



T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ - CERRAHPAŞA
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**TİP 2 DİYABETLİ NEFROPATİLİ VE NEFROPATİSİ OLMAYAN BİREYLERDE
GLİKOJEN SENTAZ KİNAZ 3 BETA VE ALFA İLE İNTERLÖKİN 1-6-17 VE
TNF-ALFA ARASINDAKİ İLİŞKİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Mutlu Adıgüzel

Danışman: Prof. Dr. İbrahim Murat Bolayırılı

İstanbul-2019

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı , yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Mutlu Adıgüzel





Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir. Proje No: 32441

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarının yürütülmesi ve klinik laboratuvar uygulamaları başta olmak üzere her zaman ve her konuda bilgi ve tecrübelerini paylaşan; disiplini ve profesyonelliği ile kendime örnek aldığım, öğrencisi olmaktan mutluluk ve sonsuz gurur duyduğum, danışmanlığı tez ile sınırlı olmayan değerli hocam;

Prof. Dr. İ. Murat Bolayırılı'ya

Uzmanlık eğitimim boyunca, bilimsel çalışmalar ve tez sürecimde büyük desteğini gördüğüm, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım değerli hocam Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Hafize Uzun'a

Uzmanlık eğitimime katkısı bulunan, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nın değerli tüm hocalarına,

Çalışkanlığı, disiplini ve tıbbi bilgisiyle her zaman kendime örnek aldığım, uzmanlık eğitimim süresince klinik laboratuvar ile ilgili bilgi ve tecrübelerinden büyük fayda sağladığım, her konuda desteğini esirgemeyen, değerli hocam Prof. Dr. Dildar Konukoğlu'na,

Uzmanlık eğitimim süresince klinik laboratuvar ile ilgili bilgi ve tecrübeleriyle desteğini hiç esirgemeyen Prof. Dr. Mine Kucur'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca uyum içinde çalıştığım asistan arkadaşlarıma ve tüm laboratuvar personeline,

Vaka toplamamda büyük emeği ve desteği olan Prof. Dr. Volkan Yumuk, Prof Dr. Nurhan Seyahi ve Jermin Benlioğlu'na,

Tez parametrelerinin çalışılmasında büyük emeği olan Selva Kaplanoğlu'na,

Çalışmaya katılan tüm gönüllülere,

Koşulsuz sevgi ve destekleriyle her zaman yanımda olan sevgili annem ve babama çok teşekkür ederim.

Dr. Mutlu Adıgüzel

İÇİNDEKİLER

BEYAN	ii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar	vii
ŞEKİLLER	viii
SEMBOLLER/KISALTMALAR	ix
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1.Diyabetes Mellitus	3
2.1.1. Diyabetes Mellitus Tanımı ve Tarihçesi	3
2.1.2. Diyabetes Mellitus Epidemiyolojisi.....	3
2.1.3. Diyabetes Mellitus Semptomları.....	4
2.1.4. Diyabetes Mellitus Tanısı	4
2.1.5. Diyabetes Mellitus Sınıflandırması.....	6
2.1.6. Tip 1 Diyabetes Mellitus.....	8
2.1.7. Tip 2 Diyabetes Mellitus.....	8
2.1.8. Tip 2 Diyabetes Mellitusun Komplikasyonları.....	9
2.1.9. Diyabetik Retinopati	9
2.1.10. Diyabetik Nöropati.....	10
2.1.11. Diyabetik Nefropati	10
2.1.12. Diyabetik Nefropatide Tedavi.....	13
2.2. Glikojen Sentaz Kinaz 3 Beta ve Alfa.....	14
2.2.1. Glikojen Sentaz Kinaz-3'ün Yapısı ve Organizmadaki Dağılımı	16
2.2.2. Glikojen Sentaz Kinaz-3'ün İşlevleri ve Etkinliğinin Düzenlenmesi	17
2.2.3.Glikojen Sentaz Kinaz 3 ve Diyabetik Nefropati	21
2.3. SİTOKİNLER.....	22
2.3.1. İnterlökin-1 (IL-1).....	22
2.3.2 İnterlökin-6 (IL-6).....	23
2.3.3. İnterlökin 17.....	25
2.3.4.Tümör nekrozis faktör (TNF)	26

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	29
3.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması.....	29
3.2. Çalışmadan dışlanma kriterleri.....	30
3.3. Örneklerin alınması ve çalışılan parametreler.....	30
3.4. Kullanılan araç ve gereçler.....	30
3.5. Yöntemler.....	31
3.5.1. GSK-3 α analizi.....	31
3.5.2. GSK-3 β analizi.....	33
3.5.3. IL-1 β analizi.....	34
3.5.4. IL-6 analizi.....	36
3.5.5. IL-17 analizi.....	38
3.5.6. TNF- α analizi.....	40
3.5.7. Rutin test parametrelerinin analizi.....	42
3.6. İstatiksel Yöntemler.....	43
4. BULGULAR.....	44
4.1. Tanımlayıcı özellikler ve genel laboratuvar parametreleri.....	44
4.2. Glikojen Sentaz Kinaz 3 β ve 3 α ile IL-1, IL-6, IL-17, TNF- α düzeyleri.....	45
4.3. Korelasyon Analizleri.....	51
5. TARTIŞMA.....	54
KAYNAKLAR.....	64

TABLÖLAR

Tablo 1: Diyabet ve prediyabet tanı kriterleri	5
Tablo 2: Diyabetes mellitusun etiyolojik sınıflaması	7
Tablo 3: İdrarla albumin atılımıyla ilgili tanımlamalar	13
Tablo 4: GSK 3'ün substratı olan yapısal ve metabolik proteinler ve transkripsiyon faktörlerinden örnekler	16
Tablo 5: Kontrol, nefropatisiz diyabet, mikroalbuminüri ve makroalbuminüri gruplarının genel özellikleri ile rutin laboratuvar sonuçları (Ort±SD)	44
Tablo 6: Kontrol, nefropatisiz diyabet, mikroalbuminüri ve makroalbuminüri gruplarının IL-1β, IL-6, IL-17, TNF-α, GSK-3α, GSK-3β düzeyleri (Ort±SD)	46
Tablo 7: Tüm bireylerde (n:120) serum IL-1β, IL-6, IL-17, TNF-α, GSK-3α, GSK-3β, HbA1c(%), üre, kreatinin, albumin ve GFR arasındaki Pearson korelasyon katsayıları	53

ŞEKİLLER

Şekil 1: Glikojen sentaz kinazın glikojen metabolizmasında yeri	15
Şekil 2: Glikojen sentaz kinaz 3 α (alfa) ve 3 β (beta) izoformlarının temsili yapısı	17
Şekil 3: GSK-3 β 'nin fosforillenme ile etkinliğinin düzenlenmesi	18
Şekil 4: GSK-3 etkinliği ile düzenlenen hücre döngüsü ilgili transkripsiyon faktörleri	19
Şekil 5: GSK-3'ün etkin olduğu sinyal yolları	20
Şekil 6: GSK-3 α standart eğrisi	32
Şekil 7: GSK-3 β standart eğrisi	34
Şekil 8: IL-1 β standart eğrisi	36
Şekil 9: IL-6 standart eğrisi	38
Şekil 10: IL-17 standart eğrisi	40
Şekil 11: TNF- α standart eğrisi	42
Şekil 12: Serum IL-1 β seviyeleri	48
Şekil 13: Serum IL-6 seviyeleri	48
Şekil 14: Serum IL-17 seviyeleri	49
Şekil 15: Serum TNF- α seviyeleri	49
Şekil 16: Serum GSK-3 α seviyeleri	50
Şekil 17: Serum GSK-3 β seviyeleri	50

SEMBOLLER/KISALTMALAR

ACE-İ: Anjiyotensin Konverting Enzim İnhibitörleri

ADA: Amerikan Diyabet Derneği

AKT: Protein Kinaz B

AP-1: Etkinleştirici Protein 1

APG: Açlık Plazma Glukozu

ARB: Anjiyotensin Reseptör Blokerleri

APC: Adenomatöz Polipozis Koli Proteini

BAG: Bozulmuş Açlık Glukozu

BDNF: Beyin Kökenli Nöron Büyüme Faktörü

BGT: Bozulmuş Glukoz Toleransı

cAMP: Siklik Adenozin Monofosfat

CRP: C Reaktif Protein

DM: Diyabetes Mellitus

GBM: Glomerül Bazal Membran

GDM: Gestasyonel Diyabetes Mellitus

GFR: Glomerül Filtrasyon Hızı

GS: Glikojen Sentaz

GSK-3 α : Glikojen Sentaz Kinaz 3 α

GSK-3 β : Glikojen Sentaz Kinaz 3 β

HbA1c: HemoglobinA1c

HSF-1: Isı Şok Faktörü 1

HSP: Isı Şok Proteini

HT: Hipertansiyon

IGF1: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
IL-1: İnterlökin 1
IL-6: İnterlökin 6
IL-17: İnterlökin 17
IRS-1: İnsülin Reseptör Substrat-1
KGBT: Kombine Glukoz Tolerans Bozukluğu
MAP: Mikrotübül Bağlantılı Protein
MBL: MannoZ Bağlayan Lektin
MCP: Monosit Kemoatraktan Protein
NFAT: Aktive Olmuş T Hücreleri Nükleer Faktörü
NKκB: Nükleer Faktör κB
NGF: Nöron Büyüme Faktörü
OGTT: Oral Glukoz Tolerans Testi
PI3K: Fosfoinositol 3 Kinaz
PIP3: Fosfoinositol Trifosfat
PKA: Protein Kinaz A
PKC: Protein Kinaz C
UAE: Üriner Albümin Ekskresyonu
TCF: T Hücrelerine Özgü Transkripsiyon Proteini
TNF-α: Tümör Nekroz Faktör-alfa
UDP: Üridin Difosfat
WHO: Dünya Sağlık Örgütü

ÖZET

Giriş ve Amaç: Diyabetes mellitus son yıllarda tüm dünyada görülme sıklığı artan kronik bir hastalıktır. Komplikasyonları arasında nefropati sıklığı da artmaktadır. Çalışmamızın amacı tip 2 diyabetli nefropatisi olan ve olmayan hastalarda serum Glikojen Sentaz Kinaz 3β (GSK-3β), Glikojen Sentaz Kinaz 3α (GSK-3α), IL-1, IL-6, IL-17 ve TNF-α seviyelerini değerlendirmeyi ve karşılaştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda dört grup oluşturuldu. 10 saatlik gece açlığı sonucu açlık kan şekeri 100'ün altında olan bireyler kontrol grubu (n:30) olarak seçildi. Tip 2 diyabet tanılı hastalar ise 24 saatlik idrar analizinde albüminüri seviyelerine göre nefropatisi olmayan diyabet (n:30), mikroalbüminüri diyabet (n:30) ve makroalbüminüri diyabet (n:30) grupları şeklinde gruplandırıldı. Hasta ve kontrol grubundan alınan kan örneklerinde GSK-3β, GSK-3α, IL-1, IL-6, IL-17 ve TNF-α seviyeleri ELİSA yöntemiyle belirlendi. İstatistiksel anlamlılık $p<0,05$ olarak değerlendirildi.

Bulgular: GSK-3β, IL-1, IL-6 ve TNF-α seviyeleri nefropatisi olmayan diyabet grubunda sağlıklı kontrollere göre anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla $p<0,01$, $p<0,001$, $p<0,001$, $p<0,01$). Mikroalbüminüri diyabet grubunda GSK-3β, IL-1, IL-6 ve TNF-α seviyeleri nefropatisi olmayan diyabet grubuna göre anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,001$, $p<0,001$, $p<0,01$). GSK-3β, IL-6 ve TNF-α seviyeleri makroalbüminüri diyabet grubunda mikroalbüminüri diyabet grubuna göre anlamlı yüksek bulunurken (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,001$, $p<0,05$) IL-1 seviyeleri arasında bir fark bulunmadı. GSK-3α ve IL-17 seviyeleri nefropatisi olmayan diyabet grubunda sağlıklı kontrollere göre anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla $p<0,05$, $p<0,05$). GSK-3α ve IL-17 seviyeleri için hasta grupları arasında bir fark saptanmadı.

Sonuç: Çalışmamızın sonuçları diyabetli hastalarda serum IL-1, IL-6, TNF-α ve GSK-3β analizleri erken evrede nefropatiye gidişi göstermektedir. GSK-3α ve IL-17'nin diyabetik nefropatiyle bir ilişkisi olmadığını düşündürmektedir.

ABSTRACT

Purpose: Diabetes mellitus which has been increasing incidence all over the world in recent years is a chronic disease. The incidence of nephropathy is also increasing among the diabetic complications. The objective of our study was to investigate serum glycogen synthase kinase 3 Beta (GSK-3 β), glycogen synthase kinase (GSK-3 α), interleukin 1 (IL-1), interleukin 6 (IL-6), interleukin 17 (IL-17) and tumor necrosis factor (TNF- α) levels in Type 2 diabetic patients with/without nephropathy.

Material and Methods: Four groups were formed in our study. Individuals with fasting blood glucose levels below 100 were selected as the control group (n: 30). Patients with type 2 diabetes were grouped as non-nephropathic (n: 30), microalbuminuria (n: 30), and macroalbuminuria (n: 30) groups according to albumin levels in 24-hour urine analysis. GSK-3 β , GSK-3 α , IL-1, IL-6, IL-17 and TNF- α levels were determined by ELISA. Statistical significance was accepted as $p < 0.05$.

Results: GSK-3 β , IL-1, IL-6 and TNF- α levels were significantly higher in non-nephropathic diabetes group compared to healthy controls ($p < 0.01$, $p < 0.001$, $p < 0.001$, $p < 0.01$, respectively). GSK-3 β , IL-1, IL-6 and TNF- α levels were found to be significantly higher in the microalbuminuria group compared to the non-nephropathic group ($p < 0.001$, $p < 0.001$, $p < 0.001$, $p < 0.01$, respectively). GSK-3 β , IL-6 and TNF- α levels were significantly higher in the macroalbuminuria group compared to the microalbuminuria group ($p < 0.001$, $p < 0.001$, $p < 0.05$, respectively). GSK-3 α and IL-17 levels were significantly higher in non-nephropathic group compared to healthy controls ($p < 0.05$, $p < 0.05$, respectively). There were no differences for GSK-3 α and IL-17 levels between non-nephropathic diabetes group and nephropathic diabetes groups.

Conclusion: The results of our study shows that IL-1, IL-6, TNF- α and GSK-3 β analyses for patients with diabetes indicates an early stage of nephropathy. It suggests that GSK-3 α and IL-17 are not associated with diabetic nephropathy.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Diyabetes mellitus (DM) birçok alt tipi bulunan, tam veya kısmi insülin eksikliğine veya insülinin fonksiyonel eksikliğine (insülin direnci) bağlı olarak ortaya çıkan karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmasında bozukluklar ile giden, birçok kronik ve akut komplikasyonlara yol açan metabolik bir hastalıktır. Diyabet kronik ve komplikasyonlarla seyreden bir hastalık olduğu için hastaların ömür boyu izlenmesi gerekmektedir. DM'un birçok alt tipi bulunmasına rağmen en çok görülen tipleri insülin direncine bağlı olan Tip 2 DM ve otoimmün mekanizmalarla ortaya çıkan pankreatik adacık beta hücre yıkımı sonucu oluşan Tip 1 DM'dir. 2015 yılı itibari ile dünyadaki diyabetli hasta sayısı 415 milyon iken bu sayının 2040 yılında %55 oranında artarak 642 milyona ulaşacağı öngörülmektedir. Ülkemizde de 1998 yılında %7 olan diyabet sıklığı 2010 yılında %13'tür. Ayrıca Diyabetes Mellitus tüm dünyada en sık görülen endokrin hastalıktır.

DM vasküler komplikasyonları nedeniyle mortalite ve morbiditenin en önemli sebeplerinden birisidir. Diyabete bağlı vasküler komplikasyonlar; mikrovasküler komplikasyonlar (nefropati, retinopati, nöropati) ve makrovasküler komplikasyonlar (koroner ateroskleroz, serebral ateroskleroz ve periferik vasküler hastalık) olarak ikiye ayrılır. Mikrovasküler komplikasyonlarından dolayı diyabet son dönem böbrek yetmezliğinin, periferik nöropatinin, periferik damar hastalığının, travmatik olmayan ayak amputasyonlarının ve körlüğün önemli bir nedenidir. DM birçok organı tutabilen, hastanın yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen ve erken ölümle sonuçlanabilen bir hastalıktır. Özellikle diyabetik nefropati tip 2 diyabetin morbidite ve mortalitesinden en çok sorumlu olan komplikasyondur. Bu yüzden diyabetik nefropatinin tanısının erkenden konulup tedaviye de erken başlanması hastalığın ilerlemesini yavaşlatacağı için erken evrede tespit edilebilen belirteçlerin bulunması önemlidir.

Glikojen sentaz kinaz 3 β ve glikojen sentaz kinaz 3 α (GSK 3 β , GSK 3 α) metabolik döngülerde önemli bir enzim olan glikojen sentazı etkisizleştiren enzimler olarak tanımlanmışlardır. Son yıllarda yapılan çalışmalar bu enzimin birçok hücre içi yapısal ve metabolik proteinin yanı sıra, çok sayıda transkripsiyon faktörünün de etkinliğini düzenlediğini ortaya koymuştur. GSK 3 β ve GSK 3 α 'nın çok sayıda hücre işlevinin düzenlenmesinde kritik rolü vardır. Birçok hayvan çalışmasında GSK 3 β 'nin diyabetik nefropatiyle ilişkisi ortaya konmuştur. Ancak bu ilişkinin daha güçlü olarak

ortaya konması için daha fazla sayıda insanlar üzerinde yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

Diyabetik nefropati patogeneğinde glomerül hasarı, fibrozis ve inflamasyonun rol aldığı kompleks bir hastalıktır. İnflamasyonla ilişkili olarak çeşitli sitokinlerin diyabetik nefropati patogeneğinde rol aldığı daha önce gösterilmiştir. İnflamasyonla ilişkili olarak belirlediğimiz IL-1, IL-6, IL-17 ve TNF-alfa ile glikojen sentaz kinaz 3 β ve glikojen sentaz kinaz 3 α 'nın diyabetik nefropati tanısının erken konulmasında rolünü araştırmayı amaçladık. Diyabetik nefropati tanısının erken konulmasını böylece tedaviye erken başlanmasını sağlayacak belirteçler tespit etmeyi amaçlıyoruz



2.GENEL BİLGİLER

2.1.Diyabetes Mellitus

2.1.1. Diyabetes Mellitus Tanımı ve Tarihçesi

Diyabet, insülinin eksikliği veya insüline direnç nedeniyle organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterli düzeyde yararlanamadığı, devamlı tıbbi bakım gerektiren, kronik bir metabolik hastalıktır (1). Diyabet “Çok fazla idrar yapma” ile karakterize bir hastalıktır. İlk olarak M.Ö. 1500 yıllarına dayanan Mısır papiruslarında diyabetten söz edilmiştir. MS 1. Yüzyılda Yunanlı bir hekim olan Aretaeus, bu hastalığı “diabetes” olarak isimlendirmiştir. 17. yüzyılda Dr. Thomas Willis, hastalarının idrar örneklerinden diyabetik olup olmadıklarını tespit etmiştir. Eğer idrarın tadı tatlıysa "tatlı diyabet" anlamında diabetes mellitus tanısını koymuştur. Bu yöntem 20. yüzyıla kadar devam etmiştir. 1869'da Paul Langerhans "Langerhans Adalacıkları" olarak bilinen hücreleri keşfetti. 1889'da von Mering ve Minkowski, pankreası alınan köpeklerin diyabete yakalandığını bulmuşlardır. Adacıkların salgılarına insülin adı (Latince, insula = ada) 1909'da Mayer ve Schaefer tarafından verilmiştir. 1921'de Banting, Best ve Collip yaptıkları deneylerde insülin eksikliğinin diyabete yol açtığını kanıtladılar. 1935 yılında Roger Hinsworth diyabetes mellitus hastalığını tip 1 ve tip 2 olarak sınıflandırdı. 1950'li yıllarda, tip 2 diyabetik hastalar için oral ilaçlar sülfonilüreler ve biguanidler geliştirildi. Diyabet 2000 yıl önce Aretaeus tarafından tarif edildiğinden beri tanımlama, tanı, etyoloji ve tedavisinde devamlı değişimler gösteren bir hastalıktır (2)

2.1.2. Diyabetes Mellitus Epidemiyolojisi

Diyabet günümüzde en büyük halk sağlığı problemlerinden biri haline gelmiştir. Son yıllarda diyabetin hem insidansı hem de prevalansı giderek artmaktadır DM, bütün toplumlarda ve ırklarda görülebilir (3) Ancak bölgelere göre görülme sıklığı oldukça değişken olabilir. Grönland ve Alaska'da yaşayanlarda DM prevalansı çok düşüktür. Amerika'da yaşayan Pime Kızılderililerinde ise prevalans %55 civarındadır ve dünya üzerinde en yüksek diyabet prevalansına sahip ırktır (4)

Ülkemizde ise İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi ve Sağlık Bakanlığı'nın işbirliği ile 2010 senesinde yapılan 'Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve

Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması-II'ye (TURDEP-II) göre 1998 de %7 olan erişkin diyabet sıklığının %13.7'ye ulaştığı tespit edilmiştir. Bu oran tüm öngörülerin çok üzerinde bir değerdir. Bu bulgular Diyabetes Mellitusun önümüzdeki yıllarda ülkemizde daha da önemli bir sağlık sorunu olacağını ortaya koymaktadır (5)

2.1.3. Diyabetes Mellitus Semptomları

Poliüri, polidipsi, polifaji, noktüri, ağız kuruluğu iştahsızlık, halsizlik, çabuk yorulma gibi sık görülen semptomlar sık görülen semptomlardandır. Görme bozuklukları, inatçı infeksiyonlar (cilt, vulva, üriner sistem), tekrarlayan mantar infeksiyonları, kaşıntı gibi semptomlar daha seyrek olarak görülür. Tip 1 diyabette semptomlar genellikle birkaç hafta içinde gelişerek hızla ilerler, ancak tip 2 diyabetli bireylerin çoğunda başlangıçta semptom yoktur veya şikayetler çok belirsizdir (1).

2.1.4. Diyabetes Mellitus Tanısı

Diyabet veya prediyabet tanısı; açlık plazma glukozu (APG), 2 saatlik oral glukoz tolerans testi (OGTT) ve glikozillenmiş hemoglobin A1c (HbA1c) ölçümleri ile konur. Bir test ile tanı koymadan önce, test mutlaka tekrarlanmalı veya diğer bir testle doğrulanmalıdır. Diyabet tanı yöntemleri aşağıdaki gibidir.

- Açlık plazma glukoz ölçümü: En az 8 saatlik gece boyu açlığı takiben plazma glukoz düzeyinin ölçülmesi pahalı olmayan ve halen en fazla kabul gören yaklaşımdır. En az 2 kere bakılan APG düzeyi 126 mg/dL veya üzerinde ise diyabet tanısı konur.

- Oral glukoz tolerans testi: Diyabet riski yüksek kişilerde OGTT yapılması diyabet ve prediyabet tanısı konmasında yararlıdır. Bunun için 75 g glukoz içeren su içirildikten 2 saat sonra kan glukoz düzeyi 200 mg/dL veya üzerinde ise diyabet tanısı konur.

- Rastgele kan glukoz ölçümü: Diyabet semptomları (poliüri, polidipsi) varlığında rastgele bir zamanda ölçülen plazma glukoz düzeyinin 200 mg/dL veya üzerinde olması da diyabet tanısı koydurur.

- HbA1c: Yakın zamanda, standardize edilmiş HbA1c ölçümü de diyabet tanı kriterleri arasına girmiştir. Buna göre HbA1c \geq %6,5 (48 mmol/mol) olması diyabet

tanısı için eşik değeri kabul edilmiştir. Diğer bir deyişle HbA1c \geq %6,5 olması tanı koydurur. Ancak, ölçüm standardizasyondaki sorunlar sebebiyle, diğer tanı kriterlerinden biri ile birlikte değerlendirilmelidir. HbA1c'nin açlık gerektirmemesi, akut hastalık ve stres durumlarında değişkenlik göstermemesi gibi avantajlarının olması yanında; daha pahalı olması, plazma glukoz ölçümü kadar yaygın olmaması, (bazı tayin yöntemleri ile) kan kaybı, hemoliz, hemoglobinopati, anemi gibi nedenlerden etkilenmesi gibi dezavantajları da vardır (1)

Diyabet ve glukoz metabolizmasının diğer bozukluklarının tanı ve sınıflamasında son yıllarda değişiklikler olmuştur. Önce 1997'de, Amerikan Diyabet Birliği (ADA) yeni tanı ve sınıflama kriterlerini yayınlamış ve sonrasında 1999'da Dünya Sağlık Örgütü (WHO) bu kriterleri küçük değişikliklerle kabul etmiştir. Daha sonra 2003 yılında, bozulmuş açlık glukozu (IFG) tanısı için ADA tarafından küçük bir değişiklik yapılmıştır. WHO ve Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) tarafından 2006 yılı sonlarında yayınlanan raporda ise 1999 kriterlerinin korunması kararlaştırılmıştır. Buna karşılık, ADA ve Avrupa Diyabet Çalışma Birliği (EASD) 2007 yılında yayınlanan son konsensus raporlarında ise 2003 yılındaki düzenlemenin değişmemesi gerektiğini savunmaktadır. Diyabet ve glukoz metabolizmasının diğer bozuklukları için son yıllarda yapılan değişiklikleri de içeren yeni tanı kriterleri Tablo-1'de gösterilmiştir (1).

Tablo 1: Diyabet ve Prediyabet Tanı Kriterleri

	APG	OGTT 2. Saat PG	Rastgele PG	HbA1c
Normal	<100 mg/dL	<140 mg/dL		\leq %5,6 (\leq 38 mmol/mol)
Prediyabet İzole BAG İzole BGT KGTB YRG	100-125 mg/dL <100 mg/dL 100-125mg/dL	<140 mg/dL 140-199 mg/dL 140-199 mg/dL		%5,7-6,4 (39-46 mmol/mol)
Diyabet	\geq 126 mg/dL	\geq 200 mg/dL	Diyabet Semptomları (+) \geq 200 mg/dL	\geq %6,5 (\geq 48mmol/mol)

*APG: Açlık plazma glukozu, OGTT: Oral glukoz tolerans testi, BAG: Bozulmuş açlık glukozu, BGT: Bozulmuş glukoz toleransı. KGTB: Kombine glukoz tolerans bozukluğu, YRG: Yüksek risk grubu

Daha önce “Sınırdaki Diyabet” ya da “Latent Diyabet” diye anılan Bozulmuş Glukoz Toleransı (BGT) ve Bozulmuş Açlık Glukozu (BAG) artık “ Prediyabet” olarak

kabul edilmektedir. Her ikisi de diyabet ve kardiyovasküler hastalık (KVH) için önemli risk faktörleridir. “İzole BAG” için APG 100-125 mg/dL ve 2. saat PG <140 mg/dL, buna karşılık “İzole BGT” için 2. saat PG 140-199 mg/dl ve APG <100 mg/dL olması gerektiği geniş ölçüde kabul görmektedir. “Kombine BAG + BGT” olarak bilinen durumda ise hem APG 100-125 mg/dl, hem de 2. saat PG 140-199 mg/dL arasındadır. Bu kategori, glukoz metabolizmasının daha ileri derecede bozulmuş olduğunu gösterir. Prediyabet, ileride diyabet gelişme riskinin yüksek olduğunun bir göstergesidir ve sadece diyabet için değil kardiyovasküler hastalıklar için de yüksek risk oluşturur. İzole BGT için yıllık diyabet insidansı %4-6, izole BAG için %6-9 ve her ikisinin birlikteliği durumunda %15-19 olarak tespit edilmiştir (6,7).

2.1.5. Diyabetes Mellitus Sınıflandırması

Diyabetes mellitus; tip 1, tip 2, gestasyonel diabetes mellitus ve diğer spesifik nedenlere bağlı diyabet olarak dört sınıfa ayrılır. Diyabetli hastaların büyük çoğunluğu tip 1 ve tip 2 grupları oluşturur (7).

Tablo 2: Diyabetes mellitusun etiyolojik sınıflaması

1. Tip 1 Diyabet (Genelik ile mutlak insülin eksikliğine neden olan β hücre yıkımı)	
A. İmmün aracılı (%90)	
B. İdiyopatik (%10)	
2. Tip 2 Diyabet (İnsülin direnci zemininde ilerleyici insülin sekresyon defekti ile karakterizedir.)	
3. Gestasyonel Diyabetes Mellitus (GDM)(Gebelikte ortaya çıkan ve genellikle doğumla düzelen diyabet.)	
4. Diğer spesifik diyabet tipleri	
<p>A. β-hücre fonksiyonlarının genetik defekti(Monogenik diyabet formları)</p> <p>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) Mitokondriyal DNA Neonatal diyabet (Örn. Kir 6.2 mutasyona bağlı diyabet) Diğerleri</p> <p>B. İnsülin etkisindeki genetik defektler</p> <p>Leprechaunism Lipoatrofik diyabet Rabson-Medenhall sendr Tip A insülin direnci Diğerleri</p> <p>C. Pankreasın ekzokrin doku hastalıkları</p> <p>Fibrokalkülöz pankreopati, Hemokromatoz Kistik fibrozis Neoplazi Pankreatit Travma/pankreatektomi Diğerleri</p> <p>D. Endokrinopatiler</p> <p>Akromegali, Aldosteronoma , Cushing sendromu , Feokromositoma , Glukagonoma, Hipertiroidi, Somatostatinoma, Diğerleri</p>	<p>E. İlaç veya kimyasal ajanlar</p> <p>Atipik anti-psikotikler, Anti-viral ilaçlar, B-adrenerjik agonistler, Diazoksid Fenitoin, Glukokortikoidler, α-İnterferon, Nikotinik asit, Pentamidin, Proteaz inhibitörleri, Tiyazid grubu diüretikler, Tiroid hormonu Diğer ilaçlar</p> <p>G. İmmün aracılı nadir diyabet formları</p> <p>Anti-insülin reseptör antikolarları, Stiff-man sendromu, diğerleri</p> <p>H. Diyabetle ilişkili genetik sendromlar (Monogenik diyabet formları)</p> <p>Alström sendromu, Down sendromu, Friedreich tipi ataksi, Huntington korea, Klinefelter sendromu, Laurence-MoonBiedl sendromu, Miyotonik distrofi, Porfiri, Prader-Willi sendromu, Turner sendromu, Wolfram(DIDMOAD) sendromu, diğerleri</p>

2.1.6. Tip 1 Diyabetes Mellitus

Çocukluk çağında en sık görülen kronik hastalıklardan biri olan tip 1 Diyabetes Mellitus (T1DM) insülin üreten pankreatik beta hücrelerinin yıkımını takiben gelişen insülin yetmezliğinden kaynaklanır.

Tip 1 DM etiyolojik olarak immün aracılı ve idiyopatik olarak iki alt tipte sınıflandırılmaktadır. Tip 1A ve Tip 1B olarak da isimlendirilir.

Tip 1A Diyabetes Mellitus, Langerhans adacıklarındaki insülin üreten beta hücrelerinin otoimmün yıkımından kaynaklanır. Bu süreç genetik olarak duyarlı kişilerde meydana gelir, muhtemelen bir veya daha fazla çevresel ajan tarafından tetiklenir. Genellikle Tip 1 DM adı; immün aracılı olan için kullanılır ve hastaların %90'lık bir kısmı bu grupta bulunmaktadır. Pankreas beta hücrelerinin bileşenlerine karşı otoantikörler mevcuttur. İdiyopatik tip (Tip 1B) ise daha nadir görülür ve beta hücre otoimmünitesini gösteren immünolojik bulgu bulunmamaktadır. Bu hastaların kan insülin düzeyleri düşüktür ve insülin direnci bulunmaz (8).

2.1.7. Tip 2 Diyabetes Mellitus

Diyabetli hastaların %90-95 bölümünü oluşturur. En yaygın diyabet formudur. Genellikle erişkin dönemde görülür ancak son yıllarda yaşam tarzı değişiklikleri ile genç yaşta da ortaya çıkabilmektedir. Sebepleri tam olarak anlaşılammakla birlikte obezite, artan yaş, etnik köken ve aile öyküsü ile güçlü bir ilişkisi bulunmaktadır (9).

Tip 2 DM, insülin salınımında defektler ve insülinin etkisine doku düzeyinde direncin geliştiği bir hastalıktır. Tip 2 DM'nin genetik geçişi olup tek yumurta ikizlerinde %70-90 konkordans saptanmaktadır. Yine anne ve babanın her ikisinde de Tip 2 DM varsa, çocukta DM ortaya çıkma riski %40'tır (10).

Tip 2 DM ile obezite birlikteliği sıktır. Hastalığın başlangıcında, temel patofizyolojik mekanizma periferik dokulardaki insülin direncidir. Adipositlerden salgılanan adiponektin, TNF alfa, protein 4 gibi proteinlerin periferik dokularda insülin direncine neden olduğu bildirilmiştir. Erken dönemde, karaciğerdeki glukoneogenez artışı ile açlık hiperglisemisi gelişmektedir. İlk dönemde reaktif olarak insülin salınımında artış kan şekerinin normal sınırlarda seyretmesine neden olabilmektedir. Ancak bu kompensasyon sistemi giderek yetersiz kalmakta ve kas dokudaki insülin

direnci ve bunun sonucunda glukoz kullanımındaki azalma kan şekeri yüksekliğine neden olmaktadır (11).

2.1.8. Tip 2 Diyabetes Mellitusun Komplikasyonları

Diyabetik komplikasyonlar birçok organı etkileyebilir ve diyabetle ilişkili mortalite ve morbiditenin de çoğundan sorumludur. Görme kaybı, böbrek yetmezliği ve non travmatik alt ekstremitte amputasyonunun en önemli nedenidir. Tip 2 diyabetle ilişkili komplikasyonlar genellikle hipergliseminin 20. yılına kadar gözükmez. Çünkü tip 2 DM asemptomatik hiperglisemik uzun bir döneme sahiptir ve birçok kişide tanı anında komplikasyon gelişmiştir (12).

Tip 2 DM'nin komplikasyonları iki ana grupta incelenmektedir (13).

1- Diyabetin Akut Komplikasyonları:

- A. Diyabetik Ketoasidoz
- B. Hiperglisemik Hiperosmolar Koma
- C. Laktik Asidoz
- D. Hipoglisemi

2- Kronik (dejeneratif) Komplikasyonlar:

A. Mikrovasküler komplikasyonlar: retinopati, nefropati, nöropati (periferik ve otonomik)

B. Makrovasküler komplikasyonlar: Aterosklerotik kalp hastalıkları, periferik arter hastalığı, serebrovasküler hastalıklar

C. Diğer komplikasyonlar: Cilt, diyabetik ayak, eklem, kemik, beyni ilgilendiren sorunlar (demans, Alzheimer), psikolojik sorunlar, seksüel sorunlar, vs.

2.1.9. Diyabetik Retinopati

İnsüline bağımlı diyabette sıklıkla görülen bir komplikasyondur. Vakaların ortalama %9'unda gelişmektedir. Diyabet, tüm görme ile ilgili yapılarda çeşitli komplikasyonlar geliştirir ve bunların %84'ü retina ile ilişkilidir (14).

Diyabetik retinopati, non-proliferatif ve proliferatif retinopati olmak üzere ikiye ayrılır.

Non-proliferatif retinopatinin görülme sıklığı ve evresi, hastanın yaşı ve hastalığın süresiyle doğru orantılı şekilde artar.

Proliferatif retinopati ise 20 yıldan fazla süredir diyabetli hastalarda rastlanır. Optik disk yeni damarların sıklıkla oluştuğu yerdir. İyileşme şansı düşük olan komplikasyonlardan biridir. Hastalığın etiopatogenezinde kapiller vazodilatasyon, kan akımında artma, vasküler geçirgenlikte artış, endotel hücre fonksiyon bozukluğu gözlenmektedir (14).

2.1.10. Diyabetik Nöropati

Nöropatinin oluşumunun ana mekanizması; hiperglisemi ile orantılı olarak meydana gelen metabolik olayların, sinir sistemi üzerinde oluşturduğu olumsuz tablo ile ortaya çıkan yapısal ve işlevsel bozukluktur (15). Diyabetik nöropati periferik sinir sistemi, otonom sinir sistemi ve merkezi sinir sistemi (MSS)'nde yapısal ve fonksiyonel bozukluklara yol açarak otonom, motor ve duyuşal fonksiyonları değiştirebilir (16). Farklı bireylerde farklı sinir liflerinin değişik derecelerde etkilenmesine yol açar. Bu sebeple oldukça heterojen bir klinik tablo oluşturur (17). Sinir hasarı oldukça önemli olabilir ve yaralanmaların fark edilmeden gelişmesine, ülserasyona, ciddi infeksiyonlara ve bazı durumlarda amputasyonlara neden olabilir.

Gelişmiş ülkelerdeki nöropatinin en sık sebebi diyabettir. Diyabetik nöropati travmatik olmayan ampütasyonların %50-75'inden sorumlu tutulmaktadır. Diyabetik periferik nöropatinin rapor edilen prevalansı %16-66 arasında değişmektedir. Yapılan çalışmalar tip 1 veya tip 2 diyabetli tüm hastaların %50'sinde nöropatinin geliştiğini göstermiştir (18).

2.1.11. Diyabetik Nefropati

Diyabetik nefropati özellikle batı ülkelerinde son dönem böbrek yetmezliğinin en önemli nedenidir. Diyabetik nefropatinin sıklığı Tip 1 DM ve Tip 2 DM'de birbirine yakındır. Toplumsal verilere dayanan çalışmalara göre Tip 2 DM'de nefropati prevalansı %5-10 kadardır. Bunun nedeni bu hastaların uzun süre subklinik hiperglisemi yaşamış olmalarıdır. Benzer çalışmalar diyabetik nefropatinin insidansının Tip 2 DM hastalarında 20. yıldan sonra %25-60 arasında olduğunu göstermiştir.

Diyabetik nefropatinin klinik seyri Tip 1 DM'de, Tip 2 DM'ye göre daha iyi bir şekilde tanımlanmıştır. Diyabetik nefropati mikroalbuminüri ile başlar. Devamlı proteinüri ve kötüleşen azotemi ile seyrederek. Bu hastalar uygun şekilde tedavi edilmez ve izlenmezlerse proteinüri sıklıkla nefropatik düzeye ilerler ve böbrek fonksiyonları bozulur, sıklıkla arteriyel hipertansiyon bu duruma eşlik eder. Dikkat edilmesi gereken ve gözden kaçırılmaması gereken nokta, mikroalbuminürinin Tip 2 diyabetiklerde tanı anında mevcut olabileceğidir.

Çok çeşitli patofizyolojik olaylar diyabetik nefropatiye neden olabilir. Klasik görüşe göre hiperglisemi altında, çeşitli moleküllerle düzenlenen, sistemik ve intraglomerüler basınç artışına neden olan hemodinamik ve metabolik değişimler renal hasara neden olur. Bu görüş yerini son yıllarda genetik ve çevresel faktörlerin tetiklediği daha kompleks bir senaryoya bırakmıştır. Oksidatif stres, fibrozis ve inflamasyonun da diyabetik nefropati patogenezinde anahtar rol oynadığı gösterilmiştir (19).

Diyabetik nefropati gelişim süreci Mogensenin tanımladığı beş evreden geçer (16,17).

Evre 1 (Hiperfiltrasyon ve Hipertrofi Evresi)

Diyabet tanısının bulunduğu anda mevcuttur. Bu başlangıç evresinde , renal hipertrofi ve hiperfiltrasyon vardır. Glomerul filtrasyon hızı (GFR) %20-40 oranında artabilir. ($GFR > 135 \text{ mL/dk/1.73m}^2$) Egzersiz esnasında belirgin üriner albümin ekskresyonu (UAE) artışı ile karakterizedir. Böbreklerin hipertrofik olduğu (%20 oranında büyür) ultrason ile de gösterilebilir. Bu dönemde renal plazma akımı ve filtrasyon yüzeyinin artmasından kaynaklanan, glomerüler bazal membranda hafif kalınlaşma dışında önemli bir morfolojik değişim olmadığı gösterilmiştir. Normogliseminin sağlanması ile birlikte nefropati daha ileri klinik evrelere geçmeden geriler.

Evre 2 (Sessiz Dönem)

Klinik bulgu yoktur. 10-15 yıl kadar sürebilir. Başlangıçta glomerüler filtrasyon hızı hala yüksektir ve hiperfiltrasyon devam eder, ancak bunlar yavaşça azalarak normale döner. Kan basıncı ve idrar albumin atılımı normal sınırlarda seyrederek. Ancak egzersiz ile UAE devam eder. Yapılan sitomorfometrik çalışmalar, bazal

membranda nonspesifik kalınlaşma ve fraksiyonel mezengial volümde artma meydana geldiğini göstermiştir. Bu evrede iyi glisemik kontrol GFR'yi azaltır (21).

Evre 3 Başlangıç Halindeki Nefropati Dönemi (Mikroalbuminürik Evre)

Sürekli bir mikroalbuminüri vardır. Diyabetin başlangıcından itibaren 6-15 yıl sonra başlar. İdrarda albümin atılım hızı (İAAH) dakikada 20-200 µg veya 24 saatte 30-300 mg'dır. Önceleri aralıklı olan albüminüri daha sonra devamlı hale gelir. Hastanın mikroalbuminürisinin olduğunun kanıtlanması için son 6 ay içerisinde en az 3 adet 24 saatlik idrar örneğinin ikisinde pozitif mikroalbuminüri tayin edilmelidir (22).

Mikroalbuminüri kan basıncında hafif, ancak fark edilebilir bir yükselme ile beraberdir. Kan basıncında bu değişiklik, 24 saatlik ambulatuar kan basıncı tayınları sırasında, kan basıncında noktürnal olarak beklenen düşme, çoğunlukla diyabetik hastalarda gözlenmez.

Bu evrede glomerül bazal membran (GBM) ve fraksiyonel mezengial volüm daha da artar. Sonuçta filtrasyon yüzeyinde azalma oluşur. Birçok araştırmacı bu değişikliklerin saptanabilen renal disfonksiyonun erken bir fazı olduğuna inanırlar. GFR yüksek veya normal olabilir. Daha az sıklıkta düşme gözlenir. Bu devre 1-20 yıl sürebilir. İyi glisemik kontrol, protein kısıtlaması (< 0.8 g/kg/gün) ve antihipertansifler özellikle anjiyotensin converting enzim inhibitörleri (ACE-İ) ve anjiyotensin reseptör blokerleri (ARB) ile İAAH artışı azaltılarak klinik nefropatiye gidiş süreci geciktirilebilir.

Evre 4 Klinik (Aşık) Diyabetik Nefropati Dönemi (Azotemik Evre)

3. evreden sonra kaçınılmaz bir şekilde 4. evre gelişir. Hastalığın başlangıcından itibaren ortalama 17. yılda bu evreye ulaşılır. Bu evreye aşık veya yerleşik nefropati de denir. Histolojik değişiklikler belirgindir ve hipertansiyon yerleşmiştir. Klasik olarak inatçı proteinüri (>0.5gr/gün) ile birlikte dir. Proteinüri yılda %15-40 artar, GFR ayda ortalama 1 mL/dk azalır. GFR'deki azalma kan basıncı düzeyi ile koreledir. Antihipertansif tedavi ile GFR'deki azalma hızı %60 azaltılabilir ve böylece üremi gelişim süreci geciktirilebilir. Tercihen ACE-İ ve ARB'ler kullanılır. Böbreklerde morfolojik olarak glomerüllerde skleroz da izlenmeye başlanır. Terminal böbrek hastalığı devamlı proteinürinin yedinci yılında kendini gösterir.

Evre 5 Son Dönem Böbrek Yetmezliği (Üremik Evre)

Tabloya son dönem böbrek yetmezliği hakimdir. Üremi ile birlikte sıvı retansiyonu, ödem gibi diğer komplikasyonlar da görülmeye başlar. Ağır hipertansiyon, üre, kreatinin yüksekliği vardır. Hipoalbuminemi ve yaygın ödem nefrotik sendrom ile birlikte olabilir. Yaşlı hastalarda kalp yetmezliği ile birlikte, otonom ve periferik nöropati görülür. Kan basıncının kontrol edilmesi zorluklar yaşanır. Hepsinde büyük damar kalsifikasyonları (Mönckeberg sklerozu) gelişir. Koroner vasküler hastalık en sık ölüm nedenidir. GFR 15-20 ml/dk'nın altına indiğinde hastalar renal replasman(peritoneal diyaliz, hemodiyaliz vb.) programına alınmalıdır.

Arteriyel hipertansiyon ve böbrek yetersizliği olsun veya olmasın proteinürinin varlığı en az 5 yıldır diyabeti olan hastada başka bir nedene bağlı değilse, diyabetik nefropati olarak değerlendirilir (22). Tip 2 DM'da tanı anında nefropati olabilir. Klinik seyri tip 1 DM'deki kadar iyi bilinmese de çalışmalar benzer seyri ortaya koymuştur. Sağlıklı toplumda idrarda protein atılımı 1.5-20 µg/dk (ort: 6.5 µg/dk) arasındadır. Son 6 ay içindeki 3 idrar örneğinin en az ikisinde pozitif sonuç elde edilmesi mikroalbuminüri varlığını kanıtlar. Mikroalbuminüri taraması spot idrarda albümin/kreatinin oranı ölçümü ile veya 24 saatlik idrar toplanarak yapılabilir. Sınıflandırma Tablo 3'deki değerlere göre yapılmaktadır. Değişkenlik nedeniyle 3-6 aylık dönemde tekrar analiz yapılmalıdır. Egzersiz, enfeksiyon, ateş, kalp yetmezliği, belirgin hiperglisemi ve hipertansiyon idrar albümin düzeyini artırabilir (23).

Tablo 3: Albümin atılımıyla ilgili tanımlamalar

Normal	24 saatlik idrarda <30 mg albümin
Mikroalbuminüri	24 saatlik idrarda 30-300 mg albümin
Makro(klinik)-albüminüri	24 saatlik idrarda >300 mg albümin

2.1.12. Diyabetik Nefropatide Tedavi

- **Kan şekeri kontrolü:** Kan şekeri kontrolünün birçok klinik çalışmada böbrek fonksiyonunun korunmasında etkili olduğu gösterilmiştir. Tip 2 DM'li hastalarda da glisemik kontrolün olması gereklidir. Diyabetik nefropatide Tip 1 ve Tip 2 DM'li hastalar da esas amaç HbA1c değerini %7'nin altında tutmaktır (24).

• **Kan basıncı kontrolü:** Hipertansiyon (HT) mikroalbuminürinin başlangıcından itibaren 2 - 5 yılda ortaya çıkar. HT geç bir komplikasyon değil aksine erken açığa çıkan bir anormalliktir. Hipertansiyon GFR'deki düşüşü hızlandırır, diyabetin bütün vasküler komplikasyonlarını ve albuminüriyi artırır (25). Tip 1 DM hastalarda kan basıncı yüksekliğinin belirmesi çoğunlukla diyabetik nefropatinin işareti iken HT Tip 2 DM'li hasta bireylerde nefropati gözlenmeden de izlenir. Yapılan bazı çalışmalarda Tip 1 Diyabetes mellitus ve Tip 2 Diyabetes mellituslu hastalarda sistemik hipertansiyon kontrolünün proteinüriyi azalttığı ve böbrek yetmezliğine gidişi yavaşlattığı gözlenmiştir (24). Anjiyotensin Converting Enzim İnhibitörleri (ACE-İ) kan basıncı kontrolünde sıklıkla kullanılan ilaçlardır.

• **Protein kısıtlaması:** Diyetle protein alımının azaltılması, diyabetik ve diyabetik olmayan nefropatili hastalarda böbrek hastalığının ilerleyişini yavaşlatır. Protein alımının artmasıyla GFR ve glomerüllerdeki hidrostatik basıncın arttığı gözlenmektedir. Hidrostatik basıncı azaltmanın böbrek için koruyucu olduğu belirtilmektedir. Hastaların korunmak için 0,6 g/kg/gün'den az protein almaları önerilir (25).

Diyabetik nefropatinin tedavisinde şunlar önerilir;

1. Hastaların taranması
2. Tip 1 DM teşhisi koyulmuş olan kişilerde 5 yıl sonrasında mikroalbuminüri taraması yapılır. Tip 2 DM'li bireylerde ise ilk teşhis zamanında taranma yapılmalıdır (Bu tarama metodu albumin/kreatinin hesaplanmasıyla yapılır)
3. Glisemik kontrol de ulaşılması gereken hedef HbA1c <7% olmalıdır.
4. Kan basıncı kontrolü çok önemlidir.
5. Proteinüride artışı engellemek en önemli amaçlardan biridir
6. Tanı almış hastanın kan lipid düzeyini önerilen değerlerde tutmak gerekir (24, 25).

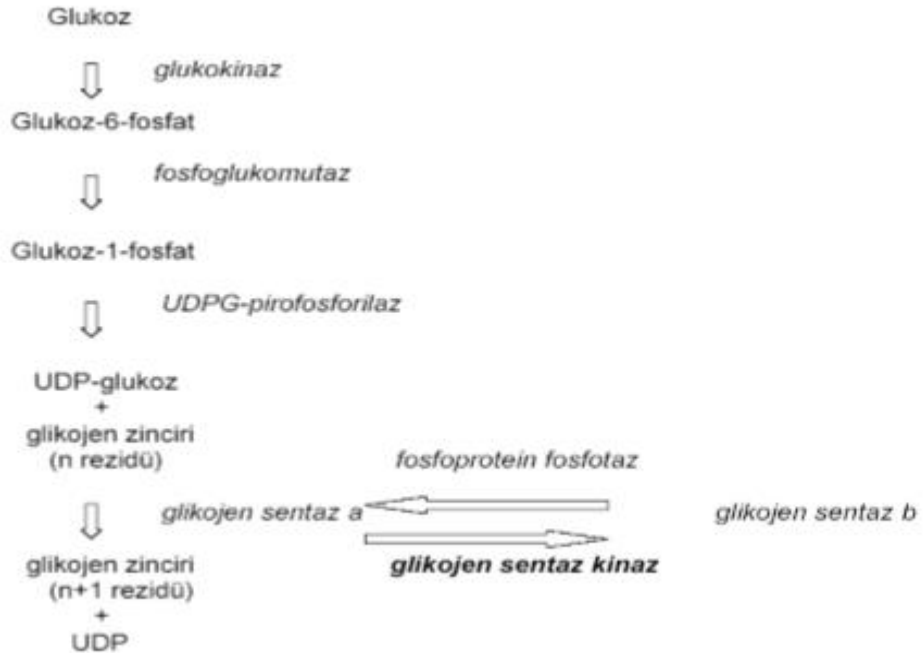
2.2. Glikojen Sentaz Kinaz 3 Beta ve Alfa

Glikojen sentaz kinaz-3, 1980'lerde glikojen sentezi ve yıkılmasıyla ilgili önemli bir enzim olarak tanımlanmıştır (26). Glikojen sentezinde rolü olan glikojen sentaz enzimini fosforilleyerek, daha az etkin hale getirebildiği gösterilmiştir (Şekil 1). Yaklaşık yirmi yıl boyunca işlevleri glikojen metabolizması ile sınırlı bir protein kinaz

olduğu düşünülüşken, yapılan araştırmalarda birçok başka hücre içi iletim sistemi ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir (27). Birçok proteini fosforilleyerek etkinliklerini değiştirmektedir. Bu mekanizma ile hücre gelişimi ve döngüsü ile ilgili hücresel süreçlerde çok önemli rolü vardır. Hücre yapısı ve işlevi üzerindeki rolü ile Alzheimer hastalığı ve diyabet gibi yaygın hastalıklarla ilişkili olduğu düşünülmektedir (28). Ayrıca GSK3 apoptozis, inflamatuvar reaksiyonlar ve oksidatif stresle yakın ilişki içerisinde (29)

GSK3'ün fosforilleyerek etkinliğini değiştirdiği bilinen kırka yakın protein vardır; bunların bir kısmı metabolik ya da sinyal proteindir, bir kısmı yapısal proteinlerdir, bir kısmı da transkripsiyon faktörüdür (28). Tablo 4'te glikojen sentaz kinaz 3'ün bilinen substratları gösterilmiştir. GSK3'ün amiloid metabolizması, hücre bölünmesinin kontrolü, nöron uzantılarının gelişimi, hücre içi organellerin yer değiştirmesi, tau gibi hücre iskeleti ile ilgili proteinlerin fosforlanmasının düzenlenmesi gibi birbirinden farklı, çok sayıda süreçte önemli yeri olduğu bilinmektedir (30).

Şekil 1: Glikojen sentaz kinazın glikojen metabolizmasında yeri. Glikojen sentaz kinaz, glikojen sentezinde önemli rolü olan glikojen sentaz enzimini fosforilleyerek, daha az etkin olan glikojen sentaz b formuna çevirir. (UDP: üridin difosfat)



Tablo 4. GSK3'ün substratı olan yapısal ve metabolik proteinler ve transkripsiyon faktörlerinden örnekler

Yapısal Proteinler	Metabolik ve Sinyal Proteinleri	Transkripsiyon Faktörleri
AsetilCoA karboksilaz Amiloid prekürsör protein cAMP bağımlı protein kinaz Glikojen sentaz Siklin D1 Siklin E Miyelin bazık protein NGF reseptörü Presenilin-1 Protein kinaz A Protein fosfataz 1 Protein fosfataz inhibitörü-2 Piruvat dehidrojenaz	Dinamin benzeri protein Kinezin hafif zincir MAP1B MAP2 NCAM tau	AP-1 Betakatenin C/EBP CREB Glukokortikoid reseptörü HSF-1 c-Myc NFAT P53 TCF

AP-1: etkinleştirici protein-1, cAMP: siklik adenosin monofosfat, C/EBP: CCAAT/enhancer bağlayan protein, CREB: cAMP yanıt elemanı bağlayan protein, HSF-1: ısı şoku faktörü-1, MAP: mikrotübül bağlantılı protein, NCAM: nöron adhezyon proteini, NFAT: aktive olmuş Thücreleri nükleer faktörü, NKκB: nükleer faktör κB, , NGF: nöron büyüme faktörü, TCF: T hücresi faktörü (28).

2.2.1. Glikojen Sentaz Kinaz-3'ün Yapısı ve Organizmadaki Dağılımı

Glikojen sentaz kinaz-3 (GSK-3) birçok dokuda yaygın olarak bulunan bir enzimdir. Gelişmekte olan ve erişkin memeli beyninde yüksek miktarda bulunmaktadır (25,26). GSK-3'ün alfa (51 KDa) ve beta (47 KDa) izomerleri vardır (Şekil 2.) Katalitik bölgelerinde %97 dizilim benzerliği gösteren bu izomerler çoğunlukla benzer biyolojik etkinliğe sahiptirler (28). Fakat bu iki izoformun işlevleri ve işlevlerinin düzenlenmesi ile ilgili önemli farklılıklar da vardır (33). GSK3α glisinden zengin N-terminal bölgesinden dolayı daha büyüktür ve bu yüzden sadece sitoplazmada bulunurken GSK-3β'da N-terminal ucunda glisinden zengin bölge yoktur ve daha küçük moleküler ağırlığa sahiptir (34). Bu yüzden GSK-3β hücre içinde sitoplazma, çekirdek ve mitokondride bulunabilir (28). Bu iki izoformun dokularda dağılımları da farklıdır. GSK-3α nöronlar, deri hücreleri, ovaryumda çok az üretilirken retikülositler, apendiks, kan hücreleri ve hipofiz bezinde çok daha fazla üretilir. GSK-3β ise retikülosit, dura mater, lenf nodu ve pankreasta çok az üretilirken, natural killer hücreleri ve kemik

iliğinde granüositlerde çok daha fazla üretilir (35). Ayrıca GSK-3 β 'nın beyin, akciğer ve böbreklerde yüksek oranda üretildiği gösterilmiştir (36).

Şekil 2: Glikojen sentaz kinaz 3 α (alfa) ve 3 β (beta) izoformlarının temsili yapısı gösterilmiştir. Serin (S21, S9) ve tirozin (Y279, Y216) fosforlanma bölgeleri ok ile gösterilmiştir. Her iki izoformda ortak olan kinaz bölgesinin sınırları belirtilmiştir.



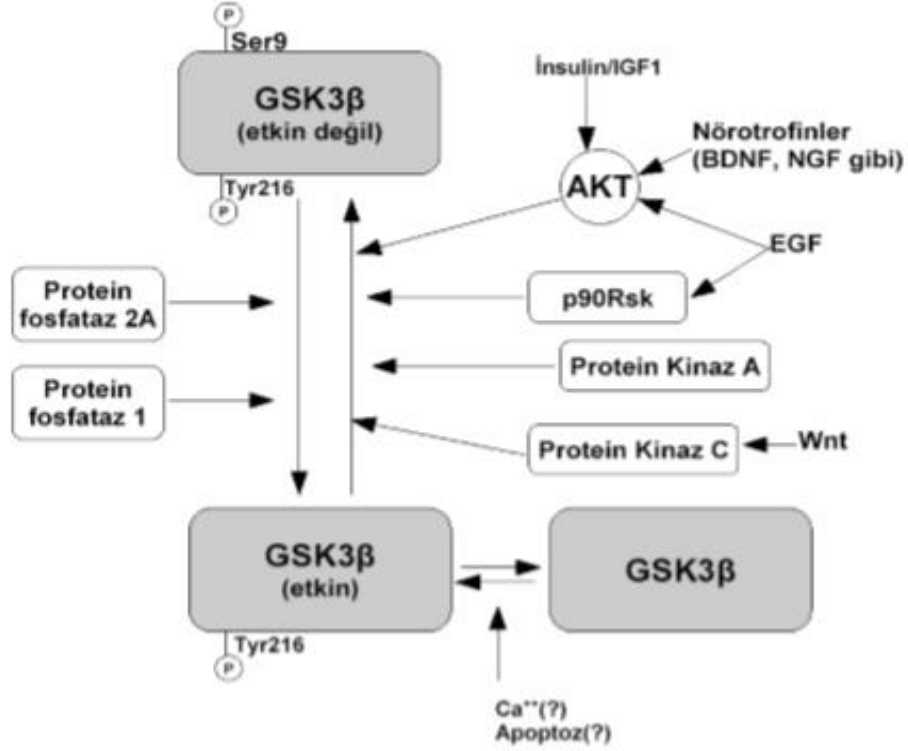
2.2.2. Glikojen Sentaz Kinaz-3'ün İşlevleri ve Etkinliğinin Düzenlenmesi

GSK 3 yapısal olarak aktif halde bulunur. Etkinliği çeşitli şekillerde düzenlenir. Temel olarak etkinliği fosforillenme ile kontrol edilir. GSK 3 alfa ve beta izoformlarında etkinliği değiştirebilen belirli amino asit rezidüleri vardır (Şekil 2). Yapısal olarak etkinlik tirozin fosforillenmesi (α izoformunda 279, β izoformunda 216. rezidü) ile sağlanmaktadır (37). Tirozin 279/216 fosforillenmesinin mekanizması net olarak bilinmemekle birlikte, memeli hücrelerinde otofosforilasyonla gerçekleştiği düşünülmektedir. Bu otofosforilasyonun hücre içi kalsiyum düzeyini artıran, apoptozu tetikleyen müdahalelerle arttığı öne sürülmüştür ancak bu takip eden çalışmalarla kanıtlanamamıştır (38). Birçok başka hücre protein fosforillenerek etkin hale dönüşürken, GSK3 etkinliği başka bir rezidünün fosforillenmesiyle baskılanabilir.

Fosforillenme, çeşitli kinazlar ve fosfatazlar tarafından kontrol edilmektedir (Şekil 3). Serin 21/9 bölgesinin fosforillenmesi çok çeşitli kinazlarca düzenlenir; Akt (Protein kinaz B), Protein kinaz A (PKA), Protein kinaz C (PKC), ribozomal S6 kinaz (p90RSK) en çok üzerinde durulanlardır (28). Kinazlar tarafından fosforillenme GSK3 etkinliğini baskılamaktadır. Fosfat grubunun uzaklaştırılması (defosforilasyonu) ise GSK3'ü etkinleştirir. Defosforilasyon protein fosfataz 1 (PP-1) ve protein fosfataz 2A tarafından düzenlenmektedir (39). Bu kadar farklı kinazlarla fosforillenmenin

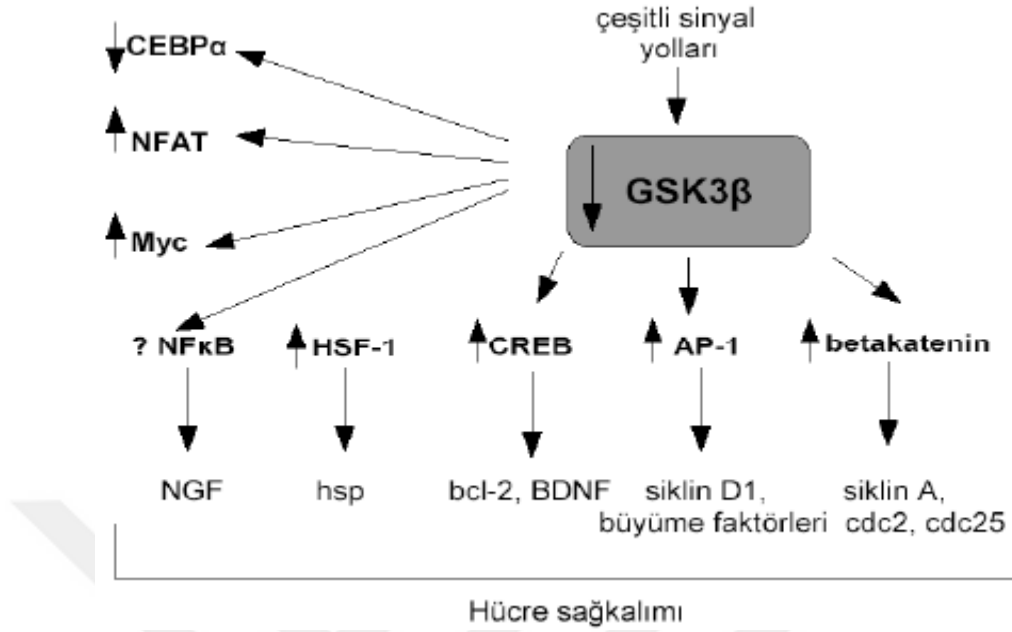
düzenlenmesi nedeniyle, pek çok sinyal iletim yolunun GSK3 işlevlerinin kontrolünde önemli olduğu düşünülmektedir.

Şekil 3: GSK-3β'nın fosforillenme ile etkinliğinin düzenlenmesi



Fosforillenme dışında, GSK3'ün hücre içindeki yerleşimi de işlevinin düzenlenmesinin bir yoludur. GSK3 genel olarak sitoplazmada yer almakla birlikte, çekirdek ve mitokondride de bulunur. Çekirdek ve mitokondrideki GSK3 havuzunun daha yüksek oranda etkin halde olduğu bilinmektedir. Çekirdekte GSK3 çok sayıda transkripsiyon faktörünün işlevini düzenlemektedir. Çekirdekte bulunan GSK3 düzeyi hücre döngüsüne göre değişir. Örneğin hücre bölünmesi sırasında en yüksek düzeyine ulaşır, apoptozun erken evrelerinde çekirdekte düzeyi artmaktadır (37). GSK3'ün hücre içi yerleşiminin düzenlenmesiyle ilgili mekanizma henüz açıklık kazanmamışsa da, protein etkileşimleri aracılığıyla olduğuna işaret eden bulgular vardır (40). Çeşitli sinyal yolları aracılığıyla GSK3 etkinliğinin baskılanması, çekirdekte çok sayıda transkripsiyon faktörünü etkilemektedir (Şekil 4).

Sekil 4: GSK3 etkinliği ile düzenlenen hücre döngüsü ilgili transkripsiyon faktörleri



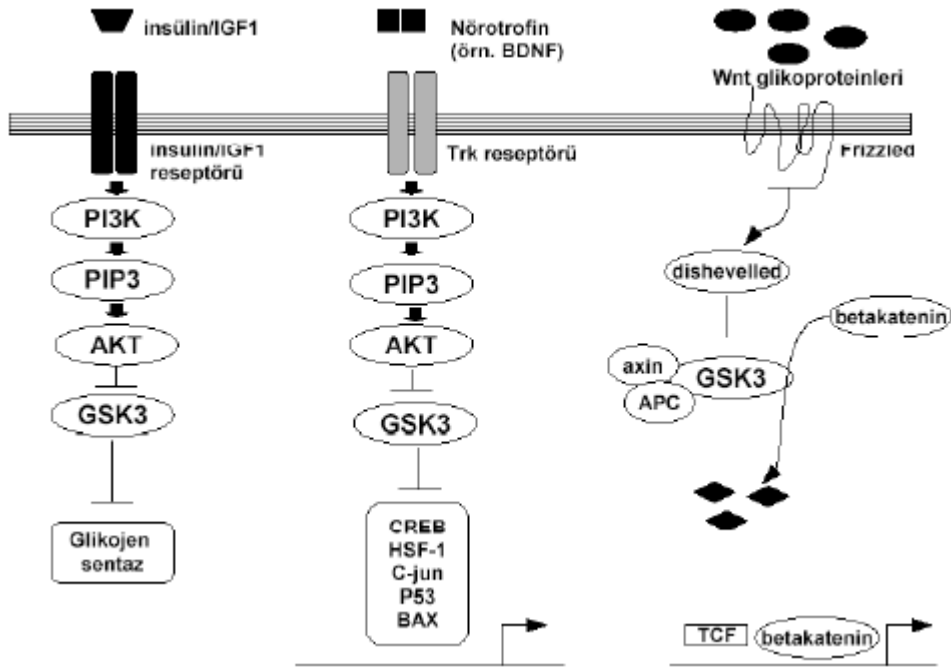
(CEBP_: CCAAT/enhancer bağlayıcı protein, NFAT: aktive olmuş T-hücreleri nükleer faktörü, NK_B: nükleer faktör _B, HSF-1: ısı şok faktörü-1, hsp: ısı şok proteini, NGF: nöron büyüme faktörü, CREB: cAMP yanıt elemanı bağlayan protein, BDNF: beyin kökenli nöron büyüme faktörü, AP-1: etkinleştirici protein-1)

GSK3 hücrede başlıca 3 yolda yer alır (Sekil 5.); Wnt yolu, nörotrofin sinyal iletim yolu ve insülin/IGF1(insülin benzeri büyüme faktörü 1) sinyal iletim yolu (28). GSK3, embriyonik dönemde hücrenin kaderinin belirlenmesinde önemli yeri olan Wnt yolunun düzenleyicisidir. Wnt yolunun organizmanın gelişimi ile ilgili önemli işlevleri vardır. Birçok canlıda gösterilmiş, evrimsel olarak korunmuş bir sinyal iletim yoludur. GSK3 etkinliğinin başka proteinlerin bağlanmasıyla düzenlenmesi Wnt yolunda belirgindir. Normal koşullarda GSK3, Wnt yolunda etkin haldedir ve temel substratı betakatenindir. Uyarı olmadığında GSK3, betakatenin ve diğer proteinlerle bir kompleks oluşturur. Beta-katenin hücre iskeletinin yapısında olmakla birlikte, hücre çekirdeğinde transkripsiyon faktörü olarak da işlev görür. GSK3 tarafından fosforillenmesi, betakatenini hücre içi yıkım düzeneğine yönlendirir. Wnt glikoproteinleri “frizzled” reseptörlerine bağlandığında, “dishevelled” proteini kompleksin dağılmasına neden olur. Böylece GSK3’ün betakatenini fosforlaması azalır. Bu da betakateninin yıkımında azalmaya, hücre içinde ve çekirdekte miktarının artmasına, dolayısıyla, beta-kateninle tetiklenen gen ifadesinde artışa neden olur (37).

GSK3'ün nörotrofin reseptörlerinin hücre içi etkilerindeki rolü nörotrofik/nörokoruyucu etkileri aracılığıyla. Nörotrofinlerin bağlanması ile aktif hale gelen reseptörler fosfoinositol 3 kinaz (PI3K) aracılığıyla Akt'ı aktive eder (41). Daha önce belirtildiği gibi Akt (protein kinaz B), GSK3'ü serin rezidülerini fosforilleyerek baskılar (Şekil 5). Akt birçok başka sinyal iletim yolunun da bileşenidir. Akt'ın etkinleşmesinin, bunun dışında yolları da vardır (örn. Ras aracılı, ya da nöron içine kalsiyum girişi ile).

GSK3'ün rol aldığı diğer bir yol da, insülin/insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF1) sinyal iletimi yoludur. Burada da, nörotrofinlere benzer şekilde, insülin/IGF1 bağlanmasıyla aktive edilen reseptörler PI3K'ı etkinleştirir. PI3K da, Akt aracılığıyla GSK3 baskılanmasına neden olur (Şekil 5.). Bu yolla GSK3 baskılanması glikojen sentazın etkin hale gelmesine neden olarak glikojen metabolizması üzerinde etkili olmaktadır.

Şekil 5: GSK3'ün etkin olduğu sinyal yolları. GSK3 farklı sinyal yollarında etkindir; solda insülin/insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF1), ortada nörotrofin, sağda Wnt sinyal ileti yolları gösterilmiştir.



(AKT: protein kinaz B, APC: adenomatöz polipozis koli proteini, PI3K: fosfoinositol 3 kinaz, PIP3: fosfoinositol trifosfat, TCF: T-hücre sine özgü transkripsiyon faktörü).

2.2.3. Glikojen Sentaz Kinaz 3 ve Diyabetik Nefropati

Tip 2 diyabet insülin direnci ile seyreden tüm dünyada görülme sıklığı oldukça artmış olan önemli bir hastalıktır. Yemeklerden sonra insülin artan kan glukozunun periferik dokulara transportunu ve glikojen şeklinde depolanmasını artırır. Yemek sonrası dışındaki zamanlarda glikojen oluşumu glikojen sentazın fosforilasyonu ve inaktivasyonu ile azaltılır (42). İnsülin, insülin reseptörüne bağlandıktan sonra tirozin kinaz aktivitesini artırır. Tirozin kinaz ise insülin reseptör substrat-1'i (IRS-1) fosforile ederek glikojen sentaz inhibisyonunu azaltır. Tirozin aracılığıyla fosforillenmiş IRS-1 dinlenme halindeki hücrelerde aktif halde bulunan GSK-3'ü inaktive ederken glikojen sentazı defosforile eder (43).

GSK-3 α ve GSK-3 β enzimlerinin her ikisi de insülin duyarlı periferik dokularda sentezlenir. Aşırı GSK-3 sentezinin insanlarda ve hayvanlarda çeşitli çalışmalarda insülin direncine yol açtığı gösterilmiştir. Diyabetli bireylerin kas biyopsilerinde GSK-3 seviyelerinin önemli derecede arttığı ve bu artışın GS aktivitesindeki azalmayla korele olduğu bulunmuştur (44).

Ayrıca düşük molekül ağırlıklı GSK-3 inhibitörlerinin kullanıldığı bir çalışmada sıçan hepatosit hücrelerinde glukoneojenik enzimlerden olan fosfoenolpiruvat, karboksikinaz, ve glukoz-6 fosfataz aktivitesinde azalma saptanmıştır (45).

Diyabetik nefropati ise diyabetin uzun dönemde görülen en önemli komplikasyonlarından biridir. GSK-3'ün ise diyabetik nefropati gelişiminde rol aldığını gösteren çeşitli çalışmalar vardır. Yüksek glukoz seviyeleri ile apoptoza giden renal mezengial hücrelerde GSK-3 β aktivitesi artmış olarak saptanmıştır (46). Yüksek glukoz seviyeleri ile aktivitesi artan GSK-3 β podosit hücrelerinde epitelyal membran transportu ve bariyer disfonksiyonu ile ilişkilidir. Ayrıca bir çalışmada yüksek glukoz seviyelerinin GSK-3 β 'nın tirozin 216 bölgesinden fosforilasyonu ile aktifleşmesine yol açtığı gösterilmiştir (47). Yine bir çalışmada GSK-3 β 'yi inhibe eden sülforafan kullanılarak diyabetik nefropati prognozunda kısmi iyileşme sağlanmıştır (48). Fare podosit hücrelerinde GSK-3 β inhibitörleri kullanılarak yapılan tedavide β -katenin ve epitelyal membran transportu belirteci olan nefrin seviyelerinin azaldığı gösterilmiştir (49). Bu

yüzden GSK-3 β diyabetik nefropati tedavisinde de hedef ajan olarak kullanılabilir belirtiçlerdendir.

2.3. SİTOKİNLER

Sitokinler hücrel düzenleyici proteinlerdir. Çeşitli uyarılara karşı cevap olarak özel hücreler tarafından üretilip salgılanırlar ve hedefledikleri hücrelerde çeşitli etkiler oluştururlar. Polipeptit yapısında kısa etkili olup ve çözünür moleküllerdir (50). Sitokinlerin tanımlanması ve karakterize edilmesi çeşitli isimlendirme ve sınıflandırma sistemine göre yapılmıştır. Sitokinler başlıca şu gruplara ayrılırlar:

Büyüme faktörleri

Lenfokinler (interlökin-1 alfa ve beta, interlökin 2,3,4...)

Koloni stimüle edici faktörler

Transforme edici büyüme faktörleri

Tümör nekroz faktörleri (TNF-alfa ve beta)

İnterferonlar (50).

Diyabet ile ilişkili olan sitokinler başta diyabetik nefropati olmak üzere birçok renal hastalık gelişiminde önemli rol oynarlar. İnflamatuar sitokinler çeşitli molekül üretimi, intraglomerüler hemodinamik değişiklikler, extrasellüler matriks ve glomerüler bazal membran değişikliği, apoptoz, endotelyal geçirgenlik artışı ve oksidatif stres aracılığı ile diyabetin mikrovasküler komplikasyonlarından olan nöropati, retinopati ve nefropatiye neden olurlar (52,53).

2.3.1. İnterlökin-1 (IL-1)

IL-1 lenfositler, monositler, endotel hücreleri ve mikroglialar gibi bağışıklık sistemi hücrelerinden üretilip salınır. İnflamasyon, sepsis, diyabet, otoimmün hastalıklar ve osteoporoz oluşumunda etkisi olduğu düşünülmektedir (51).

İnterlökin-1 (IL-1) ailesi, enfeksiyonlar veya otoimmün hasarlara karşı immün ve inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde merkezi rol oynayan 11 sitokinden oluşan bir gruptur. Bu sitokinlerin keşfedilmesi ateş patogenezini araştıran Menkin ve

Beeson tarafından tavşan peritoneal eksüda hücrelerinden salınan ve ateşe neden olan proteinlerin incelenmesiyle olmuştur (52). IL-1 ailesi proinflamatuvar sitokin grubundandır. IL-1 alfa, IL-1 beta ilk keşfedilen olmaları ve güçlü proinflamatuvar etkileri nedeniyle en çok çalışılan sitokinlerdir. Ayrıca IL-1Ra olarak isimlendirilen doğal bir antagonistleri vardır (53).

IL-1Ra hariç IL-1 sitokin ailesinin bütün üyeleri öncül proteinden aktif proteine dönüştürülerek sentezlenir. IL-1 ailesinin öncüllerinin hiçbirinin sekresyon için sinyal peptidi bulunmamaktadır. IL-1 alfa ve IL-33' ün benzer özelliği, öncül formlarının kendi özgün reseptörlerine bağlanabilmesi ve sinyal transdüksiyonunu aktive etmesidir. IL-1 beta, IL-1F2 ailesinden olup reseptörü IL-1RI ve koreseptörü IL1RacP' dir. Proinflamatuvar bir sitokindir. Geni 2. kromozomun q14 lokalizasyonundadır (54).

IL-1 çoğunlukla monositler, doku makrofajları, dentritik hücreler ve fibroblastlar tarafından üretilir. Daha az olarak NK hücreleri, B lenfositler ve epitelyal hücrelerden de sentezlenmektedir. Bunlar enfeksiyona karşı vücutta inflamatuvar yanıtta önemli bir rol almaktadırlar. Bu sitokinler fagositler, lenfositler ve diğerleri gibi immünkompetent hücrelerin transmigresyonunu sağlamak için enfeksiyon alanlarında endotelyal hücrelerden adhezyon faktörlerinin ekspresyonunu artırır. IL-1' e endojen pirojen denmesinin nedeni budur. Ayrıca hiperaljezi, vazodilatasyon ve hipotansiyona da neden olmaktadır (55). IL-1beta, IL-1alfa' nın aksine sadece stimülasyondan sonra prekürsör protein formu olarak sentezlenir. IL-1beta ekspresyonu özellikle nötrofilik inflamasyon tarafından indüklenmektedir (56).

IL-1'in diyabetik nefropatide renal üretiminin arttığı gösterilmiştir. IL-1 glomerüler endotelyal, mezengial ve tübüler epitelyal hücrelerde ICAM-1 ve VCAM-1 üretimini artırır (57). IL-1 ayrıca mezengial hücrelerden prostoglandin üretimini artırır. Bu yüzden intraglomerüler hemodinamik değişikliklere neden olur. Glomerül mezengial hücrelere insan rekombinant IL-1 uygulandığı zaman prostaglandin E2 sentezi ve fosfolipaz A2 aktivitesi artar (58). Ayrıca invitro çalışmalarla IL-1'in direkt olarak vasküler endotelyal hücre geçirgenliğini artırdığı gösterilmiştir.

2.3.2 İnterlökin-6 (IL-6)

IL-6, birçok immün sistem aracılı ve inflamatuvar cevapta önemli rol oynayan sitokinlerden biridir. İmmün ve inflamatuvar olayların oluşumunda anahtar

rolü üstlenen tümör nekroz faktörü (TNF) ve IL-1'e yanıt olarak üretilir. Diğer akut faz proteinleri gibi karaciğerde sentezlenen IL-6 lipoprotein lipaz aktivitesini, yağ asitlerinin sentezini ve yağ depolanmasını azaltır. Tümör hücrelerinin büyümesini sağlar (59). Çoğunlukla vasküler endotelial hücreler, mononükleer fagositler, fibroblastlar, aktive T lenfositler ile kardiyak miksomalar, mesane ve serviks tümörlerinden salınır. Etkisini özellikle B lenfositler ve hepatositler üzerinde gösterir. B lenfositlerin antikor üreten hücrelere farklılaşmasını sağlarken, hepatositlerden C-reaktif protein (CRP), mannoz bağlayan lektin (MBL) ve kompleman komponentleri gibi akut faz reaktanlarının salınımına neden olur. Böylece inflamatuvar cevabın ortaya çıkmasını ve gelişmesini sağlar. Timositler ve T lenfosit üzerine uyarıcı etkiye sahiptir. Diğer sitokinlerle beraber kemik iliğindeki hematopoietik kök hücrelerin gelişimini uyarır. IL-1 ile beraber T-helper hücreleri aktive eder (60).

İnsan IL-6'sı ilk kez, antijen veya fitohemaglutinin ile uyarılmış periferik mononükleer hücrelerin kültür süpernatantlarında B hücre farklılaşma faktörü olarak bulunmuştur. 1986 yılında IL-6 DNA'sının yapısı ortaya konmuştur. Dört α -helikal uzun zincir içerir. Non-lenfoid ve lenfoid birçok hücre tipi tarafından üretilen bir sitokindir. T ve B hücre fonksiyonlarının ayarlanması, immünglobülin sekresyonu sağlar. Akut faz reaksiyonlarının gerçekleşmesini sağlar. Hematopoez gibi birçok biyolojik etkiye sahiptir.

IL-6'nın akut faz sırasındaki etkileri IL-1 ve TNF gibi birkaç diğer sitokin ile sinerjik aktiviteyi içermektedir. IL-6, T hücrelerinin ve timositlerin kostimülatörüdür. T lenfositlerin farklılaştırıcı faktörü ve erken kemik iliği hematopoetik stem hücrelerinin gelişimi için bir kofaktördür. IL-10 üretimi, insan T hücreleri içinde IL-6 ve IL-12 tarafından artırılmaktadır. IL-6, lenfositlerin yapışmasını arttırmak için endotelial hücreler üzerine etki göstermektedir. Ayrıca bu sitokinin kemotaksis inhibitör etkiye sahip olduğu da bildirilmiştir (61). IL-1 ve TNF ile ortak olarak, IL-6; inflamasyonu oluşturan bir endojen pirojen olarak önemli rol oynar. Son çalışmalar IL-6'nın ölümcül enfeksiyonlara karşı koruyucu olduğunu göstermektedir ve bu etkiye de kısmen de olsa nötrofillerin aracılık ettiği öne sürülmektedir. Bu koşullarda IL-6 kanda kolaylıkla ölçülebilen sitokinlerden biridir (62). IL-6, akut faz cevabına esas neden olan sitokindir. Bunu CRP, kompleman bileşenleri, haptoglobin, fibrinojen, proteaz inhibitörleri gibi akut faz proteinleri sentez etmek için hepatositleri aktive ederek sağlar. (CRP) enfeksiyon, inflamasyon, malignite ve otoimmün hastalıklar gibi birçok durumda serum

seviyesi yükselen bir akut faz proteindir (63). Karaciğerde IL-6'nın kontrolü altında sentezlenir. Diyabetes mellitusun akut faz yanıt ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Tip 2 diyabette sialik asid, α -1 asid glikoprotein, CRP, serum amiloid A gibi akut faz reaktanlarının ve mediyatör sitokin IL-6'nın artmış olduğu gösterilmiştir (64). IL-6'nın başlıca işlevleri arasında, B hücrelerinin farklılaşması, değişik B hücrelerinde büyümeyi uyarma, hepatik akut faz yanıtına yol açma, makrofajlar ve T hücrelerinin etkinleşmesi ve farklılaşması ile nöronal farklılaşma sayılabilir.

Diyabetik nefropatili hastalarda serum IL-6 seviyeleri nefropatisi olmayan bireylerden daha yüksektir. Bu yüzden IL-6'nın diyabetik nefropati patogenezinde rol alabileceği düşünülmüştür (65). Ayrıca diyabetik nefropatili bireylerin böbrek biyopsisi yüksek rezolusyonlu in situ hibridizasyon ile incelendiğinde IL-6 mRNA kodu pozitif hücrelerin mezengium, intersisyum ve tubulusları infiltre ettiği görülmüştür (65).

IL-6 böbreklerde endotelial geçirgenliği, mezengiyal hücre proliferasyonunu ve fibronektin üretimini artırır. Ayrıca diyabetik nefropati patogenezinde önemli rolü olan bazal membran kalınlaşması ile serum IL-6 seviyeleri arasında pozitif korelasyon vardır (66). Hayvanlarda yapılan bir çalışmada renal hipertrofinin bir göstergesi olan böbrek ağırlığı ile idrarla IL-6 atılımı arasında pozitif bir korelasyon olduğu görülmüştür. Yine aynı çalışmada üriner IL-6 seviyelerinin idrar albümin atılımı ile doğru orantılı olarak arttığı görülmüştür (67).

2.3.3. İnterlökin 17

İlk tanımlanan interlökin 17 üyesi IL-17A olup, sonrasında altı IL-17 üyesi daha tanımlanmıştır (IL-17 A-F). IL-17, inflamatuvar bir sitokinlerden olup kemokinleri ve bazı proinflamatuvar sitokinleri uyararak nötrofil göçüne yol açar ve böylece bazı patolojik olaylar ortaya çıkar. IL 17 ailesi ayrıca inflamatuvar hastalıklar, otoimmün hastalıklar ve kanserde aktif rol oynar. Artmış IL-17 seviyeleri havayolu inflamasyonu, inflamatuvar barsak hastalıkları, romatoid artrit, intraperitoneal apse ve adezyonlar, allograft reddi, psöriazis, kanser ve multipl skleroz gibi çeşitli hastalıklar ile ilişkilidir. IL-17A salgılayan hücrelerin yüzeyinde CD161 molekülü ya da CCR6 kemokin reseptörü bulunduğu bildirilmektedir. CCR6 bu hücreleri inflamasyon bölgesine çekme görevini yapar (71).

IL-17A, alerji ve otoimmün hastalıkların gelişiminde rol oynayan bir sitokindir. Aktif CD4 + Th17 hücreleri tarafından yapılır. Ayrıca CD8+ T lenfositler ve

NK hücreler ile nötrofiller, epitelyal, vasküler endotelyal, miyelomonositik ve kemik iliği stromal hücreleri ile B lenfositler ve fibroblastlar tarafından da üretilir. IL-17A, akciğer, böbrek, dalak ve karaciğerde de üretilir (71).

IL-17B ve IL-17C'nin fonksiyonları henüz tam olarak bilinmemekle birlikte IL-17C'nin proenflamatuvar sitokinleri ve metalloproteaz oluşumunu uyardığı düşünülmektedir. IL-17D, "IL-22" olarak da bilinmektedir. İskelet kaslarında, beyin, adipoz doku, kalp, akciğer ve pankreasta yüksek oranda; kemik iliği, fetal karaciğer, dalak, lenf düğümü, plasenta, böbrek, timus, tonsillerde ise daha düşük düzeylerde üretilmektedir. IL-17F, IL-17A ile en yüksek homolojiye sahiptir. Protein düzeyinde %50 benzerlik gösterir. Benzer proenflamatuvar sitokinleri ve kemokinleri uyarmakta ve mukozal immün yanıtta yer almaktadır (68).

IL-17 birçok hastalığın patogenezinde rol oynar. Psöriyazis, romatoid artrit, multipl skleroz, kanser ve diyabet bu hastalıklardan bazılarıdır. Diyabetik nefropati patogenezinde de rol aldığını gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur. Diyabetik nefropatili ratlara Th17 hücrelerini hedefleyen mikofenolat mofetil verildiğinde IL-17 seviyelerinin ve diyabetik nefropati şiddetinin azaldığı görülmüştür (69). Diyabetik ratlarda mTor inhibitörü rapamycinin Th17 aktivitesini ve böbrek hasarını azalttığı gösterilmiştir (70).

Diyabetik nefropatinin erken evrelerinde böbrek biyopsisi incelendiğinde CD4⁺ IL-17⁺ T hücreleri görülmüştür. Bu hücrelerin diyabetik nefropati erken evrelerinde glomerül, juxtaglomerüler aparat, intersisyum ve perivasküler alanı infiltre ettiği saptanmıştır. Aynı çalışmada IL-17 seviyeleri ile GFR arasında ters orantı olduğu da gösterilmiştir (71).

2.3.4. Tümör nekrozis faktör (TNF)

TNF'nin alfa ve beta olmak üzere iki yapısal formu vardır. TNF-alfa çoğunlukla monosit/makrofajlardan, TNF-beta ise çoğunlukla T lenfositler ve doğal öldürücü hücrelerden salınmaktadır. Bu iki formun moleküler yapısı birbirlerine çok benzemekte ve benzer biyolojik özellikler göstermektedir (72). Tümör nekrozis faktör alfa (TNF α), kaşektin olarak da adlandırılan ve 17-70 kDa ağırlığında bir sitokindir (73). Homotrimer bir yapıya sahip olan TNF α , özellikle makrofajlar ve monositler olmak üzere fibroblast, endotel hücreler, adipositler, B hücreleri gibi birçok hücre tarafından sentezlenmektedir (74). TNF- α geni 6. kromozomun kısa kolunda lokalizedir. 233 Aminoasit prekürsörünün işlenmesi ile 157 aminoasitlik polipeptid kodlanır. Genin

promotor bölgesinin pozisyon -308'de guaninin adeninle yer değiştirdiği tek bir baz değişiminin olduğu tanımlanmıştır. Birçok alışma mutant allelin fonksiyonel varyantı A-308 alleli tarafından genin transkripsiyonel aktivitesini artırdığını göstermiştir. TNF- α A alleli, G alleleine göre daha güçlü transkripsiyonel aktivatördür ve yüksek TNF- α düzeylerine neden olur. G alleli çeşitli otoimmün hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (75).

TNF- α çok sayıda sitokin tarafından oluşturulan peptid mediyatör ailesinin bir üyesidir. Bu aileye ait diğer üyeler arasında lenfotoksin- α , Fas ligand ve CD40 ligand vardır. TNF- α doğal ve kazanılmış immünite, hücre proliferasyonu ve apoptoziste rol oynayan ve önemli proinflamatuvar özelliklere sahip olan bir sitokindir (76).

TNF- α 'nın daha çok iltihabi olaylarda önemli rol oynadığı, enfeksiyöz ajan varlığında veya doku hasarında 4- 8 saat içinde TNF artışı gözlenip 16- 24 saatte en st düzeye ulaştığı ve uyarının devamlılığına göre salınımının devam ettiği gösterilmiştir (72).

Lökositler ve endotelyal hücreler inflamasyonun regülasyonu ile aktivitelere bağlı olmak üzere proinflamatuvar ya da antiinflamatuvar sitokinler üretirler. TNF- α , IL-6 ve IL-1 β dahil olmak üzere proinflamatuvar sitokinlerin akut ve kronik inflamatuvar hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynadıkları gösterilmiştir (77). Her ne kadar TNF reseptörleri birçok hücre ve dokuda eksprese olsa da TNF- α 'nın birçok proinflamatuvar etkisi vasküler endotel ve endotel-lökosit etkileşimi üzerinden olmaktadır. TNF- α IL-8, MCP-1 ve IP-10 gibi çeşitli kemokinlerin sentezini ve endotel hücrelerinde E-selektin, ICAM-1 ve VCAM-1 gibi adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırır. Sonuç olarak TNF- α antijeniden tamamen bağımsız olarak birçok farklı lökosit grubunu harekete geerir (78).

TNF- α inflamatuvar cevabın önemli bir aracı olarak diyabetik nefropati ve diğer böbrek hastalıklarının gelişiminde önemli bir rol oynar. Böbreklerde endotelin-1 üretimini artırarak renal vazokonstrikyona yol açar. Böylece renal kan akımının ve GFR'nin azalmasına neden olur. Ayrıca glomerüler hücrelerde sitotoksik etkiye sahiptir ve apoptoza yol açar. TNF- α mRNA ve protein üretimi, streptozosinle indüklenmiş diyabetik ratların böbreklerinde ve idrarlarında artmıştır (79). Yine streptozosinle indüklenmiş diyabetik ratlara monoklonal TNF- α antikörleri verildiğinde hem albüminüri hem de riner TNF- α seviyelerinin azaldığı görülmüştür (80).

Diyabetik böbreklerde çeşitli inflamatuvar hücrelerin yanında renal tübüler, mezengial, glomerüler endotelyal ve dendritik hücreler TNF- α üretir. Ayrıca podosit hücrelerinin de yüksek glukoz altında TNF- α üretimini artırdığı gösterilmiştir (81). Böbreklerde lokal olarak üretilen TNF- α nötrofil ve monositlerin böbreklere toplanmasına, lokal reaktif oksijen metabolitlerinin üretimine ve glomerüler geçirgenliği artırarak albüminüri artışına yol açar.

Diyabetik nefropati gelişimi ve TNF- α arasındaki bağlantıda kemokin monosit kemoatraktan protein (MCP-1) de önemli rol oynar. TNF- α insan mezengial hücrelerinde MCP-1 üretimini artırır. MCP-1'in de diyabetik böbreklerde üretimi artmıştır. MCP-1 diyabetik böbreklerde makrofajların birikimine, renal fibrozis gelişimine, albüminüri şiddetinin artışına ve böbrek fonksiyonlarında azalmaya yol açar (82).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa–Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun onayı alınarak gerçekleştirildi (2018-63220). Çalışmaya alınan tüm olgulara ve sağlıklı bireylere, çalışma öncesinde çalışmayı anlatan bilgilendirme formu verildi ve imzalı onay belgesi alındı.

Çalışma gruplarımız Mart 2018-Mart 2019 tarihleri arasında, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Endokrin ve Metabolizma Hastalıkları ve İç Hastalıkları Nefroloji bölümüne gelen diyabetli hastalar arasından seçildi. Bireylerin anamnezi alınarak çalışmamızın dışlama kriterleri açısından değerlendirildi. Boy, kilo ölçümleri, yaşları kaydedildi. Hastalar laboratuvar bilgi sisteminden elde edilen 24 saatlik idrar mikroalbümin seviyelerine göre 3 gruba ayrıldı. Ayrıca açlık kan şekeri sonucuna göre diyabeti olmayan bireyler arasından da kontrol grubu oluşturuldu. Toplam 120 kişi aşağıdaki gibi gruplara ayrıldı.

Kontrol grubu (n:30)

Açlık plazma glukoz düzeyi <100 mg/dL olan 16 kadın, 14 erkek toplam 30 hasta (Yaş ortalaması $56,5 \pm 17,5$ yıl)

Mikroalbüminürisi olmayan diyabetli hastalar grubu (n:30)

24 saatlik idrar analizinde mikroalbümin seviyesi <30 mg olan 15 erkek, 15 kadın hasta

Mikroalbüminürisi olan diyabetli hastalar grubu (n:30)

24 saatlik idrar analizinde mikroalbümin seviyesi 30-300 mg arasında olan 13 erkek, 17 kadın hasta (Yaş ortalaması $56,1 \pm 15,9$)

Makroalbüminürisi olan diyabetli hastalar grubu (n:30)

24 saatlik idrar analizinde mikroalbümin seviyesi >300 mg olan 19 erkek 11 kadın hasta (Yaş ortalaması $55,1 \pm 20,9$)

3.2. Çalışmadan dışlanma kriterleri

Aşağıda belirtilen özelliklere sahip hastalar çalışmamıza dahil edilmemiştir.

- Diyabetik nefropati dışında ek böbrek hastalığı olanlar
- Ciddi iskemik hastalık (akut veya geçirilmiş miyokart enfarktüsü, geçirilmiş serebrovasküler olay, geçirilmiş koroner/periferal arter revaskülarizasyon operasyonu)
- Akut veya kronik enfeksiyöz hastalıklar ve sepsis (CRP >5 mg/dL olan hastalar)
- Diyabetik retinopatisi olan hastalar
- Kanser
- Akut enflamatuvar hastalıklar ve kronik enflamatuvar hastalıkların akut alevlenme dönemleri
- Gebelik

3.3. Örneklerin alınması ve çalışılan parametreler

10-12 saatlik açlık sonrası gelen bireyin ön kolundan jelli biyokimya tüplerine (BD SST II, 5 mL, 367953) alınan numuneler 3500 rpm'de 4 dakika santrifüj edildi. Aynı gün serum glukoz, üre, kreatinin, albümin, CRP, AST, ALT, Hba1c Fikret Biyal Merkez Laboratuvarı'nda çalışıldı. Serum örnekleri GSK3 α , GSK3 β , IL-1, IL-6, IL-17 ve TNF- α parametreleri çalışılana kadar -80°C'de muhafaza edildi. Hastalara ait GFR düzeyleri son bir ay içinde yapılmış olmaları dikkate alınarak laboratuvar bilgi sisteminden alındı. VKİ değerleri; [vücut ağırlığı (kg)/(metre cinsinden boy)²] formülü kullanılarak hesaplandı.

3.4. Kullanılan araç ve gereçler

- Santrifüj (Mipro)
- Derin dondurucu (SEG RF4540 A)
- Biyokimya analiz cihazı (Roche Cobas c702)
- HbA1c analiz cihazı (Tosoh G8 HPLC)

- Pipetler (Eppendorf 50, 100, 200 μ L)
- Eppendorf tüpleri (Labosel)
- Vortex (Jankle & Kunkel IKA VF2)
- Otomatik ELISA cihazı (GDV MPT Reader DV 990 BV 4 ve Diagnostic Pasteur LP35)

3.5.Yöntemler

3.5.1. GSK-3 α analizi

Serum GSK-3 α düzeyinin tayininde ‘Enzyme Linked İmmunabsorbent Assay’ (ELISA) yöntemi kullanıldı. (Human GSK-3 α Elabscience ELISA Kit, Katalog Numarası:E-EL-H2001, çalışma içi %CV: 6,3, çalışmalar arası %CV: 6,9)

Yöntemin prensibi

Yöntemin prensibi, sandwich ELISA yöntemine dayanmaktadır. 96 kuyucuklu plaklara önceden kaplanan GSK-3 α için spesifik antikorlar ile plaklara eklenen numunelerdeki antijen ve biyotin işaretli antikorların arasında antikor-antijen-antikor kompleksi oluşur (sandwich formu). Ortama eklenen HRP işaretli antikorlar ile TMB substrat çözeltisi arasında enzim-substrat reaksiyonu gerçekleşir. Oluşan sarı rengin yoğunluğu, plakta tutulan GSK-3 α miktarı ile orantılıdır.

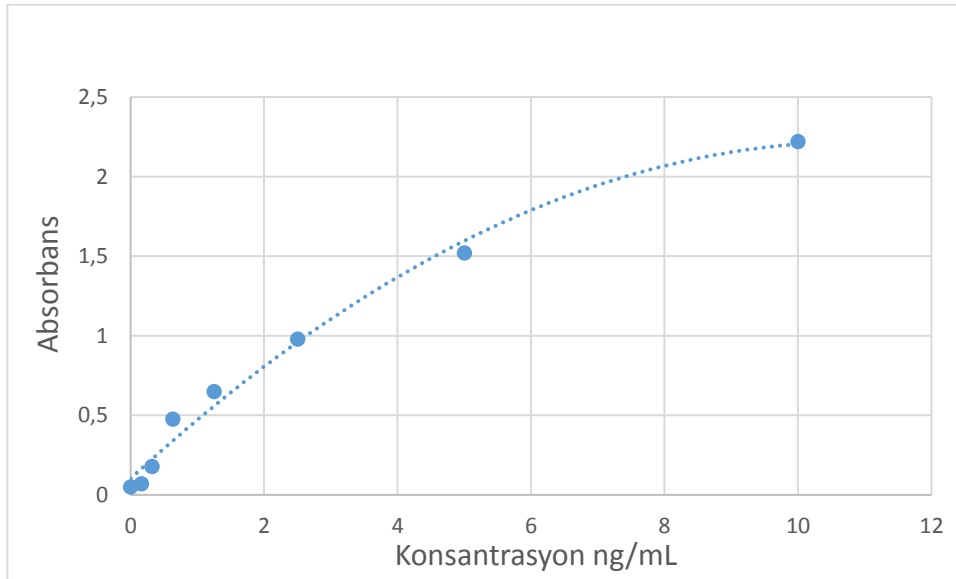
Kullanılan ayıraçlar

- Anti GSK-3 α antikorlarıyla kaplı 96 kuyucuklu plak
- Liyofilize GSK-3 α standardı
- Biyotinle işaretli anti GSK-3 α antikor
- HRP-konjugat kompleksi
- TMB substrat çözeltisi
- TMB durdurma çözeltisi
- HRP-konjugat kompleksi dilüsyon çözeltisi
- Standart dilüsyon çözeltisi

- Örnek dilüsyon çözeltisi
- Antikor dilüsyon çözeltisi
- Yıkama çözeltisi

Testin yapılışı

1. Standart stok çözeltisi hazırlandı. Belirtilen oranlarda seyreltmeler yapıldı.
2. Plak kuyucuklarının her birine standart veya örnekten 100 μL eklendi. 37°C’de 90 dakika inkübe edildi.
3. Plak içeriği döküldükten sonra her bir kuyucuğa 100 μL biyotinle işaretli anti GSK-3 α antikorunu eklenerek 37°C’de 60 dakika inkübe edildi.
4. Kuyucuklar 3 kez yıkandı.
5. Her kuyucuğa 100 μL HRP konjugat çalışma solüsyonu eklenerek 37° C’de 30 dakika inkübe edildi.
6. Kuyucuklar 5 kez yıkandı.
7. Her kuyucuğa 90 μL TMB substrat çözeltisi eklendi
8. Karanlık ortamda 37 ° C’de 15 dakika inkübe edildi.
9. 50 μL durdurma çözeltisi her bir kuyucuğa eklenerek 450 nm dalga boyunda absorban ölçümü yapıldı.
10. Standart eğrisi oluşturuldu.
11. Örneklerin konsantrasyonları hesaplandı (GDV MPT Reader DV 990 BV 4).



Şekil 6: GSK-3 α standart eğrisi

3.5.2. GSK-3 β analizi

Serum GSK-3 β düzeyinin tayininde ELISA yöntemi kullanıldı. (Human GSK-3 β Elabscience ELISA kit, Katalog Numarası:E-EL-H2000, çalışma içi %CV: 6,56, çalışmalar arası %CV: 4,95)

Yöntemin prensibi

Yöntemin prensibi, sandwich ELISA yöntemine dayanmaktadır. 96 kuyucuklu plaklara önceden kaplanan GSK-3 β için spesifik antikorlar ile plaklara eklenen numunelerdeki antijen ve biyotin işaretli antikorların arasında antikor-antijen-antikor kompleksi oluşur (sandwich formu). Ortama eklenen HRP işaretli antikorlar ile TMB substrat çözeltisi arasında enzim-substrat reaksiyonu gerçekleşir. Oluşan sarı rengin yoğunluğu, plakta tutulan GSK-3 β miktarı ile orantılıdır.

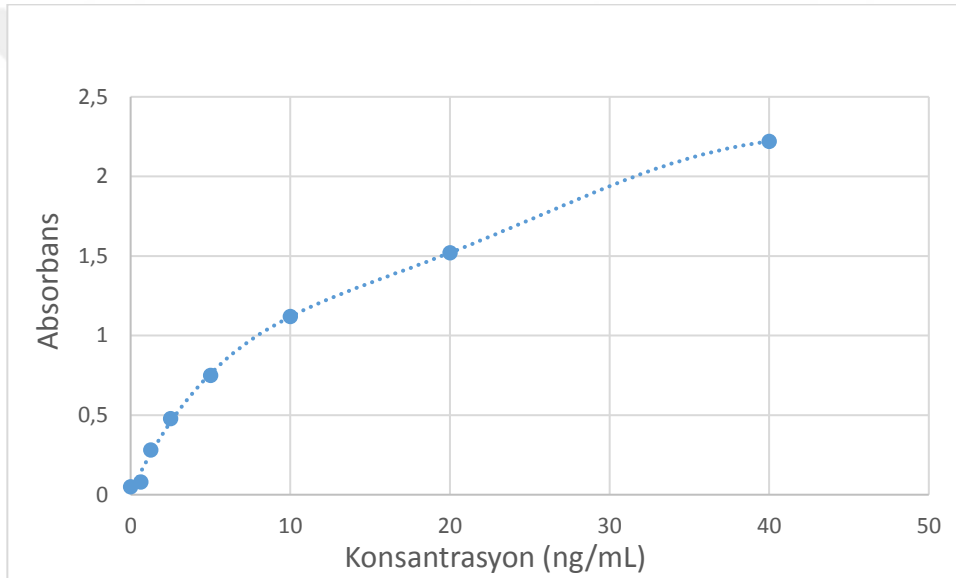
Kullanılan ayıraçlar

- Anti GSK-3 β antikorlarıyla kaplı 96 kuyucuklu plak
- Liyofilize GSK-3 β standardı
- Biyotinle işaretli anti GSK-3 β antikor
- HRP-konjugat kompleksi
- TMB substrat çözeltisi
- TMB durdurma çözeltisi
- HRP-konjugat kompleksi dilüsyon çözeltisi
- Standart dilüsyon çözeltisi
- Örnek dilüsyon çözeltisi
- Antikor dilüsyon çözeltisi
- Yıkama çözeltisi

Testin yapılışı

1. Standart stok çözeltisi hazırlandı. Belirtilen oranlarda seyreltmeler yapıldı.
2. Plak kuyucuklarının her birine standart veya örnekten 100 μ L eklendi. 37°C'de 90 dakika inkübe edildi.
3. Plak içeriği döküldükten sonra her bir kuyucuğa 100 μ L biyotinle işaretli anti GSK- 3 β antikoru eklenerek 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.

4. Kuyucuklar 3 kez yıkandı.
5. Her kuyucuğa 100 µL HRP konjugat çalışma solüsyonu eklenerek 37° C’de 30 dakika inkübe edildi.
6. Kuyucuklar 5 kez yıkandı.
7. Her kuyucuğa 90 µL TMB substrat çözeltisi eklendi
8. Karanlık ortamda 37 ° C’de 15 dakika inkübe edildi.
9. 50 µL durdurma çözeltisi her bir kuyucuğa eklenerek 450 nm dalga boyunda absorbands ölçümü yapıldı.
10. Standart eğrisi oluşturuldu.
11. Örneklerin konsantrasyonları hesaplandı (GDV MPT Reader DV 990 BV 4).



Şekil 7: GSK-3β standart eğrisi

3.5.3. IL-1β analizi

Serum IL-1β düzeyinin tayininde ELISA yöntemi kullanıldı. (Human IL-1β İnvitrogen by Thermo Fisher Scientific ELISA kit, Katalog Numarası:BMS224-2, çalışma içi %CV: 5,1, çalışmalar arası %CV: 8,6)

Yöntemin prensibi

Yöntemin prensibi, sandwich ELISA yöntemine dayanmaktadır. 96 kuyucuklu plaklara önceden kaplanan IL-1β için spesifik antikorlar ile plaklara eklenen numunelerdeki antijen ve biyotin işaretli antikorların arasında antikor-antijen-antikor

kompleksi oluşur (sandwich formu). Ortama eklenen HRP işaretli antikorlar ile TMB substrat çözeltisi arasında enzim-substrat reaksiyonu gerçekleşir. Oluşan sarı rengin yoğunluğu, plakta tutulan IL-1 β miktarı ile orantılıdır.

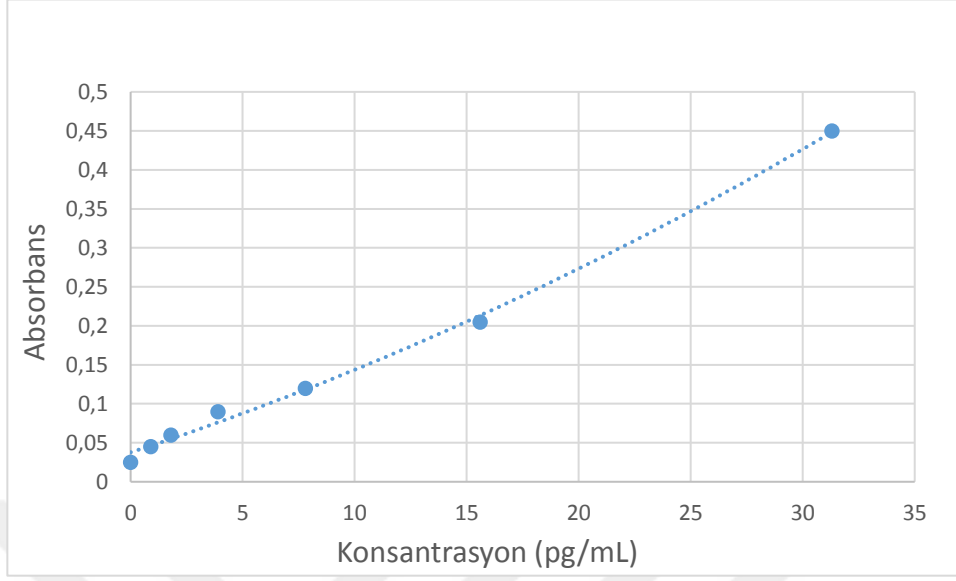
Kullanılan ayıraçlar

- Anti IL-1 β antikorlarıyla kaplı 96 kuyucuklu plak
- Liyofilize IL-1 β standardı
- Biyotinle işaretli anti IL-1 β antikor
- Streptavidin-HRP kompleksi
- TMB substrat çözeltisi
- TMB durdurma çözeltisi
- Streptavidin-HRP kompleksi dilüsyon çözeltisi
- Standart dilüsyon çözeltisi
- Örnek dilüsyon çözeltisi
- Antikor dilüsyon çözeltisi
- Yıkama çözeltisi

Testin yapılışı

1. Standart stok çözeltisi hazırlandı. Belirtilen oranlarda seyreltmeler yapıldı.
2. Plak 2 kez yıkandı.
3. Plak kuyucuklarının her birine standarttan 100 μ L, örnekten 50 μ L eklendi.
4. 50 μ L sample dilüent örneklere eklendi.
5. 50 μ L biyotin konjugat tüm kuyucuklara eklendi
6. Oda ısısında çalkalayıcı üzerinde 2 saat inkübasyona bırakıldı.
7. Kuyucuklar 3 kez yıkandı.
8. Plak içeriği döküldükten sonra her bir kuyucuğa 100 μ L Streptavidin-HRP eklenerek oda ısısında 60 dakika inkübe edildi.
9. Kuyucuklar 3 kez yıkandı.
10. Her kuyucuğa 100 μ L TMB kompleksi eklenerek oda ısısında ışıktan korunarak 10 dakika inkübe edildi.
11. 100 μ L durdurma çözeltisi her bir kuyucuğa eklenerek 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı.
12. Standart eğrisi oluşturuldu.

13. Örneklerin konsantrasyonları hesaplandı (GDV MPT Reader DV 990 BV 4).



Şekil 8: IL-1 β standart eğrisi

3.5.4. IL-6 analizi

Serum IL-6 düzeyinin tayininde ELISA yöntemi kullanıldı. (Human IL-6 İnvitrogen by Thermo Fisher Scientific ELISA kit, Katalog Numarası:BMS213-2, çalışma içi %CV: 3,4, çalışmalar arası %CV: 5,2)

Yöntemin prensibi

Yöntemin prensibi, sandwich ELISA yöntemine dayanmaktadır. 96 kuyucuklu plaklara önceden kaplanan IL-6 için spesifik antikorlar ile plaklara eklenen numunelerdeki antijen ve biyotin işaretli antikorların arasında antikor-antijen-antikor kompleksi oluşur (sandwich formu). Ortama eklenen HRP işaretli antikorlar ile TMB substrat çözeltisi arasında enzim-substrat reaksiyonu gerçekleşir. Oluşan sarı rengin yoğunluğu, plakta tutulan IL-6 miktarı ile orantılıdır.

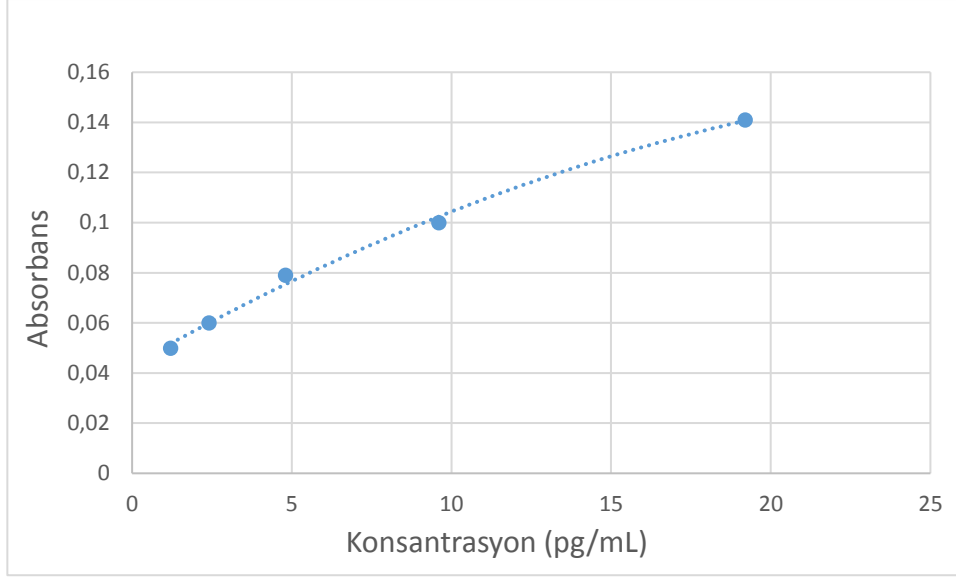
Kullanılan araçlar

- Anti IL-6 antikorlarıyla kaplı 96 kuyucuklu plak
- Liyofilize IL-6 standardı
- Biyotinle işaretli anti IL-6 antikor
- HRP-streptavidin kompleksi

- TMB substrat çözeltisi
- TMB durdurma çözeltisi
- HRP-streptavidin kompleksi dilüsyon çözeltisi
- Standart dilüsyon çözeltisi
- Örnek dilüsyon çözeltisi
- Antikor dilüsyon çözeltisi
- Yıkama çözeltisi

Testin yapılışı

1. Standart stok çözeltisi hazırlandı. Belirtilen oranlarda seyreltmeler yapıldı.
2. Plak 2 kez yıkandı.
3. Plak kuyucuklarının her birine standarttan 100 μ L, örnekten 50 μ L eklendi.
4. 50 μ L assay buffer tüm örneklerle eklendi.
5. 50 μ L biyotin konjugat tüm kuyucuklara eklendi.
6. Oda ısısında çalkalayıcı üzerinde 2 saat inkübasyona bırakıldı.
7. Kuyucuklar 3 kez yıkandı.
8. Plak içeriği döküldükten sonra her bir kuyucuğa 100 μ L streptavidin-HRP eklenerek oda ısısında 60 dakika inkübe edildi.
9. Kuyucuklar 3 kez yıkandı.
10. Her kuyucuğa 100 μ L TMB kompleksi eklenerek oda ısısında ışıktan korunarak 10 dakika inkübe edildi.
11. 100 μ L durdurma çözeltisi her bir kuyucuğa eklenerek 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı.
12. Standart eğrisi oluşturuldu.
13. Örneklerin konsantrasyonları hesaplandı (GDV MPT Reader DV 990 BV 4).



Şekil 9: IL-6 standart eğrisi

3.5.5. IL-17 analizi

Serum IL-17 düzeyinin tayininde ELISA yöntemi kullanıldı. (Human IL-17 İnvitrogen by Thermo Fisher Scientific ELISA kit, Katalog Numarası:BMS2017, çalışma içi %CV: 7,1, çalışmalar arası %CV: 9,1)

Yöntemin prensibi

Yöntemin prensibi, sandwich ELISA yöntemine dayanmaktadır. 96 kuyucuklu plaklara önceden kaplanan IL-17 için spesifik antikorlar ile plaklara eklenen numunelerdeki antijen ve biyotin işaretli antikorların arasında antikor-antijen-antikor kompleksi oluşur (sandwich formu). Ortama eklenen HRP işaretli antikorlar ile TMB substrat çözeltisi arasında enzim-substrat reaksiyonu gerçekleşir. Oluşan sarı rengin yoğunluğu, plakta tutulan IL-17 miktarı ile orantılıdır.

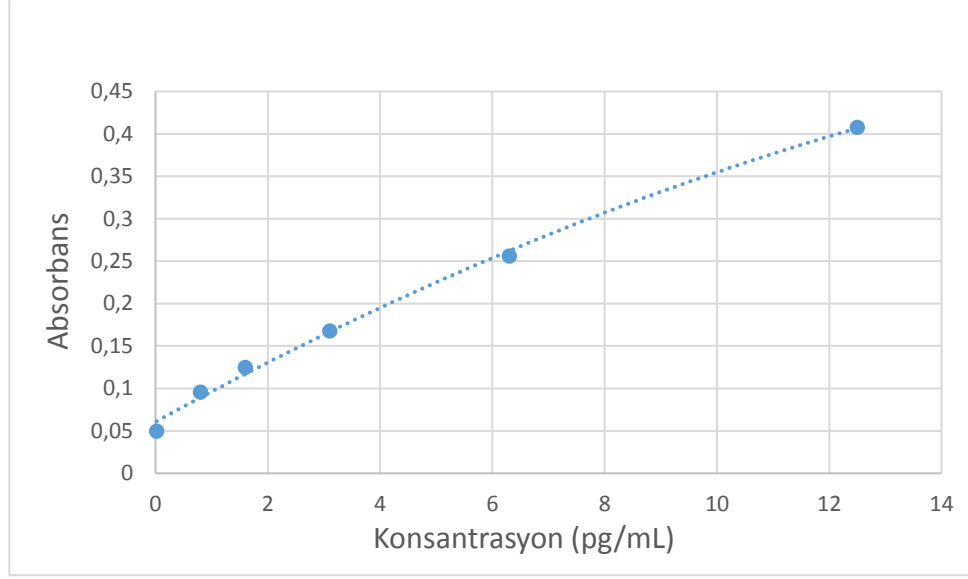
Kullanılan ayraçlar

- Anti IL-17 antikorlarıyla kaplı 96 kuyucuklu plaka
- Liyofilize IL-17 standardı
- Biyotinle işaretli anti IL-17 antikor
- HRP-streptavidin kompleksi
- TMB substrat çözeltisi
- TMB durdurma çözeltisi

- HRP-streptavidin kompleksi dilüsyon çözeltisi
- Standart dilüsyon çözeltisi
- Örnek dilüsyon çözeltisi
- Antikor dilüsyon çözeltisi
- Yıkama çözeltisi

Testin yapılışı

1. Örnekler belirli oranda seyreltildi.
2. Standart stok çözeltisi hazırlandı. Belirtilen oranlarda seyreltmeler yapıldı.
3. Plak 2 kez yıkandı.
4. Plak kuyucuklarının her birine standart veya örnekten 100 µL eklendi. 37°C'de 90 dakika inkübe edildi.
5. Plak içeriği döküldükten sonra her bir kuyucuğa 100 µL biyotinle işaretli anti IL-17 antikorunu eklenerek 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
6. Kuyucuklar 3 kez yıkandı.
7. Her kuyucuğa 100 µL avidin-biyotin-peroksidaz kompleksi eklenerek 37°C'de 30 dakika inkübe edildi.
8. Kuyucuklar 5 kez yıkandı.
9. Her kuyucuğa 90 µL TMB substrat çözeltisi eklendi
10. Karanlık ortamda 37°C'de 15 dakika inkübe edildi.
11. 100 µL durdurma çözeltisi her bir kuyucuğa eklenerek 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı.
12. Standart eğrisi oluşturuldu.
13. Örneklerin konsantrasyonları hesaplandı (GDV MPT Reader DV 990 BV 4).



Şekil 10: IL-17 standart eğrisi

3.5.6. TNF- α analizi

Serum Tnf- α düzeyinin tayininde ELISA yöntemi kullanıldı. (Human Tnf- α İnvitrogen by Thermo Fisher Scientific ELISA kit, Katalog Numarası:BMS223-4, çalışma içi %CV: 6, çalışmalar arası %CV: 7,4)

Yöntemin prensibi

Yöntemin prensibi, sandwich ELISA yöntemine dayanmaktadır. 96 kuyucuklu plaklara önceden kaplanan Tnf- α için spesifik antikorlar ile plakalara eklenen numunelerdeki antijen ve biyotin işaretli antikorların arasında antikor-antijen-antikor kompleksi oluşur (sandwich formu). Ortama eklenen HRP işaretli antikorlar ile TMB substrat çözeltisi arasında enzim-substrat reaksiyonu gerçekleşir. Oluşan sarı rengin yoğunluğu, plakta tutulan Tnf- α miktarı ile orantılıdır.

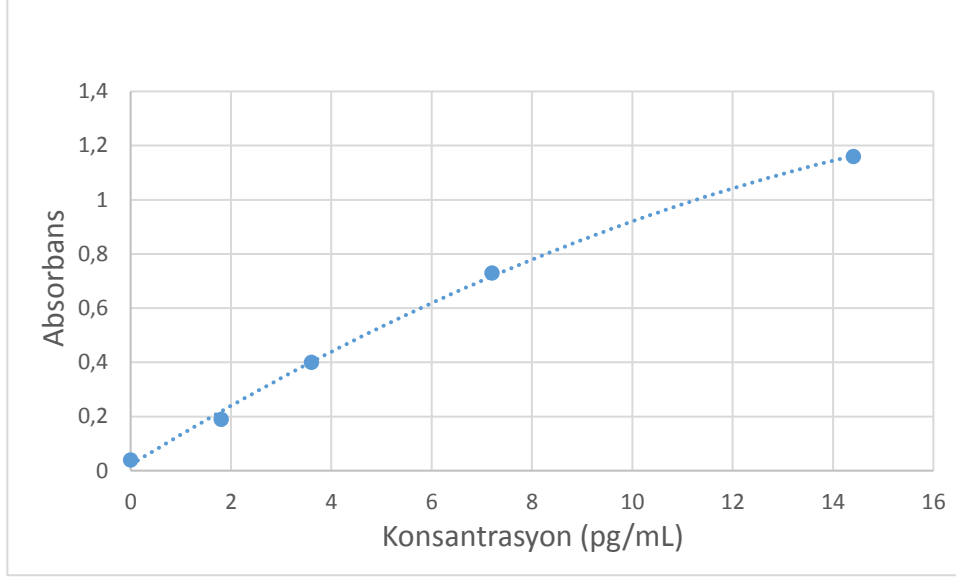
Kullanılan ayıraçlar

- Anti TNF- α antikorlarıyla kaplı 96 kuyucuklu plak
- Liyofilize TNF- α standardı
- Biyotinle işaretli anti TNF- α antikor
- HRP-streptavidin kompleksi
- TMB substrat çözeltisi

- TMB durdurma çözeltisi
- HRP-streptavidin kompleksi dilüsyon çözeltisi
- Standart dilüsyon çözeltisi
- Örnek dilüsyon çözeltisi
- Antikor dilüsyon çözeltisi
- Yıkama çözeltisi

Testin yapılışı

1. Standart stok çözeltisi hazırlandı. Belirtilen oranlarda seyreltmeler yapıldı.
2. Plak 2 kez yıkandı.
3. Plak kuyucuklarının her birine standartlardan 100 µL, örneklerden 50 µL eklendi.
4. Örneklerle 50 µL dilüent eklendi
5. 37°C'de 120 dakika inkübe edildi.
6. Plak içeriği döküldükten sonra her bir kuyucuğa 100 µL biyotinle işaretli anti TNF-α antikorunu eklenerek 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
7. Kuyucuklar 3 kez yıkandı.
8. Her kuyucuğa 100 µL avidin-biyotin-peroksidaz kompleksi eklenerek 37° C'de 30 dakika inkübe edildi.
9. Kuyucuklar 5 kez yıkandı.
10. Her kuyucuğa 90 µL TMB substrat çözeltisi eklendi
11. Karanlık ortamda 37 ° C'de 15 dakika inkübe edildi.
12. 100 µL durdurma çözeltisi her bir kuyucuğa eklenerek 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı.
13. Standart eğrisi oluşturuldu.
14. Örneklerin konsantrasyonları hesaplandı (GDV MPT Reader DV 990 BV 4).



Şekil 11: TNF- α standart eğrisi

3.5.7. Rutin test parametrelerinin analizi

Bireylerin serum glukoz, üre, kreatinin, albümin, AST ve ALT düzeyleri İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi Fikret Biyal Tıbbi Biyokimya Laboratuvarında Roche Cobas c702 kullanılarak tayin edildi.

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

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

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

Albümin düzeyleri kolorimetrik yöntem (brom krezol yeşili) ile belirlendi (Roche Cobas, katalog no:03183688).

ALT düzeyleri enzimatik-kinetik yöntem ile belirlendi (Roche Cobas, katalog no: 20764957).

AST düzeyleri enzimatik-kinetik yöntem ile belirlendi (Roche Cobas, katalog no:20764949).

HbA1c değerleri yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi ile belirlendi (Tosoh Automated Glycohemoglobin Analyzer, katalog no: 0021849, 0021850, 0021851).

CRP analizi immnotrbidimetrik yöntem kullanılarak yapıldı (Roche Cobas, katalog no: 04956842).

İdrar mikroalbümin düzeyleri immnotrbidimetrik yöntem ile belirlendi (Roche Cobas, katalog no: 42591701).

İdrar kreatinin düzeyleri kinetik Jaffe yöntemi ile belirlendi (Roche Cobas 501, katalog no: 04810716).

3.6. İstatiksel Yöntemler

İstatistiksel değerlendirmeler Statistical Package for the Social Sciences "SPSS" 23.0 programı kullanılarak gerçekleştirildi. Çalışma sonuçlarında tanımlayıcı istatistikler ortalama \pm standart sapma (SD) olarak verildi. Dağılımın normalliği Kolmogrov-Smirnov testi ile sınıandı.

Grupların ortalamasının çoklu karşılaştırılması için tek yönlü varyans analizi One- Way Analysis of variance (ANOVA) testi, alt grupların ikili karşılaştırmaları için "Dunnet" ve "Tukey HSD" testleri kullanıldı. Korelasyon analizleri için Pearson korelasyon analizinden faydalanıldı. Bağımsız değişken olarak atanan VKİ ve albminrinin etkisinin analizinde ANCOVA testi kullanıldı. Sonuçlar % 95 güven aralığında, istatistiksel anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. Tanımlayıcı özellikler ve genel laboratuvar parametreleri

Kontrol, nefropatisiz diyabet, mikroalbüminürili ve makroalbüminürili diyabet gruplarının genel özellikleri ile rutin laboratuvar sonuçları ortalama ve standart sapma olarak tablo-5'te verilmiştir.

Tablo 5: Kontrol, nefropatisiz diyabet, mikroalbüminürili ve makroalbüminürili diyabet gruplarının genel özellikleri ile rutin laboratuvar sonuçları (Ort±SD)

	Kontrol	Nefropatisiz Diyabet	Mikroalbüminürili Diyabet	Makroalbüminürili Diyabet
n(Kadın/Erkek)	30 (16/14)	30 (17/13)	30 (14/16)	30 (13/17)
Yaş (yıl)	56,6±8,9	61,4±10	60,2±8,1	55,7±11,4
VKİ (kg/m²)	25,5±3,2 ^{b²,c¹,d²}	22,4±3,1	22,6±3	22,6±2,7
Açlık serum glukozu (mg/dL)	86,4±7,6 ^{b²,c¹,d²}	154,3±53,4	169,1±60,3	141,7±64
HbA1c (%)	5,4±0,3 ^{b²,c¹,d²}	7,8±2,1	7,9±1,2	7,7±1,6
Üre (mg/dL)	31,2±8	34,9±17,5	35,1±15,3	52,1±30,4 ^{a¹,b²,c¹}
Kreatinin (mg/dL)	0,7±0,1	0,8±0,2	0,9±0,3	1,6±1,1 ^{a¹,b²,c¹}
Albümin (g/dL)	4,5±0,6	4,5±0,4	4,4±0,3	4±0,6 ^{a¹,b¹,c¹}
ALT (U/L)	18,7±4,0	17,4±5,2	28,7±21,5 ^{a¹,b²,d¹}	16,7±10,6
AST (U/L)	16,4±7,1	16,9±4,1	20,6±8	19,4±11,1
GFR (mL/dk)	131,4±9,7	111,4±44,7	107,9±40,6	69,9±41,1 ^{a¹,b²,c¹}
CRP (mg/L)	1,1±0,6	1,2±0,7	1,2±1	1,5±1,1

a:Kontrol grubu ile karşılaştırma; a¹: p<0,001

b:Nefropatisiz diyabet grubu ile karşılaştırma: b¹: p<0,01 b²: p<0,001

c:Mikroalbüminüri grubu ile karşılaştırma: c¹: p<0,001

d:Makroalbüminüri grubu ile karşılaştırma:d¹: p<0,01 d²: p<0,001

VKİ: Vücut kütle indeksi, GFR: Glomerüler filtrasyon hızı

Nefropatisiz diyabet, mikroalbüminürili diyabet, makroalbüminürili diyabet ve kontrol grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında;

- 4 grup arasında da yaş ortalamaları açısından anlamlı fark bulunmadı
- VKİ kontrol grubunda hasta gruplarından anlamlı yüksek bulundu (tümü için $p<0,001$).

- Açlık serum glukoz değerleri kontrol grubunda tüm diyabet gruplarından anlamlı derecede düşük bulundu (tümü için $p<0,001$). Diyabet grupları arasında anlamlı fark saptanmadı.

- HbA1c değerleri kontrol grubunda tüm diyabet gruplarından anlamlı derecede düşük bulundu (tümü için $p<0,001$). Diyabet grupları arasında anlamlı fark saptanmadı.

- Üre ve kreatinin değerleri makroalbüminüri grubunda diğer tüm gruplardan anlamlı derecede yüksek bulundu (tümü için $p<0,001$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

- Albümin değerleri makroalbüminürili diyabet grubunda kontrol, nefropatisiz diyabet ve mikroalbüminürili diyabet gruplarına göre anlamlı derece düşük bulundu (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,01$, $p<0,01$). Diğer gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı.

- ALT değerleri mikroalbüminürili diyabet grubunda kontrol, nefropatisiz diyabet ve makroalbüminürili diyabet grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu (sırasıyla $p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,01$). Diğer gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı.

- AST değerleri 4 grup arasında da anlamlı fark saptanmadı.

- Glomerüler filtrasyon hızı makroalbüminürili diyabet grubunda kontrol, nefropatisiz ve mikroalbüminürili diyabet gruplarına göre anlamlı derecede düşük bulundu (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,001$, $p<0,01$). Diğer gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı.

- CRP değerleri açısından 4 grup arasında da anlamlı fark bulunmadı.

4.2. Glikojen Sentaz Kinaz 3 β ve 3 α ile IL-1, IL-6, IL-17, TNF- α düzeyleri

Grupların Glikojen Sentaz Kinaz 3 β , Glikojen Sentaz Kinaz 3 α , IL-1, IL-6, IL-17, TNF- α düzeyleri Tablo-6'da Ort \pm SD olarak verilmiştir.

Tablo 6: Kontrol, nefropatisiz diyabet, mikroalbüminüri ve makroalbüminüri gruplarının IL-1 β , IL-6, IL-17, TNF- α , GSK-3 α , GSK-3 β düzeyleri (Ort \pm SD)

	Kontrol	Nefropatisiz Diyabet	Mikroalbüminüri Diyabet	Makroalbüminüri Diyabet
IL-1β (pg/mL)	4,86 \pm 1,03 ^{a³,b³,c³}	7,82 \pm 1,7 ^{b³,c³}	9,91 \pm 1,31	10,71 \pm 1,31
IL-6 (pg/mL)	1,54 \pm 0,82 ^{a³,b³,c³}	3,02 \pm 1,22 ^{b³,c³}	6,82 \pm 1,06 ^{c³}	12,46 \pm 1,49
IL-17 (pg/mL)	1,61 \pm 0,72 ^{a¹,b¹,c²}	2,48 \pm 1,26	2,57 \pm 1,48	2,66 \pm 1,53
TNF-α (pg/mL)	2,28 \pm 0,82 ^{a²,b³,c³}	3,07 \pm 0,70 ^{b²,c³}	3,99 \pm 1,24 ^{c¹}	4,69 \pm 1,08
GSK-3α (ng/mL)	0,17 \pm 0,08 ^{a¹,c³}	0,26 \pm 0,11	0,24 \pm 0,11	0,29 \pm 0,14
GSK-3β (ng/mL)	0,22 \pm 0,07 ^{a²,b³,c³}	0,54 \pm 0,1 ^{b³,c³}	1,20 \pm 0,38 ^{c³}	1,67 \pm 0,48

a: Nefropatisiz diyabet grubu ile karşılaştırma a¹: p<0,05 a²: p<0,01 a³: p<0,001

b: Mikroalbüminüri diyabet grubu ile karşılaştırma b¹: p<0,05 b²: p<0,01 b³: p<0,001

c: Makroalbüminüri diyabet grubu ile karşılaştırma: c¹: p<0,05 c²: p<0,01 c³: p<0,001

- IL-1 β seviyesi kontrol grubunda diğer tüm gruplara göre anlamlı düşük saptandı (tümü için p<0,001). Nefropatisiz diyabet grubunda ise mikroalbüminüri ve makroalbüminüri diyabet gruplarına göre anlamlı düşük saptandı (her ikisi için p<0,001). Ancak mikroalbüminüri ve makroalbüminüri diyabet grupları arasında anlamlı fark görülmedi (Şekil 12).

- IL-6 seviyesi kontrol grubunda diğer tüm gruplara göre anlamlı düşük saptandı (tümü için p<0,001). Nefropatisiz diyabet grubunda ise mikroalbüminüri ve makroalbüminüri diyabet gruplarına göre anlamlı düşük saptandı (her ikisi için p<0,001). Makroalbüminüri diyabet grubunda ise mikroalbüminüri diyabet grubuna göre anlamlı yüksek bulundu (p<0,001) (Şekil 13)

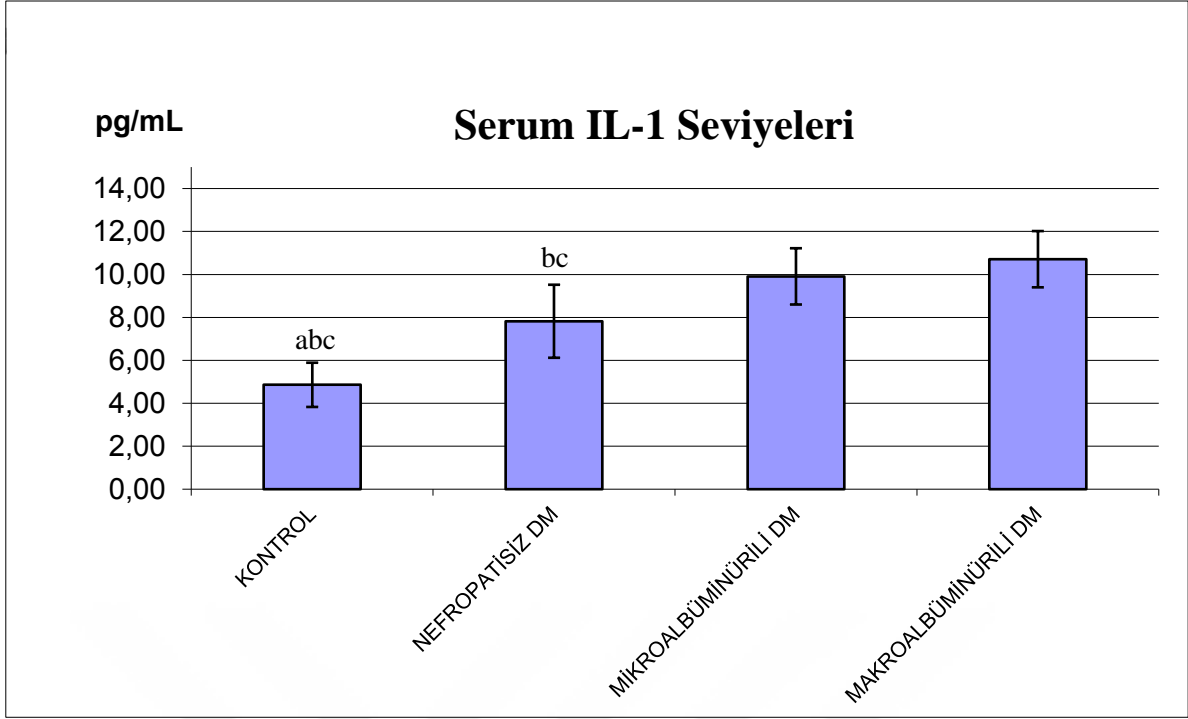
- IL-17 seviyesi kontrol grubunda nefropatisiz diyabet, mikroalbüminüri ve makroalbüminüri diyabet gruplarına göre anlamlı düşük saptandı (sırasıyla p<0,05, p<0,05, p<0,01). Diğer gruplar arasında ise anlamlı bir fark olmadığı görüldü (Şekil 14).

- TNF- α seviyesi kontrol grubunda nefropatisiz diyabet, mikroalbüminüri ve makroalbüminüri diyabet gruplarına göre anlamlı düşük saptandı (sırasıyla p<0,01, p<0,001, p<0,001). Nefropatisiz diyabet grubunda mikroalbüminüri ve makroalbüminüri diyabet gruplarına göre anlamlı düşük saptandı (sırasıyla p<0,01,

$p<0,001$). Makroalbuminürlü diyabet grubunda ise mikroalbuminürlü diyabet grubuna göre anlamlı yüksek olduğu görüldü ($p<0,05$) (Şekil 15)

- GSK-3 α seviyesi kontrol grubunda nefropatisiz diyabet ve makroalbuminürlü diyabet grubuna göre anlamlı düşük saptandı (sırasıyla $p<0,05$, $p<0,001$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü (Şekil 16).

- GSK-3 β seviyesi kontrol grubunda nefropatisiz diyabet, mikroalbuminürlü ve makroalbuminürlü diyabet gruplarına göre anlamlı düşük saptandı (sırasıyla $p<0,01$, $p<0,001$, $p<0,001$). Nefropatisiz diyabet grubunda mikroalbuminürlü ve makroalbuminürlü diyabet gruplarına göre anlamlı düşük saptandı (her ikisi için $p<0,001$). Makroalbuminürlü diyabet grubunda ise mikroalbuminürlü diyabet grubuna göre anlamlı yüksek bulundu ($p<0,001$) (Şekil 17).

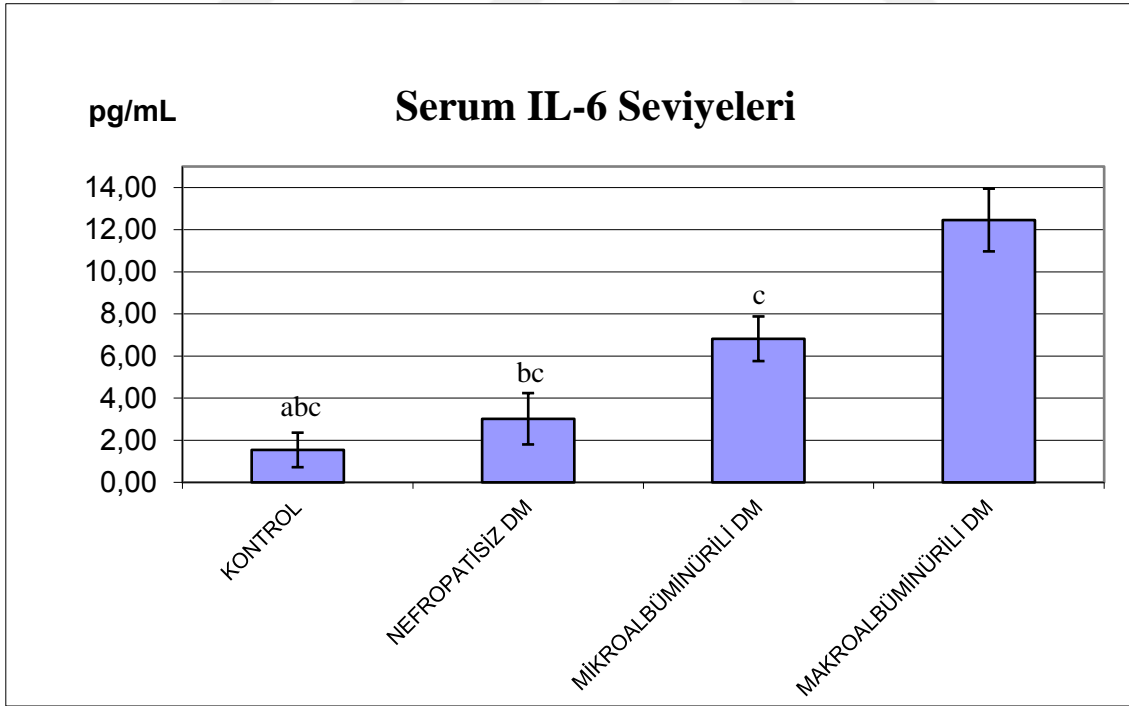


Şekil 12: Araştırma gruplarının serum IL-1 seviyeleri

a: Nefropatisiz diyabet grubu ile karşılaştırma a: $p < 0,001$

b: Mikroalbuminüri grubu ile karşılaştırma: b: $p < 0,001$

c: Makroalbuminüri grubu ile karşılaştırma c: $p < 0,001$

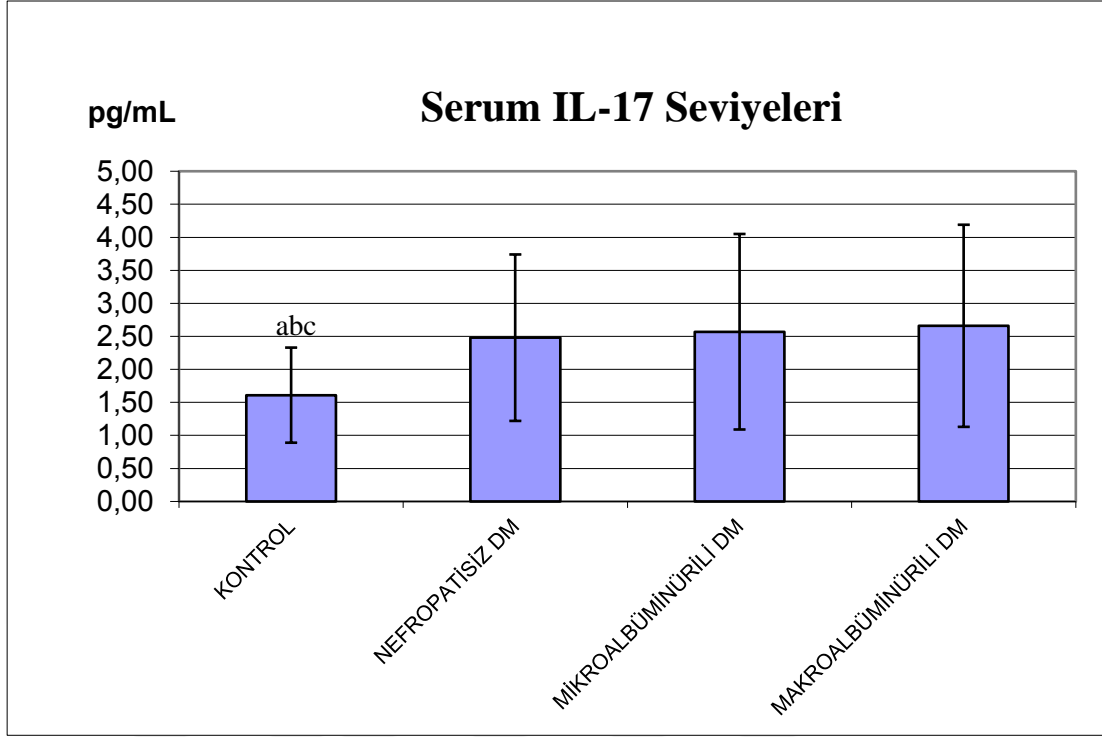


Şekil 13: Araştırma gruplarının serum IL-6 seviyeleri

a: Nefropatisiz diyabet grubu ile karşılaştırma: a: $p < 0,001$

b: Mikroalbuminüri grubu ile karşılaştırma: b: $p < 0,001$

c: Makroalbuminüri grubu ile karşılaştırma: c: $p < 0,001$

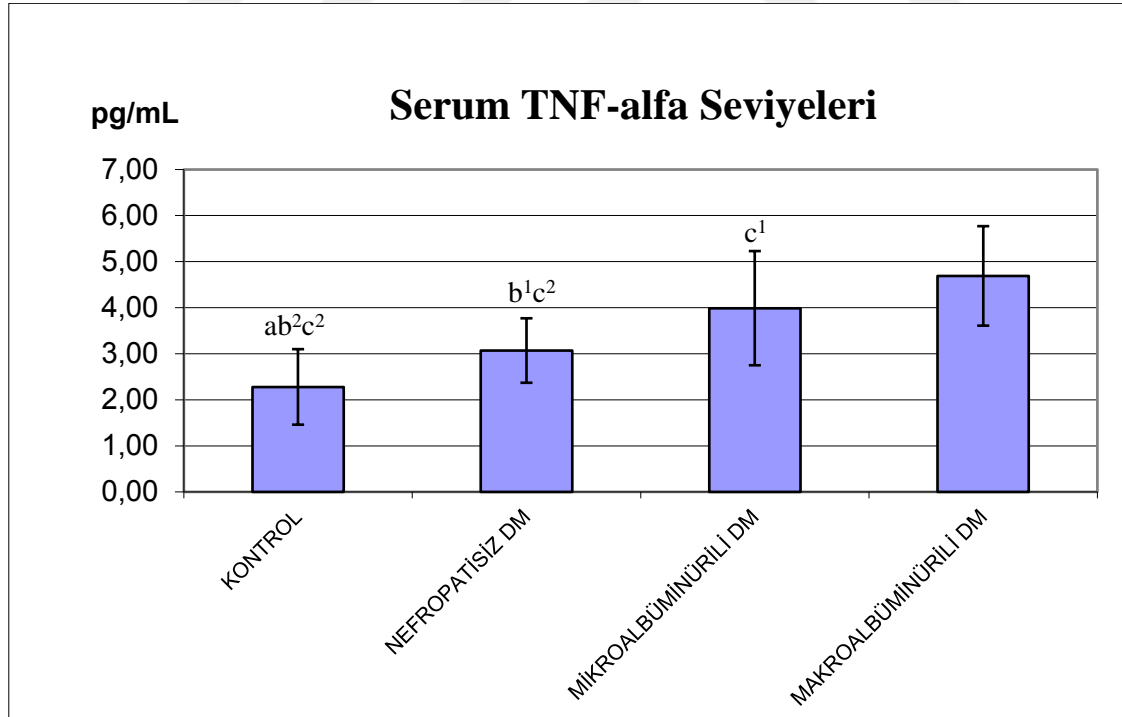


Şekil 14: Araştırma gruplarının serum IL-17 seviyeleri

a: Nefropatisiz diyabet grubu ile karşılaştırma a: $p < 0,05$

b: Mikroalbuminüri grubu ile karşılaştırma b: $p < 0,05$

c: Makroalbuminüri grubu ile karşılaştırma c: $p < 0,01$

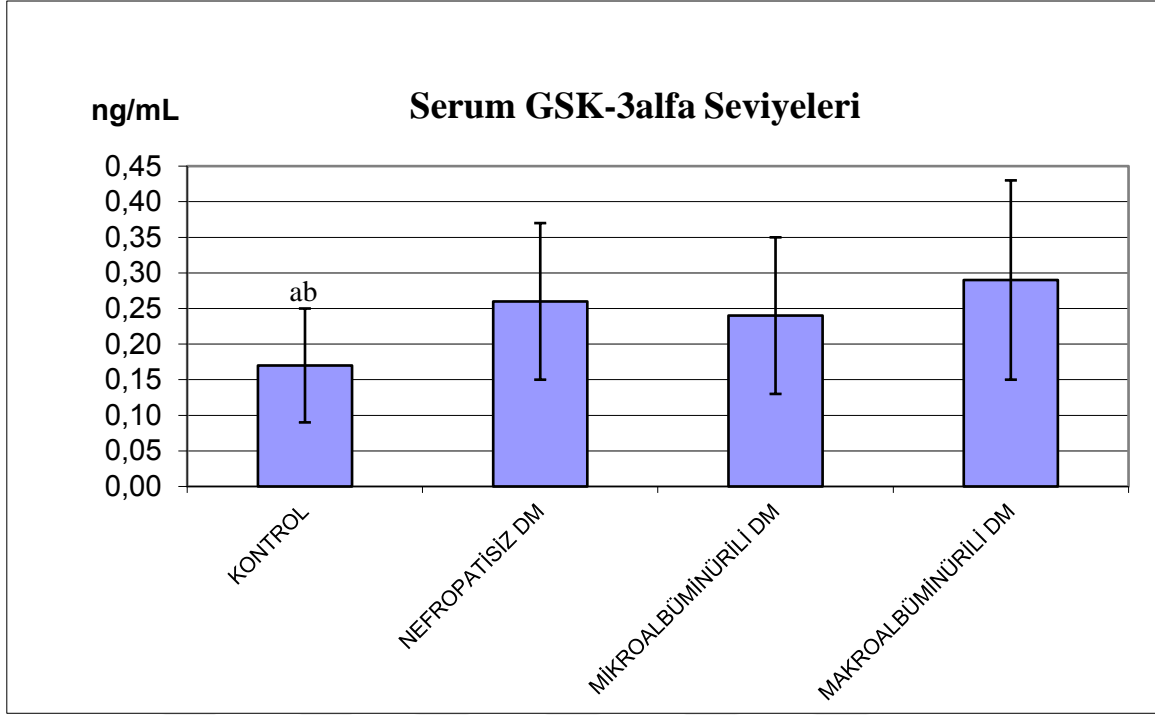


Şekil 15: Araştırma gruplarının serum TNF-alfa seviyeleri

a: Nefropatisiz diyabet grubu ile karşılaştırma a: $p < 0,01$

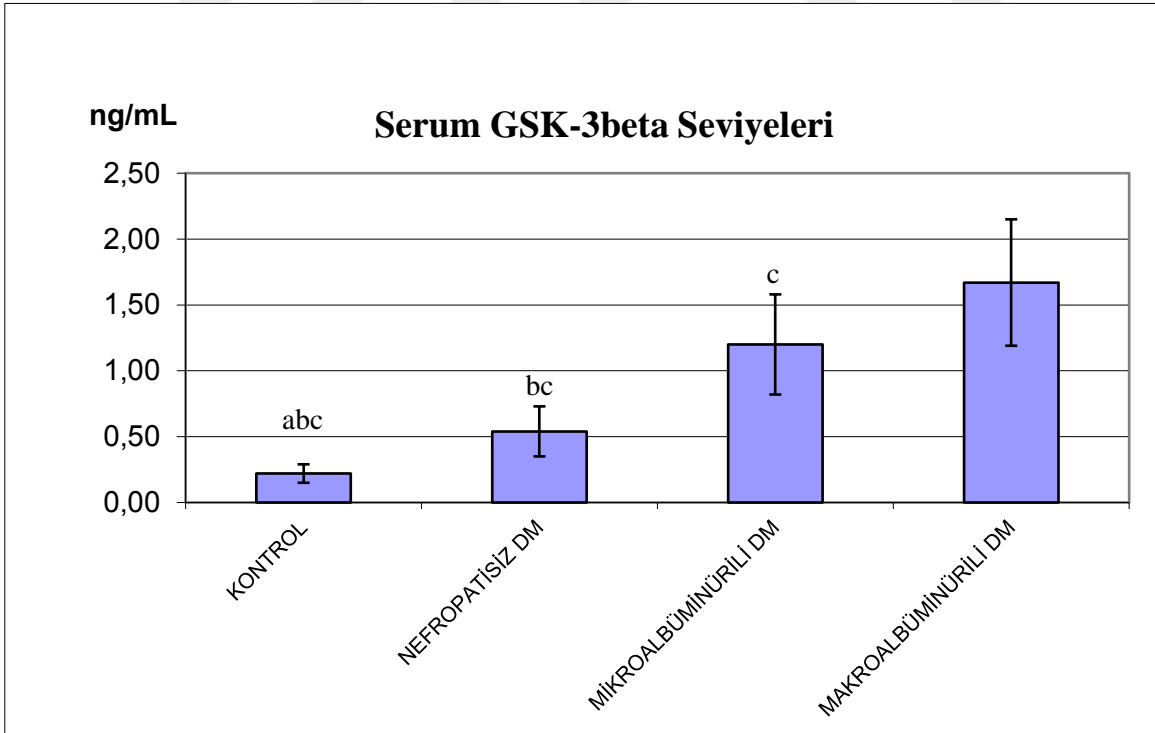
b: Mikroalbuminüri grubu ile karşılaştırma b¹: $p < 0,01$ b²: $p < 0,001$

c: Makroalbuminüri grubu ile karşılaştırma c¹: $p < 0,05$ c²: $p < 0,001$



Şekil 16: Araştırma gruplarının serum GSK-3alfa seviyeleri

a: Nefropatisiz diyabet grubu ile karşılaştırma: a: $p < 0,05$
b: Makroalbuminüri grubu ile karşılaştırma: b: $p < 0,001$



Şekil 17: Araştırma gruplarının serum GSK-3beta seviyeleri

a: Nefropatisiz diyabet grubu ile karşılaştırma: a: $p < 0,01$
b: Mikroalbuminüri grubu ile karşılaştırma: b: $p < 0,001$
c: Makroalbuminüri grubu ile karşılaştırma: c: $p < 0,001$

4.3. Korelasyon Analizleri

Kontrol grubu ele alındığında;

- IL-17 ile TNF- α arasında zayıf negatif korelasyon bulundu ($r=-0,362$ $p<0,05$).
- Diğer parametreler arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

Nefropatisiz diyabet grubu ele alındığında;

- IL-1 ile IL-6 arasında orta düzeyde pozitif korelasyon bulundu ($r=0,470$ $p<0,01$).
- IL-17 ile GSK-3 α seviyesi arasında orta düzeyde pozitif korelasyon bulundu $r=0,433$ $p<0,05$).
- GSK-3 α ile GSK-3 β arasında orta düzeyde pozitif korelasyon bulundu ($r=0,493$ $p<0,05$).
- Diğer parametreler arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

Mikroalbüminürili diyabet grubu ele alındığında parametreler arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

Makroalbüminürili diyabet grubu ele alındığında;

- IL-1 ile GSK-3 β arasında orta düzeyde pozitif korelasyon bulundu ($r=0,514$ $p<0,05$).
- IL-17 ile GSK-3 α seviyesi arasında orta düzeyde pozitif korelasyon bulundu ($r=0,508$ $p<0,01$).
- GSK-3 α ile GSK-3 β seviyesi arasında orta düzeyde pozitif korelasyon bulundu ($r=0,601$ $p<0,01$).
- Diğer parametreler arasında anlamlı bir korelasyon görülmedi.

Tüm gruplar ele alındığında;

- IL-1 β ile IL-6 ve GSK-3 β arasında güçlü pozitif korelasyon bulundu (sırasıyla $r=0,703$ $p<0,001$, $r=0,660$ $p<0,001$).
- IL-1 β ile IL-17 ve GSK-3 α arasında zayıf pozitif korelasyon bulundu (sırasıyla $r=0,274$ $p<0,05$, $r=0,313$ $p=0,001$).
- IL-1 β ile TNF- α arasında orta düzeyde pozitif korelasyon bulundu ($r=0,556$ $p<0,001$).

- IL-6 ile IL-17 ve GSK-3 α arasında zayıf pozitif korelasyon bulundu (sırasıyla $r=0,247$ $p<0,01$, $r=0,262$ $p<0,01$).

- IL-6 ile TNF- α arasında orta düzeyde pozitif korelasyon bulundu ($r=0,627$ $p<0,001$).

- IL-6 ile GSK-3 β arasında güçlü pozitif korelasyon bulundu ($r=0,820$ $p<0,001$).

- IL-17 ile GSK-3 α ve GSK-3 β arasında zayıf pozitif korelasyon bulundu (sırasıyla $r=0,296$ $p=0,001$, $r=0,194$ $p<0,05$).

- TNF- α ile GSK-3 α arasında çok zayıf pozitif korelasyon bulundu ($r=0,192$ $p<0,05$).

- TNF- α ile GSK-3 β arasında orta düzeyde pozitif korelasyon bulundu ($r=0,556$ $p<0,05$).

- GSK-3 α ve GSK-3 β arasında çok zayıf pozitif korelasyon bulundu ($r=0,180$ $p<0,05$).

Rutin parametreler açısından tüm gruplar değerlendirildiğinde;

- Yaş ile GFR arasında zayıf negatif korelasyon saptandı ($r=-0,282$ $p<0,01$).

- HbA1c ile açlık kan şekeri, üre, IL-1, IL-6, GSK-3 β ve TNF- α arasında pozitif korelasyon bulundu (sırasıyla $r=0,656$ $p<0,001$, $r=0,436$ $p<0,001$, $r=0,508$ $p<0,001$, $r=0,303$ $p=0,001$, $r=0,352$ $p<0,001$, $r=0,490$ $p<0,01$).

- Kreatinin ile IL-1, IL-6, GSK-3 β ve TNF- α arasında pozitif korelasyon bulundu (sırasıyla $r=0,283$ $p<0,01$, $r=0,429$ $p<0,001$, $r=0,441$ $p<0,001$, $r=0,320$ $p<0,01$)

- Üre ile IL-1, IL-6, GSK-3 β ve TNF- α arasında pozitif korelasyon bulundu (sırasıyla $r=0,556$ $p<0,001$, $r=0,656$ $p<0,001$, $r=0,556$ $p<0,001$, $r=0,520$ $p<0,001$)

- Albümin ile IL-1, IL-6, GSK-3 β ve TNF- α arasında negatif korelasyon bulundu (sırasıyla $r=-0,259$ $p<0,01$, $r=-0,370$ $p<0,001$, $r=-0,187$ $p<0,05$, $r=-0,290$ $p<0,01$).

- GFR ile IL-1, IL-6, GSK-3 β ve TNF- α arasında negatif korelasyon bulundu ($r=-0,304$ $p=0,001$, $r=-0,488$ $p<0,001$, $r=-0,418$ $p<0,001$, $r=-0,421$ $p<0,001$)

Tablo 7: Tüm bireylerde (n:120) serum IL-1 β , IL-6, IL-17, TNF- α , GSK-3 α , GSK-3 β , HbA1c(%), üre, kreatinin, albümin ve GFR arasındaki Pearson korelasyon katsayıları

	IL-1β	IL-6	IL-17	TNF-α	GSK-3α	GSK-3β
IL-1β	1	0,703***	0,274**	0,556***	0,313***	0,660***
IL-6	0,703***	1	0,247**	0,627***	0,262**	0,820***
IL-17	0,274**	0,247**	1	0,121	0,296***	0,194*
TNF-α	0,556***	0,627***	0,121	1	0,192*	0,556***
GSK-3α	0,313***	0,262**	0,296***	0,192*	1	0,180*
GSK-3β	0,660***	0,820***	0,194*	0,556***	0,180*	1
HbA1c	0,508***	0,303***	0,019	0,490**	0,067	0,352***
Üre	0,556***	0,656***	0,121	0,520***	0,082	0,556***
Kreatinin	0,283**	0,429**	0,013	0,320**	0,023	0,441***
Albümin	-0,259**	-0,370***	0,073	-0,290**	-0,120	-0,187*
GFR	-0,304***	-0,488***	-0,066	-0,421***	-0,55	-0,418***

*istatistiki anlamlılık $p<0,05$, **istatistiki anlamlılık $p<0,01$, ***istatistiki anlamlılık $p<0,001$

Ayrıca VKİ'nin ortak değişken olarak değerlendirildiği ANCOVA modelinde tüm gruplar değerlendirildiğinde;

- GSK-3 β ile VKİ'nin beraber AKŞ'ye etkisinin anlamlı olduğu görüldü ($p<0,030$) bu etkinin VKİ'nin yüksek olduğu kontrol grubundan kaynaklandığı bulundu ($p<0,093$).
- IL-6 ve VKİ'nin beraber AKŞ'ye etkisinin anlamlı olduğu görüldü ($p<0,011$) bu etkinin VKİ'nin yüksek olduğu kontrol grubundan kaynaklandığı bulundu ($p<0,008$).
- Yapılan diğer karşılaştırmalarda VKİ değerinin ortak değişken olarak ilişkide olduğu başka parametrelere rastlanmadı.

5.TARTIŞMA

Diyabetes mellitus son yıllarda tüm dünyada görülme sıklığı oldukça artan endokrin ve metabolik bir hastalıktır. Diyabetik nefropati ise diyabetin mortalitesi ve morbiditesi en yüksek en önemli komplikasyonudur. Diyabetik nefropati incelendiğinde erken tanı ve iyi glisemik kontrol ile gelişimi yavaşlatılıp önlenebilir bir hastalık olarak tanımlanabilir. Bu yüzden son yıllarda erken evrede diyabetik nefropati tanısının konulup tedaviye başlanabilmesi için yeni belirteçler üzerinde araştırmalar yapılmaktadır. Glikojen sentaz kinaz 3 β ve glikojen sentaz kinaz 3 α (GSK 3 β , GSK 3 α) metabolik döngülerde önemli bir enzim olan glikojen sentazı etkisizleştiren enzimler olarak tanımlanmışlardır. Birçok hayvan çalışmasında GSK 3 β 'nin diyabetik nefropatiyle ilişkisi ortaya konmuştur. Diyabetik nefropati; patogenezinde, fibrozis, inflamasyon ve glomerül hasarının rol oynadığı kompleks bir hastalıktır. İnflamasyonla ilişkili olarak çeşitli sitokinlerin diyabetik nefropati patogenezinde rol aldığı daha önce gösterilmiştir. Ancak bu ilişkinin daha güçlü olarak ortaya konması için insanlar üzerinde yapılacak daha fazla sayıda çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu tez çalışmasında diyabetik nefropati patogenezinde rol alabilecek IL-1, IL-6, IL-17 ve TNF-alfa ile glikojen sentaz kinaz 3 β ve glikojen sentaz kinaz 3 α arasındaki ilişki araştırıldı.

Çalışmamızda kontrol, nefropatisiz DM, mikroalbüminürili DM ve makroalbüminürili DM olmak üzere 4 grup oluşturuldu. Tüm gruplar arasında IL-1 β , IL-6, GSK-3 β ve TNF- α seviyeleri için anlamlı farklar bulunurken sadece IL-1 β seviyesinde mikroalbüminürili diyabet ve makroalbüminürili diyabet grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı. IL-17 ve GSK-3 α ise sadece kontrol grubunda diğer gruplara göre anlamlı düşük bulundu. Literatür araştırmamızda diyabetik nefropati ile ilgili çeşitli çalışmalarda IL-1 β , IL-6, IL-17, TNF- α , GSK-3 α ve GSK-3 β seviyelerinde aşağıdaki sonuçların elde edildiğini gördük.

IL-1 çoğunlukla monositler, doku makrofajları, dentritik hücreler ve fibroblastlar tarafından üretilen inflamasyonda rol alan en önemli sitokinlerdendir. IL-1'in diyabetik nefropatide renal üretiminin arttığı gösterilmiştir. IL-1 glomerüler endotelial, mezengial ve tubüler epitelyal hücrelerde ICAM-1 ve VCAM-1 üretimini artırarak diyabetik nefropati patogenezinde rol oynar (57). **Su-Mi Kim ve ark.** (83) diyabetik nefropatili rat böbreklerinde intersisyel CD3⁺ hücre ile IL-1 ve TNF- α infiltrasyonu olduğunu bildirmişlerdir. Bu infiltrasyonun ise proteinürinin derecesi ile korele olduğunu saptamışlardır. **Fang Yuan ve ark.** (84) diyabetik nefropatili insan ve

rat böbreklerinde NLRP3 inflamazomunun IL-1 β üretimini artırarak diyabetik nefropati patogenezinde rol aldığını göstermişlerdir.

Tip 2 diyabetli hastalarda nefropatiye geçişin erken evrelerinde IL-1 seviyelerinin serumda tespit edilebildiğini ve albüminüri ile korele olarak arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur. **El- Horany ve ark.** (85) Tip 2 diyabetli 45 hastayı normoalbüminüri (n:15), mikroalbüminüri (n:15) ve makroalbüminüri (n:15) olmak üzere 3 gruba ayırmışlardır. Hastaların ve 15 sağlıklı kontrolün serumlarında 8-hidroksi-20deoksiguanozin (8-OHdG), interlökin-1 β (IL-1 β) seviyelerini değerlendirmişlerdir. Tüm parametleri hasta grubunda kontrole göre anlamlı yüksek bulmuşlardır ve hasta grubunda da tüm parametrelerin albüminüri seviyesi ile korele olarak arttığını tespit etmişlerdir. Ayrıca IL-1 β seviyelerinin albüminüri dışında renal disfonksiyon, DM tanı süresi ve HbA1c seviyeleri ile de korele olarak arttığını bildirmişlerdir. Bu yüzden IL-1 β 'nın diyabetli hastalarda nefropatiye gidişi erken evrelerde gösterebileceğini öne sürmüşlerdir. Bizim çalışmamızda da HbA1c ile IL-1 β seviyeleri arasında pozitif korelasyon saptadık.

Diğer yandan Tip 2 diyabetli hastalarda serum IL-1 seviyelerinin nefropatinin erken evrelerinde arttığını ancak böbrek fonksiyonlarının iyice bozulduğu ileri evrelerde azaldığını gösteren çalışmalar da vardır. **Alan ve ark.** (86) tip 2 diyabetik nefropatili bireyleri glomerüler filtrasyon hızlarına göre 20'şer kişilik 4 gruba ayırmışlardır. (1. Grup GFR>60, 2. Grup GFR 30-60, 3. Grup GFR 15-30, 4. Grup GFR<15 mL/dk). Hastaların ve sağlıklı kontrollerin serumunda 39 inflamatuvar proteinin gen ekspresyonunu değerlendirmişlerdir. Bunlar içinde IL-1 ve IL-6 seviyelerinin glomerüler filtrasyon hızı 15 ml/dk olana kadar arttığını ancak GFR<15 mL/dk olduğunda IL-1 ve IL-6 seviyelerinin azaldığını bildirmişlerdir. TNF- α seviyelerini ise gruplar arasında anlamlı farklı bulmamışlar ancak hasta grubunda sağlıklı kontrole göre yüksek tespit etmişlerdir (86). Nefropatinin ileri evrelerinde IL-6 ve IL-1 seviyelerindeki bu azalmanın fonksiyon gösteren böbrek kitlesinin kaybindan olabileceğini öne sürmüşlerdir. Bu nedenle de diyabetik nefropatide seviyeleri artan sitokinlerin renal parankimde üretildiğini düşünmüşlerdir. Biz de çalışmamızda bu çalışmaya benzer şekilde IL-1 β seviyelerini diyabetli bireylerde sağlıklı kontrole göre ve mikroalbüminürili bireylerde mikroalbüminürisi olmayan diyabetli hastalara göre anlamlı yüksek tespit ettik. Ancak IL-1 β seviyelerinde mikroalbüminüri ve makroalbüminüri grupları arasında anlamlı fark bulamadık. Buna sebep olarak

makroalbüminüri grubunda fonksiyonel böbrek kitlesi azalmasına bağlı olarak renal parankimde üretilen IL-1 β seviyesinin daha fazla artmaması olduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca çalışmamızda IL-1 β seviyeleri ve GFR düzeyleri arasında negatif bir korelasyon bulduk.

IL-6, inflamatuvar ve immün sistem aracılı cevapta önemli rol oynayan sitokinlerden biridir. IL-6 böbreklerde endotelial geçirgenliği, mezengiyal hücre proliferasyonunu ve fibronektin üretimini artırır. Ayrıca diyabetik nefropati patogeneğinde önemli rolü olan bazal membran kalınlaşması ile serum IL-6 seviyeleri arasında pozitif korelasyon vardır (66) Diyabetik nefropatili bireylerin böbrek biyopsisi yüksek rezolusyonlu in situ hibridizasyon ile incelendiğinde IL-6 mRNA kodu pozitif hücrelerin mezengium, intersisyum ve tubulusları infiltre ettiği bildirilmiştir (65).

Literatürde tip 2 diyabetik nefropatili hastaların serumlarında da IL-6 seviyelerini nefropatisi olmayan bireylere göre yüksek olduğunu gösteren çalışmalar vardır. **Choudhary ve ark.** (87) tip 2 diyabetli 60 hastayı albüminüri seviyelerine göre 20 normoalbüminürik, 20 mikroalbüminürik, ve 20 makroalbüminürik olmak üzere 3 gruba ayırmışlardır. 60 diyabetli hasta ve 20 sağlıklı kontrolün serumlarında yüksek duyarlıklı C-reaktif protein (hs-CRP) ve IL-6 seviyelerini değerlendirmişlerdir. hs-CRP ve IL-6 seviyelerini diyabetli hastalarda sağlıklı kontrole göre anlamlı yüksek bulmuşlardır. Hasta gruplarında da albüminüri seviyesi ile korele olarak hs-CRP ve IL-6 seviyelerinin arttığını bildirmişlerdir ve tüm gruplar arasında anlamlı fark tespit etmişlerdir. Ayrıca HbA1c seviyeleri ile idrar albümin atılımı, serum IL-6 ve HS-CRP arasında pozitif korelasyon tespit etmişlerdir. Çalışmamızda IL-6 seviyelerini diyabetli hastalarda sağlıklı kontrollere göre yüksek bulduk. Mikroalbüminürisi olan diyabetli hastalarda nefropatisi olmayan diyabetli hastalara göre yüksek tespit ettik. Bu yüzden idrar albümininin yanısıra serum IL-6 analizinin de erken evrede nefropatiye gidişin bir göstergesi olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca IL-6 seviyelerini makroalbüminürili grupta mikroalbüminürili diyabet grubuna göre yüksek bulduk ve albüminüri ile pozitif korelasyon gösterdiğini tespit ettik.

Böbrek hastalıklarının tespitinde serumda alternatif olarak idrar analizlerinden de yararlanılması mümkün olabilir. Araştırılan parametrenin hem idrar hem plazma analizlerinin eş zamanlı ölçülmesi daha iyi değerlendirme sağlar. Çalışmamızda seçtiğimiz parametreler metabolik yarı ömürlerinin daha uzun olması ve idrar örneklerini saklama koşullarındaki zorluklar nedeniyle serumda analiz edilmiştir.

Literatürde araştırdığımız bazı parametrelerin hem idrar hem serum analizlerini içeren bazı çalışmalar da vardır. **Lei Cao ve ark.** (88) tip 2 DM tanılı 97 Afrikalı hastanın plazma ve idrarında adiponektin, C-reactive protein (CRP), TNF- α , TNF reseptör 1 (TNFR1), TNF reseptör 2 (TNFR2), IL-6, intesellüler adezyon molekül-1 (ICAM-1) seviyelerini değerlendirmişlerdir. Nefropatili hastalarda albüminüri seviyesi arttıkça TNF- α seviyelerinin arttığını tespit etmişlerdir. IL-6 seviyelerini de diyabetik nefropatili hastalarda nefropatisi olmayan diyabetli hastalara göre anlamlı yüksek tespit etmişlerdir. IL-6 seviyeleri ile idrar albümin atılımı arasında da zayıf pozitif bir korelasyon olduğunu bildirmişlerdir.

Shikano ve ark. (89) tip 2 DM tanılı 72 hastayı normoalbüminürili, mikroalbüminürili ve makroalbüminürili olmak üzere 3 gruba ayırmışlardır. Hastaların serum ve idrarlarında IL-6 seviyelerini değerlendirmişlerdir. IL-6 seviyesini mikroalbüminürili grupta albüminürisi olmayan gruba göre ve makroalbüminürili grupta ise mikroalbüminürili gruba göre anlamlı düzeyde yüksek bulmuşlardır. Serum IL-6 ile serum fibrinojen seviyelerinin pozitif korele olduğunu göstermişlerdir. İdrar IL-6 seviyesini de nefropatili grupta nefropatisi olmayan gruba göre anlamlı yüksek bulmuşlardır. Ancak serum ve idrar IL-6 seviyeleri arasında herhangi bir korelasyon tespit etmemişlerdir.

Saraheimo ve ark. (90) 66 sağlıklı kontrol, 67 normoalbüminürili, 64 mikroalbüminürili ve 63 makroalbüminürili tip 1 diyabetli hastalarının serumlarında CRP ve IL-6 seviyelerini araştırmışlardır. Hem CRP hem IL-6 seviyelerini diyabetli hastalarda sağlıklı kontrollere göre yüksek bulmuşlardır. IL-6 seviyesinin tüm gruplarda albüminüri ile korele olarak arttığını göstermişlerdir. Ayrıca IL-6 ile CRP, kreatinin, trigliserit ve HbA1c'nin pozitif; GFR ve HDL ile de negatif korele olduğunu görmüşlerdir. Biz de çalışmamızda IL-6 düzeyleri ile HbA1c, üre ve kreatinin arasında pozitif korelasyon, GFR, albümin düzeyleri arasında ise negatif korelasyon tespit ettik.

Wei-wei Chang ve ark. (91) 42 diyabetik nefropatili hasta, 42 nefropatisi olmayan DM tanılı hasta ile 42 sağlıklı kontrolün serumlarında IL-1, IL-6, TNF- α , monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1) ve yüksek duyarlıklı C-reaktif protein (hs-CRP) seviyelerini değerlendirmişlerdir. Nefropatisi olan grupta IL-1, TNF- α ve MCP seviyelerini hem sağlıklı kontrol hem de nefropatisi olmayan DM tanılı gruba göre anlamlı düzeyde yüksek bulmuşlardır. Nefropatili grupta sağlıklı kontrole göre IL-6 ve

hs-CRP seviyelerinde anlamlı yükseklik bulunurken, DM tanılı nefropatisi olan ve olmayan grupta ise anlamlı bir fark bulmamışlardır.

Diğer yandan literatüre baktığımızda IL-6 seviyelerinin serumda ancak nefropatinin ileri evrelerinde tespit edilebilir hale geldiğini gösteren çalışmalar da vardır. **Bruna ve ark.** (92) tip 2 DM tanılı 112 hastanın serum ve idrarında progranulin ve IL-6 seviyelerini araştırmışlardır. Hem IL-6 hem progranulin seviyelerini sadece GFR'nin 60 mL/dk altına düştüğü ileri evre diyabetik nefropatili bireylerin olduğu grupta yüksek bulmuşlardır. Sağlıklı kontrol ile nefropatisi olmayan diyabetli ve mikroalbüminürili hastalar arasında fark görmemişlerdir. GFR'nin azalmasına bağlı olarak IL-6'nın renal klirensinin azalabileceğini ve serumda seviyesinin artabileceğini öne sürmüşlerdir.

TNF- α inflamatuvar cevabın önemli bir aracı olarak diyabetik nefropati ve diğer böbrek hastalıklarının gelişiminde önemli bir rol oynar. Böbreklerde endotelin-1 üretimini artırarak renal vazokonstrikyona yol açar. Böylece renal kan akımının ve GFR'nin azalmasına neden olur. Diyabetik böbreklerde çeşitli inflamatuvar hücrelerin yanı sıra renal tübüler, mezengial, glomerüler endotelial ve dendritik hücreler de TNF- α üretir. Ayrıca podosit hücrelerinin de yüksek glukoz seviyelerinde TNF- α üretimini artırdığı gösterilmiştir (81). Böbreklerde lokal olarak üretilen TNF- α nötrofil ve monositlerin böbreklere toplanmasına, lokal reaktif oksijen metabolitlerinin üretimine ve glomerüler geçirgenliği artırarak albüminüri artışına yol açar. Literatürde diyabetik nefropatili hastaların serumlarında TNF- α seviyelerinin arttığını gösteren çalışmalar vardır. **Eun-Sil Yeo ve ark.** (93) nefropatisi olmayan tip 2 diyabetli 488 hasta ile kronik böbrek hastalığı olan 55 tip 2 diyabetli hastanın serumunda IL-6, TNF- α , CRP ve adiponektin seviyelerini karşılaştırmışlardır. Kronik böbrek hastalığı olan tip 2 diyabetli bireylerin serumlarında TNF- α , CRP ve adiponektin seviyelerini anlamlı yüksek tespit etmişlerdir. Ancak IL-6 seviyesini her iki grup arasında anlamlı farklı bulamamışlardır. **Fathy ve ark.** (94) 50 nefropatisi olmayan tip 2 diyabetli hasta, 67 nefropatisi olan tip 2 diyabeti olan hasta ve 42 sağlıklı kontrolün plazmasında IL-6, IL-10, TNF- α ve interferon gamma (IFN- γ) seviyelerini değerlendirmişlerdir. Kronik böbrek hastalığı olan tip 2 diyabetli hastalarda IL-6, IL-10, TNF- α ve interferon gamma (IFN- γ) seviyelerinin anlamlı düzeyde yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda TNF- α seviyelerini diyabetik nefropatisi olan hastalarda nefropatisi olmayan bireylere göre daha yüksek tespit ettik. Ayrıca TNF- α seviyelerinin makroalbüminürili grupta

mikroalbüminürili gruba göre yüksek olduğunu tespit ettik. Çalışmamızda TNF- α düzeyleri ile HbA1c, üre ve kreatinin arasında pozitif korelasyon, GFR albümin düzeyleri negatif korelasyon tespit ettik.

Diğer yandan literatürde serum TNF- α seviyelerinde diyabetik nefropatide artış olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. **Huang ve ark.** (95) nefropatisi olan 48 tip 2 diyabetli hasta ve nefropatisi olmayan 67 tip 2 diyabetes mellitus tanılı hastanın plazma ve idrarında C3a, C4d, C5a, sC5b-9, MBL (mannan-binding lectin), IL-10, IFN- γ ve TNF- α seviyelerini değerlendirmişlerdir. C3a, C4d, C5a, sC5b-9, MBL ve IFN- γ seviyelerini nefropatisi olan grupta hem plazma hem de idrarda anlamlı düzeyde yüksek bulmuşlardır. Nefropatisi olan grupta IL-10 seviyelerinde sadece plazmada anlamlı yükseklik bulurlarken TNF- α 'da ise sadece idrarda anlamlı yükseklik görülmüştür. **Lampropoulou ve ark.** (96) 45 normoalbüminürili ve 35 mikroalbüminürisi olan tip 2 DM tanılı hastanın serum ve idrarında TNF- α seviyelerini değerlendirmişlerdir. İdrar TNF- α seviyelerini albüminürisi olan grupta anlamlı düzeyde yüksek bulurken serum TNF- α seviyeleri arasında anlamlı bir fark tespit etmemişlerdir. Bunu ise diyabetik nefropatinin erken evrelerinde lokal inflamatuvar yanıtın hakim olmasına ve TNF- α 'nın idrarla atılmasına bağlamışlardır. Böbrek fonksiyonlarının iyice bozulduğu nefropatinin ileri evrelerinde sistemik inflamatuvar yanıtın hakim olup serum TNF- α seviyelerinin artabileceğini düşünmüşlerdir. Çalışma gruplarındaki tüm hastaların böbrek fonksiyonları iyi oldukları için serum TNF- α seviyelerinin artmamış olabileceğini öne sürmüşlerdir.

IL-17 alerji ve otoinflamatuvar hastalıkların dışında diyabet gibi sistemik hastalıkların patogeneğinde de rol oynayan bir sitokindir. **Kumar ve ark.** (97) diyabetli hastalarda sağlıklı kontrollere göre IL-17 seviyelerini yüksek bulmuşlardır ve bunu yüksek glukoz seviyelerinin lenfositlerden IL-17 üretimini artırmasıyla açıklamışlardır. Literatürde IL-17'nin diyabetik nefropatide oynadığı rol ile ilgili oldukça çelişkili çalışmalar mevcuttur. Diyabetik nefropatili ratlara Th17 hücrelerini hedefleyen mikofenolat mofetil verildiğinde IL-17 seviyelerinin ve diyabetik nefropati şiddetinin azaldığı görülmüştür (69). Diyabetik ratlarda mTor inhibitörü rapamycinin Th17 aktivitesini ve böbrek hasarını azalttığı gösterilmiştir (70). **Kuo ve ark** (71) diyabetik nefropatinin erken evrelerinde böbrek biyopsilerini incelediklerinde CD4⁺ IL-17⁺ T hücreleri görmüşlerdir. Bu hücrelerin diyabetik nefropatinin erken evrelerinde glomerül, juxtaglomerüler aparat, intersisyum ve perivasküler alanı infiltre ettiklerini

saptamışlardır. Aynı çalışmada IL-17 seviyeleri ile GFR arasında negatif korelasyon olduğunu bildirmişlerdir.

Diğer yandan **Arababadi ve ark.** (98) nefropatisi olmayan 180 tip 2 diyabetli hasta, nefropatisi olan 100 tip 2 diyabetli hasta ve 100 sağlıklı kontrolün serumlarında IL-17 seviyelerini araştırmışlardır. Nefropatisiz diyabet grubunda IL-17 seviyelerini sağlıklı kontrole göre daha yüksek bulmuşlardır ancak nefropatili grupta IL-17 seviyelerinin azaldığını bildirmişlerdir. Düşük IL-17 seviyelerinin diyabetli hastalarda nefropatiye geçişte bir risk faktörü olabileceğini düşünmüşlerdir. **Riyaz Mohamed ve ark.** (99) diyabetik nefropati ileri evrelerinde ratlarda serum ve idrarda IL-17 seviyelerinin azaldığını görmüşlerdir. Genetik olarak IL-17A eksikliği olan ratlarda daha şiddetli diyabetik nefropati geliştiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca diyabetik nefropatili ratlara düşük doz IL-17A tedavisi uyguladıklarında nefropati şiddetinin azaldığını bildirmişlerdir. IL-17'nin diyabetik nefropatideki bu koruyucu etkisini makrofaj polarizasyonunu ve podosit ile epitelyal hücre yenilenmesini artırmasıyla açıklamışlardır. Ayrıca IL-17'nin M2 makrofajlar üzerinden IL-6 ve IL-1 üretimini azaltarak inflamasyonu baskılamasıyla nefropatiye gidişi yavaşlatmış olabileceğini düşünmüşlerdir. Biz çalışmamızda IL-17 seviyelerini diyabetli hastalarda sağlıklı kontrollere göre daha yüksek tespit ettik. Ancak hasta grupları arasında anlamlı bir fark olmadığını tespit ettik.

Glikojen sentaz kinaz-3 (GSK-3) birçok dokuda yaygın olarak bulunan bir enzimdir. GSK-3'ün alfa (51 KDa) ve beta (47 KDa) izomerleri vardır. Katalitik bölgelerinde %97 dizilim benzerliği gösteren bu izomerler çoğunlukla benzer biyolojik etkinliğe sahiptirler. GSK-3 α glisinden zengin N-terminal bölgesinden dolayı daha büyüktür ve bu yüzden sadece sitoplazmada bulunurken GSK-3 β 'da N-terminal ucunda glisinden zengin bölge yoktur ve daha küçük moleküler ağırlığa sahiptir (34). Bu yüzden GSK-3 β hücre içinde sitoplazma, çekirdek ve mitokondride bulunabilir.

Yaptığımız literatür taramasında GSK-3 β ile ilgili GSK-3 α 'dan daha çok sayıda çalışma vardır ve GSK-3 β 'nın hastalıklarla daha çok ilişkili olduğu görülmüştür. GSK-3 α ve GSK-3 β enzimlerinin her ikisi de insülin duyarlı periferik dokularda sentezlenir. Aşırı GSK-3 β sentezinin insanlarda ve hayvanlarda çeşitli çalışmalarda insülin direncine yol açtığı gösterilmiştir. Diyabetli bireylerin kas biyopsilerinde GSK-3 β seviyelerinin önemli derecede arttığı ve bu artışın glikojen sentaz aktivitesindeki azalmayla korele olduğu bulunmuştur (44). Ayrıca düşük molekül ağırlıklı GSK-3

inhibitörlerinin kullanıldığı bir çalışmada sıçan hepatosit hücrelerinde glukoneojenik enzimlerden olan fosfoenolpiruvat, karboksikinaz, ve glukoz-6 fosfataz aktivitesinde azalma saptanmıştır (45). Diğer bir çalışmada yüksek glukoz seviyelerinin GSK-3 β 'nın tirozin 216 bölgesinden fosforilasyonu ile aktifleşmesine yol açtığı bildirilmiştir (47).

GSK-3'ün diyabetik nefropati gelişiminde de rol aldığını gösteren çeşitli çalışmalar vardır. **Lin Cl ve ark.** (46) yüksek glukoz seviyeleri ile apoptoza giden renal mezengial hücrelerde GSK-3 β aktivitesinin arttığını göstermişlerdir. **Paeng ve ark.** (47) ise yüksek glukoz seviyeleri ile aktivitesi artan podosit hücrelerinde epitelyal membran transportu ve bariyer disfonksiyonu ile GSK-3 β 'nın ilişkili olduğunu öne sürmüşlerdir.

Çalışmamızda GSK-3 β seviyelerini diyabetli hastalarda sağlıklı kontrollere göre yüksek tespit ettik. Mikroalbuminüri olan hastalarda da albuminüri olmayan diyabetli hastalara göre serum GSK-3 β seviyelerinin daha yüksek olduğunu tespit ettik. Bu yüzden diyabetli hastalarda idrar albumin analizinin yanısıra serum GSK-3 β seviyeleri de klinik nefropatiye gidişin bir göstergesi olabilir. Ancak çalışmamız nefropatili hastalarda idrar albumin seviyesine göre serum GSK-3 β seviyelerinin daha erken yükseldiğini göstermemektedir. Bu yüzden diyabetli hastalarda nefropatiye gidişin göstergesi olarak serum GSK-3 β seviyelerinin idrar albumin seviyelerine göre daha erken yükseldiğini göstermek için diyabetli hastaların uzun dönem izlendiği, nefropati gelişen hastaların serum GSK-3 β ve idrar albumin seviyelerinin dönemsel kıyaslandığı prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca GSK-3 β 'yı inhibe eden ajanlar diyabetik nefropati tedavisinde kullanılarak diyabetik nefropati prognozunda iyileşme sağlanabilir. **Li Guo J ve ark.** (49) fare podosit hücrelerinde GSK-3 β inhibitörlerini kullanarak yaptıkları tedavide β -katenin ve epitelyal membran transportu belirteci olan nefrin seviyelerinin azaldığını göstermişlerdir. Başka bir çalışmada GSK-3 β 'yı inhibe eden sülforafan kullanılarak diyabetik nefropati prognozunda kısmi iyileşme sağlanmıştır (48). Ayrıca çalışmamızda GSK-3 β düzeyleri ile HbA1c, üre ve kreatinin arasında pozitif korelasyon, GFR albumin düzeyleri arasında ise negatif korelasyon tespit ettik.

GSK-3 α seviyelerini ise diyabetli hastalarda sağlıklı kontrollere göre daha yüksek düzeyde bulduk. Ancak hasta grupları arasında anlamlı bir fark olmadığını gördük. Bu yüzden serumda GSK-3 α analizinin diyabetik nefropatiye gidişin bir göstergesi olamayacağını düşünmekteyiz. Literatüre taramasında GSK-3 α 'ya göre GSK-

3 β ile ilgili çok daha fazla çalışma olduğunu gördük. GSK-3 α glisinden zengin N-terminal bölgesinden dolayı GSK-3 β 'dan daha büyüktür ve bu yüzden sadece sitoplazmada bulunur. GSK-3 β 'da N-terminal ucunda glisinden zengin bölge yoktur ve daha küçük moleküler ağırlığa sahip olup hücre içinde sitoplazma, çekirdek ve mitokondride bulunabilir. Bu yüzden GSK-3 α daha büyük moleküler ağırlığa sahip olduğu için diyabetik nefropatide renal hücre hasarı sonucu stoplazmayı geçip kana karışması mümkün olmayabilir. Ayrıca GSK-3 analizi ile ilgili çalışmalar çoğunlukla dokuda western blot yöntemiyle yapılmıştır. **Park ve ark.** (100) akciğer kanserli hücrelerin doku kültüründe western blot yöntemiyle yaptıkları çalışmada GSK-3 α 'nın CREB tarafından inhibe edildiğini göstermişlerdir. Yine **Wang ve ark.** (101) akut myeloid lösemili hücre kültüründe western blot yöntemiyle yaptıkları çalışmada G28_14'ün GSK-3 α 'yı inhibe ederek myeloid hücre proliferasyonunu engellediğini göstermişlerdir. Çalışmamızda GSK-3 α analizi serumda ELISA yöntemiyle yapıldı ve GSK-3 α 'nın aktivitesine bakılmamıştır. Bu nedenle de hasta grupları arasında anlamlı fark tespit etmemiş olabiliriz.

Çalışmamızda özet olarak diyabetli hastalarda IL-1, IL-6, TNF- α ve GSK-3 β seviyelerini sağlıklı kontrollere göre ve mikroalbuminürlü diyabetli hastalarda da albuminüri olmayan diyabetli hastalara göre yüksek olduğunu tespit ettik. Bu nedenle diyabetli hastalarda nefropatiye gidişin bir göstergesi olarak idrar albümin analizinin yanısıra serum IL-1, IL-6, TNF- α ve GSK-3 β ölçümlerinin de kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Ancak diyabetli hastalarda nefropatiye gidişi idrar albümininden daha erken gösterip gösteremediğini tespit edebilmek için diyabetli hastaların uzun dönem izlendiği serum ve idrar analizlerinin yapıldığı prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca IL-1, IL-6, TNF- α ve GSK-3 β diyabetik nefropati patogenezinde rol de aldığı için bunları inhibe eden ajanlar geliştirerek klinik diyabetik nefropati seyrinde iyileşme sağlanabilir. Bu konuda da yapılacak yeni araştırmalara ihtiyaç vardır. IL-17 ve GSK-3 α seviyelerini ise diyabetli hastalarda sağlıklı kontrollere göre yüksek tespit ettik ancak mikroalbuminürlü diyabetli hastalar ile albuminüri olmayan diyabetli hastalar arasında bir fark olmadığını gördük. Bu yüzden serum IL-17 ve GSK-3 α analizi ile diyabetik nefropati arasında bir ilişki olmadığını düşünmekteyiz.

Yaptığımız literatür araştırmalarında diyabetik nefropati olgularında IL-1, IL-6, IL-17, TNF- α , GSK-3 α ve GSK-3 β 'nın bir arada bakıldığı bir çalışmaya rastlamadık. Özellikle GSK-3 düzeylerinin serumda değerlendirildiği çalışmalar

sınırlıdır. **Du B.ve ark.** (102) tip 2 diyabetli bireylerde kognitif fonksiyonların değerlendirilmesinde serum GSK-3 β seviyelerini ELISA yöntemiyle ölçmüşlerdir. Çalışmamızın kısıtlılıkları; hasta sayısının az olması ve analizlerin serumda yapılmış olması olabilir. Özellikle GSK-3 analizi için doku analizlerinin yapılması daha uygun olabilir. Ayrıca hastalar GFR değerlerine göre de gruplandırılarak daha detaylı bir çalışma yapılabilir. Bundan sonra hasta sayısının artırılıp GSK-3 etki yolağındaki diğer parametrelere de bakılarak yeni çalışmalar planlanmasının uygun olacağını düşünmekteyiz.



KAYNAKLAR

1. Satman İ, İmamoğlu Ş, Yılmaz C. TEMD Diabetes mellitus ve komplikasyonlarının tanı, tedavi ve izlem kılavuzu. 4. Baskı, Bayt Bilim. Araştırmalar Basın Yayın Tanıtım Ltd. Şti. 2009 Ankara.
2. Lakhtakia R. The history of diabetes mellitus. Sultan Qaboos Univ Med J, 2013; 368–370.
3. Organization WH. Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants: Eightieth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives: World Health Organization 2016.
4. Bağrıaçık N. Tanı, Komplikasyonlara Yaklaşım ve Tedavi El Kitabı. İstanbul: NovaNordisk; 1997.
5. Satman İ, Alagöl F, Ömer B, Kalaca S, Tütüncü Y, Çolak N. Türkiye diyabet, hipertansiyon, obezite ve endokrinolojik hastalıklar prevalans çalışması-II.(TURDEP II) 2011.
6. Tabak A, Herder C, Rathmann W, Brunner E, Kivimaki M. Prediabetes: a high-risk state for diabetes development. Lancet, 2012; 379: 2279–90.
7. Satman I, Omer B, Tutuncu Y, Kalaca S, Gedik S, Dinccag N, et al. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. European journal of epidemiology. 2013;28(2):169-80.
8. Yılmaz T. Tip 1 Diabetes Mellitus. In: İmamoğlu Ş (editör). Diabetes Mellitus. 1. Baskı. İstanbul: Deomed Yayıncılık; 2006:55-6.
9. Association AD. 2. Classification and diagnosis of diabetes. Diabetes care. 2017;40(Supplement 1):11-24.
10. Dunn JT, Cranston I, Marsden PK, Amiel SA, Reed LJ. Attenuation of amygdala and frontal cortical responses to low blood glucose concentration in asymptomatic hypoglycemia in type 1 diabetes: a new player in hypoglycemia unawareness? Diabetes. 2007;56(11):12-13
11. Duckworth W, Abaira C, Moritz T, Reda D, Emanuele N, Reaven PD, et al. Glucose control and vascular complications in veterans with type 2 diabetes. New England Journal of Medicine. 2009;360(2):129-39.
12. Dennis L, Anthony S, Stephen L, Hauser, Dan L. Longo (editors): Harrison's Principles of Internal Medicine, 19. editions. 2015;24(17-24):30-47.
13. T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Türkiye Diyabet Programı 20152020, Yayın no: 816, Ankara, 2014.
14. Karaçorlu M, İlkova H. Diyabetes Mellitus. Diyabetes Mellitus Sempozyumu. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimleri Etkinlikleri. İstanbul, 1997;69-77

15. Kızıltan M. Diyabet ve periferik nöropati. Diabetes Mellitus Sempozyumu İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Sürekli Tıp Eğitim Etkinlikleri. 1997;69-77.
16. Cho NH, Kirigia J, Mbanya JC, Ogurstova K, Guariguata L, Rathmann W et al. Diabetes Atlas. International Diabetes Federation. 8th edition, 2017; 14(5):120-40.
17. Said G. Diabetic Neuropathy: An update. J Neurol 1996; 243(6):431-40.
18. Adler AI, Stevens RJ, Neil A, Stratton IM, Boulton AJ, Holman RR. UKPDS 59: hyperglycemia and other Potentially modifiable risk factors for peripheral vascular disease in type 2 diabetes. Diabetes Care, 25(5):894-9.
19. S. Martini, F. Eichinger, V. Nair, and M. Kretzler, "Defining human diabetic nephropathy on the molecular level:integration of transcriptomic profiles with biological knowledge. 2008;9(4):267-74,
20. Deckert T, Kofoed-Enevoldsen A, Nørgaard K. Microalbuminuria: implications for micro- and macrovascular disease. Diabetes care, 1992;15(9):1181-91.
21. Mogensen CE. Renal Changes and Nephropathy in Diabetes. Hoechst Marion Rousel. Bridgewater NJ. 1996;12(3):10-130
22. Mogensen C, Chachati A, Christensen C. Microalbuminuria: an early marker of renal involvement in diabetes. Uremia investigation, 1985;9(2):85-95.
23. Estacio RO, McFarling E, Biggerstaff S. Overt albuminuria predicts diabetic retinopathy in Hispanics with NIDDM. American journal of kidney diseases, 1998;31(6):947-53.
24. Gruden G, Viberti G.C. Pathogenesis of diabetic nephropathy. Joslin's diabetes mellitus. Editors. C.R Kahn., G.C., G.L, Weir King., A.M, Jacobson., A.C, Moses., R.J Smith., 14th ed. Lippincott Williams&Wilkins, Boston, 2005;85(3):86-7.
25. Altıparmak M.R, Apaydın S. Diabetik Nefropati. Her Yönüyle Diabetes Mellitus. Editörler: M. Yenigun, Y. Altuntaş., 2.baskı. Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul, 2001;33(7):4-22.
26. Embi N, Rylatt DB, Cohen P. Glycogen synthase kinase-3 from rabbit skeletal muscle. Separation from cyclic-AMP-dependent protein kinase and phosphorylase kinase. Eur J Biochem, 1980;107:518-19.
27. Cohen P, Frame S. The renaissance of GSK3. Nature Rev Mol Cell Biol, 2001; 2(10):769-76.
28. Jope RS, Johnson GVW. The glamour and gloom of glycogen synthase kinase-3. Trends Biochem Sci, 2004; 29(95):102-99.

29. Wang D, Tian Y, Feng W, Zhao L, Zhao M, Liu J et al. Pseudolaric acid B induces endometrial cancer Ishikawa cell apoptosis and inhibits metastasis through AKT-GSK-3 β and ERK1/2 signaling pathways. *Anticancer Drugs*, 2017;8(28):603–12.
30. Gould TD, Manji HK. Glycogen synthase kinase-3: a putative molecular target for lithium mimetic drugs. *Neuropsychopharmacology*, 2005;25(30):1223-37.
31. Lau KF, Miller CC, Anderton BH. Expression analysis of glycogen synthase kinase-3 in human tissues. *J Pept Res*, 1999;(54):85-91.
32. Leroy K, Brion JP. Developmental expression and localisation of glycogen synthase kinase-3 β in rat brain. *J Chem Neuroanat*, 1999;(16):279-93.
33. Liang MH, Chuang DM. Regulation and function of glycogen synthase kinase-3 isoforms in neuronal survival. *J Biol Chem*, 2007;28(2):3904-17.
34. Azoulay-Alfaguter I, Yaffe Y, Licht-Murava A. Distinct molecular regulation of glycogen synthase kinase-3 α isozyme controlled by its N-terminal region: functional role in calcium/calpain signaling, *Journal of Biological Chemistry*, 1999;274(86):120-8.
35. Mukai F, Ishiguro K, Sano Y, Fujita S. C. Alternative splicing isoform of tau protein kinase I/glycogen synthase kinase 3 β *Journal of Neurochemistry*, 2002;81(5):1073–83.
36. Petit-Paitel A, Brau F, Cazareth J, Chabry J. Involvement of cytosolic and mitochondrial GSK-3 β in mitochondrial dysfunction and neuronal cell death of MPTP/MPP-treated neurons. *PLoS One*, 2009;4(5):4-91.
37. Jope RS, Bijur GN. Mood stabilizers, glycogen synthase kinase3 Beta and cell survival. *Mol Psychiatry*, 2002;82(7):35-45.
38. Cole A, Frame S, Cohen P. Further evidence that the tyrosine phosphorylation of glycogen synthase kinase-3 (GSK3) in mammalian cells is an autophosphorylation event. *J Biochem*, 2004;377:249-55.
39. Zhang F, Phiel CJ, Spece L. Inhibitory phosphorylation of glycogen synthase kinase-3 (GSK-3) in response to lithium. Evidence for autoregulation of GSK-3. *J Biol Chem*, 2003;35(3):30-36
40. Franca-Koh J, Yeo M, Fraser E. The regulation of glycogen synthase kinase-3 nuclear export by Frat/GBP. *J Biol Chem*, 2002;438(44):43-48
41. Brazil D, Hemmings A. Ten years of protein kinase B signalling: a hard act to follow. *Trends Biochem Sci*, 2001;26:657-64.
42. Manchester J, Skurat AV, Roach P, Hauschka SD, Lawrence JC Jr. Increased glycogen accumulation in transgenic mice overexpressing glycogen synthase in skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:10707–11.

43. Whitehead J, Clark SF, Urso B, James D. Signalling through the insulin receptor. *Curr Opin Cell Biol*, 2000;12:222–228.
44. Nikoulina S, Ciaraldi TP, Mudaliar S, Mohideen P, Carter L, Henry R. Potential role of glycogen synthase kinase-3 in skeletal muscle insulin resistance of type 2 diabetes. *Diabetes*, 2000;49:263–71.
45. Lochhead P, Coghlan M, Rice SQJ, Sutherland C. Inhibition of GSK-3 selectively reduces glucose-6-phosphate and phosphoenolpyruvate carboxykinase gene expression. *Diabetes*, 2001;50:937–46.
46. Lin CL, Wang JY, Huang YT, Kuo YH, Surendran K, Wang FS. Wnt/beta-catenin signaling modulates survival of high glucose-stressed mesangial cells. *J Am Soc Nephrol*, 2006; 17:2812-20.
47. Paeng J, Chang JH, Lee SH, Nam BY, Kang HY, Kim S, et al: Enhanced glycogen synthase kinase-3 β activity mediates podocyte apoptosis under diabetic conditions. *Apoptosis*, 2014; 19:1678-90,
48. Shang G, Tang X, Gao P, Guo F, Liu H, Zhao Z, et al. Sulforaphane attenuation of experimental diabetic nephropathy involves GSK-3 beta/Fyn/Nrf2 signaling pathway. *J Nutr Biochem*, 2015;26: 596-606.
49. Guo J, Xia N, Yang L, Zhou S, Zhang Q, Qiao Y. GSK-3 β and vitamin D receptor are involved in β -catenin and snail signaling in high glucose-induced epithelial-mesenchymal transition of mouse podocytes. *Cell Physiol Biochem*, 2014;33:1087-96.
50. Clemens MJ. *Cytokines*, Oxford, 1991 Bios Scientific Publishers Ltd., 57-75.
51. Akira S, Taga T, Kishimoto T. Interleukin-6 in biology and medicine. *Advances in immunology*, 1993;54:1-78.
52. Mercer BM, Miodovnik M, Thurnau GR, Goldenberg RL, Das AF, Ramsey RD, Rabello YA, et al. Antibiotic therapy for reduction of infant morbidity after premature rupture of the membranes. National institute of child health and human development. Maternal fetal Medicine Units Network. *Jama*, 1997;278(12):989-95.
53. Kovacevich GJ, Gaich SA, Lain JP, Hopkins MP, Crane SS, Stewart J, et al. The prevalence of thromboembolic events among women with extended bed rest prescribed as part of the treatment for premature labor or preterm premature rupture of membrane. *Am J Obstet Gynecol*, 2000; 182(5):1089-92.
54. March CJ, Mosley B, Larsen A, Cerretti DP, Braedt G, Price V et al. Cloning, sequence and expression of two distinct human interleukin-1 complementary DNAs. *Nature*, 1985; 315: 641-7.
55. Dinarello CA. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases.

Blood, 2011;117: 3720-332.

56. Cohen I, Rider P, Carmi Y, Braiman A. Differential release of chromatin-bound IL-1 alpha discriminates between necrotic and apoptotic cell death by the ability to induce sterile inflammation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010;107:2574-9.

57. Park CW, Kim JH, Lee JH, Kim YS, Ahn HJ, Shin YS et al. High glucose-induced intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression through an osmotic effect in rat mesangial cells is PKC-NFkappa B-dependent. *Diabetologia*, 2002;43(2):4-9

58. Pfeilschifter J, Pignat W, Vosbeck K, Marki F. Interleukin 1 and tumor necrosis factor synergistically stimulate prostaglandin synthesis and phospholipase A2 release from rat renal mesangial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1989;159:385–94.

59. Kemik Ö, Kemik A.S, Dülger A.C, Hasırcı İ, Daştan E, Bartun M.K et al. Karaciğer Metastazlı Kolon Kanserli Hastalarda İnterlökin-6 Düzeyleri. *Van Tıp Dergisi*, 2010;17(2):42-5.

60. Aydın G. Deneysel omurilik yaralanmasında interlökin-10'un interlökin 1-beta ve interlökin-6 üzerine etkilerinin incelenmesi. Uzmanlık tezi, Suleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, 2007.

61. Woodrofe MN, Cuzner ML. Cytokine mRNA expression in inflammatory MS lesions, detection by non-radioactive in situ hybridization. *Cytokine*, 1993;5(6): 58(3):5-88.

62. Licinio L, Kling M, Hauser P. Cytokines and brain function: relevance of interferon - α induced mood and cognitive changes. *Semin Oncol*, 1998; 2(5):30-8.

63. Neurath MF, Finotto S. IL-6 signaling in autoimmunity, chronic inflammation and inflammation-associated cancer. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2011;22(2):83-9.

64. Tweardy D, Mott P, Glazer E. Monokine modulation of human astroglial cell production of granulocyte colony -stimulating factor and granulocyte –macrophage colony stimulating factor, I: e ffects of IL-1 α and IL-1s. *J Immunol*, 1990;144:2233 –41.

65. Suzuki D, Miyazaki M, Naka R, Koji T, Yagame M, Endoh M. In situ hybridization of interleukin 6 in diabetic nephropathy. *Diabetes*, 1995;44:1233–8.

66. Dalla Vestra M, Mussap M, Gallina P, Brueghin M, Cernigoi AM, Saller A. Acute-phase markers of inflammation and glomerular structure in patients with type 2 diabetes. *J Am Soc Nephrol*, 2005;16 [Suppl 1]: 78–82,

67. Navarro JF, Milena FJ, Mora C, Leon C, Garcı'a J: Renal pro-inflammatory cytokine gene expression in diabetic nephropathy: Effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and pentoxifylline administration. *Am J Nephrol*, 2006;26: 562–70.

68. Ghoreschi K, Laurence A, Yang XP, Hirahara K, O'Shea JJ. T helper 17 cell heterogeneity and pathogenicity in autoimmune disease. *Trends Immunol*, 2011;32(9):395-401.

69. Kim SM. Targeting T helper 17 by mycophenolate mofetil attenuates diabetic nephropathy progression. *Transl Res*, 2015;166:375–383.
70. Yu R, Bo H, Villani V, Spencer PJ, Fu P. The Inhibitory Effect of Rapamycin on Toll Like Receptor 4 and Interleukin 17 in the Early Stage of Rat Diabetic Nephropathy. *Kidney Blood Press Res*, 2016;41:55–69.
71. Kuo HL, Huang CC, Lin TY, Lin CY. IL-17 and CD40 ligand synergistically stimulate the chronicity of diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*, 2018;33:248–56.
72. Neta R, Oppenheim JJ, Gillis S. The in-vivo effects of interleukin-1. I Bone marrow cells are induced to cycle after administration of interleukin-1.5. *Immunol*, 1987;13(9):18-21.
73. Male D, Cooke A, Owen M, Trowsdale J, Champion B. *Advanced Immunology*, St Louis, C.V. Mosby, 1996;10(5):25-99.
74. Anderson WH, Davidson TM, Broide DH. Mast cell TNF mRNA expression in nasal mucosa demonstrated by in situ hybridization: a comparison of mast cell detection methods. *J Immunol Methods*, 1995;145-55.
75. Wilson S, Giovine F, Blakemore AI, Duff GW. Single base polymorphism in the human tumour necrosis factor alpha (TNF alpha) gene detectable by NcoI restriction of PCR product. *Hum Mol Genet*, 1992; 1(5):353.
76. Bradley JR. TNF-mediated inflammatory disease. *Journal of Pathology*, 2008;214:149-60.
77. Lee DCW, Lau ASY. Effects of Panax ginseng on Tumor Necrosis Factor- α Mediated Inflammation: A Mini-Review. *Molecules*, 2011;16: 2802-16.
78. Lundberg IE. The role of cytokines, chemokines, and adhesion molecules in the pathogenesis of idiopathic inflammatory myopathies. *Current Rheumatology Reports*, 2000;2:216-24.
79. Mensah-Brown E, Obineche E, Galadari S, Chandranath E, Shahin A, Ahmed I. Streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats: the role of inflammatory cytokines. *Cytokine*, 2005;31:180–189
80. Moriwaki Y, Inokuchi T, Yamamoto A, Ka T, Tsutsumi Z, Takahashi S, Yamamoto T. Effect of TNF- α inhibition on urinary albumin excretion in experimental diabetic rats. *Acta Diabetol*, 2007;44:215–219.
81. Awad AS, Rouse MD, Khutsishvili K, Huang L, Bolton WK, Lynch K. Chronic sphingosine 1-phosphate 1 receptor activation attenuates early-stage diabetic nephropathy independent of lymphocytes. *Kidney Int*, 2011;79:1090–1099.
82. Tesch GH. MCP-1/CCL2: a new diagnostic marker and therapeutic target for progressive renal injury in diabetic nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2008;294:697–701.

83. Kim S, Lee S, Kim Y, Seo J, Choi Y. Hyperuricemia-induced NLRP3 activation of macrophages contributes to the progression of diabetic nephropathy Submitted 2 December 2014;20(9):9-10
84. Yuan F, Kolb R, Pandey G, Li W, Sun L, Liu F et al. Involvement of the NLRC4-Inflammasome in Diabetic Nephropathy. *PLoS One*, 2016;11(10):164-169
85. El-Horany H, Abd-Ellatif R, Watany M, Hafez YM. NLRP3 expression and urinary HSP72 in relation to biomarkers of inflammation and oxidative stress in diabetic nephropathy patients. *IUBMB Life*, 2017;69(8):623-30.
86. Alan S, James M, Chevalier P, Patrick W, Hao L, Thomas P et al. Serum Inflammatory and Immune Mediators Are Elevated in Early Stage Diabetic Nephropathy. *Annals of Clinical&LaboratoryScience*, 2015;45-9.
87. Choudhary N. Interleukin-6 and C-reactive protein in pathogenesis of diabetic nephropathy: new evidence linking inflammation, glycemic control, and microalbuminuria. *Iran J Kidney Dis*, 2008;2(2):72-9.
88. Cao L, Boston A, Jegede O, Newman HA, Harrison SH, Newman RH. Inflammation and Kidney Injury in Diabetic African American Men. *J Diabetes Res*, 2019;53(59):63-5.
89. Shikano M, Sobajima H, Yoshikawa H, Toba T, Kushimoto H, Katsumata H et al. Usefulness of a highly sensitive urinary and serum IL-6 assay in patients with diabetic nephropathy. *Nephron*, 2000;85(1):81-5.
90. Saraheimo M, Teppo AM, Forsblom C, Fagerudd J. Diabetic nephropathy is associated with low-grade inflammation in Type 1 diabetic patients. *Diabetol*, 2003;46(10):1402-7.
91. Chang W, Liang W, Yao X, Zhang L, Zhu L, Yan C. Tumour necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand expression in patients with diabetic nephropathy. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*, 2018;19(3):14-70.
92. Bruna N, Thaian CK, Daisy C, Luis Henrique C. Serum and Urinary Progranulin in Diabetic Kidney Disease. *PLoS One*, 2016; 11(10) e0165177. Publ. online 2016;10(13):71-8.
93. Yeo ES, Hwang JY, Park JE, Choi YJ, Huh KB. Tumor necrosis factor (TNF-alpha) and C-reactive protein (CRP) are positively associated with the risk of chronic kidney disease in patients with type 2 diabetes. *Yonsei Med J*, 2010;51(4):519-25.
94. Fathy SA, Mohamed MR, Ali MA, El-Helaly A. Influence of IL-6, IL-10, IFN- γ and TNF- α genetic variants on susceptibility to diabetic kidney disease in type 2 diabetes mellitus patients. *Biomarkers*, 2019;24(1):43-55.
95. Huang H, Li D, Huang X, Wang Y, Wang S, Wang X. Association of Complement and Inflammatory Biomarkers with Diabetic Nephropathy. *Ann Clin Lab Sci*, 2019;49(4):488-95.

96. Lampropoulou I, Stangou M, Papagianni A, Didangelos T, Iliadis F, Efstratiadis G. 1 TNF- α and Microalbuminuria in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *J Diabetes Res*, 2014; 39(4):2-6.
97. Kumar P, Natarajan K, Shanmugam N: High glucose driven expression of pro-inflammatory cytokine and chemokine genes in lymphocytes: Molecular mechanisms of IL-17 family gene expression. *Cell Signal*, 2014;26:528–39.
98. Arababadi M, Nosratabadi R, Hassanshahi G, Yaghini N, Pooladvand V, Shamsizadeh A. Nephropathic complication of type-2 diabetes is following pattern of autoimmune diseases? *Diabetes Res Clin Pr*,2010;87(1):33-7.
99. Mohamed R, Jayakumar C, Chen F, Fulton D, Stepp D. Low-Dose IL-17 Therapy Prevents and Reverses Diabetic Nephropathy, Metabolic Syndrome, and Associated Organ Fibrosis. *JASN*, 2016; 7:745-65.
100. Park S, Lee J, Herbst R, Koo J. GSK-3 α Is a Novel Target of CREB and CREB-GSK-3 α Signaling Participates in Cell Viability in Lung Cancer. *Plos one*, 2016;11(4):53-75.
101. Wang Y, Dou X, Jiang L, Jin H, Zhang L, Zhang L. Discovery of novel glycogen synthase kinase-3 α inhibitors: Structure-based virtual screening, preliminary SAR and biological evaluation for treatment of acute myeloid leukemia. *Eur J Med Chem*, 2019;1(71):221-34.
102. Du B, Lian Y, Chen C, Zhang H, Bi Y, Fan C. Strong association of serum GSK-3 β /BDNF ratio with mild cognitive impairment in elderly type 2 diabetic patients. *Curr Alzheimer Res*, 2019;8(2):10-12.