100-125 mg/dL, BGT: OGTT 2.stPG 140-199 mg/dL, YRG: A1C %5.7-6.4, (BAG: Bozulmuş açlık glukoz, BGT: Bozulmuş glukoz toleransı, YRG: Yüksek risk grubu, APG: Açlık plazma glukozu, OGTT 2.stPG: Oral glukoz tolerans testinde 2.st plazma glukozu).

Genellikle 30 yaşından önce başlar. Okul öncesi (6 yaş civarı), puberte (13 yaş civarı) ve geç adölesan dönemde (20 yaş civarı) üç pik görülür. Ancak son 20 yıldır daha ileri yaşlarda ortaya çıkabilen “Latent otoimmün diyabet” (LADA: Latent autoimmune diabetes of adult) formunun, çocukluk çağı (<15 yaş altı) tip 1 diyabete yakın oranda görüldüğü bildirilmektedir.

Hiperglisemiye ilişkin (ağız kuruluğu, polidipsi, açlık hissi, poliüri, kilo kaybı ve yorgunluk gibi) semptom ve bulgular aniden ortaya çıkar.



Şekil 1.2. Tip 1 Diyabetin Semptomları (IDF, 2017)

Hastalar sıklıkla zayıf ya da normal kilodadır. Bununla beraber, son yıllarda fenotip açısından insülin direnci hakim Tip 2 diyabete benzeyen, kilolu/obez kişilerde görülen ve “Duble diyabet”, “Hibrid diyabet”, “Dual diyabet” veya “Tip 3 diyabet” olarak adlandırılan Tip 1 diyabet formu da tanımlanmıştır. Diyabetik ketoasidoza (DKA) yatkındır (TEMD, 2018).

Diyabet hastalarının %5-10’u Tip 1 diyabetlidir ve Tip 1 diyabetli hasta sayısı gittikçe artış göstermektedir. Tüm dünyada yaklaşık 497100 çocuğun Tip 1 diyabet ile yaşadığı ve her yıl 15 yaş altı 79100 çocukta Tip 1 diyabet geliştiği tahmin edilmektedir. Tip 1 diyabette beta hücre hasarı oldukça değişken olduğundan hastalar erken çocukluk döneminde diyabetin akut ve hayatı tehdit eden komplikasyonlarından biri olan diyabetik ketoasidoz (DKA) ile ilk tanısını alabilir veya orta derecede bir hiperglisemi ile erken dönemde tanı almadan ileri yaşlarda tanı konabilir. Orta derecede hiperglisemi; infeksiyon, stres veya travma gibi bir olay sonrasında tetiklenerek ciddi hiperglisemi ve/veya DKA olarak ortaya çıkabilir. Diyabetin bu tipi genellikle çocuklarda ve gençlerde görülmekle birlikte son yıllarda yetişkin yaşlarda saptanan Tip 1 diyabet olguları da artmaktadır. Erişkin yaşta (genellikle 25 yaşından sonra) görülen Tip 1 diyabet formu, ‘erişkinde latent otoimmün diyabet’ (latent autoimmune diabetes in adult, LADA) olarak adlandırılmaktadır (TDP, 2015).

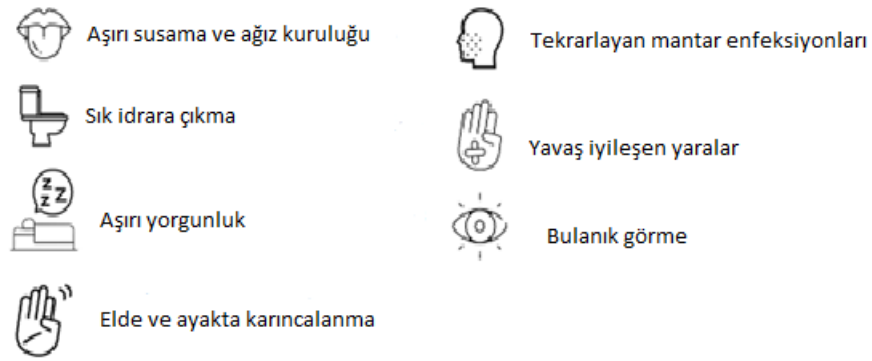
Tip 1 diyabette mutlak insülin eksikliği olduğundan tedavinin temelini dışarıdan verilen insülinle bu eksikliğin telafi edilmesi oluşturur (TDP, 2015).

Tip 2 Diabetes Mellitus

Geçmişte ‘insüline bağımlı olmayan diyabet’, ‘erişkin diyabet’ veya ‘Tip II diyabet’ olarak da isimlendirilen Tip 2 Diabetes Mellitus tüm diyabet olgularının %90’dan fazlasını oluşturur ve en yaygın görülen diyabet formudur. Tip 2 diyabet, obezite ve fiziksel inaktiviteye bağlı olarak genellikle daha sık görülmektedir. Hastalığın temelinde genetik olarak yatkın kişilerde yaşam tarzı ile tetiklenen ve giderek artan insülin direnci ve zamanla azalan insülin salınımı söz konusudur. Tüm dünyada toplumun %5-10’u tip 2 diyabetli olduğu düşünülmektedir (TDP, 2015).

Genellikle 30 yaş sonrası ortaya çıkar, ancak obezite artışının sonucu olarak özellikle son 10-15 yılda çocukluk veya adolesan çağlarında ortaya çıkan tip 2 diyabet vakaları artmaya başlamıştır. Genetik yatkınlık söz konusudur. Ailede genetik yoğunluk arttıkça, sonraki nesillerde diyabet riski artar ve hastalık daha erken yaşlarda görülmeye başlar. Hastalar sıklıkla obez veya kiloludur (Beden kitle indeksi (BKİ) $>25 \text{ kg/m}^2$). Başlangıçta DKA’ya yatkın değildir. Ancak uzun süreli hiperglisemik seyirde veya β -hücre rezervinin azaldığı ileri dönemlerde DKA görülebilir. Hastalık genellikle sinsi başlangıçlıdır. Pek çok hastada başlangıçta hiçbir semptom yoktur. Bazı hastalar ise bulanık görme, el ve ayaklarda uyuşma ve karıncalanma, ayak ağrıları, tekrarlayan mantar enfeksiyonları veya yara iyileşmesinde gecikme nedeniyle başvurabilir (TEMD, 2018).

Tip 2 diyabet semptomları bazı Tip 1 diyabet semptomları ile benzerlik gösterebilir. Sık su içme, sık idrara çıkma, yorgunluk, yavaş iyileşen yaralar, tekrarlayan enfeksiyonlar, el ve ayakta karıncalanma ve uyuşma sık görülen belirtilerdir (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Tip 2 Diyabetin Semptomları (IDF, 2017)

Tip 2 diyabette en önemli özellik, insülin aktivasyonuna karşı hücrelerde direnç oluşumudur. Bu direnç insülin reseptörleri veya post insülin reseptör defektlerine bağlı olabilir. Tip 2 diyabetin bir diğer özelliği de genellikle β hücrelerinde insülin salınımında ve insülin yapısında bir bozukluk olmamasıdır. Bu tipte insülin azalması veya yokluğu hastalığın ileri devrelerinde çevresel faktörlerle pankreas dokularının azalmasına bağlı olabilir (Yalçın, 2014).

Tip 2 Diyabet Risk Faktörleri

40 yaş üzerinde olup aşağıdaki risk faktörlerinden bir ya da birkaçı bulunan kişiler diyabet açısından risklidir:

- Ailede diyabet hikayesi
- Yüksek riskli etnik grup mensubu
- Prediyabet
- Hipertansiyon
- HDL kolesterol <40 mg/dL ve trigliserid >250 mg/dL
- Kardiyovasküler hastalık
- Fazla kilolu veya obez

- Polikistik over sendromu (PCOS)
- Gestasyonel diyabet hikayesi
- 4 kilonun üzerinde bebek doğurma öyküsü
- İnsülin direnci ile ilişkili durumlar (akantozis nigrikans, non-alkolik steatohepatit)
- Şizofreni
- Bazı atipik antipsikotik ve antidepresan ilaçların kullanımı
- Fiziksel inaktivite
- Solid organ (özellikle böbrek) transplantasyonu yapılmış olan kişiler (TDP, 2015).

Gestasyonel Diyabet

Hamilelikle birlikte başlayan herhangi bir şiddetteki glukoz intoleransı olarak tanımlanmaktadır. Bu durum doğumla beraber düzelse de doğum sonrası düzelmeyen diyabet için de bu tanım kullanılmaktadır (ADA, 2014).

Gebelerin %7'sinde gestasyonel diyabet (GDM) görülmektedir. Bu oran popülasyon ve kullanılan tanısal yöntemlere bağlı olarak %1 ile %22 arasında değişmektedir. GDM, genellikle gebeliğin 24. haftasından sonra plasenta hormonlarının insülinin etkilerini bloke etmesine (insülin direncini arttırmasına) bağlı olarak gelişir. Gebelikte kan glukoz regülasyonunun bozukluğu, özellikle de gebelikten önce diyabeti olan hastalarda hem anne hem de bebek için olumsuz sonuçlara neden olabilir. GDM tanısı alan anne adaylarında preeklampsi ve erken doğum riski artar. Yeni doğanda ise makrozomi, neonatal hipoglisemi, sarılık, hipokalsemi, polisitemi, respiratuvar distress sendromu (RDS), konjenital malformasyonlar ve ölü doğuma neden olabilir. Ayrıca GDM tanısı almış kadınların doğum sonrasında diyabeti düzelse bile, prediyabetik olarak kabul edilip diyabetten korunma programlarına alınmaları gereklidir (TDP, 2015).

Diğer Diyabet

Beta Hücre Fonksiyonlarının Genetik Defekti

Beta hücre fonksiyonlarının monogenetik defektlerle ilişkili diyabet formları arasında MODY (Maturity Onset Diabetes Young: Gençlerde Görülen Erişkin Tipi Diyabet) ve Mitokondriyal Diyabet yer alır. MODY genellikle erken yaşta (25 yaş öncesi) başlayan orta derecede hiperglisemi ile karakterizedir. Tüm nedenlere bağlı diyabetlerin %2-5'inden sorumlu olduğu tahmin edilmektedir. En yaygın formları olan MODY2 ve MODY3 sırasıyla glukokinaz ve hepatosit nükleer faktör 1-alfa genlerindeki mutasyonlar nedeni ile oluşur. MODY2 hastalarında glukoz düzeyinin salgılanmasındaki bozukluk nedeni ile, insülin sekresyonunda artış, yaşam boyu hafif açlık hiperglisemisi oluşur. Medikal tedavi ihtiyacı olmaz ve nadiren mikrovasküler komplikasyon gelişimi görülebilir. MODY3 hastaları ise glukoz alımı ile insülin sekresyonunda ciddi eksiklik ile ortaya çıkmaktadır. Artan hiperglisemi tedavi gerektirir ve mikrovasküler komplikasyonlar sıktır. İnsülin etkisinde ya hiç defekt yoktur ya da minimal defektler vardır. Bunun yanında insülin sekresyon bozukluğu da mevcuttur. 7 Otozomal dominant geçişli olup diğer aile bireylerinde de diyabet öyküsü vardır. Otoantikorlar negatiftir. MODY'nin klinik olarak tanınması; doğru hasta yönetimi ile Tip 1 ve Tip 2 diyabetle karışmaması için önemlidir (Ecemiş ve ark., 2012, Önalın, 2015).

MODY vakaları, adölesan çağından sonra ortaya çıkan Tip 1 diyabet ya da genç yaşta başlayan Tip 2 diyabet vakaları ile karışabilir. Tip 1 diyabet şüphesi varsa otoantikörlara bakılarak ayırıcı tanısı yapılmalıdır. Genç yaşta başlamış, insülin direnci saptanmayan, sülfonilüre grubu ilaçlara aşırı yanıtı hastalarda MODY akla gelmelidir (TEMD, 2018).

Mitokondriyal Diyabette DNA nokta mutasyonları gösterilmiştir. Bu hastalarda DM yanında; sağırılık, miyopati, tiroid disfonksiyonu, hiperkalsemi ve

büyüme hormonu eksikliği bulunur. Diyabet tanısı konulduktan sonraki dönemlerde insülin direnci artışı ve beta hücre fonksiyonunda azalma progresif olarak devam etmektedir (Önalın, 2015).

İnsülin Mekanizmasındaki Genetik Defektler

İnsülin aksiyonundaki genetik olarak belirlenmiş anormallikler sonucu oluşan olağandışı diyabet türüdür. İnsülin reseptöründe görülen mutasyonlar ile metabolik bozukluklar sonucu oluşan hiperinsülinemi ve hafif hiperglisemiden, ağır diyabete kadar değişebilir. Bu mutasyonu taşıyan bazı bireyler acanthosis nigricanslı (Boyun, koltuk altları ve deri kıvrımları etrafındaki derinin kararması ve kalınlaşması) olabilirler. Kadınlarda virilizasyon (erkeksileşme) ve polikistik overlar görülebilir. Geçmişte, bu sendrom tip A insülin rezistansı olarak tanımlanmıştır (Şatır, 2008).

Donohue sendromu (Leprechaunizm) ve Rabson-Mendenhall sendromu insülin reseptör geninde mutasyonlarla seyreden iki pediatrik sendromdur. Beraberinde insülin reseptör fonksiyon değişiklikleri ve aşırı insülin direnci görülür. Leprechaunizm, karakteristik yüz görünümüne sahiptir ve genellikle çocukluk çağında öldürücüdür. Rabson Mendenhall ise diş ve tırnak anomalileri ve pineal bez hiperplazisi ile görülür. Genellikle otozomal dominanttır ancak resesif kalıtım örnekleri de bildirilmiştir (Challis ve Milington, 2013).

Ekzokrin Pankreas Hastalıkları

Endokrin ve ekzokrin pankreas arasında hem anatomik hem de fonksiyonel yakınlık sebebiyle birini içeren herhangi bir pankreatik hastalık diğerini de etkiler. Kronik pankreatit, hem ekzokrin hem de endokrin pankreas parankiminin irreversible ve progresif kaybı ile karakterizedir ve glikoz intoleransına ve diyabete yol açar.

Pankreatik hastalıklara sekonder DM, pankreatojenik diyabet (PDM) denir. PDM'un prevalansı ile ilgili bazı eski çalışmalarda Kuzey Amerika'da tüm diyabet olguları arasında yaklaşık %0,5-1,15 olarak bildirilmiştir. Almanya'da Ewald ve ark. 1.868 diabetli hastayı araştırmış, Amerikan Diyabet Birliği (ADA) kriterlerini kullanarak hastaların %9,2'sini ekzokrin pankreas hastalıklarına sahip diabetli hastalar olarak sınıflandırabilmiş ve bunların %78'i kronik pankreatit tanısı almıştır. Tropikal veya fibrokalsifik pankreatitin endemik olduğu Güneydoğu Asya'daki diğer çalışmalarda tüm DM olgularının yaklaşık %15-20'si oranında yüksek bir prevalans bildirilmiştir. (Arpacı ve ark., 2014)

Ekzokrin Pankreas Hastalıkları: Pankreatit, travma/pankreatektomi, neoplazi, kistik fibroz, hemokromatoz, fibrokalküloz pankreatopati olarak sıralanabilir. (Arpacı ve ark., 2014)

Endokrinopatiler

Büyüme hormonu, kortizol, glukagon, epinefrin gibi birçok hormon insülinin etkisini antagonize eder. Bu hormonların aşırı salgılanması ile oluşan akromegali, cushing sendromu, glukogonoma, feokromatisoma diabete neden olabilir. İnsülin sekresyonunda mevcut defektleri bulunan bireylerde ortaya çıkan hiperglisemi hormon fazlalığı tedavi edildiğinde düzelir. Somatostatinoma ve aldosteronoma da diabete veya insülin sekresyonunun azalmasına neden olur. Hiperglisemi genellikle tümörün çıkarılmasından sonra düzelir (Şatır, 2008).

İlaç veya kimyasal Ajanlar

Birçok ilaç insülin salgısını bozar. Bu ilaçlar diabete neden olmazlar sadece insülin direnci olan bireylerde diabetin oluşmasını hızlandırırlar. Vacor ve intravenöz

pentamidine gibi toksik maddeler beta hücrelerini kalıcı olarak zarar verirler. Nikotinik asid ve glukokortikoid gibi birçok ilaç ve hormon, insulin salgılanmasını bozabilir (Şatır, 2008).

Atipik anti psikotikler, anti viral ilaçlar, B adrenerjik agonistler, diazoksid, fenitoin, glukokortikoidler, A-interferon, nikotinik asit, pentamidin, proteaz inhibitörleri, tiyazid grubu diüretikler, tiroid hormonu vacor ve diğerleri sıralanabilir.

İnfeksiyonlar

Bazı virüsler beta hücrelerinin yıkımı ile ilişkilidir. Konjenital rubellalı hastalarda HLA ve Tip 1 diyabetle karakteristik immün markerlar olmasına rağmen diyabet meydana gelir. Ek olarak, coxackievirus B, sitomegalovirüs, adenovirüs ve kabakulak virüslerinin diyabeti tetiklediği düşünülmektedir (ADA, 2014).

İmmün Aracılı Nadir Diyabet Formları

Bu kategoride bilinen iki neden vardır. Bunlar: Stiff-man sendromu ve anti insülin reseptör antikorlarıdır. Stiff-man sendromu, aksiyel kaslarda ağrılı spazmlarla karakterize olan otozomal merkezi sinir sistemi hastalığıdır. Bu hastaların üçte birinde daha sonra diyabet gelişir. Anti-insulin reseptörleri ise antikorları hedef dokuda insulinin kendi reseptörlerine bağlanmasını engelleyip diyabete neden olur. Ancak bazı durumlarda bu antikorlar insülin agonisti olarak davranır ve reseptöre bağlanarak hipoglisemiye neden olur (ADA, 2014).

Diyabetle İlişkili Genetik Sendromlar

Birçok genetik sendrom diyabet oluşum insidansını artırmaktadır. Bunların içinde kromozomal anormallikler olan Down sendromu, Klinefelter ve Turner sendromu bulunur. İnsülin eksikliği ve beta hücrelerinin olmaması sebebiyle otozomal resesif bozukluk olan Wolfram sendromu ve buna benzer birçok genetik hastalıklar diyabetle ilişkili olabilir (Tablo.1) (ADA,2014).

1.2.3. Diyabetin Fizyopatolojisi

Diabetes Mellitus (DM), Tip 1 ve Tip 2 Diabetes Mellitus olarak iki gruba ayrılır. Tip 1 Diabetes Mellitus pankreatik β -hücrelerinin otoimmün parçalanmasına bağlı olarak insülin yetersizliği ile ortaya çıkan genç yaş şeker hastalığıdır. Tip 2 Diabetes Mellitus ise, hedef dokularda insülin direnci ve pankreatik β -hücrelerinde insülin salınımının azalması ile karakterize edilir. Tip 1 şeker hastalığının tersine Tip-2 DM'li hastalarda daima bir insülin üretimi ve salınımı vardır. Fakat insülinin hedef doku hücrelerinde insüline karşı bir direnç vardır (Kaya, 2012).

Hipergliseminin ve onun sonunda ortaya çıkan bozukluklar diyabet oluşumunda karbonhidrat metabolizmasının büyük rolünün olduğunu gösterir. Öte yandan diyabetik tablolarda, kan yağlarının ve proteinlerin katabolik gelişimi ve nihayetinde yağların yıkımından oluşan, keton cisimlerin hızla metabolize edilememesi ile ketoasidoz oluşumu, protein ve yağ metabolizmasının da etkilendiğini gösterir. Sonuçta Diabetes Mellitus bütün sistemleri ilgilendiren metabolik bir hastalıktır (Yalçın, 2014).

Klinik açıdan belirgin Tip 2 diyabet, glukoz homeostazisi göz önüne alındığında, tipik olarak aşağıdaki sıra ile gelişen ve hastalık sürecinin farklı evrelerini temsil eden 4 patofizyolojik olay ile karakterizedir:

- İnsülin duyarlılığında azalma veya insülin direnci
- Bozulmuş glukoz toleransı
- Göreceli insülin yetersizliğiyle birlikte pankreas beta hücrelerinin fonksiyonlarındaki bozukluk
- Karaciğerde glukoz üretiminde artış (Şen, 2006).

İnsüline direnç gelişimi T2DM riskini artırmasına karşılık, hastalıkta temel özellik β -hücre işlevinin bozulmasıdır. β -hücre fonksiyonunun bozulması β - hücre kütlesinde azalma ile beraberdir ve diyabetin ortaya çıkmasından daha önce vardır. Ancak disfonksiyona yol açan mekanizmalar henüz tam anlaşılamamıştır. Daha yaygın kabul edilmekte olan görüş ise her iki bozukluğun (β -hücre işlevi ve insüline direnç gelişimi) da T2DM patogeneğinde önemli olduğu ve erken basamaklarında yer almasıdır. Fakat bu iki bozukluğun patogeneze olan etkileri heterojendir, etnik ve kişisel farklılıklar göstermektedir. T2DM, çevresel ve genetik faktörlerin karmaşık etkileşimi sonucu ortaya çıkmaktadır. Diyabet açısından pozitif aile öyküsüne, azalmış fiziksel aktivite ve dismetabolik durumun (abdominal obezite, insülin direnci, hipertansiyon ve dislipidemi) eklenmesi diyabet gelişim riskini artırmaktadır (Kaya, 2012).

1.2.4. Diyabetin Komplikasyonları

Diabetes mellitusun komplikasyonları akut ve kronik olarak aşağıda Çizelge 1.4' de sınıflandırılmıştır (Kahriman, 2015).

Çizelge 1.4. Diabetes Mellitusun komplikasyonları (Kahriman, 2015)

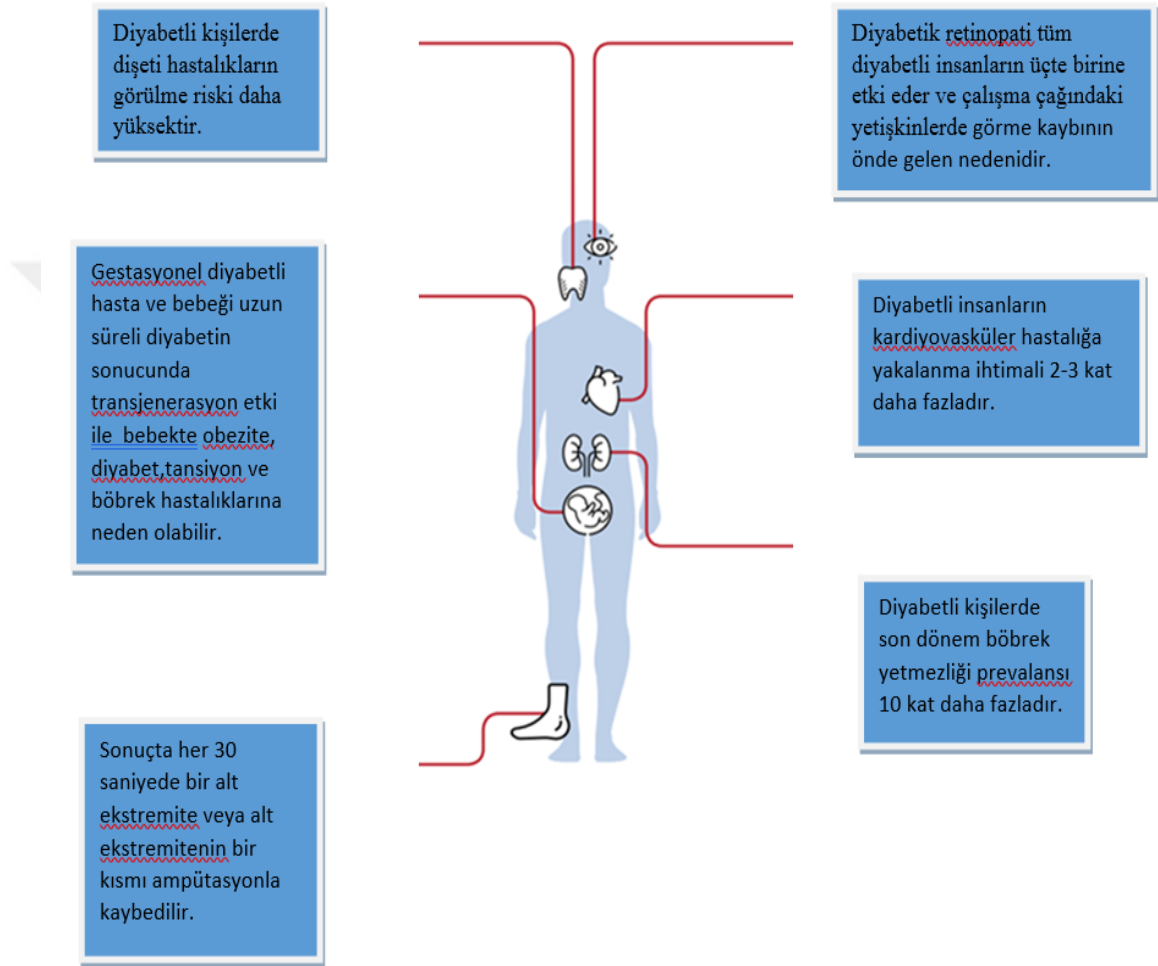
Akut Komplikasyonlar	Kronik Komplikasyonlar	
	Makrovasküler	Mikrovasküler
1-Diyabetik Ketoasidoz 2-Hiperosmolar Hiperglisemik Durum 3-Laktik Asidoz 4-Hipoglisemi	1-Kardiyovasküler Hastalıklar 2-Serebrovasküler Hastalıklar 3-Periferik damar Hastalığı	1-Diyabetik Nefropati 2-Diyabetik Retinopati 3-Diyabetik Nöropati

İyi yönetilmediğinde, her tür diyabet vücudun birçok yerinde komplikasyonlara yol açabilir, bunun başında sık hastaneye yatış ve erken ölüm gelir. Yaşamı tehdit eden bir dizi ciddi tıbbi bakım maliyetlerini artıran ve yaşam kalitesini düşüren sağlık sorunları nedeniyle diyabetli kişilerin riski artar (IDF, 2017).

Diabetes Mellitus’lu hastalarda göz dibinde, sinirlerde, böbreklerde ve damarlarda komplikasyonlar olur. Ayak sinirlerindeki uyuşmalar, karıncalanmalar, hissizlik ve gece giren kramplar şeklinde kendisini gösterir. DM’li hastaların ayaklarında çıkan yaraların kapanması oldukça güçtür. Ayağa giden damarlar ve sinirler tam çalışmadığı için herhangi bir kesikle veya ayakkabı vurması gibi bir nedenle ortaya çıkan yaralar iyileşmez ve kangrene çevirebilir. DM’de koroner arter hastalığı, serebrovasküler hastalık denilen inme, felç ve beyin kanaması, periferik damar hastalığı denilen uzun damarlarda tıkanma görülebilir. DM’nin santral sinir sistemine etkisi ile hastalarda sinirlilik, asabi durum, endişe ve depresyona sık rastlanılır (Özdemir, 2012).

Genel popülasyonda koroner arter hastalığı (KAH) prevalansı %2-4 arasındayken, diyabetik hastalarda %55’e kadar artmış KAH prevelansı bildirilmiştir.

DM’li hastaların 3/4’ü KAH’a bağlı komplikasyonlar nedeniyle kaybedilir. DM’li hastaların en önemli ölüm nedeni miyokard enfarktüsü ve inme ile sonlanan makrovasküler hastalıktır (Özdemir, 2012).



Şekil 1.4. Diabetes Mellitusun komplikasyonları (IDF, 2017)

Diyabetli insanlar sağlık uzmanları tarafından düzenli olarak taranmalıdır ve olası komplikasyonlar için yakından izlenmelidir. Diyabetli kişilerin çoğunluğu diyabet komplikasyonlarının farkında değildir (IDF, 2017).

1.2.4.1. Diyabetin Akut Komplikasyonları

1.2.4.1.1. Diyabetik Ketoasidoz

Diyabetik ketoasidoz (DKA), sıklıkla Tip 1 diyabetli olgularda görülmekle birlikte, Tip 2 diyabetli hastalar da katabolik stres yaratan akut hastalık durumlarında risk altındadır (TEMD, 2018).

Diyabetik ketoasidoz (DKA), diyabetik komaya (uzun süre geçen) veya hatta ölüme yol açabilecek ciddi bir durumdur. Hücreleriniz enerji için ihtiyaç duydukları glikozu almadığında, vücudumuz enerji için yağ yakmaya başlar, bu da ketonlar üretir. Ketonlar, enerji için kullanmak üzere yağları parçaladığında vücudun oluşturduğu kimyasallardır. Vücut bunu, vücudun normal enerji kaynağı olan glikozu kullanmak için yeterli insülin olmadığında yapar. Kanda ketonlar oluştuğunda, onu daha asidik hale getirir. Diyabetinizin kontrolden çıktığını veya hastalandığınızı gösteren bir uyarı işaretidir (ADA, 2014).

Diyabetik ketoasidoz, hiperglisemi, metabolik asidoz ve ketonemi/ketonüri ile karakterizedir. DKA genel olarak asidozun derecesine göre hafif ($\text{pH} < 7,30$, bikarbonat konsantrasyonu $< 15 \text{ mmol/l}$), orta ($\text{pH} < 7,2$, bikarbonat < 10) ve şiddetli ($\text{pH} < 7,1$, bikarbonat < 5) olarak derecelendirilebilir. Diyabetik ketoasidoz, insülin yetersizliği ve artmış insülin direncinin bu çoğunlukla insülin karşıtı hormonlarda (glukagon, katekolaminler, kortizol ve büyüme hormonu) artışa bağlıdır ve ortak etkisiyle meydana gelen “bihormonal” bir metabolik tablodur. İnsülin yetersizliği Tip-1 diyabetin tanısından önce hastalığın doğal seyri içinde veya insülin dozlarının atlanmasına, enfeksiyonlar ve puberte gibi insülin ihtiyacı arttığı halde insülin dozlarının aynı kaldığı veya yetersiz gözlem nedeniyle hep aynı ve yetersiz insülin dozlarının kullanıldığı durumlarda meydana gelir. İnsülin direncindeki artış ise fiziksel veya psikolojik streslere, enfeksiyonlara, sitokin düzeylerindeki artışa, asidoz, hipertonsite, elektrolit dengesizliği gibi sorunlara ve kronik hipergliseminin kendisine bağlı olabilir (Hatun ve ark., 2006).

İnsülin yetersizliği ve artmış insülin direnci nedeniyle glukoz yapımını artıran hormonlar belli bir oranda artar ve ketoasit üretimi olur. Artmış glukoneogeneze bağlı olarak serum glukozu, dolayısıyla serum osmolaritesi artar ve sonuçta osmotik diürece bağlı dehidratasyon gelişir. Ketoasit artışına ve renal hidrojen iyonu atılımındaki azalmaya bağlı olarak bir süre sonra dehidrastayona asidoz da eklenir. DKA bulgularının kriz halinde ortaya çıkmasından önce genellikle kusma görülür; kusma poliüri ile kaybedilen büyük miktardaki sıvı kaybı ile dehidratasyonu ve dolayısıyla asidozu ağırlaştırır. Merkezi Sinir Sistemi (MSS) 'de değişiklikler olur ve bu kendini değişik derecelerdeki bilinç bozuklukları ile gösterir (Hatun ve ark., 2006).

1.2.4.1.2. Hiperglisemik Hiperozmolar Durum

Hiperglisemik hiperozmolar durum (HHD) ile Diyabetik Ketoasidoz (DKA) oluşum mekanizması benzerdir ancak HHD'de dehidratasyon ön plandadır ve az da olsa var olan insülin keton oluşumunu engeller. HHD ileri derecede hiperglisemi (genelde >600 mg/dL), hiperozmolarite (>320 mOsm/kg), bilinç bulanıklığı veya kaybı ile karakterize, mortalitesi %10-50 arasında değişen akut metabolik bir sendromdur. Vakaların çoğu ileri yaşta diyabetik oldukları önceden bilinen hastalar olmakla birlikte, diyabetin ilk belirtisi olarak da HHD görülebilir (TDP, 2015).

Orta yaşlı ve yaşlı hastalarda ortaya çıkar. Çoğunda hafif Tip-2 DM vardır veya hiç diyabet öyküsü olmayabilir. Bu sendromda ketozun olmaması, insülin düzeylerinin lipoliz ve ketogenezi önleyecek kadar yüksek olması ancak hiperglisemi önleyemeyecek kadar düşük olması ile açıklanmaktadır. Bu hastaların çoğunda eşlik eden azalmış renal fonksiyonlar, çok yüksek düzeylerdeki hiperglisemi açıklayabilir (Aral, 2019).

Hiperosmolar ve hiperglisemik durumun nedenleri; Tip 2 Diyabette özellikle yaşlı bireylerde akut insülin ihtiyacının arttığı durumlar, akut miyokart enfarktüsü,

serebrovasküler olaylar, steroid ve bazı ilaçların kullanımı, kronik hastalıklar ve enfeksiyonlar sıralanabilir. Poliüri, polidipsi, taşikardi, hipotansiyon, konfüzyon, koma, fokal, jeneralize motor atak, hemiparezi gibi nörolojik semptomlarla kendini belli eder (TDV, 2017).

DKA ve HHD tedavi prensipleri benzerdir ve başlıca intravenöz sıvı replasmanı, insülin uygulaması ve elektrolit replasmanından oluşur. Sıvı replasmanı %0,9'luk izotonik NaCl solüsyonu ile yapılır ve volüm açığının derecesine, hastanın kardiyak-renal fonksiyonlarının durumuna göre ayarlanır. Plazma glukoza 250 mg/dl'nin (HHD<300 mg/dl) altına indiğinde tedaviye 50-100 ml/saat %5 dekstroz solüsyonu eklenir. İnsülin tedavisi genellikle 0,1 IU/kg intravenöz bolus insülin yapılmasını takiben 0,1 IU/kg/saat hızında (veya 5-7 IU/saat) infüzyon şeklinde yapılır (Araz, 2016).

1.2.4.1.3. Laktik Asidoz

Genellikle altta yatan ciddi hastalığı olan diyabet hastalarında görülen ve dokulara oksijen dağılımı ve kullanımının yetersizliğinden kaynaklanan ağır metabolik asidoz biçimidir. Metformin kullanan yaşlı diyabetik hastalarda özellikle karaciğer ve böbrek yetersizliği veya ağır hipoksi durumlarında nadir görülebilen bir akut komplikasyondur (TDP, 2015).

Birçok hastalıkta laktat birikimine bağlı olarak laktik asidoz ortaya çıkar. Yüksek anyon açığı olan asidozun en sık sebebidir. Laktik asidoz glikolizin artması ve laktik asit metabolizmasının azalması sonucunda meydana gelir.

Laktat ve hidrojen iyonları anaerobik glikolizisin ürünleridir.



Kan laktat düzeyi >5 mEq/L ve $\text{pH}<7,35$ ise laktik asidoz vardır. Kussmaul solunumu, değişik derecelerde şuur bulanıklığı veya kaybı, kusma, nonspesifik karın ağrısı vardır. Tedavi sebebe yönelik olmalıdır. Bunun yanında solunum ve dolaşım desteği sağlanmalıdır (Kavaklı ve ark., 1998).

1.2.4.1.4. Hipoglisemi

Diyabette sık karşılaşılan bir akut komplikasyon olan hipoglisemi, kan glukoz seviyesinin aniden normalin altına düşmesi olarak tanımlanır. Hipoglisemi en yaygın nedeni diyabet tedavisinde eksojen insülin veya sülfonilüre kullanımıdır. Ancak hipoglisemi, sepsis, karaciğer hastalığı, böbrek hastalığı ve kanser gibi ciddi hastalıkların ilk bulgusu olabilir (Çolak, 2016).

Hipoglisemi soğuk terleme, titreme, bulantı, çarpıntı, acıkma hissi, baş ağrısı, konsantrasyon güçlüğü, halsizlik, konuşma bozukluğu ve konfüzyon gibi klinik belirtilere neden olur (TDP, 2015).

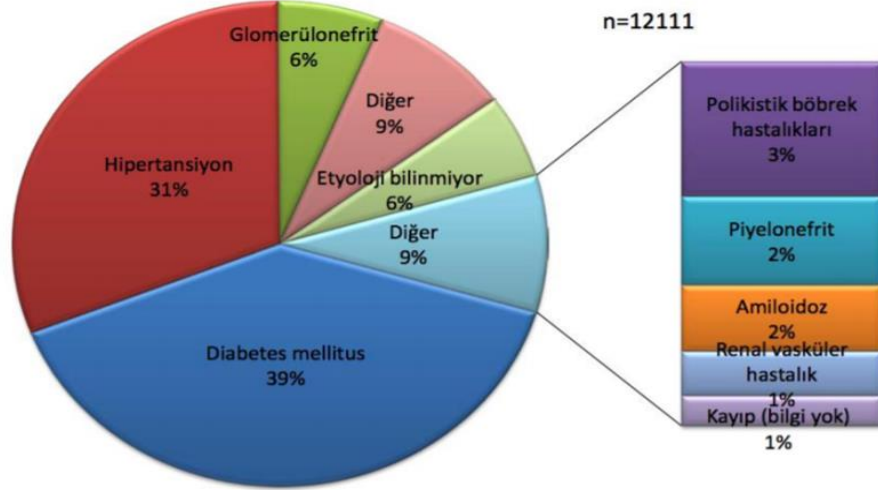
İnsülin dozunun fazla yapılması, aşırı egzersiz, alkol alımı, yetersiz karbonhidrat alımı, yüksek doz antidiyabetik ilaç alımı gibi nedenlerden dolayı hipoglisemi gözlenebilir. Eğer kan glikoz düzeyi 70 mg/dl'nin altında ise 15 g karbonhidrat (basit şeker) alınır, hareket etmeden ve başka bir besin yemeden 15 dakika beklenir ve 15 . dakikada tekrar kan şekeri ölçülür. Hipoglisemi tedavi ettikten 15 dakika sonra kan şekeri 80 mg/dl'nin altında ise tekrar 15 g karbonhidrat (nişastalı besin) tüketilir. Hipoglisemi tedavi ettikten 15 dakika sonra kan şekeri 80 mg/dl'nin üstünde ise bir sonraki öğün zamanı düşünülmelidir. Eğer bir sonraki öğüne 1 saat veya daha fazla bir süre var ise tekrar 15 g karbonhidrat (nişastalı besin) tüketilir (TDV, 2013).

1.2.4.2 Diyabetin Kronik Komplikasyonları

1.2.4.2.1. Diyabetin Mikrovasküler Komplikasyonları

1.2.4.2.1.1.Diyabetik Nefropati

DM'nin komplikasyonları; mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlar olarak ikiye ayrılır. Mikrovasküler komplikasyonları; nefropati, retinopati ve nöropatidir. Makrovasküler komplikasyonları ise kardiyovasküler, serebrovasküler ve periferik damar hastalıklarıdır. Diyabetik Nefropati (DN), artan sayıda hastanın son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) geliştirmesinden dolayı önemli bir sağlık sorunudur. ABD'de yeni gelişen SDBY'nin %40'ını DN oluşturmaktadır.



Şekil 1.5. Türkiye’de Hemodiyaliz Hastalarının Etiyolojisi (Türk Nefroloji Derneği Böbrek Kayıt Sistemi, 2011)

Diyabetik Nefropatinin (DN) en erken belirtisi albüminüri varlığıdır. Diğer böbrek hastalıkları olmadan, diyabetli bir hastada sürekli idrar albumin çubuğunun pozitif olması veya günde 300 mg’den fazla albumin ekskresyonu ile karakterize klinik sendrom diyabetik nefropati olarak tanımlanmaktadır. Tip 2 DM’de hipergliseminin yanında hipertansiyon, hiperkolesterolemi, plazminojen aktivatör inhibitörü (PAI)’nın artması nefropatinin gelişmesinde önemlidir (Kurt ve ark., 2004).

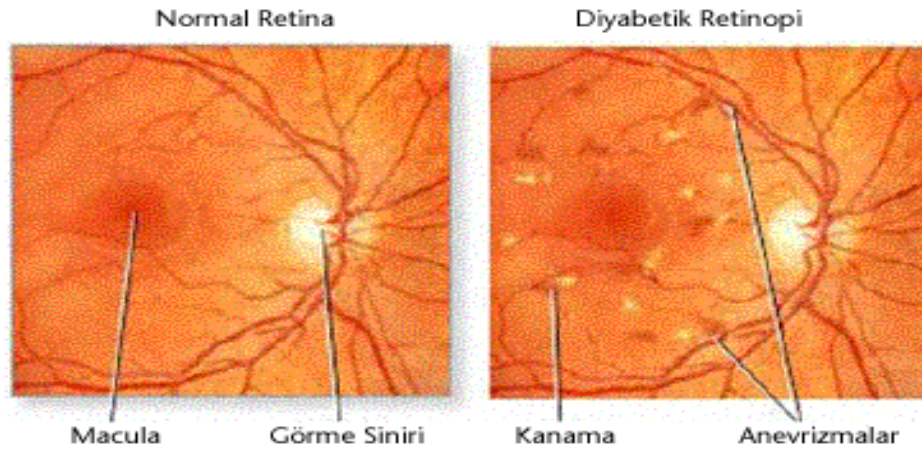
Diyabetin erken dönemlerinde morfolojik değişiklikler meydana gelmeden önce böbrek plazma akımında artış, intraglomerüler hidrostatik basınç artışı ve glomerüler basınç hızında artış şeklinde değişiklikler meydana gelir. Bu değişiklikler glukoz artışının sonucunda bir dizi metabolik ve hormonal faktörlerin etkileşimi ile birçok faktöre bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Glomerül bazal membranında ve mezengial matrikste sülfürleşmiş proteoglikanların ve anyonik bölgelerin kaybının bu bölgelere kondroitin sülfat ve dermatan sülfat gibi proteoglikanların daha fazla birikmesine yol açtığı gösterilmiştir. Bu durum renal elektrik yük seçiciliğinin azalmasına ve bazal membran kalınlaşmasına yol açmaktadır. Sonuçta hiperglisemi, birbirleri ile ilişkili birçok biyokimyasal değişiklikleri başlatarak böbrek hemodinamiğinde ve glomerül permeabilitesinde değişikliklere, matriks proteinlerinin ve hyaluronanın artışına yol açmaktadır (Atasoy ve ark., 2014).

Tarama testi olarak geniş toplum taramalarında sabah ilk idrar örneğinde albümin/kreatin oranının (AKO) ölçümü tercih edilir. Ağır egzersiz, fazla proteinli gıda alımı, üriner enfeksiyon, hamilelik, diyabetik koma, kontrolsüz hipertansiyon ve kalp yetmezliği gibi durumlarda üriner albümin atılımında artış olur. Daha belirgin olan ve albümin dışındaki serum proteinlerinde idrara çıktığı proteinüri (klinik nefropati) başlar ve tedavi uygulanmazsa nefropati ilerler ve ortalama 7 yıl içerisinde terminal dönem böbrek yetmezliğiyle sonuçlanır (Atasoy ve ark., 2014).

DN, hem Diabetes Mellitus Tip 1 hem de Tip 2'nin bir komplikasyonu olabilir. DN'nin erken teşhisi ve ilerlemesinin önlenmesi için belirli yöntemler vardır. Mevcut tedaviler glisemi ve kan basıncı kontrolüne dayanır. İleri evredeki bazı hastalar böbrek yetmezliği hastaları gibi diyalizden geçerler. Fazla protein ve tuz alımı, sigara kullanımı gibi faktörler hastalığın seyrini değiştirir. Erken teşhis ve sağlıklı beslenme DN'nin önlenmesinde anahtar rolü vardır (Nadolnik ve ark., 2018).

1.2.4.2.1.2. Diyabetik Retinopati

Tüm dünyada 20–65 arası yaş grubunda görülen önlenabilir ya da tedavi edilebilir en önemli körlük nedeni olan diyabetik retinopati (DR), diabetes mellitusun en önemli komplikasyonlarından biridir. Genel popülasyona göre körlük riski 25 kat daha fazladır. DR gelişiminde hastalığın süresi öncelikli kriterdir. İnsüline bağımlı olmayan diyabetli hastalarda DR insidansı 11–12 yılda %23, 16 ve üstü yılda %60 ve 16 ve üzeri yılda proliferatif diyabetik retinopati (PDR) insidansı %3 olduğu belirtilmiştir. Körlük nedeni genellikle çözilemeyen vitreus içi kanaması, traksiyonel retina dekolmanı veya diyabetik makula ödemi (İnan, 2014).



Şekil 1.6. Diyabetik Retinopati (İnan, 2014)

Diabetik retinopati, retina kapiller damarları, venülleri ve arteriollerinin tutulduğu özel bir anjiopatidir. Oluşturduğu retinopati tabloları nonspesifik olup tüm retinopatilerin bir özeti gibidir. Progressif olan bu retinopati tablosu her zaman aynı hızla ilerlemez, zaman zaman remisyonlar gösterir. Retinanın bir bölgesinde düzelmeler olurken başka bölgelerde bozulmalar ortaya çıkabilir (İnan, 2014).

Diyabetik retinopati, erken evrelerde büyük ölçüde asemptomatiktir ve diyabetli hastalar için zamanında teşhis ve sonrasında tedaviyi sağlamak için düzenli göz taramasına ihtiyaç vardır. İlk tanı sırasında DR, elektroretinografi (ERG), retinal kan akışı ve retinal kan damarındaki fonksiyonel değişikliklerle gözlenebilir. Oftalmoskopi ile fundus muayenesi sayesinde erken klinik komplikasyonlar önlenir.

Bu nedenle, diyabetik retinopati şu anda vasküler varlığa göre NPDR (Non-Proliferatif Diabetik Retinopati) ve PDR (Proliferatif Diabetik Retinopati) olmak üzere iki gruba ayrılabilir. NPDR, DR'nin erken aşamasıdır. Diyabetli birçok kişide görülen bu durumda kan damarları sızarak retinada makula ödemi oluşturur. PDR ise daha ileri aşama DR'dir. Retina üzerinde yeni kan damarları gelişir (Lecher ve ark., 2017).

Diyabetik retinopati, genellikle nefropati komplikasyonuna eşlik eder ve çeşitli derecelerde görme kaybına neden olduğu için yaşam kalitesini düşürür. Diyabetik retinopatideki temel patoloji mikrooklüzyon ve damar geçirgenliğindeki bozulmadır. DM'li hastalarda yapılan çalışmalarda, DR'nin başlama zamanı ve derecesi açısından çok fazla çeşitlilik olduğu belirtilmiştir. DM süresi ve glisemik kontrol gibi sadece bilinen risk faktörleriyle açıklanamayan DR'de genetik faktörlerin de etkili olabileceği düşünülmektedir (Sırmalı ve ark., 2008).

1.2.4.2.1.3.Diyabetik Nöropati

Diyabetik nöropati, diğer periferik nöropati nedenlerinden farklı olarak, diabetes mellitus seyrinde klinik veya subklinik düzeyde ortaya çıkabilen, periferik sinir tutulumudur. Diyabet tanısı konduğunda hastaların %10'unda nöropati bulunurken, 20 yılın sonunda bu oran %50'yi bulmaktadır. Tip 2 diyabet tanısı konduktan sonra 9 yıl içinde nöropati başladığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Terzi ve ark., 2004).

Diyabetin en sık görülen uzun dönemli komplikasyonlarından biri olan nöropati, önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. En sık görülen belirtiler ayaklarda uyuşma, yanma, karıncalanma, ağrı ve güçsüzlüktür. Bu belirtiler, nöropatinin en sık görülen şekli olan distal simetrik polinöropatiye bağlı olarak gelişmektedir. Distal simetrik polinöropati basit klinik testlerle saptanabilir ancak atipik vakalarda elektrofizyolojik testlere gerek duyulur. Nöropati, aynı zamanda diyabetik ayak gelişimi için de önemli bir risk faktörüdür. Nöropati taramasına Tip 1 diyabetli hastalarda tanıyı izleyen beşinci yıldan itibaren, Tip 2 diyabetli hastalarda ise tanı anında başlanmalı ve daha sonra yılda bir tekrarlanmalıdır (TDP,2015).

Vücuttaki tüm sistemlerin otonom nöropatiden etkilenme riski varlığı ile kliniğe en fazla yansıyan sorunlar kardiyovasküler, gastrointestinal ve genitoüriner sistem tutulumlarıdır. Kardiyovasküler otonom nöropati kliniğe egzersiz intoleransı, ortostatik hipotansiyon, istirahat taşikardisi olarak yansır. Ayrıca bu hastalarda sessiz miyokard infarktüsü ve aritmiye bağlı mortalite de artmıştır. Diğer sistemlerde en sık karşılaşılan sorunlar ise mide boşalmasında gecikme, konstipasyon, diyare, gastroparezi, kolesistit, hipoglisemik otonom yetersizlik ve erektil fonksiyon bozukluğudur (TDP, 2015).

Diyabetik periferik nöröpati (DPN) gelişmesinde birçok metabolik yolak rol oynar. Bu yollarda hücrenin redoks kapasitesi değişir, ROS (reaktif oksijen türleri) üretimi artar. Artmış oksidatif stres nöral fonksiyonları bozar, periferik sinir sisteminde nöronların, schwann ve glia hücrelerinin apoptozisine neden olur. Bu yollar üzerinden etki gösteren birçok terapötik ajan DPN tedavisinde kullanılmaktadır. DPN'ye neden olan mekanizmalar anlaşılmasına rağmen bu hastalığın etkin tedavi yönteminin tam olarak bulunmaması nedeniyle araştırmalar devam etmektedir. DPN'nin teşhis edilmesiyle hastalığın ilerlemesini önlemek amacıyla hastanın kan glukoz seviyesi kontrol altında tutulur (Bayram ve Elçioğlu, 2016).

DPN, subkutan vasküler ağın arteriyovenöz şantlarıyla sonuçlanan vazomotor pareze yol açar. Ayrıca, otonom nöropatiye bağlı olarak ter salgısı, sudomotor parezi ile işlevsiz hale gelir. Daha derin cilt katmanlarının kan perfüzyonu artarak cildin aşırı ısınmasına neden olur. Buna ek olarak, terleme, nemlendirme eksikliği ve buharlaşma ile soğumaya neden olur. Sonuçta, ayak derisi kurur ve koruyucu bir deri fonksiyonunun azalması ve dolayısıyla yaralanma riski artar. Medial arteriyel skleroz, iki kat daha yüksek ülserasyon riski ve üç kat daha yüksek amputasyon riski ile ilişkilidir. Nöropatiye bağlı olarak, enzimatik olmayan glikosilasyon ve hücre dışı matrisin çapraz bağ oluşumu viskoelastik ayak işlevini bozar ve bu da hastaların yaklaşık %40'ında bilek ve ayak ekleminin sertliğine neden olur (Volmer ve ark., 2016).

Diabetic Neuropathy

Diabetes Affects the Nerves



Şekil 1.7. Diyabetik Nöropati (Volmer ve ark., 2016)

1.2.4.2.2. Diyabetin Makrovasküler Komplikasyonları

Diyabetin makrovasküler komplikasyonları; koroner kalp hastalığı, periferik damar hastalığı ve serebrovasküler hastalıklardır. Diabetes Mellitus kardiovasküler hastalıkların gelişiminde en önemli risk faktörleri arasındadır. 1979 yılında yayınlanan Framingham çalışması, 20 yıllık takipler sonrasında aterosklerotik kardiovasküler hastalık gelişme oranının diyabetik hastalarda, diyabetik olmayanlara göre 2–3 kat arttığını göstermektedir. Diyabetik hastalarda kardiovasküler olaylardaki artışın nedeni olan fizyopatolojik bağlantılar son derece karmaşık bir yapıya sahiptir ve tam olarak anlaşılamamıştır. Bununla birlikte diyabetik hastalarda oluşan endotel disfonksiyonu ve hızlanmış aterosklerozun kardivasküler komplikasyonların oluşumunda rol oynadığı düşünülmektedir. Diyabetik hastalarda makrovasküler komplikasyon gelişiminde hızlanmış ateroskleroz en önemli etkidir (Balcı ve Keskin, 2011).

Genel olarak diyabetik hastalarda trigliserit değerleri yükselir, HDL düşer ve aterojenik LDL (Low Density Lipoprotein/ Düşük Yoğunluklu Lipoprotein) kolesterol

partikülleri artmaktadır. Küçük LDL partikülleri daha kolay ve daha güçlü olarak arteriyel duvarlara penetre olabilmekte ve daha fazla oksidatif hasar kapasitesine sahip olmaktadır. Bununla birlikte okside LDL immun sistem tarafından yabancı cisim olarak algılanır ve vasküler yapılara lokosit göçünü hızlandırmaktadır. Bunlara bağlı olarak da endotel ve düz kas hücrelerinde proliferasyon uyarılmaktadır. Ayrıca hiperglisemi arter duvarında nitrik oksit salınmasını inhibe eder ve buna bağlı olarak da vasküler yapılarda trombosit aktivasyonu, trombogenez ve inflamasyon oluşmaktadır. Tüm bu etmenlerin sonucunda diyabetik hastaların %80'inden fazlasında tromboza bağlı ölümler gerçekleşmektedir (Balcı ve Keskin, 2011).

DM'de kardiovasküler sistemi etkileyen diğer bir önemli fizyopatolojik mekanizma da bağışıklık sisteminin artmasıdır. Bunun sonucunda yavaş seyirli, kronik bir inflamasyon gelişir. Özellikle obez diyabetiklerde TNF Alfa, IL1, PAI-1 gibi adipokinler artarak inflamasyonu tetikler. Ayrıca artmış inflamatuvar yanıtla bağlı artan lökosit sayısı da oksidatif stresin artışını sağlar. Bununla birlikte artmış inflamatuvar yanıt insülin rezistansına ve endotel disfonksiyonuna neden olarak, kardiovasküler komplikasyon gelişimine katkı sağlar (Balcı ve Keskin, 2011).

Özetle hem diyabet hem de prediyabette hiperglisemi ve insülin direnci karmaşık moleküler yollarla diyabetin makrovasküler komplikasyonlarının gelişmesine neden olan hastalardır. Sadece glisemik kontrol, mortaliteyi ve majör komplikasyonları azaltmayabilir ancak son yıllarda uygulanan SGLT2 (Sodyum-Glukoz Transporter) inhibitörleri ve GLP1 (Glukagon benzeri peptit) agonistleri gibi yeni antidiyabetik ajanlarla kardiyovasküler risk azaltılmasında umut vericidir (Huang ve ark., 2017).

1.3. Sitokinler

1.3.1. Sitokinlerin Tanımı

Sitokinler, immun sisteme katılan hücrelerin etkinliklerinin artırılması için; uyarılmış lenfositler, monositler ve makrofajlar ile diğer bazı somatik hücreler tarafından sentezlenen 20–30 kD ağırlığında peptid veya glikoprotein yapısında maddelerdir. Molekül ağırlıkları oldukça düşüktür. Değişik hücre tipleri tarafından üretilen ve salgılanan polipeptidler olan sitokinler, enflamasyon, hücre büyümesi, iyileşmesi ve yaralanmaya karşı sistemik yanıtı da içine alan bağışıklık ve enflamatuar olayları düzenlerler. Sitokinler, lenfokinler, interlökinler ve kemokinler gibi fonksiyonlarına, salgılamadaki hücrelere veya işlev hedeflerindeki farklılıklara göre isimlendirilmişlerdir (Akdoğan ve Yöntem, 2018).

Sitokinler (Yunanca *cyto-*, hücre ve *-kinos*, hareket) pek çok hücre tarafından salgılanan ve immün yanıtı değiştirebilme yeteneğine sahip küçük hücre sinyal protein molekülleridir. Sitokinler, hematopoez, embriyogenez gibi pek çok biyolojik mekanizmada da etkin rol almaktadır. Etkinlik anlamında bu moleküllerin otokrin, parakrin ve endokrin etkileri vardır. Etkilerini kendilerine ait reseptörlere bağlanarak gösterirler (Camcıoğlu, 2013).

Sitokinler hücrelerel düzenleyici proteinlerdir. Farklı uyarılara karşı cevap olarak özel hücreler tarafından salgılanır ve hedeflenen hücrelerin davranışını etkilerler. Belli bir sitokin çeşitli hücreler tarafından farklı dokularda salgılanır fakat aynı biyolojik etkiyi gösterir. Sitokinlerin etkileri sistemik ya da lokaldir. Bazıları klasik hormon gibi davranırlar. Belli hücreler tarafından kana veya çeşitli hücrelerel sıvılara salgılanıp vücudun diğer bölgelerindeki hücrelerel reseptörlerine bağlanırlar. Diğer sitokinler daha lokalize olmuş etkiler gösterirler (Güneş, 1999).

Sitokinler;

- Çoğunlukla mononükleer fagositik hücreler (MFH)'den ve T lenfositler olmak üzere çok çeşitli hücreler tarafından üretilir ve üretildikleri hücrelere göre isim alırlar. MFH tarafından üretilenler 'monokrin', T lenfositler tarafından üretilenler 'lenfokin' ismini alır ancak genel olarak sitokin şeklinde adlandırılır. Bu hücreler dışında alveoler epitel hücreleri, mast hücreleri, doğal öldürücü hücreler (NK hücreleri), B-hücreleri, eozinofiller, bazofiller, fibroblastlar gibi diğer hücreler tarafından da üretilerler.
- Bağışıklık ve inflamatuvar yanıtların oluşmasını ve düzenlenmesini sağlarlar. T hücrelerinden türeyen sitokinler yabancı antijenlerin özel olarak tanınmasının sonucu meydana gelirler.
- Sitokin üretimi sınırlı ve bölgeseldir. Sitokin salınımı geçicidir ve bir kez sentezlendiğinde, sitokinler hızla salınırlar.
- Sitokinler diğer sitokinlerin sentezini etkiler. Sitokinler genellikle diğer sitokinlerin fonksiyonlarını da etkilerler. İki sitokin birbirini antagonize edebilir ya da additif etki gösterebilir. Bazı durumlarda sinerjik etki gösterebilirler.
- Sitokinler hedef hücrenin yüzeyindeki özel membran reseptörlerine bağlanarak etkilerini başlatırlar. Bu reseptörler transmembran proteinler olup, ekstrasellüler domainleri vardır ve özel olarak sitokinleri ve büyüme faktörlerini tanırlar ve bağlarlar.
- Bu hücre sitokini sağlayan hücrenin kendisi olabilir (**otokrin etki**) veya komşu hücre olabilir (**parakrin etki**) veya diğer gerçek hormonlarda olduğu gibi dolaşıma salınan sitokinler tarafından uyarılan uzaktaki bir hücre olabilir (**endokrin etki**) (Güner ve ark., 1997).
- Sitokinlerin de yer aldığı biyolojik reaksiyonlar: enflamasyon, metabolizma, hücre büyümesi ve farklılaşması, morfojenesis, fibrinojenesis, homeostaz şeklinde sıralanabilir (Güvenç, 2014).

1.3.2. Sitokinlerin Sınıflandırılması

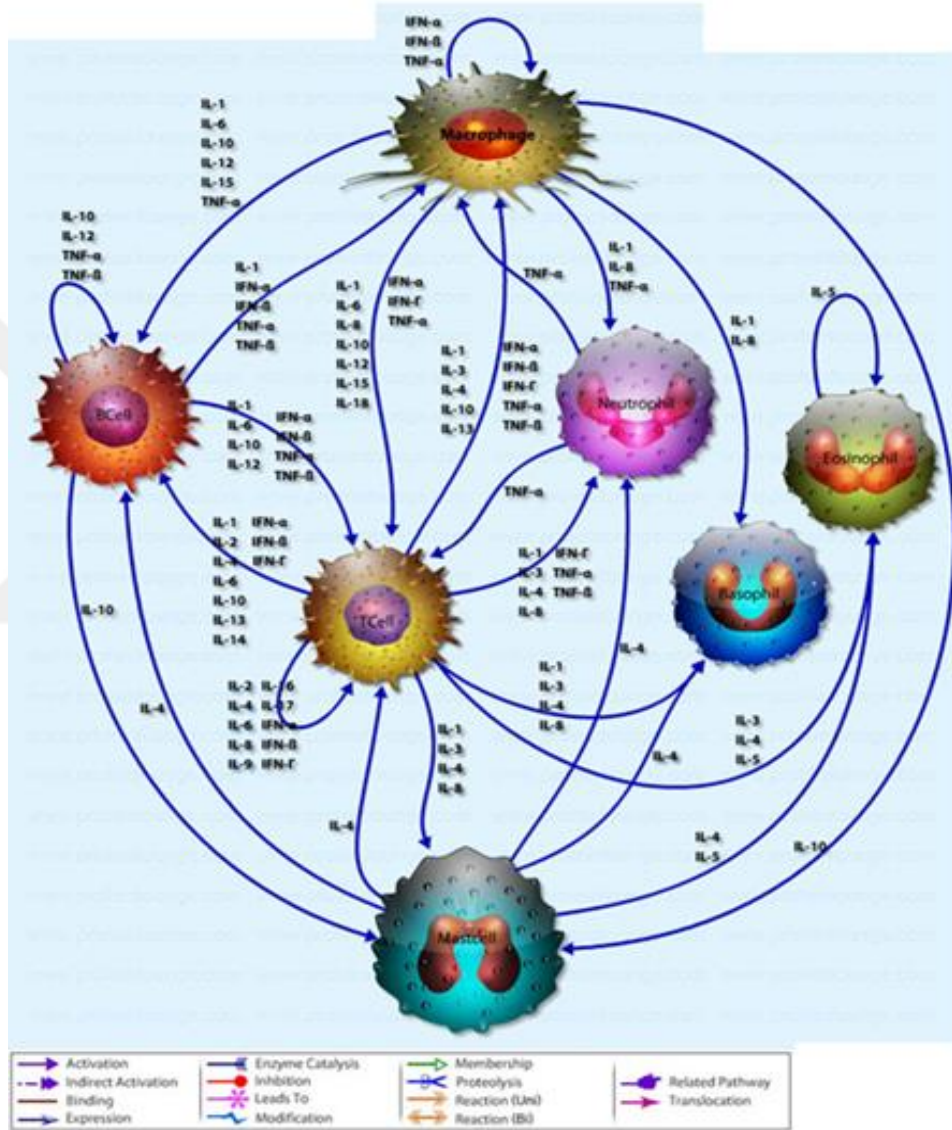
Temel etkilerine göre sitokinler 4 gruba ayrılırlar:

- Temel Proinflamatuvar Sitokinler: İnterferonlar, Tümör nekrozis faktör (TNF), IL-1, 6' dan oluşur.
- Proinflamatuvar sitokinler: IFN- α , İnterferon- β (IFN- β), IFN- γ , TNF- α ve β ,
- Temel Antiinflamatuvar Sitokinler: TGF- β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IL-13
- Kemokinler (Akdoğan ve Yöntem, 2018).

Diğer bir sınıflandırma ise şu şekildedir; fonksiyonlarına göre 3 gruba ayrılırlar:

- Doğal=primer (innate) immüniteye aracılık eden ve düzenleyenler;
 - a) Tip 1 İnterferonlar (IFN)
 - b) Tümör nekroz faktör
 - c) İnterlökin 1
 - d) İnterlökin 12
 - e) Kemokinler
- Kazanılmış= sekonder (adaptive) immüniteye aracılık eden ve düzenleyenler;
 - a) İnterlökin-2, 4, 5, 13, 16 ve 17
 - b) İnterferon- γ
 - c) TGF- β
 - d) Lenfotoksin
- Hematopoezi regüle edenler:
 - a) Stem cell factor (c-Kit ligand)
 - b) İnterlökin -3
 - c) Kolon-stimüle edici sitokinler
 - d) Granülosit-monosit CSF (GM-CSF)
 - e) Monosit CSF (M-CSF)
 - f) Granülosit CSF (G-CSF) (Çakır, 2013).

Sitokinler, immün sistemin farklı savunma stratejilerinde çok önemli bir rol oynamaktadır. Bunu sadece tek başlarına değil kendi aralarında gelişmiş ve çok yönlü kompleks bir iletişim ağı kurup birbirleriyle iletişim kurarak sağırlarlar. Sitokinlerin birbirleriyle olan bu kompleks etkileşimleri sitokin ağı (cytokine network) adı ile tanımlanmaktadır (şekil 1.8) (Güvenç, 2014).



şekil 1.8. Sitokin Ağı; Lenfositler, makrofajlar ve bağışıklık sisteminin diğer bileşenleri arasında ilişki (Cytokine Network, 2020).

1.3.3. Sitokinler ile Diabetes Mellitus İlişkisi

Sitokinlerin enflamatuar reaksiyonlarda önemli bir yeri vardır. Enflamatuar sitokinlerin yanında bu enflamasyonu baskılayacak ve nötralize edecek pek çok da antienflamatuar sitokin mevcuttur. Bu zıt etkili iki grup sitokin arasında mükemmel bir denge mevcuttur. Ancak bu dengenin herhangi bir nedenle bozulması sonucu (enflamatuar sitokinlerin miktarının artması veya antienflamatuar sitokinlerin etkilerinin azalması) problemler başlamakta ve hastalıklara yol açacak zincirleme reaksiyonlar ortaya çıkmaktadır (Nishimoto ve ark., 1999).

Otoimmün hastalıklar, organa özgü ya da organa özgü olmayan otoimmün hastalıklar olmak üzere ikiye ayrılır. Hashimoto tiroidi, pernisiyöz anemi, addison hastalığı, insüline bağımlı diabetes mellitus, miyastenia gravis, otoimmün hemolitik anemi, idiopatik lökopeni ve ülseratif kolit gibi otoimmün hastalıklar organa özgü iken, Sistemik lupus eritematozus (SLE), romatoid artrit, multiple skleroz (MS), Sjörger sendromu ve dermatomiyozit-polimiyozit gibi otoimmün hastalıklar ise organa özgü olmayıp sistemik otoimmün hastalıklardır. Otoimmün hastalıkların oluşması ve seyrinde; genetik, hormonal, immünolojik ve çevresel faktörlerin etkilerinin olduğu bilinir (Güvenç, 2014).

T hücresi anormalliklerin, Tip 1 diyabette otoimmün hastalığın ana nedeni olduğunu ve pankreas adacıklarının tahrip olmasına yol açtığı düşünülmektedir. Tip 2 Diyabette, monositlerin enflamasyonu ve aktivasyonunun, insülin direncinin arttırılması için önemli olduğu ve adacık hücreleri tarafından insülin salgılama fonksiyonunun kaybına katkıda bulunabileceği varsayılmaktadır. İnsüline dirençli durumlarda, monositlerin aktivasyonu ve C-reaktif protein, plazminojen aktivatör inhibitörü-1 ve diğer sitokinler gibi enflamasyon belirteçlerinin artması bildirilmiştir. Doğuştan gelen bağışıklıktaki anormallikler de diyabetik komplikasyonların gelişimine katkıda bulunabilir (King, 2008).

Diyabet hastalarında nötrofillerin ve monositlerin fonksiyonundaki bozukluklar, bakteriyel enfeksiyonun gelişmesine ve artmış morbidite ve mortalite oranına katkıda bulunan önemli bir faktördür. Diyabet hastaların nötrofilleri, enflamatuvar bölgelere göç, fagositoz, litik proteazların salınımı, reaktif oksijen türlerinin üretimi ve apoptoz gibi hemen hemen tüm işlevlerde eksiklikler gösterir. Nötrofillerin ve monositlerin önemli bir yönü, inflamatuvar yanıtı modüle eden pro- ve anti-inflamatuvar sitokinleri ve büyüme faktörlerini sentezleme yetenekleridir. Bu bağlamda, interlökin IL-8, tümör nekroz faktörü TNF- α ve interlökin IL-1 β , inflamatuvar süreçlerde merkezi bir role sahip pro-inflamatuvar sitokinlerdir. IL-8, kan hücrelerine karşı anjiyojenik, kemotaktik ve uyarıcı aktiviteler gösterir ve çok sayıda nötrofil ve diğer bağışıklık hücrelerinin enflamasyonlu bölgeye toplanmasını sağlamak ve nörovaskülerizasyonun görünümünü desteklemekte görevlidir. TNF- α ve IL-1, lökositler ve endotelyum üzerinde akut enflamasyonda etki eder (Hatanaka ve ark., 2006).

Tip-2 DM’de kronik inflamasyonun mekanizması tam olarak açıklanamamıştır ancak pro-inflamatuvar faktörlerin yağ dokusundan sentezlenip salındığı bilinmektedir. Son çalışmalar mikrovasküler diyabet komplikasyonlarının gelişiminde pro-inflamatuvar faktörlerin önemli bir yerinin olduğunu göstermektedir. Deneysel ve klinik çalışmalar diyabetik nefropatinin inflamasyon buguları sergilediğini göstermiştir (Reşitoğlu, 2007).

IL-1, IL-6 ve TNF- α ’nın santral inflamatuvar sitokinler olduğu ve diyabet hastalarında miktarlarının artan komplikasyonlarla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Diyabetik nefropati üzerine sitokinlerin etkisi henüz kesin olarak ortaya konulmamış ancak yapılan bazı deneysel çalışmalarda önemli etkilerinin olduğuna yönelik veriler vardır. Diyabetik nefropatili olgularda üriner TGF-beta (Transforming Growth Factor- β) ve IL-6 düzeyinin diyabetik nefropati gelişimiyle belirgin olarak arttığını ve nefropatinin saptanmasında iyi bir prognostik faktör oldukları düşünülmektedir (Reşitoğlu, 2007).

1.4. Gen Polimorfizmi

Latince poli (çoklu) ve morfizmos (form) kelimelerinden oluşmuştur ve çok şekillilik anlamını taşıyan bir sözcüktür. Genetik polimorfizm ise aynı popülasyonda bir bölgedeki (lokusta) bulunan genin iki veya daha fazla alelinin belli frekansta görülmesidir. Gen polimorfizmleri “single nucleotide polymorphisms”, genomik DNA’nın bir popülasyonun normal bireyleri arasında farklılık gösterdiği tek baz-çifti değişiklikleridir. Gen polimorfizmleri popülasyonda sık görülür, etnik ve coğrafi olarak farklılıklar gösterirler. Birçok durumda, hücre metabolizması için önemli olan yollarda (DNA tamiri, hücre döngüsü kontrolü, sinyal iletimi gibi) rol alan genlerin kritik pozisyonlarında yer alırlar. Bazı durumda genin kodladığı proteinin fonksiyonu veya enzim aktivitesi bu değişikliklerden önemli ölçüde etkilenebilir. Hücre metabolizması için önem taşıyan proteinlerin fonksiyonun bozulması çeşitli hastalıklara yol açmakta veya bazı hastalıklar için riski artırmaktadır (Deligezer ve ark.,2004).

Bir genin bir allelinde ya da iki allelinde birden meydana gelen mutasyonlarla gene bağlı bozukluklar ortaya çıkar. Ancak bir gende mutasyon bulunması ve bu mutasyonun o bireyde fenotipik değişikliğe sebep olması bu mutasyonun kalıtımla aktarılacağı ya da yaygın bir durum oluşturacağını kanıtlamaz. Genomda meydana gelen bir değişikliğin popülasyonda genel bir farklılığa sebep olması bu durumun mutasyon değil bir polimorfizm olması şeklinde tanımlanır. Polimorfizm temel anlamıyla kişiler ve popülasyonlar arası DNA dizisindeki farklılıklar demektir. Eğer DNA dizisindeki bu farklılık popülasyon genelinde %1’den fazla görülüyorsa ancak o zaman polimorfizm olarak adlandırılabilir yani mutasyonlar ile polimorfizmler arasındaki farklardan biri görülme sıklığıdır. Polimorfizmler oldukça yaygın görülürken mutasyonlar nadir olarak görülür. DNA polimorfizm çeşitleri: Tek nükleotid polimorfizmleri (single nucleotide polymorphism, SNP), sınırlayıcı enzim parça uzunluğu polimorfizmi (restriction fragment length polymorphism, RFLP), değişken sayıda tandem tekrarlar (minisatellitler; variable numbers of tandem repeats, VNTR) ve kısa tandem tekrarlardır (mikrosatellitler; short tandem repeats, STR) (Aksoy ve Soydemir, 2017).

1.4.1. Tümör Nekroz Faktör (TNF- α)

Tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α), kaşektin olarak da isimlendirilir. Birçok normal ve tümör hücresinden, viruslar, bakteriler, parazitler, sitokinler ve mitojenler olmak üzere birçok çeşitli stimulus ile üretilir. Solüsyonda, TNF- α trimerik bir moleküldür. Hem transmembran hem de eriyebilir, salgılanan TNF- α formları biyolojik aktiftir. TNF- α , reseptörlerinin multibl sinyal üretim mekanizmalarını aktive etme yeteneği ve çok geniş sayıda genin ekspresyon indüklemeye veya baskılamaya yeteneğinden dolayı ileri derecede pleiotropik (bir genin birden fazla fenotipik özelliği etkilemesi durumu) bir sitokindir (Saçu, 2008).

TNF'nin hücrel kaynağı lipopolisakkarit (LPS) ile aktive olan mono nükleer fagositlerdir. T hücreleri, aktive NK (Naturel Killer) hücreleri ve aktive mast hücreleri de bu proteini salgılar. İnsan TNF'si nonglikolize bir transmembran protein olup, molekül ağırlığı 17 kD'dur. İki çeşit TNF vardır. Bunlar, genellikle aktif makrofajlardan salınan TNF- α ile aktif T hücrelerinden salınan TNF- β (Lenfotoksin)dir. İki tip TNF reseptörü vardır. Bunlar, sitotoksik aktiviteyi ve fibroblast proliferasyonunu arttıran TNFR Tip I (75-80 kDa) ile T hücre proliferasyonuna neden olan TNFR-Tip II (55-60 kDa)'dır. Buna ek olarak TNF reseptörlerinin çözünebilen formları (sTNFR) da mevcuttur (Güner ve ark., 1997).

TNF- α , doku hasarı ya da fiziksel stres sonrası kanda ilk saptanabilen sitokin olup birçok otoimmün hastalıkta inflamasyonun başlamasında ve devam ettirilmesinde önemli özellikleri bulunmaktadır. Sentez ve salınımını başlatan çeşitli uyaran söz konusu olup, en başta lipopolisakkaritlerdir. Proinflamatuvar olaylardaki etkilerini eritrositler hariç tüm hücrelerin yüzeyindeki TNF süperfamili üyesi olan TNF reseptör 1 (TNFRSF1A)'e bağlanması sonrası ortaya çıkarmaktadır (Çayakara, 2018).

Düşük konsantrasyonlarda enfeksiyonlara karşı savunmada organizmayı aktive ederken, yüksek konsantrasyonlarda inflamasyon ve doku hasarı yaptığı belirtilmiştir. Örneğin; septik şokta lipopolisakkarit ve diğer bakteriyel toksinlere karşı yüksek düzeyde çözünebilir TNF- α yanıtı anahtar rol oynamaktadır. TNF- α , akut inflamasyonda endotel hücrelerini adezyon molekülleri ve kemokinleri üretmek için uyarmaktadır. Enfeksiyon bölgesine nötrofil ve makrofajların yapışmasına aracılık ettiği söylenebilmektedir. Siklooksijenaz-2 (COX-2) ve prostaglandin üretiminde artış sağlamak ve ateş oluşumu için hipotalamusa etki etmektedir. IL-1, IL-6 ve granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör (Gm-CSF) uyarımını sağlayıp akut faz yanıtı oluşmasında rol oynamaktadır (Çayakara, 2018).

TNF- α 'nın enerji metabolizmanın düzenlenmesinde de önemli rolleri bulunmaktadır. Lipoprotein lipaz inhibe edilerek kaşeksiye neden olabilir. Bu durum sonucunda yalancı trigliserid yüksekliği gözlenmektedir. TNF- α , otoimmüniteyi baskılayabilmektedir. Bunu; immün hücrelerde apoptozu sağlayarak, T hücre toleransı ve CD-8 T-hücre sitotoksitesi ile sağlamaktadır. Kronik üretimi hücrelerde T-hücre reseptörlerinde desentisizasyona yol açar ve bu da timustaki seleksiyonda önem arz etmektedir. Deneysel çalışmalarda; TNF- α blokajının diyabet, multipl skleroz açısından insidans oranlarını ve hastalık ciddiyetini artırabildiği görülmüştür (Çayakara, 2018).

TNF- α , insülin direncinin gelişmesinde rol oynayan bir adipositokindir (yağ dokusundan salgılanan sitokinler). TNF- α üretiminin düzensizliği, Tip 2 Diabetes Mellitus dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarda görülmüştür. TNF- α , insülin transdüksiyonunu inhibe eder ve glikoz metabolizması üzerinde bir etkiye sahiptir. TNF- α metabolizmasındaki bozukluklar, obezite ve insülin direnci gibi metabolik bozukluklarda rol oynamış olup, bu da TNF- α metabolizmasının bozulmalarının Tip 2 diabetes mellitus başlangıcını ve hastalığın ilerlemesini etkileyebileceğini göstermektedir. Yapılan çalışmalarda, Tip-2 DM'li obez kişilerde serum TNF- α konsantrasyonunun, insülin direncinin derecesine bağlı olduğunu, ancak beden kitle endeksine (BKİ)'ye bağlı olmadığını bulmuştur. Yapılan diğer çalışma gösteriyor ki

TNF- α 'nın özellikle erkeklerde ve yüksek BKİ'li kişilerde insülin direncinin gelişiminde potansiyel olarak önemli bir patofizyolojik rol oynayabilir. Sonuç olarak, mevcut gözlemler, Tip 2 DM'de insülin direncinin etiyolojisinde TNF- α 'nın yer alabileceği hipotezlerini desteklemektedir (Swaroop ve ark., 2012).

Çizelge 1.5. TNF- α 'nın Etkileri

Makrofaj 	- Olgunlaşmada destek - Kemokin salınımında artma - IL-1 yapımında artma	Osteoklast 	- RANKL ekspresyonunda artma - Rezorpsiyonda artış
Monosit 	- Olgunlaşmada destek - IL-1 yapımında artma	Hepatosit 	- Akut faz yanıtında artış
T hücresi 	- Olgunlaşmada destek - Proliferasyon sağlama	Endokrin 	- Adipoz dokuda üretilebilir. Kilo kaybı sonrası üretimi ve reseptörünün sayısı azalır - Preadiposit genlerinde indüklenme - Lipolizde uyarım, serbest yağ asitlerinin salınımında artış - Adiponektin sentezinde baskılanma - Diabetes mellitusda hiperglisemi proinflatuar durum yaratır. Oksidatif stres artar. Sonuçta, TNF-α'da artış olur. Beta hücrelerinde insülin sinyal inhibisyonu gelişir - İnsülin reseptöründe tirozin fosforilasyonu inhibe edilir, Glut 4 mRNA'sı azaltılır ve insülin direnci gelişir - Lipoprotein lipaz inhibe edilir ve katabolik süreç hızlanır
B-hücresi 	- Olgunlaşmada destek - Antikor üretimi	Miyosit 	- Basınç ve volüm artışında kalpten salınabilir - Kalp yetersizliğinde reseptörleri artar - Sol ventrikül dilatasyonuna neden olur - İntraselüler kalsiyum artışını önleyerek kasılma disfonksiyonu yapar - Endotel kaynaklı nitrik oksit sentezi uyararak, nitrik oksit salınımını artırır. Miktarı artınca fizyolojik olan stresten koruma etkisi kaybolup, miyosit ve endotelde disfonksiyon ve apoptoza yol açar
Endotel 	- Kemokin salınımında artma - VEGF salınımında artma - IL-1 yapımında artma - Selektin başta olmak üzere adezyon molekülleri ekspresyonunda artma - Hücre infiltrasyonu ve anjiyogenezde artma - Trombomodulin sentezinde engellenme - Ekstremsel pıhtılaşma yolunda uyarım, plazminojen aktivatörlerinde azalma, neticede, prokoagulan etkide artma	Glia 	- Sinaptik iletişimde modifikasyon sağlama
Fibroblast 	- Gelişime destek ve çoğalmayı sağlama - Tip 1 kollajen geninde baskılanma ve kollajen sentezinde azalma - Proteoglikan sentezini önleme ve kırıldak rezorpsiyonunda artış	Sinoviosit 	- Metalloproteinaz sentezinde artma ve kırıldak hasarı gelişimi

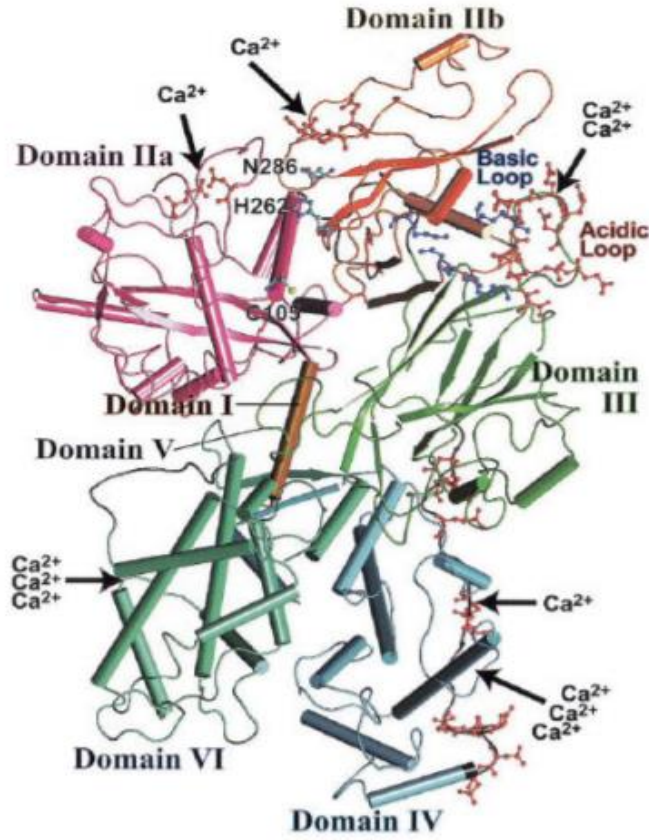
Çalışmalar gösteriyor ki; TNFR-1 sinyalinin inhibisyonu enflamasyonun bastırılmasıyla beyindeki nörodejeneratif değişiklikleri azaltarak Alzheimer hastalığını önler. Bununla birlikte, TNFR2 sinyalinin inhibisyonu, Parkinson hastalığı

ve Multipl Sklerozun'un önlenmesinde faydalı olduğu görülmüştür. TNF- α kaynaklı inflamasyon belirteçlerini baskılayanın etkileri ile Romatoid artrit, psoriatik artrit ve çölyak hastalığının ilişkisi vardır. Yapılan bir çalışmada, farelerde TNF- α gen delesyonu, artan ısı üretimi nedeniyle diyetle indüklenen obeziteden onları korumuştur (Shamansurova, 2020).

Yüksek yağlı ve karbonhidratla beslenen farelerde, infliksimab ile TNF- α baskılanması sonucunda obezite ve Tip 2 DM önlenmiştir. TNF- α geninin baskılanmasıyla farelerde doku enflamasyonu önlenmiştir. Tip II DM'li hastalarla yapılan 23 meta analiz çalışmada, kan serumunda TNF- α seviyelerinin artışında yaş, etnik köken ve hastalık süresinin etkisi gösterildi. TNF- α 'nın etkileri antagonize edilerek obezite ve DM tedavi edilebilir. Çalışmalar göstermesine rağmen TNF- α 'nın obezite gelişimindeki rolü, insülin direnci ve Tip 2 DM ile ilgili çelişkiler vardır (Shamansurova, 2020). Bizim yaptığımız bu çalışmayla çelişkinin giderilmesine katkıda bulunmak istenilmiştir.

1.4.2. Calpain 10

Calpain'ler, Ca^{+2} ile aktive edilen sitoplazmik sistein proteinaz ailesinin üyeleridir. Sonraki yıllarda Calpain 1 (μ -Calpain) ve Calpain 2 (m-Calpain) olmak üzere 2 tane Calpain sınıflandırılmıştır. Günümüzde tanımlanan en az 15 tane Calpain geni bulunmaktadır. Calpain ailesi üyeleri yüksek organizmalarda birçok dokuda eksprese edilmektedir. Ayrıca Calpain katalitik alt ünitenin homoloğu nematod, bitki, sinek ve mayaları içeren birçok organizmada bulunur (Özdemir, 2012).



Şekil 1.9. Calpain'ın Yapısı (Alan 1: Calpain aktivasyonundan sorumlu alan, Alan 2: proteaz fonksiyonunu sağlayan alan, Alan 3: görevi tam olarak bilinmeyen alan, Alan 4: calmodulin benzeri kalsiyum bağlayıcı alan)

Calpain'ler, hücre iskeleti yeniden düzenlenmesi ile apoptozis ve doku hücrelerinin yeniden yapılanmasında kalsiyum tarafından düzenlenen proliferasyon, farklılaşma ve transformasyon rol oynamaktadır. Calpain'leri kodlayan genlerdeki mutasyonlar çeşitli hastalıklara neden olmaktadır. Calpain 8 ve Calpain 10 Tip 2 diabetes mellitusla, Calpain 9 mide kanseriyle, Calpain 3 musküler distrofiyle ilişkilidir (Özdemir, 2012).

Son zamanlarda Calpain 10 (CAPN10) geni, bir diyabet duyarlılık geni olarak tanımlanmıştır. Calpain 10 genindeki varyasyonlar Meksikalılarda, Amerikalılarda Kuzey Avrupa popülasyonlarında üç kat artmış Tip 2 DM riski ile ilişkilendirilmiştir. Calpain 10 genindeki varyasyonlar artmış trigliserit ve kolesterol değerleri ile de ilişkilendirilmiştir (Özdemir, 2012).

Calpain'ler, kalsiyuma bağımlı lizozomal olmayan sistein proteazlarının bir ailesidir. Memeli hücrelerinde calpainlerin varlığı ilk olarak 30 yıl önce rapor edilmiştir. Farklılaşma, apoptoz, membran füzyonu ve trombosit aktivasyonunda rol oynar. Calpain 10, 2q37 kromozom üzerinde bulunur ve 31 kb'yi kapsayan 15 eksondan oluşur. En az 8 izoforma sahiptir. Dokularda en fazla bulunan, en uzun izoformu olan Calpain 10 672 aminoasitten oluşmaktadır. T2DM'ye duyarlılık ile Calpain 10 polimorfizmleri arasında karmaşık bir ilişki vardır. T2DM'ye duyarlılık tek bir gen polimorfizmi veya allel ile gerçekleşmez daha çok çoklu polimorfizmlerle (örneğin SNP (tek nükleotid polimorfizmi)-44, -43, -63 ve 19) katkıda bulunur. Yapılan çalışmada T2DM ve SNP-43, SNP-19 veya SNP-63 allel frekansları arasında anlamlı bir ilişki olmadığı ancak SNP-44'ün allel frekansı ile olduğu gözlenmiştir (Zaharna ve ark., 2010).

Çalışmalar serbest yağ asitlerinin, insülin reseptörlerinin fazla fosforilasyonu ile reseptör kinaz aktivitesini azaltarak insülin direncini arttıran protein kinaz C'yi aktive ettiğini göstermiştir. Bu nedenle, protein kinaz C'nin negatif regülasyonu insülin reseptör fosforilasyonunun devamlılığı için önemli bir olaydır. Calpain 10'un 3. intronundaki tek nükleotid polimorfizmi varyantları (SNP19, SNP43, SNP44, SNP63) mRNA kodlanmasını etkiler. Protein kinaz C'nin pozitif regülasyonu, azalmış insülin sinyali ve bunun getirdiği insülin direnci ile sonuçlanır (Arslan, 2010).

Calpain membran füzyonunda rol oynamaktadır ve hücrel sinyallere aracılık eden kinazlar, reseptörler ve transkripsiyon faktörleri gibi çeşitli proteinleri hidroliz etmektedir. Ayrıca calpain preadipositlerin adipositlere farklılaşması için önemlidir.

Bu etkiler calpainin insülin salınımı ve etkisine aracılık etmesini artırır. T2DM patogeneğinde CAPN10'un önemi toplumlara göre değişmektedir. Bir kısmında CAPN10 genindeki polimorfizmlerin T2DM riskini arttırdığı saptanırken, bir kısmında ise bu ilişki saptanamamıştır (Özdemir, 2012).

Tip 2 Diyabetli kişilerde, bozulmuş glukoz toleransı gösteren birinci derece kan akrabalarında insülinle IRS-1 (İnsülin reseptör substrat-1), PI3K/Akt(fosfatidilinositol-3-kinaz) aktivitesindeki artışın bozulduğu gösterilmiştir. Fakat bu yolu kontrol eden ortak genetik ilişki net olarak ortaya konulamamıştır. Bu çalışmalar ışığında Calpain 10 da ortaya çıkan değişikliklerin, IRS-1 etkisinde değişiklikler meydana getirerek insülinin sinyal iletiminde Tip 2 DM gelişimine etki edebilecek değişiklikler meydana getirebileceğini düşünebiliriz (Arslan, 2010).

1.4.3. PPARG

1990'da Isseman ve Green fibratların ve tiyazolidindionların moleküler hedefleri olan yeni bir steroid hormon süper ailesi tanımlamış ve peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptör (peroxisome proliferator-activated receptor; PPAR) olarak adlandırmışlardır. Fare ve kurbağadan elde edilen 3 reseptör arasındaki benzerliklerin sonucu adlandırma PPAR α , PPAR β ve PPAR γ veya PPARG olarak kabul edilmiştir (Şenol ve Tunçtan, 2015).

Peroksizomlar, ökaryotik hücrede bulunan, birçok fonksiyona sahip organellerdir. Hidrojen peroksit yıkımı dışında yağ asidi oksidasyonu, kolesterol biyosentezi ve yıkımı, gliserolipid sentezinde yer alırlar. Çeşitli değişken yapıları kimyasallar peroksizomları proliferate edebilirler ve bunlar “peroksizom proliferatörleri” olarak adlandırılırlar. PPAR'ler diğer nükleer hormon reseptörleri gibi önce hedef genin promotor bölgesindeki spesifik bölgeye bağlanırlar ve PPAR'in de içinde bulunduğu bazı nükleer hormon reseptörleri DNA'ya Retinoid X reseptörü

(RXR) ile heterodimer oluşturarak bağlanırlar. Ligandın bağlanması ile transkripsiyonu aktive ederler (Kuru, 2009).

Çizelge 1.6. PPAR alt türleri ve özellikleri

Alt tür	Birincil dokular	Ligantlar	İşlev	İlişkili hastalıklar ve patojenezler
PPAR α	Karaciğer, kalp, kas, damar endoteli ve damar düz kas hücresi, monosit/makrofajlar	Yağ asitleri Fibratlar	Yağ asidi oksidasyonu, Antienflamatuvar	Dislipidemi Diyabet Ateroskleroz Enflamasyon
PPAR β/δ	Yaygın, kas, adipoz	Yağ asitleri Proteinler	Organojeniz (prenatal dönem) PPAR α işlevine sinerjistik etki-lipit metabolizmasının düzenlenmesi	Dislipidemi-obezite İnfertilite Ateroskleroz
PPAR γ	Adipoz, kas, kalp, damar endoteli ve damar düz kas hücresi, monosit/ makrofajlar	PUFA'lar 15d-PGJ ₂ TZD'ler	Adipojeniz	İnsülin direnci-obezite Metabolik sendrom Kanser Enflamasyon Hipertansiyon ve retinal hastalıklar

15d-PGJ₂, 15-deoksi-delta-12,14-prostaglandin J₂ (15-deoxy-delta-12,14-prostaglandin J₂); PPAR, peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptör (peroxisome proliferator-activated receptor); PUFA, çoklu doymamış yağ asidi (polyunsaturated fatty acid); TZD, tiyazolidindion (thiazolidinedione).

PPARG, adiposit proliferasyonu, glukoz homeostazı, lökotrien yıkımının hızlandırılması, hücre döngüsü kontrolü, karsinojeniz, ateroskleroz ve enflamasyonda rolü olan önemli bir düzenleyici proteindir. Başlıca adipoz doku, meme bezi ve bağırsakta bulunur. Damar endoteli, düz kas hücresi, monosit/makrofaj ve köpük hücresinde de eksprese edilmektedir (Kuru, 2009).

PPARG, RXR ile etkin heterodimer biçimine dönüşüp hedef genin yanıt elementi ile etkileşince endotel ve düz kas hücrelerinde NF- κ B (Nükleer Faktör) 'nin ekspresyonunu inhibe ederek sitokinlerin sentezini azaltmaktadır. Adipoz dokuda insülin direnci ile ilişkili bir proenflamatuvar sitokin olan tümör nekroze edici faktör (tumor necrosis factor; TNF- α)'nın neden olduğu glukoz alımındaki kısıtlanma ve LPL (Lipoprotein Lipaz) ulak ribonükleik asit (messenger ribonucleic acid; mRNA) ekspresyonundaki artmaya karşı zıt etki gösterir. Bununla birlikte, PPARG tarafından glukoz taşıyıcısı tip 4 (glucose transporter type 4; GLUT4) ekspresyonu, hücre içine

glukoz alım süreci için gereklidir. İskelet kasında ise yağ asidi parçalanmamasını tetiklemekte ve glukoz alımı ile glikojen sentezini uyarmaktadır (Şenol ve Tunçtan, 2015).

Metabolik sendrom bileşenleri ile ilgili değişik metabolik yollarda pek çok sayıda gen, hastalığa genetik yatkınlık oluşturan potansiyel aday gen olarak değerlendirilmektedir. Bu aday genlerden biri olarak kabul edilen PPAR γ geninin hem adipogenesis hem de lipid ve glukoz metabolizmalarını düzenleyen transkripsiyon faktörünü kodladığı için, metabolik sendromun patogeneğinde ayrı bir öneme sahip olduğu düşünülür. PPAR γ genindeki Pro12Ala polimorfizminin adipozite ve insülin direnci aracılığıyla, metabolik sendrom riskini etkileyebildiği ileri sürülmektedir. Bir meta-analiz çalışmasında Pro12Ala polimorfizminin en yaygın alleli ile diyabet riski (1,25 kat fazla) arasında önemli bir ilişki olduğu bildirilmiştir (Büyüktuncer ve ark., 2010).

PPAR γ geni Pro12Ala polimorfizmi sonucu oluşan Ala allelinin metabolik sendroma karşı koruyucu etkisinin, bireylerin diyetleri ile aldıkları besin öğelerinden, özellikle diyet yağlarından, etkilendiği ortaya atılmıştır. Pro12 homozigot bireylerde yağ tüketimin artması BKİ, bel çevresi, adipoz doku, açlık glukoz düzeyi gibi parametrelerin artmasını sağlarken, bu ilişkinin Ala allelli bireylerde gözlenmediği bildirilmiştir. Bazı çalışmalarda ise, PPAR γ geni Pro12Ala polimorfizmindeki bahsedilen gen-diyet etkileşimi gösterilememiştir. Ancak hastalığın patogeneğinde önemli rol oynayabileceği düşünülen bu etkileşimin aydınlatılması hastalığın önlenmesi/tedavisi için büyük önem taşımaktadır (Büyüktuncer ve ark., 2010).

Yaptığımız bu çalışmanın amacı, insidansı sürekli artan Tip-2 DM hastalığının genetik profilinin açığa çıkması için var olan çalışmalara bir yenisini ekleyebilmektir. Sitokin gen polimorfizmlerinin diyabet gelişimine olası etkileri üzerine yapılmış bu çalışma hastalık profilinin daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunacaktır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Malzemeler

2.1.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

- Thermo Scientific PCR Master Mix (İçeriği: 0,05 U/μL Taq DNA polimeraz, 4 mM MgCl₂, 0,4 mM dNTP ve reaksiyon bufferı)
- Liyofilize Primerler (NZYTech)
- Chem Cruz 10X Tris-Borat EDTA Buffer
- Thermo Scientific Restriksiyon Enzimleri
- %10'luk 1,0 mm Bio-Rad Criterion TBE Hazır Jel
- Thermo Scientific PCR Marker
- Genaxxon Bioscience Etidyum Bromür
- Thermo Scientific Dye
- Etanol
- İzopropanol
- Termal kâğıt
- Eldiven

2.1.2. Kullanılan Cihazlar

- -80°C Derecelik Derin Dondurucu (Snijders Scientific)
- -20°C Derecelik Derin Dondurucu (Bosch)
- Otoklav (Sanyo, MAC-235 EX)
- Rotatör (Labinco)
- Bilser Laminar Flow Kabini
- Applied Biosystems Thermal Cyclers PCR Cihazı

- Boeco Combi-Spin Mikrosantrifüj Cihazı
- Vilber Lourmat Jel Görüntüleme Sistemi
- Isıtıcı Blok (Grant Boeckel)
- Treff Lab Rack
- Bio-Rad Elektroforez Tankı
- Bio-Rad Power Pac Electroforez Güç Kaynağı
- Treff Lab Eppendorf Tüpleri
- Gel-Well Pipet ve Yükleme Uçları
- Spektrofotometre (WPA Biowave spectrophotometer S2100)
- Iso-Lab Mikropipetler (10 ul, 20 ul, 200 ul, 1000 ul)
- Mezür
- Erlen

2.2. Kullanılan Yöntemler

2.2.1. Deney Kurgusu

Tip-2 DM hastalığına sahip olan hasta grubu ile Tip-2 DM hastalığı taşımayan kontrol grubu oluşturulmuştur. Hasta grubuna ait kan örneklerinin tamamı Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Endokrinoloji Bölümü'ne başvuran 30-70 yaş aralığında Tip-2 DM tanısı konmuş hastalardan alınmıştır. Kontrol grubu kanları ise yine aynı yaş aralığında olan ve Tip-2 DM hastalığı taşımayan hastane çalışanları ve endokrinoloji bölümüne başvuran kişilerden alınmıştır. Çalışmada 150 kontrol grubu (79 sağlıklı erkek birey ve 71 sağlıklı kadın) ve 305 Tip-2 DM hastalığına sahip olan hasta grubu (158'i erkek, 147'si kadın) numuneleri kullanılmıştır.

Hasta ve kontrol grubunun çalışmaya dahil edilebilmesi için; kontrol grubunun 30-70 yaş aralığında olması ve Tip-2 DM hastası olmaması gereklidir. Hasta grubu için ise Tip-2 DM hastası olması ve yine 30-70 yaş aralığında olması gereklidir.

Belirlenen yaş grubu dışındakiler, gebelik ve emzirme döneminde olan bireyler çalışmaya dahil edilmemiştir.

Ankara Üniversitesi Etik Kurul Başkanlığı'ndan onay alındıktan sonra projede yer alan kontrol ve hasta gruplarına dahil olan bireylerin “Bilgilendirilmiş Gönüllü Onay Formları” ve anket formları kendilerine doldurulduktan sonra kan numuneleri Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Endokrin Hastalıkları Kliniğinden alınmıştır. Her biri 5'er ml olan iki grup kan numunesi EDTA'lı tüplere konup, soğuk zincir ile analizlerin yapılacağı “Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarına” nakledilmiştir. Laboratuvarımıza getirilen kan örnekleri uygun yöntemler kullanılarak mononükleer hücreler, plazma, eritrositler ayrılarak ve DNA izolasyonları yapılmıştır. DNA örnekleri -20°C'de daha ileri analizler yapılana kadar muhafaza edilmiştir.

Genotipleme deneyleri için PCR ve RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) tekniklerinden yararlanılmıştır. -20°C'de saklanan DNA numunelerine öncelikle PCR (Polymerase Chain Reaction) deneyleri yapılmıştır. PCR ürünlerinde elektroforez jelde yürütme ve görüntüleme işlemi yapıldıktan sonra RFLP tekniği ile PCR ürünleri kesim bölgelerine ayrılmıştır. Kesim bölgeleri incelenerek TNF- α (-308), PPARGP12A, Calpain 10 SNP-44 genlerinde mutasyon gözlenen ve gözlenmeyen bireyleri saptamak amaçlanmıştır.

2.2.2. Genotiplerin Belirlenmesi

2.2.2.1. TNF- α (-308) Polimorfizminin Belirlenmesi

TNF- α (-308) sitokin gen bölgesinde meydana gelmiş olabilecek mutasyonların tespiti için Ateş ve ark.'nın 2008 yılında yayınladıkları çalışmada

belirtilen yöntem uygulanmıştır. PCR yöntemi kullanılarak DNA'nın replikasyonunun gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

TNF- α (-308) bölgesine özel primerler hazırlanmıştır. Forward bölgesine 5'-(AGG CAA TAG GTT TTG AGG GCC AT) -3' ait primerin hazırlanması için liyofilize durumda bulunan primerin üzerine saf su eklenerek karışım onda bir oranında seyreltilmiş ve stok forward primer çözeltisi hazırlanmıştır. Reverse bölgesi 5'-(TCC TCC CTG CTC CGA TTC CG) -3' içinde liyofilize halde bulunan primer üzerine hesaplanan miktarda su eklenmiş ve onda bir oranında seyreltilerek 100 μ M'lik stok reverse primer çözeltisi hazırlanmıştır.

PCR için 25 μ L PCR Master Mix kullanılmıştır. Thermo Scientific Master Mix'in içeriğinde 0,05 U/ μ L Taq DNA polimeraz, 4 mM MgCl₂, 0,4 mM dNTP ve reaksiyon bufferı bulunmaktadır. Bunun üzerine 1 μ L forward ve reverse primerler eklenmiştir. Hazırlanan karışıma 5 μ L DNA numunesi ve 18 μ L saf su katarak PCR karışımı hazırlanmıştır.

PCR'ın 94°C'de 3 dakika, 1 döngü şeklinde denatürasyonu sağlanmıştır. Primerlerin 94°C'de 1 dakika, 61°C'de 1 dakika, 72°C'de 1 dakika, 35 döngü ile yapışma basamağı hazırlanmıştır. 72°C'de 5 dakika, 1 döngü ile sentez basamağı ayarlanmıştır. Karışımlar Applied Biosystems Veriti PCR cihazında bırakılmıştır.

PCR ürününün 20 μ L'si üzerine 5 μ L boya eklenerek elektroforez ürünleri hazırlanmıştır. 25 baz çiftlik marker 3 μ L boya ve 12 μ L'lik su kullanılarak marker çözeltisi de oluşturulmuştur. Ürünler %10'luk TBE içeren hazır Bio-Rad jelde 45 dakika 200 voltluk akımda yürütülmüştür. Yürütme işlemi sonrası bu karışım 100 ml'lik 1X Tris-Borat-EDTA içeren kaplara konularak üzerine 12,5 μ L'lik etidyum bromid ilave edilmiş ve 20 dk beklenmiştir. Hazırlanan agaroz jeldeki PCR ürünleri UV lambası altında incelendiğinde 107 baz çiftinin bant verdiği analiz edilmiştir.

PCR ürünleri üzerine 2 µL su, 2 µL enzim bufferı ve 1 µL *Ava II* kesim enzimi ilave edilmiştir. Bu karışım RFLP yöntemi ile 37°C’de gece boyunca ısıtıcı bloklarda enzimle kesilmiştir. Aynı yöntemle elektroforez ürünleri hazırlanmış ve UV lambası altında kesim bölgelerine bakılmıştır. Bu analiz sonucunda gözlenen 87 baz çiftinin tek bant, yabanıl tip (wild type) genotipini, 87 ve 107 baz çiftlik iki bant, heterozigot genotipini ve 107 baz çiftlik tek bant ise homozigot mutant genotipi olduğunu göstermiştir.

2.2.2.2. Calpain 10 SNP 44 Polimorfizminin Belirlenmesi

Calpain 10 SNP 44 sitokin gen bölgesinde meydana gelmiş olabilecek mutasyonların tespiti için Özdemir’in 2012 yılında yayınladıkları tezde belirtilen yöntem uygulanmıştır. PCR yöntemi kullanılarak DNA’nın replikasyonunun gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

Calpain 10 SNP 44 bölgesine özel primerler hazırlanmıştır. Forward bölgesine 5’-(AGA GAG TTT CTG TGT GTG GGC AGA) -3’ ait primerin hazırlanması için liyofilize durumda bulunan primerin üzerine saf su eklenerek karışım onda bir oranında seyreltilmiş ve stok forward primer çözeltisi hazırlanmıştır. Reverse bölgesi 5’-(AAA TCG TCC AAC CGC TGC CTC AAT) -3’ içinde liyofilize halde bulunan primer üzerine hesaplanan miktarda su eklenmiş ve onda bir oranında seyreltilerek 100 µM’lik stok reverse primer çözeltisi hazırlanmıştır.

PCR için 25 µL PCR Master Mix kullanılmıştır. Thermo Scientific Master Mix’in içeriğinde 0,05 U/µL Taq DNA polimeraz, 4 mM MgCl₂, 0,4 mM dNTP ve reaksiyon bufferı bulunmaktadır. Bunun üzerine 1 µL forward ve reverse primerler eklenmiştir. Hazırlanan karışıma 5 µL DNA numunesi ve 18 µL saf su katarak PCR karışımı hazırlanmıştır.

PCR'ın 94°C'de 5 dakika, 1 döngü şeklinde denatürasyonu sağlanmıştır. Primerlerin 94°C'de 30 saniye, 60,2°C'de 30 saniye, 72°C'de 30 saniye, 35 döngü ile yapışma basamağı hazırlanmıştır. 72°C'de 2 dakika, 1 döngü ile sentez basamağı ayarlanmıştır. Karışımlar Applied Biosystems Veriti PCR cihazında bırakılmıştır.

PCR ürününün 20 µL'si üzerine 5 µL boya eklenerek elektroforez ürünleri hazırlanmıştır. 25 baz çiftlik marker 3 µL boya ve 12 µL'lik su kullanılarak marker çözeltisi de oluşturulmuştur. Ürünler %10'luk TBE içeren hazır Bio-Rad jelde 40 dakika 100 voltluk akımda yürütülmüştür. Yürütme işlemi sonrası bu karışım 100 ml'lik 1X Tris-Borat-EDTA içeren kaplara konularak üzerine 12,5 µL'lik etidyum bromid ilave edilmiş ve 20 dk beklenmiştir. Hazırlanan agaroz jeldeki PCR ürünleri UV lambası altında incelendiğinde 166 baz çiftinin bant verdiği analiz edilmiştir.

PCR ürünleri üzerine 2 µL su, 2 µL enzim bufferı ve 1 µL BstFNI (*Bacillus stearothermophilus* türünden elde edilen bir restriksiyon enzimidir) kesim enzimi ilave edilmiştir. Bu karışım RFLP yöntemi ile 37°C'de gece boyunca ısıtıcı bloklarda enzimle kesilmiştir. Aynı yöntemle elektroforez ürünleri hazırlanmış ve UV lambası altında kesim bölgelerine bakılmıştır. Bu analiz sonucunda gözlenen 166 baz çiftlik tek bant yabancıl tip (wild type) genotipini, 166, 145 ve 21 baz çiftlik üç bant heterozigot genotipini, 145 ve 21 baz çiftlik iki bant ise homozigot mutant genotipini göstermiştir.

2.2.2.3. PPARGP12A Polimorfizminin Belirlenmesi

PPARGP12A sitokin gen bölgesinde meydana gelmiş olabilecek mutasyonların tespiti için Saleh ve ark.'nın 2016 yılında yayınladıkları çalışmada belirtilen yöntem uygulanmıştır. PCR yöntemi kullanılarak DNA'nın replikasyonunun gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

PPARGP12A bölgesine özel primerler hazırlanmıştır. Forward bölgesine 5'-(GCC AAT TCA AGC CCA GTC) -3' ait primerin hazırlanması için liyofilize durumda bulunan primerin üzerine saf su eklenerek karışım onda bir oranında seyreltilmiş ve stok forward primer çözeltisi hazırlanmıştır. Reverse bölgesi 5'-(CGT CCC CAA TAG CCG TAT C) -3' içinde liyofilize halde bulunan primer üzerine hesaplanan miktarda su eklenmiş ve onda bir oranında seyreltilerek 100 µM'lik stok reverse primer çözeltisi hazırlanmıştır.

PCR için 25 µL PCR Master Mix kullanılmıştır. Thermo Scientific Master Mix'in içeriğinde 0,05 U/µL Taq DNA polimeraz, 4 mM MgCl₂, 0,4 mM dNTP ve reaksiyon bufferı bulunmaktadır. Bunun üzerine 1 µL forward ve reverse primerler eklenmiştir. Hazırlanan karışıma 5 µL DNA numunesi ve 18 µL saf su katarak PCR karışımı hazırlanmıştır.

PCR'ın 95°C'de 5 dakika, 1 döngü şeklinde denatürasyonu sağlanmıştır. Primerlerin 94°C'de 30 saniye, 55°C'de 45 saniye, 72°C'de 1 dakika, 30 döngü ile yapışma basamağı hazırlanmıştır. 72°C'de 1 dakika, 1 döngü ile sentez basamağı ayarlanmıştır. Karışımlar Applied Biosystems Veriti PCR cihazında bırakılmıştır.

PCR ürününün 20 µL'si üzerine 5 µL boya eklenerek elektroforez ürünleri hazırlanmıştır. 25 baz çiftlik marker 3 µL boya ve 12 µL'lik su kullanılarak marker çözeltisi de oluşturulmuştur. Ürünler %10'luk TBE içeren hazır Bio-Rad jelde 45 dakika 200 voltluk akımda yürütülmüştür. Yürütme işlemi sonrası bu karışım 100 ml'lik 1X Tris-Borat-EDTA içeren kaplara konularak üzerine 12,5 µL'lik etidyum bromid ilave edilmiş ve 20 dk beklenmiştir. Hazırlanan agaroz jeldeki PCR ürünleri UV lambası altında incelendiğinde 306 baz çiftinin bant verdiği analiz edilmiştir.

PCR ürünleri üzerine 2 µL su, 2 µL enzim bufferı ve 1 µL HgaI kesim enzimi ilave edilmiştir. Bu karışım RFLP yöntemi ile 37°C'de gece boyunca ısıtıcı bloklarda

enzimle kesilmiştir. Aynı yöntemle elektroforez ürünleri hazırlanmış ve UV lambası altında kesim bölgelerine bakılmıştır. Bu analiz sonucunda gözlenen 306 baz çiftlik tek bant yabanıl tip (wild type) genotipini, 306, 220 ve 86 baz çiftlik üç bant heterozigot genotipini, 220 ve 86 baz çiftlik iki bant ise homozigot mutant genotipini göstermiştir.

2.2.3. Kullanılan İstatiksel Yöntemler

Çalışmadaki tüm istatistiksel analizler “IBM SPSS Version 23 for Windows and MacOS” programı ile yapılmıştır. Deneylerde kullanılan numunelere ait bireylerin demografik özellikleri belirlenmiş ve ortalaması, standart sapması hesaplanmıştır. Bununla birlikte kontrol ve hasta grubuna verilen anket formları sonucunda diyabet süreleri, sigara kullanma alışkanlıklarına ait sonuçlar ve iki grup arasındaki farklılıklar hesaplanmıştır.

Deney sonuçları ile elde edilen verilerle TNF- α , Calpain 10, PPARG polimorfizmleri için genotip dağılımları belirlenerek alel frekansları hesaplanmıştır. Araştırılan gen bölgelerinde meydana gelen polimorfizmin hastalığın gelişimi üzerine etkili olup olmadığı, etkili ise Tip-2 DM hastalığının artma riskindeki rolünün ne olduğunu bulmak için Odds Ratio (OR) değeri saptanmıştır. Bu değerler hesaplanırken güvenlik aralığı (Confidence Interval -CI) %95 olarak seçilmiştir.

Kontrol ve hasta gruplarından açlık kan şekeri, tokluk kan şekeri, HbA1c, trigliserit, total kolesterol, HDL, LDL, VLDL, üre, kreatinin, spot idrarda mikroalbumin/ kreatinin oranı gibi diğer biyokimya değerleri de alınmıştır. Bu iki grup arasında verilerin ortalamaları, standart sapmaları bulunmuş; ayrıca Bağımsız-T Testi kullanılarak farklılıkların anlamlılık değeri saptanmaya çalışılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Demografik Bulgular ve Anamnez Bulguları

Çalışmaya kontrol grubu olarak 150 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Kontrol grubunda yer alan bireylerin yaşları 30 ve 70 arasında değişmektedir. Aynı zamanda bu grupta 79 sağlıklı erkek birey ve 71 sağlıklı kadın birey yer almaktadır. Kontrol grubunda yer alan erkek bireylerin yaş ortalaması $49,16 \pm 8,88$ (ortalama $\pm$ standart sapma) olarak hesaplanmıştır. Kontrol grubunda yer alan kadın bireylerin yaş ortalaması $46,29 \pm 7,81$ (ortalama $\pm$ standart sapma) olarak hesaplanmıştır. Kontrol grubunda yer alan 150 bireyin genel yaş ortalaması $47,76 \pm 8,23$ (ortalama $\pm$ standart sapma) olarak hesaplanmıştır. Çalışmaya hasta grubu olarak ise 305 Tip-2 diyabete sahip birey dahil edilmiştir. Bu hastaların yaşları ise 30 ile 70 arasında değişmektedir. Bu grupta yer alan hasta bireylerden 158'inin erkek, 147'sinin kadın olduğu tespit edilmiştir. Hasta grubunda yer alan erkek bireylerin yaş ortalaması $47,69 \pm 12,03$ (ortalama $\pm$ standart sapma) olarak hesaplanmıştır. Hasta grubunda yer alan kadın bireylerin yaş ortalaması $49,63 \pm 10,71$ (ortalama $\pm$ standart sapma) olarak hesaplanmıştır. Hasta grubunda yer alan bireylerin yaş ortalaması ise $48,79 \pm 10,75$ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Kontrol ve hasta grubundaki deneklere ait demografik bilgiler

Paratmetre	Erkek	Kadın	Genel
Kontrol Grubu			
Birey Sayısı	79	71	150
Yaş (Ortalama $\pm$ SH)	$49,16 \pm 8,88$	$46,29 \pm 7,81$	$47,76 \pm 8,23$
Hasta Grubu			
Birey Sayısı	158	147	305
Yaş (Ortalama $\pm$ SH)	$47,69 \pm 12,03$	$49,63 \pm 10,71$	$48,79 \pm 10,75$

Bunun dışında gruplar ayrıca sigara kullanma özelliklerine göre de değerlendirilmiştir. Sigara kullanma oranlarına bakıldığında en çok sigara içen grubun

kontrol grubundaki erkek bireylerde meydana geldiği görülmüştür (%46,84). En az sigara içen grubun da kontrol grubundaki kadın bireyler olduğu kaydedilmiştir (%21,13).

Bahsedilen demografik verilere ek olarak çalışmaya katılan bireylerin diyabet süreleri de kaydedilerek ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanmıştır. Kontrol grubuna dahil olan bireyler sağlıklı bireyler oldukları için bu gruba ait bireylerin diyabet süresi sıfırdır. Hasta grubuna ait bireylerin diyabet süreleri ise erkek hastalar için $12,78 \pm 4,41$ olarak hesaplanmıştır. Kadın hastalar için ise bu sayılar $11,66 \pm 4,08$ olarak hesaplanmıştır. Tüm hasta grubu dahil edildiğinde ise yaklaşık diyabet süresi $12,22 \pm 4,28$ olarak bulunmuştur (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Kontrol ve hasta grubuna ait anamnez bulguları

Parametre	Erkek	Kadın	Genel
Kontrol Grubu			
Diyabet Süresi (Ortalama $\pm$ SH)	-	-	-
Sigara İçme Durumu			
- İçen Birey Sayısı (%)	37 (46,84)	15 (21,13)	52 (34,67)
- İçmeyen Birey Sayısı (%)	42 (53,16)	56 (78,87)	98 (65,33)
Hasta Grubu			
Diyabet Süresi (Ortalama $\pm$ SH)	$12,78 \pm 4,41$	$11,66 \pm 4,08$	$12,22 \pm 4,28$
Sigara İçme Durumu			
- İçen Birey Sayısı (%)	55 (34,81)	48 (32,65)	103 (33,77)
- İçmeyen Birey Sayısı (%)	103 (65,19)	99 (67,35)	202 (66,23)

3.2. Biyokimyasal Bulgular

Deney ve kontrol grubuna ait bireylerin vücut kitle indeksi de dahil olmak üzere biyokimyasal parametrelere ait ortalamalar ve standart sapmaları Çizelge 3.3'te gösterilmiştir. Elde edilen verilere göre total kolesterol ve HDL parametreleri dışında incelenen vücut kitle indeksi, açlık kan şekeri, HbA1c, trigliserit, LDL, VLDL ve albümin/kreatinin oranı parametreleri hasta grupta kontrole göre istatistiki olarak

anlamalı bir şekilde artmıştır. Bu artış Vücut kitle indeksi parametresinde $P<0,05$ iken, diğer anlamlı parametrelerde ise $P<0,001$ düzeyinde olmuştur.

Çizelge 3.3. Kontrol ve hasta gruplarına ait biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması

Parametreler	Kontrol Grubu	Hasta Grubu
Vücut Kitle Endeksi (BMI)	25,87 ± 2,98	34,70 ± 4,88 ^a
Açlık Kan Şekeri (AKŞ)	89,15 ± 14,52	215,98 ± 31,60 ^b
HbA1c (%)	5,27±0,19	12,25 ± 0,79 ^a
Total Kolesterol	183,52 ± 32,39	207,84 ± 40,23
Trigliserit (mg/dl)	119,37 ± 30,31	197,06 ± 37,33 ^a
HDL (mg/dl)	49,73 ± 5,64	46,70 ± 8,23
LDL (mg/dl)	109,24 ± 15,96	155,11 ± 23,48 ^a
VLDL (mg/dl)	21,77 ± 9,61	37,90 ± 10,01 ^a
Albumin/Kreatin Oranı	0,35 ± 0,09	1,14 ± 0,82 ^a

^a $p<0,05$, ^b $p<0,001$

Çizelge 3.4. Tip 2 Diyabet hastalığının olası risk faktörlerinin çoklu regresyon analizi

Risk faktörü	OR (%95 CI)
Vücut Kitle İndeksi	2,01 (1,25-3,27) ^b
Yaş	1,02 (0,39-1,71)
Sigara içimi	1,25 (0,73-1,88)
HbA1c (%)	1,97 (1,32-3,91) ^a
AKŞ (mg/dl)	0,86 (0,49-1,33)
Trigliserit (mg/dl)	1,86 (1,13-2,97) ^a
Total kolesterol (mg/dl)	0,79 (0,54-1,46)
HDL (mg/dl)	0,35 (0,17-1,35)
LDL (mg/dl)	2,22 (1,66-4,52) ^b
VLDL (mg/dl)	2,05 (1,40-3,81) ^b
Albümin/kreatinin oranı	0,79 (0,44-1,24)

^a $p<0,05$, ^b $p<0,01$

Diyabet hastalığının olası risk faktörleri arasında sayılan Vücut Kitle İndeksi, yaş, sigara içimi, HbA1c, AKŞ, trigliseritler, total kolesterol, HDL, LDL, VLDL ve albumin/kreatinin oranının parametrelerinin çalışmamızda hastalığın üzerindeki olası etkisi çoklu regresyon analizi yapılarak saptanmaya çalışılmış olup sonuçlar Çizelge 3.4'te sunulmuştur. Sonuçlar dikkate alındığında; HbA1c ve trigliseritler ($p<0,05$) ile Vücut kitle indeksi, LDL ve VLDL ($p<0,01$) Tip 2 diyabet hastalığının gelişiminde önemli risk faktörleri olarak bulunmuştur.

3.3. Genotipik Bulgular

3.3.1. TNF- α (-308) Genotip Bulguları

150 kişiden oluşan kontrol grubunda TNF- α (-308) gen polimorfizmlerine bakıldığında bu 150 kişiden 115'sinin yabancı tip genotipe (1/1 aleli) sahip olduğu görülmüştür. Bu da kontrol grubu popülasyonunun %76,7'sine karşılık gelmektedir. Heterozigot genotipe (1/2 aleli) sahip bireylerin sayısı 27, homozigot mutant genotipe (2/2 aleli) sahip bireylerin sayısı ise 8 olarak bulunmuştur. Bunlar da sırasıyla kontrol grubu popülasyonunun %18,0'ini ve %5,3'ünü oluşturmaktadır. Kontrol grubuna ait TNF- α (-308) gen polimorfizm sonuçları Çizelge 3.5'te gösterilmiştir.

305 kişiden oluşan hasta grubunda TNF- α (-308) gen polimorfizmlerine bakıldığında bu 305 kişiden 147'inin yabancı tip genotipe (1/1 aleli) sahip olduğu görülmüştür. Bu da kontrol grubu popülasyonunun %48,2'sine karşılık gelmektedir. Heterozigot genotipe (1/2 aleli) sahip bireylerin sayısı 96, homozigot mutant genotipe (2/2 aleli) sahip bireylerin sayısı ise 62 olarak bulunmuştur. Bunlar da sırasıyla kontrol grubu popülasyonunun %31,5'ini ve %20,3'ünü oluşturmaktadır. Hasta grubuna ait TNF- α (-308) gen polimorfizm sonuçları Çizelge 3.6'da gösterilmiştir.

3.3.2. PPARGP12A Genotip Bulguları

150 kişiden oluşan kontrol grubunda PPARGP12A gen polimorfizmlerine bakıldığında bu 150 kişiden 128'sinin yabancı tip genotipe (1/1 aleli) sahip olduğu görülmüştür. Bu da kontrol grubu popülasyonunun %85,3'üne karşılık gelmektedir.

Heterozigot genotipe (1/2 aleli) sahip bireylerin sayısı 18, homozigot mutant genotipe (2/2 aleli) sahip bireylerin sayısı ise 4 olarak bulunmuştur. Bunlar da sırasıyla kontrol grubu popülasyonunun %12,0'sini ve %2,7'ünü oluşturmaktadır. Kontrol grubuna ait PPARGP12A gen polimorfizm sonuçları Çizelge 3.5'te gösterilmiştir.

305 kişiden oluşan hasta grubunda PPARGP12A gen polimorfizmlerine bakıldığında bu 305 kişiden 177'sinin yabancı tip genotipe (1/1 aleli) sahip olduğu görülmüştür. Bu da kontrol grubu popülasyonunun %58,0'ine karşılık gelmektedir. Heterozigot genotipe (1/2 aleli) sahip bireylerin sayısı 79, homozigot mutant genotipe (2/2 aleli) sahip bireylerin sayısı ise 49 olarak bulunmuştur. Bunlar da sırasıyla kontrol grubu popülasyonunun %25,9'unu ve %16,1'ini oluşturmaktadır. Hasta grubuna ait PPARGP12A gen polimorfizm sonuçları Çizelge 3.6'da gösterilmiştir.

3.3.3. Calpain 10 SNP-44 Genotip Bulguları

150 kişiden oluşan kontrol grubunda Calpain 10 SNP-44 gen polimorfizmlerine bakıldığında bu 150 kişiden 109'unun yabancı tip genotipe (1/1 aleli) sahip olduğu görülmüştür. Bu da kontrol grubu popülasyonunun %72,7'sine karşılık gelmektedir. Heterozigot genotipe (1/2 aleli) sahip bireylerin sayısı 30, homozigot mutant genotipe (2/2 aleli) sahip bireylerin sayısı ise 11 olarak bulunmuştur. Bunlar da sırasıyla kontrol grubu popülasyonunun %20,0'sini ve %7,3'ünü oluşturmaktadır. Kontrol grubuna ait Calpain 10 SNP-44 gen polimorfizm sonuçları Çizelge 3.5'te gösterilmiştir.

305 kişiden oluşan hasta grubunda Calpain 10 SNP-44 gen polimorfizmlerine bakıldığında bu 305 kişiden 151'sinin yabancı tip genotipe (1/1 aleli) sahip olduğu

görülmüştür. Bu da kontrol grubu popülasyonunun %49,5'ine karşılık gelmektedir. Heterozigot genotipe (1/2 aleli) sahip bireylerin sayısı 83, homozigot mutant genotipe (2/2 aleli) sahip bireylerin sayısı ise 71 olarak bulunmuştur. Bunlar da sırasıyla kontrol grubu popülasyonunun %27,2'sini ve %23,3'ünü oluşturmaktadır. Hasta grubuna ait Calpain 10 SNP-44 gen polimorfizm sonuçları Çizelge 3.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 3.5. Kontrol Grubu Genotipleri

Numara	TNF- α (-308)	PPARGP12A	Calpain 10 SNP-44
1	1/1	1/1	1/1
2	1/2	1/2	1/2
3	1/1	1/1	1/1
4	1/1	1/1	1/2
5	1/1	1/1	1/1
6	1/1	1/1	1/1
7	1/2	1/1	2/2
8	1/1	2/2	1/2
9	2/2	1/1	1/1
10	1/1	1/2	2/2
11	1/1	1/1	1/1
12	1/1	1/1	1/1
13	1/2	1/2	1/2
14	1/1	1/1	1/1
15	1/1	1/1	1/2
16	1/1	1/1	1/1
17	1/2	1/1	1/1
18	2/2	2/2	1/2
19	1/1	1/1	1/1
20	1/1	1/1	1/1
21	1/1	1/1	1/2
22	1/1	1/1	1/1
23	1/1	1/1	1/1
24	1/2	1/2	2/2
25	1/1	1/1	1/1
26	1/1	1/2	1/1
27	1/1	1/1	1/2
28	1/2	1/1	1/1
29	1/1	1/1	1/2
30	1/1	1/1	1/1
31	1/2	1/1	1/1

Numara	TNF-α (-308)	PPARGP12A	Calpain 10 SNP-44
32	1/1	1/2	1/2
33	1/1	1/1	1/1
34	1/1	1/1	1/1
35	2/2	1/1	1/1
36	1/1	1/1	1/1
37	1/1	1/2	1/2
38	1/1	1/1	1/2
39	1/2	1/1	1/1
40	1/1	1/1	1/1
41	1/1	1/1	1/2
42	1/1	1/1	1/1
43	1/1	1/1	1/1
44	2/2	1/1	2/2
45	1/1	1/1	1/1
46	1/1	1/1	1/1
47	1/1	1/1	1/1
48	2/2	1/2	2/2
49	1/1	1/1	1/1
50	1/1	1/1	1/1
51	1/1	1/1	1/1
52	1/1	1/1	1/1
53	1/1	1/1	1/1
54	1/1	1/1	1/1
55	1/2	1/1	1/1
56	1/2	2/2	1/2
57	1/2	1/1	1/1
58	2/2	1/1	1/2
59	1/1	1/1	1/1
60	1/1	1/1	1/1
61	1/1	1/2	1/2
62	1/1	1/1	1/1
63	1/1	1/1	1/1
64	1/1	1/1	1/1
65	1/2	1/1	1/1
66	1/1	1/1	1/1
67	1/1	1/2	1/2
68	1/2	1/1	1/1
69	1/1	1/1	1/1
70	1/1	1/1	1/1
71	1/1	1/1	1/1
72	1/2	1/1	1/1
73	1/1	1/2	1/2

Numara	TNF-α (-308)	PPARGP12A	Calpain 10 SNP-44
74	1/1	1/1	1/1
75	1/1	1/1	1/1
76	1/2	1/1	1/1
77	1/1	1/1	1/1
78	1/1	1/1	1/1
79	1/2	1/1	1/2
80	1/1	1/2	1/1
81	1/2	1/1	1/1
82	1/1	1/1	1/2
83	1/1	1/1	1/1
84	1/1	1/1	1/1
85	1/2	1/1	1/2
86	1/1	1/1	1/1
87	1/1	1/1	1/1
88	1/1	1/1	1/1
89	1/1	1/1	1/1
90	1/1	1/1	1/1
91	1/1	1/1	1/1
92	1/1	1/1	1/1
93	1/2	1/1	1/2
94	1/1	1/1	1/1
95	1/1	1/1	1/1
96	1/1	1/1	1/1
97	1/1	1/1	1/1
98	1/2	2/2	2/2
99	1/1	1/1	1/1
100	1/1	1/1	1/1
101	1/1	1/2	2/2
102	1/1	1/1	1/1
103	1/1	1/1	1/1
104	2/2	1/1	1/2
105	1/1	1/1	1/1
106	1/1	1/1	1/1
107	1/1	1/2	1/2
108	1/1	1/1	1/1
109	1/1	1/1	1/1
110	1/2	1/1	1/1
111	1/1	1/1	1/1
112	1/1	1/1	1/1
113	1/1	1/1	1/2
114	1/2	1/1	1/1
115	1/2	1/1	1/1

Numara	TNF-α (-308)	PPARGP12A	Calpain 10 SNP-44
116	1/1	1/1	1/1
117	1/1	1/1	1/2
118	1/1	1/1	1/1
119	1/1	1/1	1/1
120	1/1	1/1	1/1
121	1/2	1/1	2/2
122	1/1	1/1	1/2
123	1/1	1/1	1/1
124	1/1	1/1	1/1
125	1/1	1/1	1/1
126	1/1	1/1	1/1
127	1/2	1/1	2/2
128	1/1	1/1	1/1
129	1/1	1/1	1/1
130	1/1	1/1	1/1
131	1/1	1/2	1/2
132	1/1	1/1	1/1
133	1/1	1/1	1/1
134	1/1	1/1	1/1
135	1/1	1/1	1/1
136	1/2	1/2	1/2
137	1/1	1/1	1/1
138	1/1	1/1	1/1
139	1/1	1/1	1/1
140	1/1	1/1	1/1
141	2/2	1/2	2/2
142	1/1	1/1	1/1
143	1/1	1/1	1/1
144	1/1	1/1	1/1
145	1/1	1/1	1/1
146	1/1	1/1	1/1
147	1/1	1/1	1/1
148	1/1	1/1	1/2
149	1/2	1/2	2/2
150	1/1	1/1	1/1

Çizelge 3.6. Hasta Grubu Genotipleri

Numara	TNF- α (-308)	PPARGP12A	Calpain 10 SNP-44
1	1/2	1/1	1/2
2	1/1	2/2	2/2
3	1/1	1/1	1/1
4	1/2	1/1	2/2
5	1/1	1/2	1/1
6	2/2	1/2	2/2
7	1/1	1/1	1/1
8	1/1	2/2	2/2
9	1/2	1/1	1/1
10	1/1	1/1	1/2
11	2/2	1/2	1/1
12	1/1	2/2	1/1
13	1/2	1/1	1/2
14	1/1	1/1	1/1
15	1/2	1/2	1/1
16	1/1	1/1	2/2
17	2/2	1/2	1/2
18	1/1	1/1	2/2
19	1/1	2/2	1/1
20	1/2	1/1	1/1
21	1/2	1/2	2/2
22	1/2	1/2	1/1
23	1/1	1/1	1/1
24	1/1	1/2	1/2
25	2/2	1/1	1/1
26	1/2	1/2	2/2
27	1/1	1/1	1/1
28	1/2	2/2	2/2
29	1/2	1/1	1/1
30	1/1	1/1	1/1
31	1/2	1/2	2/2
32	1/1	1/2	2/2
33	1/2	1/1	1/1
34	2/2	1/2	1/1
35	1/1	1/1	1/1
36	1/2	2/2	2/2
37	1/2	1/1	1/1
38	1/1	1/1	1/2
39	2/2	1/2	1/1
40	1/2	1/1	1/2

Numara	TNF- α (-308)	PPARGP12A	Calpain 10 SNP-44
41	2/2	2/2	1/1
42	1/1	1/1	1/1
43	1/2	1/2	2/2
44	1/1	1/2	1/1
45	2/2	1/2	1/2
46	1/2	1/2	1/1
47	1/1	1/1	1/1
48	1/2	1/2	1/2
49	1/2	1/2	1/1
50	1/2	1/2	2/2
51	1/1	1/1	1/1
52	2/2	1/1	1/1
53	1/1	2/2	2/2
54	1/1	1/1	1/1
55	2/2	1/1	1/2
56	2/2	1/1	1/1
57	1/1	1/2	1/1
58	1/2	1/2	1/1
59	1/1	1/1	1/2
60	1/1	1/1	1/1
61	2/2	1/1	1/2
62	2/2	1/1	1/1
63	2/2	2/2	2/2
64	1/1	1/1	1/1
65	1/2	1/1	1/1
66	1/2	1/2	2/2
67	1/1	1/1	1/1
68	1/2	1/1	1/1
69	1/1	2/2	1/2
70	1/1	1/1	1/1
71	1/2	1/2	2/2
72	1/1	1/2	2/2
73	1/2	1/1	1/2
74	1/1	1/1	1/1
75	2/2	2/2	2/2
76	1/1	1/1	1/1
77	1/2	1/2	2/2
78	1/2	1/1	1/1
79	1/1	1/1	1/2
80	2/2	1/2	2/2
81	1/1	1/1	1/1
82	1/1	1/1	1/2

Numara	TNF-α (-308)	PPARGP12A	Calpain 10 SNP-44
83	2/2	2/2	2/2
84	1/2	1/1	1/2
85	1/2	1/2	2/2
86	1/1	1/2	1/2
87	1/1	1/1	1/1
88	1/1	1/1	1/2
89	2/2	1/1	1/1
90	2/2	1/2	1/2
91	1/1	1/1	1/1
92	1/1	1/2	2/2
93	2/2	1/1	2/2
94	1/1	1/1	1/1
95	1/1	2/2	1/2
96	2/2	1/1	1/1
97	1/2	1/2	2/2
98	1/1	1/1	1/1
99	2/2	1/1	1/2
100	1/2	1/2	1/1
101	1/2	2/2	1/2
102	2/2	1/1	1/1
103	1/1	1/1	1/2
104	1/2	1/2	1/1
105	2/2	1/1	1/2
106	1/2	2/2	1/2
107	1/1	1/1	1/2
108	1/2	1/1	1/1
109	1/1	1/2	2/2
110	1/1	1/1	1/1
111	1/1	1/1	1/2
112	2/2	1/1	1/1
113	1/2	1/1	1/2
114	1/1	1/1	1/1
115	2/2	1/1	1/1
116	1/1	2/2	1/2
117	1/1	1/1	1/2
118	1/1	1/2	2/2
119	2/2	1/2	2/2
120	1/2	1/1	1/1
121	1/2	1/1	1/2
122	1/2	2/2	2/2
123	2/2	1/1	1/1
124	2/2	1/1	1/2

Numara	TNF-α (-308)	PPARGP12A	Calpain 10 SNP-44
125	2/2	1/2	2/2
126	2/2	1/1	1/1
127	2/2	1/1	1/2
128	1/1	2/2	2/2
129	1/2	1/1	1/1
130	1/1	1/1	1/2
131	2/2	1/1	1/2
132	1/2	1/2	1/2
133	1/2	1/1	1/1
134	2/2	1/2	2/2
135	1/1	1/1	1/1
136	1/2	1/1	1/2
137	2/2	1/1	1/1
138	1/1	1/2	1/1
139	1/1	1/2	1/2
140	1/2	1/1	1/2
141	2/2	1/1	1/1
142	1/1	2/2	1/1
143	1/1	1/1	1/1
144	1/1	1/2	1/1
145	1/1	1/2	2/2
146	1/2	1/1	1/1
147	1/2	1/2	1/1
148	1/1	1/1	2/2
149	1/2	1/1	2/2
150	1/1	1/1	1/1
151	1/1	1/1	1/1
152	1/2	2/2	2/2
153	1/2	2/2	1/1
154	1/1	1/1	1/2
155	1/1	1/2	1/1
156	1/2	1/1	2/2
157	1/2	2/2	2/2
158	1/1	1/1	1/2
159	2/2	1/1	1/1
160	1/1	1/1	1/2
161	1/2	2/2	2/2
162	2/2	1/1	1/1
163	1/1	1/1	1/2
164	1/1	1/2	2/2
165	1/1	1/1	1/1
166	1/1	1/1	1/2

Numara	TNF-α (-308)	PPARGP12A	Calpain 10 SNP-44
167	1/2	2/2	2/2
168	2/2	1/2	1/2
169	1/1	1/1	1/1
170	1/1	1/1	1/1
171	1/2	2/2	2/2
172	2/2	1/1	1/2
173	1/1	1/1	1/1
174	1/2	1/1	1/2
175	1/1	1/1	1/1
176	1/2	1/1	1/1
177	1/2	1/1	1/2
178	1/2	1/1	2/2
179	1/1	1/1	1/1
180	1/1	1/1	1/1
181	1/1	1/1	1/1
182	1/1	2/2	2/2
183	1/2	1/1	2/2
184	1/2	1/2	2/2
185	1/2	1/1	1/2
186	1/2	1/1	1/1
187	1/1	1/1	1/2
188	1/1	1/1	1/1
189	1/2	2/2	1/2
190	1/1	1/1	1/1
191	2/2	1/2	1/1
192	1/1	1/1	2/2
193	1/2	1/2	1/1
194	1/1	1/1	1/1
195	2/2	1/1	2/2
196	1/1	1/2	1/1
197	1/1	2/2	1/2
198	1/1	1/1	1/1
199	1/1	1/2	2/2
200	1/1	1/2	1/1
201	1/1	1/1	1/1
202	1/1	1/1	1/2
203	1/1	2/2	1/2
204	1/1	1/1	1/2
205	1/1	1/1	1/2
206	2/2	1/2	1/1
207	1/1	1/1	1/1
208	1/1	1/2	2/2

Numara	TNF-α (-308)	PPARGP12A	Calpain 10 SNP-44
209	1/1	1/1	1/2
210	2/2	2/2	2/2
211	1/1	1/1	1/2
212	1/1	1/1	1/1
213	1/2	1/1	1/1
214	1/2	1/2	2/2
215	1/1	1/2	1/2
216	1/2	1/1	1/2
217	2/2	2/2	1/1
218	1/1	1/1	1/2
219	1/1	1/1	1/1
220	1/1	1/2	2/2
221	2/2	1/1	1/1
222	1/2	1/2	2/2
223	1/1	1/1	1/1
224	1/1	1/1	1/2
225	1/2	2/2	1/2
226	1/1	1/1	1/2
227	1/1	1/2	1/1
228	2/2	1/1	1/1
229	2/2	2/2	2/2
230	1/2	1/1	1/1
231	1/2	1/2	1/2
232	2/2	1/1	1/2
233	1/1	1/1	1/2
234	1/1	1/2	1/1
235	1/2	1/1	1/1
236	1/2	1/1	1/2
237	1/1	2/2	1/2
238	2/2	1/1	1/1
239	1/2	1/2	1/2
240	1/1	1/2	1/1
241	1/2	1/2	1/2
242	1/1	1/1	1/1
243	2/2	1/1	1/1
244	1/1	2/2	2/2
245	1/2	1/1	1/1
246	1/2	1/2	1/1
247	1/2	1/1	1/2
248	1/1	2/2	1/1
249	2/2	1/2	1/2
250	1/1	2/2	1/1

Numara	TNF-α (-308)	PPARGP12A	Calpain 10 SNP-44
251	2/2	1/1	2/2
252	1/2	1/2	1/1
253	1/1	1/1	1/1
254	1/1	2/2	2/2
255	2/2	1/1	1/1
256	1/2	1/2	1/1
257	1/2	1/1	1/2
258	1/2	1/2	1/1
259	1/2	1/1	1/1
260	1/1	1/1	1/1
261	2/2	1/1	1/2
262	1/2	1/2	1/1
263	1/1	1/1	1/1
264	1/2	1/1	1/1
265	1/1	1/1	1/1
266	1/1	1/2	1/1
267	2/2	1/1	2/2
268	1/1	1/1	1/2
269	1/1	2/2	1/1
270	1/2	1/1	1/1
271	1/1	1/1	1/2
272	1/1	2/2	1/1
273	2/2	1/1	1/1
274	1/2	2/2	2/2
275	1/1	1/1	1/1
276	1/2	1/1	1/1
277	1/1	1/2	1/2
278	1/1	1/2	1/2
279	1/1	1/1	1/2
280	2/2	1/2	1/2
281	1/1	1/1	1/1
282	1/2	2/2	1/1
283	1/1	1/1	1/1
284	1/1	2/2	2/2
285	1/1	1/1	1/1
286	2/2	1/1	1/1
287	1/1	2/2	2/2
288	1/2	1/1	1/1
289	1/2	1/1	1/1
290	1/1	1/1	1/1
291	1/1	1/2	2/2
292	1/1	1/2	2/2

Numara	TNF- α (-308)	PPARGP12A	Calpain 10 SNP-44
293	1/1	2/2	1/1
294	2/2	2/2	2/2
295	1/2	1/1	1/1
296	1/2	1/1	1/2
297	1/1	1/2	1/1
298	2/2	2/2	2/2
299	1/1	2/2	2/2
300	1/1	1/1	1/1
301	1/1	1/1	1/1
302	2/2	1/1	2/2
303	1/1	1/1	1/1
304	1/1	2/2	2/2
305	1/2	1/1	1/1

TNF- α , PPARG ve Calpain 10 genlerinde saptanan genotipik bulgulardan hareketle gözlenen polimorfizmlere bağlı olarak alel frekansları da hesaplanmıştır (Çizelge 3.7).

Çizelge 3.7. İncelenen Gen Polimorfizmlerine Göre Hesaplanan Alel Frekansları

Alel	Alel Frekansı		
	TNF- α (-308)	PPARGP12A	Calpain 10 SNP-44
Kontrol Grubu			
1/1	0,86	0,91	0,83
2/2	0,14	0,09	0,17
Hasta Grubu			
1/1	0,64	0,71	0,63
2/2	0,36	0,29	0,37

Bunun dışında incelenen gen bölgelerine göre gözlenen polimorfizm sayıları üzerinden her bir bölge için OR (odds ratio-göreceli olasılık oranı) ve %95 CI (güvenlik aralığı) değerleri de hesaplanmıştır. Çizelge 3.8’de yabancı tip, heterozigot tip ile homozigot mutant tip birey sayıları ve hesaplanan OR ve %95 CI değerleri gösterilmiştir.

Çizelge 3.8. Genotip Dağılım Sayıları ve Hesaplanan OR/ %95 CI Değerleri

Bölge	1/1 Aleli (%)	1/2 veya 2/2 Aleli (%)	Toplam	OR * (%95 CI)
TNF-α-(308)				
Kontrol	115 (76,7)	35 (23,3)	150	1,00
Hasta	147 (48,2)	158 (51,8)	305	3,53 (2,2745 - 5,4835)*
PPARGP12A				
Kontrol	128 (85,3)	22 (14,7)	150	1,00
Hasta	177 (58,0)	128 (42,0)	305	4,21 (2,5360 - 6,9808)*
Calpain 10 SNP-44				
Kontrol	109 (72,7)	41 (27,3)	150	1,00
Hasta	151 (49,5)	154 (50,5)	305	2,71 (1,7753 - 4,1409)*

* p <0,001

Çizelge 3.8’de görüldüğü gibi hasta grubu ve kontrol grubu arasındaki polimorfizmlerin olası etkisi incelendiğinde, hastalık gelişimi üzerine incelenen üç bölge polimorfizminin de istatistiksel olarak anlamlı etkilediği saptanmıştır ($p<0,001$). TNF α (-308) sitokin gen polimorfizminin Tip-2 diyabet gelişimi açısından hastalık riskini 3,53 kat arttırdığı gözlenmiştir. Benzer şekilde PPARGP12A gen polimorfizminin de Tip-2 diyabet gelişmesi riskini 4,21 kat arttırdığı bulunmuştur. Diğer iki bölge sonuçlarına benzer şekilde Calpain 10 SNP-44 gen polimorfizminin de hastalık gelişme riskini 2,71 kat arttırdığı bulunmuştur.

4. TARTIŞMA

Günümüzde Tip-2 DM hastalığının görülme sıklığı sürekli artarak toplumun büyük bir kısmında sorun oluşturmaktadır. Diyabet Türkiye’de ve tüm dünyada sürekli artan insidansı ile en önemli morbidite ve mortalite nedeni olarak yaygın halk sağlığı sorunları arasında yer alır. Kronik komplikasyonlar geliştikten sonra tedavi oldukça zorlaşmakta ve sağlık harcamalarında diyabetik hastalara düşen pay daha fazla olmaktadır. HbA1c’deki her %1’lik artış, tıbbi bakım harcamalarını %7 arttırmaktadır. Kronik komplikasyonların ortaya çıkışının önüne geçilmesi diyabetik hastanın yaşam kalitesinin iyileştirilmesi ve sağlık harcamalarının azaltılabilmesi için en önemli faktör etkin glisemik kontrolün sağlanmasıdır (Doğan, 2008).

Diabetes Mellitus (DM) insülinin mutlak veya göreceli eksikliği ya da insülin direnci ile oluşan, hiperglisemi ile karakterize, karbonhidrat, protein, lipid metabolizmalarının bozukluğu ile seyreden kronik ve ilerleyici bir hastalıktır. Giderek artan görülme sıklığı ve sebep olduğu komplikasyonlar ile çok geniş kitleleri ilgilendiren bir sağlık sorunudur ve epidemiden söz edilmeye başlanmıştır (Karatoprak, 2012).

T2DM çevresel ve genetik faktörlerin etkileşimi sonucu ortaya çıkan küresel bir sağlık problemidir. Genetik özellikler bireyler arasında farklılık gösterir bunun sebebi de kişide meydana gelen varyasyonlardır. Tek nükleotid polimorfizmlere (SNP) bağlı olarak birbirinden farklı alel grupları oluşur ve hastalıklara karşı farklı yanıtlar verilir. Yabanıl, heterozigot, homozigot mutant olma özelliklerine göre farklı miktarda sitokin oluşarak hastalıklara karşı verdiğimiz tepkiler birbirinden farklı olur.

İnsülin direnciyle TNF- α , IL-6 ve C-reaktif protein gibi inflamasyondaki birçok biyomarkırın ilişkili olduğu ve Tip 2 diyabetin gelişimini önceden haber verdiğini göstermiştir. Bunun yanında; proinflamatuvar sitokinlerin, iskelet kası,

karaciğer ve adipoz dokuda insülin sinyal iletimini inhibe ederek, insülin direncine neden olabileceği de belirtilmiştir (Çoban, 2019).

Sitokinler pek çok hücre tarafından salgılanan ve immün yanıtı değiştirebilme yeteneğine sahip küçük hücre sinyal protein molekülleridir. Yaptığımız çalışmada TNF- α , Calpain 10 ve PPAR γ sitokinlerinde meydana gelen gen varyasyonlarının Türk popülasyonunda Tip-2 DM hastalığının gelişmesine etkisi incelenmeye çalışılmıştır.

TNF- α , doku hasarı ya da fiziksel stres sonrası kanda ilk saptanabilen sitokin olup birçok otoimmün hastalıkta inflamasyonun başlamasında ve devam ettirilmesinde önemli özellikleri bulunmaktadır. TNF- α 'nın (-308) gen lokusunda görülen polimorfizmlerin Tip-2 DM ile ilişkisine bakıldığında bazı çalışmalarda diyabet oluşumu üzerine etkisi olmadığı öne sürülse de heterozigot TNF- α (-308) gen varyantının Tip-2 diyabette metabolik sendrom oluşumu açısından önemli bir risk faktörü iken koroner arter hastalığı oluşumunda koruyucu bir rol oynadığı düşünülmektedir (Sobti ve ark., 2011). Bizim çalışmamızda ise Tip-2 DM hastalık riskini 3,53 kat arttırdığı gözlenmiştir. Bu sonuç Türk popülasyonunda TNF- α (-308) sitokin gen polimorfizmi diyabet üzerine etkisini aydınlatması bakımından önemlidir.

Aynı şekilde daha önce yapılan çalışmalarda Calpain-10 (SNP-44) gen lokusunda meydana gelen polimorfizmin Tip-2 DM'ye duyarlılık oluşturduğu gösterilmişti. Yapılan başka bir çalışma ise SNP-44 T allel frekansı Calpain-10 (SNP-44) gen polimorfizminin bir Türk popülasyonunda Tip-2 diyabet hastalarda T2DM ve yüksek VKI gelişiminde bir risk faktörü olarak kabul edilebileceği sonucuna varmıştır (Demirci ve ark., 2008). Bizim çalışmamız ile benzer şekilde Türk popülasyonunda 118 Tip-2 DM hastası ve 93 sağlıklı birey ile yapılan çalışmada Calpain-10 geninin SNP-19, 44, 63 mutasyonlarının diyabet gelişimi ile ilişkilendirildiği ortaya

konulmuştur (Arslan ve ark., 2014). Bizim çalışmamız ile Calpain 10 (SNP-44) gen polimorfizminin hastalık gelişme riskini 2,71 kat arttırdığı bulunmuştur.

PPARG genindeki Pro12Ala polimorfizminin adipozite ve insülin direnci aracılığıyla, metabolik sendrom riskini etkileyebildiği yapılan farklı çalışmalarla ileri sürülmektedir. Yapılan bir çalışmada PPARGP12A'nın vücut kitle indeksi yüksek bozulmuş glikoz toleransı olan kişilerde diyabet riskini arttırdığı sonucuna varılmıştır (Florez ve ark., 2007). Bu çalışmamızda PPARGP12A gen lokusundaki polimorfizminin de Tip-2 diyabet gelişmesi riskini 4,21 kat arttırdığı bulunmuştur.

Bu çalışmaların yanı sıra hasta ve kontrol grubunda bakılan diyabet hastalığının olası risk faktörleri arasında sayılan Vücut Kitle İndeksi (VKİ), yaş, sigara içimi, HbA1c, AKŞ, trigliseritler, total kolesterol, HDL, LDL, VLDL ve albumin/kreatinin oranının parametrelerinin çalışmamızda hastalığın üzerindeki olası etkisine bakıldığında HbA1c ve trigliseritler ile VKİ, LDL ve VLDL Tip-2 diyabet hastalığının gelişiminde önemli risk faktörleri olarak bulunmuştur.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Diabetes Mellitus (DM), insülin salınımı, insülin etkisi veya bu faktörlerin her ikisinde de bozukluk nedeniyle ortaya çıkan hiperglisemi ile karakterize kronik metabolik bir hastalıktır. Çevresel ve genetik faktörlerin etkisi ile ortaya çıkan, komplikasyonlara sebep olan ve bunun sonucunda tüm dünyada mortalite ve morbidite nedenlerinin başında gelir. Diyabet ve komplikasyonların oluşumunda, oksidatif stres ile sitokin üretimi ve salınımındaki artış sonucu oluşan enflamasyonun çok büyük önemi olduğunu gösterilmektedir.

Tip-2 DM hastalığında rol oynayan en önemli sitokinlerden TNF- α (-308), Calpain 10 SNP-44, PPARG (P12A) gen polimorfizmleri incelenmiştir. 150 sağlıklı kontrol grubunun ve 305 hastanın dahil olduğu projede alınan kan numuneleri üzerinde genotipik analizler yapılmıştır. Demografik özellikler, biyokimyasal parametreler de incelenerek hasta ve kontrol grubu arasındaki değişiklikler analiz edilmeye çalışılmıştır. Bu veriler incelendiğinde TNF- α (-308), Calpain 10 SNP-44, PPARGP12A gen polimorfizmlerinin Türk popülasyonunda hastalık gelişimini üzerine etkisi olduğu sonucuna varılmıştır.

Bütün bu çalışmanın sonunda diyabet ve diğer hastalıkların gelişimi ve dünyadaki dağılımında bireysel, çevresel ve etnik farklılıkların önemli bir rol oynadıkları düşünüldüğünde Türk toplumunda belirtilen sitokin gen polimorfizmlerinin diyabet gelişimine olası etkileri üzerine yapılmış bu çalışma önem kazanmıştır. Çalışmamız, ilerleyen zamanlarda buna benzer çalışmaların artması ile genetik varyasyonların hastalık üzerine etkisinin daha anlaşılır hale gelmesine katkı sağlayacaktır. Bu konuda yapılacak daha geniş kapsamlı çalışmalar, hastalığın önlenmesi, tanı ve yeni tedavi yöntemlerinin bulunmasında önemli rol oynayacaktır.

ÖZET

Bir Grup Türk Tip II Diyabet Hastalarında Bazı Gen Varyasyonlarının (TNF α , PPARG, Calpain 10) Hastalık Gelişimi Üzerine Olası Etkilerinin İrdelenmesi

Tip II Diabetes Mellitus (T2DM) en çok görülen diyabet şeklidir. Genelde 30 yaş üzerinde ortaya çıkar. Ancak obezite sıklığının artmasına bağlı olarak adölesan dönem dahil olmak üzere daha genç yaşlarda da Tip 2 diyabet hastalığı görülebilmektedir.

Günün herhangi bir vaktinde ölçülen kan şekerinin 200 mg/dL'nin üstünde olması, açlık kan şekerinin 126 mg/dL veya üstünde olması, 75 g glukoz çözeltisi kullanılarak yapılan şeker yüklemesi testinden sonraki 2. saatte kan şekeri düzeyinin 200 mg/dL veya üstünde olması, HbA1c (Son üç aylık şeker ortalaması) değerinin 6,5 mg/dL'nin üzerinde olması durumlarından herhangi birinin varlığı kişinin T2DM hastası olduğunu gösterir.

T2DM çevresel ve genetik faktörlerin etkileşimi sonucu ortaya çıkan küresel bir sağlık problemidir. Diyabet Türkiye'de ve tüm dünyada sürekli artan insidansı ile en önemli morbidite ve mortalite nedeni olarak yaygın halk sağlığı sorunları arasında yer alır.

Yapılan çalışmalar diyabet ve komplikasyonların oluşumunda, oksidatif stres ile sitokin üretimi ve salınımındaki artış sonucu oluşan enflamasyonun çok büyük önemi olduğunu göstermektedir. Sitokinler, hücre içi sinyalleri gönderen spesifik hücre yüzey reseptörleri sayesinde biyolojik fonksiyonlarını gösteren ve çeşitli hücre tipleri tarafından üretilen, hormonlara benzeyen peptid veya glikoprotein yapısındaki medyatörlerdir. Diyabet gibi pek çok hastalığın etiyolojisinde inflamasyon yatmaktadır ve sitokinler de bu hastalıkların gelişiminde rol oynar hale gelirler.

Bu çalışmada Tip-2 DM teşhisi konmuş 305 hasta ve 150 sağlıklı kontrol grubu seçilmiş PCR ve RFLP protokolleri uygulanmış elde edilen sonuçlar SPSS kullanılarak istatistiksel analizleri yapılmıştır. TNF- α , PPARG, Calpain 10 gen polimorfizmleri çalışılmış ve hastalık gelişimi ile ilişkili bulunmuştur. TNF- α (-308) 3,53 kat, PPARGP12A 4,21 kat, Calpain 10; 2,7 kat diyabet gelişimini arttırmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Calpain 10, PPARG, TNF- α gen polimorfizmleri, Tip II Diyabet.

SUMMARY

Investigation of Possible Effects of Some Gene Variations (TNF α , PPARG, Calpain 10) on Disease Development in a Group of Turkish Type II Diabetes Patients

Type II Diabetes Mellitus (T2DM) is the most common form of diabetes. It usually occurs over the age of 30. However, due to the increase in obesity, type 2 diabetes can be seen at younger ages, including adolescence.

A blood glucose level above 200 mg/dL measured at any time of the day, a fasting blood glucose level of 126 mg/dL or higher, a blood glucose level of 200 mg/dL or higher in the 2nd hour after a glucose load test using 75 g glucose solution, HbA1c (Last three months average sugar) value above 6,5 mg/dL, the presence of any of them indicates that the person has T2DM.

T2DM is a global health problem resulting from the interaction of environmental and genetic factors. Diabetes is among the common public health problems as the most important cause of morbidity and mortality with its ever-increasing incidence in Turkey and all over the world.

Studies show that inflammation, which occurs as a result of oxidative stress and the increase in cytokine production and release, is of great importance in the formation of diabetes and its complications. Cytokines are mediators in peptide or glycoprotein structure similar to hormones, produced by various cell types and showing their biological functions thanks to specific cell surface receptors that send intracellular signals. Inflammation lies in the etiology of many diseases such as diabetes, and cytokines also play a role in the development of these diseases.

In this study, 305 patients diagnosed with Type-2 DM and 150 healthy control groups were selected, PCR and RFLP protocols were applied, and the results were statistically analyzed using SPSS. TNF- α , PPARG, Calpain 10 gene polymorphisms have been studied and found to be associated with disease development. TNF- α (-308) 3,53 fold, PPARGP12A 4,21 fold, Calpain 10; It increases the development of diabetes 2,7 times.

Keywords: Calpain 10, PPARG, TNF- α gene polymorphism, Type II Diabetes.

KAYNAKLAR

- ADA (2006). Standards of medical care in diabetes. *Diabetes care* **29(Supplement 1)**: 1-39.
- ADA (2014) Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, **37(Supplement 1)**: 81-90.
- AKDOĞAN M, YÖNTEM M (2018). Sitokinler, *Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi*, **3(1)**:36-45.
- ARAL Y (2019). Diabetik Ketoasidoz (DKA) ve Hiperglisemik Hiperosmolar Sendrom(HHS). *Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Kliniği*, 26. *Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Kongresi*, Ankara **40**:1-9.
- ARAZ M (2016). Diyabetik Ketoasidoz ve Hiperglisemik Hiperosmolar Durum Tedavisi. *Endokrin ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı, Türkiye Klinikleri*, **9(2)**: 89-93.
- ARPACI D, EMİNLER AT, GÜRKAN A, USLAN Mİ, PARLAK E (2014). Ekzokrin Pankreas Hastalıkları ve Diabetes Mellitus. *Sakarya Eğitim ve Araştırma Hastanesi*, **18(2)**:1-6.
- ARSLAN İE (2010). Türk Popülasyonunda Calpain-10 Gen Polimorfizminin Sıklığı ve Bu Polimorfizmlerin Tip 2 Diabetes Mellitus Gelişimine Etkisi. *Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı*, **22-28**.
- ARSLAN E, ACİK L, GUNALTILI G, AYVAZ G, ALTINOVA AE, ARSLAN M, (2014). The effect of calpain-10 gene polymorphism on the development of type 2 diabetes mellitus in a Turkish population, *Endokrinoloji Pol.* **65(2)**:90-5.
- ATASOY A, ATAY A, AHBAB S, HANEDAR M, YENİGÜN M (2014). Diyabetik Nefropati'ye Genel Bir Bakış. Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İç Hastalıkları Kliniği, *Derleme*:16-19.

BAYRAM E.H, ELÇİOĞLU H.K (2016). Diyabetik Nöropatiye Güncel Tedavi Yaklaşımları. *Marmara Pharmaceutical Journal* **20**: 252-262.

BOUHAHA R, BAROUDİ T, ENNAFAA H, VAİLLANT E, ABİD H, SASSİ R, VATİN V, FROGUEL P, EL GAAİED A.B, MEYRE D, VAXİLLAİRE M(2010) Study of TNF- α -308G/A and IL6 –174G/C polymorphisms in type 2 diabetes and obesity risk in the Tunisian population. *Clinical Biochemistry*,**43**:549-552.

BURACZNNSKA M, WACİNSKİ P, STEC A, KUCZMASZEWSKA A (2013). Calpain-10 gene polymorphisms in type 2 diabetes and its micro- and Macrovascular complications. *Journal of Diabetes and Its Complications*,**27**:54-58.

BÜYÜKÖZTÜRK K (2007). İç Hastalıkları **5**. *İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri*.

BÜYÜKTUNCER Z, KÖKSAL G, DAĞDELEN S, GEYİK P.Ö, İŞILDAK M, ERBAŞ T (2010). Metabolik Sendromda Peroksizom Proliferator- Aktive Edici Gamma (PPAR γ) Pro12Ala Genotipinin Sendrom Bileşenlerine Etkisi ve Diyet ile Etkileşimi, *Türk Jem* 2010; **14**: 54-9

CAMCIOĞLU Y (2013). Bağışık Sistemi ve Yetersizlikleri, *İ.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi*, **8**:17-28.

CHALLİS BG, MİLİNGTON GWM (2013). Proopiomelanocortin Deficiency, *University of Washington* 4-11.

CYTOKİNE NETWORK (2020). Erişim: <https://www.abecomics.com/cytokine-network>

ÇAKIR I (2013). Mide Kanserli Olgularda Kan ve Mide Leptin Seviyesi ile Mide Leptin Reseptör, Kan Solubl Leptin Reseptör, Tnf-A, Il-6 Ve Solubl Il-1 Decoy (Tuzak) Reseptör Seviyelerindeki Değişim. *Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı*, **26-30**.

ÇAYAKARA (2018). Nedir Bu Tümör Nekrozis Faktör Alfa? *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, **3(2)**:62-76.

ÇEVİKER T, SAMETOĞLU F, AKSOY F, ÖZDEMİR AT, TUHRAL C, ARAL H,

GÜVENEN G (2008). Tip II Diyabete Bağlı Komplikasyonlarda TNF- α ve CRP'nin İnflamatuvar Belirteç Olarak Değerlendirilmesi. *İstanbul Tıp Dergisi* **1**:58-60.

- ÇOBAN N (2019). İnterlökin -6 (İl-6) Gen Varyantlarının Tip-2 Diyabet Hastalığı ile Yatkinlığının Araştırılması, Artvin Çoruh Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, *Uzmanlık Tezi*, Artvin.
- ÇOLAK R (2016). Hipoglisemi, Derleme, Endokrin ve Metabolizma Hastalıkları BD. *Türkiye Klinikleri*, **9 (2)**:56-65.
- DELİGEZER U., AKIŞIK E.E., DALAY N. (2004). Gen Polimorfizm Analizinde LightCycler Floresan PCR Tekniğinin Kullanılması: Myeloid Lösemili Çocuk ve Yetişkin Hastalarda MTHFR C677T Gen Polimorfizm Dağılımının Belirlenmesi, *Türk Onkoloji Dergisi*, 19:4
- DIK B, BAHCIVAN E, ESER H, UNEY K (2018). CombinedTreatmentwith Interlukin-1 and Tumor Necrosis Factor-Alpha Antagonists Improve Type 2 Diabetes in Rats, *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* **96(8)**:1-8.
- DOĞAN D (2008). Tip 2 Diyabetli Hastalarda Eğitim Düzeyi ile Diyabet BaşlangıçYaşı, Vücut Kitle İndeksi, Hba1c Düzeyi ve Mikroanjiopatik Komplikasyonların Karşılaştırılması, Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği, *Uzmanlık Tezi*, İstanbul.
- DURNA Z. Diyabetin Sınıflandırılması ve Tanı Kriterleri. Ed: Erdoğan S. Diyabet Hemşireliği, İstanbul, 2002;11-19.
- ECEMİŞ G, KAN E, ATMACA H, ÇOLAK R, ATMACA A (2012). Gençlikte Ortaya Çıkan Erişkin Tip Diyabet. *Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları BD, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi*, **23**:1-6.
- FLOREZ J.C, JABLONSKI K.A, SUN M.W, BAYLEY N, KAHN S.E, SHAMOON H, HAMMAN R.F, KNOWLER W.C, NATHAN D.M, ALTSHULER D (2007). Effects of the Type 2 Diabetes-Associated PPARG P12A Polymorphism on Progression to Diabetes and Response to Troglitazone, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Volume **92**:4.
- GÜNER İ, ÖZMEN D, BAYINDIR O (1997). Sitokinler, *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, **17**:65-74.
- GÜNEŞ H (1999). Sitokinlerin Hücre Döngüsü Üzerinde Etkileri, *TÜBİTAK*, **23**: 283-292.

- GUVENÇ A (2014). Enflamatuvar Sitokin Gen Polimorfizmlerinin Tip 2 Diyabet ve Komplikasyonları Üzerine Olan Etkilerinin Araştırılması. *Farmasötik Bilimleri Enstitüsü*, **20-49**.
- HATANAKA E, MONTEAGUDO P.T, MARROCOS S.M, CAMPA A (2006). Neutrophils And Monocytes As Potentially Important Sources Of Proinflammatory Cytokines İn Diabetes. *Clinical and Experimental Immunology*, **146**: 443–447.
- HATUN Ş, ÇİZMECİOĞLU F, ÇALIKOĞLU AS (2006). Çocukluk Çağında Diyabetik Ketoasidoz ve Tedavisi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, **49**:50-59.
- HEGELE RA, CAO H, HARRIS SB, ZINMAN B, HANLEYS AJG, ANDERSON CM (2019). Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-g2 P12A and Type 2 Diabetes in Canadian Oji-Cree.The *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **85(5)**:1-6.
- HUANG D, REFAAT M, MOHAMMEDİ K, JAYYOUSİ A, SUWAİDİ J.A, KHALİL C.A (2017). Macrovascular Complications in Patients with Diabetes and Prediabetes. Derleme, *BioMed Research International*, **1-9**.
- HU C, ZHANG R, WANG C, WANG J, MA X, LU J, QİN W, HOU X, WANG C, BAO Y, XIANG K, JIA W (2009) PPARG, KCNJ11, CDKAL1, CDKN2A-CDKN2B, IDE-KIF11-HHEX, IGF2BP2 and SLC30A8 Are Associated with Type 2 Diabetes in a Chinese Population, *Plos One*, **4(10)**:1-6.
- IDF (İnternational Diabetes Federation) (2017). *Diabetes Atlas*, **8.edition**.
- İNAN S (2014). Diabetik Retinopati ve Etiyopatogenezi. Afyon Devlet Hastanesi, Göz Hastalıkları Kliniği, *Kocatepe Tıp Dergisi*, **15(2)**:207-17
- JAMİL K, JAYARAMAN A, AHMAD J, JOSHI S, YERRA SK (2017). TNF-alpha 308G/A and -238G/A polymorphisms and its protein network associated with type 2 diabetes mellitus. *Saudi J biol Sci*, **24(6)**: 1195-1203.
- KAHRİMAN C (2015). Tip II Diyabetli Hastalarda G Protein B3 C825t ve C1429t Gen Polimorfizminin Diyabetik Nefropati Gelişmesindeki Rolünün Araştırılması. *Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi*, 3-16.

- KARATOPRAK Ö (2012). Tip2 Diyabet Hastalığında Mdr1 Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, *Uzmanlık Tezi*, İstanbul.
- KAVAKLI B, SARGIN M, GÜMÜŞ M (1998). Diabetes Mellitus'un Akut Metabolik Komplikasyonları-III: Laktik Asidoz, *Kartal Eğitim ve Araştırma Klinikleri*, **9**:1-4.
- KAYA D.E (2012). Konya Bölgesinde Tip 2 Diabetes Mellitus Hastalarında TCF7L2 (Transcription factor 7 like-2) Gen Polimorfizmlerinin Taranması ve Hastalık ile İlişkilerinin Ortaya Konulması. *Selçuk Üniversitesi,Doktora Tezi*, Konya 5- 30.
- KAYA D, ARIKOĞLU H, KAYIŞ S, ÖZTÜRK O, GÖNEN M (2017). Transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene polymorphisms are strong predictors of type 2 diabetes among nonobese diabetics in the Turkish population, *Turkish Journal of Medical Sciences*, **47**:22-28.
- KESKİN Ö, BALCI B (2011). Diabetes Mellitus ve Kardiyovasküler Komplikasyonlar. Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, *Kafkas J Med Sci*, **1(2)**:81–85.
- KISHIMOTO T, TAGA T, AKIRA S (1994). Cytokine Signal Transduction. *Cell*, **76**:253-262.
- KİNG G.L (2008).The Role of Inflammatory Cytokines in Diabetes and Its Complications.*Journal of Periodontology*, Vol: **79 (85)**: 1527-1534.
- KUBASZEK A, PIHLAJAMAKI J, KOMAROVSKI V, LINDI V, LINDSTRÖM J, ERİKSSON J, VALLE TT, HAMALAINEN H, PARIKKA PL, KIUKAANNIEMI SK, TUOMILEHTO J, UUSITUPA M, LAAKSOM (2003). Promoter polymorphisms of the TNF-alpha (G-308A) and IL-6 (C-174G) genes predict the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes: the Finnish Diabetes Prevention Study.*Multicenter Study*, **52(7)**:1872-6.

- KURU M (2009). Diyabetik Nefropati Oluşturulmuş Ratlarda Pioglitazonun Antioksidan Parametrelere ve Patolojik Süreçlere Etkileri. *Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı*, 3-10.
- KURT M, ATMACA A, GÜRLEK A (2004). Diyabetik Nefropati, *Hacettepe Tıp Dergisi*, **35**:12-17.
- LECHER J, O'LEARY O.E, STİTT A.W (2017). The Pathology Associated With Diabetic Retinopathy. *Vision Research*,**139**: 7-14.
- NADOLNÍK K, SKRYPNÍK D, SKRYPNÍK K, BOGDANSKÍ P (2018). Diabetic Nephropathy In The Elderly- Clinical Practice. *Poznan University of Medical Sciences, Rocz Panstw Zakl Hig*, **69(4)**:327-334.
- NISHIMOTO N, KISHIMOTO T, YOSHIZAKI K (1999). Anticytokine Therapy in Autoimmune Diseases. *The Department of medical Science I, School of health and Sport Sciences, Osaka University, Internal Medicine* **38(2)**: 178- 182.
- ÖNALAN E (2015). Tip 2 Diabetes Mellitus Hastalarında Neurogenin 3 ve Sirtuin 1 Gen Polimorfizmi ve Gen Ekspresyonu'nun Patogenezdeki Rolünün İncelenmesi. *Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi*. Elazığ 4-35.
- ÖZDEMİR H (2012). Konya Bölgesi Tip 2 Diabetes Mellitus Hastalarında Calpain-10 Geninin Hastalık ile İlişkisinin Araştırılması. *Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi*,**15-24**.
- PACILLÌ A, PURUDENTE S, COPETTÌ M, FONTANA A, MERCURÌ L, BACCÌ S, MARUCCÌ A, ALBERICO F, VITÌ R, PALENA A, LAMACCHIA O, CIGNARELLI M, DE COSMO S, TRISCHITTA V (2016). The PPAR γ 2 P12A polymorphism is not associated with all-cause mortality in patients with type 2 diabetes mellitus. *Endocrine*,**54(1)**:38-46.
- PANÍCO P, SALAZAR AM, BURNS AL, WEGMAN PO (2014). Role of Calpain-10 in the Development of DM and Its Complications. *Archives of Medical Research*,**45**:103-115.

PATEL R, DWIVEDI M, MANSURI M, ANSARULLAH, LADDHA N, THAKKERA,

RAMACHDRAN A.V, BEGUM R. (2016) Association of Neuropeptide-Y (NPY) and Interleukin-1beta (IL1B), Genotype-Phenotype Correlation and Plasma Lipids with Type-II Diabetes. *PLoS One* .**11 (10)**: e0164437.

REŞİTOĞLU E (2007). Tip 2 Diyabetes Mellitusta Serum Vegf Düzeyleri ile Kan Basıncı, Albüminüri, Sitokinler ve Serum Kreatinin Arasındaki İlişki. *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı*.

ROGLİC G, (2016) WHO Global report on diabetes: A summary. *Department for Management of Noncommunicable Diseases, Disability, Violence and Injury Prevention, World Health Organization, 1211 Geneva, Switzerland*,**1(1)**:3-8.

SAÇU D (2008). Deneysel olarak fibrosarkoma oluşturulan ratların serumlarında interleukin-6 ve tümör nekrosis faktör alfa düzeylerinin belirlenmesi, *Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı*, 18-25.

SIRMALI R, KOCA Y, ERDEN G, AYDIN Y, BERKER D, GÜLER S (2008). Tip 2 Diyabetli Bireylerde Mthfr C677T ve A1298C Gen Polimorfizmleri ile Diyabetik Retinopati Arasındaki İlişkinin İncelenmesi. *Türk Biyokimya Dergisi*,**33(2)**: 71-76.

SHAMANSUROVA Z (2020). Tumor Necrosis Factor Alpha: Role in the Development of Obesity and Diabetes Mellitus. *Asya Biyokimya Genetik ve Moleküler Biyoloji Dergisi*, **4(3)**:29-42.

SWAROOP J.J, RAJARAJESWARİ D, NAIDU J.N (2012). Association of TNF- α with insulin resistance in type 2 diabetes mellitus, *Indian Journal of Medical Research*,**135(1)**:127-130.

ŞATIR E (2008). Premiks %25 İnsülin Lispro Protamin/Lispro ve Premiks %50 İnsülin

Lispro Protamin/Lispro Karışım İnsülin Tedavilerinin Diyabetik Hastalarda Metabolik Kontrol Üzerine Olan Etkinliklerinin Değerlendirilmesi. *İstanbul Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Uzmanlık Tezi*, İstanbul 3-49.

ŞEN M (2006) Tip 2 Diyabet Tedavisinde İnsülin Duyarlılık Artırıcı İlaçların Yeri. *Ankara Üniversitesi.Dönem Projesi*,Ankara 3-25.

- ŞENOL Ş.P, TUNÇTAN B (2015). Peroksizom Proliferatör ile Etkinleştirilen Reseptörlerin İnsülin Direnci ve Septik Şok Patojenezindeki Rolü. *Mersin Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Ana Bilim Dalı*,**5(4)**:247-258.
- TERZİ M, CENGİZ N, ONAR M.K (2004). Diyabetik Nöropati. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, *O.M.Ü Tıp Dergisi*,**21(1)**:39-49.
- TDP (Türkiye Diyabet Programı) 2015-2020, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, (2015).
Erişim:https://extranet.who.int/ncdccs/Data/TUR_D1_T%C3%BCrkiye%20Diyabet%20Program%C4%B1%202015-2020.pdf
- TDV (2010). Diyabet 2020 Vizyon Hedefler, Ulusal Diyabet Stratejisi Sonuç Dokümanı (2010-2020).
Erişim:http://www.nefroloji.org.tr/folders/file/Diyabet_2020_Sonuc_Dokumani.pdf
- TDV (Türkiye Diyabet Vakfı) (2013). Ulusal Diyabet Konsensus Grubu. Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi, *Türkiye Diyanet Vakfı*.
- TDV (Türkiye Diyabet Vakfı) (2017). Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi. *Ulusal Diyabet Konsensus Grubu, Türkiye Diyabet Vakfı*.
- TEMĐ (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği) Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu.
- VOLMER M, LOBMANN R, LOBMANN T (2016). Neuropathy and Diabetic Foot Syndrome. Clinic for Endocrinology, Diabetology and Geriatric Medicine, *Klinikum Stuttgart, International Journal of Molecular Sciences*.
- YALÇIN G (2014). Yeni Tespit Tip 2 Diabetes Mellituslu Hastalarda Pankreas Beta Hücre Rezervinin Değerlendirilmesi. *Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Uzmanlık Tezi*, İstanbul.
- XİANG K, FANG Q, ZHENG T, JİA W, WANG Y, ZHANG R, Lİ J, SHEN K (2001). The impact of calpain-10 gene combined-SNP variation on type 2 diabetes mellitus and its related metabolic traits. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Za Zhi*,**18(6)**:426-30.
- ZAHARNA M.M, ABED A.A, SHARİF F.A (2010). Calpain-10 Gene Polymorphism İn Type 2 Diabetes Mellitus Patients in the Gaza Strip. *Medical Principles and Practice*,**19**:457–462.

EKLER

Ek-1 Etik Kurul Kararı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU						
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Bir Grup Türk Tip II Diyabet Hastalarında Bazı Gen Varyasyonlarının Hastalık Gelişimi Üzerine Olası Etiklerinin İrdelenmesi				
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU						
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐		
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐		
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐		
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama				
	SIGORTA					
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ					
	BIYOLOJİK MATERİYEL TRANSFER FORMU					
	ILAN					
	YILLIK BİLDİRİM					
	SONUÇ RAPORU					
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ					
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:06-481-19	Tarih:25 Mart 2019				
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gereke, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplanmış etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.					
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI		KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU				
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu Prof.Dr.Mehmet MELLİ				
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişkisi	Katılım *	
Prof.Dr.Mehmet MELLİ	Farmakoloji	A.Ü.Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof.Dr.İrfan SOYKAN	Gastroenteroloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof.Dr.Serdar ÖZTÜRK	Tıbbi Biyokimya	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof.Dr. Levent YAZICIOĞLU	Kalp ve Damar Cerrahisi	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof.Dr.Şule ŞENGÜL	Nefroloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof.Dr.İnci İLHAN	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof.Dr.Serap SIVRI	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	H.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof.Dr.Zarife ŞENOCAK	Hukuk	A.Ü.Hukuk Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	
Prof.Dr.Banu ÇAKIR	Halk Sağlığı	H.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	
Doç.Dr.Derya GÖKMEN	Biyoistatistik	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç.Dr.Selami Koçak TOPRAK	Hematoloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	
Doç.Dr.Pınar HURİ	Biyomedikal Mühendisliği	A.Ü. Mühendislik Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	
Dr.Öğr.Üyesi Nüket KUTLAY	Tıbbi Genetik	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Dr.Öğr.Üyesi Önder İLGİLİ	Tıp Tarihi ve Etik	H.Ü.Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
İlhan BERKTAS	Matematik Mühendisliği	Türkiye Kömür İşletmeleri Genel Müdürlüğü	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Bir Grup Türk Tip II Diyabet Hastalarında Bazı Gen Varyasyonlarının Hastalık Gelişimi Üzerine Olası Etkilerinin İrdelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI
	AÇIK ADRESİ:
	TELEFON
	FAKS
	E-POSTA

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç.Dr.İlker ATEŞ			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Farmasötik Toksikoloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı			
	VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TUBİTAK vb. gibi kavnaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
FAZ 4		☐			
Gözlemsel ilaç çalışması		☐			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		☐			
In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		☐			
	İlaç dışı klinik araştırma	☐			
Diğer ise belirtiniz: Vaka-Kontrol					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ ☒	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐	

Ek-2 Olgu Rapor Formu

OLGU RAPOR FORMU

Tarih:....../....../.....

Adı ve soyadı:

Protokol no:

Yaş:

Cinsiyet:

Kilo:

Boy:

Sigara kullanımı: Evet ☐ Hayır ☐ Evet ise miktarı:.....adet/gün

Alkol kullanımı: Evet ☐ Hayır ☐ Evet ise miktarı:.....(sıklık ve miktar)

Dişabet tanısı: ☐ Var ☐ Yok ☐

Dişabet süresi (yıl, ay):

Kanıtlanmış Koroner Arter Hastalığı: Var ☐ Yok ☐

Hipertansiyon: Var ☐ Yok ☐

Hiperlipidemi: Var ☐ Yok ☐

Varsa aldığı DİĞER tanılar:

Kr. dişabet komplikasyonları:

Retinopati : Var ☐ Yok ☐

Nefropati Var ☐ Yok ☐

Nöropati Var ☐ Yok ☐

Başka kronik hastalıkları: ☐

Kullanılan ilaçlar:

Hasta veya yakınlarında bulunan kalıtsal hastalıklar:

Ailede dişabet öyküsü: Var ☐ Yok ☐

Diğer (pozitif sistemik muayene bulguları):

Rutin laboratuvar bulguları:

AKŞ: TKŞ: Hba1c: T. kolesterol: Trigliserid: HDL:

LDL: VLDL: Üre: Kreatinin:

Spot İdrarda Mikroalbumin/ Kreatinin Oranı :

Ek-3 Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

Verilen No:

Verilen Tarih:

Çalışmanın adı: Bir Grup Türk Tip II Diyabet Hastasında Bazı Gen Varyasyonlarının Hastalık Gelişimi Üzerine Olası Etkilerinin İrdelenmesi

Sorumlu araştırmacı: Doç.Dr. İlker Ateş

İş adresi:

(Hekimin Açıklaması)

Tip II Diyabet Hastalığına sahip bireylerde bazı gen polimorfizimlerinin (gen çeşitliliğinin) kalıtsal farklılıklarla hastalığın gelişimi ve şiddeti arasındaki olası ilişkileri saptamak üzere yeni bir araştırma yapmaktayız. Araştırmanın ismi “Bir Grup Türk Tip II Diyabet Hastasında Bazı Gen Varyasyonlarının Hastalık Gelişimi Üzerine Olası Etkilerinin İrdelenmesi”dir. Bu araştırmanın amacı Tip II Diyabetli hastalarda bazı biyolojik göstergelerin ölçülmesi ve bu göstergelere ait genlerin varyasyonlarının incelenerek hastalık üzerine olası etkisinin araştırılmasıdır.

Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Endokrin Hastalıkları Polikliniği’nde ve/veya servisinde TİP II Diyabet tedavisi görmeniz dolayısı ile sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak hemen söyleyelim ki bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız. Sizin de bu araştırmaya katılımınız araştırmanın başarısı için önemlidir.

Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz izniniz doğrultusunda kolunuzdan 5 ml. (1 tatlı kaşığı) hacminde kan almamız gerekmektedir. Bu 5ml’lik kandan genetik materyaliniz yani DNA örneğiniz elde edilecektir. Elde edilen bu DNA örneğinizde TİP II Diyabet hastası olanlarla olmayanlar arasında kalıtsal farklılıklar olup olmadığı araştırılacaktır. Elde edilen bilimsel sonuçlar bilimsel nitelikte yayınlarda kullanılabilir. Bunun dışında bu kayıtlar kullanılmayacak ve üçüncü şahıslar ile paylaşılmayacaktır. Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır.

Katılma koşulları

Yaş aralığı: 30-70 yaş aralığında olmalısınız.

Cinsiyet: Kadın-Erkek

Hastalık: Tip II Diyabet Hastalığı' na sahip olmalısınız.

Araştırmaya dahil edilmesi planlanan gönüllü kişi sayısı: 270 gönüllü; 200 T2DM hastası, 70 sağlıklı kontrol grubu.

Araştırmaya dahil olmak için harcayacağınız süre: çalışmaya uygunluğunuzu test edebilmemiz için görevliden de yardım alarak yaklaşık 4 dakika sürecek anket formunu doldurmalısınız. Sonra 1 tüp (5 ml) kan vermeniz gerekiyor. Kan alma işlemi de toplam 2 dakika sürmektedir. Anket formu ve alınan kan birlikte görevli tarafından kan alma ünitesinde sizden teslim alınacaktır.

Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler:

- 1) İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz.
- 2) Çok az bir ihtimal de olsa iğne batması sonrasında kanama veya enfeksiyon riski olabilir.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı geri çekme hakkına da sahipsiniz. Sizinle ilgili tıbbi bilgiler gizli tutulacak, ancak çalışmanın kalitesini denetleyen görevliler, etik kurullar ya da resmi makamlarca gereği halinde incelenebilecektir.

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

Sayın Doç.Dr.İlker ATEŞ tarafından tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında özenle yaklaşılabileceğine inanıyorum. Araştırma sonuçlarının bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi. Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi.

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; aklıma bir soru takıldığında, Doç.Dr. Dilek Berker 1 numaralı telefonundan arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum. Bu araştırma ve buna benzer ileride yapılacak çalışmalarda, çalışma materyalimin kullanılmasına onay veriyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

Sorumlu Araştırmacı

Doç.Dr.İlker ATEŞ

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı

Katılımcı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel.

İmza: