



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



**MİKROALBÜMÜRİLİ TİP 2 DİYABET HASTALARINDA
NEFROPATİ VE ATEROSKLEROZ İLİŞKİSİNDE
İNFLAMATUVAR BİYOBELİRTEÇLERİN ROLÜ**

Yüksek Lisans Tezi

Hasip ÇIRKIN

Tıbbi Biyokimya
Anabilim Dalı

İzmir
2019

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**MİKROALBÜMÜRİLİ TİP 2 DİYABET HASTALARINDA
NEFROPATİ VE ATEROSKLEROZ İLİŞKİSİNDE
İNFLAMATUVAR BİYOBELİRTEÇLERİN ROLÜ**

Hasip ÇİRKİN

Danışman
Prof. Dr. Ferhan GİRGIN SAĞIN

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Tezli Yüksek Lisans Programı

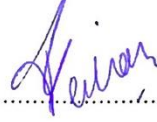
İzmir
2019

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

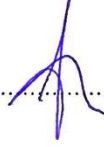
(Adı Soyadı)

(İmza)

**Başkan : Prof. Dr. Ferhan GİRĞİN SAĞIN
(Danışman)**



Üye : Prof. Dr. Yasemin AKÇAY



Üye : Prof. Dr. Hilal KOÇDOR



Yüksek lisans tezinin kabul edildiği tarih :

26.08.2019

ÖNSÖZ

Tez çalışmam boyunca yoğun iş temposuna rağmen bana vaktini ayıran, bilgi birikimi ve deneyimi ile bana destek olan saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Ferhan G. SAĞIN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Akademik hayatın başında karşılaştığım zorluklar karşısında, yılmadan devam etmemi sağlayan, her zaman yanımda olan ve beni sabırla destekleyen annem Meryem Kelleci'ye ve ablam Hatice Çirkin'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tez çalışmamda bana olan desteklerinden dolayı değerli arkadaşım sevgili Fulya Çağlar'a çok teşekkür ederim.

Bu tezi, manevi olarak hep yanımda olduğunu bildiğim babam Orhan Çirkin'e ithaf ediyorum.

İzmir, 26.07.2019

Hasip ÇİRKİN

ÖZET

Mikroalbüminürlü Tip 2 Diyabet Hastalarında Nefropati ve Ateroskleroz İlişkisinde İnflamatuvar Biyobelirteçlerin Rolü

Tip 2 Diabetes Mellitus (Tip2DM), dünyada yaygın olarak görülen bir kronik hastalıktır. Tip2DM'da gelişen endotel hasarına bağlı ortaya çıkan mikroalbüminüri (MAÜ) ve bu zeminde ilerleyen diyabetik nefropati (DN) hastalığının mikrovasküler komplikasyonlarının en önemlisidir. Bu çalışmanın amacı da, serum inflamasyon biyobelirteçleri (Monosit Kemoatraktan Protein-1 (Monocyte Chemoattractant Protein - MCP-1), Interlökin-6 (Interleukin-6 - IL-6), Interlökin-10 (Interleukin-10 - IL-10), Tümör Nekrozis Faktör- α (Tumor Necrosis Factor - TNF- α) ve Yüksek Duyarlı C-Reaktif Protein (High Sensitive C-Reactive Protein - Hs-CRP) ile DN ve ateroskleroz arasındaki ilişkiyi araştırmaktır. Bunun için MAÜ'sü olan ve olmayan toplam 80 Tip2DM'lu hastada Multipleks Assay yöntemiyle saptanan inflamatuvar biyobelirteçlerin düzeyleri ile DN'nin göstergesi olan MAÜ ve aterosklerozun göstergesi olan Ayak-Bilek Brakiyal İndeksi (Ankle Brachial Index - ABİ) ve kardiyometabolik belirteçler birlikte değerlendirilmiştir. Verilerin istatistiksel analizi Student t Testi ve Pearson Correlation analizi ile yapılmıştır. Çalışmanın verilerine göre, MAÜ olan ve olmayan gruplar arasında inflamatuvar biyobelirteçlerin düzeylerinde anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Benzer şekilde, her iki grupta ABİ ortalamalarına bakıldığında ABİ değerleri 0.9-1.3 aralığında ve normal değerlerdedir. MAÜ olan ve olmayan gruplar arasında anlamlı bir fark yoktur. MAÜ'lü hastalarda inflamatuvar biyobelirteçler olan IL-6, IL-10, MCP-1 ve TNF- α ile kardiyometabolik belirteçler olan Tkol, TG ve LDL arasında orta ya da güçlü korelasyon vardır. Belirtilen inflamatuvar biyobelirteç miktarları arttıkça kardiyometabolik belirteçler de anlamlı olarak artmaktadır. Bununla birlikte MAÜ'lü hastalarda aterosklerozda belirleyici faktör olan ABI ile inflamatuvar biyobelirteçler ve kardiyometabolik belirteçler arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Sonuç olarak, Tip2DM'li hastalarda inflamatuvar belirteçlerin erken nefropati tanısında görülen MAÜ ve ateroskleroz göstergesi olan ABI ölçümleri ilk kez birlikte araştırılmıştır. Tip2DM'lu hastalarda geniş kohortlarla, MAÜ subgrupları oluşturularak ya da prospektif tasarımla yapılacak yeni çalışmalar, DN ve ateroskleroz ilişkisini daha iyi anlamamıza neden olabilir.

Anahtar Kelime; Tip 2 Diabetes Mellitus, Mikroalbuminüri, Ateroskleroz, Diyabetik Nefropati, Ayak Bileği Brakiyal İndeksi, İnflamasyon, Sitokinler, Multipleks Assay



ABSTRACT

Role of Inflammatory Biomarkers in Nephropathy and Atherosclerosis in Type 2 Diabetes Mellitus Patients with Microalbuminuria

Type 2 Diabetes Mellitus (Type 2DM) is a common chronic disease in the world. Microalbuminuria (MAU) which is due to endothelial damage in Type 2DM leads to progressive diabetic nephropathy (DN). These two are the most important microvascular complications of the disease. The aim of this study was to investigate the relationship between serum inflammation biomarkers (Monocyte Chemoattractant Protein-MCP-1), Interleukin-6 (Interleukin-6-IL-6), Interleukin-10 (Interleukin-10-IL-10), Tumor Necrosis Factor (TNF- α), High Sensitive C-Reactive Protein (Hs-CRP) and DN and atherosclerosis. The levels of inflammatory biomarkers were detected by Multiplex Assay method in patients with Type2DM (MAU (+), n=40; MAU (-) n=40). Ankle Brachial Index (ABI) which is an indicator of atherosclerosis was also determined along with routine cardiometabolic markers. Student t Test and Pearson test was used for statistics.

No significant difference was found in the levels of inflammatory biomarkers between the 2 groups (MAU (+), MAU (-)). Similarly, in both groups, ABI values were within the normal range of 0.9-1.3 and thus no significant difference between the groups. A moderate or strong correlation was detected between inflammatory biomarkers IL-6, IL-10, MCP-1 and TNF- α and cardiometabolic markers Tchol, TG and LDL in patients with MAU (+). Cardiometabolic markers increased significantly parallel to the inflammatory biomarkers' increase. However, no significant relationship was found between ABI, the determining factor in atherosclerosis, in patients with MAU (+), and inflammatory biomarkers and cardiometabolic markers. As a result, MAU, ABI and inflammatory markers in patients with Type 2DM have been investigated together for the first time. New studies with large cohorts, MAU subgroups, or prospective designs may lead to a better understanding of the relationship between DN and atherosclerosis.

Keywords; Type2 Diabetes Mellitus, Microalbuminuria, Atherosclerosis, Diabetic Nephropathy, Ankle Brachial Index, Inflammation, Cytokines, Multiplex assay

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
ÖZET.....	III
ABSTRACT	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
TABLolar DİZİNİ	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
GRAFİKLER DİZİNİ	XI
KISALTMA LİSTESİ	XII
GİRİŞ	1
1.1. Araştırmanın Problemi.....	1
1.2. Araştırmanın Sorusu.....	1
1.3. Araştırmanın Hipotezleri.....	2
1.4. Araştırmanın Varsayımları	2
1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları.....	2
1.6. Araştırmanın Amacı	2
GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Tip 2 Diabetes Mellitus	4
2.2. Tip 2 Diabetes Mellitus'un Neden Olduğu Hastalıklar	4

2.3. Tip 2 Diabetes Mellitus ve Mikroalbüminüri.....	5
2.4. Tip 2 Diabetes Mellitus ve Sitokinler.....	6
2.5. Ayak Bileği Brakiyal İndeksi ve Ateroskleroz İlişkisi	8
GEREÇ VE YÖNTEM.....	11
3.1. GEREÇLER.....	11
3.1.1. ABI Ölçümü İçin Kullanılan Gereçler	11
3.1.2. Kan Örneklerinin Temini için Kullanılan Gereçler.....	11
3.1.3. Luminex Assay İçin Kullanılan Gereçler	11
3.1.3.1. Kit içerisindeki malzemeler	12
3.1.3.2. Kitin Haricinde Gerekli olan malzemeler	12
3.1.4. Diğer Araç-Gereçler	13
3.2. YÖNTEM	14
3.2.1. Hasta Kan Örneklerinden Serum Eldesi	15
3.2.2. Multipleks Assay (Luminex) Yöntemi ile Serum İnflamatuvar Biyobelirteçlerinin Ölçümü	15
3.2.2.1. Serum Örneklerinin Hazırlanması	17
3.2.2.2. Reaktiflerin Hazırlanması	17
3.2.2.3. Luminex Assay İşlem Basamakları	21
3.2.2.5. Luminex Assay Hesaplamaları.....	24
3.2.3. İstatistiksel Analiz	27
BULGULAR	28
4.1. Luminex Veri Sonuçları.....	29
TARTIŞMA.....	36
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	41
KAYNAKLAR.....	42
EKLER.....	49



TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. ABI ölçüm değerlendirme tablosu	9
Tablo 2. Hastaların çalışmaya alınma kriterleri.....	14
Tablo.3. Standart Kokteyl Ve RD6-52 kullanılarak standart 1 solüsyonunun hazırlanması.....	18
Tablo 4. MAÜ'lü ve MAÜ'süz DM hastalarına ait demografik ve klinik veri tablosu.	28
Tablo 5. ‘‘Independent T Test’’ veri analiz sonuçları.....	29
Tablo 6. MAÜ'süz Tip2DM hastalarında korelasyon analizi sonuçları	32
Tablo 7. MAÜ'lü Tip2DM hastalarında korelasyon analizi sonuçları.....	34



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. MAGPIX luminex cihazı.....	13
Şekil 2. MILLIPLEX analyst programı.	13
Şekil 3. Manyetik boncuklarla yapılan luminex assay yöntemi.....	16
Şekil 4. Standart 1'in hazırlanması.	18
Şekil 5. Standart 1'den diğer standartların hazırlanması	19
Şekil 6. Seyreltilmiş antikor bağlı manyetik boncuk kokteylinin 96 kuyucuklu plakaya yüklenmesi.....	21
Şekil 7. Seyreltilmiş biotin-antikor kokteylinin manyetik boncuk içeren 96 kuyucuklu plağa ekimi	22
Şekil 8. Streptavidin-PE kokteylinin eklenmesi.	23
Şekil 9. TNF- α luminex analizi standart eğri grafiği.....	24
Şekil 10. CCL2/MCP1 luminex analizinin standart eğri grafiği	25
Şekil 11. Hs-CRP luminex analizi standart eğri grafiği.....	25
Şekil 12. IL-6 luminex analizinin standart eğri grafiği.....	26
Şekil 13. IL-10 luminex analizinin standart eğri grafiği.....	26

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. MAÜ'lü ve MAÜ'süz hastalarda IL-10, IL-6 ve TNF- α inflamatuvar biyobelirteçlerin ortalamalarının karşılaştırılması.....	30
Grafik 2. MAÜ'lü ve MAÜ'süz hastalarda IL-10, IL-6, TNF- α , Hs-CRP ve MCP-1 inflamatuvar biyobelirteçlerin ortalamalarının karşılaştırılması.	30
Grafik 3. MAÜ'lü ve MAÜ'süz Hastalarda ABI ortalamalarının karşılaştırılması	31



Kısaltma Listesi

Tip2DM	: Tip 2 Diabetes Mellitus
Tip1DM	: Tip 1 Diabetes Mellitus
GDM	: Gestasyonel Diabetes Mellitus
MAÜ	: Mikroalbuminüri
DN	: Diyabetik Nefropati
MCP-1	: Monosit Kemoatraktan Protein-1 “Monocyte Chemoattractant Protein-1”
IL-6	: Interlökin-6 “Interleukin-6”
IL-10	: Interlökin-10 “Interleukin-10”
TNF-α	: Tümör Nekrozis Faktör- α “Tumor Necrosis Factor- α ”
ABI	: Ayak Bileği Brakiyal İndeksi “Ankle Brachial Index”
AKŞ	: Açlık Kan Şekeri
TKŞ	: Tokluk Kan Şekeri
Tkol	: Total Kolesterol
HDL	: Yüksek Densiteli Kolesterol
LDL	: Düşük Densiteli Kolesterol
TG	: Trigliserid
MONICA	: “The Multinational Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Disease”
PREVEND	: “Prevention of Renal and Vascular End Stage Disease”
HUNT	: “The Nord-Trøndelag Health “

EPIC	: “European Prospective Investigation into Cancer”
HOPE	: “Heart Outcomes Prevention Evaluation”
CRP	: C-Reaktif Protein “C-Reaktive Protein”
Hs-CRP	: Yüksek Duyarlı C-Reaktif Protein “High Sensitive C-Reaktive Protein”
CSIF	: Sitokin Sentezini İnhibe Edici Faktör “Cytokine Synthesis Inhibitory Factor”
SBP	: Sistolik Kan Basıncı
PAH	: Periferik Arter Hastalığı “Peripheral Artery Disease”
BA	: Brakiyal Arter
DPA	: Dorsalis Pedis Arter
PTA	: Posterior Tibial Arter
MFI	: Medyan Floresan Yoğunluğu
BKİ	: Beden Kitle İndeksi
KAH	: Koroner Arter Hastalığı
HT	: Hipertansiyon

Giriş

1.1. Araştırmanın Problemi

Tip 2 Diabetes Mellitus (Tip2DM), dünyada %8.3, ülkemizde ise %14.85 prevalansa sahip yaygın bir kronik hastalıktır. Hastalarda görülen insülin direnci ve bozulmuş glukoz homeostazi, hiperglisemi ve kronik bir inflamatuvar mikroçevreyi tetikleyerek hastalığın morbiditesini ve mortalitesini arttıran mikro ve makro vasküler komplikasyonlara neden olur. Tip2DM'da gelişen endotel hasarına bağlı ortaya çıkan mikroalbuminüri (MAÜ) ve bu zeminde ilerleyen diyabetik nefropati (DN) hastalığın mikrovasküler komplikasyonlarının en önemlisidir. Benzer şekilde, kronik inflamatuvar ortamdaki progresif ateroskleroz ve bunun sonucunda görülen periferik arter ve koroner hastalıklar da makrovasküler komplikasyonlara önemli örneklerdir. Son yıllarda, MAÜ'nin sistemik vasküler hasar, geniş endotelial disfonksiyon ve renal fonksiyondan bağımsız olarak ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalık için bağımsız bir risk faktörü olduğu öne sürülmektedir. Tip2DM'da görülen mikro ve makrovasküler komplikasyonların tetikleyicisi olarak özellikle makrofajlardan ortama salınan Monosit Kemoatraktan Protein-1 (Monocyte Chemoattractant Protein - MCP-1), Interlökin-6 (Interleukin-6 - IL-6), Interlökin-10 (Interleukin-10 - IL-10), Tümör Nekrozis Faktör- α (Tumor Necrosis Factor - TNF- α) ve karaciğer hücrelerinden ortama salınan Yüksek Duyarlı C-Reaktif Protein (High Sensitive C-Reactive Protein - Hs-CRP) gibi proinflamatuvar ve proaterojenik moleküllerin yakın ilişkisi göz önüne alındığında, bu hastalarda ateroskleroz ve nefropati ilişkisinde söz konusu moleküllerin rolü önem kazanmaktadır.

1.2. Araştırmanın Sorusu

Yukarıda belirtilen etkileşimler göz önüne alındığında, DM'da gelişen vasküler ve endotelial komplikasyonlardan DN ile aterosklerozun ortak tanı/patogenez belirteci olarak MAÜ ve Ayak Bileği Brakiyal İndeksi (Ankle Brachial Index-ABI) yanı sıra söz konusu inflamatuvar belirteçler kullanılabilir mi? Bu belirteçlerin tek bir kan örneğinde birlikte ve hızlı ölçümüne olanak veren bir sistem (Multipleks Assay) klinik kullanıma girebilir mi?

1.3. Araştırmanın Hipotezleri

Bu çalışmanın hipotezi, inflamatuvar parametrelerin erken nefropatide görülen MAÜ ve ateroskleroz göstergesi olan ABI ile ilişkili olabileceğidir. Bu hipotezin kanıtlanması durumunda MAÜ ve ABI yanısıra bu biyobelirteçler de tanı ve izlemde kullanılabilir. Ayrıca MAÜ'l hastalarda rutin ABI lmleri önerilebilir. Bu ölçümlerle olgularda erken aterosklerozun saptanması olası olabileceğii gibi daha yoğun tedavilerin uygulanmasıyla olgularda DN'nin ve kardiyovasküler olayların gelişimini önlemek de mümkün olabilir.

1.4. Araştırmanın Varsayımları

Araştırmamızda, ABI lmlerinin tek bir uzman tarafından doğru olarak lldği varsayılmaktadır.

1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları

Bu alışma daha önce yapılmış başka bir çalışmanın yedek kan örnekleriyle yrtldğinden daha geniş bir kohortta çalışılmamış olması çalışmamızı sınırlamaktadır.

1.6. Araştırmanın Amacı

Bu çalışmadaki amacımız; Tip2DM'lu hastalarda, bazı serum inflamasyon biyobelirteçleri ile DN ve ateroskleroz arasındaki ilişkiyi araştırmaktır. Bu amaca yönelik olarak, MAÜ'si olan ve olmayan toplam 80 Tip2DM hastasında, Multiplex Assay yöntemi ile MCP-1, IL-6, IL-10, TNF- α ve Hs-CRP düzeyleri saptanmıştır. MAÜ'si olan ve olmayan hastalarda, bu inflamatuvar biyobelirteçlerin düzeyleri ile aterosklerozun göstergesi ABI ve aterosklerozda önemli diğer kardiyometabolik belirteçler açlık kan şekeri (AKş), tokluk kan şekeri (TKş), Hemogloblin (A1c-HbA1c), total kolesterol(Tkol), yüksek densiteli kolesterol (HDL), düşük densiteli kolesterol (LDL), trigliserid (TG) birlikte değerlendirilerek aralarındaki ilişki araştırılmıştır.

Bu alışma ile Tip2DM'lu olgularda, MAÜ ve aterosklerotik serum inflamatuvar biyobelirteçleri ile ABI lmleri ilk kez birlikte incelenmiştir. Bu verilerin Tip2DM'lu hastalardaki vasküler komplikasyonların patofizyolojisini anlamamıza yardımcı olacağı, ayrıca bu komplikasyonları öngörecek belirtecin ya da belirteç

setinin klinik uygulamada kullanılmasına yönelik bilimsel bilgiye katkıda bulunacağı öngörülmektedir.



GENEL BİLGİLER

2.1. Tip 2 Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus (DM), insülin sekresyonunda ve/veya insülin etkisinde bozukluklardan kaynaklanan hiperglisemi ile karakterize edilen bir metabolik hastalık grubudur. Tip 1 diabetes mellitus (Tip1DM), Tip2DM ve Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM) olmak üzere öne çıkan üç tip diyabet vardır (American Diabetes Association, 2010). Tüm diyabet vakalarının %90'ından fazlasında Tip2DM görülmektedir (DeFronzo ve ark., 2015).

Tip2DM, karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmasının düzensizliği ve bozulan insülin sekresyonu, insülin direnci veya her ikisinin kombinasyonu ile ilişkilidir. Genellikle iskelet kasları, karaciğer ve yağ dokusunda var olan insülin direncinden dolayı işlevselliği bozulmuş pankreatik β -hücreleri tarafından aşamalı olarak azalan insülin sekresyonu hastalığın temelini oluşturur. Böylece bu organ ve dokulardaki hücrelere glikoz taşınmasında bir azalma görülür ve hiperglisemi varlığı ile yağ yıkılımında bir artış ortaya çıkar. Aşırı hiperglisemi, bireyleri Tip2DM gelişimine yatkın hale getiren yüksek riskli bir durum olan prediyabet'den önce gelir (DeFronzo ve ark., 2015; Olokoba, Obateru, ve Olokoba, 2012). İnsülin direnci ve Tip2DM'nin etiyolojisinde, endokrin organ hipotezi (çeşitli adipositokinlerin salgılanması yani leptin, TNF- α , resistin ve insülin direncinde rol alan adiponektin ve olası beta hücre disfonksiyonu) olarak adipoz doku çok önemli yer tutmaktadır (Olokoba ve ark., 2012).

2.2. Tip 2 Diabetes Mellitus'un Neden Olduğu Hastalıklar

Tip2DM, normal olmayan endotelial vasküler reaktivitenin ve insülin direncinin birlikte yer aldığı kronik inflamatuvar bir durumdur (Lin, Hu, Rimm, Rifai, ve Curhan, 2006). Diyabetin kronik komplikasyonları içerisinde mikrovasküler ve makrovasküler hastalıklar önemli bir yer almaktadır. Mikrovasküler komplikasyonlar retinopati, nöropati ve nefropatiye sebep olurken, makrovasküler komplikasyonların ise daha çok kardiyovasküler hastalıklara neden oldukları bilinmektedir. Tüm bu vasküler komplikasyonların en önemli nedeni diyabete bağlı olarak gelişen aterosklerozdur (Dokken, 2008). Tip2DM'da görülen bu ateroskleroz, süregelen hipergliseminin tetiklediği nonenzimatik glikozilasyon ve kronik inflamatuvar mikroçevre sonucu

ortaya çıkar. Bu progresif ateroskleroz zamanla koroner, serebral, visseral ve periferik damarları kapsayarak progresif mikroalbuminüri (MAÜ) ve diyabetik nefropati (DN) gibi mikrovasküler ya da periferik arter hastalığı ve koroner hastalıklar gibi makrovasküler hastalık riskinin artmasına yol açar (Aslan D., Girgin Sağın F, Şeneş M, 2016; Currie, McKay, ve Delles, 2014; Dokken, 2008; Lee ve Choi, 2014).

Gelişmekte olan toplumlarda kentleşme ve şehir yaşamı çerçevesinde gelişen yaşam tarzı değişiklikleri, diğer etkenlerle birlikte fazla kilolu ve obez bireylerin sayısında ve T2DM görülme sıklığında artışa neden olmaktadır. Uluslararası Diyabet Federasyonu verilerine göre dünyada 382 milyon (prevalans %8.3), ülkemizde ise yaklaşık 10 milyon (prevalans %14.85) T2DM'lu hasta vardır (Aslan D., Girgin Sağın F, Şeneş M, 2016). Özellikle diyabetik popülasyonda kardiyovasküler mortalite ve morbidite de artış gözlenmekte ve bu artış DN ile de ilişkilendirilmektedir (Deckert ve ark., 1996; Dinneen ve Gerstein, 1997; King, Aubert, ve Herman, 1998; Mogensen ve ark., 1992)

2.3. Tip 2 Diabetes Mellitus ve Mikroalbuminüri

İlk olarak 1982'de Tip1 DM hastalarında Viberti tarafından bildirilen MAÜ (24 saatlik idrarda 30-299 mg albümin eksresyonu), günümüzde DN'nin en erken klinik kanıtını temsil eden belirteç olarak kabul edilmektedir. MAÜ varlığı genel vasküler ve endotelial disfonksiyonun bir göstergesidir (Garg ve Bakris, 2002; Stehouwer ve ark., 2002). MAÜ transkapiller albumin kaçağı ile ilişkili olup, endotel fonksiyon bozukluğunun bir sonucu olarak gelişir ve vasküler nefropatide endotel disfonksiyonunu yansıtmaya açısından önemlidir. Kan basıncının MAÜ varlığı ile yükselmeye başlaması ve nokturnal kan basıncının düşüşünün kaybolması endotel hasarını ve aterosklerozu arttırmaktadır (Deckert ve ark., 1996; Dinneen ve Gerstein, 1997; Garg ve Bakris, 2002; Mogensen ve ark., 1992). İnflamasyonun ve ilişkili aterosklerozun hassas bir göstergesi olan Hs-CRP de, mikrovasküler hasarla ilişkilendirilerek MAÜ gelişiminde prediktif bir belirteç olarak öne sürülmektedir (L. Li ve ark., 2017).

Yakın zamanda MAÜ'nin, diyabetikler arasında sistemik vasküler hasar, geniş endotelial disfonksiyon ve renal fonksiyondan bağımsız olarak koroner kalp hastalığında artmış riski gösterdiğini, Tip2DM'lu hastalarda daha yüksek kardiyovasküler morbidite ve mortalite için bir marker olduğunu öne süren çalışmalar yayımlanmıştır. Büyük hasta popülasyonu içeren tek merkezli The Multinational

Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Disease (MONICA) çalışması, Prevention of Renal and Vascular End Stage Disease (PREVEND) çalışması, The Nord-Trøndelag Health (HUNT) ve European Prospective Investigation into Cancer (EPIC) çalışmaları ya da Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) çalışması gibi çok merkezli birçok çalışmada, MAÜ varlığı, hastada vasküler yanıtın bozulduğunu ve kardiyovasküler riskin arttığını gösteren bir prediktif böbrek sinyali olarak kabul edilmiştir (de Zeeuw, Parving, ve Henning, 2006; Garg ve Bakris, 2002). Ayrıca bu çalışmaları destekleyip vurgulayan başka bir çalışma da, normal albuminüri aralığının biraz üstündeki yükselmiş seviyelerin kardiyovasküler hastalıkla bağlantılı olduğu göstermiştir (de Zeeuw ve ark., 2006). Tüm bu çalışmalar, MAÜ'nin kardiyovasküler hastalık ve DN'nin erken bir biyokimyasal belirteci olarak kullanılmasını önermektedir (Deckert ve ark., 1996; Dinneen ve Gerstein, 1997; King ve ark., 1998; Mogensen ve ark., 1992; Silva ve ark., 2010).

2.4. Tip 2 Diabetes Mellitus ve Sitokinler

Son zamanlarda yapılan araştırmalar, Tip2DM'lu hastalarda, MAÜ ve diğer inflamatuvar belirteçler arasında önemli bir ilişki olduğunu da göstermektedir (Currie ve ark., 2014; King ve ark., 1998; Lee ve Choi, 2014; Stehouwer ve ark., 2002). Çalışmalar, DN'nin gelişiminde mediatör sitokinlerin ve değişen albüminüri değerlerinin rolüne dikkat çekmektedir (Navarro-González ve Mora-Fernández, 2008; Navarro, Mora, Macía, ve García, 2003). Sitokinler, sadece inflamatuvar hücrelerden değil, aynı zamanda endotelial, epitelyal ve mezenkimal hücreler gibi çok çeşitli hücrelerden salgılanan, lokal olarak aktif, polipeptit mediatörlerdir (Kishimoto, Taga, ve Akira, 1994; Mora ve Navarro, 2006; Skundric ve Lisak, 2003; Vilcek J, 2003). Tip2DM'da görülen mikro ve makrovasküler komplikasyonların tetikleyicisi olarak öne sürülen proinflamatuvar ve proaterojenik sitokinler arasında özellikle makrofajlardan ve karaciğer hücrelerinden ortama salınan MCP-1, IL-6, IL-10, TNF- α ve Hs-CRP ilgi çekmektedir (Skundric ve Lisak, 2003; Sproston ve Ashworth, 2018; Vilcek J, 2003).

Monosit Kemoatraktan Protein-1 (MCP-1) monositleri kan damarı duvarına çeken, proinflamatuvar sitokinlerin sentezini ve salınımını uyaran bir moleküldür. Popülasyon temelli araştırmalarda, bu molekülün aterosklerozun diğer risk faktörleriyle ilişkisi

gösterilerek MCP-1'in aterojenik bir mediatör olduğu öne sürülmüştür (Deo ve ark., 2004; Koh, 2002). MCP-1, yüksek glukoz konsantrasyonunun ve bir dizi etkinin altında, mezenkimal hücrelerde eksprese edilerek glomerüloskleroza yol açtığından DN'de önemli rol aldığı öne sürülmüştür. (Freitas Lima ve ark., 2015).

IL-6; alveolar makrofajlar (Kotloff, Little, ve Elias, 1990), endotel hücreleri, fibroblastlar, T ve B hücreleri tarafından üretilen ve 22-30 kDa ağırlığında olan bir proinflamatuvar sitokindir. Özellikle C-Reaktif Protein (CRP)'in regülasyonu üzerinden akut-faz protein cevabının potansiyel bir indükleyicisi olan bu sitokinin glomerüler bazal membran kalınlaşmasıyla, artmış endotelial permeabiliteyle, mezenkimal hücre proliferasyonu ile ilişkisi gösterilmiştir (Cermak ve ark., 1993; Kotloff ve ark., 1990; Satchell ve Tooke, 2008; Suzuki ve ark., 1995; Wolbink, Brouwer, Buysmann, ten Berge, ve Hack, 1996; Zitnik, Zheng, ve Elias, 1993). Tip2DM'li hastalarda kardiyovasküler risk ile ilgili olduğu bilinen homosisteinin ve IL-6'nın yüksek konsantrasyonlarının korelasyonundan dolayı homosisteinemi ile kronik inflamasyonun ilişkili olduğu düşünülmektedir (Kolcowa, Orowska-Kunikowska, Narkiewicz, Owczarzak, ve Łysiak-Szydłowska, 2003). Alkolik olmayan yağlanmış karaciğer hastalarında IL-6 düzeylerinin, subklinik aterosklerozun prevalansı ve şiddeti ile bağımsız olarak ilişkili olduğu ortaya konmuştur (Simon ve ark., 2018). Ayrıca Tip2DM'li hastalarda artan insülin ve IL-6 seviyeleri, IL-6'nin DN patagonezinde önemli rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Senthilkumar ve ark., 2018).

DN'de inflamatuvar sitokinlerin rolüne işaret eden çalışmalara karşılık, antiinflamatuvar sitokin IL-10'un rolü de dikkat çekmektedir. Sitokin sentezini inhibe edici faktör (Cytokine Synthesis Inhibitory Factor - CSIF) olarak da bilinen bu molekülün düzeylerinin yükselmesinin, iyileşmiş endotelial vasoreaktiviteyle ilişkili olduğu öne sürülmüştür. IL-10, immün sistemde düzenleyici görevi olan, protein yapıda küçük bir sitokindir. İki önemli aktivitesi, makrofajlar tarafından sitokin üretiminin inhibisyonu ve T hücre aktivasyonu esnasında makrofajların yardımcı fonksiyonlarının inhibisyonudur. Bu görevlerin sonucunda IL-10, immün sistemde birincil olarak antiinflamatuvar rol oynar (Aytuğ, n.d.; Bubanovic, 2003). Sonuç olarak proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler arasındaki dengenin, endotelial fonksiyonda majör belirleyici olduğu düşünülmektedir.

TNF- α ; endotel, düz kas hücreleri, makrofaj ve adipoz hücrelerinden salınır (Mohamed-Ali ve ark., 1999). Koroner ateroskleroz plağı ile de ilişkili bir sitokin olan bu molekül, monositlerin aterosklerotik lezyona göç etmesini, endoteldeki diğer adezyon moleküllerini ve IL-6 seviyelerini artırır (Niemann-Jonsson ve ark., 2000; Ridker ve ark., 2000; Satchell ve Tooke, 2008). Esansiyel hipertansiyonlu hastalarda TNF- α 'nın büyük arterlerin artmış sertliği ile korele olduğu gösterilmiştir (Yang ve ark., 2009). Sistemik sklerozlu hastalarda serum TNF- α seviyeleri yüksek bulunmuş ve TNF- α 'nın sistemik sklerozun tanısında dikkat çekici olabileceği önerilmiştir (Pehlivan ve ark., 2012). Bunlara ek olarak; TNF- α seviyelerinin diyabetik hastalarda albüminüri başlamadan önce idrarda ve renal interstisyumda yükseldiği saptanmıştır (Satchell ve Tooke, 2008). 1999-2016 tarihleri arasında yapılan toplamda 6 farklı araştırmanın metaanalizinde, Tip2DM ve Tip2DM'li DN hastalarının serum TNF- α konsantrasyonlarının belirgin biçimde arttığı, ancak yine de bu belirtecin T2DM'li DN hastalarında daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Chen ve ark., 2017). Aynı zamanda MAÜ'li DN vakalarında, serum TNF- α 'nın yüksek ekspresyon seviyelerinin Tip2DM'ye bağlı DN'yi şiddetlendirdiği öne sürülmüştür (X. Li, Wu, Chen, ve Qiu, 2017).

Bir başka inflamatuvar belirteç olan CRP 'nin Tip1DM ve Tip2DM'lilerde arttığı bilinmektedir. Bu sitokin özellikle inflamatuvar cevabın amplifikasyonunda, doku makrofajlarından TNF- α üretimini artırır. Bu sebeple CRP ile koroner arter hastalıklarındaki mortalite ve diyabetin gelişiminin birbiri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Festa ve ark., 2000; Mohamed-Ali ve ark., 1999). Tip2DM'li hastalarla yapılan bir çalışmada, ABI ve Hs-CRP ilişkisine bakılmış ve düşük ABI'li olgularda yüksek Hs-CRP seviyeleri bulunduğu için Hs-CRP'nin inflamasyona ve kardiyovasküler hastalıklara sebep olabileceği ileri sürülmüştür (Thejaswini, Roopakala, Dayananda, Chandrakala, ve Prasanna Kumar, 2012).

2.5. Ayak Bileği Brakiyal İndeksi ve Ateroskleroz İlişkisi

Ateroskleroz, arterlerin endotelial yüzünde kompleks karbohidratlar, fibröz doku, kolesterol, yağ, kalsiyum iyonları ve inflamatuvar moleküllerin lokal birikimleri sonucu oluşturdukları plak yapısından dolayı kan akışının azaldığı ve organların beslenmesinin bozulduğu sistemik bir rahatsızlıktır (Tanrıverdi ve Savaş Tetik, 2017).

Ayak bileği-brakiyal indeksi (ABI), ayak bileğinde ölçülen sistolik kan basıncının (SBP), brakiyal arterde ölçülen kan basıncına olan oranıdır. İlk olarak 1950 yılında Winsor tarafından periferik arter hastalığının (Peripheral Artery Disease - PAH) invazif olmayan tanısında kullanılmıştır (Aboyans ve ark., 2012). ABI, ateroskleroz varlığının göstergesi olarak günümüzde de kullanılagelen ve kardiyovasküler hastalık riski tahmininde yararlı bilgiler sağlayan bir yöntem olarak bildirilmektedir. Yöntem önceleri periferik arterlerde ateroskleroz varlığının belirteci olarak PAH tanısı için önerilmiş olsa da, artık vasküler sistemin diğer bölgelerinde de ateroskleroz göstergesi olduğu, kardiyovasküler olaylar için prognostik önem taşıdığı ve aterotrombotik riski kolay ve noninvaziv bir şekilde gösteren bağımsız bir gösterge olduğu kabul edilmektedir. Düşük ABI kardiyovasküler morbidite ve mortalite için önemli bir prediktördür (Aboyans ve ark., 2012).

ABI ölçümü için;

- Hastalar yatar pozisyonda iken sistolik arter basınçları ölçülür
- Her iki üst ekstremiteden Brakiyal Arter (BA) basıncı alınır
- Alt ekstremitelerden hem dorsalis pedis arter (DPA), hem de posterior tibial arterden (PTA), 8 MHz vasküler el Doppleri ile sistolik basınç ölçümleri yapılır
- ABI değeri aşağıdaki formül ile saptanır:

$$ABI = \frac{\text{DPA ve PTA sistolik değerlerinin yüksek olanı}}{\text{Her iki brakiyal arter basıncından yüksek olan değer}}$$

ABI ölçüm sonuçları değerlendirilmesi için önerilen klasifikasyon Tablo 1'de gösterilmiştir (**Tablo 1.**) (Aboyans ve ark., 2012).

Tablo 1. ABI ölçüm değerlendirme tablosu

ABI	DEĞERLENDİRME
0.9 - 1.3	NORMAL
<0.9	İSKEMİ
<0.6	CİDDİ İSKEMİ
>1.3	DAMARDA CİDDİ MEDİAL KALSİFİKASYON

Yukarıda söz edilen inflamatuvar moleküllerin Tip2DM’da gelişen komplikasyonlarla ilişkisini araştıran ve değişik sonuçlar bildiren birçok çalışma olmasına rağmen, bu moleküllerle hastalığın mikro ve makrovasküler diğer risk faktörlerinin/belirteçlerinin birlikte araştırıldığı çalışma sayısı kısıtlıdır. Bu nedenle çalışmamız, DN’nin erken bir klinik kanıtı olarak kabul edilen ve aynı zamanda aterosklerotik bir risk faktörü olarak da gösterilen MAÜ ile aterosklerotik diğer belirteçler arasındaki ilişkiyi ve bu ilişkide söz konusu inflamatuvar moleküllerin rolünü araştırmayı hedeflemektedir.

Bu çalışmanın hipotezi, inflamatuvar parametrelerin erken nefropatide görülen MAÜ ve ateroskleroz göstergesi olan ABI ile ilişkili olabileceğidir. Bu hipotezi test etmek için MAÜ olan ve olmayan Tip2DM olgularında, bazı serum inflamatuvar belirteçleri (MCP-1, IL-6, IL-10, TNF- α ve Hs-CRP) Multipleks Assay ile çalışılmıştır. Böylelikle aterosklerozun bir göstergesi olan ABI ölçümleri ile DN’nin göstergesi olan MAÜ sonuçları ve çalışmamızda saptanan inflamatuvar aterosklerotik belirteç değerleri birlikte incelenerek aralarındaki ilişki ortaya konmuştur.

GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. GEREÇLER

3.1.1. ABI Ölçümü İçin Kullanılan Gereçler

- Tansiyon manşonu (FMT, Türkiye)
- Vasküler el Doppler'i (8 MHz) (Hadeco, Japan)

3.1.2. Kan Örneklerinin Temini için Kullanılan Gereçler

- %70'lik alkol (izopropil alkol, etanol) (Örnek alımı öncesi deri dezenfeksiyonu için)
- Tek kullanımlık lateks veya vinil eldivenler
- Turnike, adaptör, iğne uçları (21-yeşil uçlu veya 22-siyah uçlu)
- Etiketler ve kalem
- Katkı maddesiz kırmızı ya da sarı kapaklı düz kan alma tüpleri
- 1,5 ml'lik ependorf tüp (serum örneklerini saklamak için)
- Santrifüj (kandan serum eldesi için) (Thermo-Fisher, USA)

3.1.3. Luminex Assay İçin Kullanılan Gereçler

- Luminex Human Magnetic Assay - Human Premixed Multi-Analyte Kit (Rve D Systems, Minneapolis, Minnesota).
 - CCL2/MCP-1 (BR25)
 - IL-10 (BR22)
 - IL-6 (BR13)
 - TNF-alpha (BR12)
 - Hs-CRP (BR62)

3.1.3.1. Kit içerisindeki malzemeler

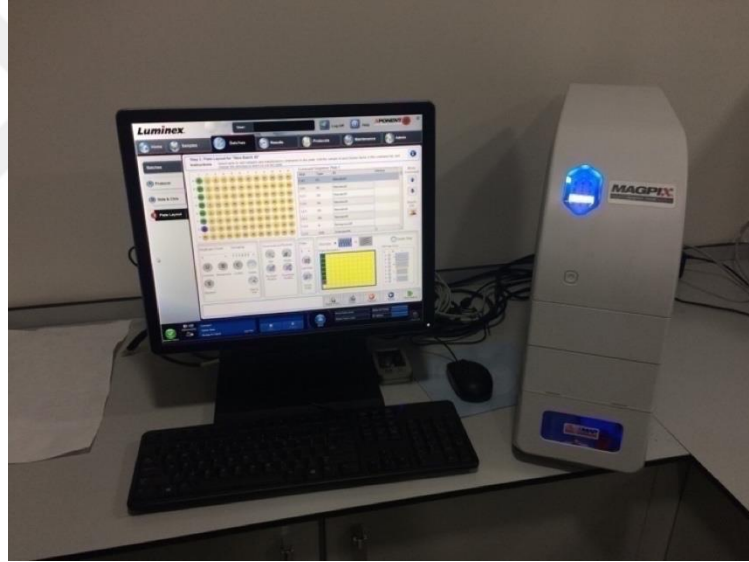
- Human Standard Cocktail (A-Z) (1-7) :Seçili standartlardan oluşan kokteyl
- Human Premixed Cocktail of antibody-coated magnetic beads: Antikor kaplı manyetik boncuk kokteyli
- Human Premixed Biotin-Ab Cocktail: Biotin bağlı antikor kokteyli
- Streptavidin-PE Concentrate: 10 kat konsantre Streptavidin-PE
- Diluent RD2-1: Bead diluent: Biotin Antibody Diluent
- Calibrator Diluent RD6-52: Sample/Standard Diluent
- Yıkama Tamponu
- Mikroplak: Deney için düz tabanlı 96 kuyucuklu mikroplak
- Karıştırma tüpleri
- Foil plate Sealers: Plak kaplayıcı-yapıştırıcı
- Analiz Sertifikası

3.1.3.2. Kitin Haricinde Gerekli olan malzemeler

- 8 kanallı pipet (Thermo-Fisher, USA)
- 1-1000 µl otomatik pipet (Thermo-Fisher, USA)
- Manyetik platform
- MAGPIX Luminex cihazı (Luminex Corporation, Texas, USA)
- Milliplex Analyst



Şekil 1. MAGPIX Luminex cihazı.



Şekil 2. MILLIPLEX Analyst programı.

3.1.4. Diğer Araç-Gereçler

- Buzdolabı
- Derin dondurucu
- Otoanalizör (Gallery, USA)

3.2. YÖNTEM

Bu tez çalışması, daha önce Etik Kurul onayı alınmış (EÜTF Etik Kurul, 5 Ağustos 2014, 14-7/10) bir başka çalışmanın yedek kan örnekleri ile yürütülmüştür. Söz konusu çalışmaya, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi İç Hastalıkları Polikliniği'ne başvuran Tip2DM'lu olgulardan çalışma kriterlerini karşılayan hastalar (**Tablo 2.**) dahil edilmiştir. Olguların boy, ağırlık ve kan basıncı ölçümü yapıldıktan sonra BKİ (Ağırlık (kg)/Boy (m)²) değerleri hesaplanmış ve BKİ<35 olan hastalardan retrospektif olarak MAÜ'si olan 40 hasta ve MAÜ'si olmayan 40 hasta belirlenerek çalışmaya alınmıştır.

Tablo 2. Hastaların çalışmaya alınma kriterleri

-
- 40-60 yaş arası olması
 - BKİ'nin 35'ten az olması
 - Romatolojik, inflamatuvar hastalığın, idrar yolu enfeksiyonunun ya da malignitenin olmaması
 - Gebeliğin olmaması
 - Araştırmadan kısa bir süre önce veya araştırma sırasında idrarda kreatinin atılımını etkileyebilecek herhangi bir ilaç kullanılmamış olması
-

Çalışmamızın laboratuvar analizleri için çalışmaya dahil edilmiş olan hastaların daha önceki çalışma için alınmış olan ve alikotlanmış olarak -80 C'de saklanan örnekleri kullanılmıştır. EÜTF İç Hastalıkları Polikliniği'nde takipleri devam eden, önceki çalışmanın tüm hastalarına, yedek kan örneklerinin kullanılacağı çalışmamızla ilgili bilgi verilmiş ve Gönüllü Olur Formları imzalatılarak hastalardan onayları temin edilmiştir. Ayrıca EÜTF Etik Kurulundan bu tez çalışması için 17-7.2/18 sayılı izin alınmıştır.

Çalışmamızdaki inflamatuvar biyobelirteçlerin çoklu ölçümünde, daha küçük numune hacmi ve daha hızlı ölçüme izin veren Multipleks Assay sistemleri (Luminex Human Magnetic Assay - CCL2/MCP-1 (BR25), IL-10 (BR22), IL-6 (BR13), TNF-alpha (BR12) ve HsCRP (BR62)) kullanılmıştır. Ayrıca hastaların diğer rutin analizlerinin (açlık kan şekeri-AKŞ, tokluk kan şekeri-TKŞ, Hemoglobin A1c-HbA1c, total kolesterol, yüksek densiteli kolesterol-HDL, düşük densiteli kolesterol-LDL, trigliserid-TG) otoanalizörde çalışılmış önceki verileri değerlendirilmiştir.

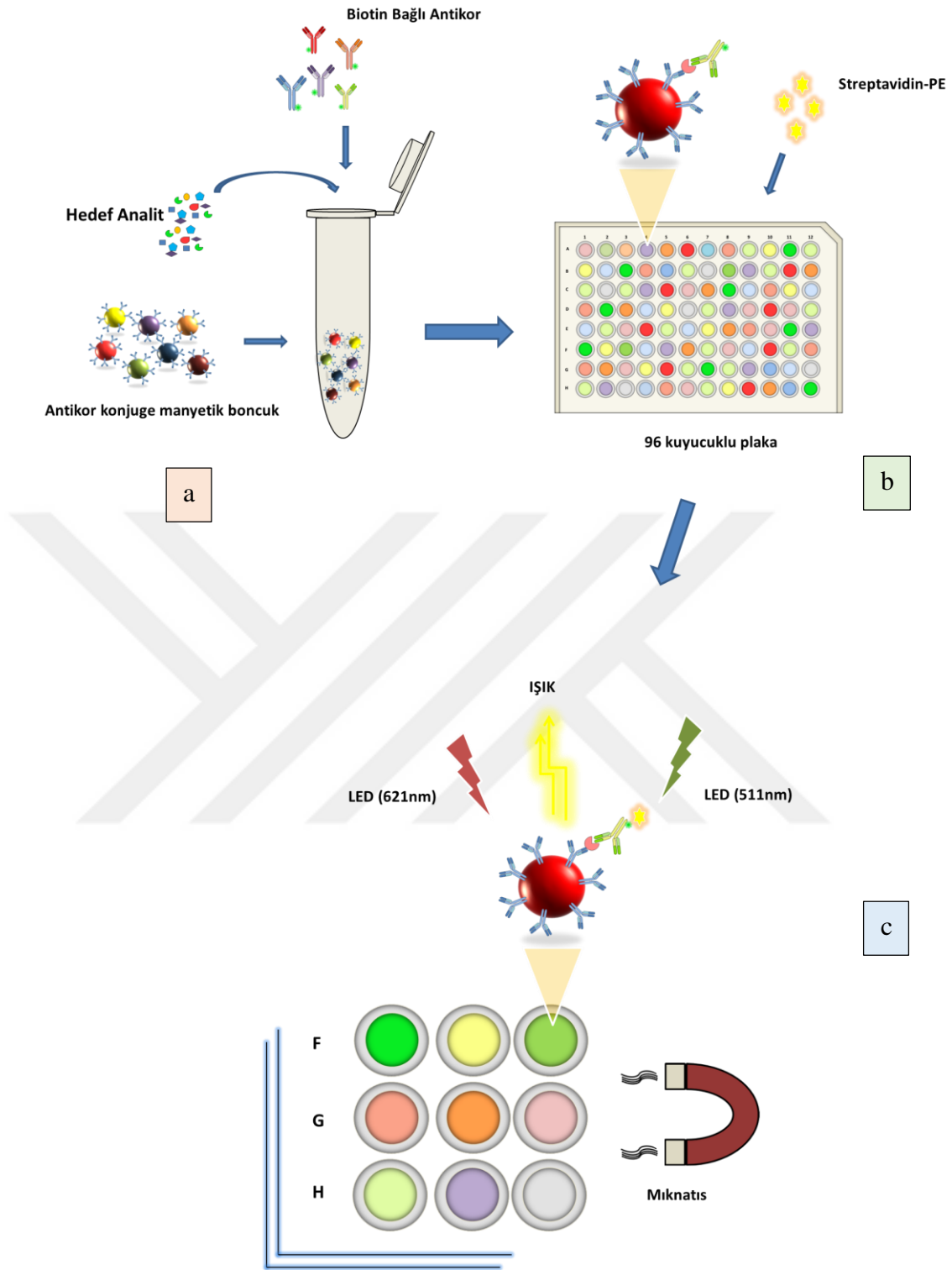
3.2.1. Hasta Kan Örneklerinden Serum Eldesi

Bu çalışmada olgulara ek olarak özel bir tetkik ya da müdahale yapılmamıştır. Çalışmada kullanılan tüm hasta serum örnekleri önceden Etik Kurul onayı alınmış (5 Ağustos 2014, 14-7/10) diğer çalışmanın yedek kanlarıdır. Önceki çalışmada kanlar, tüm hastalardan aç karnına, sabah 09:00-11:00 saatleri arasında alınarak serum eldesinden sonra alikotlanmış ve derin dondurucuda -80 C'de saklanmıştır.

3.2.2. Multipleks Assay (Luminex) Yöntemi ile Serum İnflamatuvar Biyobelirteçlerinin Ölçümü

Luminex testi, küçük örnek hacmi gerektiren çalışmalarda tek bir testte birden fazla farklı belirteci aynı anda ölçme kapasitesi nedeniyle son yıllarda önemli bir yöntem olarak kullanılmaya başlanmıştır. Böylece ELISA yöntemindeki gibi tek tek molekül ölçümü yerine çoklu molekül ölçümü mümkün kılınmıştır (Tighe, Negm, Todd, ve Fairclough, 2013). Bu yöntem, içerisinde kırmızı veya kızılötesi floresan boya ile boyanmış bir karışım ile hazırlanmış yüzlerce özel mikrometre ölçekli plastik boncuk (mikroküreler) kullanarak moleküllerin hızlı ve doğru ölçümlerini mümkün kılar (Tighe ve ark., 2013). Boncukların içerisinde bulunan birbirinden farklı yüzlerce floresan boya profilleri her bir numunenin sınıflandırılmasında ve ifadesinde kullanılmaktadır (Şekil 3.). Luminex assay ile analitlerin ölçümü, akış sitometrisi temelli cihazların modifiye edilmesiyle oluşturulan cihazlarla elde edilmektedir (DuPont, Wang, Wadhwa, Culhane, ve Nelson, 2005).

Çalışmamızda hasta serum örneklerinden CCL2/MCP-1 (BR25), IL-6 (BR13), IL-10 (BR22), TNF- α (BR12) ve Hs-CRP (BR62) biyobelirteçlerinin tespiti Luminex Human Magnetic Assay kiti ile yapıldı. Okumada MAGPIX Luminex cihaz kullanılarak Milliplex Analyst programı aracılığıyla değerler tespit edildi.



Şekil 3. Manyetik boncuklarla yapılan Luminex Assay yöntemi. **a)** Antikor bağlı manyetik boncuk, hedef analit ve biotin bağlı antikor karışımı. **b)** Biotin-antikor-manyetik boncuk içeren 96 kuyucuklu plakaya Streptavidin-PE eklenmesi. **c)** Luminex cihazı ile 96 kuyucuklu plakanın okunması. (Şekil, Microsoft Office yazılım programları kullanılarak çizilmiştir.)

3.2.2.1. Serum Örneklerinin Hazırlanması

Çalışmanın laboratuvar analizi kısmında, -80°C ' de saklanan yedek serum örnekleri çözdürülerek, 16 000g'de 4 dk santrifüj edildi. Ardından her bir serum örneği 2 kat seyreltildi.

Dilüsyon;

- 75 μL numune üzerine 75 μL Kalibratör Seyreltici (kit içerisinde çıkan RD6-52) eklenmesi ile gerçekleştirildi.

3.2.2.2. Reaktiflerin Hazırlanması

Reaktifler hazırlanmadan önce her bir reaktif oda sıcaklığına getirildi ve kit içerisindeki kılavuza göre reaktif hazırlığı yürütüldü.

3.2.2.2.1. Yıkama Tamponunun Hazırlanması

Yıkama tamponu hazırlanırken, beklemeden kaynaklı olası kristal yapıların tamamen çözünmesi için 25X konsantre yıkama tamponu oda ısısında yavaşça karıştırıldı.

Ardından 500 mL yıkama tamponu hazırlamak için;

- 480 mL distile suya + 20 mL konsantre yıkama tamponundan eklendi.

3.2.2.2.2. Standartların hazırlanması

Standartlar, kit içerisinde çıkan Kalibratör Diluent RD6-52 ile seçilen analitlere bağlı olarak değişen Standart Kokteyller (A-Z, 1-7) dilüe edilerek oluşturuldu.

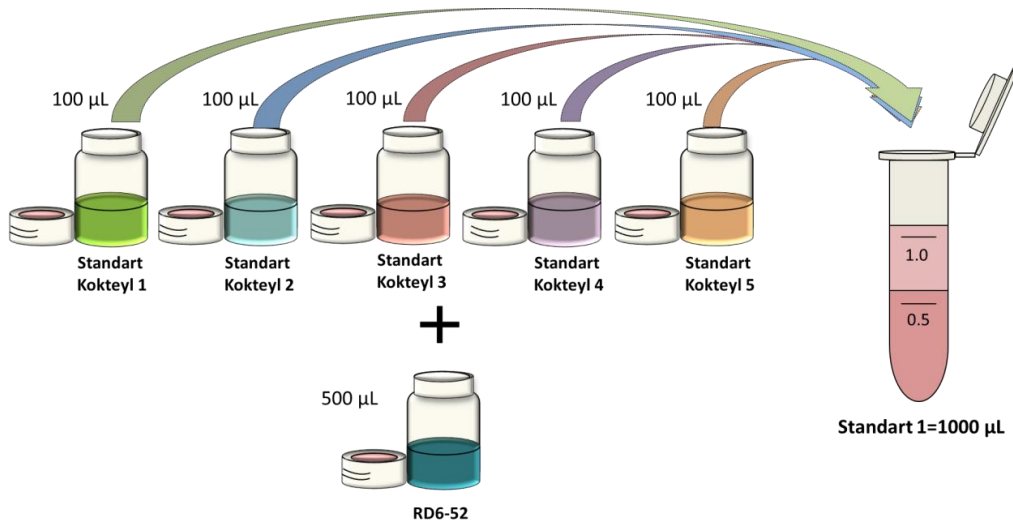
Standartların oluşturulmasında izlenen işlem basamakları **Tablo.3.** ve **Şekil.4.**'de verilmiştir.

- Standart 1'in oluşturulması için, 1 adet polipropilen tüp içerisine kullanılan her bir özgün standart kokteylinde (5 adet) 100 μL eklendi
- Kalibratör dilüent RD6-52'den 500 μL eklenerek son hacim 1000 μL 'ye tamamlandı

Tablo 3. Standart kokteyl ve RD6-52 kullanılarak standart 1 solüsyonunun hazırlanması

Sağlanan Özgün Standart Kokteyl Sayısı	Standart 1 Tüpüne Eklenecek Standart Kokteyl Hacmi	Eklenen Kalibratör Diluent Hacmi	Standart 1 Toplam Hacmi
1	100 µL	900 µL	1000 µL
2	Her biri 100 µL	800 µL	1000 µL
3	Her biri 100 µL	700 µL	1000 µL
4	Her biri 100 µL	600 µL	1000 µL
5	Her biri 100 µL	500 µL	1000 µL
6	Her biri 100 µL	400 µL	1000 µL
7	Her biri 100 µL	300 µL	1000 µL
8	Her biri 100 µL	200 µL	1000 µL
9	Her biri 100 µL	100 µL	1000 µL
10	Her biri 100 µL	0 µL	1000 µL

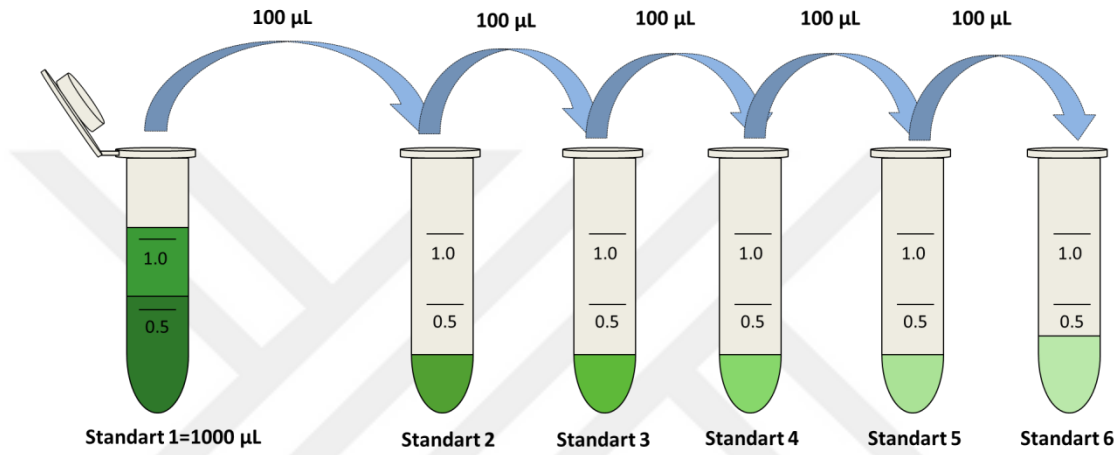
Standart kokteyl seçimi CCL2/MCP-1 (BR25), IL-6 (BR13), IL-10 (BR22), Hs-CRP (BR62), TNF-α (BR12) inflamatuvar biyobelirteçleri temel alınarak oluşturuldu.



Şekil 4. Standart 1'in hazırlanması. Birbirinden farklı 5 adet standart kokteyl (CCL2/MCP-1 (BR25), IL-6 (BR13), IL-10 (BR22), Hs-CRP (BR62), TNF-α (BR12))' in her birinden 100 µL alınarak, standart 1'in toplam hacmi 1000 µL olacak şekilde 500 µL kalibratör diluent eklendi.

Standart 1 oluşturulduktan sonra diğer standartların hazırlanması için 2'den 6'ya kadar etiketlenen 5 adet 1.5ml'lik polipropilen tüp içerisine her bir standart için;

- 200 µL Kalibratör Seyreltici RD6-52 pipetlendi (3 kat seyreltme yapıldı).
- Daha sonra her bir tüpten diğerine 100 µL aktarılarak, standartlar oluşturuldu. (2'den 6'ya kadar)
- Çalışmada RD6-52 kör (blank) olarak kullanıldı (Şekil 5.).



Şekil 5. Standart 1'den diğer standartların hazırlanması (Standart 1:RD6-52 3 kat seyreltme)

3.2.2.2.3. Seyreltik Manyetik Boncuk Kokteylin Hazırlanması

Manyetik boncuk kokteylini seyreltme işlemi sırasında manyetik boncukların ışık ile temastan korunması esas alındı.

İşlem basamakları aşağıdaki şekilde uygulandı:

- İlk olarak manyetik boncuk kokteyli santrifüj cihazında 1 000xg'de 30 saniye santrifüjlendi.
- Santrifüj sonrasında manyetik boncuklar tekrar çözünene kadar yavaş ve dikkatli bir şekilde vortekslendi.
- Seyreltme işlemi için kit içerisinde bulunan Dilüent RD2-1 (Diluent RD2-1) kullanarak, 96 kuyucuklu plak için; 500 µL manyetik boncuk kokteyli ve 5 mL Diluent RD2-1 kullanıldı.

3.2.2.2.4. Seyreltik BIOTIN-Antikor Kokteylinin Hazırlanması

Seyreltme işlem basamakları;

- BIOTIN-Antikor Kokteyli santrifüj cihazında 1 000xg'de 30 saniye santrifüjlendi.
- Santrifüj sonrası oluşan pelletin tekrar çözünmesi için yavaş ve dikkatli bir şekilde vorteks yapıldı.
- Seyreltme işlemi yapılırken kit içerisinde bulunan Dilüent RD2-1 kullanıldı.
- 96 kuyucuklu plak için seyreltme işlemi; 500 µL Biotin-antikor kokteyli üzerine 5 mL Dilüent RD2-1 eklenerek yapıldı.

3.2.2.2.5. Streptavidin-PE Hazırlanması

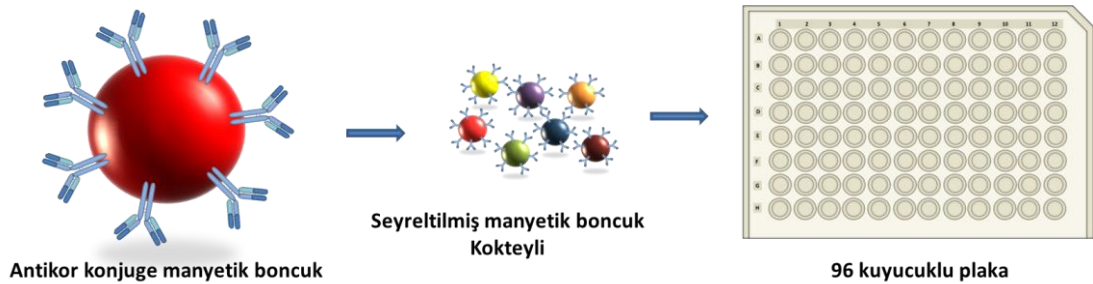
Streptavidin-PE hazırlanırken ışıkla temasını engellemek için her bir polipropilen tüp alüminyum folyo ile sarıldı. Streptavidin-PE hazırlanırken aşağıdaki işlem basamakları uygulandı:

- Öncelikle kit içerisinde çıkan Streptavidin-PE santrifüj cihazında 1.000xg'de 30 saniye santrifüjlendi.
- Santrifüj sonrası oluşan pelletin tekrar çözünmesi için flakon yavaş ve dikkatli bir şekilde vortekslendi.
- Pellet iyice çözüldükten sonra üzerine Yıkama Tamponu eklenerek Streptavidin-PE seyreltildi.
- 96 kuyucuklu plak için seyreltme miktarı; 220 µL Streptavidin-PE + 5.35 mL yıkama tamponu eklenerek gerçekleştirildi.

3.2.2.3. Luminex Assay İşlem Basamakları

Luminex Assay işlem basamakları uygulanmadan önce tüm reaktifler ve örnekler oda sıcaklığına getirildi. Manyetik boncukların ve Streptavidin-PE'nin ışık ile temas etmemesine dikkat edilerek aşağıdaki işlem basamakları uygulandı.

- Tüm reaktifler, standartlar ve örnekler yukarıdaki bölümlerde anlatıldığı şekilde hazırlandı.
- 96 kuyucuklu plakta her bir kuyucuğa 50 µL olacak şekilde standart (standart 1-6), numune ve kör eklendi.
- Seyreltilmiş Manyetik Boncuk Kokteyli tüp dibinde bekleme sonrası oluşabilecek çökelmeye karşı vorteksenerek tekrar süspansiyon haline getirildi.
- Vorteks sonrasında mikropiğin herbir kuyucuğuna 50 µL manyetik boncuk kokteyli eklendi ve plak kapatıcı ile mikropiğin üzeri hiçbir hava boşluğu olmayacak şekilde dikkatlice kapatıldı (**Şekil 6.**).
- 96 kuyucuklu mikropiğlak daha önceden 800 ± 50 rpm'e ayarlanmış yatay orbital mikropiğlak çalkalayıcı (0.12 "orbit) üzerinde oda sıcaklığında 2 saat inkübe edildi.

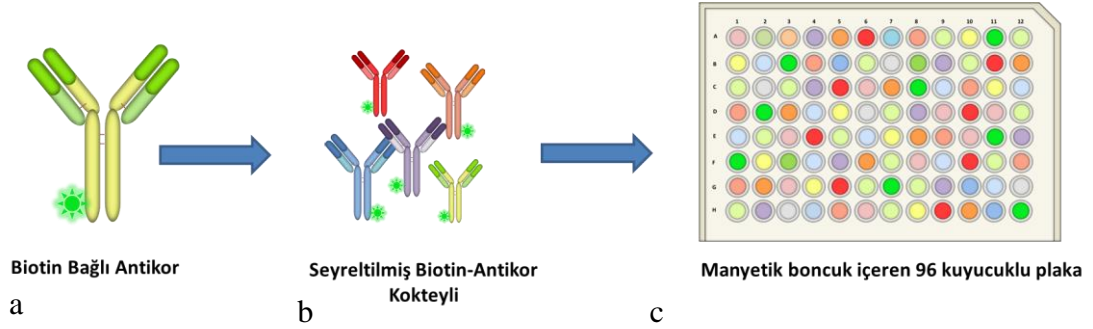


Şekil 6. Seyreltilmiş antikor bağılı Manyetik Boncuk Kokteylinin 96 kuyucuklu piğa yüklenmesi. Yükleme sonrasında mikropiğın üstü hava kabarcığı olmayacak şekilde piğlak kapatıcı ile kapatıldı.

- İnkübasyon sonrasında, 96 kuyucuklu mikropiğlak yıkama işlemi için mikropiğlağı uyumlu manyetik alete yerleştirildi ve 1 dakika bekletildi.
- Ardından her bir kuyucuğa Yıkama Tamponundan 100 µL eklenerek, sıvının kuyucuklardan düzgün bir şekilde boşaltılması için 1 dakika bekletildi.

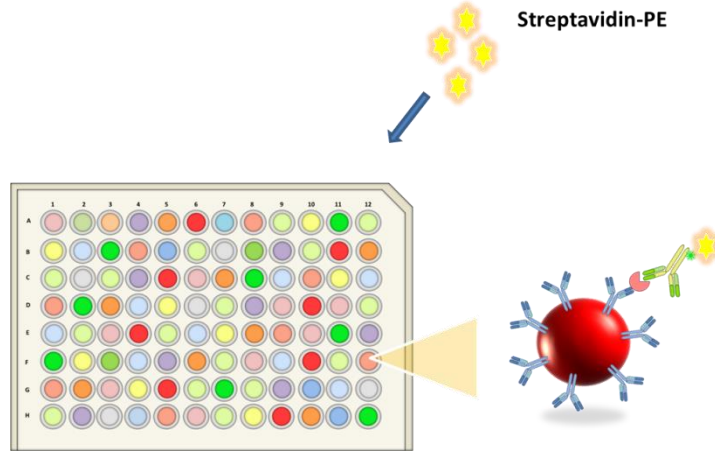
Bekleme sonrası sıvının tamamen boşaltılması sağlandı. Yıkama işlemi üç kez tekrar edildi.

- Yıkama sonrası her kuyucuğa 50 µL seyreltilmiş Biotin-Antikor Kokteyli eklendi (Şekil 7.).



Şekil 7. Seyreltilmiş Biotin-Antikor Kokteylinin manyetik boncuk içeren 96 kuyucuklu plağa ekimi. **a)** Biotin bağlı antikorlar. **b)** Seyreltilmiş biotin-antikor kokteyli **c)** Manyetik boncuk içeren mikroplak.

- Biotin-antikor kokteyli mikroplağa yüklendikten sonra plak kapayıcı ile hava boşluğu kalmayacak şekilde tamamen kapatıldı. Mikroplak çalkalayıcıya yerleştirilerek 800 ± 50 rpm'de oda sıcaklığında 1 saat inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrasında, 96 kuyucuklu mikroplak yıkama işlemi için mikroplağa uyumlu manyetik alete yerleştirildi ve 1 dakika bekletildi. Ardından her bir kuyucuğa Yıkama Tamponundan 100 µL eklenerek, sıvının kuyucuklardan düzgün bir şekilde boşaltılması için 1 dakika bekletildi. Bekleme sonrası sıvının tamamen boşaltılması sağlandı. Yıkama işlemi üç kez tekrar edildi.
- Bu yıkama işlemi sonrasında, her bir kuyucuğa 50 µL önceden dilüe edilen Streptavidin-PE Kokteyli eklendi (Şekil 8.).



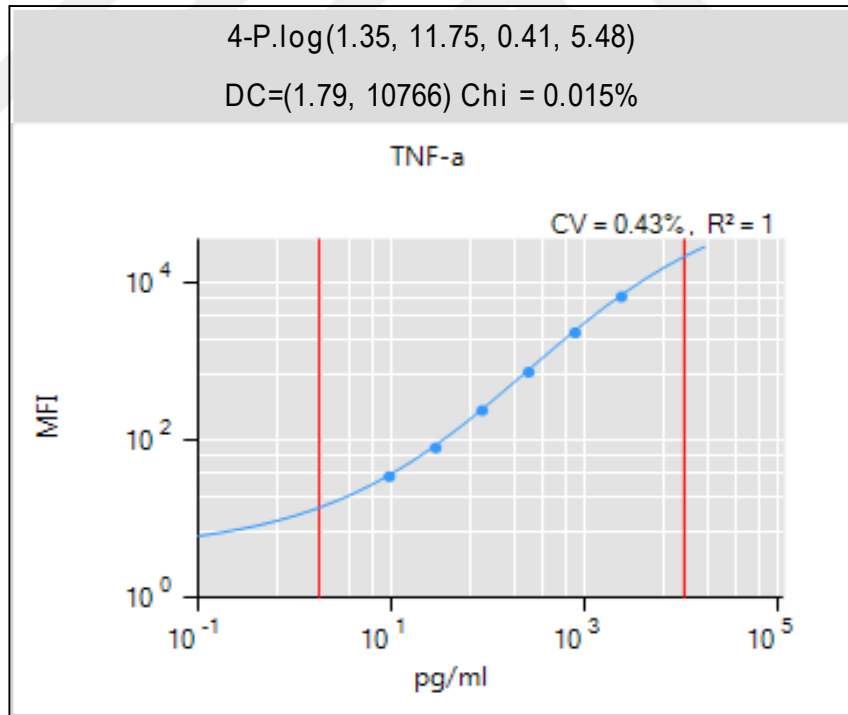
Şekil 8. Streptavidin-PE Kokteylinin eklenmesi.

- Plak bir plak kapayıcı ile güvenli bir şekilde kapatıldı ve mikroplak çalkalayıcının üzerinde 800 ± 50 rpm'de oda sıcaklığında 30 dk inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrasında, 96 kuyucuklu mikroplak yıkama işlemi için mikroplağa uyumlu manyetik alete yerleştirildi ve 1 dakika bekletildi. Ardından her bir kuyucuğa Yıkama Tamponundan $100 \mu\text{L}$ eklenerek, sıvının kuyucuklardan düzgün bir şekilde boşaltılması için 1 dakika bekletildi. Bekleme sonrası sıvının tamamen boşaltılması sağlandı. Yıkama işlemi üç kez tekrar edildi.
- Herbir kuyucuğa $100 \mu\text{L}$ Yıkama Tamponu eklenerek manyetik boncuklar tekrar çözelti haline getirildi.
- Mikroplak çalkalayıcıda 800 ± 50 rpm'de 2 dakika inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrası MAGPIX Luminex cihazı ile plak 90 dakika süreyi geçmeyecek şekilde okutuldu.
- Sonuçlar MILLIPIX Analyst programı ile hesaplandı.

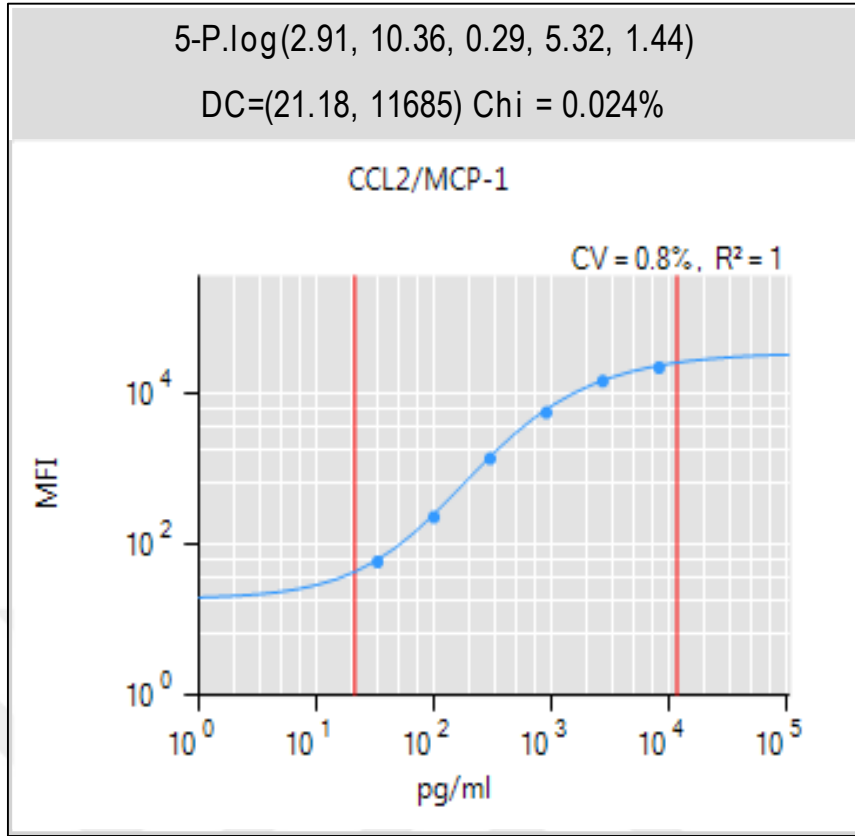
3.2.2.5. LuminexAssay Hesaplamaları

Analiz Sertifikasındaki Standart konsantrasyonları kullanılarak dilüsyon miktarları hesaplandı. Standart (her bir standart için dilüsyon katsayısı 1:3) ve örnekler (her bir analit için örneklerde dilüsyon katsayısı 1:2) için çift okuma yapıldı. Her plakta 6 standart nokta ve kör Medyan Floresan Yoğunluğu (MFI) ortalamalardan çıkarıldı. Milliplex Analyst yazılımı kullanılarak Coefficient of variation (%CV) değeri hesaplandı ve standart eğri grafikleri oluşturuldu.

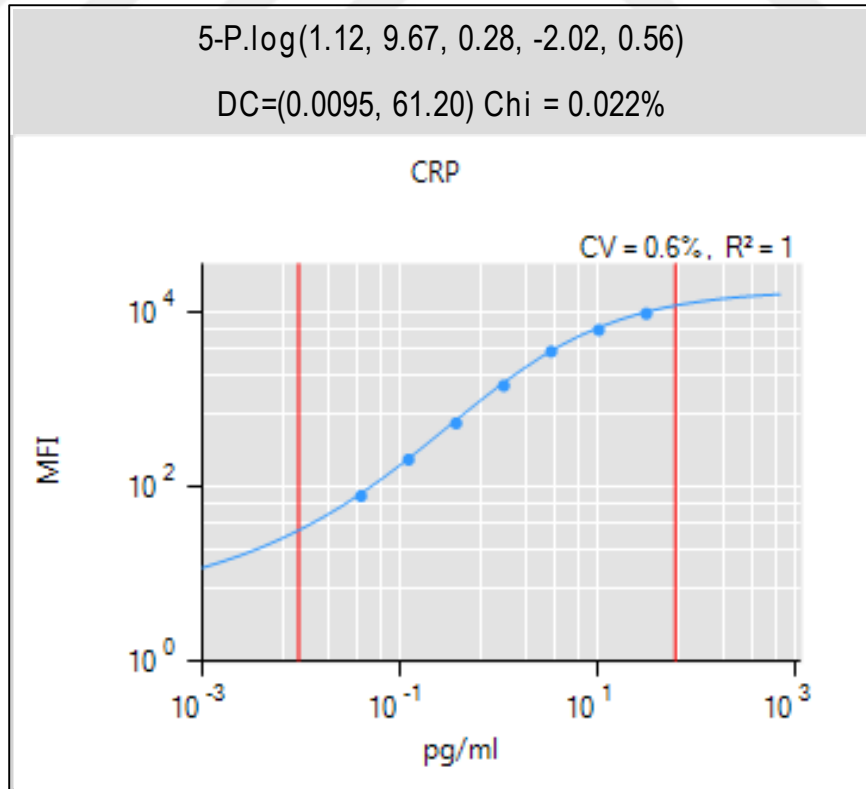
%CV ve %Chi değerleri hesaplandıktan sonra, pg/ml konsantrasyon değerine karşılık MFI standart eğri grafikleri oluşturuldu (Şekil 9-13). MAÜ varlığı ve yokluğunda Tıp2DM'li hastalarda inflamatuvar biyobelirteç düzeyleri birlikte değerlendirildi. TNF- α (%CV= 0,43; %Chi=0,015), CCL2/MCP1 (%CV= 0,8; %Chi=0,024) ve Hs-CRP (%CV= 0,6; %Chi=0,022) düzeylerinin, IL-6 (%CV= 0,0; %Chi=0,0) ve IL-10 (%CV= 0,0; %Chi=0,0) ile karşılaştırıldığında pg/ml'de miktarlarının logaritmik olarak arttığı görülmektedir.



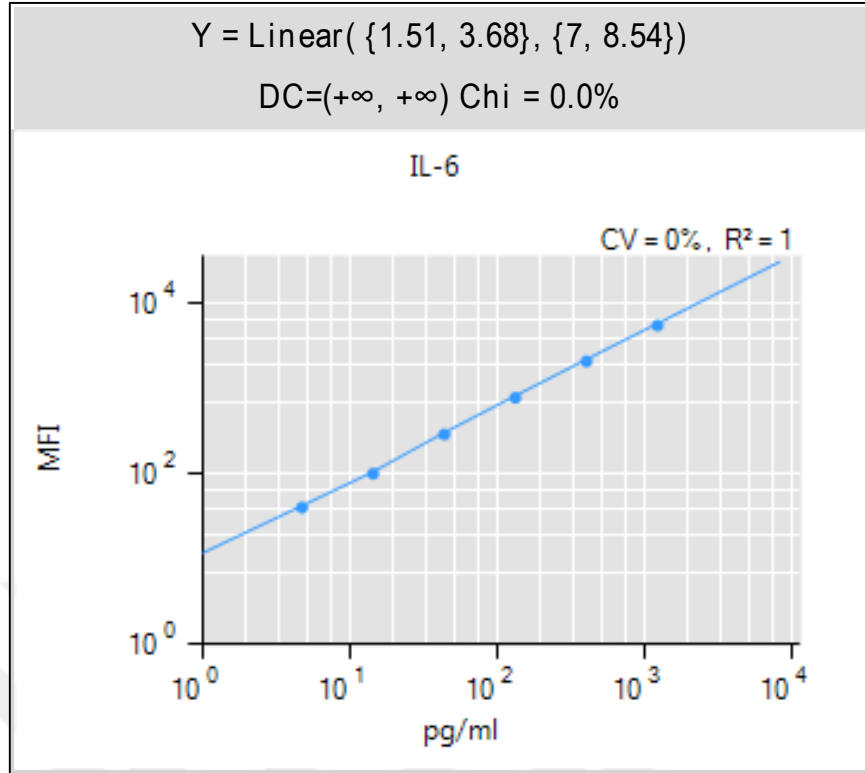
Şekil 9. TNF- α Luminex analizi standart eğri grafiği



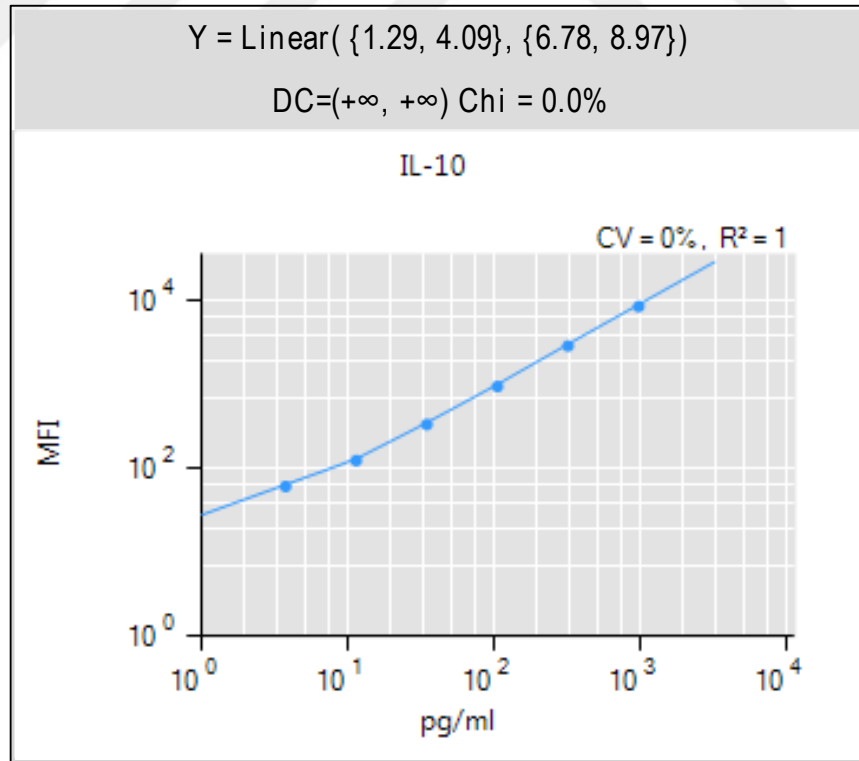
Şekil 10. CCL2/MCP1 Luminex analizinin standart eğri grafiği



Şekil 11. Hs-CRP Luminex analizi standart eğri grafiği



Şekil 12. IL-6 Luminex analizinin standart eğri grafiği



Şekil 13. IL-10 Luminex analizinin standart eğri grafiği

3.2.3. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel veri analizi “*SPSS statistics 21.0*” programı ile gerçekleştirildi. Sayısal değişkenlerin dağılımı kontrol edilerek, gruplar arasındaki farklar, Student t testi ile analiz edildi. Örnekler arasındaki korelasyon ilişkisi Pearson’ s korelasyon katsayısı ile test edildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi 0,05’den küçük p değeri olarak kabul edildi.



BULGULAR

Bu çalışma önemli ve yaygın bir sağlık sorunu olan Tip2DM'da mikro ve makro vasküler komplikasyonların patofizyolojisinin anlaşılmasına katkı sağlamak amacıyla planlanmıştır. Bu amaçla, DN belirteci olarak kullanılan MAÜ ile inflamatuvar ve aterosklerotik bir belirteç paneli ve ABI arasındaki ilişki araştırılmıştır. Çalışma kapsamında, Tip2DM tanısı almış olan 40 MAÜ'lü (20 kadın ve 20 erkek hasta) ve 40 MAÜ'süz (21 kadın ve 19 erkek hasta) olmak üzere toplamda 80 hasta serum örneği ile çalışılmıştır. Her bir hastada kardiyometabolik belirteçler olan açlık kan şekeri (AKŞ), tokluk kan şekeri (TKŞ), Hemogloblin A1c-HbA1c, total kolesterol (Tkol), yüksek densiteli kolesterol (HDL), düşük densiteli kolesterol (LDL) ve trigliserid miktarları, ABI ve inflamatuvar biyobelirteçlerin düzeyleri ölçülmüş ve aralarındaki ilişki değerlendirilmiştir.

Tablo 4. MAÜ'lü ve MAÜ'süz DM hastalarına ait demografik ve klinik veri tablosu.

Değişkenler	MAÜ yok (n=40)	MAÜ var (n=40)
Cinsiyet*		
Kadın	52,50%	50%
Erkek	47,50%	50%
Yaş#	52,98±6,1	53,98±6,0
Boy#	1,68±0,1	1,66±0,7
Kilo#	83,55±11,5	84,93±21,9
Sigara*		
İçmiyor	65%	70%
Bırakmış	7,50%	7,50%
İçiyor	27,50%	22,50%
Alkol*		
İçmiyor	90%	97,50%
İçiyor	7,50%	2,50%
Hipertansiyon (HT)*		
Yok	52,50%	37,50%
Var	47,50%	62,50%
Koroner Arter Hastalığı (KAH)*		
Yok	95%	70%
Var	5%	30%
HL*		
Yok	42,50%	30%
Var	57,50%	70%
Beden kitle indeksi (BKİ)# (kg/m ²)	29,62±3,9	30,8±8,5
Diabet süresi#	91,75±76	144±108,7
Medikasyon*		
Oral Anti-Diyabetik (OAD)	62,50%	47,50%
İnsülin	10%	5%
OAD+insülin	27,50%	47,50%
Açlık Kan Şekeri (AKŞ)# (mg/dl)	145,78±60,9	156,83±65,7
Tokluk Kan Şekeri (TKŞ)# (mg/dl)	198,03±77,6	212,23±84,0
Hemogloblin A1c-HbA1c# (mmol/mol)	7,46±1,8	8,235±2,5
Total Kolesterol (Tkol)# (mg/dl)	201,5±45,4	209,3±61,8
Trigliserid (TG)# (mg/dl)	201,93± 136,6	209,98± 145,3
Yüksek Densiteli Kolesterol (HDL)# (mg/dl)	45,10±8,7	43,48±11,8
Düşük Densiteli Kolesterol (LDL)# (mg/dl)	118,35±38,2	128,65±53,7
Ayak Bileği-Kol İndeksi (ABI)# (cm/s)	1,12±0,1	1,14±0,2
İdrar Mikroalbumin/Kreatinin (MA/Kr)	9.04±5.6	380.71±1000.46

*Yüzde (%) değerleri.

Ortalama ve standart sapma değerleri

4.1. Luminex Veri Sonuçları

MAÜ'lü ve MAÜ'süz Tip2DM'li hastalarda Luminex çalışmasıyla ölçülen inflamatuvar biyobelirteç düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık olup olmadığı “independent t test” ile değerlendirildi. İstatistiksel analiz sonrasında, Tip2DM'li hastalarda MAÜ olan ve olmayan gruplar karşılaştırıldığında inflamatuvar biyobelirteçlerin düzeylerinde anlamlı bir fark olmadığı ($p>0,05$, $n=40$) gözlemlendi (Tablo 5 ve Grafik1).

Tablo 5. “Independent t test” veri analiz sonuçları. MAÜ'lü ve MAÜ'süz olgulara ait inflamatuvar biyobelirteçleri kıyaslandığında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

- Tüm parametrelerin birimleri pg/mL'dir.

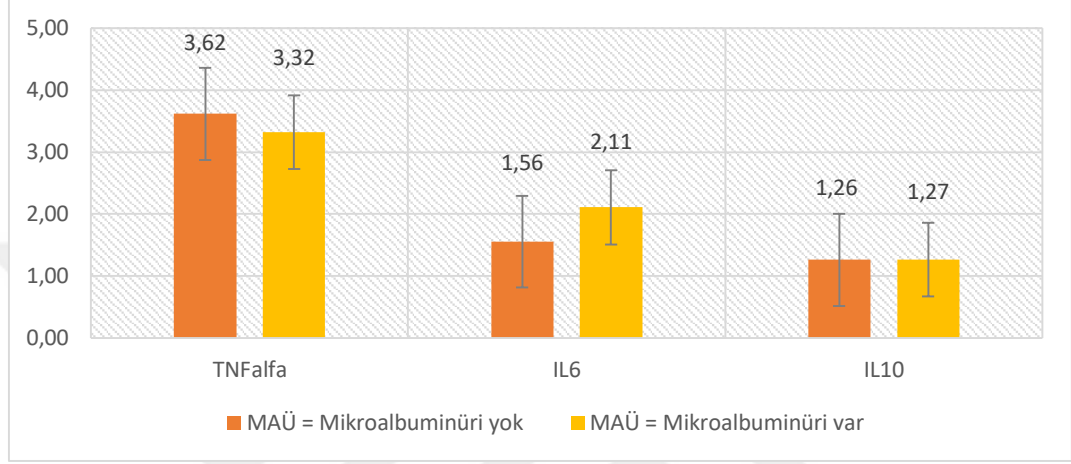
		n	Mean*	Std. Deviation	Std. Error Mean	Sig. (2-tailed)
IL-6	MAÜ'süz	40	1,5576	,50715	,08019	,100
	MAÜ'lü	40	2,1089	2,01530	,31865	
IL-10	MAÜ'süz	40	1,2618	,15905	,02515	,965
	MAÜ'lü	40	1,2650	,43941	,06948	
TNF- α	MAÜ'süz	40	3,6166	2,03305	,32145	,460
	MAÜ'lü	40	3,3187	1,51994	,24032	
Hs-CRP	MAÜ'süz	40	48,8518	9,56147	1,51180	,722
	MAÜ'lü	40	49,5491	7,82715	1,23758	
MCP-1	MAÜ'süz	40	253,0496	188,45794	29,79782	,576
	MAÜ'lü	40	232,5147	134,09477	21,20225	

$p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Homojen dağılım için $p>0,05$ değeri homojen dağılım olarak kabul edildi.

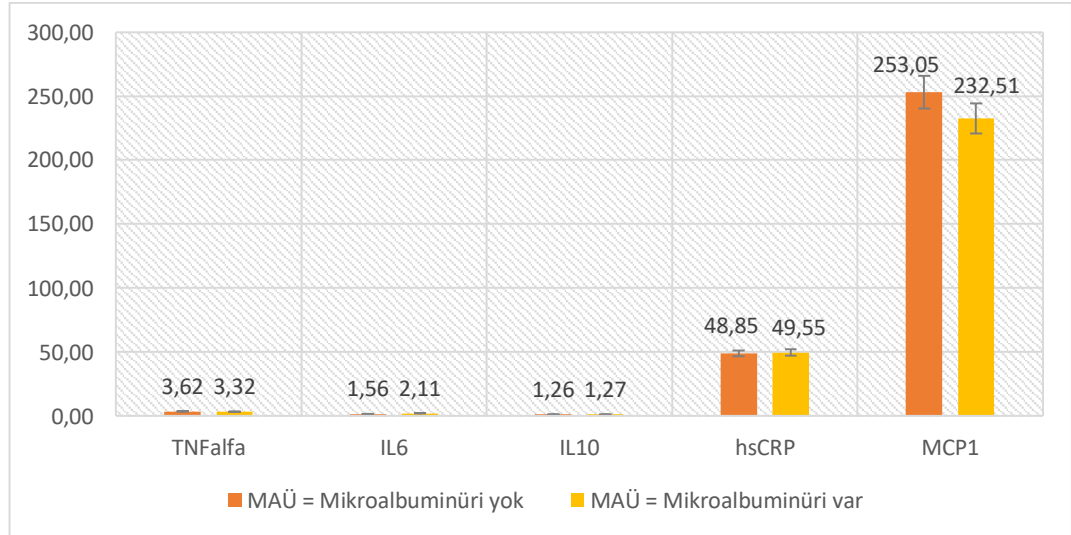
MAÜ'lü ve MAÜ'süz hastalarda inflamatuvar belirteçlere ait ortalama değerler karşılaştırıldığında iki grup arasında ortalama değer bakımından anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (**Grafik 1 ve Grafik 2**).

Grafik 1. MAÜ'lü ve MAÜ'süz hastalarda IL-10,IL-6 ve TNF- α inflamatuvar biyobelirteçlerin ortalamalarının karşılaştırılması.

- Tüm parametrelerin birimleri pg/mL'dir.

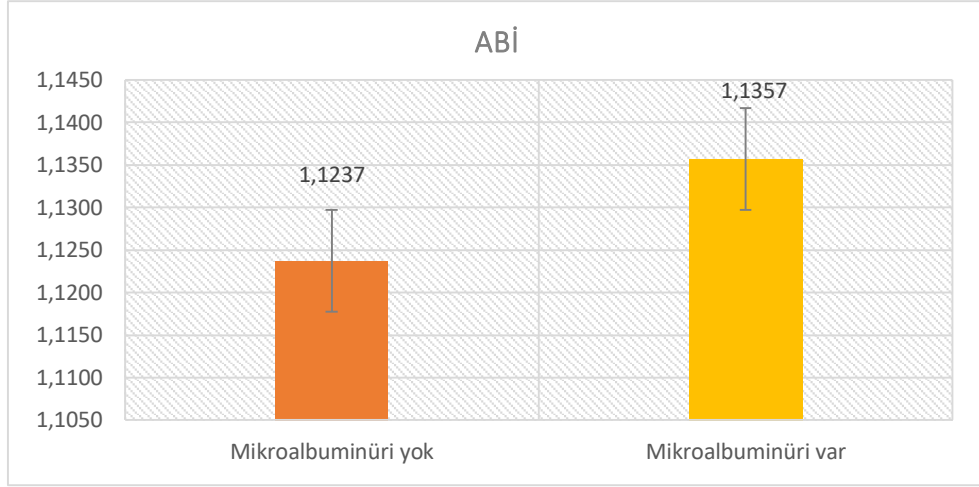


Grafik 2. MAÜ'lü ve MAÜ'süz hastalarda IL-10, IL-6, TNF- α , Hs-CRP ve MCP-1 inflamatuvar biyobelirteçlerin ortalamalarının karşılaştırılması.



Her iki grupta ABI ortalamalarına bakıldığında ABI değerleri 0.9-1.3 aralığında ve normal değerlerdedir. MAÜ olan ve olmayan gruplar arasında anlamlı bir fark yoktur. (**Grafik 3**).

Grafik 3. MAÜ'lü ve MAÜ'süz hastalarda ABI ortalamalarının karşılaştırılması.



MAÜ'lü ve MAÜ'süz Tip2DM hastalarında inflamatuvar biyobelirteçler, ABI, BKİ, hsCRP, Tkol, TG, HDL ve LDL arasındaki korelasyon ilişkisi "Pearson Correlation" analizi ile değerlendirildi.

MAÜ'süz Tip2DM hastalarında korelasyon analizi sonuçları değerlendirildiğinde;

- TNF- α ile diğer inflamatuvar belirteçler olan IL-6 ($p=0,023$, $r=0,359$) arasında düşük pozitif, IL-10 ($p=0,000$, $r=0,698$), MCP1 ($p=0,000$, $r=0,914$) arasında pozitif korelasyon,
- IL-6 ile MCP1 ($p=0,016$, $r=0,379$) arasında düşük pozitif korelasyon,
- IL-10 ile MCP1 ($p=0,000$, $r=0,629$) arasında pozitif korelasyon,
- MCP1 ile Tkol ($p=0,040$, $r=0,326$) arasında düşük pozitif korelasyon bulunduğu saptandı.
- Bunlara ek olarak Hs-CRP, ABI ve BKİ değerleri ile inflamatuvar belirteçler ve kardiyometabolik belirteçler arasında bir ilişkinin olmadığı bulundu ($p>0,05$).

MAÜ'süz hastalarda inflamatuvar biyobelirteçler olan IL-6, IL-10, MCP-1 ve TNF- α ile kardiyometabolik belirteçler olan Tkol, TG ve LDL arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. MAÜ'süz hastalarda ayrıca aterosklerozda belirleyici faktör olan ABI ile inflamatuvar biyobelirteçler ve kardiyometabolik belirteçler arasında da anlamlı bir ilişkinin bulunmadığı gözlenmiştir (**Tablo 6**).

Tablo 6. MAÜ'süz Tip2DM hastalarında korelasyon analizi sonuçları

		TNF- α	IL6	IL10	MCP1	ABI	BKİ	hsCRP	Tkol	TG	HDL	LDL
TNF-α	Pearson Correlation	1	,359*	,698**	,914**	,107	-,062	,104	,219	,118	,028	,145
	Sig. (2-tailed)		,023	,000	,000	,510	,702	,523	,174	,470	,864	,374
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
IL6	Pearson Correlation	,359*	1	,151	,379*	-,223	,157	,147	,201	,126	,147	,128
	Sig. (2-tailed)		,023	,353	,016	,166	,334	,366	,214	,440	,364	,432
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
IL10	Pearson Correlation	,698**	,151	1	,629**	,079	-,051	,068	,081	,133	-,091	,019
	Sig. (2-tailed)		,000	,353	,000	,628	,754	,675	,620	,413	,577	,906
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
MCP1	Pearson Correlation	,914**	,379*	,629**	1	,055	-,008	,191	,326*	,192	-,029	,255
	Sig. (2-tailed)		,000	,016	,000	,735	,960	,239	,040	,236	,859	,112
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
ABI	Pearson Correlation	,107	-,223	,079	,055	1	-,029	,015	-,204	-,242	-,103	-,119
	Sig. (2-tailed)		,510	,166	,628	,735	,857	,926	,207	,132	,526	,464
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
BKİ	Pearson Correlation	-,062	,157	-,051	-,008	-,029	1	,189	,234	,164	,239	,157
	Sig. (2-tailed)		,702	,334	,754	,960	,857	,244	,146	,311	,138	,332
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
hsCRP	Pearson Correlation	,104	,147	,068	,191	,015	,189	1	,039	,091	,156	-,070
	Sig. (2-tailed)		,523	,366	,675	,239	,926	,244	,812	,576	,335	,668
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
Tkol	Pearson Correlation	,219	,201	,081	,326*	-,204	,234	,039	1	,472**	,055	,908**
	Sig. (2-tailed)		,174	,214	,620	,040	,207	,146	,812	,002	,735	,000
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
TG	Pearson Correlation	,118	,126	,133	,192	-,242	,164	,091	,472**	1	-,471**	,149
	Sig. (2-tailed)		,470	,440	,413	,236	,132	,311	,576	,002	,002	,358
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
HDL	Pearson Correlation	,028	,147	-,091	-,029	-,103	,239	,156	,055	-,471**	1	,099
	Sig. (2-tailed)		,864	,364	,577	,859	,526	,138	,335	,735	,002	,545
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
LDL	Pearson Correlation	,145	,128	,019	,255	-,119	,157	-,070	,908**	,149	,099	1
	Sig. (2-tailed)		,374	,432	,906	,112	,464	,332	,668	,000	,358	,545
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40

*Yeşil renkle işaretli değerler $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

MAÜ'lü Tip2DM hastalarında korelasyon analizi sonuçları değerlendirildiğinde ($p<0.05$) (**Tablo 7**);

- TNF- α ile diğer inflamatuvar belirteçler olan IL-6 ($p=0,000$, $r=0,637$), IL-10 ($p=0,000$, $r=0,538$), MCP1 ($p=0,000$, $r=0,611$) ve kardiyometabolik belirteçler olan Tkol ($p=0,001$, $r=0,529$), TG ($p=0,007$, $r=0,544$), ve LDL ($p=0,004$, $r=0,534$) arasında pozitif korelasyon,
- IL-6 ile IL-10 ($p=0,008$, $r=0,416$), MCP1 ($p=0,000$, $r=0,529$), Tkol ($p=0,027$, $r=0,349$), TG ($p=0,026$, $r=0,353$) ve LDL ($p=0,021$, $r=0,363$) arasında pozitif korelasyon,
- IL-10 ile MCP1 ($p=0,000$, $r=0,577$), Tkol ($p=0,001$, $r=0,502$) ve LDL ($p=0,000$, $r=0,528$) arasında pozitif ve TG ($p=0,026$, $r=0,352$) arasında pozitif korelasyon,
- MCP1 ile Tkol ($p=0,000$, $r=0,627$), TG ($p=0,007$, $r=0,420$) ve LDL ($p=0,000$, $r=0,611$) arasında pozitif korelasyon bulunduğu gözlemlendi.
- Bunlara ek olarak Hs-CRP, ABI ve BKİ değerleri ile inflamatuvar belirteçler ve kardiyometabolik belirteçler arasında bir ilişkinin olmadığı bulundu ($p>0,05$).

MAÜ'lü hastalarda inflamatuvar biyobelirteçler olan IL-6, IL-10, MCP-1 ve TNF- α ile kardiyometabolik belirteçler olan Tkol, TG ve LDL arasında orta ya da güçlü korelasyon vardır. Belirtilen inflamatuvar biyobelirteç miktarları arttıkça kardiyometabolik belirteçler de anlamlı olarak artmaktadır. Bununla birlikte MAÜ'lü hastalarda aterosklerozda belirleyici faktör olan ABI ile inflamatuvar biyobelirteçler ve kardiyometabolik belirteçler arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Tablo 7. MAÜ'lü Tip2DM hastalarında korelasyon analizi sonuçları

		TNF- α	IL6	IL10	MCP1	ABI	BKİ	hsCRP	Tkol	TG	HDL	LDL
TNF-α	Pearson Correlation	1	.637	.538*	.611**	-,087	,214	,168	.529**	.544**	-,158	.534**
	Sig. (2-tailed)		.000	.000	.000	,594	,184	,301	.000	.000	,329	.000
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
IL6	Pearson Correlation	.637**	1	.416**	.529**	-,076	-,045	-,095	.349*	.353*	-,033	.363*
	Sig. (2-tailed)	.000		.008	.000	,640	,784	,562	.027	.026	,841	.021
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
IL10	Pearson Correlation	.538**	.416**	1	.577**	,059	-,078	,166	.502**	.352*	,172	.528**
	Sig. (2-tailed)	.000	.008		.000	,716	,631	,307	.001	.026	,288	.000
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
MCP1	Pearson Correlation	.611**	.529**	.577**	1	-,087	-,108	,032	.627**	.420**	,249	.611**
	Sig. (2-tailed)	.000	.000	.000		,595	,507	,846	.000	.007	,122	.000
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
ABI	Pearson Correlation	-,087	-,076	,059	-,087	1	-,088	,087	-,067	-,119	,060	-,062
	Sig. (2-tailed)	,594	,640	,716	,595		,588	,594	,680	,465	,713	,706
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
BKİ	Pearson Correlation	,214	-,045	-,078	-,108	-,088	1	-,058	-,028	,021	-,284	,012
	Sig. (2-tailed)	,184	,784	,631	,507	,588		,723	,864	,897	,076	,941
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
hsCRP	Pearson Correlation	,168	-,095	,166	,032	,087	-,058	1	,104	-,118	,079	,183
	Sig. (2-tailed)	,301	,562	,307	,846	,594	,723		,523	,467	,629	,259
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
Tkol	Pearson Correlation	.529**	.349*	.502**	.627**	-,067	-,028	,104	1	.561**	,305	.955**
	Sig. (2-tailed)	.000	.027	.001	.000	,680	,864	,523		.000	,055	.000
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
TG	Pearson Correlation	.544**	.353*	.352*	.420**	-,119	,021	-,118	.561**	1	-,216	.391*
	Sig. (2-tailed)	.000	.026	.026	.007	,465	,897	,467	.000		,180	.013
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
HDL	Pearson Correlation	-,158	-,033	,172	,249	,060	-,284	,079	,305	-,216	1	,264
	Sig. (2-tailed)	,329	,841	,288	,122	,713	,076	,629	,055	,180		,099
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
LDL	Pearson Correlation	.534**	.363*	.528**	.611**	-,062	,012	,183	.955**	.391*	,264	1
	Sig. (2-tailed)	.000	.021	.000	.000	,706	,941	,259	.000	,013	,099	
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40

*Yeşil renkle işaretli değerler $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

DM'lu hastalarda ABI ve DN korelasyon verileri değerlendirildiğinde, MAÜ varlığı gözlenen hastalarda inflamatuvar biyobelirteçler ile kardiyometabolik belirteçler arasında bir ilişki bulunmakta, fakat ABI ile aralarında anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır. MAÜ yokluğunda ise, DM'li hastalarda hem inflamatuvar biyobelirteçler ve kardiyometabolik belirteçler, hem de ABI arasında anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır.



TARTIŞMA

Tip2DM, tüm dünyada prevalansı sürekli artış gösteren kronik metabolik bir hastalık olup patogenezinde endotelial bozuklukla birlikte insülin direnci bulunur (Lin ve ark., 2006; Olokoba ve ark., 2012). Tip2DM'in mikrovasküler komplikasyonları nefropatiye ve makrovasküler komplikasyonları ise daha çok kardiovasküler hastalıklara neden olmaktadır. Tüm bunların en önemli etkeni diyabete bağlı gelişen aterosklerozdur (Dokken, 2008; Lin ve ark., 2006). Aterosklerozdan kaynaklanan inflamatuvar mikroçevre progresif olarak MAÜ'ye sebep olmaktadır (Aslan D., Girgin Sağın F, Şeneş M, 2016; Garg ve Bakris, 2002).

MAÜ, Tip 2DM'de son dönem böbrek hastalığının ortaya çıkmasında prediktif bir belirteçtir ve DN'nin en çok bilinen erken tanı göstergesidir (Lee ve Choi, 2014). Bununla birlikte son yıllarda MAÜ'nin bozulmuş vasküler yapıyı yansıttığı ve Tip2DM'li hastalarda böbrek hastalıklarına oranla daha çok kardiyovasküler durumları öngördüğü ileri sürülmektedir. Çok sayıda çalışma MAÜ'yü artıran kardiyovasküler morbidite ve mortalite ile ilişkilendirmektedir (Festa ve ark., 2000).

MAÜ'nün aterosklerotik süreçler gibi kronik inflamasyonla olan ilişkisini gösteren çalışmalar olmasına rağmen, DN ve kardiyovasküler hastalıklar için tek başına güvenilir bir belirteç olmadığı açıktır (Glassock, 2010; Lee ve Choi, 2014). Ayrıca son yıllarda giderek artan şekilde normoalbuminürik böbrek yetmezliği olgularının farkına varılması bu konuda MAÜ dışında biyobelirteçlere olan ihtiyacı arttırmaktadır. Sonuçta, Tip2DM'un komplikasyonları arasında görülen, patogenezinde inflamasyon ve aterosklerozun yer aldığı DN ve kardiyovasküler hastalıkların erken tanısında ya da riskli hastaların belirlenmesinde, sadece MAÜ seviyelerinin izlenmesi yeterli bulunmayıp başka biyobelirteçlerin araştırılmasına devam edilmektedir (MacIsaac ve Jerums, 2011).

Tip2DM'li hastalarda MAÜ ve diğer inflamatuvar biyobelirteçler arasında ilişki olduğunu ortaya koyan çalışmalar yayınlanmıştır (Currie ve ark., 2014; King ve ark., 1998; Lee ve Choi, 2014; Stehouwer ve ark., 2002). MAÜ'lü Tip2DM'li olgularda saptanan yüksek düzeylerdeki inflamatuvar belirteçler, MAÜ'lü olgularda varolan aterosklerozun ve/veya inflamasyonun bir yansıması olabilir. Diabet tanısı almamış olgularda bile MAÜ varlığının artmış kardiyovasküler morbidite ve mortaliteyle ilişkili

bulunması, MAÜ'nün aterosklerozla olan yakın ilişkisini göstermektedir (Festa ve ark. 2000).

Son yıllarda yaygın araştırmalara konu olan diğer proinflamatuvar ve proaterojenik sitokinler, Tip2DM'da da dikkat çekmektedir. Tip2DM'da oluşan mikro ve makro komplikasyonların öncüsü olarak düşünülen bu belirteçlerin öne çıkanları MCP-1, IL-6, IL-10, TNF- α ve Hs-CRP'dir (Skundric ve Lisak, 2003; Sproston ve Ashworth, 2018; Vilcek J, 2003). Bu akut faz proteinlerinin ve inflamatuvar sitokinlerin doğrudan glomerüler filtrasyonu değiştirerek MAÜ gelişimine neden olabileceği de öne sürülmektedir.

Çalışmamız Tip2DM'da DN'nin ve vasküler hasarın bir göstergesi olan MAÜ ile bir dizi inflamatuvar sitokini (MCP-1, IL-6, IL-10, TNF- α , Hs-CRP) birlikte değerlendiren ve bu bulguları aterosklerozun göstergesi kabul edilen ABİ ölçümleriyle karşılaştıran ilk çalışmadır. Tip2DM'lu hastalarda serum inflamatuvar belirteçleri ile ateroskleroz ve DN arasındaki ilişkinin incelendiği çalışmamıza MAÜ'lü ve MAÜ'süz toplam 80 Tip2DM'li hasta dahil edilmiştir. Hastaların serum örneklerinde MCP-1, IL-6, IL-10, TNF- α ve Hs-CRP biyobelirteçlerinin düzeyleri Multipleks Assay yöntemi ile ABİ ölçümleri Doppler yöntemi ile ve kardiometabolik belirteçleri (AKŞ, TKŞ, A1c-HbA1c, Tkol, HDL, LDL, TG) ise otoanalizörde belirlenerek aralarındaki ilişki araştırılmıştır.

Çalışmamıza konu olan inflamatuvar sitokinlerin bir arada çalışılması için göreceli olarak yeni bir yöntem olan Multipleks Assay kullanılmıştır. Multipleks Assay, küçük örnek miktarlarıyla (25-50 μ L) tek bir kuyucukta birden fazla farklı sitokini (<100) aynı anda ölçme kapasitesine sahip olduğundan özellikle metabolik hastalıklarda sitokin saptamada ve miktar ölçümünde önemli bir yöntem olarak gündeme gelmiştir. ELISA ve Microarray yöntemlerine karşın, bu yöntemle çok sayıda belirteç daha kısa zamanda, daha yüksek yoğunluk ve daha yüksek veri eldesi ile belirlenebilir. Multipleks analizi, ELISA yöntemindeki gibi tek tek sitokin ölçümü yerine çoklu sitokin ölçümü (100 belirteç kadar) mümkün kılınmıştır (Tighe ve ark., 2013). Yöntem ayrıca çok daha küçük biyolojik numune hacimleri ile çalışma imkânı sağlar ve sonuçlar ELISA yöntemi kadar hassas ve microarray yöntemine göre daha iyi tekrarlanabilirliktedir. Ayrıca kullanıcının isteğine göre özgün antikorlar, reseptörler, peptidler ve oligonükleotidler de dahil olmak üzere spesifik analitlerin yöntemle uyarlanabilir olması avantaj sağlamaktadır (Khalifian, Raimondi, ve Brandacher,

2015). Tüm bu faktörler göz önüne alınarak, MAÜ'lü ve MAÜ'süz Tip2DM olgularında inflamatuvar biyobelirteçlerin düzeylerinin belirlenmesinde Multipleks assay yönteminin kullanılmasına karar verilmiştir. Multipleks assay yönteminin olası bazı dezavantajları (potansiyel çapraz reaksiyonların olması, tüm analitler için mevcut antikor çiftlerinin bulunmaması, ortak dilüsyon faktörlerinin seçiminde zorluk, güvenilir kalite kontrol algoritmalarının sağlanmasında zorluklar, vb.) yöntemin oturmuş laboratuvar koşullarında, deneyimli bir personel ve ekiple uygulanmasıyla aşılmıştır.

Çalışmamızın bir diğer parametresi olan ABI ölçümü ateroskleroz ve kardiovasküler hastalık tanısında kullanılan non-invaziv, nispeten basit ve ucuz bir yöntemdir (Aboyans ve ark., 2012). Bu ölçümde, ayaktaki istirahat sistolik kan basıncı, sistolik brakial basınç ile karşılaştırılır ve iki basınç oranı, ayak bileği-brakial (veya ayak bileği-kol) indeksini tanımlar: *Düşük bir ABI*, koroner kalp hastalığı, inme, geçici iskemik atak, ilerleyici böbrek yetmezliği ve tüm nedenlere bağlı mortalite riski ile ilişkilidir. *Normal ABI* 0.91-1.3 arasındadır. Normalde, ayak bileği basıncı koldaki basınçtan daha yüksektir. Normal bir test genellikle arteriyel tıkalıcı hastalığı dışlar. *ABI >1.3*, kalsifiye damarların varlığını ve ilave vasküler çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşündürür. *ABI ≤0.9*, klodikasyon semptomları veya diğer iskemi bulguları olan hastalarda oklüzif arter hastalığının teşhisinde anlamlıdır.

Bugüne dek yapılmış çoğu çalışmada ABI değerinin, ateroskleroz göstergesi olarak kardiovasküler olaylarda prognostik önemde olduğu, ayrıca IL-6 ve Hs-CRP gibi sitokinler ile de ilişkili bulunduğu gösterilmiştir (Aboyans ve ark., 2008; Thejaswini ve ark., 2012). Benzer şekilde, Makhdoomi ve ark.'nın yapmış olduğu bir çalışmada diyabetik hastalarda MAÜ varlığı ile ABI düşüklüğü arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (Makhdoomi ve ark. 2013).

Çalışmamızda MAÜ olan diyabetik hastaların (n=40) 9'unda (%22.5) ABI değeri ≤ 0.9 olarak saptanmış olmasına rağmen genel verilerde MAÜ varlığı ile ABI değerleri arasında anlamlı bir ilişki görülmemiştir. Örneklem popülasyonumuzun yaş aralığının diğer çalışmalara göre göreceli olarak daha genç olması (MAÜ olmayan grup yaş, $52,98 \pm 6,1$ ve MAÜ olan grup yaş, $53,98 \pm 6,0$) bunun bir nedeni olabilir. Ayrıca MAÜ'lü grubun (%22,50'si sigara kullanıyor) MAÜ'süz gruba (%27,50'si sigara kullanıyor) göre daha düşük sigara içim oranları da burada sonuçları etkileyen bir başka parametre olabilir.

MAÜ'lü hastalarda aterosklerozda belirleyici faktör olan ABI ile inflamatuvar biyobelirteçler ve kardiyometabolik belirteçler arasında anlamlı bir ilişki bulunmaması ilginç bir veri olmakla birlikte literatürde de benzer bazı uyumsuz sonuçlara işaret etmektedir. Daha önceki çalışmalar, bu uyumsuz sonuçları ABI ölçümünde kullanılan yöntemin ve değerlerin hesaplanmasında standardizasyonun eksik olmasına bağlamışlardır (Aboyans ve ark., 2012). Bizim çalışmamızda da, ABİ değerleri ile inflamatuvar sitokinler arasında da korelasyonun bulunmaması çalışmamızdaki ABİ ölçümlerinde daha iyi bir standardizasyona (tek kişi tarafından ölçüm, aynı aletin kullanılması, ölçüm alınan ekstremitelere noktalarının standardizasyonu, v.b.) gerek olduğu sonucuna varmamıza neden olmuştur.

Çalışmamızda Multipleks Assay ile ilk defa Tip2DM'li hastalarda birlikte incelenen MCP-1, IL-6, IL-10, TNF- α ve Hs-CRP biyobelirteçlerinin ortalamaları MAÜ'lü ve MAÜ'süz gruplarda anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Navarro ve ark.'nın çalışmasında ise, bizim sonuçlarımızdan farklı olarak MAÜ'nün varlığı ile Hs-CRP, TNF- α ve IL-6 seviyelerinde anlamlı farklılıklar izlenmiştir (Navarro ve ark., 2003).

Çalışmamızda MAÜ'süz Tip2DM hastalarında TNF- α ile diğer inflamatuvar belirteçler olan IL-6, IL-10, MCP1 arasında ayrıca IL-6 ile MCP1 arasında ve IL-10 ile MCP1 arasında korelasyon bulunması tüm bu belirteçlerin DM'da gelişen inflamatuvar ortama katkı koyduğunu teyit etmektedir. Bunlar arasında en umut verici olarak gözüken MCP1 sitokindir, bu sitokin ile kardiyometabolik belirteçlerden Tkol arasında korelasyon bulunması da ateroskleroz ve inflamasyonun birlikte seyrettiğinin bir diğer kanıtıdır. Çalışmamızda MAÜ'süz Tip2DM'li olgularda, Hs-CRP, ABI ve BKİ değerleri ile inflamatuvar belirteçler ve kardiyometabolik belirteçler arasında bir ilişki saptanamamıştır.

MAÜ'lü Tip2DM olgularında TNF- α ile diğer inflamatuvar belirteçler olan IL-6, IL-10, MCP1 arasında ve kardiyometabolik belirteçler olan Tkol, TG ve LDL arasında, ayrıca IL-6 ile IL-10, MCP1, Tkol, TG ve LDL arasında pozitif korelasyon, yine IL-10 ile MCP1, Tkol, IDL ve TG arasında, MCP1 ile de Tkol, TG ve LDL arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. MAÜ'lü hastalarda inflamatuvar biyobelirteçler olan IL-6, IL-10, MCP-1 ve TNF- α ile kardiyometabolik belirteçler olan Tkol, TG ve LDL arasında orta ya da güçlü korelasyon vardır. Belirtilen inflamatuvar biyobelirteç miktarları arttıkça kardiyometabolik belirteçler de anlamlı olarak artmaktadır. Bu alanda yapılmış sayısız çalışma arasında Otto ve ark'nın yaptığı 32 hastalık

araştırmada, őriner albőrmin eksresyonuyla fibrinojen arasında korelasyon bulunurken, őriner albőrmin eksresyonuyla CRP ve IL-6 ile bir ilişki bulunamamıştır.(Otto, Engelschalk, Fraunberger, Laubach,ve Schwandt, 2001). Benzer şekilde 151 hastayı ve 80 sağlıklı kontrolő içeren ęalıřmalarında Moriwaki ve ark. da IL-6 ile MAŐ arasında bir ilişki saptayamamışlardır (Moriwaki ve ark. 2003). Buna karşılık Navarro ve ark. MAŐ'nőn hs-CRP ($r= 0.68$; $P < 0.001$) ile serum ($r = 0.45$; $P < 0.01$) ve őriner TNF- α ($r = 0.71$; $P < 0.001$) dőzeyleriyle ilişkisini ortaya koyarak, Tip2DM'lu olgularda DN'nin erken dőneminde bile inflamatuvar parametrelerin bağımsız olarak MAŐ ile ilişkili olduğuna ve DN'nin gelişiminde inflamasyonun rolőne dikkat ęekmiřlerdir (Navarro ve ark. 2003).

Son olarak tőm bu veriler işığında, Tip2DM'li hastalarda bir dizi inflamatuvar biyobelirteç ilk kez birlikte Multipleks Assay yöntemiyle ęalıřılmıřtır. Bu sitokinler ile MAŐ arasında saptanan gőçlő ilişkiler vaskőler endotel hasarının ve DN'nin bir göstergesi olarak MAŐ'nőn önemli rolőnő teyit etmektedir. MAŐ belirteci olan DN ile aterosklerotik olayların ortak mediyatőrő, her iki durumun patofizyolojisinde yer alan kronik inflamasyon ortamı gibi gőzükmetedir. Őnőmőzdeki dőnemlerde daha geniş kohortlarla yapılacak ęalıřmalarda ABİ gibi bireysel ölçőme dayalı indekslerin daha standardize edilerek uygulanması ęalıřmaların değerini arttıracaktır.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, Tip2DM'li hastalarda erken DN tanısında kullanılan MAÜ ile inflamatuvar biyobelirteçler ve ateroskleroz göstergesi olarak kabul gören ABI ölçümleri ilk defa birlikte araştırılmıştır.

Hastaların serum örneklerinde MCP-1, IL-6, IL-10, TNF- α ve Hs-CRP biyobelirteçlerinin düzeyleri Multipleks Assay yöntemi ile ABI ölçümleri Doppler yöntemi ile ve kardiyometabolik belirteçleri (AKŞ, TKŞ, A1c-HbA1c, Tkol, HDL, LDL, TG) ise otoanalizörde belirlenerek aralarındaki ilişki araştırılmıştır.

Tip2DM'li hastalarda MAÜ olan ve olmayan gruplar karşılaştırıldığında inflamatuvar biyobelirteçlerin düzeylerinde anlamlı bir fark olmadığı ($p>0,05$, $n=40$) gözlenmiştir.

Benzer şekilde, her iki grupta ABI ortalamalarına bakıldığında ABI değerleri 0.9-1.3 aralığında ve normal değerlerdedir. MAÜ olan ve olmayan gruplar arasında anlamlı bir fark yoktur.

MAÜ'lü hastalarda inflamatuvar biyobelirteçler olan IL-6, IL-10, MCP-1 ve TNF- α ile kardiyometabolik belirteçler olan Tkol, TG ve LDL arasında orta ya da güçlü korelasyon vardır. Belirtilen inflamatuvar biyobelirteç miktarları arttıkça kardiyometabolik belirteçler de anlamlı olarak artmaktadır. Bununla birlikte MAÜ'lü hastalarda aterosklerozda belirleyici faktör olan ABI ile inflamatuvar biyobelirteçler ve kardiyometabolik belirteçler arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Tip2DM'li hastalarda geniş kohortlarla, MAÜ subgrupları oluşturularak ya da prospektif tasarımla yapılacak yeni çalışmalar, DN ve ateroskleroz ilişkisini daha iyi anlamamıza neden olabilir.

KAYNAKLAR

- Aboyans, V., Criqui, M. H., Abraham, P., Allison, M. A., Creager, M. A., Diehm, C., ... Treat-Jacobson, D. (2012). Measurement and interpretation of the Ankle-Brachial Index: A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*, 126(24), 2890–2909.
<https://doi.org/10.1161/CIR.0b013e318276fbc6>
- Aboyans, V., Ho, E., Denenberg, J. O., Ho, L. A., Natarajan, L., ve Criqui, M. H. (2008). The association between elevated ankle systolic pressures and peripheral occlusive arterial disease in diabetic and nondiabetic subjects. *Journal of Vascular Surgery*, 48(5), 1197–1203.
<https://doi.org/10.1016/j.jvs.2008.06.005>
- American Diabetes Association, A. D. (2010). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 33 Suppl 1(Suppl 1), S62-9.
<https://doi.org/10.2337/dc10-S062>
- Aslan D., Girgin Sağın F, Şeneş M, Y. D. (2016). *Uzlaş Raporu-Hastanede kullanılan hasta başı glukoz metrelerin seçim kriterlerine yönelik öneriler*. Retrieved from
http://www.turkbiyokimyadernegi.org.tr/dosyalar/belgeler/yayinlar/Glukozmetre_uzlasi_raporu_6.pdf
- Aytuğ, F. (n.d.). Tip 2 diyabetik mikroalbuminürik hiperlipidemik hastalarda atorvastatin tedavisinin proinflamatuvar (IL-1), antiinflamatuvar (IL10) belirteçlere etkisinin araştırılması. Retrieved from
http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/ic_hast/dr_ferhan_aytug.pdf
- Bubanovic, I. V. (2003). Origin of anti-tumor immunity failure in mammals and new possibility for immunotherapy. *Medical Hypotheses*, 60(2), 152–158.
[https://doi.org/10.1016/S0306-9877\(02\)00263-3](https://doi.org/10.1016/S0306-9877(02)00263-3)
- Cermak, J., Key, N. S., Bach, R. R., Balla, J., Jacob, H. S., ve Vercellotti, G. M. (1993). C-reactive protein induces human peripheral blood monocytes to synthesize tissue factor. *Blood*, 82(2), 513–520.
<https://doi.org/papers3://publication/uuid/1B1B9252-69D3-4DCE-BC48-75A6483C38A6>
- Chen, Y., Qiao, Y., Xu, Y., Ling, W., Pan, Y., Huang, Y., ... Zhang, X. (2017). Serum TNF- α concentrations in type 2 diabetes mellitus patients and diabetic

- nephropathy patients: A systematic review and meta-analysis. *Immunology Letters*, 186, 52–58. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2017.04.003>
- Currie, G., McKay, G., ve Delles, C. (2014, December 15). Biomarkers in diabetic nephropathy: Present and future. *World Journal of Diabetes*. Baishideng Publishing Group Inc. <https://doi.org/10.4239/wjd.v5.i6.763>
- de Zeeuw, D., Parving, H.-H., ve Henning, R. H. (2006). Microalbuminuria as an early marker for cardiovascular disease. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 17(8), 2100–2105. <https://doi.org/10.1681/ASN.2006050517>
- Deckert, T., Yokoyama, H., Mathiesen, E., Ronn, B., Jensen, T., Feldt-Rasmussen, B., ... Jensen, J. S. (1996). Cohort study of predictive value of urinary albumin excretion for atherosclerotic vascular disease in patients with insulin dependent diabetes. *BMJ*, 312(0959–8138), 871–874. <https://doi.org/10.1136/bmj.312.7035.871>
- DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., Groop, L., Henry, R. R., Herman, W. H., Holst, J. J., ... Weiss, R. (2015). Type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*, 1, 15019. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.19>
- Deo, R., Khera, A., McGuire, D. K., Murphy, S. A., De P. Meo Neto, J., Morrow, D. A., ve De Lemos, J. A. (2004). Association among plasma levels of monocyte chemoattractant protein-1, traditional cardiovascular risk factors, and subclinical atherosclerosis. *Journal of the American College of Cardiology*, 44(9), 1812–1818. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2004.07.047>
- Dinneen, S. F., ve Gerstein, H. C. (1997). The association of microalbuminuria and mortality in non-insulin-dependent diabetes mellitus. A systematic overview of the literature. *Archives of Internal Medicine*, 157(13), 1413–1418. <https://doi.org/10.1001/archinte.1997.00440340025002>
- Dokken, B. B. (2008, July). The pathophysiology of cardiovascular disease and diabetes: Beyond blood pressure and lipids. *Diabetes Spectrum*. American Diabetes Association Inc. <https://doi.org/10.2337/diaspect.21.3.160>
- DuPont, N. C., Wang, K., Wadhwa, P. D., Culhane, J. F., ve Nelson, E. L. (2005). Validation and comparison of luminex multiplex cytokine analysis kits with ELISA: Determinations of a panel of nine cytokines in clinical sample culture supernatants. *Journal of Reproductive Immunology*, 66(2), 175–191. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2005.03.005>

- Festa, A., D'Agostino, R., Howard, G., Mykkänen, L., Tracy, R. P., ve Haffner, S. M. (2000). Inflammation and microalbuminuria in nondiabetic and type 2 diabetic subjects: The Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Kidney International*, 58(4), 1703–1710. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2000.00331.x>
- Freitas Lima, L. C., Braga, V. de A., do Socorro de França Silva, M., Cruz, J. de C., Sousa Santos, S. H., de Oliveira Monteiro, M. M., ve Balarini, C. de M. (2015, November 3). Adipokines, diabetes and atherosclerosis: An inflammatory association. *Frontiers in Physiology*. Frontiers. <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00304>
- Garg, J. P., ve Bakris, G. L. (2002). Microalbuminuria: Marker of vascular dysfunction, risk factor for cardiovascular disease. *Vascular Medicine*. <https://doi.org/10.1191/1358863x02vm412ra>
- Glasscock, R. J. (2010). Is the presence of microalbuminuria a relevant marker of kidney disease? *Current Hypertension Reports*. <https://doi.org/10.1007/s11906-010-0133-3>
- Khalifian, S., Raimondi, G., ve Brandacher, G. (2015, April 1). The Use of Luminex Assays to Measure Cytokines. *Journal of Investigative Dermatology*. Elsevier. <https://doi.org/10.1038/jid.2015.36>
- King, H., Aubert, R. E., ve Herman, W. H. (1998). Global burden of diabetes, 1995–2025: Prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care*, 21(9), 1414–1431. <https://doi.org/10.2337/diacare.21.9.1414>
- Kishimoto, T., Taga, T., ve Akira, S. (1994, January 28). Cytokine signal transduction. *Cell*. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90333-6](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90333-6)
- Koh, K. K. (2002, September 1). Effects of estrogen on the vascular wall: Vasomotor function and inflammation. *Cardiovascular Research*. Oxford University Press. [https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(02\)00487-X](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(02)00487-X)
- Kolcowa, O., Orowska-Kunikowska, E., Narkiewicz, K., Owczarzak, A., ve Łysiak-Szydłowska, W. (2003). Relation between interleukin-6 and homocysteine in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 50, 130. [https://doi.org/10.1016/s0168-8227\(00\)81901-4](https://doi.org/10.1016/s0168-8227(00)81901-4)
- Kotloff, R. M., Little, J., ve Elias, J. A. (1990). Human Alveolar Macrophage and Blood Monocyte Interleukin-6 Production. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 3(5), 497–505.

<https://doi.org/10.1165/ajrcmb/3.5.497>

- Lee, S.-Y., ve Choi, M. E. (2014). Urinary biomarkers for early diabetic nephropathy: beyond albuminuria. *Pediatric Nephrology (Berlin, Germany)*, 30(7), 1063–1075. <https://doi.org/10.1007/s00467-014-2888-2>
- Li, L., Jiang, X. gan, Hu, J. Y., Yu, Zh. Q., Xu, J. Y., Liu, F., ... Meng, J. (2017). The association between interleukin-19 concentration and diabetic nephropathy. *BMC Nephrology*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12882-017-0488-7>
- Li, X., Wu, T.-T., Chen, J., ve Qiu, W. (2017). Elevated expression levels of serum insulin-like growth factor-1, tumor necrosis factor- α and vascular endothelial growth factor 165 might exacerbate type 2 diabetic nephropathy. *Journal of Diabetes Investigation*, 8(1), 108–114. <https://doi.org/10.1111/jdi.12542>
- Lin, J., Hu, F. B., Rimm, E. B., Rifai, N., ve Curhan, G. C. (2006). The association of serum lipids and inflammatory biomarkers with renal function in men with type II diabetes mellitus. *Kidney International*, 69(2), 336–342. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5000021>
- MacIsaac, R. J., ve Jerums, G. (2011, May). Diabetic kidney disease with and without albuminuria. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*. <https://doi.org/10.1097/MNH.0b013e3283456546>
- Makhdoomi, K., Mohammadi, A., Yekta, Z., Aghasi, M. R., Zamani, N., ve Vossughian, S. (2013). *Kidney diseases Correlation Between Ankle-Brachial Index and Microalbuminuria in Type 2 Diabetes Mellitus. Iranian Journal of Kidney Diseases / (Vol. 7)*. Retrieved from www.ijkd.org
- Mogensen, C. E., Damsgaard, E. M., Frøland, A., Nielsen, S., de Fine Olivarius, N., ve Schmitz, A. (1992). Microalbuminuria in non-insulin-dependent diabetes. *Clinical Nephrology*, 38 Suppl 1, S28-39. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1295705>
- Mohamed-Ali, V., Goodrick, S., Bulmer, K., Holly, J. M. P., Yudkin, J. S., ve Coppack, S. W. (1999). Production of soluble tumor necrosis factor receptors by human subcutaneous adipose tissue in vivo. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 277(6), E971–E975. Retrieved from <https://www.physiology.org/doi/pdf/10.1152/ajpendo.1999.277.6.e971>
- Mora, C., ve Navarro, J. F. (2006, November). Inflammation and diabetic nephropathy. *Current Diabetes Reports*. Current Medicine Group. <https://doi.org/10.1007/s11892-006-0080-1>

- Moriwaki, Y., Yamamoto, T., Shibutani, Y., Aoki, E., Tsutsumi, Z., Takahashi, S., ... Hada, T. (2003). Elevated levels of interleukin-18 and tumor necrosis factor- α in serum of patients with type 2 diabetes mellitus: Relationship with diabetic nephropathy. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 52(5), 605–608.
<https://doi.org/10.1053/meta.2003.50096>
- Navarro-González, J. F., ve Mora-Fernández, C. (2008). The role of inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*, 19(3), 433–442. <https://doi.org/10.1681/ASN.2007091048>
- Navarro, J. F., Mora, C., Macía, M., ve García, J. (2003). Inflammatory parameters are independently associated with urinary albumin in type 2 diabetes mellitus. *American Journal of Kidney Diseases*, 42(1 SUPPL. 2), 53–61.
[https://doi.org/10.1016/S0272-6386\(03\)00408-6](https://doi.org/10.1016/S0272-6386(03)00408-6)
- Niemann-Jonsson, A., Dimayuga, P., Jovinge, S., Calara, F., Ares, M. P. S., Fredrikson, G. N., ve Nilsson, J. (2000). Accumulation of LDL in Rat Arteries Is Associated With Activation of Tumor Necrosis Factor- α Expression. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 20(10), 2205–2211.
<https://doi.org/10.1161/01.ATV.20.10.2205>
- Olokoba, A. B., Obateru, O. A., ve Olokoba, L. B. (2012). Type 2 diabetes mellitus: A review of current trends. *Oman Medical Journal*, 27(4), 269–273.
<https://doi.org/10.5001/omj.2012.68>
- Otto, C., Engelschalk, C., Fraunberger, P., Laubach, E., ve Schwandt, P. (2001). Lack of an association of urinary albumin excretion with interleukin-6 or C-reactive protein in patients with type 2 diabetes. *Acta Diabetologica*, 38(4), 153–155. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11855792>
- Pehlivan, Y., Onat, A. M., Ceylan, N., Turkbeyler, I. H., Buyukhatipoglu, H., Comez, G., ... Tarakcioglu, M. (2012). Serum leptin, resistin and TNF- α Levels in patients with systemic sclerosis: The role of adipokines in scleroderma. *International Journal of Rheumatic Diseases*, 15(4), 374–379.
<https://doi.org/10.1111/j.1756-185X.2012.01755.x>
- Ridker, P. M., Rifai, N., Pfeffer, M., Sacks, F., Lepage, S., ve Braunwald, E. (2000). Elevation of Tumor Necrosis Factor- α and Increased Risk of Recurrent Coronary Events After Myocardial Infarction. *Circulation*, 101(18), 2149–2153.
<https://doi.org/10.1161/01.CIR.101.18.2149>
- Satchell, S. C., ve Tooke, J. E. (2008, May). What is the mechanism of

- microalbuminuria in diabetes: A role for the glomerular endothelium?
Diabetologia. Springer. <https://doi.org/10.1007/s00125-008-0961-8>
- Senthilkumar, G. P., Anithalekshmi, M. S., Yasir, M., Parameswaran, S., Packirisamy, R. muthu, ve Bobby, Z. (2018). Role of omentin 1 and IL-6 in type 2 diabetes mellitus patients with diabetic nephropathy. *Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews*, 12(1), 23–26.
<https://doi.org/10.1016/j.dsx.2017.08.005>
- Silva, A. M. V, Schaan, B. D., Signori, L. U., Plentz, R. D. M., Moreno, H., Bertoluci, M. C., ve Irigoyen, M. C. (2010). Microalbuminuria is associated with impaired arterial and venous endothelium-dependent vasodilation in patients with type 2 diabetes. *Journal of Endocrinological Investigation*, 33(10), 696–700. <https://doi.org/10.3275/6955>
- Simon, T. G., Trejo, M. E. P., McClelland, R., Bradley, R., Blaha, M. J., Zeb, I., ... Chung, R. T. (2018). Circulating Interleukin-6 is a biomarker for coronary atherosclerosis in nonalcoholic fatty liver disease: Results from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *International Journal of Cardiology*, 259, 198–204.
<https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2018.01.046>
- Skundric, D. S., ve Lisak, R. P. (2003). Role of neuropoietic cytokines in development and progression of diabetic polyneuropathy: From glucose metabolism to neurodegeneration. *Experimental Diabetes Research*.
<https://doi.org/10.1155/EDR.2003.303>
- Sproston, N. R., ve Ashworth, J. J. (2018). Role of C-reactive protein at sites of inflammation and infection. *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media SA.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00754>
- Stehouwer, C. D. A., Gall, M.-A., Twisk, J. W. R., Knudsen, E., Emeis, J. J., ve Parving, H.-H. (2002). Increased urinary albumin excretion, endothelial dysfunction, and chronic low-grade inflammation in type 2 diabetes: progressive, interrelated, and independently associated with risk of death. *Diabetes*, 51(4), 1157–1165. [https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(97\)00233-2](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(97)00233-2)
- Suzuki, D., Miyazaki, M., Naka, R., Koji, T., Yagame, M., Jinde, K., ... Sakai, H. (1995). In situ hybridization of interleukin 6 in diabetic nephropathy. *Diabetes*, 44(10), 1233–1238. <https://doi.org/10.2337/diab.44.10.1233>
- Tanrıverdi, B., ve Savaş Tetik, Ş. (2017). Aterosklerozun patofizyolojisi ve risk faktörleri. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21(1), 1–9.

<https://doi.org/10.12991/marupj.259875>

- Thejaswini, K. O., Roopakala, M. S., Dayananda, G., Chandrakala, S. P., ve Prasanna Kumar, K. M. (2012). A study of association of Ankle Brachial Index (ABI) and the Highly sensitive C - Reactive protein (hsCRP) in Type 2 diabetic patients and in normal subjects. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 7(1), 46–50. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2012/4854.2667>
- Tighe, P., Negm, O., Todd, I., ve Fairclough, L. (2013). Utility, reliability and reproducibility of immunoassay multiplex kits. *Methods*, 61(1), 23–29. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2013.01.003>
- Vilcek J. (2003). *The cytokines: An overview. The Cytokine Handbook - Volume II.* (A. W. Thomson ve M. T. Lotze, Eds.). Academic Press. Retrieved from https://books.google.pt/books?id=NslT52NqvZ4Cve pg=PA789ve lpg=PA789ve dq=Ohmichi+et+al.,+1998;ve source=blve ots=f6xvaZPKCNve sig=aoV8IGUt4gSyAjAeef1L5cPCKt0ve hl=pt-PTve sa=Xve ved=0ahUKEwjfm-Xq8NDQAhWIQBoKHqRD_QQ6AEIHDAA#v=onepageve q=Ohmichi ve ark.%2C 1998%3Bve f=false
- Wolbink, G. J., Brouwer, M. C., Buysmann, S., ten Berge, I. J., ve Hack, C. E. (1996). CRP-mediated activation of complement in vivo: assessment by measuring circulating complement-C-reactive protein complexes. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 157(1), 473–479. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8683153>
- YANG, J., LI, X. L., HUANG, J., TAO, F., LI, J., XU, Q., ... ZHOU, Y. L. (2009). Microalbuminuria Associated with TNF- α and Large Arterial Stiffness in Chinese Hypertensive Patients. *International Journal of Cardiology*, 137, S139. <https://doi.org/10.1016/J.IJCARD.2009.09.481>
- Zitnik, R. J., Zheng, T., ve Elias, J. A. (1993). cAMP inhibition of interleukin-1-induced interleukin-6 production by human lung fibroblasts. *American Journal of Physiology*, 264(3 Pt 1), 253–260. <https://doi.org/10.1152/ajplung.1993.264.3.L253>

Ekler

Ek 1. Etik Kurul Onay Belgesi

Ek 2. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

Ek 3. Olgu Kayıt Formu



Ek 1.



EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2.Kat. Erzene Ankara Cad. 35100 Bornova / İZMİR
Tel:0 232 390 4219 - 373 78 81 Fax: 0232 390 21 34
e-mail: aetikk@mail.ege.edu.tr www.aek.med.ege.edu.tr



ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

KARAR BİLGİLERİ		Karar Nu : 17-7.2/18				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Kablim (**)	İmza
Prof. Dr. Sarenur GÖKBEN Üye	Çocuk Nörolojisi	EÜ. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Abdullah SAYINER Üye	Göğüs Hastalıkları	EÜ. Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları AD	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Bülent SEMERCİ Üye	Üroloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Üroloji AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Süheyla ALTUĞ ÖZSOY Üye	Halk Sağlığı Hemşireliği	EÜ. Hemşirelik Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Murat PEHLİVAN Üye	Biyofizik	E.Ü. Tıp Fakültesi Biyofizik AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Çağatay ÜSTÜN Üye	Tıp Tarihi ve Etik	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Etik AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	TOPLANTIYA KATILMADI
Prof. Dr. Şafak TANER Üye	Halk Sağlığı	E. Ü. Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Ayşe EROL Üye	Tıbbi Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yard. Doç. Dr. Gülsün AYGÖRMEZ UĞURLUBAY Üye	Ceza Hukuku	Serbest	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	TOPLANTIYA KATILMADI
Uzm. Ecz. Ebru BEDİR Üye	Eczacı	E.U. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Uzm. Dr. Özlem EKER Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	Serbest	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	TOPLANTIYA KATILMADI
Fatma BÜYÜKAKKUŞ Üye	Ziraat Mühendisi	Emekli	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	

* Araştırma ile İlişki
** Toplantıda Bulunma

ASLI GİBİDİR
Nefize ÇAMUŞOĞULLARI
EÜTF Klinik Araştırmaları
Etik Kurulu Sekreteri

Etik Kurul Başkanının Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Ayşenur OKTAY	İMZA 	Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge Kodu 22	Rev. Tarihi / No.su: 28.09.2011/05	Sayfa 2/2
--	----------	----------------------------------	------------------	---------------------------------------	--------------



ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Mikroalbuminürlü Tip 2 Diyabet Hastalarında Nefropati ve Ateroskleroz İlişkisinde İnflamatuvar Biyobelirteçlerin Rolü.		
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Ferhan G. SAĞIN		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı		
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-		
	DESTEKLEYİCİ	Bilimsel Araştırmalar Proje Fonu		
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. kaynaklardan destek alanlar için)	-		
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-		
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1 <input type="checkbox"/>	FAZ 2 <input type="checkbox"/>	FAZ 3 <input type="checkbox"/>
	Gözetimsel İlaç Çalışması <input type="checkbox"/>		Tıbbi Cihaz Klinik Araştırması <input type="checkbox"/>	
	İn Vitro Tıbbi Tanı Cihazları ile Yapılan Performans Değerlendirme Çalışmaları <input type="checkbox"/>		İlaç Dışı Klinik Araştırma <input checked="" type="checkbox"/>	
	Diğer ise belirtiniz Arşiv Materyali Çalışması.			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	14.07.2017	-	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	14.07.2017	-	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU	14.07.2017	1 1	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/> imza tarihi: 09.08.2017		
	DiĞER	<input type="checkbox"/>		
KARAR BİLGİLERİ	Karar Nu: 17-7.2/18	Tarih: 18.08.2017		
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak koleksiyon materyalleriyle / rutin tetkik ve tedavi işlemleri sırasında elde edilmiş materyallerle yapılacak araştırma kapsamında değerlendirilmiş; araştırma giderlerinin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödendiği koşullarda araştırmaya başlanmasının etik açıdan uygun bulunduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.			
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU				
ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu, Tıbbi Cihaz Klinik Araştırmaları Yönetmeliği			
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Ayşenur OKTAY			
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeligi	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*) Kablim (**)
Prof. Dr. Ayşenur OKTAY Başkan	Radyodiyagnostik	E.Ü. Tıp Fakültesi Radyoloji AD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H
Prof. Dr. Aytül ÖNAL Başkan Yardımcısı	Tıbbi Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H
Prof. Dr. Suna TOKSAVUL Üye	Protetik Diş Tedavisi	E.Ü. Diş Hek. Fakültesi Protetik Diş Tedavisi AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H
TOPLANTIYA KATILMADI				

Etik Kurul Başkanı'nın Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Ayşenur OKTAY	İMZA 	Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge Kodu 22	Rev. Tarihi / No.su 28.09.2011/05	Sayfa 1/2
--	----------	----------------------------------	------------------	--------------------------------------	--------------

Ek 2.

Araştırmanın Adı: Mikroalbüminürlü Tip 2 Diyabet Hastalarında Nefropati ve Ateroskleroz İlişkisinde İnflamatuvar Biyobelirteçlerin Rolü

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (FORM 17)

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

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

ÇALIŞMANIN AMACI NEDİR?

Tip 2 şeker hastalığı olan hastalarda, tedavi ve kontrol iyi sağlanmazsa, zaman içinde özellikle göz, böbrek ve kalp sorunları ortaya çıkabilir. Şeker hastalığının böbrekler üzerindeki etkilerinin göstergesi böbreklerden idrar yoluyla protein kaçağı olmasıdır. Tip 2 şeker hastalarında yaygın damar hasarı, damar duvarında geniş fonksiyon bozukluğu ve kalbe kan ve oksijen sağlayan ince damarların artarak daralmasıyla seyreden ateroskleroz (halk arasında bilinen deyimle damar sertleşmesi, damar kireçlenmesi) ortaya çıkabilir. İdrar yoluyla protein kaçağı, damar sertleşmesi için bir risk faktörüdür. Aynı zamanda idrar yoluyla protein kaçağının; Tip 1 veya 2 şeker hastalığı olanlarda, kalp ve damar hastalığına bağlı hastalık hali ve ölüm için bir belirteç olduğu ve kalp ve damar hastalığı için bağımsız bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir. Bu protein kaçağı, kalbi besleyen damarların sertleşmesinin şiddetiyle belirgin pozitif ilişkili gösterir. Ama bu ilişkinin hangi yollarla ya da hangi aracı moleküllerle ortaya çıktığı henüz bilinmemektedir.

Ayak bileği/Brakiyal basınç oranı ölçümü de kalp ve damar hastalığı riski tahmininde yararlı bilgiler sağlayan bir yöntem olarak bildirilmiştir.

Yüksek kalp ve damar hastalığı riski olan hastalarda ve böbreğin etkilendiği durumlarda serumdaki bazı iltihap molekülleri de artış gösterir.

Çalışmamızın amacı tip 2 şeker hastalığı olan hastalarda idrar yoluyla protein kaçağı ile damar sertleşmesi belirteçleri olan bu iltihap molekülleri ve Ayak bileği/brakiyal basınç oranı ölçümü arasında ilişki olup olmadığını belirlemektir. Böylelikle Tip 2 şeker hastalığında protein kaçağı ile damar sertleşmesi arasındaki ilişki ve bu ilişkiye neden olan moleküllerle ilgili bilgilerimiz artmış olacaktır.

KATILMA KOŞULLARI NEDİR?

Bu çalışmaya dahil edilebilmeniz için;

- Yaşınızın 40-60 yaş arası olması,
- Vücut kitle indeksiniz hesaplandığında bu değerinizin 35'ten az olması,
- Romatolojik, inflamatuvar hastalığınızın, idrar yolu enfeksiyonu ya da malignitenizin olmaması,
- Gebe olmamanız,
- Araştırmadan kısa bir süre önce veya araştırma sırasında idrarda kreatinin atılımını etkileyebilecek herhangi bir ilaç kullanmamış olmanız gerekmektedir.

Tarih/ Versiyon: 14/07/2017

İlaç Dışı Çalışmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Form 17	03.11.2010/EÜTF00	1/4

Araştırmanın Adı: Mikroalbüminürlü Tip 2 Diyabet Hastalarında Nefropati ve Ateroskleroz İlişkisinde İnflamatuvar Biyobelirteçlerin Rolü

NASIL BİR UYGULAMA YAPILACAKTIR?

Yukarıda belirtilen çalışma koşullarına uygunluğunuz daha önce Doç. Dr. Aslı Kılavuz'un yaptığı ilişkili başka bir çalışmada zaten tespit edilerek o çalışma için onayımızla sizden toplardamardan kan örneği alınmış ve bu örneklerde bazı testler yapılmıştır. Yedek kanlarınız ise yine Doç. Dr. Kılavuz'un sorumluluğunda derin dondurucuda saklanmış olup, bu çalışmamızda yedek kan örneğiniz kullanılacaktır. Size ek bir işlem yapılmayacak ya da yeniden kan örneği alınmayacaktır. Bu çalışmamız için onayınız, sadece yedek kan örneğinizde çalışmamızın testlerinin de yapılabilmesi için istenmektedir.

SORUMLULUKLARIM NEDİR?

Ek bir sorumluluğunuz bulunmamaktadır.

KATILIMCI SAYISI NEDİR?

Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı, Tip 2 şeker hastası olup protein kaçağı olan 40 ve protein kaçağı olmayan 40 kişidir.

KATILIMIM NE KADAR SÜRECEKTİR?

Ek bir süreye gerek yoktur. Gönüllü Olur Formu'nu imzalamanız yeterlidir.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI YARAR NEDİR?

Bu araştırmada sizin için beklenen klinik bir yarar bulunmamaktadır. Yapılan tüm işlemler araştırma için kullanılacaktır ve mevcut tedaviniz değiştirilmeyecektir. Fakat, bu çalışmanın sonucunda Tip 2 şeker hastalarında protein kaçağı ve damar sertleşmesi arasındaki ilişki biraz daha aydınlanmış olacak ve elde edilen bilgiler ileride başka hastaların yararına kullanılabilir.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI RİSKLER NEDİR?

Daha önce alınmış kan örneğiniz kullanılacağından ve size ek bir işlem yapılmayacağından hiçbir ek risk yoktur.

ARAŞTIRMA SÜRECİNDE BİRLİKTE KULLANILMASININ SAKINCALI OLDUĞU BİLİNEBİLİR İLAÇLAR/BESİNLER NELERDİR?

İdrardan kreatinin atılımını engelleyen ilaçların dışında, çalışma süresince birlikte kullanımının sakıncalı olduğu ilaç ve besin bulunmamaktadır. Ancak yukarıda belirtildiği gibi bu koşul önceki çalışmada tespit edilmiş olup şu an için herhangi bir beslenme ya da tedavi önlemi gerekmemektedir.

HANGİ KOŞULLARDA ARAŞTIRMA DIŞI BIRAKILABİLİRİM?

Çalışmaya katılmaktan vazgeçerseniz araştırma dışı bırakılabilirsiniz.

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

Daha önce alınmış kan örneğiniz kullanılacağından ve size ek bir işlem yapılmayacağından bir zararlanma durumu söz konusu değildir.

Tarih/ Versiyon: 14/07/2017

İlaç Dışı Çalışmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Form 17	03.11.2010/EÜTF00	2/4

Araştırmanın Adı: Mikroalbüminürlü Tip 2 Diyabet Hastalarında Nefropati ve Ateroskleroz İlişkisinde İnflamatuvar Biyobelirteçlerin Rolü

ARAŞTIRMA SÜRESİNCE ÇIKABİLECEK SORUNLAR İÇİN KİMİ ARAMALIYIM?

Daha önce alınmış kan örneğiniz kullanılacağından ve size ek bir işlem yapılmayacağından hiçbir ek sorun beklenmemektedir. Yine de araştırmayla ilgili sorularınız olursa 0232 390 40 87 no.lu telefondan Prof. Dr. Ferhan SAĞIN 'a başvurabilirsiniz.

ÇALIŞMA KAPSAMINDAKİ GİDERLER KARŞILANACAK MIDIR?

Daha önce alınmış kan örneğiniz kullanılacağından ve size ek bir işlem yapılmayacağından hiçbir ek gider yoktur.

ÇALIŞMAYI DESTEKLEYEN KURUM VAR MIDIR ?

Çalışmayı destekleyen kurum Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP)'dür.

ÇALIŞMAYA KATILMAM NEDENİYLE HERHANGİ BİR ÖDEME YAPILACAK MIDIR?

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır.

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

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; reddetme veya vazgeçme durumunda bile sonraki bakımınız garanti altına alınacaktır. Araştırmacı, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle isteğiniz dışında ancak bilginiz dahilinde sizi araştırmadan çıkarabilir. Bu durumda da sonraki bakımınız garanti altına alınacaktır.

Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir.

KATILMAMA İLİŞKİN BİLGİLER KONUSUNDA GİZLİLİK SAĞLANABİLECEK MIDİR?

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

Tarih/ Versiyon: 14/07/2017

İlaç Dışı Çalışmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Form 17	03.11.2010/EÜTF00	3/4

Araştırmanın Adı: Mikroalbuminürlü Tip 2 Diyabet Hastalarında Nefropati ve Ateroskleroz İlişkisinde İnflamatuvar Biyobelirteçlerin Rolü

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren 3 sayfalık metni okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi (yedek kan örneklerimin araştırma amaçlı kullanılması dahil olmak üzere) konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

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

ARAŞTIRMA EKİBİNDE YER ALAN VE YETKİN BİR ARAŞTIRMACININ		İMZASI
ADI & SOYADI		
TARİH		

GEREKTİĞİ DURUMLARDA TANIK		İMZASI
ADI & SOYADI		
GÖREVİ		
TARİH		

Tarih/ Versiyon: 14/07/2017

İlaç Dışı Çalışmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Form 17	03.11.2010/EÜTF00	4/4

PROTOKOL NO:	OLGU NO	_____ _____ _____ _____
	TARİH	1_____ 1_____ / 1_____ 1_____ / 1_____ 1_____ g g a a y y

ÇALIŞMAYA ALINMA KRİTERLERİ		EVET	HAYIR
<i>Hastanın çalışmaya alınabilmesi için bütün alınma kriterleri için EVET işaretlenmelidir.</i>			
Tip2 Diyabetes Mellitus (Tip2 DM) olan hasta		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mikroalbüminüri (MAÜ)si olan hasta		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
40-60 yaş arası kadın veya erkek hasta		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Vücut kitle indeksi hesaplandığında bu değer 35'ten az olan hasta		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Yazılı bilgilendirilmiş olur veren hasta		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Takip vizitlerine katılmayı kabul eden hasta		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
ÇALIŞMAYA ALINMAMA KRİTERLERİ		EVET	HAYIR
<i>Hastanın çalışmaya alınabilmesi için bütün alınmama kriterleri için HAYIR işaretlenmelidir.</i>			
Hastada Romatolojik, inflamatuvar hastalığın, idrar yolu enfeksiyonunun ya da malignitenin olması		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hastada İdrar yolu enfeksiyonu dahil üriner sistem bozukluğu olması		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hastada gebeliğin olması		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hastanın araştırmadan kısa bir süre önce veya araştırma sırasında İdrarda kreatinin atılımını etkileyebilecek herhangi bir ilaç kullanılması		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR	
BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR ALINDI MI?	<input type="checkbox"/> EVET <input type="checkbox"/> HAYIR
BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR ALINMA TARİHİ	1_____ 1_____ / 1_____ 1_____ / 1_____ 1_____ g g a a y y
ÇALIŞMAYA UYGUNLUK	
HASTA ÇALIŞMA İÇİN UYGUN MU?	<input type="checkbox"/> EVET, KİŞİ ÇALIŞMA İÇİN UYGUN <input type="checkbox"/> HAYIR, KİŞİ ÇALIŞMA İÇİN UYGUN DEĞİL

PROTOKOL NO:	OLGU NO	1 ____ 11 ____ 11 ____ 1
	TARİH	1 ____ 11 ____ 1 / 1 ____ 11 ____ 1 / 1 ____ 11 ____ 1 g g a a y y

DEMOGRAFİK VERİLER	
DOĞUM TARİHİ	1 ____ 11 ____ 1 / 1 ____ 11 ____ 1 / 1 ____ 11 ____ 1 g g a a y y
CİNSİYET	<input type="checkbox"/> Erkek <input type="checkbox"/> Kadın
KOMORBİDİTE	<input type="checkbox"/> Yok <input type="checkbox"/> Var (belirtiniz):
KULLANDIĞI İLAÇLAR	1. 2. 3. 4. 5. 6.

BULGULAR	
SİSTOLİK KAN BASINCI	1 ____ 11 ____ 11 ____ 1 mmHg
DİASTOLİK KAN BASINCI	1 ____ 11 ____ 1 1 ____ 1 mmHg
BOY	1 ____ 11 ____ 11 ____ 1 cm
KİLO	1 ____ 11 ____ 11 ____ 1 kg
BKİ:	1 ____ 1
Mikroalbüminüri:	1 ____ 1
Ankle Brakiyal İndeks:	1 ____ 1

ÖZGEÇMİŞ

Hasip ÇİRKİN

Mevlana Mah. 1740. Sok. No:12 D:4
Bornova / İzmir / Turkey

0543 922 21 83
hasipcirkin@hotmail.com

Eğitim:

Yüksek Lisans, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya ABD,
(Devam Ediyor)

Yüksek Lisans, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya ABD, (Devam
Ediyor)

Pedagojik Formasyon Eğitimi (Mustafa Kemal Üniversitesi), Hatay (2014)

Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Bölümü, Mezun (2011)

Sertifikalar:

Deney Hayvanı Kullanımı Sertifikası (Dokuz Eylül Üniversitesi, 2016)

Proje deneyimi:

215Z342- Bozdağlar'ın (İzmir, Manisa) Liken Biyotası ve Kemotip Zenginliği,
TÜBİTAK- Bursiyer-01.06.2017-09.02.2018

Ödüller:

FEBS Bursary, Federation of European Biochemical Societies, 2016

SCI-Expanded İndekslerine Giren Dergilerde Yer Alan Yayınlar:

A. M. Özgönül, R. Aslaminabad, H. Sağın, H. Çirkin, F. G. Sağın, Evaluation Of
Midwifery Students' Knowledge And Perceptions Of Insulin Resistance And Related
Health Problems, 2017, TURKISH JOURNAL OF BIOCHEMISTRY

H. Çirkin, F. G. Sağın, H. Sağın, Perceptions of Molecular Life Science Master's
Students on Their Scientific and Academic Competencies And Prospective Plans for
Professional Development, 2016, TURKISH JOURNAL OF BIOCHEMISTRY

Hakemli Konferans/Sempozyum Bildiri Yayınlarında Yer Alan Yayınlar :

H. Çirkin, F. G. Sağın, H. Sağın, Perceptions of Molecular Life Science Master's Students on Their Scientific and Academic Competencies And Prospective Plans for Professional Development, THE FEBS JOURNAL, 2016

Sözlü Sunumlar:

Moleküler yaşam bilimleri yüksek lisans öğrencilerinin bilimsel ve akademik yeterlilik algıları ve profesyonel gelişime yönelik planları, Sivas Biyokimya Günleri, Sivas, Kasım 2016

Diğer Bilimsel Faaliyetler:

2. Türkiye İn Vitro Diyagnostik Sempozyumu, (İFCC, EFLM, Türk Biyokimya Derneği, Dokuz Eylül Üniversitesi), İzmir (Mayıs 2017)

İnsülin Direnci Sempozyumu, (İFCC, EFLM, Türk Biyokimya Derneği), İzmir (Mart 2017)

1. Türkiye İn Vitro Diyagnostik Sempozyumu, (İFCC, EFLM, Türk Biyokimya Derneği, Dokuz Eylül Üniversitesi), İzmir (Şubat 2016)

Sertifikalar/Kurslar:

Temel Hücre Kültürü ve Hücre Ölüm Analizi Yöntemleri Uygulamalı Kursu-IV, (Hücre Ölümü Araştırma Derneği), İzmir, Haziran 2017

Tübitak 1001, 1002 ve 3001 Projesi Hazırlama Teknikleri Kursu, (Ege Üniversitesi Sürekli Eğitim Merkezi), İzmir, Haziran 2017

3. Onkoloji Araştırma Uygulamaları Kursu – Protein Analizi, (Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü), İzmir, Nisan 2017

Moleküler Kanser Zirvesi, (Moleküler Kanser Araştırma Derneği), İstanbul, Mart 2017

13. Deney Hayvanı Kullanımı Sertifikası, (Dokuz Eylül Üniversitesi), İzmir, Nisan 2016

11. ARLAB Hücresel, Moleküler ve Analitik Teknikler Kursu, (Dokuz Eylül Üniversitesi), İzmir, Temmuz 2015

Tez Yazım İçin İleri Word Teknikleri ve Uygulaması, (Ege Üniversitesi), İzmir, Nisan 2015

Literatür 2.0:Kaynak Tarama; Kullanma, Birlikte Çalışma Aracı Olarak ‘Mendeley’
(Ege Üniversitesi), İzmir, Mart 2015

“Hemostaz ve Tromboz Laboratuvar Kursu“ Workshop (Türk Klinik Biyokimya
Derneği) , İstanbul, Aralık 2012

“New Perspectives in Molecular Life Sciences Education” Workshop (Türk
Biyokimya Derneği), İstanbul, Kasım 2012

