



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



**TİP 2 DİYABET HASTALARINDA SERUM
FİBROBLAST GROWTH FACTOR 21 VE
LİPOKALİN'İN NEFROPATİNİN ERKEN
GÖSTERGESİ OLARAK DEĞERİ VE
ADİPOZİTOKİNLERLE İLİŞKİSİ**

Yüksek Lisans Tezi

NİOUSHA KAZEMZADEH AFSHAR

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

İzmir
2019

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**TİP 2 DİYABET HASTALARINDA SERUM
FİBROBLAST GROWTH FACTOR 21 VE
LİPOKALİN'İN NEFROPATİNİN ERKEN
GÖSTERGESİ OLARAK DEĞERİ VE
ADIPOZİTOKİNLERLE İLİŞKİSİ**

Niousha KAZEMZADEH AFSHAR

Danışman
Prof. Dr. Ferhan GİRĞİN SAĞIN

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Tezli Yüksek Lisans Programı

İzmir
2019

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

(Adı Soyadı)

(İmza)

Başkan : Prof. Dr. Ferhan GİRGİN SAĞIN
(Danışman)

Ferhan

Üye : Prof. Dr. Yasemin AKÇAY

Yasemin

Üye : Prof. Dr. Hilal KOÇDOR

Hilal

Yüksek lisans tezinin kabul edildiği tarih :

26.08.2019

Önsöz

Bu tez çalışmasının gerçekleştirilmesine katkıda bulunan değerli danışman hocam,
Prof. Dr. Ferhan Sağın'a çok teşekkür ederim.

İzmir, 4.09.2019

Niousha KAZEMZADEH AFSHAR



Özet

Tip 2 Diyabet Hastalarında Serum Fibroblast Growth Faktörü-21 ve Lipokalin'in Nefropatinin Erken Göstergesi olarak Değeri ve Adipositokinlerle İlişkisi

Tip 2 Diabetes Mellitus (Tip2DM) tüm dünyada en yaygın görülen metabolik hastalıktır ve hastalığın önemli komplikasyonlarından biri de diyabetik nefropati (DN)'dir. DN, Batı dünyasında son dönem böbrek yetmezliğinin önde gelen sebebidir. Mikroalbuminüri (MAÜ), DN'nin en erken ve en çok kullanılan laboratuvar indeksi olup diyabetik hastalarda kardiyovasküler riskle de bağımsız olarak ilişkilidir. Her ne kadar MAÜ, risk katmanlaşması ve DN'deki hastalık ilerlemesinin izlenmesi için vazgeçilmez bir araç olmaya devam etse de, bir takım faktörler tahmin etme gücünü sorgulamıştır. Bu çalışmada MAÜ olan (n=40) ve olmayan (n=40) Tip2DM'lu hastalarda serum fibroblast büyüme faktörü-21 (fibroblast growth factor-21-FGF-21) ve nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (neutrophil gelatinase associated lipocalin-NGAL) gibi DN'nin patofizyolojisinde etkili olabilecek yeni inflamatuvar belirteçler ve bunlarla ilişkilendirilen adiponektin, leptin ve plazminojen-aktivatör inhibitör Tip 1 (plasminogen activator inhibitor Type 1-PAI-) gibi adipositokinler tayin edilerek renal hasarın erken tanı ve izleminde bu belirteçlerin yeri araştırılmıştır. Adiponektin, leptin ve PAI-1 ölçümünde daha küçük numune hacmi ve daha hızlı ölçüme izin veren Multipleks Assay sistemleri, FGF-21, NGAL ve sistatin C tayininde ise ELISA yöntemi kullanılmıştır. MAÜ'lü olgularda FGF-21 ve NGAL seviyeleri anlamlı derecede yüksek, PAI-1 ise anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Genel olarak, sistatin C ve PAI-1 arasında (-), adiponektin ve leptin arasında ise (+) bir korelasyon saptanmıştır. Sonuçta, Tip2DM'da gelişen DN'de FGF-21 ve NGAL'in yeni biyobelirteçler olarak klinik öneme sahip olabileceği ve PAI-1'le ilgili daha geniş kapsamlı çalışmalar yapılmasının gerekliliği sonucuna varılmıştır. Geniş kohortlarla ve değişik DN evreleriyle yapılacak çalışmalar, Tip2DM'lu hastalarda renal komplikasyonların patofizyolojisini anlamamıza yardımcı olacaktır.

Anahtar Kelimeler; Tip2DM, mikroalbuminüri, FGF-21, lipokalin, adiponektin, PAI-1, diyabetik nefropati

Abstract

Serum Fibroblast Growth Factor 21 and Lipocalin as Early Biomarkers of Nephropathy in Type 2 Diabetes Mellitus and Their Relationship with Adipocytokines

Type 2 Diabetes Mellitus (Type 2DM) is the most common metabolic disease worldwide. One of the major complications of this disease is diabetic nephropathy (DN) which is the leading cause of end-stage renal disease in the Western world. Microalbuminuria (MAU) is the earliest and most widely used laboratory index of DN and is independently associated with cardiovascular risk in diabetic patients. Although MAU remains an indispensable tool for monitoring risk stratification and disease progression in DN, several factors have questioned its ability to predict the disease. Our aim in this study is to investigate serum fibroblast growth factor-21 (fibroblast growth factor-21-FGF-21) and neutrophil gelatinase-associated lipocalin (neutrophil gelatinase associated lipocalin-NGAL) levels in patients with Type 2DM, with (n = 40) and without MAU (n = 40). The role of adipocytokines such as adiponectin, leptin and plasminogen activator inhibitor Type 1(PAI-1) in the early diagnosis and follow-up of renal damage are also investigated. Adiponectin, leptin and PAI-1 were analysed with Multiplex Assay Systems which allowed smaller sample volume and faster measurement, while FGF-21, NGAL and cystatin C levels were measured with ELISA. FGF-21 and NGAL levels were significantly higher and PAI-1 levels were significantly lower in patients with MAU. In general, there was a (-) correlation between cystatin C and PAI-1, and (+) correlation between adiponectin and leptin. It was concluded that FGF-21 and NGAL may be clinically important new biomarkers in DN related with Type2DM and further studies on PAI-1 should be performed. Studies with large cohorts and different DN stages will help us to understand the pathophysiology of renal complications in patients with Type 2DM.

Keywords; Type2DM, microalbuminuria, FGF-21, lipocalin, adiponectin, PAI-1, diabetic nephropathy

İçindekiler

Önsöz.....	II
Özet.....	III
Abstract.....	IV
İçindekiler	V
Tablolar Dizini.....	VI
Şekiller Dizini	VII
Kısaltma Listesi	VIII
Giriş	1
1.1. Araştırmanın Problemi.....	2
1.2. Araştırmanın Sorusu	3
1.3. Araştırmanın Hipotezleri	3
1.4. Araştırmanın Varsayımları.....	3
1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları	3
1.6. Araştırmanın Amacı	3
Genel Bilgiler	5
Gereç ve Yöntem	14
Bulgular.....	27
Tartışma	34
Sonuç ve Öneriler	40
Kaynaklar	41
Ekler	49
Teşekkür	59
Özgeçmiş	60

Tablolar Dizini

Tablo 1. MAÜ'lü ve MAÜ'süz Tip2DM hastalarına ait demografik ve klinik veri tablosu.....	27
Tablo 2. MAÜ olmayan kişilerde hedef biyobelirteçlerin ve diğer DN parametrelerinin verileri.....	28
Tablo 3. MAÜ ol an kişilerde hedef biyobelirteçlerin ve diğer DN parametrelerin verileri.....	29
Tablo 4. MAÜ olan ve olmayan hastalarda hedef biyobelirteçlerin ölçüm değerleri.....	30
Tablo 5. Çalışma biyobelirteçleri arasındaki korelasyonlar	33



Şekiller Dizini

Şekil 1. Manyetik mikropartiküller içeren Luminex panelinin işleyişinin şematik gösterimi.....	17
Şekil 2. ELISA prensibinin şematik olarak gösterimi	20
Şekil 3. Seri dilüsyon işleminin şematik gösterimi.....	21
Şekil 4. Seri dilüsyon işleminin şematik gösterimi.....	23
Şekil 5. MAÜ olan ve olmayan hastalarda hedef biyobelirteçlerin karşılaştırmalı ölçümü A: SistatinC, B: FGF-21, C: Lipokalin, D: Leptin, E: Serpin, F: Adiponectin.....	33



Kısaltma Listesi

Açlık Kan Şekeri	AKŞ
Amerikan Diyabet Birliği	ADA
Anjiyotensin II	AngII
Diabetes Mellitus	DM
Dönüştürme Büyüme Faktörü- β	TGF- β
Dünya Sağlık Örgütü	WHO
Düşük Densiteli Kolesterol	LDL
Enzim Bağlı İmmüno-sorbent Testi	ELISA
FGF Reseptörleri	FGF R
Fibroblast Büyüme Faktörü 21	FGF-21
Glikasyon Son Ürünleri	AGE
Glomerüler Filtrasyon Hızı	GFR
Glukoz Transporter 1	GLUT1
Hemoglobin A1c	HbA1c
Hipertansiyon	HT
Horseradish Peroksidaz	HRP
The Irbesartan Diyabetik Nefropati Çalışması	IDNT
İnterferon Gama	IFN- Γ
İnterlökin-6	(IL)-6
Koroner Arter Hastalığı	KAH
Kreatinin	Crea
Metaloproteinaz 9	MMP-9
Mikroalbüminüri	MAÜ
Mitojenle Aktifleştirilen Protein Kinazlar	MAPK

Nötrofil Jelatinaz İle İlişkili Lipokalin	NGAL
Oral Anti-Diyabetik	OAD
Peroksizom Proliferatör İle Aktifleştirilen Reseptörler	PPAR γ
Plazminojen-Aktivatör İnhibitör Tip 1	PAI-1
Tokluk Kan Şekeri	TKŞ
Total Kolesterol	Tkol
Trigliserid	TG
Tümör Nekroz Faktörü α	TNF- α
Uluslararası Diyabet Federasyonu	IDF
Vücut Kütle İndeksi	BKI
Yüksek Densiteli Kolesterol	HDL

Giriş

Tip 2 Diabetes Mellitus (Tip2DM), genellikle ileri yaşta ortaya çıkan bir kronik hastalık olup uzun süreli insülin direnci üzerine eklenen ilerleyici beta hücre yetmezliği sonucunda gelişir(American Diabetes Association, 2010; World Health Organization, 2016). Bu hastalarda genetik defektler ya da obezite ve fiziksel aktivite eksikliği gibi çevresel etmenlerin etkisi ile önce karaciğer ve kas dokusunda insülin direnci ortaya çıkar. Hücre içinde kullanılmayan glukozun kanda oluşturduğu hiperglisemiye yanıt olarak pankreas aşırı miktarda insülin salgılar, ancak bu da yeterli olamaz ve zaman içinde pankreasta insülin üretimi giderek azalır ve beta hücre yetmezliği gelişir. Sonuçta ortaya çıkan hiperglisemi Tip2DM'un temel patolojisini ve hastalığa bağlı komplikasyonların nedenini oluşturur.

Tip2DM'un özellikle çevre ve yaşam tarzından etkilenebilen metabolik bir bozukluk olduğu ve insidansının immobilite ve obezite artışına bağlı olarak arttığı bilinmektedir. Süregelen hipergliseminin koroner, serebral, visseral ve periferik damarlarda tetiklediği endotel harabiyeti ve non-enzimatik glikozilasyon mekanizması inflamasyonu ve ateroskleroza hızlandırır. Böylelikle Tip2DM'un iyi bilinen komplikasyonları olan nefropati, retinopati, kardiyovasküler ve serebrovasküler olaylar ortaya çıkar.

İlk olarak 1982'de Viberti tarafından Tip1DM'lu hastalarda idrar albumin atılım oranında subklinik bir artış olarak tanımlanan mikroalbuminüri (MAÜ), idrarda 30-299 mg/gün albumin atılımını gösterir. Vasküler ve endotelial disfonksiyonun bir göstergesi olarak diyabetik nefropatinin (DN) en erken klinik kanıtını temsil eden bu bulgunun diyabetik hastalarda kronik böbrek yetmezliğinin risk artışıyla ve renal komplikasyonlarla ilişkisi çok sayıda çalışmada gösterilmiştir.

Fibroblast büyüme faktörü (Fibroblast growth factor 21-FGF-21), ilk olarak 2000'li yıllarda, fare embryosundan izole edilerek tanımlanmış olan 181 aminoaside sahip bir polipeptiddir. İnsanlarda temel olarak karaciğerden, daha az bir oranda da adipoz dokudan salgılanan bu metabolik düzenleyici, serumda da saptanabilmektedir. Hayvan çalışmalarında, rekombinan FGF-21'in plazma glukoz ve insülin düzeylerini düşürdüğü, insülin direncini ve enerji metabolizmasını düzelttiği, hepatik yağlanmayı ve obeziteyi azalttığı gösterilmiştir. Bu etkilerinden dolayı, leptin ve adiponektin gibi diğer adipositokinlerle ilişkili olarak parakrin ve endokrin etkilerle metabolik

homeostaz düzenleyici etkisi olduğu öne sürülen bu sitokin, Tip2DM'lu hastalarda ve diğer metabolik bozukluklarda tedavi seçeneği olmaya adaydır.

İlginç olarak, obesite, metabolik sendrom ve Tip2DM gibi insülin direnciyle birlikte ilerleyen durumlarda serum FGF-21 düzeylerinin arttığı gösterilmiş ve bunların 'FGF-21 dirençli hastalık' olarak sınıflandırılması önerilmiştir.

Önceki çalışmalarda FGF-21'in böbrekler tarafından atılan dolaşımalsal bir sitokin olduğu ve renal fonksiyon parametreleriyle korele olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde, dolaşımdaki FGF-21'in, mikroanjiyopati göstergesi olarak DN'le ilişkili olabileceği öne sürülmüş olmakla birlikte bu ilişkiyi kanıtlayacak yeterli çalışma bulunmamaktadır. Buna karşılık yakın zamanda, nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (neutrophil gelatinase associated lipocalin-NGAL) gibi tübüler disfonksiyonla ilişkilendirilen yeni renal hasar belirteçleri erken renal hasarın hassas ve özgün göstergeleri olarak dikkat çekmektedir.

Metabolik hastalıkların patogeneğinde, adipositokinlerin yağ dokusundan salınımı etkilenmektedir. Adiponektin ile yağ dokusundan salgılanan bir diğer adipositokin olan Tip 1 plazminojen aktivatör inhibitörü (plasminogen-activator inhibitor type 1 (PAI-1))'nün benzer şekilde DN'de ekspresyonlarının arttığı bildirilmektedir.

1.1. Araştırmanın Problemi

Tip2DM dünya çapında bir halk sağlığı sorunudur ve önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlarla ilişkili olan bu hastalığın en ciddi uzun vadeli mikrovasküler komplikasyonlarından biri, proteinüri ile karakterize edilen DN'dir. Tüm dünyada diyaliz merkezlerinin ana iş yükünü oluşturan kronik böbrek hastalıkları ve son dönem böbrek yetmezliğinin önde gelen nedeni olan DN'nin oranı giderek artmaktadır. Bu önemli sorunun patofizyolojisinin anlaşılması ya da erken saptanmasına yönelik her adımın, hasta sağlığına ve ülkelerin sağlık giderlerine olumlu katkıda bulunacağı açıktır. Serum kreatinin konsantrasyonları, önemli miktarda böbrek fonksiyonu kaybedilene kadar değişmeyebilir ve glomerüler filtrasyondaki akut değişiklikler sırasında, serum kreatinin konsantrasyonu, birkaç gün sürebilen kararlı durum dengesine ulaşılan kadar böbrek fonksiyonunu doğru şekilde göstermez (De Muro et al., 2016). Genel vasküler ve endotelial disfonksiyonun bir göstergesi olan MAÜ, günümüzde renal hasarın hassas bir belirteci olarak erken tanı ve izlemde kullanılmaktadır. Ancak bu

belirtecin renal işlevlerdeki erken değişiklikleri saptama veya hastalığın ilerlemesinde prediktif bir belirteç olma konusundaki gücünü sorgulayan çalışmalar da vardır.

1.2. Araştırmanın Sorusu

Tip2DM'da gelişen DN'de, FGF-21 ve NGAL'in biyobelirteç olarak klinik öneme sahip olup olmadığının araştırılmasıdır. Çalışmamızın diğer sorusu ise söz konusu bu yeni biyobelirteçlerin adiponektin/PAI-1 salınım düzensizlikleri ile etkileşimidir. Bu soruları açığa kavuşturmak için de, MAÜ olan ve olmayan Tip2DM olgularında, adiponektin/PAI-1 düzeyleri saptanarak bu sitokinlerin FGF-21 ve NGAL ile aralarındaki ilişki ortaya konmuş, ayrıca sonuçlar sistatin C gibi bilinen renal göstergelerle karşılaştırılmıştır. Böylelikle FGF-21 ve NGAL'in DN'da erken biyobelirteç olarak önemi ve diğer adipokinlerle ilişkisi araştırılmıştır.

1.3. Araştırmanın Hipotezleri

Çalışmamızın hipotezi, Tip2DM'da gelişen DN'de FGF-21 ve NGAL'in biyobelirteç olarak klinik öneme sahip olabileceğidir. Bu hipotezi test etmek için MAÜ olan ve olmayan Tip2DM olgularında, serum FGF-21 ve NGAL düzeyleri çalışılarak sonuçlar iyi bilinen renal belirteçler olan MAÜ ve sistatin C ile karşılaştırılmıştır. Çalışmamızın diğer hipotezi ise bu söz konusu yeni biyobelirteçlerin etkisinde adiponektin/PAI-1 salınım düzensizliklerinin etkili olabileceğidir. Bu hipotezi test etmek için de, MAÜ olan ve olmayan Tip2DM olgularında, adiponektin/PAI-1 düzeyleri saptanarak bu sitokinlerin FGF-21 ve PAI-1 ile aralarındaki ilişki ortaya konmuştur.

1.4. Araştırmanın Varsayımları

Bu çalışmada, olguların tümünün kan örnekleri aynı personel tarafından alınmış ve analizler aynı gün aynı laboratuvar koşullarında çalışılmıştır. Bu nedenle analiz şartlarının objektif ve biastan uzak olduğu varsayılmaktadır.

1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları

Araştırma aşamasında bir sınırlılık bulunmamaktadır.

1.6. Araştırmanın Amacı

Çalışmanın temel amacı, MAÜ olan ve olmayan Tip2DM'lu hastalarda, DN'nin patofizyolojisinde etkili olabilecek yeni inflamatuvar belirteçler olan FGF-21 ve NGAL düzeylerini ve bunlarla ilişkilendirilen adiponektin ve PAI-1 gibi adipositokinleri tayin ederek renal hasarın erken tanı ve izleminde bu belirteçlerin yerini ortaya koymaktır. Bu amaca yönelik olarak sonuçlar, sistatin C ve MAÜ gibi bilinen renal göstergelerle ve kardiyometabolik belirteçlerle karşılaştırılmıştır.



Genel Bilgiler

Diabetes mellitus (DM), insülinin sekresyonunda, etkisinde veya her ikisinde de bir bozukluktan kaynaklanan hiperglisemi ile karakterize bir metabolik hastalıktır. Dünya çapında önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. 2017 yılında yaklaşık 425 milyon yetişkinin (20-79 yaş) diyabetli olduğu bilinmektedir ve 2045 yılına kadar bu rakamın 629 milyona çıkacağı öngörülmektedir (*IDF Diabetes Atlas*, 2017). Tip2DM ise hiperinsülinemi ve insülin direnci ile ilişkilidir, yani hücre ve dokuların normal insülin konsantrasyonlarına cevap verememesi ile karakterizedir. Hastalığın ileri aşamalarında pankreas β hücrelerinden kompanse edilebilir insülin salgılanması olsa da metabolizma, varolan yüksek insülin direncinin üstesinden gelemeyebilir. Bununla birlikte, artan lipoliz sonucu açığa çıkan yağ asidi salınımı ile parankimal organlarda yağ birikimi, metabolik rahatsızlığı daha da şiddetlendirir (Delarue & Magnan, 2007). İnsülin direnci, çevresel faktörlerin yanı sıra genetik bir sorun olarak da görülebilmektedir. Tip 2 diyabet hastalarının alt gruplarında, monogenetik nedenler tanımlanmıştır, ancak daha yaygın poligenik formlardan hangi genlerin sorumlu olduğu hala belirsizdir (Y. Yang & Chan, 2016).

Diyabet tanısında, Amerikan Diyabet Birliği (ADA), iki temel kriter kullanmaktadır: plazma glukozu ya da HbA1c... İki farklı günde alınan kan örneğinde açlık plazma glukoz konsantrasyonunun ≥ 126 mg / dL (7.0 mmol / L) olması, glukoz alımının (Dünya Sağlık Örgütü-WHO'nun kriterlerine uygun olarak suda çözülmüş 75 gr anhidroz glukoz alımı sonrası) ardından 2 saatlik bir beklemeden sonra kandaki glukoz miktarının ≥ 200 mg / dL (11.1 mmol / L) olması ya da HbA1c düzeylerinin ≥ 6.5 (48 mmol / mol) olması durumunda diyabet teşhisi konulabilir. Hipergliseminin klasik semptomlarını taşıyan ya da hiperglisemik krize giren hastalarda ise tanı için son öğünden örnek alınmasına kadar geçen süreye bakılmaksızın günün herhangi bir saatinde plazma glukoz konsantrasyonunun ≥ 200 mg / dL (11.1 mmol / L) olması yeterlidir (Diabetes Care, 2019).

DN, diyabeti olduğu bilinen bir hastada idrar yolu infeksiyonu ya da diğer bir renal hastalık olmadan renal işlevlerin bozulması ve albüminüri (>300 mg/24 saat) varlığı ile saptanır.

Diyabette, böbreğin yapısal hasarı ile, genellikle MAÜ, yani 24 saatlik idrarda yüksek miktarda albümin atılımı (30 ila 299mg/24 saat) veya spot idrar numunelerinde 20 ila 200 μ g/dak veya μ g/mL düzeylerinde atılım görülmektedir

(Tobe, McFarlane, & Naimark, 2002). Albümin atılımı günlük olarak değişkenlik gösterdiğinden, MAÜ ancak farklı günlerdeki üç örnekten ikisinin ateş, fiziksel egzersiz, idrar yolu enfeksiyonu, kontrolsüz hipertansiyon, kontrolsüz hiperglisemi veya konjestif kalp yetmezliği gibi kafa karıştırıcı faktörlerin yokluğunda pozitif olması durumunda teşhis edilebilmektedir (Karar et al., 2015). İdrarda albümin atılım oranlarının artmasıyla artan bir renal ve kardiyovasküler hastalık risk artışı görülmektedir. Bu, normal aralıktaki idrar albümin konsantrasyonları için bile geçerlidir. Daha yakın zamanlarda, podositlerin sayısının ve işlevinin ve özellikle de ayrılmış membranın işlevinin rahatsızlıklarının en azından eşit derecede önemli olduğu düşünülmektedir (Reiser & Altintas, 2016).

Glomerüler lezyonlarla MAÜ arasındaki ilişki Tip2DM'da daha az belirgindir (De Muro et al., 2016). Dalla ve arkadaşları bu ikisi arasında genel bir ilişki bulmuşlardır, ancak bazı hastalarda glomerüloskleroza rağmen MAÜ gelişmemiş ve bunun tersine mikroalbüminürik tip 2 diyabetik hastaların yaklaşık % 30'unda yapısal olarak normal glomerül görülmüştür (Dalla Vestra et al., 2005). Sonuç olarak MAÜ, gelecekte oluşacak olan nefropatinin bir öngörücüsü değil mevcut nefropatinin bir kanıtıdır.

MAÜ'nün kardiyovasküler olaylarla bilinen ilişkisi ve Tip2DM'da genelleşmiş mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonların böbreklerde de bulunması, MAÜ'yü genel vasküler patolojinin bir göstergesi haline getirmiştir (Mohammedi et al., 2017).

Glomerüler geçirgenliğin hasar görmesi sonucu spesifik olarak oluşan MAÜ'nün ortaya çıkmasının son zamanlarda hem deneysel modellerde, hem de diyabetik hastalarda proksimal tübül reabsorpsiyon bozukluğunun sonucu olduğu görülmüştür (Vallon & Thomson, 2012).

Günümüzde, sıkı glisemik kontrolün, Tip 2 diyabetik hastalarda Tip 1 diyabetik hastalarda olduğu gibi DN'nin başlangıcını veya ilerlemesini önlediğine dair hiçbir şüphe yoktur (Nazar, 2014). Hastada nefropati bir kez geliştikten sonra, böbrek fonksiyonlarındaki düşüşün önlenemediği ve geri döndürülemediği görülmüştür. Ayrıca, glisemik kontrolün sağkalımı etkilediği bilinmektedir. Wu ve arkadaşları diyaliz başlangıcından önceki son 6 ayda glisemik kontrolü zayıf olan Tip 2 diyabetik hastaların iyi glisemik kontrolü olan hastalardan çok daha kötü sağkalıma

sahip olduğunu bulmuşlardır ve bu durum diyalizdeki Tip 2 diyabetik hastalarda da geçerlidir (Wu et al., 2018).

Glisemik kontrolün temel taşı yaşam tarzı değişikliğidir, ancak bu önlemin etkinliği Tip 2 diyabet ilerledikçe azalır. Tip 2 diyabetli hastalarda, günlük çoklu insülin enjeksiyonlarından oluşan bir rejim uygulayarak sıkı glisemik kontrolü hedefleme eğilimi artmaktadır. Ancak özellikle böbrek fonksiyon bozukluğu olan Tip 2 diyabetik hastalarda HbA1c değerlerini < % 7 elde etmek zorlu bir hedeftir. Hastanın ciddi enfeksiyon veya cerrahi gibi eşzamanlı problemleri olduğunda insülin tedavisi zorunludur.

Belirgin diyabetik glomerülosklerozun diyabetik retinopati ile neredeyse aynı şekilde ilişkili olduğu Tip 1 diyabetik hastaların aksine, Irbesartan Diyabetik Nefropati (The Irbesartan Diabetic Nephropathy Trial, IDNT) çalışmasına göre diyabetik glomerüloskleroz, Tip 2 hastalarının sadece % 70'inde bulunur. Bununla birlikte, advers böbrek prognozunun güçlü bir prediktörüdür (Moriya et al., 2013). Özellikle DN'nin gelişmesinde, glukoz ile modifiye olmuş proteinler, metil gliksal gibi glukozdan türetilmiş ürünler, yani Amadori ürünleri ve ileri glikasyon son ürünleri (AGE) çok önemli bir rol oynamaktadır. Glukozun artan mitokondriyal oksidasyonu ayrıca protein kinaz C'yi (PKC) ve ardından mitojenle aktive edilen protein kinazları (MAPK) aktive eder. Dönüştürme büyüme faktörü- β (TGF- β) renal hipertrofi gelişiminde ve hücre dışı matris birikiminde çok önemli görünmektedir. Glomerüloskleroz ve tubulointerstisyel fibroz gibi geri dönüşümsüz değişikliklerden önce gelişen renal hipertrofi erken bir olaydır. Tip 1 ve Tip 2 diyabette, renal hipertrofi ile birlikte, intrarenal hipertansiyon da gelişir (Aragno & Mastrocola, 2017). DN gelişiminde, hemodinamik ve yapısal değişiklikler önemli ve birbirleriyle ilişkilidir. Örneğin, yüksek glukoz, anjiyotensinojen ve anjiyotensin II (AngII)'nin sentezini uyarır. Bu hemodinamik polipeptit, böbrek hücreleri üzerinde trofik, enflamatuvar ve profibrojenik etkiler yaratır. Bu polipeptidin yarattığı mekanik gerilme sitokinlerin otokrin ve/veya parakrin salınımını ve bunun sonucunda glomerüloskleroz ve interstisyel fibrozisin oluşumunda rol oynayan büyüme faktörlerini indükler.

Tip 2 diyabetli hastalarda, tanıda, mikroalbumin varlığı için bir test yapılmalıdır. MAÜ, Tip 1 diyabetin başlangıcında nadiren görülür; bu nedenle, tip 1

diyabetli bireylerde tarama 5 yıllık hastalık süresinden sonra başlamalıdır (Alleyn et al., 2010).

MAÜ'yü saptamak için spesifik testler gereklidir, çünkü idrar proteinini ölçmek için standart testler yeterince hassas değildir. Üriner albümin atılımı ≥ 30 mg / 24 s (zamanlanmış bir örnekte 20 μ g / dk veya rastgele bir örnek üzerinde 30 mg / g kreatinin eşdeğeri) ise, MAÜ'nün mevcut olduğu söylenebilir. Kısa süreli hiperglisemi, egzersiz, idrar yolu enfeksiyonları, belirgin hipertansiyon, kalp yetmezliği ve akut ateşli hastalıklar idrar albümin atılımında geçici yükselmelere neden olabilir. MAÜ için tahliller hali hazırda mevcut değilse, eğitimli personel tarafından yapıldığında kabul edilebilir hassasiyet (% 95) ve özgüllük (% 93) gösterdikleri için reaktif tabletlerle veya çubuklarla da tarama yapılabilir. Reaktif şeritleri yalnızca konsantrasyonu gösterir ve spot idrar albümin-kreatinin oranı, kreatinin için doğru olmadığından, idrar konsantrasyonundaki değişikliklerden ötürü olası hatalara maruz kalırlar. Reaktif şeritleri veya tabletler ile yapılan tüm pozitif testler daha spesifik yöntemlerle onaylanmalıdır. Ayrıca albümin atılımında günden güne belirgin bir değişkenlik vardır. Bu nedenle hastanın MAÜ'sü olduğunu belirtmeden önce 3-6 aylık bir periyotta yapılan üç örnekten en az ikisinin yüksek seviyeler göstermesi gerekir.

DN'nin ilerlemesinin önlenmesi ve geciktirilmesi önerileri konusunda belirli bir fikir birliğine varılmıştır. Özellikle ADA'nın güncellenmiş Klinik Uygulama Önerileri bu alanda bir kılavuz önermektedir (American Diabetes Association, 2019). Buna göre, Tip 2 diyabet hastalarının MAÜ için yılda en az bir kez izlenmesi önerilir. Tip 2 diyabetik hastalarda MAÜ, Tip 1 diyabetik hastalardaki kadar güçlü bir renal risk belirleyicisi değildir, ancak daha yoğun ve aktif tedaviye ihtiyacı olan hastaları tanımlamak için kesinlikle mevcut en iyi araçtır. Mikroalbüminürik veya proteinürik hastalarda ilerlemeyi önlemek için, ACE inhibitörleri veya anjiyotensin reseptör blokerleri ile farmakolojik blokaj, yoğun bir glisemik kontrol, sigarayı bırakma, vücut ağırlığının azaltılması, RAS proteininin farmakolojik blokajı da dahil olmak üzere sıkı antihipertansif kontrol içeren entegre bir yaklaşım benimsemek önemlidir, bununla birlikte diyet sodyum kısıtlaması da önemli yer tutmaktadır (Zelmanovitz et al., 2009).

Fibroblast Büyüme Faktörü 21

FGF-21, iskelet kasında üretilen bir myokin olarak yakın zamanda tanımlanmıştır (Izumiya et al., 2008). İskelet kasında üretilen FGF-21 glukoz alımını ve glukoz taşıyıcısı-1'in (GLUT-1) ifadesini artırır.

FGF-21, açlık ve diyabetik ketoasidoz durumunda ya da yüksek yağlı ve düşük karbohidratlı ketojenik diyet alımıyla hepatositlerde üretilir. FGF-21 salınımıyla beyaz adipoz doku trigliserit (TG) depolarından serbest yağ asidlerini açığa çıkararak enerji üretimine katkıda bulunur. Molekülün sentezi, aynı zamanda fibroblastların adipozitlere diferansiyasyonu sırasında da indüklenir. Adipoz dokuda FGF-21'in GLUT-1 indüksiyonu yoluyla glukoz alımını indüklediği ve bu nedenle kan glukoz seviyelerini azaltabildiği bildirilmiştir (Ge et al., 2011). FGF-21, adipositlere glukoz girişine paralel olarak, bu molekülünTGolarak depolanmasına yol açar ve lipogenezi uyarır.

Obes çocuklarda ve erişkinlerde artmış serum FGF-21 konsantrasyonları belirlenmiştir (X. Zhang et al., 2008). Diğer taraftan, ilginç bir şekilde, kısa süreli çok düşük kalorili bir diyetten sonra yüksek FGF-21 ifadesi görülmesi paradoks olarak kabul edilmektedir (J. Zhang et al., 2018). Bu nedenle, molekülün üretimi açlık ve besleme sinyalleri ile bağımsız bir şekilde düzenleniyor gibi görünmekte ve hem açlıkta, hem de aşırı beslenmede molekülün ekspresyonu artmaktadır.

Son çalışmalar, FGF-21, vücut kütle indeksi (BKİ), TG, insülin, düşük HDL-kolesterol ve bozulmuş glukoz toleransı arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermektedir, bu nedenle FGF-21 insülin direnci, T2DM ve metabolik sendrom için bağımsız bir risk faktörü olabilir (Bitzur et al., 2009; Iwani et al., 2017). Hiperglisemi, yüksek BKİ, yüksek ürik asit düzeylerinin ve düşük fiziksel aktivitenin serum FGF-21'i etkileyen bağımsız faktörler olduğu bildirilmiştir (Cuevas-Ramos et al., 2010).

Nötrofil jelatinaz ile ilişkili lipokalin (NGAL)

Nötrofil jelatinaz ile ilişkili lipokalin (NGAL, ayrıca LCN2 olarak da bilinir) temel olarak adipoz dokuda ve karaciğerde ifade edilenve hidrofobik bir cebin etrafında 8 antiparalel β -katlamalı yapıdan oluşan küçük bir sekretuar proteindir. Yapısı nedeniyle serbest yağ asidleri, retinoidler, araşidonik asid gibi çeşitli küçük lipofilik maddeleri bağlama ve taşıma özelliği gösterir. İlk olarak Supavekin ve ark. tarafından (Devarajan et al., 2003; Supavekin et al., 2003) iskemik fare böbreğinde

hasarın erken dönemlerinde up-regüle edilmiş genlerden biri olarak tanımlanmış olan NGAL'le ilgili yapılan sonraki proteomik çalışmalar, NGAL'in hayvan modellerinde iskemik veya nefrotoksik yetmezlik sonrası böbreklerde en erken ve en sağlam şekilde indüklenmiş proteinlerden biri olduğunu ortaya koymuştur (Mishra et al., 2003; Schmidt-Ott et al., 2007a). Plazma NGAL düzeyleri inflamasyon, infeksiyon, iskemi gibi 'stres' altında olan hücrelerde yükselir. NGAL proteini akut böbrek hasarından kısa süre sonra kanda ve idrarda kolayca tespit edilebilir (Mori et al., 2005), bu nedenle NGAL'in erken böbrek hasarı için hassas bir biyobelirteç olabileceği öne sürülmüştür. Kardiyopulmoner by-pass'la indüklenmiş olan akut renal hasar ya dacişplatin tedavisiyle gelişen nefrotoksik hasarda da proksimal tübüler hücrelerde NGAL'in *de novo* sentezinin artması, bu proteinin idrar ve serumda hızla yükselmesine neden olur. Dolaşımdaki NGAL düzeylerinin insülin direnci, Tip2DM ya da kardiyovasküler hastalıklar gibi obezite ile indüklenen metabolik bozukluklarda nedensel bir rol oynayabileceği de öne sürülmüştür (Wang et al., 2006).

Adiponektin

Yaşam tarzı değişikliği ve hızlı kentleşme, bir dizi sağlık problemiyle ilişkili olan obeziteyi tetiklemiştir. Obezite sıklıkla metabolik sendromla beraber seyretmekte ve insülin direnci, Tip 2 diyabet, yağlı karaciğer hastalığı ve kardiyovasküler hastalık riskini arttırmaktadır (Ghoshal & Bhattacharyya, 2015). Bir adipokin türü olan 30 kDa'lık adiposit kompleman ile ilişkili protein olarak da bilinen adiponektin, adipoz dokusundan sentezlenen ve salınan bir endokrin faktördür (Yamauchi et al., 2001). Anti-aterojenik ve antiinflamatuvar özelliklerinin yanısıra temel bilimsel çalışmalar adiponektinin insülin duyarlılığına sahip olduğunu göstermektedir.

Leptine benzer şekilde, adiponektin, öncelikle adipositler tarafından salgılanan bir hormondur. Bununla birlikte, plazma adiponektin konsantrasyonları, obez bireylerde düşük konsantrasyonlarda ve yağ dokusu kütlesi ile ters orantılıdır. DM da, benzer şekilde azalmış adiponektin ile ilişkilidir. Leptinin aksine, adiponektinin insülin direnci ile obeziteden daha güçlü bir ilişkisi vardır. Adiponektin, insülin sinyalini ve yağ asidi oksidasyonunu artırır ve glukoneogenezi inhibe eder. Bu, adiponektinin, obeziteden bağımsız olarak DM patogeneğinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Adiponektin bu etkiyi, IRS-

l'in etkisini kolaylaştıran insüline duyarlı hücrelerde AMP ile aktive olan protein kinazı (AMPK) aktive ederek ve karaciğerde transkripsiyon faktörü peroksizom proliferatör ile aktive edilmiş reseptör alfa'yı (PPARa) aktifleştirerek gerçekteştirir (Yamauchi et al., 2002). Adiponektin ayrıca, tümör nekroz faktörü alfa (TNF-a), interlökin (IL)-6, interferon gama (IFN- γ) ve leptin gibi sitokinler tarafından düzenlenmektedir (Kishida et al., 2012).

Plazminojen-Aktivatör İnhibitör Tip 1 (PAI-1), Serpin

Trombotik olayların yaşla birlikte artması, kalp-damar hastalıkları için de yerleşik bir risk faktörüdür. Yařlanma ile tromboz arasında var olan yakın ilişki, bu son on yılda giderek artan bir biçimde incelenmiştir. Artmış kardiyovasküler ve serebrovasküler riskin temelinde, fibrinoliz homeostazında yaşla ilgili protrombotik bir dengesizlik gelişimi vardır. Fibrinoliz, çok sayıda plazminojen aktivatörü ve nihai olarak fibrin bozulmasına yol ačan enzimatik kaskadı oluşturan inhibitörler arasındaki etkileşimlerin sonucudur. Plazminojen aktivatör sistemi, koagülasyon, fibrinoliz, inflamasyon, yara iyileşmesi ve malignite dahil olmak üzere çok çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde önemli bir rol oynar. Plazminojen aktivatör sisteminin önemli bir reaksiyonu, plazminojenin plazminojen aktivatörleri tarafından plazmaya dönüştürülmesidir. Plazminojen, öncelikle plazmada bulunur ve karaciğerde sentezlenir. İnhibitör faktörler arasında en hızlı ve etkili PAI-1, plazma fibrinolitik aktivitesinin en önemli inhibitörlerinden biridir. PAI-1, serin proteaz inhibitörlerinin (veya serpinlerin) üst ailesinin tek zincirli glikoprotein yapılı bir üyesidir. Bilinen moleküler ağırlığı 48 kDa olan 379 amino asitten oluşmuş bir moleküldür. PAI-1 (veya serpin E1), hem spesifik bir Arg'yi parçalayarak plazminojeni aktive edebilen doku tipi plazminojen aktivatörü (t-PA) veürokinaz plazminojen aktivatörünün (u-PA) başlıca inhibitörüdür. Böylelikle, PAI-1 plazmin ile uyarılan proteolizin başlıca negatif düzenleyicisi olarak görev yapar (Małgorzewicz, Skrzypczak-Jankun, & Jankun, 2013).

Renin-anjiyotensin sisteminin aktivasyonu PAI-1 ile yakından ilişkilidir (Skurk et al., 2001). Anjiyotensin II (ayrıca adipoz doku tarafından da üretilir) anjiyotensinojen işleminin biyolojik olarak aktif ürünüdür ve insan adipositlerinde PAI-1 ekspresyonunu transkripsiyon seviyesinde uyardığı gösterilmiştir (Brown et al., 1998). Ne yazık ki, fibrinolitik kaskad üzerindeki etkileri ile ilgili kanıtlar hala yetersiz ve tartışmalıdır (Cesari et al., 2009). Fibrinolitik sistem, inflamasyon,

oksidatif (ve antioksidan) durum, adipoz doku (ve iskelet kası), metabolik sendrom ve aterosklerotik hastalıklar arasındaki mevcut karmaşık etkileşimler ağında hala anlaşılacak çok konu vardır. Mevcut kanıtlar, bazı çelişkilere ve tartışmalara rağmen, PAI-1'i bu yolların, organların ve koşulların birkaçını potansiyel olarak birbirine bağlayan son derece umut verici bir belirteç olarak gösterme eğilimindedir. Bu adipokin, prognostik değerlendirmede, hastalık izlemede ve bir sonraki gelecekte tedavi hedefi olmada göz önünde bulundurulması gereken bir moleküldür.

Leptin

Leptinler; yağ hücrelerinde üretilip kana salgılanan 16 kDA ağırlığında adipokinlerdir. Daha çok obezite etyolojisinde önemli bir yere sahip olan leptinlerin son zamanlarda hipertansiyon ve ateroskleroz sürecindeki proaterojenik-proinflamatuar rolü anlaşılmaya çalışılmaktadır. Yağ hücrelerindeki artan TNF- α miktarının leptin üretimini artırması, bu proteinin proinflamatuar olabileceğini düşündürmektedir (Alexandraki et al., 2006; La Cava, 2017; Xu et al., 2016). Tip2DM'li hastaların pankreatik doku kesitleri üzerinde in vitro olarak yapılan bir çalışmada, leptin ve glukozla diyabetin patagonezi üzerinde önemli rol oynayan IL-1 β ve antagonisti IL-1Ra'nın birbirine oranları incelenmiştir. Leptine maruz bırakılmış pankreatik adacık hücrelerinde IL-1Ra'nın hücre üretimini azalttığı, IL-1 β salımını indüklediği, kaspaz-3 aktivasyonu ve apoptoza yol açtığı ve böylece bozulmuş glukoz uyarımlı insülin sekresyonunda bir artışa neden olduğu görülmüştür (Maedler et al., 2004). Yakın yıllarda ise, ilk defa miyokard enfaktüsü geçiren erkek hastalarda obezite ve diyastolik kan basıncı ile pozitif korele yüksek leptin seviyeleri saptanmış ve leptinin kardiyovasküler riskin değerlendirilmesinde yararlı olabileceği bildirilmiştir (Ekmen vd., 2016). Farelerde subfizyolojik dozlarda uygulanan leptinin aterosklerotik lezyonları azalttığı gösterilmiş ve leptinin, hiperkolesterolemi ve karaciğer yağlanmasını azaltması, bunun yanı sıra insülin duyarlılığı ve ateroprotektif adiponektini artırması yollarıyla dolaylı olarak antiaterojenik etkilerinin olduğu öne sürülmüştür (Hoffmann et al., 2019).

Sistatin C

Bir proteaz inhibitörü olan Sistatin C, böbrek fonksiyonunun ve bilişsel bozulmanın bir biyobelirteci olarak incelenmiştir (Bugnicourt et al., 2013; Kaeser et al., 2007; Kaur & Levy, 2012). Böbrek fonksiyonunun bir ölçüsü olarak sistatin C, serum kreatininine kıyasla yaş, cinsiyet ve kas kütlelerinden çok daha az etkilenir (Coll

et al., 2000; Menon et al., 2007). Çalışmalar aynı zamanda sistatin C'nin prognostik gösterge de olduğunu öne sürmektedir, bu durum sistatin C'nin glomerüler filtrasyon hızındandaha iyi bir biyobelirteç olduğunu göstermektedir. Fakat özellikle, yaşlı yetişkinler arasında yüksek sistatin C seviyeleri, kardiyovasküler olaylar ve zayıf fiziksel fonksiyon ile ilişkilidir (Peralta et al., 2011; Shlipak et al., 2006, 2005). Kronik böbrek hastalığı (KBH) olan hastalarda sistatin C, böbrek fonksiyonu azalmasını ve son dönem böbrek hastalığı (end-stage renal disease,ESRD) ilerlemesini gösterebilmektedir (Bhavsar et al., 2011; Menon et al., 2007). Bu nedenle renal bir biyobelirteç olarak kullanılması son derece mantıklıdır.

Bu bulgular ışığında, çalışmamızın hipotezi, Tip2DM'da gelişen DN'de MAÜ yanında, FGF-21 ve NGAL'in de biyobelirteç olarak klinik öneme sahip olabileceğidir. Bu hipotezi test etmek için MAÜ olan ve olmayan Tip2DM olgularında, serum FGF-21 ve NGAL düzeyleri çalışılarak sonuçlar iyi bilinen renal belirteçler olan MAÜ ve sistatin C ile karşılaştırılmıştır. Çalışmamızın diğer hipotezi ise bu söz konusu yeni biyobelirteçlerin etkisinde adiponektin/leptin/PAI-1 salınım düzensizliklerinin etkili olabileceğidir. Bu hipotezi test etmek için de, MAÜ olan ve olmayan Tip2DM olgularında, adiponektin/leptin/PAI-1 düzeyleri saptanarak bu sitokinlerin FGF-21 ve NGAL ile aralarındaki ilişki ortaya konmuştur.

Gereç ve Yöntem

Gereçler

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)

Luminex Assay İçin Kullanılan Gereçler

Luminex Human Magnetic Assay -Human Premixed Multi-Analyte Kit (R&D Systems, Minneapolis, Minnesota, USA).

- CCL2/MCP-1 (BR25)
- IL-10 (BR22)
- IL-6 (BR13)
- TNF-alpha (BR12)
- Hs-CRP (BR62)

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 programı
- LABScan3D™ & LABScan™ 100 Systems

ELISA İçin Kullanılan Gereçler

Kitler

- 3.1.3.1.1. FGF-21 (FGF-21 Quantikine ELISA kit, R&D Systems, USA) Kiti
- 3.1.3.1.2. Cystatin-c (Human Cystatin C Quantikine ELISA Kit, Yehua, China) Kiti
- 3.1.3.1.3. NGAL (Human Lipocalin-2/NGAL Quantikine ELISA Kit, R&D Systems, USA) Kiti

Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer (Thermo Scientific™, USA)

Diğer Araç-Gereçler

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

Yöntem

Bu alışma, daha önce Etik Kurul onayı alınmış (EÜTF Etik Kurul, 5 Ađustos 2014, 14-7/10) bir başka çalışmanın yedek kan örnekleri ile yürütölmüştür. Söz konusu çalışmaya, Ege Üniversitesi Tıp Fakóltesi Hastanesi İç Hastalıkları Polikliniği'ne başvuran Tip2DM'lu olgulardan gönüllü olan ve çalışmaya dahil edilme kriterlerini karşılayan hastalar dahil edilmiştir. Bunun için hastaların

- Boy
- Ağırlık
- Kan basıncı ölçümü
- BKİ: Ağırlık (kg)/Boy²(m) saptanmıştır.

BKİ<35 olan hastalardan retrospektif olarak dosyalar taranarak çalışmaya alınma kriterlerini karşılayan, MAÜ'sü olan 40 hasta ve MAÜ'sü olmayan 40 hastabelirlenerek çalışmaya alınmıştır.

Çalışmaya alınma kriterleri

- Yaşın 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 gerekmektedir.

Bu çalışmanın laboratuvar analizleri için, yukarıdaki şekilde çalışmaya dahil edilen hastaların daha önceki çalışma için sabah 9:00-11:00 saatleri arasında alınmış olan ve alikotlanmış olarak -80 C'de saklanan kan örnekleri kullanılmıştır. EÜTF İç Hastalıkları Polikliniği'nde takipleri devam eden söz konusu önceki çalışmanın tüm hastalarına, yedek kan örneklerinin kullanılacağı çalışmamızla ilgili bilgi verilmiş ve Gönüllü Olur Formları imzalatılarak hastaların onayları temin edilmiştir. Ayrıca EÜTF Etik Kurulundan bu tez çalışması için 17-7.2/19sayılı izin alınmıştır.

Çalışmada kullanılan kitler, EÜTF Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'nda, üreticinin talimatlarına göre uygun saklama koşullarında saklanmıştır. ELISA ve Multipleks Assay kitleri saklama koşulları 2-8 °C'dir.

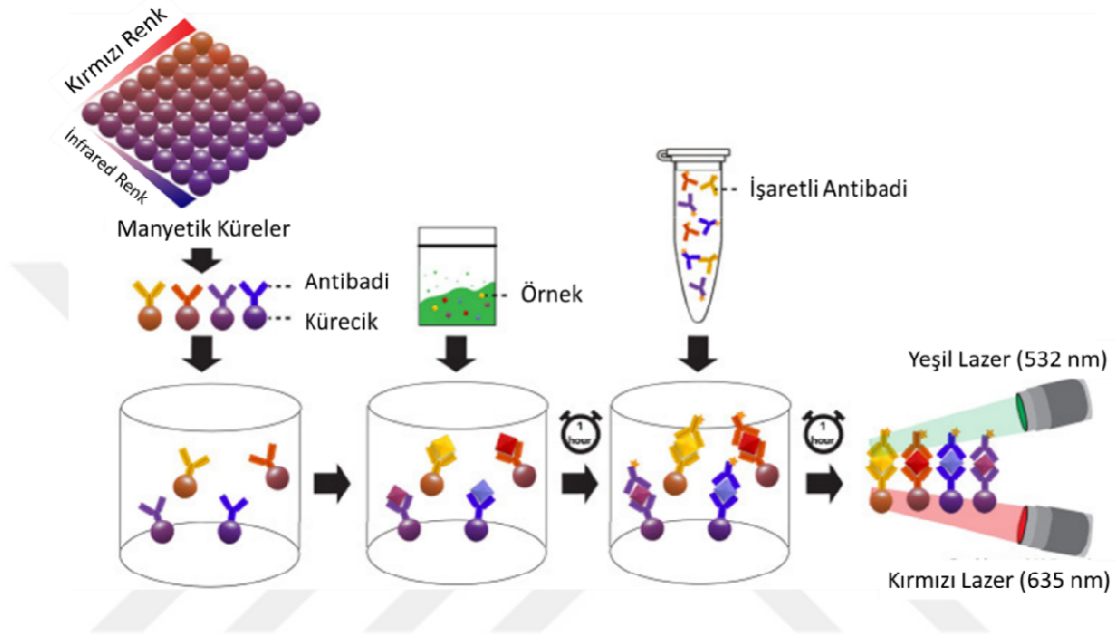
Multipleks Assay (Lumineks) Çalışmaları

Çalışmamızda, Adiponektin, PAI-1 ve leptin ölçümünde, daha küçük numune hacmi ve daha hızlı ölçüme izin veren Multipleks Assay sistemleri (Luminex Human Magnetic Assay, R&D Systems, USA) kullanılmıştır.

Luminex assay, içerisinde kırmızı veya kızılötesi floresan boya ile derecelendirilmiş bir karışım ile hazırlanmış yüzlerce özel mikrometre ölçekli plastik boncuk (mikroküreler) kullanarak analitlerin hızlı ve doğru ölçümlerini mümkün kılan bir yöntemdir. Boncukların içerisinde bulunan birbirinden farklı yüzlerce

floresan boya profilleri her bir numunenin sınıflandırılmasında ve ifadesinde kullanılır.

Manyetik veya polistiren mikropartiküller içeren bu teknolojiye, hedef moleküller manyetik mikrokürelerin üzerinde yer alan antikorlara bağlanır. Bu bağlanma ile manyetik alanda saptırılan mikrokürecikler floresanlı ikinci bir antikor ile işaretlendiğinde ışık farklılığına bağlı olarak ölçüm gerçekleşir (Şekil 1.).



Şekil 1. Manyetik mikropartiküller içeren Luminex panelinin işleyişinin şematik gösterimi. Örneğin sisteme eklenmesiyle, manyetik mikrokürelerin üzerinde yer alan antikorlara hedef moleküller bağlanır. Bu bağlanma ile manyetik alanda saptırılan mikrokürecikler floresanlı ikinci bir antikorla işaretlendiğinde ışık farklılığına bağlı olarak ölçüm gerçekleşir. Bu şekilde, aynı anda birden fazla molekül düzeyini tek bir numunede tespit edebilmek mümkündür.

Bu çalışmada Adiponektin, PAI-1 ve leptin ölçümünde kullanılan Luminex panelleri, İstanbul Üniversitesi ARLAB bünyesinde bulunan, LABScan3D™ & LABScan™ 100 Systems ekipmanı ile çalışılmıştır.

Adiponektin, PAI-1 ve Leptin'in Luminex ile Ölçülmesi

Analite özgü antikorlar, her mikroparçacık bölgesi için belirlenmiş oranlarda floroforlarla gömülü manyetik mikropartiküller üzerine önceden kaplanır. Mikropartiküller, standartlar ve örnekler kuyucuklara pipetlenir ve hareketsizleştirilmiş antikorlar ilgili analitleri bağlar. Bağlanmayan maddeleri

yıkadıktan sonra, ilgili analite özgü bir biyotinlenmiş antikor kokteyli her bir oyuğa ilave edilir. Yıkamadan sonrabiyotinlenmiş antikor, biyotinlenmiş antikora bağlanan streptavidin-fikoeritrin konjugatı (Streptavidin-PE) her bir oyuğa eklenir. Son yıkama bağlanmamış Streptavidin-PE'yi uzaklaştırır, mikropartiküller tampon içinde yeniden süspansedilir ve Luminex® MAGPIX® Analizörü kullanılarak okunur. Analizördeki bir mıknatıs, süper-paramanyetik mikropartikülleri yakalar ve bir tek tabakada tutar. İki spektral olarak farklı Işık Yayan Diyot (LED) mikropartikülleri aydınlatır. Bir LED, bölgeyi tanımlamak için her bir mikropartikül içindeki boyaı uyarır ve ikinci LED, mikropartiküle bağlanan analit miktarını ölçmek için PE'yi uyarır. Her oyuktaki bir örneği ayırt etmek için bir filtre seti içeren bir CCD kamera ile uyarma seviyeleri görüntülenir.

Çalışma Prosedürü:

1. Seyreltilmiş Mikropartikül kokteyli vortekslenerek yeniden süspansedilmiştir. Mikroplağın her oyuğuna bu kokteylden 50µL eklenmiştir. Standartlar ve örnekler de mikroplağa aynı hacimde eklenmiştir. Bir folyo ile bu plaka güvenli bir şekilde örtülmüş ve yatay bir orbital mikroplaka çalkalayıcıda 800 ± 50 rpm'ye ayarlanmış olarak 2 saat oda ısısında inkübe edilmiştir.
2. Her kuyucuk Yıkama Tamponu (100 µL) ile doldurulmuş ve sıvıyı uazklaştırmadan önce 1 dakika bekletilen mikroplak, bir manyetik tutucu kullanılarak yıkanmıştır. Yıkama solüsyonuyla yapılan işlem 3 kez tekrarlanmıştır.
3. Her bir oyuğa 50 µL seyreltilmiş Biotin-Antikor Kokteyli eklenmiştir. Bir folyo plaka ile güvenli bir şekilde örtülmüş ve 800 rpm'ye ayarlanmış olan çalkalayıcıda 1 saat oda ısısında inkübe edilmiştir. Sonrasında 2. basamaktaki yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir.
4. Her bir oyuğa 50 µL seyreltilmiş Streptavidin-PE eklenmiştir. Bir folyo plaka mühürleyen ile güvenli bir şekilde örtülmüş ve 800 rpm'ye ayarlanmış çalkalayıcıda oda ısısında 30 dakika inkübe edilmiştir. Sonrasında 2. basamaktaki yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir.

5. Her kuyuya 100 µL Yıkama Tamponu ekleyerek mikropartiküller tekrar süspansiyon edilerek, çalkalayıcıda 2 dakika 800 rpm'ye ayarlanmış şekilde resüspansiyon edilmiştir.
6. İnkübasyon sonrası plak MAGPIX cihazında okutulmuş ve sonuçlar MILLIPLEX Analyst programı ile hesaplanmıştır.

ELISA Çalışmaları

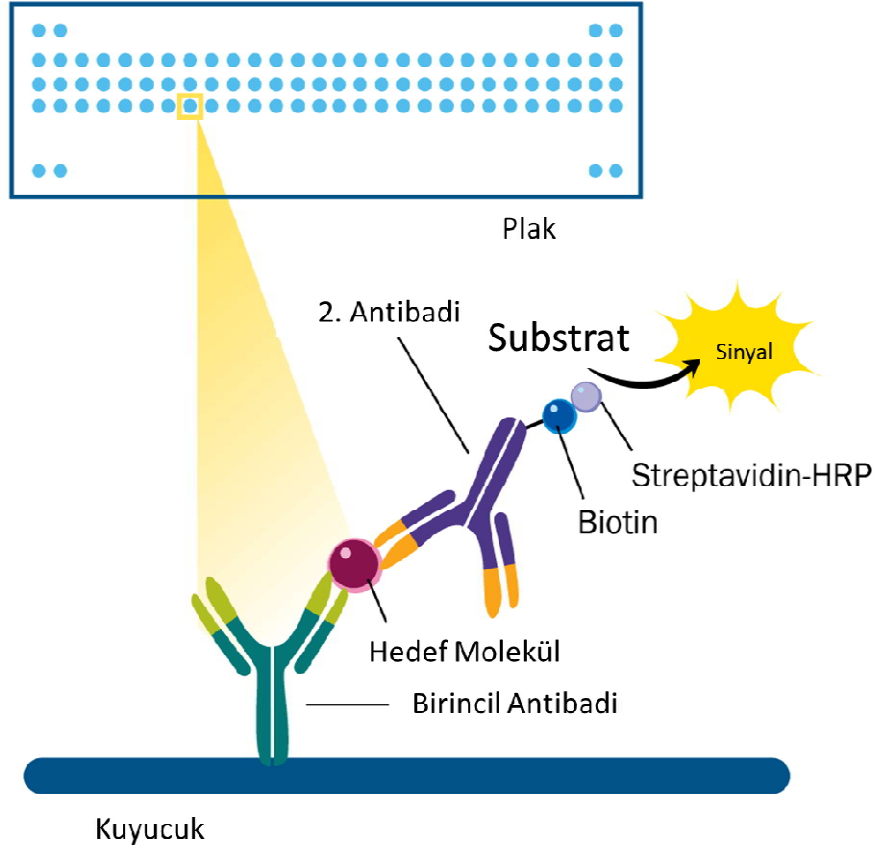
Enzim bağlı immünosorbent testi (enzyme linked immunosorbent assay-ELISA) özgül antijen-antikor arasındaki reaksiyona dayanır. ELISA yöntemi, spektrofotometre ile tayin edebilen renkli ürünler oluşturan reaksiyonları katalizleyen enzimlerin kovalent olarak bağlandıkları antikorlar kullanılarak belli antijenlerin varlığının tespiti için kullanılan bir yöntemdir. Bu çalışmada serum FGF-21 (FGF-21 Quantikine ELISA kit, R&D Systems, USA), Cystatin-c (Human Cystatin C Quantikine ELISA Kit, Yehua, China) ve NGAL (Human Lipocalin-2/NGAL Quantikine ELISA Kit, R&D Systems, USA) parametreleri ELISA yöntemiyle çalışılmıştır.

ELISA analizlerinde genelde kullanılan komponentler aşağıdaki gibidir:

- 1) Katı faz (Matriks): Çukurlarına analitlerin (antikor veya antijen) bağlı olduğu 96 çukurlu mikropalakalar
- 2) Antikor: IgG fraksiyonları
- 3) Enzim ve substratları: Konjugatın işaretlenmesinde kullanılan ve substratlarını renkli ürünlere çevirebilen alkalen fosfataz (AP) ya da horseradish peroksidaz (HRP) enzimleri ve bunların substratları (AP için 5-bromo-4-kloro-3-fosfat indol/nitro mavi tetrazolyum ve HRP için tetrametilbenzidin)
- 4) Yıkama tamponu: Her bir safha arasında yıkamada kullanılan fosfatlı tampon solüsyonu
- 5) Durdurma çözeltileri: 'Reaksiyon durdurulması' basamağında kullanılan asidik ve bazik çözeltiler (H_2SO_4 , HCl, NaOH)

Bu sistemde, spektrofotometrik ölçüm yapılabilmesi için üzerinde farklı sayıda kuyucuk olan ışık geçirgen polistiren bir plak birincil antikorlar (veya antijenler) ile kaplanmıştır. Hedef biyomolekülü içeren örnek, bu kuyucuklara

eklenerek antikor-antijen etkileşimi sağlanır. Tespit aşamasında, enzim konjuge antijen veya antikora bağlanır. Plak daha sonra boşaltılır ve yıkanır. Son olarak, plağa bir substrat yerleştirilir ve enzim-substrat reaksiyonuyla verilen sinyal ölçülerek sinyal elde edilir (Şekil 2).



Şekil 2. ELISA prensibinin şematik olarak gösterimi. Üzerinde farklı sayıda kuyucuk olan ışık geçirgen polistiren bir plak birincil antikorlarla (veya antijenler) kaplanır. Hedef molekülü içeren örnek, bu kuyucuklara eklendiğinde antikor-antijen etkileşimi sağlanır. Tespit aşamasında, enzim konjuge antijen veya antikora bağlanır. Plak daha sonra boşaltılır ve yıkanır. Son olarak, plağa bir substrat yerleştirilir ve enzim-substrat reaksiyonuyla verilen sinyal ölçülerek sinyal elde edilir.

FGF-21 Ölçümleri

Bu metodun prensibikantitatif sandviç enzim immünoassay tekniğidir. İnsan FGF-21'e özgü bir monoklonal antikor, bir mikropalak üzerine önceden ticari olarak hazır olacak şekilde kaplanmıştır. Standartlar ve örnekler, kuyucuklara pipetlenmiştir ve mevcut herhangi bir FGF-21 içeren örnek, önceden immobilize antikor tarafından bağlanmıştır. Bağlanmayan maddeleri yıkadıktan sonra, oyuklara insan FGF-21'e özgü enzim bağlı bir poliklonal antikor eklenir. Bağlanmayan herhangi bir antikor-

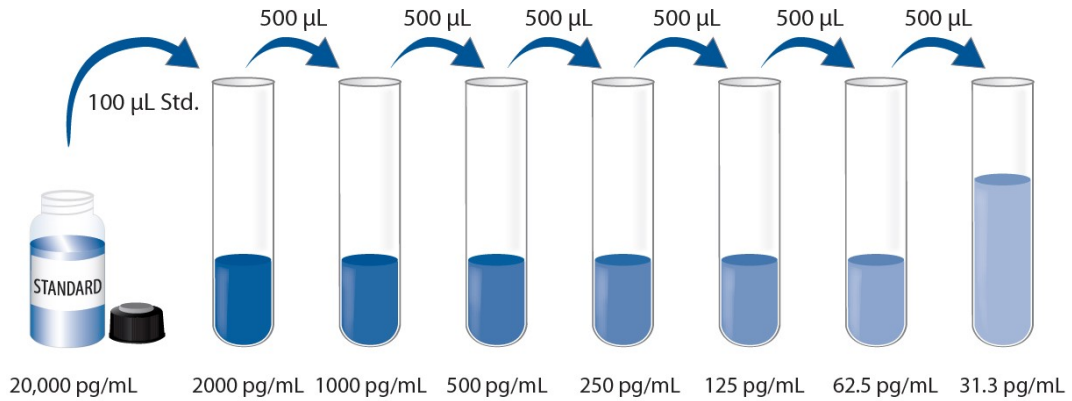
enzim reaktifini uzaklaştırmak için yapılan bir yıkamayı takiben, kuyucuklara bir substrat çözeltisi eklenir ve başlangıç aşamasında bağlanan FGF-21 miktarı ile orantılı olarak renk gelişir. Ardından renk gelişimi durdurulur ve rengin yoğunluğu ölçülür. Reaksiyon kimyasalları kullanım kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

Yıkama Tamponu– Konsantre çözeltinin içinde kristaller çözünene kadar oda sıcaklığında hafifçe çalkalanmıştır. 500 mL Yıkama Tamponu hazırlamak için deiyonize veya distile suya 20 mL Yıkama Tamponu Konsantresi eklenmiştir.

Substrat Solüsyonu - Renk Reaktifleri A ve B kullanmadan 15 dakika öncesinde ışıktan korunarak eşit hacimlerde karıştırılmıştır. Elde edilen karışımdan kuyucuk başına 200 µL olacak şekilde kullanılmıştır.

Kalibratör Seyreltici RD6-10 (1: 2 oranında seyreltilmiş) - 40 mL Kalibratör Seyreltici RD6-10 (1:2 seyreltilmiş) hazırlamak için 20 mL RD6-10, 20 mL deiyonize suya eklenerek hazırlanmıştır.

İnsan FGF-21 Standardı - İnsan FGF-21 Standardı deiyonize su ile hazırlanmıştır. Bu işlem ile 20 000 pg/mL'lik bir stok çözeltisi elde edilmektedir. Polipropilen tüpler kullanılarak 900 µL Kalibratör Seyreltici RD6-10 (1: 2 oranında seyreltilmiş) 2000 pg/mL standart içeren tüpe eklenmiş ve 15 dakika bekletilerek buradan seri dilüsyonlar yapılmıştır (Şekil 3). Her bir tüpe seri dilüsyon için 500 µL seyreltici pipetlenmiş, ayrıca bir önceki tüpten 500 µL eklenerek seyreltme yapılmıştır. 2 000 pg/mL standart içeren tüp en yüksek düzeyde standart örneği olurken, Kalibratör Seyreltici RD6-10 (1: 2 oranında seyreltilmiş) içeren tüpte sıfır standart (0 ng/mL) olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3. Seri dilüsyon işleminin şematik gösterimi

Çalışma Prosedürü:

1. Her bir oyuğa 100 µL Seyreltici RD1S eklenmiştir.
2. Oyuuk başına 50 µL standart, kontrol veya numune eklenerek mikroplağın üstü kapatılmıştır. Oda sıcaklığında 2 saat inkübe edilmiştir.
3. 2 saat sonunda kuyucukların tamamı aspire edilmiş ve yıkanmıştır, yıkama işlemi toplam dört yıkama için üç kez tekrarlanmıştır. Her bir kuyucuk Yıkama Tamponu (400 µL) ile doldurularak yıkanmıştır. Plak ters çevrilerek ve temiz kağıt havlulara fazlalıklar akıtılarak kurutulmuştur.
4. Sonrasında her bir oyuğa 200 µL insan FGF-21 Konjugatı eklenerek plağın üstü kapatılmış ve oda sıcaklığında 2 saat inkübe edilmiştir.
5. Aspirasyon / yıkama işlemi 3. adımdaki gibi tekrarlanmıştır.
6. Her bir oyuğa 200 µL Substrat Solusyonu eklenerek oda sıcaklığında ışıktan korunarak 30 dakika inkübe edilmiştir.
7. Her bir oyuğa 50 µL Durdurma Solüsyonu eklenmiştir.
8. 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropalak okuyucu kullanarak okuma işlemi gerçekleştirilmiştir.

NGAL Ölçümleri

Bu yöntemin prensibi, kantitatif sandviç enzim immünoassay tekniğidir. Yöntemde insan NGAL'e özgü monoklonal antikorla kaplı bir mikropalak kullanılmış, standartlar ve örnekler kuyucuklara pipetlenerek numunelerdeki NGAL'in immobilize antikor tarafından bağlanması sağlanmıştır. Bağlanmayan maddeler yıkanarak uzaklaştırıldıktan sonra kuyucuklara insan NGAL'e özgü enzim bağlı bir monoklonal antikor eklenmiştir. Bağlanmayan herhangi bir antikor-enzim reaktifini uzaklaştırmak için yapılan bir yıkamayı takiben, kuyucuklara substrat çözeltisi eklenmiş ve ilk aşamada bağlanan NGAL miktarıyla orantılı olarak renk gelişimi sağlanmıştır. Ardından renk gelişimi durdurularak oluşan rengin yoğunluğu ölçülmüştür.

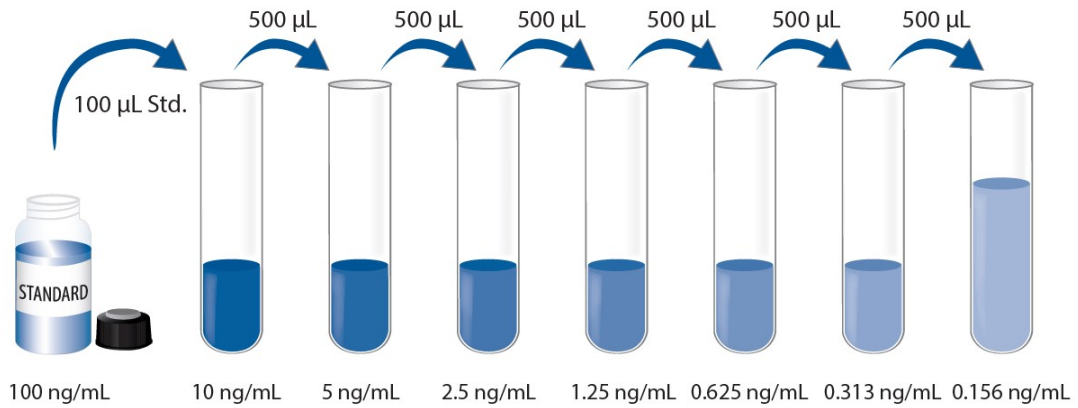
Yıkama Tamponu - Solüsyon içindeki kristaller tamamen çözülene kadar oda ısısında hafifçe karıştırılmış ve 500 mL Yıkama Tamponu hazırlamak için deiyonize suya 20 mL Yıkama Tamponu Konsantresi eklenmiştir.

Substrat Solüsyonu - Renk Reaktifleri A ve B 15 dakika içerisinde eşit hacimlerde ışıktan koruyarak karıştırılmıştır. Elde edilen karışımdan kuyucuk başına 200µL gereklidir.

Kalibratör Seyreltici RD5-24 (1:5 oranında seyreltilmiş) - 100 mL Kalibratör Seyreltici RD5-24'ü (seyreltilmiş 1: 5) hazırlamak için 20 mL RD5-24,80 mL deiyonize su ile seyreltilmiştir.

Human NGAL Standard– İnsan NGAL Standardı deiyonize su ile standart polipropilen tüplerde hazırlanmıştır. Bu işlem ile 100 ng/mL'lik bir stok çözeltisi elde edilmektedir.

Standart (10 ng/mL) içeren tüpe 900 µL Kalibratör Seyreltici RD5-24 (1: 5 oranında seyreltilmiş) eklenmiştir. Kalan diğer tüplere seri dilüsyon için 500 µL seyreltici pipetlenmiştir. Stok solüsyon kullanılarak aşağıdaki gibi bir seri dilüsyon elde edilmiştir. The 10 ng/mL'lik standart, en yüksek değerli standart iken kalibratör seyreltici RD5-24 (1: 5 oranında seyreltilmiş) sıfır standart (0 ng/mL) işlevi görmektedir.



Şekil 4. Seri dilüsyon işleminin şematik gösterimi

Çalışma Prosedürü:

1. Her bir oyuğa 100 µL Assay Diluent RD1-52 eklenmiştir.
2. Oyuuk başına 50 µL standart, kontrol veya örnek (örnekler 20 kat seyreltilerek kullanılmıştır: 20 µL örnek + 380 µL Kalibratör Seyreltici RD5-24 (1: 5 oranında seyreltilmiş) eklenmiştir. Mikroplak, kitin içinde sağlanan yapışkan şerit ile örtülerek 2-8 ° C'de 2 saat inkübe edilmiştir.
3. Her kuyucuk aspire edilmiş ve yıkanmıştır, bu işlem toplam dört yıkama için üç kez tekrarlanmıştır. Her bir kuyucuk Yıkama Tamponu (400 µL) ile doldurularak yıkanmıştır.
4. Her kuyuya 200 µL soğuk Human Lipocalin-2 Konjugatı eklenmiştir. Plak yeni bir yapışkan şerit ile örtülerek 2-8 ° C'de 2 saat inkübe edilmiştir.
5. Aspirasyon / yıkama işlemi 3. adımdaki gibi tekrarlanmıştır.
6. Her bir oyuğa 200 µL Substrat Solusyonu eklenmiş ve oda sıcaklığında ışıktan korunarak 30 dakika inkübe edilmiştir.
7. Her bir oyuğa 50 µL Durdurma Solüsyonu eklenerek 450 nm'ye ayarlanmış bir mikroplak okuyucu kullanarak 30 dakika içinde her kuyucuğun optik yoğunluğu belirlenmiştir.

Sistatin C Ölçümleri

Bu yöntemin prensibi, kantitatif sandviç enzim immünoassay tekniğidir. Yöntemde poliklonal anti-human Sistatin C antikoruyla kaplı bir mikroplak kullanılmıştır. Standartların ve örneklerin kuyucuklara pipetlenerek 30 dk inkübasyonlarının ve yıkanmalarının ardından plağa horseradish peroxidase (HRP) ile konjuge edilmiş poliklonal anti-human sistatin C antikoruna eklenerek ortamdaki sistatin C ile 30 dk inkübasyonu sağlanmıştır. Bağlanmayan herhangi bir antikor-enzim reaktifini uzaklaştırmak için yapılan bir yıkamayı takiben, kuyucuklara substrat çözeltisi eklenmiş ve bu çözeltiyle kalan HRP'nin tepkimeye girmesi sağlanmıştır. Ardından asidik bir çözelti eklenerek tepkime durdurulmuş ve oluşan ürünün absorbansı okunmuştur.

Yıkama Solüsyonu - Solüsyon içindeki kristaller tamamen çözülene kadar oda ısısında hafifçe karıştırılmış ve 1000 mL Yıkama Tamponu hazırlamak için 900 mL deiyonize suya 100 mL Yıkama Tamponu Konsantresi (10x) eklenmiştir.

Konjugat Solüsyonu –12.50 mL konjugat solüsyonu hazırlamak için 12.25 mL Konjugat Seyreltici içine 0.25 mL Konjugat Solüsyonu Konsantresi (50x) eklenmiştir.

Seyreltici Tampon- 10 mL Seyreltici Tampon (10x), 90 mL deiyonize su ileseyreltilmiştir.

Standartlar– Sıstatin C Standardı (400x) Seyreltici Tampon ile 2 aşamada seyreltilmiştir:

Seyreltme A (10x) - 10 mL standart + 90 mL Seyreltici Tampon

Seyreltme B (40x) – 10 mL Seyreltme A çözeltisi + 390 mL Seyreltici Tampon deiyonize su ile standart polipropilen tüplerde hazırlanmıştır. Bu işlem ile 100 ng/mL'lik bir stok çözeltisi elde edilmektedir.

Çalışma Prosedürü:

1. Oyuuk başına 100 µL standart, kontrol veya örnek (örnekler 400 kat seyreltilerek kullanılmıştır: 10 µL örnek + 90 µL Seyreltici Tampon, ardından bu çözeltiden 10 ml + 390 mL Seyreltici Tampon) eklenmiştir.
2. Mikroplak, 25 ° C'de 30 dk inkübe edilmiştir.
3. Her kuyucuk Yıkama Tamponu (350 µL) ile doldurularak yıkanmıştır. Bu işlem toplam üç kez tekrarlanmıştır.
4. Her kuyuya 100 µL Konjugat Solüsyonu eklenmiştir.
5. Plak 25 ° C'de 30 dk inkübe edilmiştir.
6. Aspirasyon / yıkama işlemi 3. adımdaki gibi tekrarlanmıştır.
7. Her bir oyuğa 100 µL Substrat Solüsyonu eklenmiş ve oda ısısında ışıktan korunarak 10 dakika inkübe edilmiştir.

Her bir oyuğa 100 µL Durdurma Solüsyonu eklenerek 450 nm'ye ayarlanmış bir mikroplak okuyucu kullanarak 5 dakika içinde her kuyucuğun optik yoğunluğu

belirlenmiştir. Elde edilen veriler SPSS v 21 istatistik analiz programında analiz edilmiştir. Sayısal değişkenlerin dağılımı kontrol edilerek, gruplar arasındaki farklar, student t testi ile analiz edilmiştir. Anlamlılık derecesi olarak $p < 0,05$ alınmıştır.



Bulgular

Çalışmamızdaki olguların demografik verileri Tablo 1’de gösterilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. MAÜ’lü ve MAÜ’süz Tip2DM 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)#	29,62±3,9	30,8±8,5
Diabet süresi#(Gün)	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
Hemoglobin A1c-HbA1c %	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

*Yüzde (%) değerleri

Ortalama ve standart sapma değerleri

1. MAÜ Olmayan Hastaların Hedef Biyobelirteçlerinin ve diğer DN Parametrelerinin Verileri

MAÜ olmayan hastaların hedef biyobelirteçlerinin ve diğer DN parametrelerinin minimum, maksimum, ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. MAÜ olmayan kişilerde hedef biyobelirteçlerin ve diğer DN parametrelerinin verileri.

	N	Minimum	Maksimum	Ortalama	Std. Sapma
SistatinC(pg/mL)	40	2,17	26,59	13,54	5,65
FGF-21(pg/mL)	40	22,85	902,08	254,78	171,19
Lipokalin(pg/mL)	40	55,41	86,99	78,00	7,46
Leptin(pg/mL)	40	815,04	27528,0	7470,42	5797,55
PAI-1 (pg/mL)	40	353,24	506,76	452,77	33,37
Adiponektin(pg/mL)	40	169,75	400,49	304,98	48,74
Diyabet Süresi(gün)	40	1	336	91,75	75,99
Albumin(gr/dL)	33	4,0	5,2	4,63	0,30
Crea(mg/dL)	40	0,43	1,03	0,75	0,14
ÜA(mg/dL)	31	3,4	7,5	5,03	1,08
İdrarMA/Crea(mg/gr)	39	1,8	19,5	9,04	5,6

2. MAÜ Olan Hastaların Hedef Biyobelirteçlerinin ve diğer DN Parametrelerinin Verileri

MAÜ olan hastaların hedef biyobelirteçlerinin ve diğer DN parametrelerinin minimum, maksimum, ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 3. MAÜ olan kişilerde hedef biyobelirteçlerin ve diğer DN parametrelerin verileri.

	N	Minimum	Maksimum	Ortalama	Std. Sapma
SistatinC(pg/mL)	40	0,34	29,13	14,66	7,89
FGF-21(pg/mL)	40	63,31	2364,38	530,36	561,10
Lipokalin(pg/mL)	40	72,01	88,83	82,38	4,23
Leptin(pg/mL)	40	904,56	115403,00	14461,27	24931,49
PAI-1 (pg/mL)	40	302,46	541,38	431,85	48,45
Adiponektin(pg/mL)	40	204,91	468,07	324,44	55,99
Diyabet Süresi(gün)	40	1	360	144,00	108,69
Albumin(gr/dL)	36	2,4	5,2	4,36	0,63
Crea(mg/dL)	39	0,54	2,12	0,91	0,36
ÜA(mg/dL)	36	2,90	12,80	6,02	2,05
İdrarMA/Crea(mg/gr)	39	20,2	5156,2	380,71	1000,46

3. MAÜ Olan ve Olmayan Hastaların Sonuçlarının Karşılaştırılması

Çalışmamızda araştırılan biyobelirteçlerin, MAÜ görülen ve görülmeyen hastalardaki değerleri ve standart sapma miktarları Tablo 4’de verilmiştir(Tablo 4).

Tablo 4.MAÜ olan ve olmayan hastalarda hedef biyobelirteçlerin ölçüm değerleri

(*kalin yazılar anlamlı olan verilerdir, tüm biyobelirteçlerin birimi pg/mL'dir*)

	MAÜ	N	Ortalama	Std. Sapma	Std. Hata	p
SistatinC	MAÜ yok	40	13,55	5,65	0,89	0,470
	MAÜ var	40	14,66	7,89	1,25	
FGF-21	MAÜ yok	40	254,79	171,19	27,07	0,005
	MAÜ var	40	530,36	561,10	88,72	
Lipokalin	MAÜ yok	40	78,00	7,47	1,18	0,002
	MAÜ var	40	82,38	4,23	0,67	
Leptin	MAÜ yok	40	7470,42	5797,55	916,67	0,091
	MAÜ var	40	14461,27	24931,49	3942,01	
PAI-1	MAÜ yok	40	452,78	33,38	5,28	0,027
	MAÜ var	40	431,85	48,45	7,66	
Adiponektin	MAÜ yok	40	304,98	48,75	7,71	0,101
	MAÜ var	40	324,44	55,99	8,85	

Hedef olarak seçilen biyobelirteçlerin, MAÜ görülen ve görülmeyen hastalardaki (n=40) farklılığı t testi ile değerlendirilmiş ve grafiklerle gösterilmiştir (Şekil 5, A,B,C,D,E,F):

* Şekil 5A'da gösterilen Sistatin C değerlerinde iki grup arasında istatistiksel anlamda bir fark görülmesi de MAÜ'sü olan hastalarda Sistatin C değerlerinin yüksek olduğu izlenmektedir (MAÜ olmayanlarda 13,5 pg/mL, MAÜ olanlarda 14,7 pg/mL).

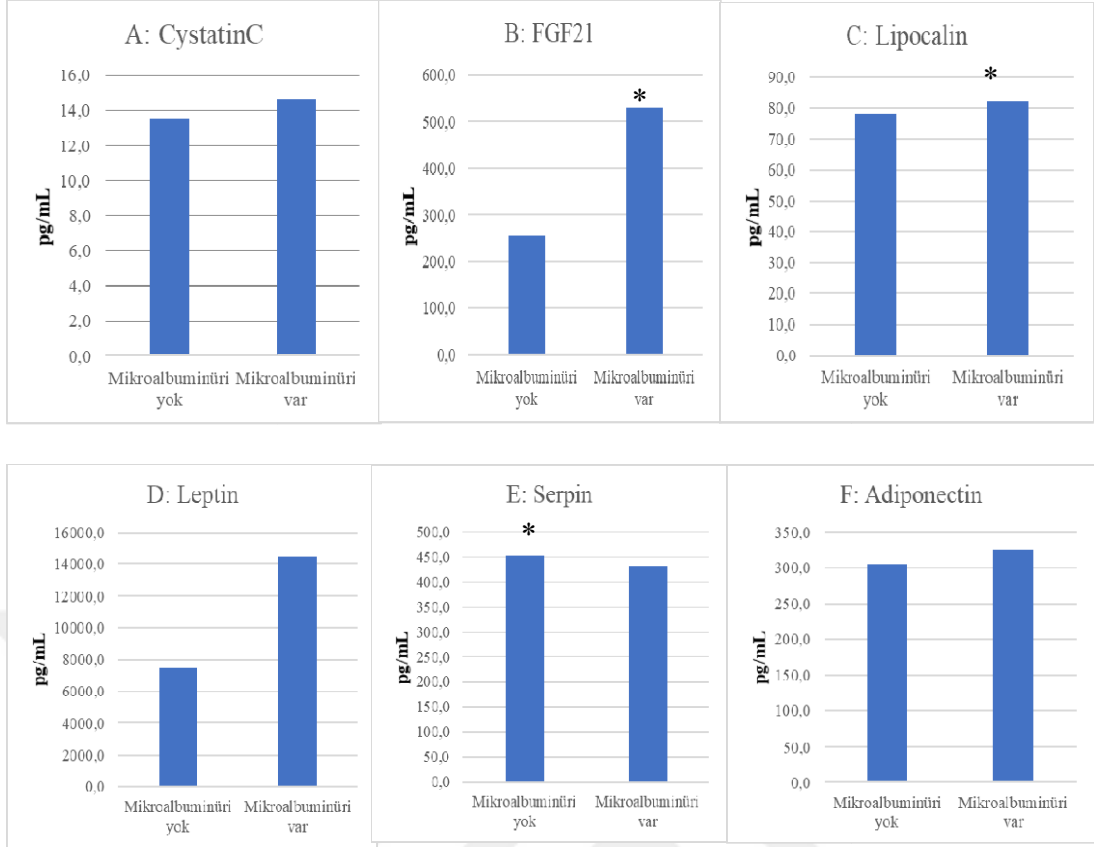
* Şekil 5B’de gösterilen FGF-21 biyobelirtecinde ise MAÜ olan hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik görülmektedir (MAÜ olmayanlarda 254,8 pg/mL, MAÜ olanlarda 530,4 pg/mL)

* Şekil 5C’de görülen Lipokalin sonuçlarında da yine MAÜ olan hastalarda (82,4 pg/mL) olmayanlara (78 pg/mL) göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek değerler izlenmektedir.

* Şekil 5D’de gösterilen Leptin sonuçlarında da, MAÜ’lü hastalarda (14461,3 pg/mL) MAÜ olmayanlara (7470,4 pg/mL) göre leptin değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı olmasa da yükseldiği görülmektedir.

* Şekil 5E’de MAÜ olan ve olmayan örneklerde saptanan PAI-1 düzeyleri değerlendirildiğinde, bu biyobelirtecin MAÜ olmayanlarda (452,8 pg/mL) MAÜ olan hastalara göre (431,9 pg/mL), istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek olduğu görülmektedir.

* Şekil 5F’de ise MAÜ olan hastalarda (324,4 pg/mL), olmayanlara (305 pg/mL) göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha yüksek adiponektin seviyeleri izlenmektedir.



Şekil 5. MAÜ olan ve olmayan hastalarda hedef biyobelirteçlerin karşılaştırması

A: CystatinC, B: FGF21, C: Lipokalın, D: Leptin, E: Serpin, F: Adiponectin (*: anlamlı sonuçlar)

Çalışmamızda araştırılan biyobelirteçler arasındaki korelasyonlar Tablo 5'te gösterilmiştir. Buna göre Sistatin C ile PAI-1 arasında (-) ve adiponektin ile leptin arasında (+) korelasyon görülmektedir.

Tablo 5. Çalışma biyobelirteçleri arasındaki korelasyonlar

(Kalın yazılılar anlamlı olanlardır, birimler pg/mL'dir)

		SistatinC	FGF-21	Lipokalin	Leptin	PAI-1	Adiponektin
Sistatin C	Pearson Korelasyonu	1	,136	-,089	,083	-,358**	,118
	Sig. (2-tailed)		,228	,432	,463	,001	,297
	N	80	80	80	80	80	80
FGF-21	Pearson Korelasyonu	,136	1	,124	,121	-,033	,031
	Sig. (2-tailed)	,228		,271	,286	,772	,786
	N	80	80	80	80	80	80
Lipokalin	Pearson Korelasyonu	-,089	,124	1	,182	,118	,172
	Sig. (2-tailed)	,432	,271		,107	,298	,126
	N	80	80	80	80	80	80
Leptin	Pearson Korelasyonu	,083	,121	,182	1	-,087	,318**
	Sig. (2-tailed)	,463	,286	,107		,441	,004
	N	80	80	80	80	80	80
PAI-1	Pearson Korelasyonu	-,358**	-,033	,118	-,087	1	-,043
	Sig. (2-tailed)	,001	,772	,298	,441		,704
	N	80	80	80	80	80	80
Adiponektin	Pearson Korelasyonu	,118	,031	,172	,318**	-,043	1
	Sig. (2-tailed)	,297	,786	,126	,004	,704	
	N	80	80	80	80	80	80

** Korelasyon 0,01 düzeyinde önemlidir (2-tailed).

Tartışma

Son dönem böbrek hastalığının önde gelen nedeni olan DN, diyabetin başlıca komplikasyonlarından biridir ve hastaların % 20-40'ında görülür. Tip2DM'lu hastalarda DN, kardiyovasküler olaylar, kardiyovasküler mortalite ve ayrıca toplam mortalite ile ilişkili en sık hastaneye yatış nedenlerinden biridir. Son 10 yılda Tip2DM tedavisi yöntemlerindeki iyileşmelere rağmen, DN ile diyaliz görülme sıklığı azalmamıştır. Bu nedenle, DN insidansını ve ilerlemesini yavaşlatmayı amaçlayan tüm renoprotektif stratejilerin dikkate alınması gereklidir. Hem DM, hem de DN insidansındaki artış göz önüne alındığında, DN'nin erken saptanması, son dönem böbrek hastalığına doğru gelişmeyi önleyen veya yavaşlatan uygun bir tedavi sağlamak için çok önemlidir.

Biyobelirteçler DN'nin erken saptanmasında önemli rol oynar. Bunlar arasında en iyi bilinen MAÜ'dür. MAÜ, aynı zamanda, böbrek tutulumunu kardiyovasküler ve serebral bozuklukla ilişkilendirmekte ve DM'da bulunan genelleşmiş endotel disfonksiyonunun bir işaretçisi olmaktadır. MAÜ'nin sadece glomerüler hasarı değil, aynı zamanda tübüler lezyonları da yansıttığı, filtrelenmiş albuminin tübüler seviyede yeniden emildiği gösterilmiştir. Günümüzde DN'nin en erken ve en sık kullanılan klinik indeksi MAÜ olsa da, bu belirtecin erken tanıda sensitivite ve spesifitesihala sorgulanmaktadır. MAÜ'lü tüm olgularda açık DN gelişmediği gibi normoalbuminürik DN'un görülmesi de az değildir. Bu nedenle, risk altındaki hastaları belirleyecek alternative biyobelirteçlere gereksinim açıktır.

Çalışmamızda da, MAÜ olan ve olmayan T2DM'lu olgularda DN'nin olası erken biyobelirteçleri olarak FGF-21 ve NGAL araştırılmıştır. Bu iki parametrenin MAÜ olan olgularda istatistiksel olarak anlamlı yüksekliği bu biyobelirteçlerin DN'de kullanılması için umut vermektedir. FGF-21 ve NGAL'in T2DM patogeneziyle ilişkisinin de giderek araştırıldığı günümüzde, bu iki parametrenin T2DM'la ilişkili adiponektin, PAI-1 ve leptinle olası etkileşimleri de çalışmamızda incelenmiştir. PAI-1'in MAÜ olan olgularda anlamlı düşük düzeylerde olması, MAÜ gelişimiyle birlikte giden bir fibrinoliz bozukluğuna işaret etmektedir. Çalışmamızda araştırılan parametreler arasındaki ilişkiler değerlendirildiğinde ise, sistatin C ve PAI-1 arasında ortaya çıkan (-) korelasyon ve adiponektin ile leptin arasındaki (+) korelasyon dikkat çekicidir.

Jeon ve arkadaşları (Jeon et al., 2011) T2DM'lu normoalbuminürik hastalarda yaptıkları çalışmada, serum ve idrar sistatin C düzeylerinin klinik yararlılığını değerlendirmişler, albuminüri ile serum / idrar sistatin C arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Araştırmacılar, T2DM'lu hastaları (n = 332), normoalbuminüri (n = 210) ile mikroalbuminüri (n = 83) ve makroalbuminüri (n = 42) olarak ayırmışlardır. Daha sonra olgularda kreatinin, idrar albümin seviyeleri, serum / idrar sistatin C ve tahmini glomerüler filtrasyon hızı (MDRD [Renal Hastalıkta Diyetin Değiştirilmesi] ve CKD-EPI [Kronik Böbrek Hastalığı Epidemiyoloji İşbirliği] denklemleri) ile eGFR saptamışlardır. Serum ve idrarda sistatin C düzeyleri artan albuminüri derecesiyle artarken, makroalbuminürik hastalarda daha yüksek seviyelere ulaşmıştır (p<0,001). Araştırmacılar, serum ve idrar sistatin C düzeylerinin, normoalbuminüri T2DM'lu hastalarda böbrek fonksiyon bozukluğu için önemli biyobelirteçler olabileceğini belirtmişlerdir.

Böbrek tutulumunun diyabetin başlangıcından 10 yıl sonra gerçekleştiği düşünülmeyle birlikte, son çalışmalar diyabet öncesi dönemde bile böbrek hasarının başladığına dair kanıtlar sunmaktadır. Ancak, bu değişiklikleri bu kadar erken aşamada tespit edecek hassas bir belirteç yoktur. Yeni biyobelirteçlerin, diyabet öncesi ya da erken DN'nin saptanmasında araştırılmasıyla ilgili çalışmalar devam etmektedir.

Bizim çalışmamızda bu açıdan araştırılan önemli parametrelerden biri serum FGF-21'dir. MAÜ'li olgularda bu belirtecin anlamlı derecede yüksek olması bu parametrenin ileride klinik kullanıma girmesi açısından ümit vaat etmektedir.

FGF-21, lipid ve karbohidrat metabolizmasının düzenlenmesinde rol oynayan hepatik bir hormondur. Lin ve arkadaşları (Lin et al., 2011) 240 gönüllü içerisinde kronik böbrek hastalığı (KBH) olan 200 hasta (146 ayakta hasta ve 54 uzun süreli hemodiyalizli hasta) ve 40 sağlıklı kontrol hastasını çalışmaya alınarak bir değerlendirme yapmışlardır. Plazma FGF-21 düzeyi kreatinin, kan üre azotu (BUN), mikroglobulin, sistolik basınç, adiponektin, fosfat, proteinüri, CRP ve trigliserit ile pozitif korelasyon gösterirken, kreatinin klirens oranı (CCR) ve tahmini glomerüler filtrat oranı (eGR) ile negatif korelasyon göstermiştir. Plazma FGF-21 seviyelerinin, erken-sonaşama kronik böbrek hastalığı gelişimi ile belirgin şekilde arttığı ve böbrek fonksiyonları ve advers lipid profilleri ile bağımsız olarak ilişkili olduğu bildirilmiştir.

Crasto ve arkadaşları (Crasto, Semba, Sun, & Ferrucci, 2012) FGF-21'in böbrek fonksiyonu ve kronik böbrek hastalığı ile ilişkisinin yetişkinlerde iyi karakterize edilmediğini düşünerek bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Serum FGF-21'in bağımsız olarak renal fonksiyon ve kronik böbrek hastalığı ile ilişkili olduğunu varsayarak 2002 - 2007 yılları arasında 744 erişkinde serum FGF-21 ve böbrek fonksiyonunu araştırmışlardır. Genel olarak, ortalama serum FGF-21 konsantrasyonu, 227 pg / mL (25 inci yüzdalık 127, 75 inci yüzdalık 371) olmuştur. Yaş, cinsiyet, ırk, mevcut sigara içme, vücut kitle indeksi (BKİ), eGFR ve hipertansiyon, anjina, konjestif kalp yetmezliği ve kronik böbrek hastalığı olan bireylerin oranı FGF-21'in tertilleri arasında belirgin olarak farklı olarak bulunmuştur. Serum FGF-21'in tertilleri ile diyabet, miyokard enfarktüsü, inme ve kanser arasında anlamlı bir fark görülmemiştir.

Bir başka çalışmada ise, FGF-21'in son evre böbrek hastalığı olan hastalarda metabolik düzenleyici olarak rol oynayıp oynamadığını araştıran Han ve arkadaşları (Han et al., 2010), sağlıklı kişilerde ve diyabetik olmayan peritoneal diyaliz hastalarında serum FGF-21 konsantrasyonları ile inflamatuvar belirteçleri ve metabolik parametreleri ölçmüşlerdir. Hastalar anjiyotensin reseptör blokajı ile tedavi edilerek 6 ay boyunca FGF-21 konsantrasyonu ve metabolik parametrelerdeki değişiklikler değerlendirilmiştir. Kontrollerle karşılaştırıldığında, periton diyalizi uygulanan hastalarda serum FGF-21 konsantrasyonlarının 8 kat daha yüksek olduğu bulunmuştur ($754.2 \pm 463.5 - 86.9 \pm 60.2$ pg/mL, $p < .001$). Kontrollerde, sadece lipit parametreleri FGF-21 konsantrasyonu ile pozitif korelasyon göstermiştir. Buna karşılık periton diyalizi hastalarında serum FGF-21 konsantrasyonu, inflamatuvar belirteçler (interlökin-6, fibrinojen, yüksek duyarlılıkta C-reaktif protein) ve HOMA-IR ile pozitif ve rezidüel böbrek fonksiyonunu ile negatif korelasyon göstermiştir. Hastalarda 6 aylık anjiyotensin reseptör blokajı tedavisinden sonra, serum FGF-21 konsantrasyonu %13 oranında anlamlı bir düşüş göstermiş ve periton diyalizi hastalarında HOMA-IR ve inflamatuvar belirteçler düzelme eğilimine girmiştir. Bu bulgular FGF-21'in son dönem böbrek hastalığı olan hastalarda insülin direncinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Öte yandan, Garg ve arkadaşları (Garg et al., 2015) idrar sistatin C'nin tübüler hasarı gösterdiğini ve bu biyobelirtecin diyabetik-prediyaetik nefropatinin erken dönemlerinde arttığını belirlemek için yaptıkları çalışmaya toplam 91 denek

(diyabet 61 ve diyabet öncesi 30) dahil etmişlerdir. Bu çalışmada, idrar NGAL, idrar sistatin C ve idrar albümin-kreatinin oranı (UACR) gibi idrar biyobelirteçleri belirlenmiştir. Hastalar ayrıca UACR temelinde dört gruba ayrılmıştır: normoalbuminüri+diyabet öncesi (n=21); mikroalbuminüri+ön diyabet (n=9); normoalbuminüri+diyabet (n=37); ve mikroalbuminüri+diyabet (n=24). Bu çalışmada UACR, NGAL ve sistatin C arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. İdrar NGAL ve sistatin C düzeyleri, MAÜ grubunda normoalbuminüri ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. UACR, diyabette hem idrar NGAL-kreatinin oranı (UNCR) hem de idrar sistatin C-kreatinin oranı (UCCR) ile pozitif olarak korelasyon göstermiştir. Lojistik regresyonda UNCR'nin diyabette ve pre-diyabette MAÜ'yi öngörme oranları sırasıyla sırasıyla 1,070 (p = 0,000) ve 1,138 (p = 0,010) olarak bulunmuştur. ROC analizi ile UNCR'nin MAÜ tahmini için UCCR'den daha iyi olduğu bulunmuştur. Tübüler hasarın, diyabet öncesi nefropati gelişiminde önemli rol oynayabildiği bu çalışmada belirtilmiştir. İdrar NGAL gibi yeni belirteçlerin diyabet ve diyabet öncesi nefropatinin erken döneminde ortaya çıktığı ve erken biyobelirteç olarak kullanılabilceği görülmüştür.

NGAL böbreklerde tübüler hücre seviyesinde mevcut olan bir glikoproteindir ve böbrek hasarına karşı koruyucu olduğu düşünülmektedir (Schmidt-Ott et al., 2007b). Üriner NGAL, DM'da tübüler lezyonları değerlendirmede kullanılan bir biyobelirteçtir. Hastalığın başlangıç evrelerinde, yani normoalbuminürik hastalarda bile değerleri kontrollere göre artmış olarak bulunur (Bolignano et al., 2009). Söz konusu çalışmada, hem serum NGAL, hem de idrar NGAL, renal hastalığın ciddiyetine paralel olarak artmış, düzeyler belirgin DN'li hastalarda daha yüksek seviyelere ulaşmıştır.

Tip 1 Diabetes Mellitus'ta (T1DM) MAÜ başlamadan histopatolojik değişikliklerin ortaya çıktığını gösteren bazı kanıtlar olduğunu Yıldırım ve arkadaşları (Yıldırım vd., 2015) belirlemişlerdir. Araştırmacılar, NGAL seviyelerinin diyabetik böbrek hasarının erken bir belirteci olarak kullanılıp kullanılmayacağını belirlemek için MAÜ'lü ve MAÜ'sü olmayan diyabetik hastalarda üriner NGAL seviyelerini araştırmışlardır. Hastalarda ortalama üriner NGAL ve üriner NGAL / Cr düzeyleri kontrol grubundan daha yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak yazarlar, T1DM'un erken evresinde yani MAÜ gelişmeden yüksek üriner NGAL düzeylerinin

bulunabileceğini ve bu parametrenin erken belirteç olarak kullanılabilceğini belirtmişlerdir.

de Carvalho ve arkadaşları da, normoalbuminürlü T2DM hastalarında yüksek düzeylerde üriner NGAL saptamışlar, MAÜ'lü ve makroalbuminürlü hastalarda ise NGAL düzeylerinin progresif olarak arttığını belirlemişlerdir (de Carvalho et al., 2016). Bu çalışmada, 117 Tip2DM hastası üriner albümin / kreatinin oranına (uACR) göre 3 gruba sınıflandırılmıştır: uACR <10 mg / g kreatinin, uACR 10-30 mg / g kreatinin ve uACR >30 mg / g kreatinin. Normal veya hafif artmış albuminüri olan T2DM'lu hastalarda idrar NGAL'inin arttığını belirleyen araştırmacılar diyabetik böbrek hastalığının en erken evresinde bile tübüler ve glomerüler yaralanmaların meydana gelebileceğini öne sürmüşlerdir.

Yang ve arkadaşları (2009) T2DM hastalarında DN'nin ilerlemesini öngörmek için idrar NGAL'inin kullanılıp kullanılmayacağını araştırmışlardır. Bu çalışmada 74 T2DM'lu hasta 24 saatlik idrar albümin atılım hızlarına göre normo-, mikro- ve makro-albuminüri gruplarına ayrılarak her grupta serum ve üriner NGAL ile diğer klinik parametreler tespit edilmiştir. Hastaların bir yıllık takiplerinin ardından ölçümler tekrarlanmıştır. Normo-albuminüri grubundan makro-albuminüri grubuna geçen hastalarda, üriner NGAL'de bir artış eğilimi görülmüştür. Ayrıca, üriner NGAL'in, sistatin C, üre azotu ve serum kreatinin ile pozitif ve glomerüler filtrasyon hızı (GFR) ile negatif korele olduğu bulunmuştur. Serum NGAL'i ise hem bazal hem de takip düzeylerinde, sistatin C ve üre azot ile negatif korelasyon göstermiştir. Sonuçlar, NGAL'in böbrek fonksiyonu ile yakından ilişkili olduğunu göstermektedir. Hem serum hem de üriner NGAL, DN'nin ilerlemesini öngörmeye hassastır, ancak serum NGAL erken teşhislerde ve üriner NGAL ise böbrek fonksiyon değerlendirmesinde daha anlamlı olabilir.

Bizim çalışmamızda da, MAÜ olan grupta NGAL'in anlamlı yüksekliği söz konusuliteratürlerle uyum göstermekte olup sonuçlarımız bu parametrenin DN'nin tanısında bir biyobelirteç olarak kullanılabilceği konusunda umut vermektedir. Burada DN'de tübüler hasarın glomerüler patolojiden önce geldiği ve tübüler hasarı gösteren biyobelirteçlerin önemini tekrar vurgulamakta yarar vardır.

Adipositler tarafından salgılanan anahtar sitokinlerden ikisi olan adiponektin ve leptinin, kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ancak, bu adipositokinlerin kronik böbrek hastalığı ile ilişkisi açık değildir. Lim ve arkadaşları

yaptıkları çalışmada (Lim et al., 2015) popülasyon bazlı Asya erişkin örnekleminde serum adiponektin, leptin düzeyi ve leptin ile adiponektin oranının (LAR) kronik böbrek hastalığı ile ilişkisini incelemişlerdir. Kontrol grubuyla karşılaştırılan kronik böbrek hastalığı olgularında, leptin ($p < 0,0001$) ve adiponektin ($p = 0,001$) daha yüksek seviyelerde bulunmuştur. Serum adiponektin, leptin ve LAR'ın kronik böbrek hastalığı ile bu pozitif ilişkisi, cinsiyet, etnik köken, diyabet, hipertansiyon ve aşırı kilo durumunun alt gruplarında tutarlı bir şekilde saptanmıştır (tüm P-istatistiği $> 0,1$). Bu popülasyonda daha yüksek serum adiponektin, leptin ve LAR düzeylerinin, geleneksel risk faktörlerinden bağımsız olarak kronik böbrek hastalığı ile pozitif olarak ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Ignacy ve arkadaşlarının yaptıkları başka bir çalışmada (Ignacy et al., 2005), 80 hemodiyaliz hastasında ve 22 sağlıklı kontrolde plazma adiponektin konsantrasyonları, serum C-reaktif protein (CRP), karotis intima media kalınlığı (IMT) ve hemodiyaliz tedavisi süresi arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Plazma adiponektin ve serum CRP konsantrasyonlarının hemodiyaliz süresi ile ters ilişkili olduğu görülmüştür ($\tau = -0,181$; $p = 0,02$). En düşük plazma adiponektin tertilinde sağkalımın (Kaplan-Meier analizi) daha kötü olma eğiliminde olduğu belirlenmiştir ($p = 0,06$). Elde edilen sonuçlara göre; inflamatuvar süreçler, hemodiyaliz hastalarında yetersiz bir düşük plazma adiponektin konsantrasyonu ile ilişkilidir ve düşük plazma adiponektin konsantrasyonu, hemodiyaliz hastalarında yeni bir belirleyici gibi görünmektedir.

Çalışmamızda MAÜ olan ve olmayan olgularda, adiponektin ve leptin düzeyleri açısından anlamlı bir fark saptanamamış olsa da her iki parametre arasında (+) bir korelasyon saptanmıştır.

Daha önceki çalışmalar, yüksek PAI-1 düzeylerinin altta yatan endotelial disfonksiyonu gösterdiğini ve diyabetik mikrovaskülerizasyon için bir biyobelirteç olabileceğini öne sürmüştür (Zhong & Chen, 2012). Bazı diğer çalışmalar ise, yüksek PAI-1 düzeylerini düşük retinopati riskiyle ilişkilendirmiş olup bu konudaki görüşler hala tartışmalıdır. Bizim çalışmamızda da ilginç bir şekilde MAÜ'li olgularda PAI-1 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük çıkmıştır. İlginç ama tutarlı olan bir nokta da, bu değerlerin sistatin C değerleri ile negatif korelasyon göstermesidir. Bu sonuçlar, DN'li olgularda daha geniş örneklem gruplarında PAI-1 düzeylerinin araştırılmasının ilginç sonuçlar vereceğini öngörmektedir.

Sonuç ve Öneriler

Çalışmamızın hipotezi, T2DM'da gelişen DN'de FGF-21 ve NGAL'in biyobelirteç olarak klinik öneme sahip olabileceğidir. Bu hipotezi test etmek için MAÜ olan ve olmayan Tip2DM olgularında, serum FGF-21 ve NGAL düzeyleri çalışılarak sonuçlar iyi bilinen renal belirteçler olan MAÜ ve sistatin C ile karşılaştırılmıştır.

Sonuçta, MAÜ'lü olgularda FGF-21 ve NGAL düzeylerinin anlamlı derecede yüksek çıkması bu moleküllerin DN'da önemli biyobelirteçler olabileceğini göstermiştir. Bu konuda prospektif çalışmaların yapılması, ayrıca kontrol gruplarıyla normoalbuminürik DN gruplarında da bu biyobelirteçlerin çalışması önerilir.

Çalışmamızın diğer hipotezi ise DN gelişiminde FGF-21, NGAL ve DM patofizyolojisiyle ilişkilendirilen adiponektin/leptin/PAI-1 moleküllerinin salınım düzensizliklerinin etkili olabileceğidir. Bu hipotezi test etmek için de, MAÜ olan ve olmayan T2DM olgularında, adiponektin/leptin/PAI-1 düzeyleri saptanmış ve renal hasarın erken tanı ve izleminde bu belirteçlerin yeri araştırılmıştır. İlginç olarak, bu biyobelirteçlerden sadece PAI-1 MAÜ'li grupta düşük düzeylerde bulunmuştur. MAÜ olgularında PAI-1 düşüklüğünün yüksek sistatin C düzeyleri ile korelasyon göstermesi daha ileri araştırılması gereken bir durumdur.

Kaynaklar

- alexandraki, K., Piperi, C., Kalofoutis, C., Singh, J., Alaveras, A., & KALOFOUTIS, A. (2006). Inflammatory Process in Type 2 Diabetes: The Role of Cytokines. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1084(1), 89–117. <https://doi.org/10.1196/annals.1372.039>
- Alley, C. R., Volkening, L. K., Wolfson, J., Rodriguez-Ventura, A., Wood, J. R., & Laffel, L. M. B. (2010). Occurrence of microalbuminuria in young people with Type 1 diabetes: importance of age and diabetes duration. *Diabetic Medicine : A Journal of the British Diabetic Association*, 27(5), 532–537. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2010.02983.x>
- 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>
- American Diabetes Association. 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2019. *Diabetes Care* 2019;42(Suppl. 1):S13–S28
- Aragno, M., & Mastrocola, R. (2017). Dietary Sugars and Endogenous Formation of Advanced Glycation Endproducts: Emerging Mechanisms of Disease. *Nutrients*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/nu9040385>
- Association, A. D. (2019). Standards of Medical Care in Diabetes 2019, 302.
- Bhavsar, N. A., Appel, L. J., Kusek, J. W., Contreras, G., Bakris, G., Coresh, J., AASK Study Group, on behalf of the A. S. (2011). Comparison of measured GFR, serum creatinine, cystatin C, and beta-trace protein to predict ESRD in African Americans with hypertensive CKD. *American Journal of Kidney Diseases : The Official Journal of the National Kidney Foundation*, 58(6), 886–893. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2011.07.018>
- Bitzur, R., Cohen, H., Kamari, Y., Shaish, A., & Harats, D. (2009). Triglycerides and HDL Cholesterol: Stars or second leads in diabetes? *Diabetes Care*, 32(Suppl 2), S373. <https://doi.org/10.2337/DC09-S343>
- Bolignano, D., Lacquaniti, A., Coppolino, G., Donato, V., Fazio, M. R., Nicocia, G., & Buemi, M. (2009). Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin as an Early Biomarker of Nephropathy in Diabetic Patients. *Kidney and Blood Pressure Research*, 32(2), 91–98. <https://doi.org/10.1159/000209379>

- Brown, N. J., Agirbasli, M. A., Williams, G. H., Litchfield, W. R., & Vaughan, D. E. (1998). Effect of activation and inhibition of the renin-angiotensin system on plasma PAI-1. *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)*, 32(6), 965–971. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9856958>
- Bugnicourt, J.-M., Godefroy, O., Chillon, J.-M., Choukroun, G., & Massy, Z. A. (2013). Cognitive Disorders and Dementia in CKD: The Neglected Kidney-Brain Axis. *Journal of the American Society of Nephrology*, 24(3), 353–363. <https://doi.org/10.1681/ASN.2012050536>
- Cesari, M., Kritchevsky, S. B., Atkinson, H. H., Penninx, B. W., Bari, M. Di, Tracy, R. P., & Pahor, M. (2009). Angiotensin-converting enzyme inhibition and novel cardiovascular risk biomarkers. *American Heart Journal*, 157(2), 334.e1-334.e8. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2008.10.026>
- Coll, E., Botey, A., Alvarez, L., Poch, E., Quintó, L., Saurina, A., ... Darnell, A. (2000). Serum cystatin C as a new marker for noninvasive estimation of glomerular filtration rate and as a marker for early renal impairment. *American Journal of Kidney Diseases*, 36(1), 29–34. <https://doi.org/10.1053/ajkd.2000.8237>
- Crasto, C., Semba, R. D., Sun, K., & Ferrucci, L. (2012). Serum Fibroblast Growth Factor 21 Is Associated With Renal Function and Chronic Kidney Disease in Community-Dwelling Adults. *Journal of the American Geriatrics Society*, 60(4), 792. <https://doi.org/10.1111/J.1532-5415.2011.03879.X>
- Cuevas-Ramos, D., Almeda-Valdes, P., Gómez-Pérez, F. J., Meza-Arana, C. E., Cruz-Bautista, I., Arellano-Campos, O., Aguilar-Salinas, C. A. (2010). Daily physical activity, fasting glucose, uric acid, and body mass index are independent factors associated with serum fibroblast growth factor 21 levels. *European Journal of Endocrinology*, 163(3), 469–477. <https://doi.org/10.1530/EJE-10-0454>
- Dalla Vestra, M., Mussap, M., Gallina, P., Bruseghin, M., Cernigoi, A. M., Saller, A., Fioretto, P. (2005). Acute-phase markers of inflammation and glomerular structure in patients with type 2 diabetes. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 16 Suppl 1, S78-82. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15938041>
- de Carvalho, J. A. M., Tatsch, E., Hausen, B. S., Bollick, Y. S., Moretto, M. B.,

- Duarte, T., Moresco, R. N. (2016). Urinary kidney injury molecule-1 and neutrophil gelatinase-associated lipocalin as indicators of tubular damage in normoalbuminuric patients with type 2 diabetes. *Clinical Biochemistry*, 49(3), 232–236. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2015.10.016>
- De Muro, P., Lepedda, A. J., Nieddu, G., Idini, M., Tram Nguyen, H. Q., Lobina, O., Formato, M. (2016). Evaluation of Early Markers of Nephropathy in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Biochemistry Research International*, 2016, 7497614. <https://doi.org/10.1155/2016/7497614>
- Delarue, J., & Magnan, C. (2007). Free fatty acids and insulin resistance. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 10(2), 142–148. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e328042ba90>
- Devarajan, P., Mishra, J., Supavekin, S., Patterson, L. T., & Steven Potter, S. (2003). Gene expression in early ischemic renal injury: clues towards pathogenesis, biomarker discovery, and novel therapeutics. *Molecular Genetics and Metabolism*, 80(4), 365–376. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14654349>
- Ekmen, N., Helvacı, A., Gunaldi, M., Sasani, H., & Yildirmak, S. T. (2016). Leptin as an important link between obesity and cardiovascular risk factors in men with acute myocardial infarction. *Indian Heart Journal*, 68(2), 132–137. <https://doi.org/10.1016/j.ihj.2015.07.032>
- Garg, V., Kumar, M., Mahapatra, H. S., Chitkara, A., Gadpayle, A. K., & Sekhar, V. (2015). Novel urinary biomarkers in pre-diabetic nephropathy. *Clinical and Experimental Nephrology*, 19(5), 895–900. <https://doi.org/10.1007/s10157-015-1085-3>
- Ge, X., Chen, C., Hui, X., Wang, Y., Lam, K. S. L., & Xu, A. (2011). Fibroblast growth factor 21 induces glucose transporter-1 expression through activation of the serum response factor/Ets-like protein-1 in adipocytes. *The Journal of Biological Chemistry*, 286(40), 34533–34541. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.248591>
- Ghoshal, K., & Bhattacharyya, M. (2015). Adiponectin: Probe of the molecular paradigm associating diabetes and obesity. *World Journal of Diabetes*, 6(1), 151. <https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i1.151>
- Han, S. H., Choi, S. H., Cho, B. J., Lee, Y., Lim, S., Park, Y. J., Park, K. S. (2010).

- Serum fibroblast growth factor-21 concentration is associated with residual renal function and insulin resistance in end-stage renal disease patients receiving long-term peritoneal dialysis. *Metabolism*, 59(11), 1656–1662. <https://doi.org/10.1016/J.METABOL.2010.03.018>
- Hoffmann, A., Ebert, T., Klötting, N., Kolb, M., Gericke, M., Jeromin, F., Kralisch, S. (2019). Leptin decreases circulating inflammatory IL-6 and MCP-1 in mice. *BioFactors*, 45(1), 43–48. <https://doi.org/10.1002/biof.1457>
- Idf Diabetes Atlas*. (2017). Retrieved from file:///C:/Users/Cecilia Torqueti/Downloads/IDF_DA_8e-EN-final (1).pdf
- Ignacy, W., Chudek, J., Adamczak, M., Funahashi, T., Matsuzawa, Y., Kokot, F., & Wiğcek, A. (2005). Reciprocal Association of Plasma Adiponectin and Serum C-Reactive Protein Concentration in Haemodialysis Patients with End-Stage Kidney Disease – A Follow-Up Study. *Nephron Clinical Practice*, 101(1), c18–c24. <https://doi.org/10.1159/000085707>
- Iwani, N. A. K. Z., Jalaludin, M. Y., Zin, R. M. W. M., Fuziah, M. Z., Hong, J. Y. H., Abqariyah, Y., Wan Nazaimoon, W. M. (2017). Triglyceride to HDL-C Ratio is Associated with Insulin Resistance in Overweight and Obese Children. *Scientific Reports*, 7, 40055. <https://doi.org/10.1038/srep40055>
- Jeon, Y. K., Kim, M. R., Huh, J. E., Mok, J. Y., Song, S. H., Kim, S. S., Kim, I. J. (2011). Cystatin C as an early biomarker of nephropathy in patients with type 2 diabetes. *Journal of Korean Medical Science*, 26(2), 258–263. <https://doi.org/10.3346/jkms.2011.26.2.258>
- Kaaser, S. A., Herzig, M. C., Coomaraswamy, J., Kilger, E., Selenica, M.-L., Winkler, D. T., Jucker, M. (2007). Cystatin C modulates cerebral β -amyloidosis. *Nature Genetics*, 39(12), 1437–1439. <https://doi.org/10.1038/ng.2007.23>
- Karar, T., Alniwaider, R. A. R., Fattah, M. A., Al Tamimi, W., Alanazi, A., & Qureshi, S. (2015). Assessment of microalbuminuria and albumin creatinine ratio in patients with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Natural Science, Biology, and Medicine*, 6(Suppl 1), S89-92. <https://doi.org/10.4103/0976-9668.166095>
- Kaur, G., & Levy, E. (2012). Cystatin C in Alzheimer's disease. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 5, 79. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2012.00079>

- Kishida, K., Funahashi, T., & Shimomura, I. (2012). Molecular mechanisms of diabetes and atherosclerosis: role of adiponectin. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders Drug Targets*, *12*(2), 118–131. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22236026>
- La Cava, A. (2017). Leptin in inflammation and autoimmunity. *Cytokine*, *98*, 51–58. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2016.10.011>
- Lim, C. C., Teo, B. W., Tai, E. S., Lim, S. C., Chan, C. M., Sethi, S., Sabanayagam, C. (2015). Elevated serum leptin, adiponectin and leptin to adiponectin ratio is associated with chronic kidney disease in Asian adults. *PloS One*, *10*(3), e0122009. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122009>
- Lin, Z., Zhou, Z., Liu, Y., Gong, Q., Yan, X., Xiao, J., Li, X. (2011). Circulating FGF21 levels are progressively increased from the early to end stages of chronic kidney diseases and are associated with renal function in Chinese. *PloS One*, *6*(4), e18398. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018398>
- Maedler, K., Sergeev, P., Ehses, J. A., Mathe, Z., Bosco, D., Berney, T., Donath, M. Y. (2004). Leptin modulates cell expression of IL-1 receptor antagonist and release of IL-1 in human islets. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *101*(21), 8138–8143. <https://doi.org/10.1073/pnas.0305683101>
- MAŁGORZEWICZ, S., SKRZYPCZAK-JANKUN, E., & JANKUN, J. (2013). Plasminogen activator inhibitor-1 in kidney pathology. *International Journal of Molecular Medicine*, *31*(3), 503–510. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2013.1234>
- Menon, V., Shlipak, M. G., Wang, X., Coresh, J., Greene, T., Stevens, L., Sarnak, M. J. (2007). Cystatin C as a Risk Factor for Outcomes in Chronic Kidney Disease. *Annals of Internal Medicine*, *147*(1), 19. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-147-1-200707030-00004>
- Mishra, J., Ma, Q., Prada, A., Mitsnefes, M., Zahedi, K., Yang, J., Devarajan, P. (2003). Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, *14*(10), 2534–2543. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14514731>
- Mohammedi, K., Woodward, M., Marre, M., Colagiuri, S., Cooper, M., Harrap, S., Chalmers, J. (2017). Comparative effects of microvascular and macrovascular disease on the risk of major outcomes in patients with type 2 diabetes.

Cardiovascular Diabetology, 16(1), 95. <https://doi.org/10.1186/s12933-017-0574-y>

Mori, K., Lee, H. T., Rapoport, D., Drexler, I. R., Foster, K., Yang, J., Barasch, J. (2005). Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury. *Journal of Clinical Investigation*, 115(3), 610–621. <https://doi.org/10.1172/JCI23056>

Moriya, T., Tanaka, S., Kawasaki, R., Ohashi, Y., Akanuma, Y., Yamada, N., Japan Diabetes Complications Study Group, for the J. D. C. S. (2013). Diabetic retinopathy and microalbuminuria can predict macroalbuminuria and renal function decline in Japanese type 2 diabetic patients: Japan Diabetes Complications Study. *Diabetes Care*, 36(9), 2803–2809. <https://doi.org/10.2337/dc12-2327>

Nazar, C. M. J. (2014). Diabetic nephropathy; principles of diagnosis and treatment of diabetic kidney disease. *Journal of Nephroarmacology*, 3(1), 15–20. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28197454>

Peralta, C. A., Shlipak, M. G., Judd, S., Cushman, M., McClellan, W., Zakai, N. A., Warnock, D. (2011). Detection of chronic kidney disease with creatinine, cystatin C, and urine albumin-to-creatinine ratio and association with progression to end-stage renal disease and mortality. *JAMA*, 305(15), 1545–1552. <https://doi.org/10.1001/jama.2011.468>

Reiser, J., & Altintas, M. M. (2016). Podocytes. *F1000Research*, 5. <https://doi.org/10.12688/f1000research.7255.1>

Schmidt-Ott, K. M., Mori, K., Li, J. Y., Kalandadze, A., Cohen, D. J., Devarajan, P., & Barasch, J. (2007a). Dual Action of Neutrophil Gelatinase–Associated Lipocalin. *Journal of the American Society of Nephrology*, 18(2), 407–413. <https://doi.org/10.1681/ASN.2006080882>

Schmidt-Ott, K. M., Mori, K., Li, J. Y., Kalandadze, A., Cohen, D. J., Devarajan, P., & Barasch, J. (2007b). Dual Action of Neutrophil Gelatinase–Associated Lipocalin. *Journal of the American Society of Nephrology*, 18(2), 407–413. <https://doi.org/10.1681/ASN.2006080882>

Shlipak, M. G., Katz, R., Sarnak, M. J., Fried, L. F., Newman, A. B., Stehman-Breen, C., ... Siscovick, D. S. (2006). Cystatin C and Prognosis for Cardiovascular and Kidney Outcomes in Elderly Persons without Chronic

- Kidney Disease. *Annals of Internal Medicine*, 145(4), 237. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-145-4-200608150-00003>
- Shlipak, M. G., Sarnak, M. J., Katz, R., Fried, L. F., Seliger, S. L., Newman, A. B., Stehman-Breen, C. (2005). Cystatin C and the Risk of Death and Cardiovascular Events among Elderly Persons. *New England Journal of Medicine*, 352(20), 2049–2060. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa043161>
- Skurk, T., Lee, Y. M., & Hauner, H. (2001). Angiotensin II and its metabolites stimulate PAI-1 protein release from human adipocytes in primary culture. *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)*, 37(5), 1336–1340. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11358950>
- Supavekin, S., Zhang, W., Kucherlapati, R., Kaskel, F. J., Moore, L. C., & Devarajan, P. (2003). Differential gene expression following early renal ischemia/reperfusion. *Kidney International*, 63(5), 1714–1724. <https://doi.org/10.1046/J.1523-1755.2003.00928.X>
- Tobe, S. W., McFarlane, P. A., & Naimark, D. M. (2002). Microalbuminuria in diabetes mellitus. *CMAJ: Canadian Medical Association Journal = Journal de l'Association Medicale Canadienne*, 167(5), 499–503. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12240818>
- Vallon, V., & Thomson, S. C. (2012). Renal function in diabetic disease models: the tubular system in the pathophysiology of the diabetic kidney. *Annual Review of Physiology*, 74, 351–375. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-020911-153333>
- Wang, Y., Lam, K. S. L., Kraegen, E. W., Sweeney, G., Zhang, J., Tso, A. W. K., Xu, A. (2006). Lipocalin-2 Is an Inflammatory Marker Closely Associated with Obesity, Insulin Resistance, and Hyperglycemia in Humans. *Clinical Chemistry*, 53(1), 34–41. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2006.075614>
- Wu, P.-P., Kor, C.-T., Hsieh, M.-C., & Hsieh, Y.-P. (2018). Association between End-Stage Renal Disease and Incident Diabetes Mellitus-A Nationwide Population-Based Cohort Study. *Journal of Clinical Medicine*, 7(10). <https://doi.org/10.3390/jcm7100343>
- Xu, J.-C., Wu, G.-H., Zhou, L.-L., Yang, X.-J., & Liu, J.-T. (2016). Leptin improves osteoblast differentiation of human bone marrow stroma stem cells. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 20(16), 3507–3513.

Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27608914>

- Yamauchi, T., Kamon, J., Minokoshi, Y., Ito, Y., Waki, H., Uchida, S., Kadowaki, T. (2002). Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature Medicine*, 8(11), 1288–1295. <https://doi.org/10.1038/nm788>
- Yamauchi, T., Kamon, J., Waki, H., Terauchi, Y., Kubota, N., Hara, K., Kadowaki, T. (2001). The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nature Medicine*, 7(8), 941–946. <https://doi.org/10.1038/90984>
- Yang, Y. H., He, X. J., Chen, S. R., Wang, L., Li, E. M., & Xu, L. Y. (2009). Changes of serum and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin in type-2 diabetic patients with nephropathy: one year observational follow-up study. *Endocrine*, 36(1), 45–51. <https://doi.org/10.1007/s12020-009-9187-x>
- Yang, Y., & Chan, L. (2016). Monogenic Diabetes: What It Teaches Us on the Common Forms of Type 1 and Type 2 Diabetes. *Endocrine Reviews*, 37(3), 190–222. <https://doi.org/10.1210/er.2015-1116>
- Yürük Yıldırım, Z., Nayır, A., Yılmaz, A., Gedikbaşı, A., & Bundak, R. (2015). Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin as an Early Sign of Diabetic Kidney Injury in Children. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*, 7(4), 274–279. <https://doi.org/10.4274/jcrpe.2002>
- Zelmanovitz, T., Gerchman, F., Balthazar, A. P., Thomazelli, F. C., Matos, J. D., & Canani, L. H. (2009). Diabetic nephropathy. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 1(1), 10. <https://doi.org/10.1186/1758-5996-1-10>
- Zhang, J., Weng, W., Wang, K., Lu, X., Cai, L., & Sun, J. (2018). The role of FGF21 in type 1 diabetes and its complications. *International Journal of Biological Sciences*, 14(9), 1000–1011. <https://doi.org/10.7150/ijbs.25026>
- Zhang, X., Yeung, D. C. Y., Karpisek, M., Stejskal, D., Zhou, Z.-G., Liu, F., Xu, A. (2008). Serum FGF21 Levels Are Increased in Obesity and Are Independently Associated With the Metabolic Syndrome in Humans. *Diabetes*, 57(5), 1246–1253. <https://doi.org/10.2337/db07-1476>
- Zhong, Z.-L., & Chen, S. (2012). Plasma Plasminogen Activator Inhibitor-1 Is Associated with End-Stage Proliferative Diabetic Retinopathy in the Northern Chinese Han Population. *Experimental Diabetes Research*, 2012, 1–6.

<https://doi.org/10.1155/2012/350852>



Ekler

Ek-1

Araştırmanın Adı : Tip 2 Diyabet Hastalarında Serum Fibroblast Büyüme Faktörü 21 ve Lipokalin'in Nefropatinin Erken Göstergesi olarak Değeri ve Adipositokinlerle İlişkisi

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, sorularımıza 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 yan etkilerinin göstergesi böbreklerden idrar yoluyla protein kaçağı olmasıdır. 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.

Zaman içinde kronik böbrek yetmezliğine giden bu önemli sorunun patofizyolojisinin anlaşılması ya da erken saptanmasına yönelik her adımın, hasta sağlığına ve ülkelerin sağlık giderlerine olumlu katkıda bulunacağı açıktır.

Genel damar ve damar duvarı bozukluğunun bir göstergesi olan mikroalbüminüri (MAÜ), günümüzde böbrek hasarının hassas bir belirteci olarak erken tanı ve izlemede kullanılsa da bu konuda yeni göstergelere ve hastalığın mekanizmasının daha iyi anlaşılmasına ihtiyaç vardır.

Çalışmamızın amacı tip 2 şeker hastalığı olan hastalarda böbrek komplikasyonların patofizyolojisini anlamamıza yardımcı olacak, ayrıca bu komplikasyonları öngörecektir. belirteçleri bulmak için kanda bazı iltihap moleküllerinin düzeylerini araştırmaktır.

KATILMA KOŞULLARI NEDİR?

Bu çalışmaya dahil edilebilmeniz için 40-60 yaş arası olup, romatolojik-inflamatuvar hastalığı, idrar yolu enfeksiyonu ya da malignitesi olmayan, gebeliği olmayan, idrarda kreatinin atılımını etkileyebilecek ilaç kullanmayan hastalar alınabilir.

NASIL BİR UYGULAMA YAPILACAKTIR?

Yukarıda belirtilen çalışma koşullarına uygunluğunuz daha önce Doç. Dr. Aşlı 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 kanlarımız 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.

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/EUTP00	1/4

Araştırmanın Adı : Tip 2 Diyabet Hastalarında Serum Fibroblast Büyüme Faktörü 21 ve Lipokalin 'in Nefropatinin Erken Göstergesi olarak Değeri ve Adipositokinlerle İlişkisi

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 somucunda Tip 2 şeker hastalarında protein kaçağına ve böbrek hasarına yönelik mekanizmalar 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 BİLİLEN 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 bırakılabiliyorsunuz.

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.

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 soru ya da sorunlarınız olursa 0232 390 40 87 no.lu ya da 0 5324161288 no'lu cep telefonundan 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)'dir.

Tarih/ Versiyon: 14/07/2017

İlaç Dışı Çalışmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Form 17	03.11.2016/EUTP00	2/4

Araştırmanın Adı : Tip 2 Diyabet Hastalarında Serum Fibroblast Büyüme Faktörü 21 ve Lipokalin'in Nefropatinin Erken Göstergesi olarak Değeri ve Adipositokinlerle İlişkisi

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.

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.

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/EUTP00	3/4

Araştırmanın Adı : Tip 2 Diyabet Hastalarında Serum Fibroblast Büyüme Faktörü 21 ve Lipokalin'in Nefropatinin Erken Göstergesi olarak Değeri ve Adipositokinlerle İlişkisi

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/EUTF00

Ek-2

Tip 2 Diyabet Hastalarında Serum Fibroblast Growth Factor 21 ve Lipokalin'in Nefropatinin Erken Göstergesi olarak Değeri ve Adipositokinlerle İlişkisi

OLGU KAYIT FORMU 14 TEMMUZ 2017 / Versiyon 1.1

OLGU NO

: |_|_|_|_|_|_|_|_|

PROTOKOL NO:	OLGU NO	_____ / _____ / _____
TARİH	_____ / _____ / _____	_____ / _____ / _____

ÇALIŞMAYA ALINMA KRİTERLERİ		EVET	HAYIR
Hastanın çalışmaya alınabilmesi için bütün alınma kriterleri için EVET işaretlenmelidir.			
Tip2 Diyabetes Mellitus (Tip2 DM) olan hasta	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mikroalbüminüri (MAÜ)si olan hasta	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
40-60 yaş arası kadın veya erkek hasta	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Vücut kitle indeksi hesaplandığında bu değer 35'ten az olan hasta	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Yazılı bilgilendirilmiş olur veren hasta	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Takip vizitlerine katılmayı kabul eden hasta	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
ÇALIŞMAYA ALINMAMA KRİTERLERİ		EVET	HAYIR
Hastanın çalışmaya alınabilmesi için bütün alınmama kriterleri için HAYIR işaretlenmelidir.			
Hastada Romatolojik, inflamatuvar hastalık, idrar yolu enfeksiyonunun ya da malignitenin olması	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hastada idrar yolu enfeksiyonu dahil üriner sistem bozukluğu olması	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hastada gebeliğin olması	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hastanın araştırmadan önce bu süre önce veya araştırma sırasında idrarda kreatinin atılımını etkileyebilecek herhangi bir ilaç kullanılması	<input type="checkbox"/>	<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____
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 1 1 1 1 1 1 1
	TARİH	1 1 1 1 / 1 1 1 1 / 1 1 1 1

DEMOGRAFİK VERİLER	
DOĞUM TARİHİ	1 1 1 1 / 1 1 1 1 / 1 1 1 1
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 1 1 1 mmHg
DIASTOLİK KAN BASINCI	1 1 1 1 mmHg
BOY	1 1 1 1 cm
KİLO	1 1 1 1 kg
BKİ	1 1 1
Mikroalbüminüri	1 1

Ek-3



T.C.
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

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Tip 2 Diyabet Hastalarında Serum Fibroblast Growth Factor 21 Ve Lipokalin'in Nefropatinin Erken Göstergesi Olarak Değeri ve Adipositokinlerle İlişkisi.			
	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 ÜNVANI/ADI/SOYADI	-			
	DESTEKLEYİCİ	Bilimsel Araştırmalar Proje Fonu			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ ÜNVANI/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"/>	FAZ 4 <input type="checkbox"/>
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Gözlemsel İlaç Çalışması <input type="checkbox"/>		Tıbbi Cihaz Klinik Araştırması <input type="checkbox"/>		
	İn Vitro Tıbbi Tanı Cihazları İle Yapılan Performans Değerlendirme Çalışmaları <input type="checkbox"/>		İlaç Dışı Klinik Araştırma <input checked="" type="checkbox"/>		
	Diğer ise belirtiniz		Arşiv Materyali Çalışması.		
	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	14.09.2017	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: 28.09.2017			
KARAR BİLGİLERİ	Karar Nu: 17-7.2/19	Tarih: 28.09.2017			
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekeceği, 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 ödenmediği 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 Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*) Katılım (**)	
Prof. Dr. Ayşenur OKTAY Başkan	Radyodiagnostik	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 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 1/2
---	----------	----------------------------------	------------------	---------------------------------------	--------------



ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

KARAR BİLGİLERİ		Karar Nu : 17-7.2/19				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	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 GIBİDİR
Sumru FESCİOĞLU
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
--	----------	----------------------------------	------------------	---------------------------------------	--------------

Teşekkür

Tezimin tamamlanmasında bana büyük katkıları olan hocam Prof. Dr. Ferhan SAĞIN'a, hakkını ödeyemeyeceğim anneme ve babama sonsuz teşekkür ederim.

İzmir, 4.09.2019

Niousha KAZEMZADEH AFSHAR



Özgeçmiş

A. KİŞİSEL BİLGİLER

Adı soyadı: Niousha KazemzadehAfshar

Doğum tarihi: 16/10/1990

Yabancı dil bilgisi: İngilizce orta seviyede

Görev yeri: Ege Üniversitesi

E-posta adresi: newshakz@gmail.com

Telefon: (538)5061567

B. EĞİTİM BİLGİLERİ

Mezun olduğu üniversite/fakülteyi lütfen belirtiniz: Zanjan Üniversitesi/Fen Fakültesi

Mezuniyet tarihini lütfen yıl olarak belirtiniz: 2013