

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TNF- α ENFLAMATUAR SİTOKİN GEN POLİMORFİZMİNİN DİYABET
HASTALIĞI GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Emre Umut GÜRPINAR

FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Asuman KARAKAYA

ANKARA
2018

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Tnf- α Enflamatuar Sitokin Gen Polimorfizminin Diyabet Hastalığı Gelişimi Üzerine Etkisinin Araştırılması” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Emre Umut GÜRPINAR

Tarih:

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalında Emre Umut GÜRPINAR tarafından hazırlanan “Tnf- α Enflamatuvar Sitokin Gen Polimorfizminin Diyabet Hastalığı Gelişimi Üzerine Etkisinin araştırılması.” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından yüksek lisans tezi olarak oy birliği çokluğu ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:

Prof. Dr. Asuman KARAKAYA
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Jüri Başkanı

Doç. Dr. İlker ATEŞ
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Üye

Prof. Dr. Bensu KARAHALİL
Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. K. Zafer KARAER
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller	ix
Çizelgeler	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Diabetes Mellitus	4
1.2.1. Diyabetin Tanımı	4
1.2.2. Diyabetin Sınıflandırılması	4
1.2.3. Diyabetin Fizyolojisi	11
1.2.4. Diyabetin Komplikasyonları	19
1.2.4.1. Diyabetin Akut Komplikasyonları	19
1.2.4.1.1. Hiperglisemik Hiperozmalar Koma	19
1.2.4.1.2. Diyabetik Ketoasidoz	20
1.2.4.1.3. Hipoglisemi	20
1.2.4.2. Diyabetin Kronik Komplikasyonları	22
1.2.4.2.1. Diyabetin Mikrovasküler Komplikasyonları	22
1.2.4.2.1.1. Retinopati	22
1.2.4.2.1.2. Nefropati	23
1.2.4.2.1.3. Nöropati	23
1.2.4.2.2. Diyabetin Makrovasküler Komplikasyonları	24
1.3. Sitokinler	25
1.3.1. Sitokinlerin Tanımı ve Geçmişi	25
1.3.2. Sitokinlerin Karakteristikleri ve Önemi	26
1.3.3. Sitokinlerin Sınıflandırılması	30
1.3.4. Sitokinlerin Hastalıklar Açısından Önemi	32
1.3.5. Diabetes Mellitus Ve Sitokinler	39
1.4. Polimorfizm	47
1.4.1. Polimorfizmin Tanımı Ve Nedenleri	47
1.4.2. Sitokin Polimorfizmi	48
1.4.3. Diyabet İle Sitokin Enflamasyon Gen Polimorfizmleri İlişkisi	49
2.GEREÇ VE YÖNTEM	51
2.1. Kullanılan Gereçler	51
2.1.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler	51
2.1.2. Kullanılan Cihazlar	51
2.2. Kullanılan Yöntemler	52
2.2.1. Deney Kurgusu	52
2.2.2. Genotiplerin Belirlenmesi	53
2.2.2.1. TNF- α (-238) Polimorfizminin Belirlenmesi	53
2.2.2.2. TNF- α (-857) Polimorfizminin Belirlenmesi	54

2.2.2.3. TNF- α (-863) Polimorfizminin Belirlenmesi	56
2.2.2.4. TNF- α (-1031) Polimorfizminin Belirlenmesi	57
2.2.3. Kullanılan İstatistiksel Yöntemler	58
3. BULGULAR	
3.1. Demografik Bulgular Ve Anamnez Bulguları	60
3.2. Biyokimyasal Bulgular	62
3.3. Genotipik Bulgular	63
3.3.1. TNF- α (-238) Genotip Bulguları	63
3.3.2. TNF- α (-857) Genotip Bulguları	63
3.3.3. TNF- α (-863) Genotip Bulguları	64
3.3.4. TNF- α (-1031) Genotip Bulguları	65
4. TARTIŞMA	74
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	79
ÖZET	81
SUMMARY	82
KAYNAKLAR	83
ÖZGEÇMİŞ	92



ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında TNF- α enflamatuar sitokin (-238), (-857), (-863), (-1031) gen bölgelerinde meydana gelen polimorfizimlerin Türk popülasyonunda diyabet hastalığı gelişimi üzerine etkisinin olup olmadığının araştırılması hedeflenmiştir.

Gerek lisans gerekse yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübesiyle kişisel eğitimimde büyük rol oynayan danışman hocam Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Üyesi Prof. Dr. Asuman KARAKAYA'ya,

Uzmanlık eğitimim süresince her an yanımda olarak benden hiçbir yardımını ve deneyimini esirgemeyen Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Üyesi Doç. Dr. İlker ATEŞ'e,

Laboratuvarda geçirdiğim süre boyunca sorularımı sabırla yanıtlayan ve bana destek olan Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Ecz. Merve DEMİRBÜGEN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

α	Alfa
β	Beta
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ADA	American Diabetes Association (Amerika Diyabet Birliği)
ADP	Adenozin Difosfat
AGE	Advanced Glycation End-Products (İleri Glikasyon Son Ürünleri)
ATP	Adenozin Trifosfat
bç	Baz Çifti
CI	Confidence Intervals (Güven Aralığı)
CRP	C-Reaktif Protein
DAG	Diaçilgliserol
DM	Diabetes Mellitus
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	Etilendiamintetraasetik Asit
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
GCK	Glikokinaz
GDM	Gestasyonel Diabetes Mellitus
GFAT	Glutamin: Fruktoz-6 Fosfat Amidotransferaz
GLUT	Glucos Taşıyıcısı
HDL	High-Density Lipoprotein (Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein)
HNF	Hepatik Nükleer Faktör
IADPSG	International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (Uluslararası Diyabet ve Gebelik Derneği Çalışma Grupları)
IAPP	Islet Amiloid Polipeptit
IDF	International Diabetes Federation (Uluslararası Diyabet Federasyonu)
IL	Interlökin
INDEL	Insertion – Deletion (Ekleme-Çıkarma)

IPF	Insulin Promoter Factor (İnsülin Uyarıcı Faktör)
IRS	İnsülin Reseptor Substratı
JNK	Jun N-terminal Kinaz
kb	Kilo Baz Çifti
KOAH	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
LDL	Low-Density Lipoprotein (Düşük Yoğunluklu Lipoprotein)
MODY	Maturity-Onset Diabetes Of The Young (Gençlerin Erişkin Tipi Diyabeti)
MS	Multipl Skleroz
NAD	Nikotinamit Adenin Dinükleotit
NEUROD	Neurogenic Differentiation (Nörojenik Farklılaşma)
NPDR	Proliferatif Olmayan Diyabetik Retinopati
OR	Odds Ratio
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PDGF	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PDR	Proliferatif Diyabetik Retinopati
PKC	Protein Kinaz C
RA	Romatoid Artrit
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi)
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SNP	Single Nucleotide Polymorphism (Tek Nükleotit Polimorfizmi)
TBE	Tris Borat EDTA
TCF	Transkripsiyon Faktörü
TGF	Transforme Edici Büyüme Faktörü
THSK	Türkiye Halk Sağlığı Kurumu
TNF	Tümör Nekroz Faktör
UDP	Üridin Difosfat
VDCC	Voltage-Gated Calcium Channel (Voltaja Duyarlı Kalsiyum Kanalları)
VLDL	Very-Low-Density Lipoprotein (Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein)
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. İnsulinin Etki Mekanizması	12
Şekil 1.2. İnsülinin Hücre İçinden Salınım Mekanizması	13
Şekil 1.3. İnsulin Direncinin Gelişme Mekanizmaları	14
Şekil 1.4. Arttırılmış Poliol Yolu Akımı Hipotezi	16
Şekil 1.5. Protein Kinaz C'nin Aktivasyonu Sonucu Gelişen Olaylar	17
Şekil 1.6. Hekzosamin Yolak Akışının Artması	18
Şekil 1.7. Diyabetin Komplikasyonları	19
Şekil 1.8. Sitokin Ağı	29
Şekil 1.9. Pro/Anti Enflamatuarlar Arasındaki Dengesizlik Sonucu Oluşan Hastalıklar	33
Şekil 1.10. Tip-2 Diyabetin Gelişmesinde Rol Oynayan Faktörler ve Etkileşimleri	40
Şekil 1.11. Obezitenin ve Oksidatif Stresin Tetiklediği Beta-Hücre Hasar Mekanizması	42
Şekil 1.12. Tip-2 Diyabette Sitokinlerin Patogeneze Etkisi	44
Şekil 1.13. Sitokin Geninde Meydana Gelen SNP'ler ve Olası Sonuçları	49

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. MODY ve Tip-2 Diyabet Arasındaki Farklar	9
Çizelge 1.2. Diyabetin Akut Komplikasyonları ve Oluşma Yolları	21
Çizelge 1.3. Sitokinlerin Karakteristik Özellikleri	26
Çizelge 1.4. Sitokinlerin Fonksiyonlarına Göre Sınıflandırılması	30
Çizelge 1.5. Pro/Anti-Enflamatuar Mediatorler	31
Çizelge 3.1. Kontrol ve Hasta Grubundaki Deneklere Ait Demografik Bilgiler	60
Çizelge 3.2. Kontrol ve Hasta Grubuna Ait Anamnez Bulguları	61
Çizelge 3.3. Kontrol ve Hasta Gruplarına Ait Biyokimyasal Parametreler	62
Çizelge 3.4. Kontrol Grubuna Ait Genotipler	65
Çizelge 3.5. Hasta Grubuna Ait Genotipler	67
Çizelge 3.6. TNF- α Bölgelerine Göre Hesaplanan Alel Frekansları	71
Çizelge 3.7. Genotip Dağılım Sayıları ve Hesaplanan OR/CI Değerleri	72

1. GİRİŞ

Diabetes mellitus (DM) insülin sekresyonu veya insülin mekanizmasındaki bozukluklar sonucu meydana gelen ve hiperglisemiyle karakterize metabolik bir rahatsızlıktır. Diyabette görülen kronik hiperglisemi ise vücutta bazı organların özellikler gözlerin, böbreklerin, sinir hücrelerinin, kalbin ve kan damarlarının zarar görmesine, fonksiyonlarının bozulmasına ve bu organların yetmezliğine neden olabilmektedir (IDF, 2013; WHO, 2006).

Uluslararası Diyabet Federasyonu'nun [International Diabetes Federation (IDF)] 2017 yılı Diyabet Atlası'na göre dünyada hali hazırda 415 milyon insan diyabetle yaşamakta olup bunların yaklaşık % 46,5'ini henüz teşhis konmamış bireyler oluşturmaktadır. 2040 yılı tahminlerinde bu sayıların 642 milyonu bulacağı ve her 10 bireyden 1'inin diyabet hastası olacağı belirtilmektedir. Diyabete bağlı sağlık harcamalarının 2013 yılında 548 milyon dolar olduğu ve bu oranın 2035'te 627 milyon dolar olacağı tahmin edilmektedir. 2013 yılında 21 milyon bebek hamilelikte gözlenen diyabet nedeniyle doğum kusurlarıyla dünyaya gelmiştir. Diyabet 2013 yılında 5.1 milyon kişinin ölümüne sebep olmuştur ve bu da her 6 saniyede 1 bireyin diyabetten dolayı hayatını kaybetmesi anlamına gelmektedir. 2035 yılı tahminlerine göre en çok diyabetli hastanın yaşayacağı ülkelerden birinin ise Türkiye olması beklenmektedir (IDF, 2017; IDF, 2013).

Benzer şekilde Dünya Sağlık Örgütü'nün [World Health Organization (WHO)] tahminlerine göre dünyada 2014 yılında 422 milyon insanın diyabet hastası olduğu belirtilmiştir. Bu da diyabetin toplumda görülme prevalansının yaklaşık % 8.5 olduğu anlamına gelmektedir. Bu sayının ise 1980 yılında ise sadece 108 milyon olduğu vurgulanmıştır. WHO 2012 yılında 1.5 milyon insanın bu nedenle hayatını kaybettiğini yine yayınladığı küresel raporunda belirtmiştir. Bunun dışında kanda

yüksek oranda glukoz bulunmasına bağlı olarak 2.2 milyon insanın kardiyovasküler sebeplerle hayatını kaybettiği ve dolayısıyla toplam rakamın 3.7 milyon olduğu belirtilmiştir (WHO, 2016).

Sitokinler; hücreler tarafından salgılanan küçük protein yapısındaki moleküller olup hücreler arasındaki etkileşim ve iletişimlerde spesifik etkileri vardır. Sitokin genel bir ad olup üretildikleri bölgeye göre lenfokin (lenfositler tarafından üretilen sitokinler), monokin (monositler tarafından üretilen sitokinler), interlokin (lökositler tarafından üretilen sitokinler) vb. değişik isimler alabilmektedirler. Sitokinler ayrıca kendilerini salgılayan hücrelere (otokrin etki), kendilerine yakın olan hücrelere (parakrin etki) veya kendinden uzak hücrelere (endokrin etki) etki edebilmektedirler. Aynı zamanda sitokinler hem vücuttaki inflamasyonu arttırıcı (pro-inflamatuar) ve vücuttaki inflamasyonu azaltıcı (anti-inflamatuar) özellikte olabilmektedirler (Zhang ve ark., 2007). Sitokinler; immün cevabın verilmesi, enflamasyon oluşumu veya enflamasyonun engellenmesi ve doku onarımı veya doku harabiyeti gibi homeostatik mekanizmaların düzenlenmelerinde önemli rol oynamaktadırlar. Dolayısıyla buldukları yer, etki ettikleri alan ve pro/anti-inflamatuar olmalarına göre sitokinlerin çeşitli hastalıkların oluşumuna etki gösterdiği bilinmektedir. (Goldberg, 2009).

Genetik polimorfizmler bireylerde, belli gruplarda veya popülasyonda DNA dizilimindeki farklılık olarak tanımlanmaktadır. Meydana gelen genetik polimorfizmlerin büyük bir kısmı tek nükleotid polimorfizmleri (SNPs) olup adından da anlaşılacağı gibi tek bir nükleotidin değişimi sonucu meydana gelmektedir. İnsanda görülen genetik polimorfizmlerin yaklaşık % 90'ının bu polimorfizmler oluşturduğudur (Brookes, 1999). Bunun dışında başka polimorfizm çeşitleri de olup bunlardan en önemli ikincisi INDEL olarak da bilinen DNA diziliminde meydana gelen ve 1 bp - 10 kb arasındaki baz çiftlerinin eklenmesi-silinmesine dayanan polimorfizmlerdir (Mills ve ark., 2011).

Tüm genlerde olduğu gibi sitokin genlerinde de polimorfizmler meydana gelmektedir. Sitokin genlerinin regülatör bölgelerinde meydana gelebilecek polimorfizmlere bağlı olarak sitokinlerin ekspresyon düzeylerinde değişiklikler meydana gelebilmektedir. Buna bağlı olarak bazı sitokin gen polimorfizmlerinin belli bazı hastalıkların gelişimine olumlu veya olumsuz etkilerinin olacağı belirtilmektedir (Ateş ve ark., 2008; Bidwell ve ark., 1999; Minciullo ve ark., 2016; Teng ve ark., 2015).

Yayınlanmış bazı bilimsel çalışmalar göstermiştir ki polimorfizme bağlı olarak sitokin enflamasyonunda artış görülebilmektedir. Enflamasyonda meydana gelen artış insülin direncine sebep olabilmektedir. Bu da bireylerin Tip-2 diyabete yatkın hale gelmeleri demektir (King, 2008). Proenflamatuvar sitokinlerden olan TNF- α sitokininin diyabet de dahil olmak üzere enflamasyon aracılı pek çok hastalığın gelişiminde rol oynadığı bilinmektedir (Donath ve Shoelson, 2011; Mirza ve ark., 2012; Saxena ve ark., 2013). Yapılan çalışmalar sonucu TNF- α (-238), TNF- α (-857), TNF- α (-863), TNF- α (-1031) sitokin gen polimorfizmlerinin diyabetlilerde hastalığın ve hastalığın komplikasyonlarının gelişimi ile bağlantılı olduğu öne sürülmektedir (Bidwell ve ark., 1999; Gallagher ve ark., 2003; Haukim ve ark., 2002; Hollegaard ve ark., 2006).

Bu verilerden hareketle bu çalışmada; diyabet gelişiminde pay sahibi olduğu düşünülen TNF- α (-238), (-857), (-863) ve (-1031) sitokinlerinin belirtilen bölgelerindeki gen polimorfizmlerinin araştırılması hedeflenmiştir. Yapılan literatür taraması sonuçlarına göre bu gen bölgelerinden bazılarının Tip-2 diyabet ile olan ilişkisini konu olan çalışmalara rastlanmamıştır. Ayrıca bu gen bölgelerinde gözlenen polimorfizmler bazı popülasyonlarda diyabetin gelişimiyle ilişkili bulunmuşken bazı popülasyonlarda bu ilişki gözlenmemiştir. Yapılan bu tez çalışmasında bu bölgelerin Türk popülasyonunda diyabet gelişimi üzerindeki etkilerini irdelemek amaçlanmıştır.

1.2. Diabetes Mellitus

1.2.1. Diyabetin Tanımı

Vücutta kan şekerinin düzenlenmesi kompleks bir süreç olup birçok farklı organ ve kimyasal madde bu süreçte yer almaktadır. Kan şekerinin düzenlenmesinde en önemli organ ise pankreas olup pankreasın beta hücreleri bu sürecin yapı taşı olarak kabul edilir. Diabetes mellitus, ana bulgunun kronik hiperglisemi olduğu metabolizma bozuklukları için kullanılan genel bir terimdir. Diyabetin sebebi olarak ya insülin salgılanması bozukluğu ya da bozulmuş insülin etkisi ya da her ikisi olarak tanımlanabilir (Kerner ve ark., 2014).

Birkaç patojenik süreç diyabet gelişiminde rol almaktadır. Bunlar arasında pankreas beta hücrelerinin otoimmün yıkımından kaynaklanan insülin eksikliği, insülin etkisine direnç gösteren anormallikler başlıcalarıdır. Diyabette karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki anormalliklerin temeli hedef dokularda insülin eksikliğidir. Hastalarda eksik insülin etkisi sonucu yetersiz insülin sekresyonu ve/veya hormonal yolların bir veya birden fazla noktalarında azalmış insülin doku tepkileri görülmektedir. İnsülin salgılanmasının bozulması ve insülin etkisinde meydana gelen fonksiyon bozuklukları sıklıkla eş zamanlı olarak hastalarda görülmektedir (ADA, 2014).

1.2.2. Diyabetin Sınıflandırılması

Diyabetin sınıflandırması tedavi stratejisini belirlemede önemli bir faktör olsa da bu sınıflandırmayı yapmak her zaman kolay olamamaktadır. Hastaların çoğu tek bir tip diyabet sınıflandırmasına uymamaktadır ve diyabet tanısı alan hastaların yaklaşık

% 10'unun yanlış sınıflandırmaya konulduğu tahmin edilmektedir. (Kharroubi ve Darwish, 2015).

İlk zamanlarda diyabet; çocuk ve erişkin diyabeti olmak üzere 2 gruba ayrılmıştır. Bu sınıflama diyabetin klinik özelliklerini belirtmede yeterli olmadığından zaman içerisinde birçok sağlık örgütü yeni sınıflandırmalar yapmaya başlamıştır. Bunlardan birisi de çok yaygın olarak kullanılan American Diabetes Association (ADA)'nın ilk olarak 1997 yılında yaptığı ve hala en çok kabul edilen sınıflandırmadır (ADA, 2014; Kharroubi ve Darwish, 2015).

Ayrıca diyabetin sınıflandırılması çoğu zaman hastaya tanı konulan an ile alakalıdır. Örneğin; gestasyonel diyabeti olan hamile bir kadın doğum yaptıktan sonra hala hiperglisemik olmaya devam edebilir. Bu da bize aslında o kişinin gestasyonel diyabeti değil de Tip-2 diyabeti olduğunu gösterir. Buna benzer şekilde dışarıdan yüksek dozlarda steroid alan bir bireyde hiperglisemi gözlenebilir ancak ilaç kesildiğinde bireydeki glukoz seviyeleri normale dönebilir. Aynı birey yıllar sonra pankreatit epizotları geçirdiğinde diyabet gelişebilir. Bu sebeple klinik olarak önemli olan hipergliseminin patogenezi anlamaktır (ADA, 2014).

TİP-1 DİYABET: Tip-1 diyabet, pankreasın Langerhans adacıklarındaki insülin üreten beta hücrelerinin hasar görmesi sonucu vücudun insülin ürememesi veya az miktarda üretmesi ile karakterize kronik otoimmün bir hastalıktır. Beta hücreleri glukoz tarafından uyarılır ve bunun sonucu olarak insülinin salgılanması görevini yerine getirir. Geçmişte Tip-1 diyabet çocuk veya ergen hastalığı olarak anılmış olsa da bu fikir zaman içerisinde değişmiştir ve Tip-1 diyabet erişkinlerde de görülebilen bir hastalık olarak kabul edilmektedir (Atkinson ve ark., 2011).

Bu tip diyabet "bağışıklık-aracılı" ya da "idiopatik" olabilmektedir. Hastalarda görülen Tip-1 diyabetin büyük bir çoğunluğunu bağışıklık-aracılı tip oluşturur.

Başışıklık-aracılı tipte pankreasın beta hücrelerinde oluşan kayıpların temel sorumlusu T-lenfosit veya makrofaj aracılı otoimmün yanıttır. Pankreatik antikorlar hastalığın karakteristiği olup tanı koyma esnasında uygulanan test sonuçlarına göre hastaların % 98'inde bu antikorlar tespit edilir. (Baillie, 2008; Chiang ve ark., 2014).

Bu tip diyabette beta hücreleri tamamen veya büyük oranda yıkıma uğradıklarından dolayı hastalar oral antidiyabetiklere cevap verememektedirler. Hastaların dışarıdan insülin alması gerekir ve çoğu zaman hastalarda ağır seyreden poliüri, polidipsi ve ketonemi gibi semptomlar görünür. (Chiang ve ark., 2014)

Hastalığın gelişmesinde genetik faktörler çok önemli olup Tip-1 diyabeti olan kişiler üzerinde yapılan çalışmalar, ailede Tip-1 diyabet öyküsü varsa kişinin de Tip-1 diyabet sahibi olmasının normal bir bireye kıyasla 15 kat fazla olduğunu göstermiştir (Chiang ve ark., 2014)

TİP-2 DİYABET: Tip-2 diyabet; insülin salınımındaki veya insülinin diğer vücut hücreleri üzerinde gösterdiği etkisindeki bozukluklar sonucu oluşan kronik hiperglisemi ile karakterize çok faktörlü bir hastalıktır. Diyabet hastalarının yaklaşık % 90'lık bir bölümü Tip-2 diyabet sahibidir (WHO ve IDF, 2013).

Söz konusu bozukluklar vücudun özellikle de kas ve karaciğer dokularının glukozu kullanma şeklini etkileyerek vücutta önemli biyolojik değişikliklere neden olabilmektedir. Tip-2 diyabette başlıca risk faktörleri; aile öyküsünde diyabet olması, obezite, sağlıksız diyet, yetersiz fiziksel aktivite, ilerleyen yaş, yüksek tansiyon, bozulmuş glüköz toleransıdır. Bunun dışında diğer bazı genetik faktörlere bağlı olarak da bireyler diyabete yatkın hale gelebilmektedirler.

Semptomlar Tip-1 diyabetinkilere çoğu zaman benzerdir, ancak genellikle daha az belirgindir. Sonuç olarak hastalık, hastalığın başlangıcından birkaç yıl sonra, komplikasyonlar ortaya çıkmaya başladıktan sonra teşhis edilebilir. Hastaların büyük bir bölümü obez olmakla birlikte normal kiloya sahip diyabetli hastalarda ise bel bölgesindeki yağ oranının yüksek olduğu gözlenmiştir. Bunun dışında hastalığın gelişmesinde birçok farklı genetik etken bulunmakla beraber eğer ailede diyabet öyküsü varsa kişinin hastalığa yakalanma riski daha da artmaktadır. Ayrıca siyah, Kızılderili ve sarı ırklarda ortaya çıkma olasılığının daha fazla olduğu bulunmuştur (Turner ve ark., 2010; WHO, 1999; WHO, 2013)

Tip-2 diyabetin erken dönemlerinde görülen en büyük sorun insülin duyarlılığında meydana gelen azalmadır. Buna bağlı olarak plazmadaki insülin seviyelerinde artış gözlenir. Hastalığın bu aşamasında hiperglisemi gözlenmeye başlanır. Bu süreç içerisinde alınacak çeşitli yaşam tarzı değişiklikleri ve karaciğerde glukoz yapımını azaltan ya da insülin duyarlılığını arttıran ilaçlar (oral antidiyabetikler) kullanılarak düzeltilebilir. Hastalık ilerledikçe, insülin salgılanmasındaki bozukluk daha da ilerler ve artık oral antidiyabetik ilaçlar işe yaramamaya başlar. Bu noktadan sonra hastaların insülin kullanmaya başlaması bir zorunluluk haline gelir (Eberhart ve ark., 2004).

GESTASYONEL DİYABET: Yıllar boyunca gestasyonel diyabet (GDM) hamilelikle birlikte başlayan herhangi bir şiddetteki glukoz intoleransı olarak tanımlanmıştır. Her ne kadar çoğu vakada, gözlenen bu glukoz intoleransı doğumla birlikte düzelse de doğum sonrası düzelmeyen diyabet için de bu tanım kullanılmaktadır. Hatta fark edilmemiş Tip-2 diyabete sahip olan ancak gebelikte fark edilen Tip-2 diyabetli gebeleri de bu tanım içerisine almak mümkündür. 2008-2009 yıllarında Uluslar arası Diyabet ve Hamilelik Çalışma Grupları Birliği [International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG)] tarafından yapılan araştırmaya göre yaklaşık gebelerin % 7'si bu durumdan etkilenmektedir. Bu oran popülasyona bağlı olarak %1 ve %14 arasında değişmektedir. Bu da yılda 200,000 vakaya tekabül etmektedir (ADA, 2011).

Gestasyonel diyabet gebelikte kesin olarak tanısı belirgin olmayan diyabet olup bu durum fetal makrozomi, ölü doğum, yenidoğan metabolik bozuklukları, malformasyon vb. problemler de dahil olmak üzere olumsuz gebelik sonuçları ile ilişkilidir. GDM'li annelerin çocukları diyabet ve obezite için artmış risk grubu altındadır. Ayrıca GDM'li kadınların doğum sonrası diyabet hikayeleri düzelse de gebeliği takip eden yıllarda diyabet gelişme olasılıkları daha yüksektir (Coustan, 2013).

Bu annelerde, daha önceden var olan diyabetten veya gestasyonel diyabetten kaynaklanan maternal hiperglisemi, fetal hiperglisemiye neden olur, çünkü glukoz plasentaya kolayca geçiş yapabilmektedir. Fetal pankreas, daha fazla insülin üreterek ve serbest bırakarak artan glukoz konsantrasyonlarına tepki verir. Diyabetik gebelikte görülen fetal problemlerin çoğuna yol açan, diyabetik fetopati olarak bilinen fetal hiperinsülinemi budur (Galan ve Battaglia, 2004).

DİĞER DİYABET TÜRLERİ:

- **Beta-Hücrelerinin Genetik Defekti:** Bu tür diyabet formları genellikle beta hücre fonksiyonunda monogenetik kusurlar ile ilişkilidir. Diyabetin bu formları sıklıkla erken yaşlarda (genellikle 25 yaş altı) hiperglisemi başlangıcı ile karakterizedir. Maturity-onset diabetes of the young (MODY) olarak adlandırılır ve bozulmuş insülin aksiyonundaki minimal aktivite veya insülin salgılanmasında hiç aktivite olmamasıyla ile karakterize edilirler. MODY, Tip-2 diyabet ile sıklıkla karıştırılır ancak MODY ve Tip-2 diyabet arasında pek çok farklılık vardır (Çizelge 1). Genetik çalışmalar MODY'nin bir takım alt tiplerini tanımlamıştır. Hepatik nükleer faktör 4 (HNF4), glikokinaz (GCK), hepatik nükleer faktör 1 alfa ve beta (yaygın olarak HNF1A ve HNF1B olarak da bilinir, ancak resmi semboller sırasıyla TCF1 ve TCF2'dir), insülin promoter faktör 1 (IPF-1) ve NEUROD1

genlerinde meydana gelen mutasyonlar MODY'nin bilinen altı formunun nedenidir (Dean ve McEntyre, 2004)

Çizelge 1.1. MODY ve Tip-2 Diyabet Arasındaki Farklar (Alberti ve Zimmet, 1998)

Karakteristikler	Tip-2 Diyabet	MODY
<i>Kalıtım</i>	<i>Poligenik</i>	<i>Monogenik, Otozomal Dominant</i>
<i>Görülme Yaşı</i>	<i>Genelde > 40 yaş</i>	<i>Genelde < 25 yaş</i>
<i>Obezite</i>	<i>Obezdir</i>	<i>Obez değildir</i>
<i>Metabolik Sendrom</i>	<i>Yoktur</i>	<i>Vardır</i>

- **İnsülin Mekanizmasındaki Genetik Defektler:** İnsülin aksiyonundaki genetik olarak belirlenmiş anormallikler sonucu oluşan olağandışı diyabet türleridir. İnsülin reseptöründe görülen mutasyonlar ile ilişkili metabolik anormallikler sonucu hiperinsülinemi ve hiperglisemi oluşur. İnsülin reseptöründeki genetik kusurlar, bebeklikte veya erken çocukluk döneminde ortaya çıkan resesif koşullara bağlı olarak ve kızlarda genellikle peripubertal döneme bağlı olarak ortaya çıkabilir. İnsülin reseptopatisinin çocukluk döneminde ortaya çıkan resesif biçimlerine Donohue sendromu veya Rabson Mendenhall sendromu denir. Her iki sendrom da insülin reseptör geninin her iki allelinde meydana gelen mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. Ergenlikte veya daha öncesinde görülen daha hafif insülin reseptör kusurları, Donohue veya Rabson Mendenhall sendromuna göre daha yaygındır ve genellikle reseptörün hücre içi alanını etkileyen mutasyonlar sonucu ortaya çıkar. Genellikle otozomal dominanttır, ancak resesif kalıtım örnekleri de bildirilmiştir (Challis ve ark., 2013).
- **Ekzokrin Pankreas Hastalıkları:** Pankreasın ekzokrin ve endokrin hücrelerinin genel olarak birbirlerinden bağımsız olarak işlev gördüğü düşünülse de anatomik olarak bu bölgeler birbiriyle yakından ilişkilidirler. Bu anatomik ilişki, pankreatik

adacık hücre disfonksiyonunun, pankreas ekzokrin hastalığıyla ilişkili olduğunu göstermektedir. Pankreatik ekzokrin sendromların başlıcaları akut ve kronik pankreatit, postpankreatektomi sendromu, kistik fibroz ve pankreatik karsinom gibi pankreatik hastalıklardır. Kısacası pankreasa hasar veren herhangi bir süreç diyabete neden olabilir. Bunun dışında diyabetin oluşması için pankreasın geniş bir bölümünün zarar görmüş olması gerekir; ancak sadece küçük bir bölgede bile görülen adrenokarsinoma diyabet ile ilişkili olabilir (Price ve ark., 2010; Sjoberj, 1989).

- **Endokrinopatiler:** Çeşitli hormonlar (örneğin, büyüme hormonu, kortizon, glukagon, epinefrin) insülin etkisini antagonize edebilir. Bu hormonların aşırı miktarda görüldüğü durumlar (örneğin, akromegali, Cushing sendromu, glukagonoma, feokromositom) diyabete neden olabilir. Akromegalik hastalar hem karaciğerde hem de periferlerde insüline dirençlidir, bazal post-travma sonrası hallerde hiperinsülinemi ve artmış glukoz döngüsü sergilerler. Akromegalili hastalarda bozulmuş glukoz toleransı yaygınlığı % 16-56 arasında değişirken, glukoz toleransındaki bozukluğun derecesi dolaşımdaki büyüme hormonu seviyeleri, yaş ve hastalık süresi ile alakalı olarak değişebilmektedir (Resmini ve ark., 2009). Cushing sendromunda diyabet gelişimi glukokortikoid fazlalığının doğrudan ve dolaylı bir sonucudur. Gerçekten de, glukokortikoid fazlalığı hem karaciğerde hem de glukoz metabolizmasından sorumlu karaciğerde glikoneogenezin uyarılmasına ve iskelet kaslarında insülin duyarlılığında azalmaya neden olur (Pivonello ve ark., 2010).
- **İlaç veya Kimyasal Kaynaklı Diyabet:** Birçok ilaç insülin salgısını bozabilir. Bu ilaçlar tek başlarına diyabete neden olmayabilir, ama insülin direnci olan bireylerde diyabeti hızlandırabilir. İlaçlar veya kimyasallar kan glukoz konsantrasyonlarını iki genel mekanizma ile artırabilir: İnsülin biyosentezi veya sekresyonunu azaltarak veya insüline karşı doku duyarlılığını azaltarak. Birçok hastada kullanılan glukokortikoidlere ve yaygın olarak kullanılan antihipertansif ilaçlara özellikle dikkat edilmelidir. Hipertansiyon genellikle diyabet hastalığına eşlik eder ve çoğu hasta kan basıncı kontrolü için birden fazla antihipertansif ajana ihtiyaç duyar. Bu da diyabet riskini giderek arttırmaktadır (Gittoes ve ark., 2010)

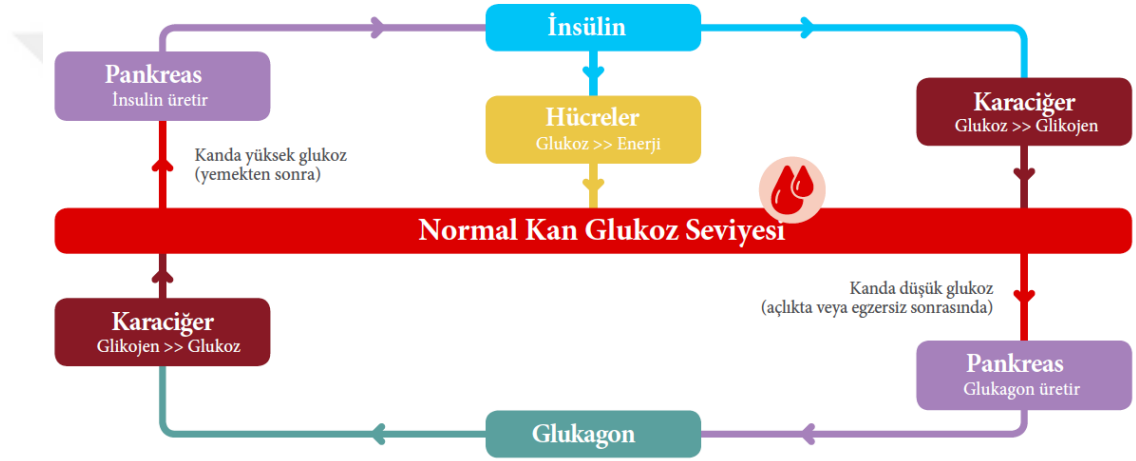
- **Enfeksiyonlar:** Bazı virüsler beta hücre yıkımı ile ilişkili bulunmuştur. Diyabet özellikle konjenital rubellası olan hastalarda görülür. Buna ek olarak, coxsackievirüs B, sitomegalovirüs, adenovirüs gibi bazı viral hastalıkların diyabetin indüklenmesinde etkili olduğu görülmüştür (ADA, 2011).

1.2.3 Diyabetin Fizyolojisi

Gıdalarla dışarıdan alınan karbonhidratlar vücuda girdikten bir süre sonra karbonhidratların en temel yapı taşı olan glukozu dönüştürülür. Glukoz, vücudun temel enerji kaynağı olarak kabul edilmektedir. Pankreasın beta hücreleri diyet sonrası kanda miktarı artan bu glukoz molekülleri tarafından uyarılarak insülinin kana karışması için harekete geçer. İnsülin ise glukozun vücuttaki diğer hücreler tarafından hücre içerisine alınarak enerji olarak kullanılmasını sağlamaktadır. Bu işlem vücuttaki hücrelerin yaklaşık üçte ikisi tarafından sürekli olarak yapılmaktadır. Aynı zamanda bu glukoz gerektiğinde başka maddelere dönüştürülebilir veya depolanabilir (Newsholme ve ark., 2014).

İnsülinin tek etkisi vücut hücrelerinin glukozu hücre içine alarak enerji olarak kullanmalarını sağlamak değildir. İnsülin ayrıca karaciğer hücrelerinde glukozu glikojen haline getirmek ve oluşan glikojeni yine karaciğerde depolamak için gerekli mekanizmayı tetikleyen başlıca hormondur. Dolayısıyla insülinin kanda artması ve fiziksel aktivite sonucu kandaki glukoz karaciğerde depo edilir ve aynı zamanda vücut hücreleri tarafından enerji olarak kullanılır. Bunun sonucunda kandaki glukoz seviyesi giderek azalır. Kanda glukoz seviyesinin düşmesine bağlı olarak ise pankreastan insülin salınımı giderek azalır ve glukagon üretimi artar. Karaciğerdeki glikojenler yıkıma uğrayarak kana glukoz olarak verilirler. Glukagon, insülinin yaptığı etkiye ters bir etki gösterir ve kan şekerinin yükselmesine neden olur. Vücuttaki dengeyi sağlamak ve kan glukoz seviyesini belli bir aralıkta tutmak adına bu iki hormon ve mekanizma sürekli birbirine ters bir etki ile çalışır.

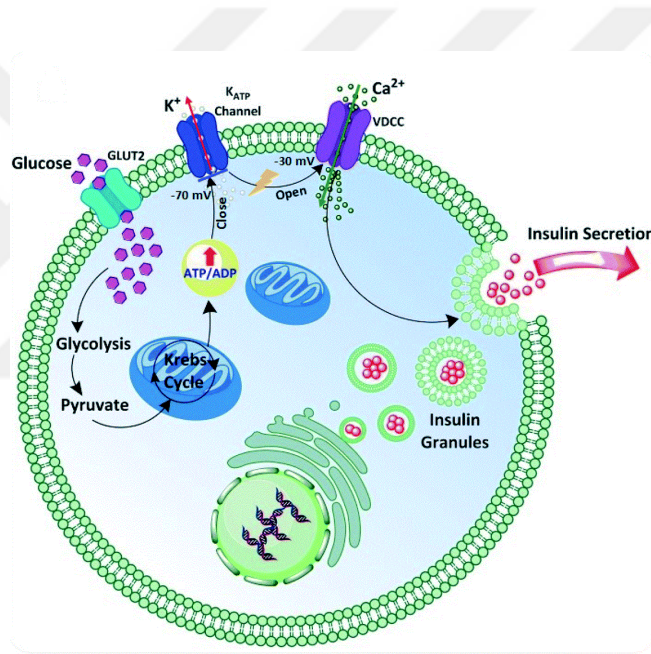
Hücresel düzeyde bakıldığında aslında insülin üretimi pankreastaki golgi aygıtları tarafından kan glukoz seviyesinden bağımsız olarak belli bir düzeyde yürütülmektedir. Ancak üretilen bu insülin hücre içerisinde granüllerde bulunmaktadır. Kandaki glukoz miktarının artması insülin üretimini değil; hücre içerisinde üretilmiş halde bulunan glukozun ekzositoz yoluyla hücre dışarısına salınarak kana karışmasını tetikler.



Şekil 1.1. İnsulinin Etki Mekanizması (IDF, 2017)

Kanda yüksek miktarda bulunan glukoz pankreastaki beta hücrelerinin zarında bulunan GLUT2 yani glukoz transporter 2'nin uyarılmasını sağlar. GLUT2 hücre membranından glukozun aracılı taşınarak hücre içerisine girmesini sağlar. Hücre içerisine giren glukoz glukoliz ile metabolize olmaya başlar. Sırasıyla önce pürivatlar oluşur. Ardından bu pürivatlar krebs döngüsüne girer ve ATP yani enerji elde edilmesini sağlar. Sentezlenen ATP hücre içindeki ATP/ADP oranı artırır. Bu durum ATP-Duyarlı Potasyum Kanallarının (K-ATP) kapanmasına neden olur (Newgard ve McGary, 1995).

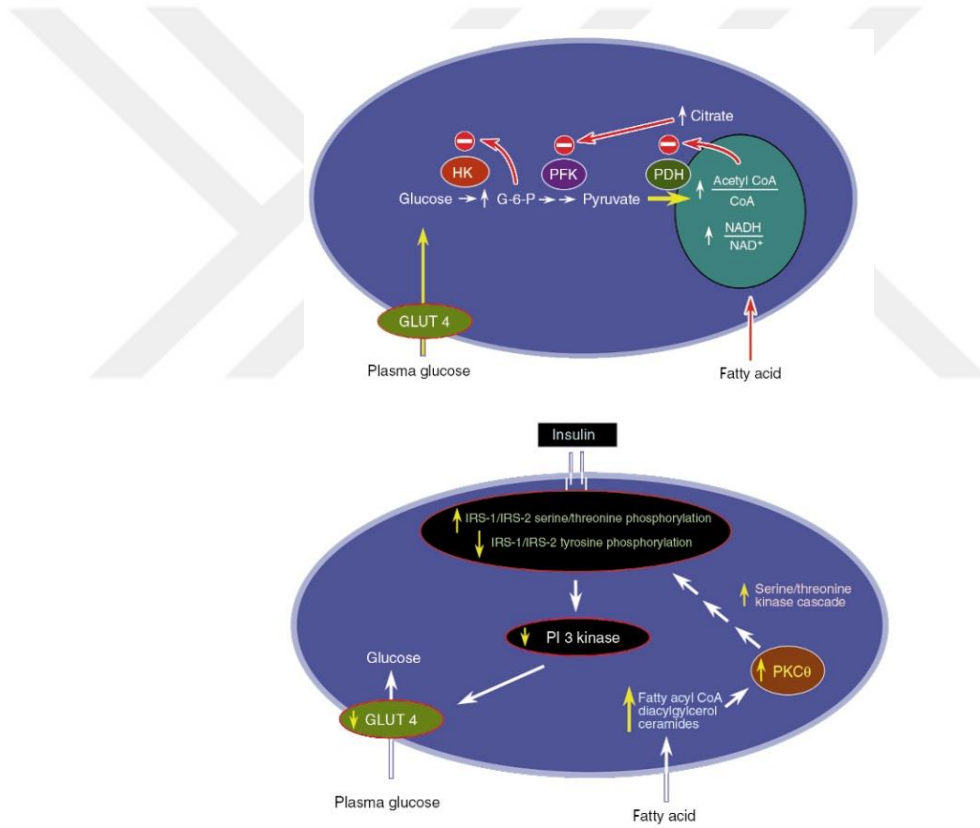
Hücre membranında GLUT2 dışında birçok farklı protein yapısında kanal bulunmaktadır. Bunlardan birisi de Voltaj Duyarlı Kalsiyum Kanalları (VDCC)'dir. Hücre dışına çıkamayan K^+ hücre içindeki potansiyelin giderek yükselmesine ve hücre membranının depolarize olmasına neden olur. Bu durum VDCC kanallarının açılmasını uyarır. Buna bağlı olarak hücre dışında bulunan Ca^{+2} iyonları hücre içerisine alınır. Hücre içine giren kalsiyum iyonları insülinin hali hazırda saklandığı granüllerden ekzositoz yoluyla hücre dışına çıkmasına neden olur (Newgard ve McGary, 1995).



Şekil 1.2. İnsülinin Hücre İçinden Salınım Mekanizması (Newgard ve McGary,1995)

Tip-1 diyabette beta hücreleri hasar gördüğünden dolayı yukarıdaki mekanizmalar gerçekleşemez ve hastada insülin yetmezliği görülür. Tip-2 diyabette ise durum biraz daha farklıdır. Tip-2 diyabetin gelişiminde en önemli etken insülin rezistansının gelişmesidir.

İnsülin rezistansında ise vücutta yağ asitlerinin artması sonucu kas hücreleri içerisine bu yağ asitleri de girmeye başlar. Kas hücrelerinde giderek artan yağ asitleri intramitokondriyal AsetilCoA/ ve NADH/NAH⁺ dengelerinin yükselmesine neden olur. Bu da pürivat dehidrogenazın inaktivasyonu ile sonuçlanır. Sonrasında hücre içindeki sitrat konsantrasyonu artar ve bu durum fosfofruktokinazın inhibisyonuna neden olur. Hücre içinde glukoz-6-fosfatın artmasına bağlı olarak heksokinaz II aktivitesi inhibe edilir. Bunun sonucunda da intraselüler glukoz konsantrasyonu yükselir. Bunu takiben kas hücrelerinde glukoz hücre içerisine alınmama başlanır ve kan plazmasında glukoz giderek yükselir (Schulman, 2000).



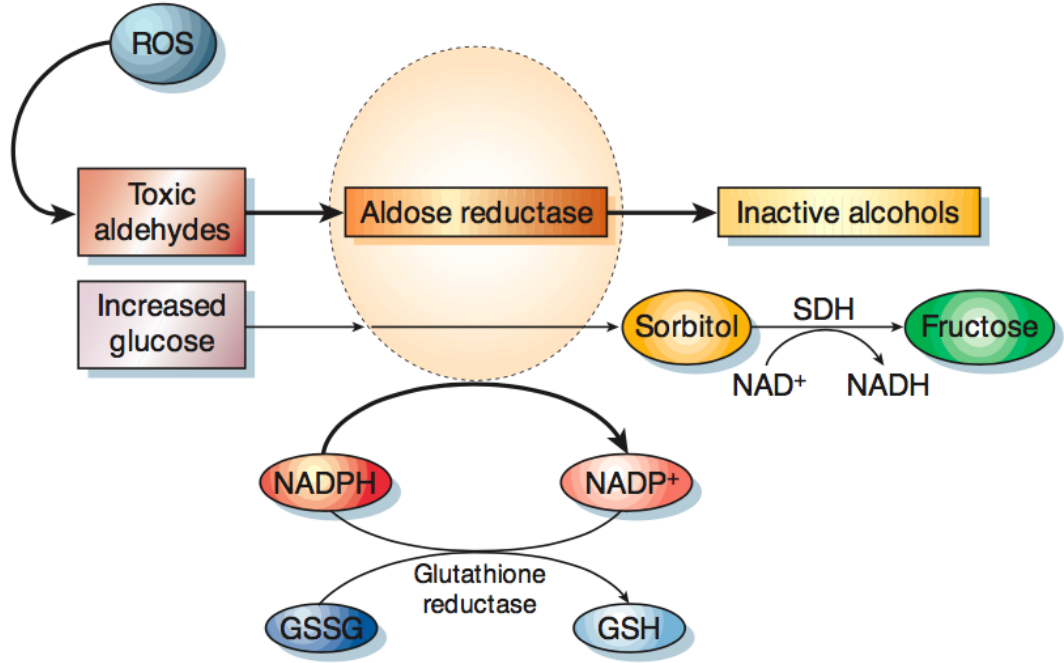
Şekil 1.3. İnsülin Direncinin Gelişme Mekanizmaları (Schulman, 2000)

Bir başka alternatif insülin rezistansı mekanizması ise yağ asitlerinin metabolitlerinin hücre içinde artması ile başlar. Bu metabolitlerin başlıcaları yağ asidi CoA, diaçilgliserol ve seramidlerdir. Bu metabolitler hücre içinde serin/treonin kinaz yolağını aktive eder. Bu da serin/treonin alanlarında insülin reseptör substratlarının

(IRS-1 ve IRS-2) fosforilasyonuna neden olur. Serin/treonin fosforilasyonu artarken tirozin fosforilasyonu giderek azalmaya başlar. Bunun sonucunda glukozun hücre içerisine alınmasını sağlayan yolaktan sorumlu olan PI 3-kinaz aktive edilemez ve glukoz insülin reseptör sinyalleri ve glukoz taşınımı tamamen ortadan kalkmış olur. GLUT4 aktivitesinde gözlenen azalmalar sonucu plazmada glukoz giderek yükselmeye başlar. Bu mekanizma ayrıca insülin reseptör sinyalinin akışında da aksaklıklara neden olur. (Schulman, 2000).

Bu durum vücudun tüm hücrelerini etkilese de çoğu hücre bazı mekanizmalarla hücre içerisindeki glukoz konsantrasyonunu dengeli bir seviyede tutma yetisine sahiptir. Öte yandan retina içindeki kılcal endotel hücreleri, böbrek glomerülündeki mezangial hücreler ve periferik sinirlerdeki sinirler ve Schwann hücreleri bunu becerebilme konusunda yetenekli değildirler. Bu sebeple hiperglisemi en çok bu bölgelerde komplikasyonlara neden olmaktadır (Brownlee, 2005).

Çok sayıda klinik deneyin sonunda hipergliseminin diyabetik komplikasyonlara nasıl yol açtığına ilişkin dört temel hipotez geliştirilmiştir. Bu dört hipotez; arttırılmış poliol yolu akımı; advanced glycation end-products (AGE) oluşumunun artması; protein kinaz C (PKC) izoformlarının aktivasyonu ve heksosamin yolak akışının artmasıdır (Brownlee, 1995).

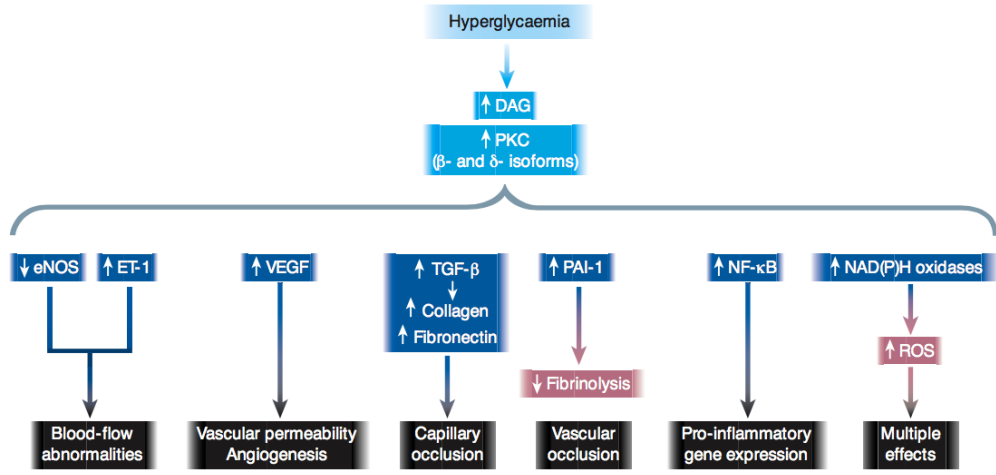


Şekil 1.4. Arttırılmış Poliöl Yolu Akımı Hipotezi (Brownlee, 2005)

Aldoz redüktazın en önemli görevi hücredeki toksik aldehytleri inaktif alkollere dönüştürmektir. Ancak arttırılmış poliöl yolu akımı hipotezine göre bir başka görevi de hücrede glukoz arttığıında glukozun sorbitole dönüşmesini sağlamaktır. Bu işlem gerçekleşirken ko-faktör olarak NADPH kullanılır. Daha sonra bu sorbitol, sorbitol dehidrogenaz enzimi ve ko-faktör olarak NAD⁺ ile fruktoza oksitlenir. NADPH aynı zamanda okside haldeki glutatyonun indirgenmesinde önemlidir. Hücre içerisinde glukoz arttığıında aldoz redüktazın toksik aldehytleri dönüştürme yetkisi sekteye uğrar hücrede reaktif oksidatif türevler birikmeye başlar. NADPH deposunda sıkıntılar meydana gelir ve okside haldeki glutatyon da fazlalaşır. Artan bu oksidatif stres sonucu hücre hasarı meydana gelir (Brownlee, 2005).

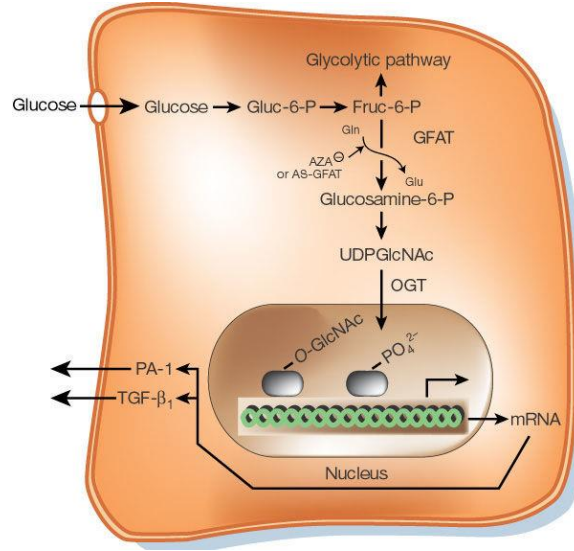
AGE'ler aşırı gukozun olduğu ortamlarda lipitlerin ve proteinlerin bunlarla birleşmesiyle oluşan son ürünlere denmektedir. Diyabete bağlı hiperglisemi durumunda oluşan AGE prekürsörleri ve AGE'ler albümün ve insülin ile birleşerek hücre hasarına neden olmaktadır. AGE'lerin albüminle birleşmesi sonucu AGE

reseptörleri uyarılır. Bunun sonucunda TNF- α ve PKC-alfa miktarları yükselmeye başlar. Böylece eflamasyon artar, insülin sinyallenmesi azalır. (Nowotny ve ark., 2015).



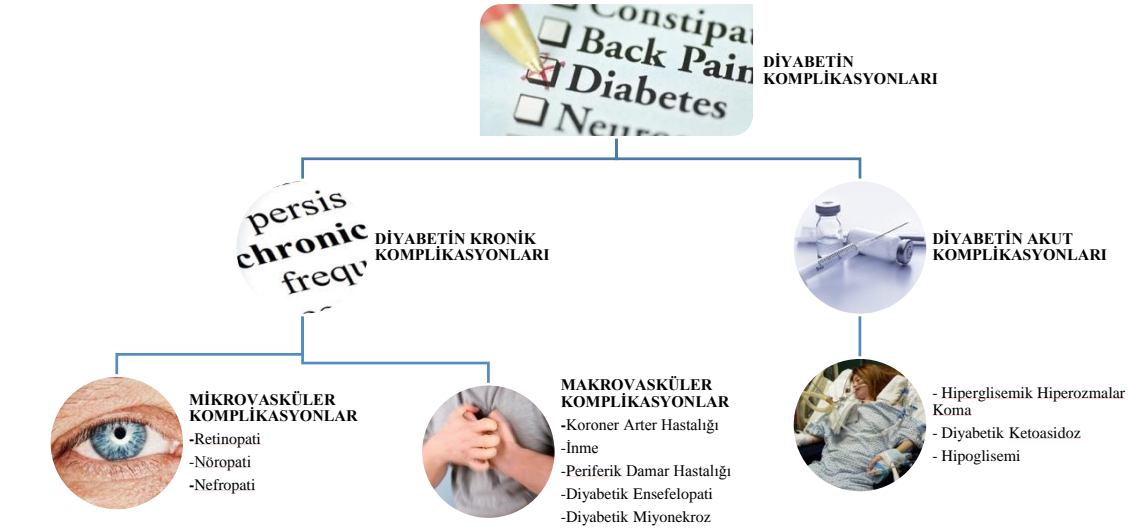
Şekil 1.5. Protein Kinaz C'nin Aktivasyonu Sonucu Gelişen Olaylar (Edwards ve ark., 2008)

PKC ailesi en azından onbir izoform içermektedir, bunlardan dokuzu lipid yapısındaki ikinci haberci diaçilgliserol (DAG) tarafından aktive edilmektedir. Hücre içinde gözlenen hiperglisemi, diyabetik kişilerin mikrovasküler hücrelerdeki, retinadaki ve böbrek glomerüllerindeki DAG miktarını artırır. DAG'ın artışı sonucu özellikle PKC-beta ve PKC-gama izoformları aktif hale gelir ve buna bağlı olarak da farklı hücrelerde farklı anormallikler meydana gelmektedir. Bunların başlıcaları da kan akışında anormallikler, vasküler geçirgenlikte anormallikler, angiogenesis, kapiler tıkanma, vasküler tıkanma ve enflamatuvar yanıtta artıştır (Brownlee, 2001; Brownlee 1992).



Şekil 1.6. Hekzosamin Yolak Akışının Artması (Brownlee, 2005)

Hücre içerisinde glukoz önce glukoz-6-fosfata ardından da fruktoz-6-fosfata dönüştürülür. Son hipoteze göre bu ürün sadece glikolitik yolağa girmez; bunun dışında GFAT (glutamin: fruktoz-6 fosfat amidotransferaz) tarafından UDP (üridin difosfat) N-asetil glukosamidine de dönüştürülür. Bundan sonra N-asetil glukozamin, transkripsiyon faktörlerinin serin ve treonin kalıntılarında değişikliğe, ardından gen ekspresyonunda patolojik değişikliklere neden olur. Bu değişiklik transforme edici büyüme faktörü-1 ve plazminojen aktivatör inhibitör-1'in ekspresyonunu sağlar, ki bunların her ikisi de kan damarları için kötüdür (Brownlee, 2001).



Şekil 1.7. Diyabetin Komplikasyonları

1.2.4. Diyabetin Komplikasyonları

1.2.4.1 Diyabetin Akut Komplikasyonları

1.2.4.1.1. Hiperglisemik Hiperozmalar Koma

Bu durum genellikle kontrol altına alınamamış Tip-2 diyabeti olan kişilerde görülür. Aynı zamanda henüz diyabet teşhisi almamış kişilerde de sıklıkla görülebilir. Normal durumda, böbrekler vücutta bulunan yüksek miktardaki glukozu atmak için idrara gönderir. Ama bu durum vücudun büyük oranda su kaybetmesine de neden olur. Oluşan dehidratasyon sonucu kan konsantrasyonu normalden daha yoğun bir hale gelir. Buna hiperozmalarite adı verilmektedir. Kanda yüksek oranda sodyum, glukoz ve suyun hücre içinden kan dolaşımına geçmesine neden olan diğer kimyasallar görülür. Bu da organların beyin de dâhil olmak üzere su kaybetmesine neden olur. Buna bağlı olarak da koma meydana gelebilir (Fishbein, 1995).

1.2.4.2. Diyabetik Ketoasidoz

Genellikle Tip-1 diyabetlilerde görülür ve Tip-2 diyabetlilerde görüldüğünde hastanın insülin eksikliğine doğru kayan bir patolojisi olduğunun habercisidir.

Diyabetik ketoasidozun nedeni aslında hücrelerin glukozu alıp kullanamaması sonucu aç kalmalarıdır. Pankreatik beta hücreler tarafından üretilen insülin, vücuttaki birçok hücrenin, özellikle kas, yağ dokusu ve karaciğer tarafından enerji için glikozun hücre içine alımı yönünde bir tetikleyicidir. İnsülin yokluğunda, hücreler enerji için glukoz alıp kullanamaz; bu nedenle hiperglisemi ortaya çıkar. Beyin hücreleri glukozu karşı geçiren olduklarından dolayı insülin olmadan da glukozu kullanabilirler. Vücuttaki çoğu hücre, glukoz yokluğunda bir enerji kaynağı olarak serbest yağ asitlerini kullanabilir. Glikoz için mutlak bir gereksinime sahip olan hücreler ise beyin, retina ve gonadların germinal epitelyum hücreleridir. İnsülin olmadan, adipositler, serbest yağ asitlerini dolaşıma sokmak için lipolize tabi tutulur. İnsülin aynı zamanda lipolizi de geciktirir. Dolaşıma katılan serbest yağ asitleri karaciğer tarafından trigliserit üretimi ve vücuttaki birçok hücrenin ek bir enerji kaynağı haline gelebilen keton cisimlerinin üretimi için kullanılır. Komplike olmayan diyabette trigliserit üretimi baskın ve keton üretimi yavaş yavaş oluşur ki ketonlar dokular tarafından enerji için kullanılabilir ve hiperketonemiye neden olmaz. Ancak ilerlemiş diyabet vakalarında hiperketonemi gelişir ve hastada metabolik asidoz meydana gelir. (Fishbein, 1995; Kerl, 2001).

1.2.4.3. Hipoglisemi

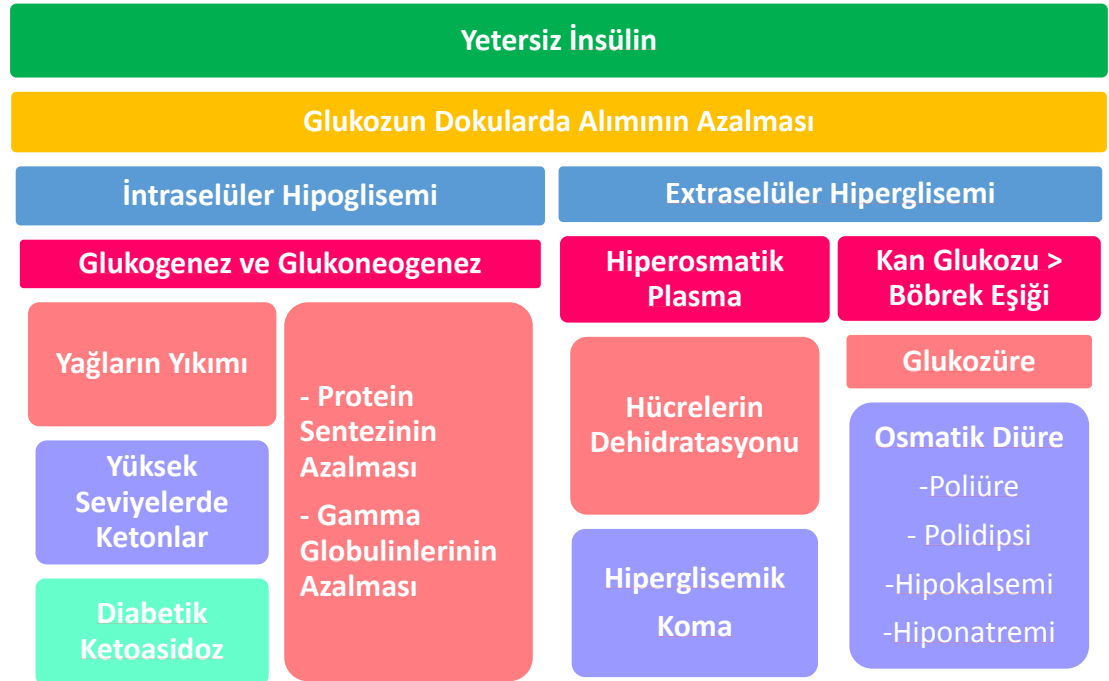
Hipoglisemi, aslında diyabetin bir komplikasyonu olmaktan ziyade diyabet tedavisinde kullanılan pek çok tedavi yönteminin akut bir komplikasyonudur.

Özellikle insülin tedavisi gören hastalarda rastlanır ancak oral antidiyabetik kullanan hastalarda da rastlamak mümkündür.

Genel olarak, diyabetik hastalarda hipoglisemi, insülin/hipoglisemik ajan alımıyla vücudun fizyolojik ihtiyacı arasında bir dengesizlik olduğunda ortaya çıkar. Diyabetik kişilerde insülin ve sülfonilüreler gibi diyabet ilaçları hipogliseminin en sık görülen nedenlerindedir. Glibenklamid ve klorpropamid gibi uzun etkili sülfonilüreler, kısa etkili ilaçlardan daha şiddetli hipoglisemi ile ilişkilidir. En sık kullanılan antidiyabetik ilaç olan metformin ile hipoglisemi atak vakaları, gıda alımıyla metformin dozu arasında bir dengesizlik varsa gerçekleşebilmektedir (Shafiee ve ark., 2012).

Hipoglisemi, fazla miktarda ilaç alımından, yetersiz gıda alımından veya aktivitenin artmasından kaynaklanabilir (Shafiee ve ark., 2012).

Çizelge 1.2. Diyabetin Akut Komplikasyonları ve Oluşma Yolları



1.2.4.2 Diyabetin Kronik Komplikasyonları

1.2.4.2.1. Diyabetin Mikrovasküler Komplikasyonları

1.2.4.2.1.1. Retinopati

Diyabetik retinopati diyabet komplikasyonlarının en yaygın olarak görülen mikrovasküler komplikasyonudur. ABD’de her yıl yaklaşık 10,000 kişinin kör olmasına sebebiyet vermektedir. Tip-2 diyabetli kişilerde tanı konulmasından yaklaşık 7 yıl önce bile görülmeye başlanabilir.

Hipergliseminin retina fizyolojisi üzerinde erken elektoretinogram defekti, azalmış renk kontrast hassasiyeti, nöronal/glial anormallikler ve gangliyon hücrelerinin hasarı gibi etkileri olabilsede en önemli etki intraretinal kan damarlarında meydana gelen hasarlar olarak kabul edilmektedir. Bu kan damarları şişebilir, kan sızdırabilir veya tıkanarak kan geçişini durdurabilir. Bazen anormal yeni kan damarları retina üzerinde büyür. Diyabetik retinopatinin başlıca iki ana aşaması vardır. İlki NPDR (proliferatif olmayan diyabetik retinopati), diğeri ise PDR (proliferatif diyabetik retinopati)’dir. NPDR, diyabetik retinopati erken aşamasıdır. Diyabetli birçok hastada bu durum görülür. NPDR ile, minik kan damarları sızarak retinayı şişirir. Makula şiştiğinde, makula ödemi olarak adlandırılır. Diyabet hastalarının vizyonlarını kaybetmelerinin en yaygın nedeni budur. NPDR ile birlikte retina içindeki kan damarları kapanabilir. Buna maküler iskemi denir. Bu olduğunda, kan makulaya ulaşamaz. PDR, diyabetik göz hastalığının daha ileri safhasıdır. Retina üzerinde yeni kan damarları gelişmeye başladığında olur. Buna neovaskülarizasyon denir. Bu kırılğan yeni damarlar genellikle vitreusa ulaşırlar ve kanamalara sebep olurlar. Bu yeni kan damarları ayrıca yara dokusu oluşturabilir. Yara dokusu makula ile ilgili sorunlara neden olabilir veya retinanın ayrışmasına neden olabilir (Hammes ve ark., 2002).

1.2.4.2.1.2. Nefropati

Diyabetik nefropati, ABD'de diyaliz gerektiren son dönem böbrek hastalığının en sık görülen nedenidir ve diyabetli hastaların % 20 ila % 40'ı nihayetinde nefropati geliştirir.

Diyabetik nefropatinin doğal geçmişi, şeker hastalığının türüne ve günlük mikroalbuminürinin (günde idrarda > 30 mg, ancak <300 mg albümin olarak) belirlenmesine göre değişir. Tedavi edilmezse, Tip-1 diyabet ve mikroalbuminüri hastalarının % 80'inde aşırı nefropati (günlük olarak atılan 300 mg'dan fazla albumin ile karakterize proteinüri) gelişirken, 15 yıllık bir süre içinde Tip-2 diyabetlilerin sadece % 20-40'ında bu ilerleme görülür (Dronavalli ve ark., 2008).

Diyabetik nefropatinin birkaç farklı gelişim evresi vardır. Glomerüler hiperfiltrasyon ve hiperperfüzyon da dahil olmak üzere nefronda glomerül seviyesinde herhangi bir ölçülebilir klinik değişiklik başlamadan önce fonksiyonel değişiklikler meydana gelir. Daha sonra, glomerüler bazal membranın kalınlaşması, glomerüler hipertrofi ve mesangial genişleme gerçekleşir. Zaman içerisinde hastada mikroalbuminüri ve nefropati görülür. Ayrıca nefropati gelişimi hastalar arasında oldukça değişkendir ve kan basıncını ve glisemik kontrol gibi faktörler nefropatinin gelişmesinde önemli rol oynamaktadır (Dronavalli ve ark., 2008).

1.2.4.2.1.3. Nöropati

Diyabetik nöropati ADA tarafından “başka bir sebep olmaksızın diyabetli hastalarda sinir periferlerinde semptomların oluşması” olarak tanımlanmıştır.

Diyabetik nöropatiler, periferik ve otonom sinir sistemlerini etkileyen geniş bir anormallik yelpazesini kapsayan, ciddi morbidite ve mortaliteye neden olan karmaşık, heterojen rahatsızlıklardır. Nöropatiler fokal veya diffüz, proksimal veya distal olabilir ve somatik ve otonom sinirleri içerir. Diyabetik nöropatinin patogenezinin çok faktörlü olduğuna dair artan kanıtlar olmasına rağmen, mevcut teori, kalıcı hiperglisemiye birincil faktör olarak kabul etmektedir. Kalıcı hiperglisemi, sinirlerde sorbitol ve fruktoz birikimi ile birlikte polioll yolak aktivitesini arttırır ve zarar verir. Poliollerin akümülyasyonuna ve oksidatif strese bağılı olarak sinir hücrelerinde hasar meydana gelir (Boulton ve ark., 2005).

1.2.4.2.2. Diyabetin Makrovasküler Komplikasyonları

Diyabetin makrovasküler komplikasyonlarının ana patolojik mekanizması aterosklerozun gelişmesine bağılıdır. Bu da vücuttaki arterlerin duvarlarının daralmasına yol açar.

Aterosklerozun, kronik enflamasyon veya periferik veya koroner arter sistemdeki arter duvarlarındaki hasarlardan dolayı oluştuğı düşünölmektedir. Endotellerin hasarına ve enflamasyona cevap olarak LDL'deki okside olmuş lipitler arterlerin endotel duvarlarında birikmeye başlar. Angiotensin II'nin de bu oksidasyonu tetiklediğı düşünölmektedir. Sonrasında monositler arteriyel duvarlardan içeri girerler ve makrofajlara dönüşürler. Bu da okside lipitlerle karşılaştığında köpük benzeri hücre yığınlarını oluşturur. Bu yığınlar maktofajların ve T-lenfositlerinin oraya yığılmasını arttırarak aterosklerotik lezyonların oluşmasına neden olur. Böylece damar yolunda tıkanmalar meydana gelir (Boyle, 2007).

Bu mekanizmaya ek olarak diyabetin makrovasküler komplikasyonlarının özellikle Tip-2 diyabette oluşmasında platelet adhezyonunun ve hiperkoagülabilitenin

de etken olduğu düşünölmektedir. Bozulmuş nitrik oksit üretimi, artmış serbest radikallerin trombositlerde oluşumu ve değışen kalsiyum taşınımının platelet agregasyonunu arttırdığı düşünölmektedir. Plazminojen aktivatör inhibitörü Tip-1'in artmış düzeyleri de diyabetli hastalarda fibrinolizi bozabilir. Bozulmuş fibrinoliz ve artmış koagölasyon Tip-2 diyabetlilerde damarların tıkanmasını ve kardiyovasküler hastalıkların görölmesi riskini artırır (Beckman ve ark., 2002).

Bu mekanizmalar sonucu etkilenen kardiyovasküler sistem zaman içerisinde koroner arter hastalığına, inme, periferik damar hastalığına sebebiyet verebilir. Beynin yeterince beslenememesinden oluştuğu düşünölen diyabetik ensefelopati de önemli bir semptomdur. Kasların yeterince beslenememesi sonucu ise diyabetik miyonekroz görölabilir.

1.3. Sitokinler

1.3.1. Sitokinlerin Tanımı ve Geçmişı

Sitokin kelimesi, Yunanca'da 'içi boş' veya 'damar' anlamına gelen *kytos* ve 'hareket ettirmek' anlamına gelen *kinein* kelimelerinden türetilmiştir. Sitokinler, hücreler tarafından salgılanan küçük proteinlerdir ve hücreler arasındaki etkileşimler ve iletişimler üzerinde spesifik bir etkileri vardır. Peptid veya glikoprotein yapısındaki mediyatörler olup hormonlara benzemektedirler. Başlangıçta interlökinler gibi bir grup immüno düzenleyici proteinin büyüme faktörü olarak bilinen diğer kimyasallardan ayrılması için bu terim kullanılmıştır. Sitokin genel bir ad olup üretildikleri bölgeye göre lenfokin (lenfositler tarafından üretilen sitokinler), monokin (monositler tarafından üretilen sitokinler), interlökin (lökositler tarafından üretilen sitokinler) vb. değışik isimler alabilmektedirler. Kısacası sitokinler adı altında interlökinler, monokinler, lenfokinler, interferonlar ve kemokinlerden oluşan farklı kimyasal gruplar bulunmaktadır (Zhang ve ark., 2007).

1.3.2. Sitokinlerin Karakteristikleri ve Önemi

Çizelge 1.3. Sitokinlerin Karakteristik Özellikleri (Vilcek, 2003)

Sitokinlerin Karakteristik Özellikleri
Çoğu sitokinler, 30 kDa boyutundaki basit polipeptidler veya glikoproteinlerdir.
Sitokinlerin temel olarak üretimi genellikle düşük veya yoktur; üretim, transkripsiyon ya da translasyon seviyesinde çeşitli uyarıcı uyarımlarla düzenlenir.
Sitokin üretimi geçicidir ve etki yarıçapı genellikle kısadır.
Sitokinler, spesifik yüksek afiniteli hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak (9-10-12 M kDa aralığındaki) faaliyetlerini yerlerine getirirler.
Çoğu sitokin, hedef hücrelerdeki gen ekspresyonunun değişmesine neden olur.
Her bir sitokin tarafından gösterilen etki değişik olsa ve bunlar çok çeşitlilik arzetsede, her sitokinin en azından bazı eylemleri hematopoietik hücreleri hedef almaktadır.

Yukarıda bahsedilen bu özelliklerin büyük bir kısmı aslında polipeptid yapısındaki hormonların ve büyüme faktörlerinin özelliklerine benzemektedirler. Sitokinlerin büyüme faktörleri ile aralarındaki farklardan biri büyüme faktörlerinin (örn., PDGF, EGF veya TGF- α) üretimi, sitokinlerinki kadar sıkı şekilde düzenlenmemektedir ve sürekli olarak üretilme eğilimindedirler. Bir başka fark ise, sitokin eylemlerinin aksine, büyüme faktörlerinin ana etkileri, hematopoietik olmayan hücrelere yöneliktir.

Bununla birlikte, bu proteinler hakkında daha fazla bilgi edinildiğinde, bu iki terimin ayrımının kolay olmadığı ve klasik immüno-düzenleyici sitokinlerin çoğunun hem bağışıklık hem de immün olmayan hücre proliferasyonunu ve hücre farklılaşmasını gerçekleştirebildiği farkedilmiştir. Ayrıca birçok sözde 'tipik büyüme

faktörleri', doğrudan ve dolaylı olarak immun kompetent hücreleri düzenlediği farkedilmiştir (Foster, 2001).

Sitokinler ve hormonlar arasındaki en belirgin özelliklerden biri ise, klasik hormonların özel hücreler tarafından üretilmesidir (Örneğin; pankreasın beta hücrelerinden salınan insülin). Tersine, sitokinler daha az spesifikleşmiş hücreler tarafından üretilme eğilimindedir ve çoğu zaman birbiriyle alakası olmayan hücre tipleri aynı sitokini üretebilir (Örneğin; IL-1; monosit-makrofajlar, mesangial hücreler, NK hücreleri, B hücreleri tarafından üretilir). Belki de sitokinlerin hormonlardan ayıran en karakteristik özellikleri, sitokin eylemlerinin fazlalığı ve pleiotropisidir. Yani yapısal olarak birbirinden farklı sitokinlerin (Örneğin; TNF ve IL-1) aksiyon olarak birbirlerine benzer özellik gösterebilmesidir. Ayrıca belli bir sitokinin farklı hücrelere ve dokulara farklı şekilde etki gösteriyor olmasıdır (Vilcek, 2003).

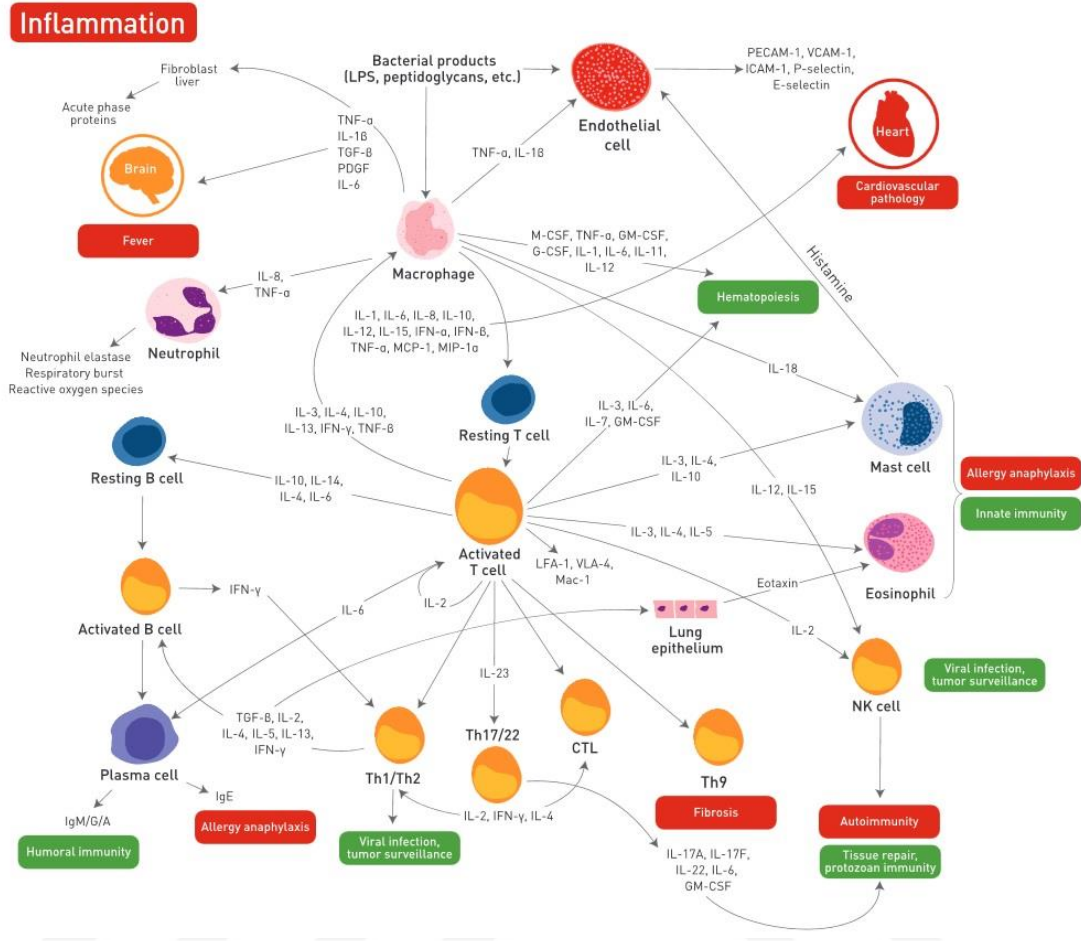
Sitokinler, hücrel aktivasyondan sonra üretilmeye başlanan ve bireysel hücrelerin işlevlerini modüle eden; ayrıca normal, gelişimsel ve patolojik koşullar altında gerçekleşen süreçleri düzenleyen humoral düzenleyiciler olarak işlev gören geniş bir sinyalleme proteinleri grubudur. Otokrin, jukstakrin veya parakrin olarak lokal şekilde hareket edebilmektedirler ve etkileri öncelikle hedef hücrelerinin hücre membranları üzerinde yer alan spesifik reseptörler vasıtasıyla başlatılmaktadır. Sitokinler, vücuttaki spesifik bezlerde üretilmezler ve enflamasyon, yara iyileşmesi, organogenez ve onkogenez gibi biyolojik olayları etkilemek için sistemik olarak hareket eden hücreler tarafından üretilir. (Miyajima ve ark., 1992).

Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF-beta) gibi bazı dikkate değer istisnalarla birlikte, çoğu sitokin hücre içinde depolanmaz ve ekspresyonu sıkı bir şekilde düzenlenir. Bunlar sadece bir indüksiyon sinyali sonucunda aktif hale gelen hücreler tarafından üretilirler.

Ekspresyon normalde geçicidir, ancak epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi yapısal üretim bazı hücrelerde de gösterilmiştir (Wong ve Wright 1999).

Hemen hemen tüm sitokinler, farklı hücre tiplerinde farklı biyolojik aktiviteleri ortaya çıkarmaktadırlar. Farklı sitokinler tek bir hücre tipinde özdeş yanıtlar verebilmekte olduğu gibi farklı hücre tipleri üzerinde de birbirine benzer biyolojik aktivitelere sahip olabilmektedirler. "Cross talk" yani "çapraz konuşma" terimi, bu fenomeni tanımlamak üzere üretilmiştir. Bu fonksiyonel çakışmanın bir nedeni, bir faktörün başka bir faktörün yerini alabilmesi veya belirli faktörlerin eksikliğinin bu şekilde telafi edilebilmesidir (Sun ve ark., 1999). Ayrıca sitokinler tek başlarına değil kendi aralarında geniş ve kompleks bir iletişim ağı kurmuş durumdadırlar. Faaliyetlerini bu etkileşimler sonucu meydana getirirler. Sitokinlerin birbirleriyle iletişim ve etkileşim sağlamak üzere kurdukları kompleks yapıya sitokin ağı (cytokine network) adı verilmiştir.

Çoğu sitokin uyarıcı veya inhibe edici bir faaliyet gösterir ve diğer sitokinler ve hormonların etkilerini sinerjikleştirebilir veya antagonize edebilir. Sitokinlerin önemli bir özelliği, tek bir sitokinin bir koşul altında bir reaksiyon türünü uyarabileceği ancak farklı koşullar altında bu reaksiyon türüne ters bir biyolojik yanıtı neden olabileceğidir. Bu durumun terapötik kullanımda özel bir önemi vardır. Reseptör durumdaki hücrelerin büyüme durumu, komşu hücreler açısından çevre, sitokin konsantrasyonu ve mevcut diğer sitokinlerin kombinasyonları, gösterilen reaksiyonun türünü, süresini ve boyutunu etkileyebilir (Hasbold ve ark., 1999).



Şekil 1.8. Sitokin Ağı (Luminexcorp)

Sitokin fonksiyonunun regülasyonu iyi anlaşılamamıştır fakat sitokin eylemlerinin hiyerarşik bir sıralamasını gözlemlemek sıklıkla mümkündür. Hücreleri önceden aktive eden bazı erken sitokinlerin, böylece daha sonra aktive olan sitokinlere cevap verebilirler (McKay ve ark. 2000).

1.3.3. Sitokinlerin Sınıflandırılması

Sitokinlerin sınıflandırılmaları aslında çok zor bir durumdur. Çünkü hali hazırda onlara sitokin bulunmaktadır ve bir sitokin farklı hücrelerde farklı etkiler gösterebilmektedir. Hatta farklı yapıdaki sitokinler benzer etkiler gösterebilmektedirler. Bu amaçla sitokinleri fonksiyonlarına göre sınıflandıracak olursak 4 grup altında toplayabiliriz. Ancak pek çok sitokinin etki ettiği hücre tipine göre farklı fonksiyonları olduğu düşünülünce bir sitokinin birden fazla grupta yer alabilmesi aslında mümkündür.

Çizelge 1.4. Sitokinlerin Fonksiyonlarına Göre Sınıflandırılması (Aydıntuğ, 1997)

Doğal İmmünite Medyatörleri	Lenfosit Aktivasyon, Çoğalma, Farklılaşmasını Düzenleyenler	İmmün Aracılı Enflamasyonu Düzenleyenler	Hematopoezi Uyarımlar
• TNF- α , EL-1, IL-6, Tip I Interferonlar	• IL-2, IL-4, TGF-P	• TNF- α , IL-1, IL-5, İL-10, İL-12, IFN γ	• IL-3,IL-7, IL-9, IL-11

Sitokinler ayrıca kendilerini salgılayan hücrelere (otokrin etki), kendilerine yakın olan hücrelere (parakrin etki) veya kendinden uzak hücrelere (endokrin etki) etki edebilir ve buna göre de sınıflandırılabilir. Aynı zamanda sitokinler hem vücuttaki enflamasyonu artırıcı (proenflamatuar) ve vücuttaki enflamasyonu azaltıcı (antienflamatuar) özellikte olabilmektedirler. IL-1, IL-2, IL-6, IL-15 ve TNF- α gibi sitokinler genellikle proenflamatuar sitokinler olarak anılırlar. Vücuttaki enflamasyonun ortaya çıkmasında, vücuda giren patojenin eliminasyonun sağlanmasında ve ani immün yanıtın ortaya çıkmasında büyük önem taşımaktadırlar. IL-4, IL-10 ve IL-13 gibi sitokinler ise antienflamatuar sitokinler olarak bilinirler. Bunlar proenflamatuar sitokinlerin neden olduğu immün yanıtın ortadan kaldırılmasında görev alırlar ve ayrıca bazı sitokinlerin sentezini baskılayabilirler.

Bunlar arasında özellikle IL-10, T hücrelerinden sitokin üretimini baskılamada en etkili antienflamatuar mediatörlerden birisidir. Bu nedenle IL-10 sitokin sentez inhibitörü olarak da anılmaktadır. Bazı sitokinler ise etki ettikleri bölgeye göre hem proenflamatuar hem de antienflamatuar olarak etki edebilmektedirler. Bunların arasında en iyi bilineni ise IL-6 ve IL-8 sitokindir. Her ne kadar IL-6'nın ve IL-8'in proenflamatuar yanıtta daha etkin olduğu bilinse de zaman zaman antienflamatuar olarak da etkinlik gösterdiği belirlenmiştir (Baggiolini ve ark., 1997).

Çizelge 1.5. Pro/Anti-Enflamatuar Mediatörler

Pro-inflamatuar mediatörler		
Hücre yüzey-CD14	Lösemi inhibe edici faktör	Prostasiklinler
Serbest radikal üretimi	Monosit kemoatraktan proteini-1	Prostaglandinler
IL-1 β	Monosit kemoatraktan proteini-2	Protein kinaz
IL-2	Neopterin	Çözünür adezyon molekülleri
IL-6	Nötrofil elastaz	Tromboksan
IL-8	Fosfolipaz A2	TNF- α
IL-15	Plasminojen etkinleştirici inhibitör-1	Tirozin kinaz
IFN- γ	Platelet aktive edici faktör	Vazoaktif nöropeptitler
Anti-inflamatuar mediatörler		
Epinefrin	IL-1RA	Çözünür TNF- α reseptörleri
IL-4	Lökotrien B4-reseptör antagonizması	Dönüştürücü büyüme faktörü- β
IL-10	LPS bağlayıcı protein	Tip II IL-1R
IL-13	Çözünür rekombinant CD-14	

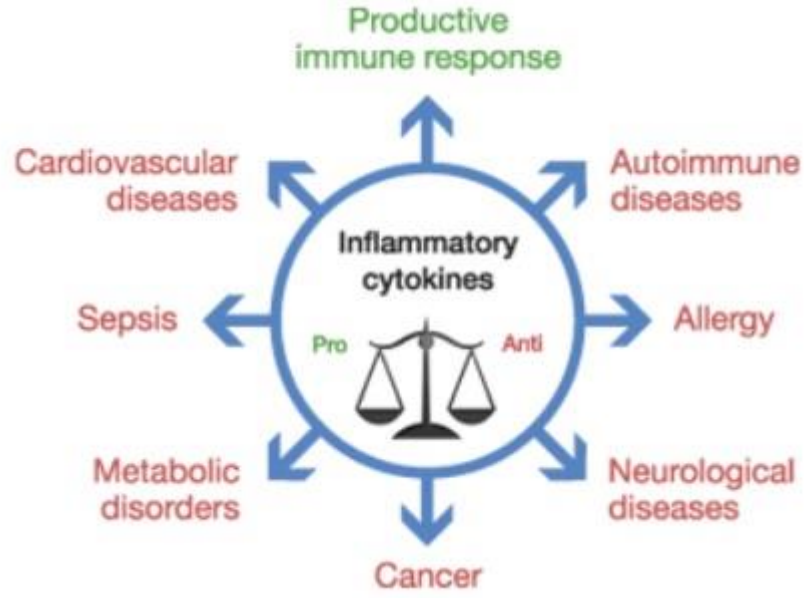
Sitokinleri bu sınıflandırmanın haricinde;

- 1-) T hücre fonksiyonlarında görev alan sitokinler (IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-10, IL-12)
- 2-) B hücreler üzerine etkisi olan sitokinler (IL-5, IL-6, IL-7, IL-10, IL-13, IL-14)
- 3-) Enflamasyonda rol oynayan sitokinler (IFN- γ , TGF-P, TNF- α , TNF- β , IL-1, IL-6, kemokinler) şeklinde sınıflandırmak da mümkündür.

1.3.3. Sitokinlerin Hastalıklardaki Önemi

Sitokinlerin enflamatuar reaksiyonlarda önemli bir görev üstlendiği bilinen bir gerçektir ama denge olması için enflamatuar sitokinlerin yanında bu enflamasyonu baskılayacak ve nötralize edecek pek çok da antienflamatuar sitokin mevcuttur. Bu zıt etkili iki grup sitokin arasında bir dengenin mevcut olması gerekmektedir. Ancak bu dengenin herhangi bir nedenle bozulması sonucu (enflamatuar sitokinlerin miktarının artması veya antienflamatuar sitokinlerin etkilerinin azalması) problemleri başlamakta ve hastalıklara yol açacak zincirleme reaksiyonları ortaya çıkarmaktadır (Nishimoto ve ark., 1999).

Bir enflamatuar yanıtın genel etkisi, pro ve anti enflamatuar mediatörler arasındaki dengeye bağlıdır. Vücuda giren bir patojen sonucu veya genetik polimorfizme bağlı aşırı ekspresyon sonucu ilk olarak IL-1, IL-6 ve TNF- α gibi proenflamatuar sitokinler salgılanırlar. Bu sitokinler, erken tepkilerden sorumludur ve enflamatuar reaksiyonları arttırlar. Bu sayede vücuda giren patojeni veya uyarımı ortadan kaldırmaya çalışırlar. IL-4, IL-10 ve IL-13 gibi antienflamatuar sitokinler, bunun tersi bir etkiye sahiptirler. Bunlar vücudun enflamatuar yanıtını kısıtlamaktadırlar. Bu bağlamda pro ve anti enflamatuar sitokin/kemokin ağlarının karmaşıklığı ve aralarındaki dengenin sağlanması çok önemlidir.



Şekil 1.9. Pro/Anti Enflamatuarlar Arasındaki Dengesizlik Sonucu Oluşan Hastalıklar (Orijinal kaynak bulunamamıştır.)

Enflamasyon sağlıklı bir bağışıklık cevap için gereklidir, ancak aynı zamanda birçok hastalığın patogenezinin de sorumludur. Akut enflamasyon, yaralı dokuya lökositler, eritrositler ve plazma bileşenlerinin ekstrasvazasyonu ile karakterize, kısa süreli bir yanıtıdır. Kontrol edilmediğinde akut enflamasyon süreci kronik enflamasyona neden olabilir. Akut enflamasyonun aksine, kronik enflamasyon öncelikle lenfositler ve makrofajlar tarafından doku infiltrasyonu ile karakterizedir. Kronik enflamasyon, alerji, ateroskleroz, kanser, artrit ve Alzheimer hastalığının yanı sıra otoimmün hastalıklarla yakından ilişkilidir. Akut enflamasyon süreci iyi tanımlanmış ancak kronik enflamasyonun nedenleri ve buna bağlı moleküler ve hücresel yollar halen iyi anlaşılmamıştır. Sitokinlerin bir etken sonucu sürekli olarak uyarılması ve bunun sonucunda sürekli sitokin üretilmesi ile bireylerdeki genetik polimorfizm sonucu sitokin salgısının yüksek olması enflamasyonun çeşidini ve süresini etkilemektedir. Dolayısıyla bu durumun vücutta hastalık gelişimine etkisi olduğu düşünülmektedir (Weiss, 2008).

Bağışıklık yanıtının bir parçası olarak enflamasyon; virüsler, bakteri, mantar ve diğer parazitler gibi patojenlere karşı vücudun savunmasında önemli bir rol oynamaktadır. Bununla birlikte, enflamasyon süreçlerinin dengesiz bir şekilde harekete geçirilmesi birçok yaygın patolojik koşulların altında yatan bir katkıdır. Örneğin otoimmün hastalıklar; bağışıklık sistemimiz kendi hücrelerimizi veya dokularımızı patojenler ile karıştırıp kendi hücrelerimize saldırdıklarında ortaya çıkarlar. Bu doğrultuda pro ve anti enflamatuvar sitokinler arasındaki dengenin sağlanması çok önemlidir. Aksi halde vücut enfeksiyonlara açık hale gelebilir veya enflamasyonun kontrolsüz artışı sonucu kendi kendine zarar verir hale gelebilir. (Zhang ve ark., 2007).

Sitokinlerin ekspresyonunun fizyolojik ve patolojik etkilerinin yakından incelenmesi, sitokinlerin, bağışık yanıtların düzenlenmesi, enflamasyon, hematopoez ve yara iyileşmesi de dahil olmak üzere, bir organizmanın neredeyse tüm genel sistemik reaksiyonlarına karıştığını göstermiştir. Hepatit, romatoid artrit ve menenjit gibi insanlarda görülen birçok akut ve kronik enflamasyon hastalığında, sitokinlerin plazma ölçümlerine bakıldığında miktarlarının büyük oranda arttığı gözlemlenmiştir (Foster, 2001).

Bunun dışında sitokinlerin kanser oluşumunda da önemi olduğu düşünülmektedir. Kanser, hücrelerin çoğalma döngüsündeki kontrol mekanizmasında meydana gelen problemler sonucu, hücrelerin farklılaşmasındaki başarısızlıklardan kaynaklanan bir hastalıktır. Elde edilen verilere göre, TGF-alfa'nın fazla ekspresyonunun, hepatik ve pankreas kanserinin oluşma riskini arttırdığı veya kanserin daha erken ortaya çıkmasına neden olabileceğini göstermiştir. Sitokinler ve onkojen ekspresyonu arasında iyi bilinen bir ilişki vardır. Sitokinlerin büyüme faktörü grubu için birçok reseptör, onkojen ekspresyonunun protein ürünleridir. Normal dokularda sitokinler, hücrelerin hücre döngüsüne girişini ve dolayısıyla hücre replikasyon sürecini kontrol eder. Kanser bir dizi farklı aşamada ilerlediği genel kabul gören bir ilkedir ve kanser gelişimindeki neredeyse her aşamada hücre replikasyonu, büyümenin bağımsızlığının ve metastatik farklılaşma karakterlerinin

evrimi hızının kritik bir belirleyicisidir. Gerçekten de, hücre çoğalması ve hücre ölümü arasındaki dengenin kontrol kaybı, spontan tümörlerden biri olarak düşünülmektedir. Bu nedenle bazı sitokin reseptörlerinin aşırı ekspresyonunun, tümör oluşumu ile ilişkili olduğu tahmin edilmektedir (Foster, 2001).

Sitokinler, otoimmün hastalıkların patogeneğinde de önemli bir rol oynamaktadır. İmmün sistem, vücudun kendi antijenler ile yabancı antijenleri ayırt edebilecek özelliğindedir. Bu sayede kendi antijenlerine immünolojik tolerans gösterirken, yabancı antijenlere ise immün yanıt oluşturulmasını sağlar. Bazı durumlarda immün sistemin vücudun kendi antijenlerine olan immün toleransı hasar görür. Bu duruma otoimmünite denir. Vücutta otoimmünite olması hastalık olacağı anlamına gelmez. İlerleyen yaşla birlikte de otoantikörlerin arttığı bulunmuştur. Ancak ne zaman ki bu otoantikörler doku veya organ hasarına neden oluyorsa o zaman bireyde otoimmün hastalık var demektir.

Otoimmün hastalıklar, vücudun belli bir bölgesinde veya organında lokal olarak görülebileceği gibi sistemik olarak da gözlenebilir. Hashimoto tiroidi, Addison hastalığı, diyabet, otoimmün hemolitik anemi gibi hastalıklar organa özgü olarak görülürken romatoid artrit, multiple skleroz (MS) gibi otoimmün hastalıklar ise sistemik otoimmün hastalıklar kabul edilirler (Kınıklı ve Turgay, 1997).

Sitokinlerin Etki Ettikleri Önemli Hastalıklar:

Romatoid Artrit: Romatoid Artrit (RA) eklemlerde yaygın ve kronik inflamasyonla karakterize sistemik otoimmün bir hastalıktır. Hastalığı takiben bireylerin hareketliliklerinde azalma veya tamamen ortadan kalkma görülebilir. Bu da major vakaların çoğunda engellilik durumuna neden olmaktadır. RA'in patojenezinin IL-1, IL-17 ve TNF- α ile ilişki içerisinde olduğu hakkında önemli kanıtlar bulunmaktadır. (Kunz ve İbrahim, 2009).

Monositler, makrofajlar, fibroblastlar ve T hücreleri uyarma ile ilgili birçok sitokin salmaktadırlar. TNF- α ve IL-1 gibi bu birçok sitokin romatoid artritli hastaların sinoviyal sıvısında bulunmaktadır. Hem TNF- α 'nın hem de IL-1'in, romatoid artrit patojenezinde temel bir rol oynaması muhtemeldir. Her iki sitokin serum ve sinovyal konsantrasyonları aktif romatoid artritli hastalarda yüksektir. Ayrıca, TNF- α ve IL-1 sinovyal fibroblastlar, osteoklastlar ve kondrositler gibi doku tahrip eden matriks metalo-proteinaz salan mezenşimal hücrelerin uyarıcılarıdır. IL-1 ve TNF- α aynı zamanda sinovyal fibroblastlar tarafından metaloproteinazların doku inhibitörlerinin üretimini inhibe eder. Bu eylemlerin eklem hasarına yol açtığı düşünülmektedir (Choy ve Panayi, 2001).

Multipl Skleroz: Multipl skleroz (MS), klinik özellikleri ve patolojik özellikleri ilk olarak Charcot tarafından tarif edilen, etiyojisi tam olarak bilinmeyen sinir hücrelerinin kronik enflamasyonu ile karakterize otoimmün bir hastalıktır.

Sinir hücrelerinde mononükleer hücrelerin perivasküler birikimi, kandaki yüksek oranda miyelin otoantijen-reaktif T hücreleri ve bunların beyin-omurilik sıvısında birikmesi MS'in karakteristik özellikleridir ve bunlar bize MS gelişiminde immunoregülatör sitokinlerin rol aldığını göstermektedir. Vücut sıvılarında sitokin konsantrasyonlarını ölçüldüğünde MS hastalarında bu sitokinlerin miktarlarında önemli oranda artış olduğu görülmüştür. MS proenflamatuar sitokinlerin regülasyonu IFN-gama, TNF- α , lenfotoksin-alfa ve IL-12 ile yakından ilişkilidir (Navikas ve Link, 1996).

Ayrıca oksidatif stresin MS'in patogeneğinde ve enflamatuar olaylarda rol oynadığı bilinmektedir. Oksidatif stresi oluşturan ve esas olarak makrofajlarda üretilen reaktif oksijen türleri (ROS), MS ve deneysel otoimmün ensefalopatide demiyelinizasyon ve akson hasarından sorumlu bulunmuştur (Kurban ve ark., 2010).

Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), kronik bronşit (mukus sekresyonu goblet hücre ve submukozal bez hiperplazisi) ile ve amfizem ile ilişkili periferik hava yolları etkileyen ekspiratuar akışın kronik tıkanması ile karakterizedir. Ayrıca hastalığa fibrozis ve doku hasarı ve küçük hava yollarının enflamasyonu eşlik eder.

İnterlökinin artan seviyeleri özellikle IL-6, IL-1-beta, TNF- α ve IL-8 mukuslarda tespit edilmiştir ve bu artışın özellikle ataklar sırasında daha fazla miktarda gerçekleştiği bulunmuştur. Balgamda gözlenen IL-8 artış düzeylerinin havayolu bakteriyel yükü ve kan miyeloperoksidaz seviyeleri ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Bronşiyol epiteller monosit kemotaktik protein (MCP)-1 ve IL-8'i bu durumlarda fazlasıyla salınmaya başlanır. Özellikle IL-8 balgamın bazı kemotaktik aktiviteleri için önemlidir ve IL-8 düzeyleri havayolu bakteriyel yükü ve kan miyeloperoksidaz seviyeleri ile ilişkilidir (Chung, 2001).

Kronik obstrüktif akciğer hastalığında görülen sitokin profili astımda gözlenenden farklıdır. Bu sitokinlerin rolünün iyice açıklanması gerekmektedir ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı antisitokin tedavisi için bir potansiyel bulunmaktadır (Chung, 2001).

Astım: Astımın altında yatan havayolu enflamasyonu kompleks etkileşimli sitokin ağı tarafından düzenlenir. Hastalığın patogenezindeki her bir sitokinin işlevsel rolü tam olarak ortaya konulamamıştır. Tip-2 T yardımcı hücrelerinin şu anda bu süreçte hayati bir rol oynadığı düşünülmektedir. Veriler, allerjenin yol açtığı hava yolu değişikliklerinin indüksiyonunda IL-4 ve IL-5'in ardışık olarak etki ettiğini göstermektedir. Bunun dışında özellikle, IL-4 ve -13'ün astımlı hastalarda fazlalığının olduğu gösterilmiştir. IL-4, birincil allerjen sensitizasyon sürecinde çok önemli gözükse de IL-13, aerosol haline getirilmiş allerjene sekonder maruz kalma sırasında daha önemli olduğu düşünülmektedir. Eozinofil akışı veya Ig-E sentezi yerine T hücresinden türetilen sitokin üretiminin, değişen hava yolu davranışıyla ilişkili olduğu

gösterilmektedir. Astım gibi kompleks bir hastalıkta sitokinlerin fonksiyonel rolünü değerlendirirken önemli bir husus da mikro ortamdaki diğer sitokinlerle olan etkileşimdir. TNF- α gibi proenflamatuar sitokinlerin artmış ekspresyonu, iltihaplanma sürecini daha da güçlendirebilir ve giderek hastalık şiddeti ile bağlantılı hale gelir. Buna ek olarak, IL-12, IL-18 veya interferon-gama da dahil olmak üzere immüno-düzenleyici sitokinlerin azaltılmış ekspresyonunun da hastalık gelişiminde etkili olduğu düşünülmektedir (Kips, 2001).

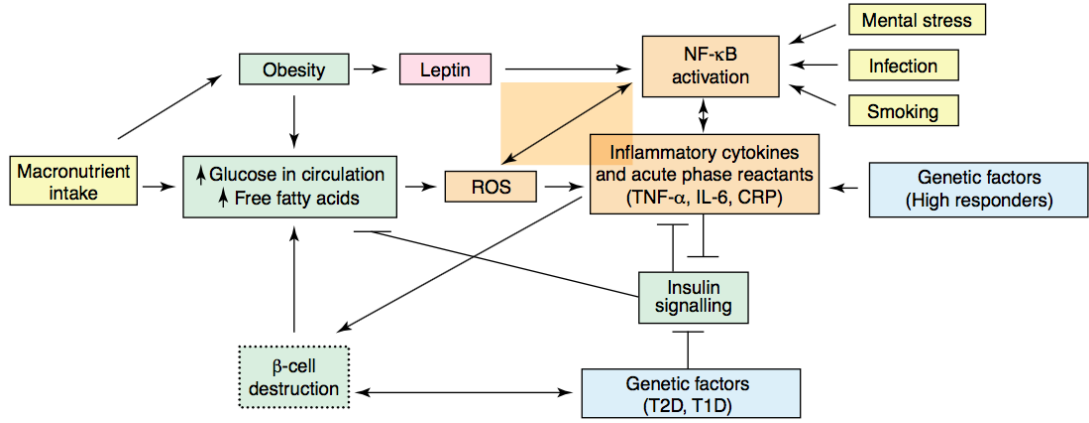
Parkinson Hastalığı: Parkinson hastalığı substantia nigra pars compactadaki nigrostriatal dopamin nöronlarının dejenerasyonuna ve striatumdaki sinir terminallerinde nörotransmitter dopamin eksikliğine bağlı bir hareket bozukluğudur. Parkinson hastalığında çeşitli sitokinlerin özellikle TNF- α , IL-1-beta, IL-2, IL-4, IL-6, EGF, TGF-alfa, TGF-beta-1'nin postmortem beyin ve ventriküler veya spinal beyin omurilik sıvısı striatumunda (kaudat ve putamen) belirgin şekilde arttığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Bunun dışında hastalarda beyin kökenli nörotrofik faktör gibi nörotrofin düzeylerinde azalma olduğu bulunmuştur. Sitokin ve nörotrofin düzeylerindeki bu değişikliklerin, daha sonra apoptotik hücre ölümünü ve daha sonra dopamin nöronlarının fagositozunu teşvik edebilen aktif mikroglia ile başladığı düşünülmektedir. Pleiotropik faktörler olarak sitokinler, ya hücre ölümüne neden olan ya da nöroprotektif etkilere neden olan sinyalleri teşvik etmektedir. Sonuç olarak, mikroglial hücreler, Parkinson hastalığının enflamatuar süreci boyunca birincil nedene ve koşullara bağlı olarak farklı etkiler yapabilmektedir. Sitokinlerin tetiklediği bu mekanizmada öncelikle sitoprotektif bir mekanizma gözlenirken Parkinson hastalığının gelişmesi süresinde nörotoksik bir etki gösterebilmektedir. Mikroglial hücrelerde gözlenen bu değişikliklerin sadece Parkinson hastalığında değil, enflamasyon yanıtının önemli olduğu diğer nörolojik rahatsızlıklarda da etkili olabileceği belirtilmiştir (Nagatsu ve ark., 2005; Sawada ve ark., 2006).

Alzheimer Hastalığı: Alzheimer hastalığı, ekstrasellüler amiloid plakların (veya yaşlılık plakalarının) oluşumu ve hücre içi nörofibril yumrularla karakterize olan progresif nörodejeneratif bir beyin hastalığıdır. Hastalarda düşünme ve hafıza

yetilerinin kaybolması ile karakterize, kronik ve progresif bir hastalıktır. Bununla birlikte, artan kanıtlar, kronik mikroglioz dahil olmak üzere nöroenflamatuvar değişikliklerin Alzheimer hastalığının kilit patolojik bileşenleri olduğunu göstermiştir. Beyindeki yerleşik bağışık hücreler olan mikrogliyal hücrelerde, değişik fizyolojik koşullar altında farklılaşmalar meydana gelmektedir. Alzheimer hastalığında, beta-amilod peptidinin birikimi, aktive edici mikrogliyanın aracılık ettiği serebral nöroenflamasyonu başlatır. Aktive edilmiş mikrogliya, beyin dokusunda ve çevresinde IL-1-beta, IL-6 ve TNF- α gibi proenflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu ortaya çıkararak potansiyel olarak zararlı bir rol oynayabilir. Ortaya çıkan çalışmalar, proenflamatuvar sitokinlerin artan regülasyonunun hem nörodejenerasyon hem de nöroproteksiyonda çok sayıda farklı rol oynadığını göstermiştir. Alzheimer hastalığının düzenlenmesinde rol oynayan proenflamatuvar sitokin sinyal yollarını anlamak, tedavi stratejilerinin geliştirilmesi için çok önemlidir (Wang, 2015).

1.3.4. Diabetes Mellitus Ve Sitokinler

Bireylerde Tip-2 diyabetin gelişmesi çok faktörlü bir süreç olup bu sürecin bir parçasının da sitokinler olduğu ispatlanmıştır. Bu süreçten genel hatlarıyla bahsedecek olursak besin alımı, obezite, serbest yağ asitleri, leptin, enfeksiyon, sigara, zihinsel stres ve genetik faktörler yoluyla reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretilmesi ve enflamasyonun (NF-kB aktivasyonu) indüksiyonu diyabetin gelişmesinde ana faktörlerdir. İnsülin sinyalinde meydana gelen değişiklikler hiperglisemi ve proenflamatuvar değişikliklere neden olur. Proenflamatuvar değişiklikler (özellikle artmış TNF- α ve IL-6) aynı zamanda insülin sinyalini engeller ve insülin direncine neden olur. Beta-hücrelerinde oluşan enflamasyon, insülin direnci gelişmesi ile birlikte beta-hücresinin disfonksiyonuna yol açar (Dandona ve ark., 2004a; Dandona ve ark., 2004b).



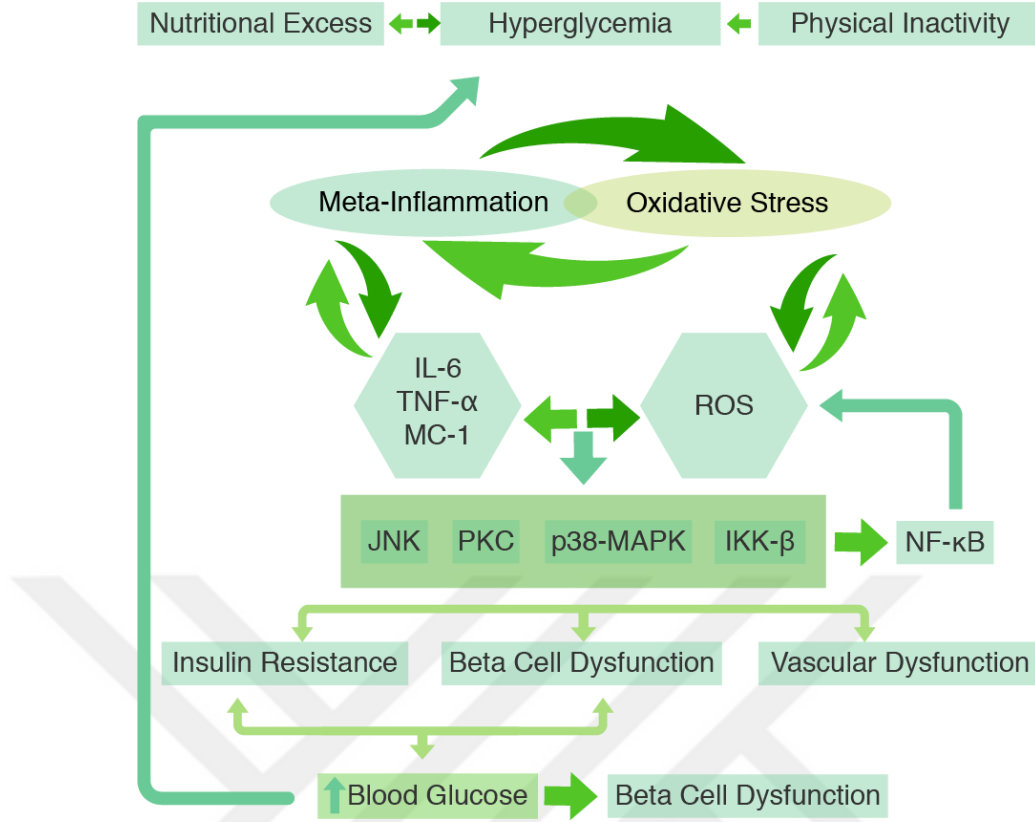
Şekil 1.10. Tip-2 Diyabetin Gelişmesinde Rol Oynayan Faktörler ve Etkileşimleri (Sjöholm ve Nyström 2005)

Tip-2 diyabet ile enflamasyon ilişkisine daha detaylı bakacak olursak obezite ve insülin direnci gibi metabolik durumlar ile enflamasyon arasındaki ilişkilerin incelenmesi 1990'lı yılların başlarında başlamıştır. 1993 yılında Hotamışlıgil ve arkadaşları tarafından yayınlanan makalede proenflamatuar sitokinlerinden biri olan TNF- α 'nın obez hayvanların adipozitetlerinde ekspresyonunun arttığı bulunmuştur. Aynı zamanda hayvan deneyleri TNF- α 'nın çözünebilir TNF- α reseptörleriyle nötralize edilmesinin insülin rezistansını azalttığını göstermiştir. İlk bu gözlemler, proenflamatuar bir sitokin ekspresyonundaki ve plazma konsantrasyonu artışı ile insülin direncinin arasındaki ilk bağlantıyı sağlamıştır (Dandona, 2004; Hotamışlıgil ve ark., 1993; Hotamışlıgil ve ark., 1995).

Daha sonraki veriler, insandaki yağ dokusunun da TNF- α 'yı yapısal olarak içerdiğini ve bunun ekspresyonunun kilo kaybından sonra düştüğünü göstermiştir. Buna ek olarak, vücut kütle indeksi ve plazma TNF- α konsantrasyonları arasında önemli bir korelasyonun olduğu ve obez hastalarda TNF reseptör konsantrasyonunun da yükseldiği bulunmuştur (Dandona, 2004). İlerleyen zamanda Crook ve arkadaşları bu durumun sadece TNF ile kısıtlı olmadığını ve IL-6'yı da içeren bazı sitokinlerin yine konsantrasyonlarının obez bireylerde arttığını bulmuştur (Crook, 2004).

Sitokinlerin Tip-2 diyabette nasıl bir rol oynadığını açıklayan birçok farklı mekanizma ve hipotez bulunmaktadır. Bunlar arasında özellikle 2 mekanizmanın büyük bir rol oynadığı düşünülmektedir. İlki oksidatif stress ve meta-enflamasyon sonucu sitokinlerin sentezinin artmasına dayanan hipotezdir. Diğeri ise değişen insülin sinyalinlerinin insülin direncine sebep olması hipotezidir. Bunun dışında sitokinlerin daha birçok farklı şekilde diyabete neden olduğuna dair kanıtlar bulunmaktadır.

Bu hipotezlerden ilkinе bakacak olursak aşırı beslenme ve yetersiz fiziksel aktivite sonucu vücutta hiperglisemi meydana gelir. Bu faktörler vücutta meta-enflamasyonun ve reaktif oksijen türevlerinin yani oksidatif stresin artmasına neden olur. İnsülin direncini ve Tip-2 diyabeti artıran metabolik streslerin birçoğu aynı zamanda stres kaynaklı kinazları IκB kinaz-β (IKKβ) ve JuN-terminal kinazı (JNK) aktive eder. Nitekim IKKβ transkripsiyon faktörü nükleer faktör-κB'yi (NF-κB) aktive eder ve obezite de karaciğer ve yağ dokusunda NF-κB hedef genlerin ekspresyonunu indükler. Bu da proenflamatuvar sitokinlerin üretilmesine sebep olur. Bu sitokinlerin başlıcalarının TNF, IL-6 ve IL-1β olduğu bulunmuştur. Bu olayları takiben bireyde insülin direnci meydana gelir ve aynı zamanda beta-hücrelerinin disfoksiyonu görülür. Bu da kanda glukoz seviyesinin artmasına ve beta-hücrelerinin tamamen hasar görmesine yol açar. Bu sitokinler, üretildikleri yerlerde (karaciğer ve yağ dokusu gibi) insülin direncini artırabilirler ve ayrıca damar duvarları, iskelet ve kalp kası, böbrekler ve lökositler dahil olmak üzere daha uzaktaki hücreleri/bölgeleri etkilemek için dolaşım yoluyla taşınabilirler (Trayhurn ve Wood, 2005).



Şekil 1.11. Obezitenin ve Oksidatif Stresin Tetiklediği Beta-Hücre Hasar Mekanizması (Lamb ve Goldstein 2008’den uyarlanmıştır.)

Diğer ana mekanizmaya bakacak olursak, bu mekanizmada insülin sinyalinde yaşanan problemler sonucu insülinlerin etkilerini tam olarak yerine getiremedikleri düşünülmektedir. İnsülin sinyali, en az üç ayrı moleküler modifikasyon ile bozulabilir, bunların bazıları hücre kültürlerine TNF- α ilavesinden sonra gösterilmiştir. Tanımlanan ilk değişiklik, insülin reseptör substratı-1 (IRS-1) serin fosforilasyonuna bağlı olarak gerçekleşmektedir. IRS-1 insülin sinyal yollarında kritik bir elementtir. IRS-1’in serin fosforilasyonunda meydana gelen bu değişiklik sonucu PI-3 kinazın yerleştirilmesinde bir azalma ve insülin ile uyarılan glukoz taşınımında bir bozukluk meydana gelir. TNF- α ’nın insülin direncine meyilli adipositlerde, hepatom hücrelerinde ve kas hücrelerinde bu değişikliği indüklediği gösterilmiştir. İkincisi, TNF- α ’nın, IRS-1 ve FAK’dan tirozin fosfat gruplarını çabucak uzaklaştıran SH-PTPaz enzimini indüklediği düşünülmektedir. IRS-1 ve FAK’dan fosfat gruplarının hızla uzaklaştırılması ise insülin etkisinin sonlanmasına neden olur. Üçüncüsü, TNF-

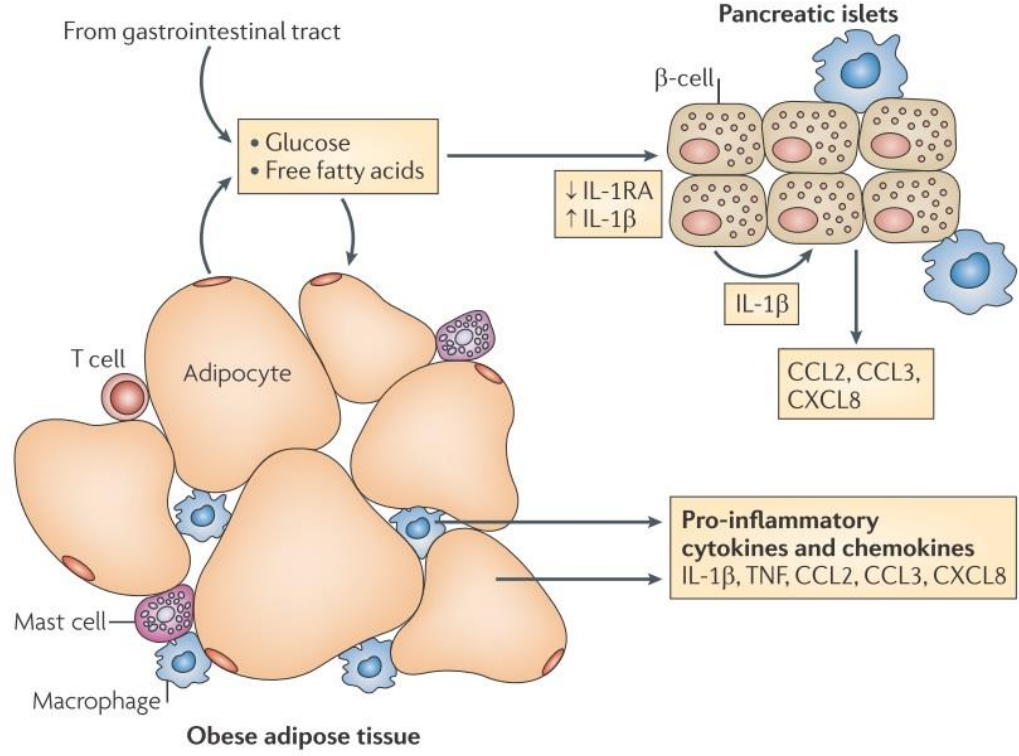
α protein fosfat PP-1'i fosforile eder ve bu PP-1'in inaktivasyonu ile sonuçlanır. PP-1 de insülin yanıtında rol oynayan önemli bir elementtir (Borst, 2004).

Tip-2 diyabette insülin direncini ve beta-hücre adacıklarının işlev bozukluğunu açıklayan diğer öncü hipotez mekanizmalar pankreastaki amiloid birikimi, kas, karaciğer ve pankreastaki ektopik lipid birikimi ve lipotoksisite ve glukotoksisitedir. Bu olguların hepsine aşırı beslenme neden olabilir, ancak hangi mekanizmanın hangi dokuda veya bireyde daha önemli olduğunu belirlemek zor olmuştur. Bununla birlikte, bu hücrel streslerin her birinin enflamatuar bir tepki uyandırdığı veya enflamasyon ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Kesitsel ve prospektif çalışmalar akut faz proteinlerinin [C-reaktif protein (CRP), haptoglobin, fibrinojen, plazminojen aktivatör inhibitörü ve serum amiloid A gibi] ve sialik asitin yanı sıra sitokinler ve kemokinlerin dolaşımdaki yüksek seviyelerinin, Tip-2 diyabeti olan hastalarda meydana geldiğini göstermiştir. Dahası, artmış IL-1-beta, IL-6 ve CRP seviyeleri Tip-2 diyabet için bir öngörü olarak kabul edilebilmektedir (Donath ve ark., 2010; Donath ve ark., 2008; Donath ve Shoelson, 2011).

Obezlerde yağ dokusundaki hücreler tarafından TNF üretilmesi, insülin direnci ve Tip-2 diyabet patogenezinde doku iltihaplanmasının erken kanıtını sağlamıştır. Bu modele göre glukoz ve serbest yağ asitleri de dahil olmak üzere aşırı miktarda bulunan besin maddeleri, pankreas adacıklarını ve yağ dokusu gibi insüline duyarlı dokuları baskılayarak sitokinlerin ve kemokinlerin yerel olarak üretilmesini ve serbest bırakılmasını sağlar. Bu faktörler IL-1-beta, TNF, CC-kemokin ligandı 2 (CCL2), CCL3 ve CXC-kemokin ligandı 8 (CXCL8) içerir. Dahası, beta-hücreleri tarafından IL-1 reseptör antagonisti (IL-1-RA) üretimi azalır. Sonuç olarak, bağışıklık hücreleri içeri alınır ve doku iltihabına katkıda bulunur. Yağ dokularından dolaşıma sitokinlerin ve kemokinlerin salınması, adacıklar da dahil olmak üzere diğer dokulardaki

iltihaplanmayı artırır (Şekil 1.12) (Donath ve ark., 2010; Donath ve ark., 2008; Donath ve Shoelson, 2011).



Şekil 1.12. Tip-2 Diyabette Sitokinlerin Patogeneze Etkisi (Donath ve ark., 2011)

Bazı hayvan çalışmaları ve TNF inhibisyonunu kullanan birkaç klinik çalışma, glukoz metabolizması üzerinde bu inhibisyonların faydalı etkilerini göstermekte başarısız kalmıştır. Bununla birlikte, obez bireyler veya alternatif yollarla tedavi gören hastalarla yapılan birkaç küçük çalışma, TNF blokerlerinin insülin duyarlılığını veya glisemik parametreleri değiştirebileceğini ve bu konuda prospektif çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir (Donath ve ark., 2010; Donath ve ark., 2008; Donath ve Shoelson, 2011).

TNF blokajının Tip-2 diyabetli hastalarda glisemik parametreleri iyileştirip iyileştirmediğine dair devam eden tartışmalara rağmen, yağ dokusundan türetilen TNF'in tanımlanması oldukça önemlidir. Yağ dokusundaki TNF'in kaynağının

başlangıçta obeziteye tepki olarak gelişen adipositler olduğu düşünülmüştür. Bununla birlikte, bu kavram, yağ dokusundaki makrofajların keşfedilmesi ile revize edilmiştir ve obezitenin makrofaj sayılarını arttırdığı ve bu hücrelerin aktivasyonuna neden olduğu sonucuna varılmıştır. Günümüzde, obezite nedeniyle etkilenen yağ dokudaki makrofajların enflamatuvar faktörlerin önemli bir bölümünü ürettiği de bilinmektedir. Yağ dokusunda makrofaj sayısındaki artış, obezite derecesi ile de büyük oranda ilişkilidir (Donath ve ark., 2011).

Bu mekanizmaya ek olarak adaptif bağışıklık sisteminin hücreleri yağ dokusunda da bulunur ve metabolik bozulmaya katkıda bulunabilir. T hücreleri de genel olarak makrofajlar gibi yağ dokuda birikmektedir. Genel olarak, CD8 + T hücrelerinin ve T_H-1 hücrelerinin, insülin direnci fenotipine katkıda bulunduğu düşünülürken, T_{Reg} hücrelerinin ve T_H-2 hücrelerinin buna karşı koyma eğiliminde olduğu düşünülmektedir (Donath ve ark., 2011).

Tip-2 diyabet hastalarının adacıklarında doku enflamasyonuna eşlik eden sitokin ve kemokin seviyelerinde de artış tespit edilmiştir. Tip-2 diyabetli hastalarda ve hayvanlarda yapılan bugüne kadar birçok çalışma adacıkların bağışıklık hücresi infiltrasyonunu araştırmıştır. Tip-2 diyabet hastalardan alınan adacık doku kesitleri ayrıca amiloid birikimleriyle birlikte fibrozis olduğunu sergilemiştir. Fibroz, kronik enflamasyonun bir işareti olduğundan dolayı bu durum da adacıklarda meydana gelen değişikliklerin aslında enflamatuvar bir yanıt olduğunu göstermektedir. İlginç bir rapor, insan islet amiloid polipeptininin (IAPP), kemik iliği kaynaklı makrofajlardaki IL-1-beta salınımını indüklediğini göstermektedir ki, bu da IAPP'nin adacık iltihaplanmasına katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir (Donath ve ark., 2010; Donath ve ark., 2008; Donath ve Shoelson, 2011).

Tip-2 diyabette insülit kavramı son yıllarda geliştirilmesine rağmen, Tip-1 diyabette bu kavram iyi bir şekilde oturtulmuştur ve hastalığın karakteristik özelliği olarak kabul edilmektedir. Her iki diyabet tipi için de insülitin etiyolojisi tam olarak

anlaşılamamıştır ancak farklılıkların var olduğu bilinmektedir; Örneğin, Tip-1 diyabetteki insülit, otoimmün aracılı bir süreç tarafından yönlendirilirken, Tip-2 diyabette otoenflamasyona bağlı olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, IL-1-beta içeren ortak bir nihai efektör yolu, her iki diyabet tipinde de önemli gibi gözükmektedir (Donath ve ark., 2010; Donath ve ark., 2008; Donath ve Shoelson, 2011).

Tip-2 diyabetin oluşmasında enflamatuvar mekanizmaların olduğuna yönelik tek kanıtlar bunlarla sınırlı değildir. Tip-2 diyabette enflamatuvar yanıtın yer aldığını düşündüren bir başka kanıt ise adipoz dokuda meydana gelen hipoksidir. Onkolojide, hızla büyüyen dokunun, oksijen ve besin gereksinimlerini destekleyen vaskülerlerden daha hızlı genişleyebileceği iyi bilinmektedir. Obez olan bireylerde insan yağ dokusunda hipoksi görülür ve bu durum yağ dokusunun disfonksiyonuna neden olur. Makrofajlar, hipoksi veya iskemi alanlarında birikir ve yağ dokusu genişlemesi ile enflamasyonun indüksiyonu arasında patolojik bir bağlantı sağlar. Makrofajların hipoksik veya iskemik dokuda birikmeye başlaması, tümör büyümesinde, yaralarda ve enfeksiyonlarda, aterosklerozde ve artritte daha ayrıntılı olarak incelenmiştir, ancak bu prensibin yağ dokusu için de benzer olduğu düşünülmektedir. Hipoksi, adipoz dokuda yoğun olarak biriken makrofajlardaki proanjiojenik ve proenflamatuvar genin ekspresyonuna neden olur. Ayrıca, oksijen ve besin gereksinimlerinin ötesinde adiposit genişlemesi, adiposit hücre ölümüne yol açmaktadır. Ölü adipositlerin en belirgin özelliği, yağ pedlerinden ayrı olarak ve sporadik olarak bulunmalarıdır. Ayrıca etrafları makrofajlarla çevrilidir ve "taç benzeri yapılar"a benzemektedirler (Donath ve ark., 2010; Donath ve ark., 2008; Donath ve Shoelson, 2011).

İnsülin direncini ve Tip-2 diyabeti artıran metabolik streslerin birçoğu aynı zamanda enflamasyonu ve stres kaynaklı kinazları I κ B kinaz- β (IKK β) ve JuN-terminal kinazı (JNK) aktive eder. Bu koşulların patogeneğinde. Nitekim IKK β transkripsiyon faktörü nükleer faktör- κ B'yi (NF- κ B) aktive eder ve obezite de karaciğer ve yağ dokusunda NF- κ B hedef genlerin ekspresyonunu indükler. Bu da proenflamatuvar sitokinlerin üretilmesine sebep olur. TNF, IL-6 ve IL-1-beta da dahil

olmak üzere üretilen bu sitokinler, üretildikleri yerlerde (karaciğer ve yağ dokusu gibi) insülin direncini artırabilirler ve ayrıca damar duvarları, iskelet ve kalp kası, böbrekler ve lökositler dahil olmak üzere daha uzaktaki hücreleri/bölgeleri etkilemek için dolaşım yoluyla taşınabilirler (Donath ve ark., 2011).

1.4. Polimorfizm

1.4.1. Polimorfizmin Tanımı Ve Nedenleri

Günümüzde geçerliliğini koruyan ve hala kullandığımız genetik polimorfizm tanımı Cavalli-Sforza ve Bodmer tarafından yapılmıştır (Cavalli-Sforza ve Bodmer, 1971). Bu tanıma göre genetik polimorfizm aynı lokustaki iki veya daha fazla allelin popülasyonda, her biri kayda değer frekansa sahip olan oluşumdur, burada asgari frekans tipik olarak % 1 olarak alınmaktadır. Genetik polimorfizmin temelini gen sekansında meydana gelen mutasyonlar oluşturmaktadır. Başlıca dört farklı mutasyon oluşma yolu vardır diyebiliriz. Bunlar tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler), küçük ölçekli ekleme/silme işlemleri, polimorfik tekrarlayıcı elementler ve mikrouydu varyasyonlarıdır (Hedrick, 2011). İnsanlarda meydana gelen genetik polimorfizmlerin yaklaşık % 90-95'ini tek nükleotid polimorfizmleri oluşturmaktadır. Tek nükleotid polimorfizmleri adından da anlaşılacağı gibi gen dizilimindeki tek bir baz çiftinin değişimi sonucu oluşur. SNP'lerin yaygın olması, bunların insan sağlığı üzerinde etkili olmaması veya vücutta ciddi anlamda bir şeyi değiştirmedeği anlamına gelmemektedir; bunun anlamı, yaygın SNP'lerin herhangi bir etkisinin, ciddi bir hastalığın doğrudan bir nedeni olmaktan çok, hastalığa duyarlılığın hassas bir şekilde değiştirilmesine neden olmasıdır (Gallager ve ark., 2003).

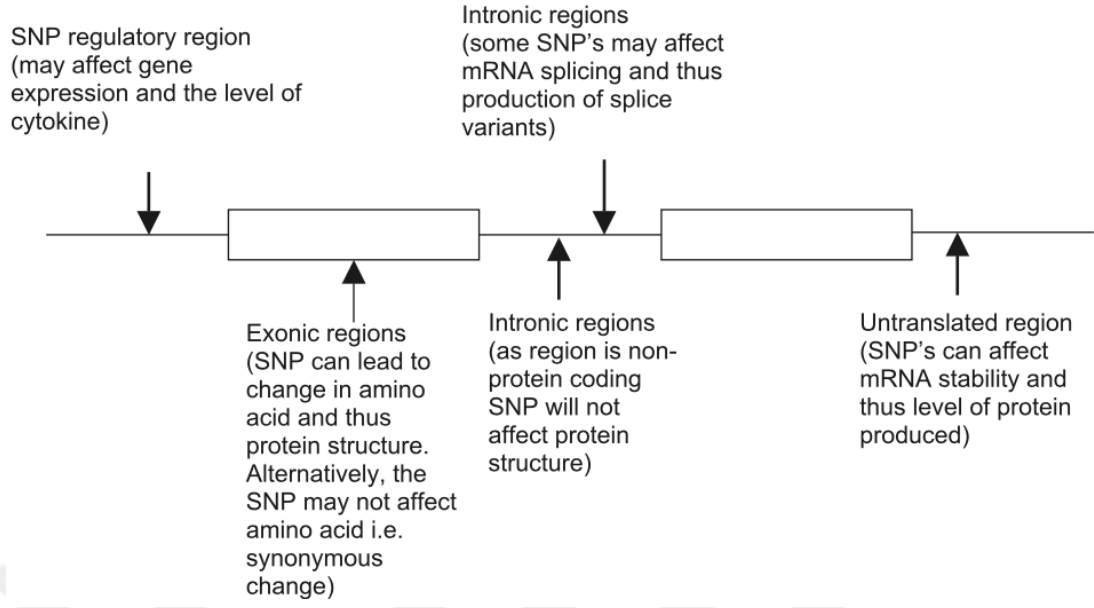
1.4.2. Sitokin Polimorfizmi

Kompleks sitokin ağı, bağışıklık tepkilerini ve diğer biyolojik yolları homeostatik olarak düzenlemek için dinamik bir şekilde etkileşir. Bu nedenle, sitokin düzeyindeki değişikliği hastalık duyarlılığı ve süreci ile doğrudan ilişkilidir. Temel bir sorun, sitokinlerde meydana gelen varyasyonların sitokin ağına nasıl etki ettiklerinin belirlenmesidir. Sitokinlerin immün yanıt, enflamasyon, akut faz cevabı ve doku onarımı gibi homeostatik mekanizmaların anahtar düzenleyicileri oldukları göz önüne alındığında, düzeylerindeki (nicel) veya yapısındaki (kalitatif) varyasyonun hastalıklarla ilişkili olabileceği şaşırtıcı değildir (Ollier, 2004).

Bu nedenle sitokin gen polimorfizmlerini incelemek:

- İnsan hastalığının kaynağı ve mekanizması konusundaki anlayışımızı arttırmak
- Duyarlılık, şiddet ve sonuçtaki yeni tanısal belirteçleri tanımlamak
- Yeni terapötik hedefleri ve immünomodülatör tedaviler için uygun hastaları tanımlamak
- Yeni müdahale stratejilerini belirlemek (örneğin, arttırılmış aşılama) için çok önemlidir (Gallagher ve ark., 2003).

Bu amaçla yürütülen çalışmalar genellikle mikrouydu varyasyonlarına veya SNP'lere odaklanmaktadır. Mikrouydu tekrarları gen eksonlarında son derece nadirdir ve genellikle intergeniktir. SNPlerin araştırılması, bilimsel çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır ve SNP'ler sitokin genlerinin genellikle egzotik bölgelerinde bulunabilir ve bunlar eş anlamlı olmayan değişiklikler (amino asit dizisini etkileyen) veya eş anlamlı değişikliklerle (amino asit dizisini etkilemeyen) sonuçlanabilirler. Bir sitokin molekülünde veya reseptöründe tek bir amino asit değişikliği, yüksek afiniteli bağlanmanın azalması gibi önemli bir değişikliğe veya fonksiyon kaybına neden olabilir (Ollier, 2004).



Şekil 1.13. Sitokin Geninde Meydana Gelen SNP'ler ve Olası Sonuçları (Ollier, 2004)

1.4.3. Diyabet İle Sitokin Enflamasyon Polimorfizmleri İlişkisi

Yapılan çalışmalar sonucu TNF- α (-238), TNF- α (-857), TNF- α (-863), TNF- α (-1031) sitokin gen polimorfizmlerinin diyabetlilerde komplikasyon gelişimi ile bağlantılı olduğu öne sürülmektedir. Daha önce Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı bünyesinde yapılan bir çalışmada TNF- α (-308) gen bölgesinin diyabet gelişimi ve komplikasyonları üzerine etkisi incelenmiş olup istatistiksel açıdan anlamlı sonuçlar bulunmuştur. Bu çalışmaya göre tip 2 diyabetli hastalarda TNF- α (-308) gen bölgesindeki polimorfizmin diyabet gelişimini yaklaşık 3 kat [OR (95% CI) 3.27 (1.81-6.19)] arttırdığı bulunmuştur (Güvenç, 2014).

Yine Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı bünyesinde yürütülen bir başka çalışmada Karadenizli Tip-2 diyabetli hastalardan alınan numunelerde incelemeler yapılmış, TNF- α (-308) gen bölgesinin

diyabetin oluşmasını yaklaşık 2.5 kat arttırdığı [OR (95% CI) 2.73 (1.23-6.05)] görülmüştür (Ateş, 2015).

Bu bilgiler ışığında söz konusu tez araştırmasında; Tip-2 diyabet gelişiminde pay sahibi olduğu düşünülen TNF- α (-238), (-857), (-863) ve (-1031) sitokinlerinin belirtilen bölgelerindeki gen polimorfizmlerinin nasıl etki ettiğinin araştırılması hedeflenmiştir. Yapılan literatür taraması sonuçlarına göre bu gen bölgelerinden bazılarının Tip-2 diyabet ile olan ilişkisini konu olan çalışmalara rastlanmamıştır. Kimi gen bölgelerinde farklı etnik popülasyonlarda farklı sonuçlar elde edildiğinden bu çalışmaların Türk popülasyonunda da yapılması önem arz etmektedir. Yapılan bu tez çalışmasında bu bölgelerin Türk popülasyonunda diyabet gelişimi üzerindeki etkilerini irdelemek amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Gereçler

2.1.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

- Thermo Scientific PCR Master Mix (İçeriği: 0.05 U/ μ L Taq DNA polimeraz, 4 mM MgCl₂, 0.4 mM dNTP ve reaksiyon bufferı)
- Liyofilize Primerler (NZYTech)
- Thermo Scientific PCR Marker
- Thermo Scientific Dye
- Thermo Scientific Restriksiyon Enzimleri
- %10'luk 1.0 mm Bio-Rad Criterion TBE Hazır Jel
- Chem Cruz 10X Tris-Borat EDTA Buffer
- Genaxxon Bioscience Etidyum Bromür

2.1.2. Kullanılan Cihazlar

- -20°'lik Bosch Derin Dondurucu
- Bilser Laminar Flow Kabini
- Applied Biosystems Thermal Cycler PCR Cihazı
- Boeco Combi-Spin Mikrosantrifüj Cihazı
- Vilber Lourmat Jel Görüntüleme Sistemi
- Grant Boeckel Isıtıcı Blok
- Bio-Rad Elektroforez Tankı
- Bio-Rad Power Pac Elektroforez Güç Kaynağı
- Treff Lab Rack
- Treff Lab Eppendorf Tüpleri
- Gel-Well Pipet ve Yükleme Uçları
- Iso-Lab Mikropipetler (10 ul, 20 ul, 200 ul, 1000 ul)
- Erlen
- Mezür

2.2. Kullanılan Yöntemler

2.2.1. Deney Kurgusu

Deney kurgusu belirlenirken öncelikle Tip-2 DM hastalığına sahip olan hasta bireyler ve Tip-2 DM hastalığına sahip olmayan sağlıklı bireyler olmak üzere bir hasta grubu ve bir kontrol grubu oluşturulmuştur. Kontrol ve hasta grubuna ait kan örneklerinin bir kısmını Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Asuman Karakaya'nın daha önceden yürütücülüğünü yaptığı "Paraoksonaz Gen Polimorfizminin Tip-2 Diyabetli Hastalarda Komplikasyon Gelişimi Ve Lipit Metabolizması İle İlişkinin Araştırılması" başlıklı projedeki numuneler oluşturmaktadır. Bu projede, Sağlık Bakanlığı Ankara Hastanesi Diyabet Kliniğinde yatan 50 kontrol ve 100 Tip-2 diyabet hastasından numuneler alınmış ve saklanmıştır. Ardından Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi Doç. Dr. İlker Ateş liderliğinde düzenlenen "Tip-2 Diyabet Hastalığı Komplikasyonlarının Gelişiminde Rol Oynayan Sitokin Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması" projesinde "n" sayısını arttırmak için Rize Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Endokrinoloji Kliniği'nde yatan 69 Tip-2 diyabetli hastadan daha numune toplanmıştır. Kullanılacak olan numunelerin sağlıklı ve hasta bireylerden alınabilmesi için bilgilendirilmiş onam formları doldurulmuştur. Hali hazırda kullanılması için etik kurul onayı bulunan bu kan numunelerinden hasta grubuna ait olanların sayısı 169, kontrol grubuna ait olanların sayısı ise 50 olarak belirlenmiştir.

-20 C'de saklanan DNA numuneleri öncelikle PCR (Polymerase Chain Reaction) deneylerine tabi tutulmuştur. Elde edilen PCR ürünlerinde öncelikle elektroforez jelde yürütme ve görüntüleme işlemleri yapılarak PCR ürünlerinin sorunsuz bir şekilde elde edildiğinden emin olunmuştur. Bu işlemde sonra RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) tekniği kullanılarak PCR ürünleri kesim bölgelerine ayrılmıştır. Genotipleme deneyleri tamamlandıktan sonra kesim bölgeleri incelenerek TNF- α (-238), TNF- α (-857), TNF- α (-863) ve TNF- α (-1031) genlerinde mutasyon gözlenen ve gözlenmeyen bireyler saptanmaya çalışılmıştır.

2.2.2. Genotiplerin Belirlenmesi

2.2.2.1 TNF- α (-238) Polimorfizminin Belirlenmesi

TNF- α (-238) sitokin gen bölgesinde meydana gelmiş olabilecek mutasyonların tespiti için Ateş ve ark.'nın 2008 yılında yayınladıkları çalışmada belirtilen yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemde öncelikle PCR yöntemi kullanılarak DNA'nın replikasyonunun gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

PCR işlemine TNF- α (-238) bölgesine özel primerlerin hazırlanmasıyla başlanmıştır. Forward bölgesine 5'-(GAA GCC CCT CCC AGT TCT AGT TC)-3' ait primerin hazırlanması için liyofilize halde bulunan primerin üzerine hesaplanan miktarda saf su eklenmiştir. Ardından bu karışım 10'da 1 oranında seyreltilerek stok forward primer çözeltisi hazırlanmıştır. Benzer işlem reverse bölgesi 5'-(CAC TCC CCA TCC TCC CTG GTC)-3' için de yapılmış olup liyofilize halde bulunan primer üzerine hesaplanan miktarda saf su eklenmiş ve 10'da 1 oranında seyreltilerek 100 μ M'lık stok reverse primer çözeltisi hazırlanmıştır.

PCR'in gerçekleştirilebilmesi için 25 μ L PCR Master Mix kullanılmıştır. Thermo Scientific Master Mix'in içeriği ise 0.05 U/ μ L Taq DNA polymerase, 4 mM MgCl₂, 0.4 mM dNTP ve reaksiyon bufferı bulunmaktadır. Bunun üzerine 1 μ L forward ve reverse primerler eklenmiştir. Karışıma aynı zamanda 5 μ L DNA numunesi ve 18 μ L saf su eklenerek PCR karışımının hazırlanması sağlanmıştır.

PCR koşullarının denatürasyon basamağı (94°C 3 dakika, 1 döngü) olarak, primerlerin yapışma basamağı (94°C 1 dakika, 61°C 1 dakika, 72°C 1 dakika, 35 döngü) olarak ve sentez basamağı (72°C 5 dakika, 1 döngü) olarak ayarlanmıştır. Karışımlar Applied Biosystems Veriti PCR cihazında muameleye bırakılmıştır.

PCR ürününün 20 μ L'si üzerine 5 μ L boya eklenerek elektroforez ürünleri hazırlanmıştır. 25 baz çiftlik (bç) marker, 3 μ L boya ve 12 μ L'lik su kullanılarak marker çözeltisi de hazırlanmıştır. Hazırlanan ürünler % 10'luk TBE içeren hazır Bio-Rad jelde 45 dakika boyunca 200 voltluk akımda yürütülmüştür. Yürütme

işleminde sonra karışım 100 ml'lik 1X Tris-Borat-EDTA içeren kaplara konularak üzerine 12,5 µL'lik EtBr₂ ilave edilmiş ve 20 dakika beklenmiştir. Hazırlanan PCR ürünleri UV lambası altından incelenerek 152 bç'de bant verdiği tespit edilmiştir.

PCR ürünlerinin sorunsuz bir şekilde elde edilmesinden sonra numuneler için RFLP protokolü uygulanmaya başlanmıştır. Bu amaçla PCR ürünleri üzerine 2 µL su, 2 µL enzim bufferı ve 1 µL *Ava II* kesim enzimi ilave edilmiştir. Bu karışım 37 C'de gece boyunca ısıtıcı bloklarda enzimle kesilmiştir. Kesim işlemini takiben aynı metodla elektroforez ürünleri hazırlanmış ve UV lambası altında kesim bölgelerine bakılmıştır. Elektroforez analizi sonucunda gözlenen 77, 63, 49 bç'lik üç bant yabancıl tip (wild type) genotipini, 77, 70, 63 ve 49 bç'lik dört bant heterozigot genotipini ve 77, 70, 63 bç'lik üç bant ise homozigot mutant genotipi varlığını göstermiştir.

2.2.2.2. TNF- α (-857) Polimorfizminin Belirlenmesi

TNF- α (-857) sitokin gen bölgesinde meydana gelmiş olabilecek mutasyonların tespiti için Mishra ve ark.'nın 2015 yılında ve Du ve ark.'nın 2006 yılında yaptıkları çalışmalarda kullanılan yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemde öncelikle PCR yöntemi kullanılarak DNA'nın replikasyonunun gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

PCR işlemine TNF- α (-857) bölgesine özel primerlerin hazırlanmasıyla başlanmıştır. Forward bölgesine 5'-(AAG TCG AGT ATG GGG ACC CCC CGT TAA)-3' ait primerin hazırlanması için liyofilize halde bulunan primerin üzerine hesaplanan miktarda saf su eklenmiştir. Ardından bu karışım 10'da 1 oranında seyreltilerek stok forward primer çözeltisi hazırlanmıştır. Benzer işlem reverse bölgesi 5'-(GGC TCT GAG GAA TGG GTT AC)-3' için de yapılmış olup liyofilize halde bulunan primer üzerine hesaplanan miktarda saf su eklenmiş ve 10'da 1 oranında seyreltilerek 100 µM'lık stok reverse primer çözeltisi hazırlanmıştır.

PCR'in gerçekleştirilebilmesi için 25 µl PCR Master Mix kullanılmıştır. Thermo Scientific Master Mix'in içeriğinde 0.05 U/µL Taq DNA polymerase, 4 mM MgCl₂, 0.4 mM dNTP ve reaksiyon bufferı bulunmaktadır. Bunun üzerine 1 µL forward ve reverse primerler eklenmiştir. Karışıma aynı zamanda 5 µL DNA numunesi ve 18 µL saf su eklenerek PCR çözeltisinin hazırlanması sağlanmıştır.

PCR koşullarının denatürasyon basamağı (94°C 2 dakika, 1 döngü) olarak, primerlerin yapışma basamağı (94°C 30 saniye, 64°C 30 saniye, 72°C 30 saniye, 30 döngü) olarak ve sentez basamağı (72°C 10 dakika, 1 döngü) olarak ayarlanmıştır. Karışımlar Applied Biosystems Veriti PCR cihazında muameleye bırakılmıştır.

PCR ürününün 20 µL'si üzerine 5 µL boya eklenerek elektroforez ürünleri hazırlanmıştır. 25 baz çiftlik (bç) marker, 3 µL boya ve 12 µL'lik su kullanılarak marker çözeltisi de hazırlanmıştır. Hazırlanan ürünler % 10'luk TBE içeren hazır Bio-Rad jelde 45 dakika boyunca 200 voltluk akımda yürütülmüştür. Yürütme işleminden sonra karışım 100 ml'lik 1X Tris-Borat-EDTA içeren kaplara konularak üzerine 12,5 µL'lik EtBr₂ ilave edilmiş ve 20 dakika beklenmiştir. Hazırlanan PCR ürünleri UV lambası altından incelenerek 131 bç'de bant verdiği tespit edilmiştir.

PCR ürünlerinin sorunsuz bir şekilde elde edilmesinden sonra numuneler için RFLP protokolü uygulanmaya başlanmıştır. Bu amaçla 15 µL PCR ürünleri üzerine 10 µL su, 2 µL enzim bufferı ve 1 µL *Hinc II* kesim enzimi ilave edilmiştir. Bu karışım 37 C'de gece boyunca ısıtıcı bloklarda enzimle kesilmiştir. Kesim işlemini takiben aynı metodla elektroforez ürünleri hazırlanmış ve UV lambası altında kesim bölgelerine bakılmıştır. Elektroforez analizi sonucunda gözlenen 25 ve 106 bç'lik iki bant yabancı tip (wild type) genotipini, 25, 106 ve 131 bç'lik üç bant heterozigot genotipini ve 131 bç'lik bant ise homozigot mutant genotipi varlığını göstermiştir.

2.2.2.3. TNF- α (-863) Polimorfizminin Belirlenmesi

TNF- α (-857) sitokin gen bölgesinde meydana gelmiş olabilecek mutasyonların tespiti için Mishra ve ark.'nın 2015 yılında ve Mardanian ve ark.'nın 2014 yılında yaptıklarını belirttikleri çalışmalarda yaptıkları yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemde öncelikle PCR yöntemi kullanılarak DNA'nın replikasyonunun gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

PCR işlemine TNF- α (-857) bölgesine özel primerlerin hazırlanmasıyla başlanmıştır. Forward bölgesine 5'-(GGC TCT GAG GAA TGG GTT AC)-3' ait primerin hazırlanması için liyofilize halde bulunan primerin üzerine hesaplanan miktarda saf su eklenmiştir. Ardından bu karışım 10'da 1 oranında seyreltilerek stok forward primer çözeltisi hazırlanmıştır. Benzer işlem reverse bölgesi 5'-(CCT CTA CAT GGC CCT GTC TTC ACT AAG)-3' için de yapılmış olup liyofilize halde bulunan primer üzerine hesaplanan miktarda saf su eklenmiş ve 10'da 1 oranında seyreltilerek 100 μ M'lık stok reverse primer çözeltisi hazırlanmıştır.

PCR'in gerçekleştirilebilmesi için 25 μ l PCR Master Mix kullanılmıştır. Thermo Scientific Master Mix'in içeriğinde 0.05 U/ μ L Taq DNA polymerase, 4 mM MgCl₂, 0.4 mM dNTP ve reaksiyon bufferı bulunmaktadır. Bunun üzerine 1 μ L forward ve reverse primerler eklenmiştir. Karışıma aynı zamanda 5 μ L DNA numunesi ve 18 μ L saf su eklenerek PCR çözeltisinin hazırlanması sağlanmıştır.

PCR koşullarının denatürasyon basamağı (96°C 5 dakika, 1 döngü) olarak, primerlerin yapışma basamağı (94°C 30 saniye, 59°C 1 dakika, 72°C 2 dakika, 35 döngü) olarak ve sentez basamağı (72°C 2 dakika, 1 döngü) olarak ayarlanmıştır. Karışımlar Applied Biosystems Veriti PCR cihazında muameleye bırakılmıştır.

PCR ürününün 20 μ L'si üzerine 5 μ L boya eklenerek elektroforez ürünleri hazırlanmıştır. 25 baz çiftlik (bç) marker, 3 μ L boya ve 12 μ L'lik su kullanılarak marker çözeltisi de hazırlanmıştır. Hazırlanan ürünler % 10'luk TBE içeren hazır Bio-Rad jelde 45 dakika boyunca 200 voltluk akımda yürütülmüştür. Yürütme

işleminde sonra karışım 100 ml'lik 1X Tris-Borat-EDTA içeren kaplara konularak üzerine 12,5 µL'lik EtBr₂ ilave edilmiş ve 20 dakika beklenmiştir. Hazırlanan PCR ürünleri UV lambası altından incelenerek 131 bç'de bant verdiği tespit edilmiştir.

PCR ürünlerinin sorunsuz bir şekilde elde edilmesinden sonra numuneler için RFLP protokolü uygulanmaya başlanmıştır. Bu amaçla 15 µL PCR ürünleri üzerine 18 µL su, 2 µL enzim bufferı ve 1 µL *Sty I* kesim enzimi ilave edilmiştir. Bu karışım 37 C'de gece boyunca ısıtıcı bloklarda enzimle kesilmiştir. Kesim işlemini takiben aynı metodla elektroforez ürünleri hazırlanmış ve UV lambası altında kesim bölgelerine bakılmıştır. Elektroforez analizi sonucunda gözlenen 25 ve 108 bç'lik iki bant yabancıl tip (wild type) genotipini, 25, 108 ve 133 bç'lik üç bant heterozigot genotipini ve 133 bç'lik bant ise homozigot mutant genotipi varlığını göstermiştir.

2.2.2.4. TNF-α (-1031) Polimorfizminin Belirlenmesi

TNF-α (-857) sitokin gen bölgesinde meydana gelmiş olabilecek mutasyonların tespiti için Yun ve ark.'nın 2011 yılında yaptıkları yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemde öncelikle PCR yöntemi kullanılarak DNA'nın replikasyonunun gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

PCR işlemine TNF-α (-857) bölgesine özel primerlerin hazırlanmasıyla başlanmıştır. Forward bölgesine 5'-(TAT GTG ATG GAC TCA CCA GG)-3' ait primerin hazırlanması için liyofilize halde bulunan primerin üzerine hesaplanan miktarda saf su eklenmiştir. Ardından bu karışım 10'da 1 oranında seyreltilerek stok forward primer çözeltisi hazırlanmıştır. Benzer işlem reverse bölgesi 5'-(CCT CTA CAT GGC CCT GTC TT)-3' için de yapılmış olup liyofilize halde bulunan primer üzerine hesaplanan miktarda saf su eklenmiş ve 10'da 1 oranında seyreltilerek 100 µM'lık stok reverse primer çözeltisi hazırlanmıştır.

PCR'ın gerçekleştirilebilmesi için 25 µl PCR Master Mix kullanılmıştır. Thermo Scientific Master Mix'in içeriğinde 0.05 U/µL Taq DNA polymerase, 4 mM MgCl₂, 0.4 mM dNTP ve reaksiyon bufferı bulunmaktadır. Bunun üzerine 1 µL

forward ve reverse primerler eklenmiştir. Karışıma aynı zamanda 5 µL DNA numunesi ve 18 µL saf su eklenerek PCR çözeltisinin hazırlanması sağlanmıştır.

PCR koşullarının denatürasyon basamağı (96°C 5 dakika, 1 döngü) olarak, primerlerin yapışma basamağı (94°C 30 saniye, 63°C 40 saniye, 72°C 1 dakika, 30 döngü) olarak ve sentez basamağı (72°C 10 dakika, 1 döngü) olarak ayarlanmıştır. Karışımlar Applied Biosystems Veriti PCR cihazında muameleye bırakılmıştır.

PCR ürününün 20 µL'si üzerine 5 µL boya eklenerek elektroforez ürünleri hazırlanmıştır. 25 baz çiftlik (bç) marker, 3 µL boya ve 12 µL'lik su kullanılarak marker çözeltisi de hazırlanmıştır. Hazırlanan ürünler % 10'luk TBE içeren hazır Bio-Rad jelde 45 dakika boyunca 200 voltluk akımda yürütülmüştür. Yürütme işleminden sonra karışım 100 ml'lik 1X Tris-Borat-EDTA içeren kaplara konularak üzerine 12,5 µL'lik EtBr₂ ilave edilmiş ve 20 dakika beklenmiştir. Hazırlanan PCR ürünleri UV lambası altından incelenerek 131 bç'de bant verdiği tespit edilmiştir.

PCR ürünlerinin sorunsuz bir şekilde elde edilmesinden sonra numuneler için RFLP protokolü uygulanmaya başlanmıştır. Bu amaçla 15 µL PCR ürünleri üzerine 10 µL su, 2 µL enzim bufferı ve 1 µL *Bbs I* kesim enzimi ilave edilmiştir. Bu karışım 37 C'de gece boyunca ısıtıcı bloklarda enzimle kesilmiştir. Kesim işlemini takiben aynı metodla elektroforez ürünleri hazırlanmış ve UV lambası altında kesim bölgelerine bakılmıştır. Elektroforez analizi sonucunda gözlenen 71 ve 180 bç'lik iki bant yabancıl tip (wild type) genotipini, 71, 180 ve 251 bç'lik üç bant heterozigot genotipini ve 251 bç'lik bant ise homozigot mutant genotipi varlığını göstermiştir.

2.2.3. Kullanılan İstatiksel Yöntemler

Çalışmadaki tüm istatistiksel analizler "IBM SPSS Version 23 for Windows and MacOS" programı kullanılarak yapılmıştır.

Öncelikle deneylerde kullanılan numunelerin ait olduğu bireylerin demografik özellikleri belirlenmiştir ve bu demografik özelliklerin ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanmıştır. Buna ek olarak kontrol grubunun ve hastaların diyabet süreleri ve sigara kullanma alışkanlıklarına ait sonuçlar da yazılarak sigara kullanma alışkanlıkları açısından kontrol ve hasta grubu arasında anlamlı bir fark olup olmadığı hesaplanmıştır.

Ardından deney sonuçlarından elde edilen verilerden yola çıkarak TNF- α polimorfizmleri için genotip dağılımları belirlenmiş ve alel frekansları hesaplanmıştır. Bunun dışında belirlenen TNF- α sitokin gen bölgelerinde meydana gelen polimorfizmlerin hastalığın gelişiminde etkili olup olmadığı ve şayet etkisi varsa bu etkinin hastalık geliştirme riskini ne kadar arttırdığını bulmak amacıyla Odds Ratio (OR) değerleri saptanmıştır. Bu değerler hesaplanırken güvenlik aralığı [confidence interval (CI)] % 95 olarak seçilmiştir.

Bunlara ek olarak kontrol ve hasta gruplarında açlık kan şekeri, sistolik kan basıncı, diastolik kan basıncı, nabız, vücut kitle indeksi, trigliserit, total kolesterol, HDL, LDL, VLDL, idrar albumin kreatinin oranı gibi biyokimya değerleri de kaydedilmiştir. İki gruptaki bu verilerin ortalamaları ve standart sapmaları bulunmuş; ayrıca Bağımsız-T Testi kullanılarak sözkonusu biyokimya testlerindeki farklılıkların anlamlı olup olmadığı tespit edilmeye çalışılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Demografik Bulgular Ve Anamnez Bulguları

Çalışmaya kontrol grubu olarak 50 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Kontrol grubunda yer alan bireylerin yaşları 32 ve 70 arasında değişmektedir. Aynı zamanda bu grupta 28 sağlıklı erkek birey ve 22 sağlıklı kadın birey yer almaktadır. Kontrol grubunda yer alan erkek bireylerin yaş ortalaması $46,46 \pm 8,28$ (ortalama \pm standart sapma) olarak hesaplanmıştır. Kontrol grubunda yer alan kadın bireylerin yaş ortalaması $43,27 \pm 8,25$ (ortalama \pm standart sapma) olarak hesaplanmıştır. Kontrol grubunda yer alan 50 bireyin genel yaş ortalaması $45,06 \pm 8,42$ (ortalama \pm standart sapma) olarak hesaplanmıştır. Çalışmaya hasta grubu olarak ise 169 Tip-2 diyabete sahip birey dahil edilmiştir. Bu hastaların yaşları ise 30 ile 85 arasında değişmektedir. Bu grupta yer alan hasta bireylerden 85'inin erkek, 84'ünün kadın olduğu tespit edilmiştir. Hasta grubunda yer alan erkek bireylerin yaş ortalaması $54,69 \pm 11,01$ (ortalama \pm standart sapma) olarak hesaplanmıştır. Hasta grubunda yer alan kadın bireylerin yaş ortalaması $57,11 \pm 9,56$ (ortalama \pm standart sapma) olarak hesaplanmıştır. Hasta grubunda yer alan bireylerin yaş ortalaması ise $56,03 \pm 10,37$ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Kontrol ve Hasta Grubundaki Deneklere Ait Demografik Bilgiler

Paratmetre	Erkek	Kadın	Genel
Kontrol Grubu			
Birey Sayısı	28	22	50
Yaş (Ortalama \pm SH)	$46,46 \pm 8,28$	$43,27 \pm 8,25$	$45,06 \pm 8,42$
Hasta Grubu			
Birey Sayısı	85	84	169
Yaş (Ortalama \pm SH)	$54,96 \pm 11,01$	$57,11 \pm 9,56$	$56,03 \pm 10,37$

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

grubun kontrol grubundaki kadın bireylerde meydana geldiği görülmüştür (% 45). En az sigara içen grubun ise hasta kadınlar olduğu kaydedilmiştir (% 14) (Çizelge 3.2).

Bahsedilen demografik verilere ek olarak çalışmaya katılan bireylerin diyabet süreleri de kaydedilerek ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanmıştır. Kontrol grubuna dahil olan bireyler sağlıklı bireyler oldukları için bu gruba ait bireylerin diyabet süresi sıfırdır. Hasta grubuna ait bireylerin diyabet süreleri ise erkek hastalar için $10,08 \pm 6,86$ olarak hesaplanmıştır. Kadın hastalar için ise bu sayılar $12 \pm 6,83$ olarak hesaplanmıştır. Tüm hasta grubu dahil edildiğinde ise yaklaşık diyabet süresi $11,03 \pm 6,91$ olarak bulunmuştur. Buna ek olarak hasta ve kontrol grubu sigara içme alışkanlıkları açısından birbiriyle kıyaslandığında Sig. (2-tailed) değerinin 0.01 değerinden küçük olduğu ve iki grup arasında anlamlı bir fark bulunduğu göze çarpmıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Kontrol ve Hasta Grubuna Ait Anamnez Bulguları

Parametre	Erkek	Kadın	Genel
Kontrol Grubu			
Diyabet Süresi (Ortalama \pm SH)	-	-	-
Sigara İçme Durumu			
- İçen Birey Sayısı (%)	11 (39)	10 (45)	21 (42)
- İçmeyen Birey Sayısı (%)	17 (61)	12 (55)	29 (48)
Hasta Grubu			
Diyabet Süresi (Ortalama Yıl \pm SH)	$10,08 \pm 6,86$	$12 \pm 6,83$	$11,03 \pm 6,91$
Sigara İçme Durumu			
- İçen Birey Sayısı (%)	35 (41)	12 (14)	47 (27) ^a
- İçmeyen Birey Sayısı (%)	50 (49)	72 (86)	122 (73) ^a

^ap < 0.01

3.2. Biyokimyasal Bulgular

Deney ve kontrol grubuna ait bireylerin nabız, kan basıncı ve vücut kitle indeksi de dahil olmak üzere biyokimyasal parametrelere ait ortalamalar ve standart sapmalar Çizelge 3.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 3.3. Kontrol ve Hasta Gruplarına Ait Biyokimyasal Parametreler

Parametreler	Kontrol Grubu	Hasta Grubu
SKB	123 ± 13,89	141,31 ± 23,34 ^a
DKB	74,6 ± 7,26	81,76 ± 9,66 ^a
Nabız	73,36 ± 6,48	80,08 ± 8,73 ^a
BMI	26,72 ± 4,05	30,38 ± 6,01 ^a
AKS	88,82 ± 17,55	208,63 ± 89,67 ^a
Trigliserit	115,4 ± 66,56	178,92 ± 145,28 ^a
Total Kolesterol	188,52 ± 39,93	209,84 ± 51,27 ^a
HDL	45,7 ± 8,48	45,77 ± 10,14
LDL	115,4 ± 37,82	127,08 ± 42,53
VLDL	23,64 ± 13,60	33,94 ± 19,38 ^a
Albumin/Kreatin Oranı	0,3894 ± 0,24	0,75 ± 1,25 ^b

^a p < 0.01

^b p < 0.05

Bağımsız T-Testi kullanılarak bu biyokimyasal parametreler arasındaki farkın anlamlı bir sonuç taşıyıp taşımadığı da kontrol edilmiştir.

Gruplar arasında Bağımsız T Testi yapıldığında bazı biyokimyasal parametreler arasında meydana gelen değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir. Buna göre hasta grubunun sistolik kan basıncı, diastolik kan basıncı, nabız, vücut kitle indeksi, açlık kan şekeri, trigliserit ve VLDL değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0.05). Bunun dışında total kolesterol, HDL, LDL ve albümin/kreatin oranı parametrelerinde açısından kontrol ve hasta grupları arasında bu parametreler açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır.

3.3. Genotipik Bulgular

3.3.1. TNF- α (-238) Genotip Bulguları

49 kişiden oluşan kontrol grubunda TNF- α (-238) gen polimorfizmlerine bakıldığında bu 49 kişiden 37'sinin yabancı tip genotipe (1/1 aleli) sahip olduğu görülmüştür. Bu da kontrol grubu popülasyonunun % 75,5'ine tekabül etmektedir. Heterozigot genotipe (1/2 aleli) sahip bireylerin sayısı 10, homozigot mutant genotipe (2/2 aleli) sahip bireylerin sayısı ise 2 olarak bulunmuştur. Bunlar da sırasıyla kontrol grubu popülasyonunun % 20,4'ünü ve % 4,1'ini oluşturmaktadır. Kontrol grubuna ait TNF- α (-238) gen polimorfizm sonuçları Çizelge 3.4'te gösterilmiştir.

166 kişiden oluşan hasta grubunda TNF- α (-238) gen polimorfizmlerine bakıldığında bu 166 kişiden 98'inin yabancı tip genotipe (1/1 aleli) sahip olduğu görülmüştür. Bu da hasta grubu popülasyonunun % 59'una tekabül etmektedir. Heterozigot genotipe (1/2 aleli) sahip bireylerin sayısı 50, homozigot mutant genotipe (2/2 aleli) sahip bireylerin sayısı ise 18 olarak bulunmuştur. Bunlar da sırasıyla hasta grubu popülasyonunun % 30,1'ini ve % 10,9'unu oluşturmaktadır. Hasta grubuna ait TNF- α (-238) gen polimorfizm sonuçları Çizelge 3.5'te gösterilmiştir.

3.3.1. TNF- α (-857) Genotip Bulguları

48 kişiden oluşan kontrol grubunda TNF- α (-857) gen polimorfizmlerine bakıldığında bu 48 kişiden 32'sinin yabancı tip genotipe (1/1 aleli) sahip olduğu görülmüştür. Bu da kontrol grubu popülasyonunun % 66,6'sına tekabül etmektedir. Heterozigot genotipe (1/2 aleli) sahip bireylerin sayısı 14, homozigot mutant genotipe (2/2 aleli) sahip bireylerin sayısı ise 2 olarak bulunmuştur. Bunlar da sırasıyla kontrol grubu popülasyonunun % 29,2'sini ve % 4,2'sini oluşturmaktadır. Kontrol grubuna ait TNF- α (-857) gen polimorfizm sonuçları Çizelge 3.4'te gösterilmiştir.

166 kişiden oluşan hasta grubunda TNF- α (-857) gen polimorfizmlerine bakıldığında bu 166 kişiden 63'inin yabancı tip genotipe (1/1 aleli) sahip olduğu görülmüştür. Bu da hasta grubu popülasyonunun % 37,9'una tekabül etmektedir. Heterozigot genotipe (1/2 aleli) sahip bireylerin sayısı 91, homozigot mutant genotipe (2/2 aleli) sahip bireylerin sayısı ise 12 olarak bulunmuştur. Bunlar da sırasıyla hasta grubu popülasyonunun % 54,8'ini ve % 7,3'ünü oluşturmaktadır. Hasta grubuna ait TNF- α (-857) gen polimorfizm sonuçları Çizelge 3.5'te gösterilmiştir.

3.3.1. TNF- α (-863) Genotip Bulguları

49 kişiden oluşan kontrol grubunda TNF- α (-863) gen polimorfizmlerine bakıldığında bu 49 kişiden 31'sinin yabancı tip genotipe (1/1 aleli) sahip olduğu görülmüştür. Bu da kontrol grubu popülasyonunun % 63,2'sine tekabül etmektedir. Heterozigot genotipe (1/2 aleli) sahip bireylerin sayısı 14, homozigot mutant genotipe (2/2 aleli) sahip bireylerin sayısı ise 4 olarak bulunmuştur. Bunlar da sırasıyla kontrol grubu popülasyonunun % 28,6'sını ve % 8,2'sini oluşturmaktadır. Kontrol grubuna ait TNF- α (-863) gen polimorfizm sonuçları Çizelge 3.4'te gösterilmiştir.

166 kişiden oluşan hasta grubunda TNF- α (-863) gen polimorfizmlerine bakıldığında bu 166 kişiden 101'inin yabancı tip genotipe (1/1 aleli) sahip olduğu görülmüştür. Bu da hasta grubu popülasyonunun % 60,8'ine tekabül etmektedir. Heterozigot genotipe (1/2 aleli) sahip bireylerin sayısı 47, homozigot mutant genotipe (2/2 aleli) sahip bireylerin sayısı ise 18 olarak bulunmuştur. Bunlar da sırasıyla hasta grubu popülasyonunun % 28,3'ünü ve % 10,9'unu oluşturmaktadır. Hasta grubuna ait TNF- α (-863) gen polimorfizm sonuçları Çizelge 3.5'te gösterilmiştir.

3.3.1. TNF- α (-1031) Genotip Bulguları

49 kişiden oluşan kontrol grubunda TNF- α (-1031) gen polimorfizmlerine bakıldığında bu 49 kişiden 35'inin yabancı tip genotipe (1/1 aleli) sahip olduğu görülmüştür. Bu da kontrol grubu popülasyonunun % 71,4'üne tekabül etmektedir. Heterozigot genotipe (1/2 aleli) sahip bireylerin sayısı 11, homozigot mutant genotipe (2/2 aleli) sahip bireylerin sayısı ise 3 olarak bulunmuştur. Bunlar da sırasıyla kontrol grubu popülasyonunun % 22,4'ünü ve % 6,2'sini oluşturmaktadır. Kontrol grubuna ait TNF- α (-1031) gen polimorfizm sonuçları Çizelge 3.4'te gösterilmiştir.

166 kişiden oluşan hasta grubunda TNF- α (-1031) gen polimorfizmlerine bakıldığında bu 166 kişiden 96'sının yabancı tip genotipe (1/1 aleli) sahip olduğu görülmüştür. Bu da hasta grubu popülasyonunun % 57,8'ine tekabül etmektedir. Heterozigot genotipe (1/2 aleli) sahip bireylerin sayısı 56, homozigot mutant genotipe (2/2 aleli) sahip bireylerin sayısı ise 14 olarak bulunmuştur. Bunlar da sırasıyla hasta grubu popülasyonunun % 33,7'sini ve % 8,5'ini oluşturmaktadır. Hasta grubuna ait TNF- α (-1031) gen polimorfizm sonuçları Çizelge 3.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 3.4. Kontrol Grubuna Ait Genotipler

Numara	İsim - Soyisim	(-238)	(-857)	(-863)	(-1031)
1	L. Ö.	1/1	1/2	1/2	1/1
2	G. K.	1/2	2/2	1/2	1/1
3	N. S.	1/1	1/2	1/2	1/2
4	E. C.	1/1	1/2	1/1	1/1
5	S. A.	1/1	1/2	1/1	1/1
6	D. A.	1/1	1/1	1/1	1/1
7	H. Ü.	1/2	1/1	1/1	1/1
8	S. K.	1/1	1/1	2/2	1/1
9	N. K.	1/1	1/1	1/1	1/2
10	F. Y.	1/1	1/2	1/1	1/2
11	S. B.	1/1	1/1	1/1	1/1
12	N. G.	1/1	1/1	1/1	1/1

Çizelge 3.4. Kontrol Grubuna Ait Genotipler (Devam)

Numara	İsim - Soyisim	(-238)	(-857)	(-863)	(-1031)
13	K. G.	1/1	1/2	1/1	2/2
14	S. A.	1/1	1/2	1/1	1/1
15	E. O.	1/2	1/2	1/1	1/1
16	T. G.	1/1	1/1	1/2	1/1
17	T. T.	2/2	1/1	1/2	1/1
18	M. N. V.	1/1	1/2	1/1	2/2
19	E. C.	1/1	1/2	1/1	1/2
20	S. Y.	1/1	1/1	1/1	1/1
21	H. G.	1/2	1/1	1/1	1/1
22	S. T.	1/1	1/1	1/1	1/1
23	C. Y.	1/1	1/1	1/1	1/2
24	S. T.	1/1	1/1	1/1	1/2
25	B. A.	1/2	1/1	2/2	1/1
26	A. Ç.	1/1	1/1	1/2	1/2
27	M. Ö.	2/2	1/1	1/2	1/1
28	H. E.	1/1	1/1	1/1	1/1
29	A. C.	1/1	1/2	1/1	2/2
30	M. Ö.	1/1	-	1/1	1/1
31	E. A.	1/1	1/1	1/2	1/1
32	N. Ö.	1/2	1/1	1/1	1/2
33	İ. K.	1/1	1/2	2/2	1/1
34	Z. D.	1/1	1/1	1/2	1/1
35	U. S.	1/1	1/1	1/2	1/1
36	N. Ö.	1/2	1/2	2/2	1/1
37	Y. A.	1/1	1/1	1/2	1/2
38	S. B.	1/2	1/1	1/1	1/1
39	H. İ. O.	1/1	1/1	1/1	1/1
40	Ö. C.	1/2	1/1	1/1	1/1
41	E. A.	1/1	1/2	1/1	1/1
42	H. Ç.	1/1	1/1	1/2	1/1
43	S. G.	1/1	1/1	1/1	1/2
44	H. B.	1/1	1/1	1/2	1/1
45	S. Z. B.	1/1	1/1	1/1	1/1
46	M. B.	1/1	2/2	1/1	1/2
47	M. K.	1/2	1/1	1/2	1/1
48	N. A.	1/1	1/1	1/1	1/1
49	Ş. F.	1/1	1/1	1/1	1/1

Çizelge 3.5. Hasta Grubuna Ait Genotipler

Numara	İsim - Soyisim	(-238)	(-857)	(-863)	(-1031)
1	A.O.	1/1	2/2	1/1	1/2
2	G.D.	1/1	1/2	1/1	1/1
3	S.K.	1/1	1/1	1/2	1/2
4	H.A.	1/2	1/2	1/1	1/1
5	M.U.	1/2	1/2	1/1	1/1
6	L.A.	1/1	1/2	1/1	2/2
7	H.C.	1/1	1/2	1/1	1/1
8	M.C.	1/2	1/2	2/2	1/1
9	M.G.	1/2	1/2	2/2	1/2
10	H.D.	1/1	2/2	2/2	1/1
11	S.K.	1/1	1/1	1/1	1/1
12	K.D.	1/1	1/2	1/1	1/1
13	B.V.	1/2	1/1	2/2	1/2
14	B.K.	1/1	1/2	1/1	1/1
15	N.M.	1/2	1/2	1/1	1/1
16	T.T.	1/1	1/1	2/2	2/2
17	Ö.Y.	1/2	1/2	1/1	1/2
18	M.G.	1/1	1/2	1/2	2/2
19	Y.T.	1/1	1/2	1/2	1/1
20	H.B.	1/1	1/1	1/2	1/1
21	H.A.	1/2	1/2	1/2	1/1
22	S.K.	1/2	1/1	1/2	2/2
23	D.A.	1/1	1/1	1/2	1/1
24	M.U.	1/1	1/2	1/1	1/1
25	F.K.	1/1	1/1	1/1	1/2
26	F.S.	1/2	2/2	1/1	1/2
27	S.Y.	1/2	1/1	1/2	1/2
28	M.A.	1/1	1/1	1/1	1/2
29	V.D.	1/2	2/2	1/1	1/1
30	F.T.	1/1	1/2	1/2	1/1
31	H.K.	1/1	1/2	1/1	1/1
32	F.C.	1/2	1/1	1/1	1/2
33	S.K.	1/2	1/1	2/2	1/1
34	A.O.	1/1	1/2	1/1	1/2
35	M.P.	1/1	1/2	1/1	1/1
36	C.T.	1/1	1/2	1/2	1/1
37	N.D.	2/2	1/2	1/1	1/1
38	H.Y.	1/1	1/2	1/1	2/2
39	A.T.	1/1	1/1	1/1	1/1

Çizelge 3.5. Hasta Grubuna Ait Genotipler (Devam)

Numara	İsim - Soyisim	(-238)	(-857)	(-863)	(-1031)
40	N.E.	1/1	1/1	2/2	1/1
41	M.K.	1/1	1/1	1/1	1/1
42	M.K.	2/2	1/1	2/2	1/2
43	S.C.	1/1	1/1	1/1	1/2
44	R.D.	1/1	1/2	1/1	1/1
45	S.V.	2/2	1/1	1/2	1/2
46	S.U.	1/1	1/1	1/2	1/1
47	N.P.	1/1	1/2	1/2	1/2
48	S.D.	1/2	1/1	1/1	1/1
49	B.V.	2/2	1/1	1/1	1/1
50	S.S.	1/1	1/1	1/1	1/1
51	S.K.	1/1	1/1	2/2	1/2
52	M.A.	1/2	2/2	1/1	1/2
53	A.A.	1/1	1/2	1/1	1/1
54	S.Ç.	1/2	1/1	1/1	1/1
55	F.K.	1/1	1/2	1/2	1/2
56	M.B.	1/2	1/1	1/1	2/2
57	B.A.	1/1	1/1	1/1	1/1
58	F.K.	2/2	2/2	1/2	1/1
59	H.S.	1/1	1/2	1/1	1/1
60	İ.A.	1/2	1/2	1/1	1/2
61	B.N.	1/2	1/2	1/1	1/1
62	F.Ü.	1/1	1/2	1/1	1/1
63	M.K.	1/2	1/2	1/2	1/2
64	M.A.D.	1/1	1/2	1/2	1/1
65	H.H.A.	1/1	1/1	1/1	1/1
66	İ.S.	1/2	1/2	1/2	1/2
67	G.K.	1/2	1/2	1/1	1/1
68	A.M.	2/2	1/2	1/1	1/1
69	M.D.	1/1	1/2	1/1	1/1
70	P.P.	1/1	1/2	1/1	1/2
71	S.A.	1/1	1/2	1/2	1/2
72	S.Y.	1/1	1/1	1/2	1/1
73	H.B.	1/1	1/1	1/1	2/2
74	A.O.	1/2	1/1	1/1	2/2
75	H.R.	1/1	1/2	1/1	1/1
76	K.G.	2/2	1/1	1/1	1/1
77	A.K.	1/2	1/1	1/1	1/2
78	İ.A.	1/1	1/1	1/1	1/2

Çizelge 3.5. Hasta Grubuna Ait Genotipler (Devam)

Numara	İsim - Soyisim	(-238)	(-857)	(-863)	(-1031)
79	N.M.	1/1	1/2	1/1	1/1
80	S.S.	1/1	1/2	2/2	1/1
81	E.D.	1/1	1/1	1/1	1/2
82	E.G.	1/1	1/1	1/1	1/1
83	F.G.	1/1	1/1	1/1	1/1
84	H.G.	1/1	1/2	1/2	1/2
85	N.A.	1/2	1/2	1/2	1/1
86	N.T.	1/1	1/2	1/1	1/1
87	M.A.	1/2	1/2	1/1	1/1
88	S.O.	1/2	1/2	1/1	1/2
89	G.E.	1/1	2/2	1/1	1/2
90	H.A.	1/1	1/2	1/1	1/2
91	H.Ç.	1/1	1/1	1/1	1/1
92	N.Ç.	1/1	1/1	1/1	1/1
93	O.C.	1/1	1/2	1/2	1/1
94	A.D.	1/2	1/1	1/2	1/1
95	E.C.	1/1	1/1	1/1	1/2
96	M.A.	1/1	1/1	1/2	1/2
97	D.S.	1/2	1/1	1/1	1/1
98	C.K.	2/2	1/2	1/2	1/2
99	H.S.	2/2	1/2	1/2	1/1
100	E.K.	1/1	1/2	1/1	1/1
101	N.Y.	1/2	2/2	1/1	1/2
102	E.K.	1/2	2/2	1/1	1/2
103	K.S.	1/1	1/2	1/1	1/1
104	K.H.	1/1	1/1	1/2	1/2
105	Y.Ö.	1/1	1/1	1/1	1/2
106	E.K.	1/1	1/1	1/2	1/1
107	F.T.	1/1	1/2	2/2	1/1
108	N.T.	1/2	1/2	2/2	1/2
109	M.U.	1/1	1/2	2/2	1/1
110	İ.C.	1/1	2/2	1/1	1/1
111	H.Ç.	1/1	2/2	1/2	1/1
112	M.B.	2/2	1/2	1/1	1/1
113	H.H.	2/2	1/2	1/1	1/1
114	H.Ö.	1/1	1/1	1/1	1/1
115	M.G.	1/1	1/1	1/2	1/2
116	M.A.	1/2	1/2	1/1	1/1
117	A.S.	1/1	1/2	2/2	1/1

Çizelge 3.5. Hasta Grubuna Ait Genotipler (Devam)

Numara	İsim - Soyisim	(-238)	(-857)	(-863)	(-1031)
118	İ.H.Y.	1/2	1/2	2/2	1/1
119	S.T.	1/1	1/2	1/1	1/2
120	Y.T.	1/1	1/2	1/1	1/1
121	F.K.	1/1	1/2	1/1	1/1
122	N.A.	2/2	1/2	1/1	2/2
123	M.K.	1/1	1/2	1/1	1/2
124	M.K.	1/2	1/1	1/1	1/1
125	Ş.H.	1/1	1/2	1/2	1/2
126	S.U.	1/1	1/1	1/1	1/1
127	G.M.	1/1	1/1	1/2	1/1
128	H.O.	2/2	1/2	1/2	1/1
129	H.G.	1/1	1/1	1/2	2/2
130	M.K.	1/2	1/1	1/1	1/1
131	L.D.	1/1	1/1	2/2	1/1
132	M.K.	1/1	1/2	1/1	2/2
133	Ş.Y.	2/2	1/1	1/2	1/1
134	O.S.	1/2	1/2	1/2	1/2
135	A.A.	1/1	1/2	1/1	1/1
136	H.S.	1/1	1/2	1/1	1/2
137	M.T.	1/1	1/2	1/1	1/2
138	T.S.	1/1	1/2	1/1	1/2
139	T.K.	1/1	1/2	1/1	1/2
140	K.C.	1/2	1/2	1/1	1/1
141	F.M.	1/1	1/2	1/1	1/1
142	Ş.D.	1/1	2/2	2/2	1/1
143	N.K.	1/1	1/1	1/1	1/2
144	E.S.	1/1	1/1	1/1	1/1
145	Z.K.	1/2	1/1	1/2	1/1
146	R.Y.	1/2	1/2	1/2	1/1
147	D.T.	1/1	1/2	1/1	2/2
148	R.D.	2/2	1/2	1/1	1/2
149	S.S.	1/1	1/2	1/2	1/2
150	A.S.	1/2	1/2	1/2	1/1
151	H.B.T.	2/2	1/2	1/1	1/1
152	H.Ç.	1/1	1/2	1/2	1/1
153	R.A.T.	1/2	1/2	1/2	1/2
154	H.D.	1/1	1/2	1/1	1/1
155	Z.Ç.	1/1	1/2	2/2	1/2
156	E.A.	2/2	1/1	1/1	1/1

Çizelge 3.5. Hasta Grubuna Ait Genotipler (Devam)

Numara	İsim - Soyisim	(-238)	(-857)	(-863)	(-1031)
157	T.K.	1/2	1/1	1/2	1/1
158	F.K.	1/2	1/1	1/2	1/2
159	E.O.	1/2	1/2	1/2	1/1
160	D.S.M.	1/2	1/2	1/1	2/2
161	A.Y.	2/2	1/1	1/1	2/2
162	B.A.	1/2	1/1	1/1	1/2
163	G.K.	1/1	1/1	1/1	1/2
164	D.K.	1/2	1/2	1/2	1/1
165	F.K.	1/2	1/2	1/1	1/1
166	M.Ç.	1/1	1/2	1/1	1/2

TNF- α 'nın bu 4 farklı gen bölgesinde gözlenen genotipik bulgulardan hareketle gözlenen polimorfizmlere bağlı olarak alel frekansları da hesaplanmıştır (Çizelge 3.6).

Çizelge 3.6. TNF- α Bölgelerine Göre Hesaplanan Alel Frekansları

Alel	Alel Frekansı			
	TNF- α (-238)	TNF- α (-857)	TNF- α (-863)	TNF- α (-1031)
Kontrol Grubu				
1/1	0,86	0,81	0,78	0,83
2/2	0,14	0,19	0,22	0,27
Hasta Grubu				
1/1	0,74	0,66	0,75	0,75
2/2	0,26	0,33	0,15	0,15

Çizelge 3.7. Genotip Dağılım Sayıları ve Hesaplanan OR/CI Değerleri

Bölge	1/1 Aleli (%)	1/2 veya 2/2 Aleli (%)	Toplam	OR * (CI)
TNF- α -(238) Kontrol Hasta	37 (75,5) 98 (59)	12 (24,5) 68 (41)	49 166	1,00 2,14 (1,0405 - 4,3991)*
TNF- α -(857) Kontrol Hasta	32 (66,6) 63 (37,9)	16 (33,6) 103 (62,1)	48 166	1,00 3,27 (1,6614 - 6,4353)**
TNF- α -(863) Kontrol Hasta	31 (63,2) 101 (60,8)	18 (36,8) 65 (39,2)	49 166	1,00 1,11 (0,5734 - 2,1426)
TNF- α -(1031) Kontrol Hasta	35 (71,4) 96 (57,8)	14 (28,6) 70 (42,2)	49 166	1,00 1,82 (1,0024 - 3,6421)*

* p <0,005

** p <0,001

Bunun dışında TNF- α bölgelerine göre gözlenen polimorfizm sayıları üzerinden her bir bölge için Odds Ratio (OR) ve Confidence Intervals (CI) değerleri de hesaplanmıştır. Çizelge 3.7’de yabancı tip, heterozigot tip ve homozigot mutant tip birey sayıları ve hesaplanan OR ve CI değerleri gösterilmiştir.

Çizelge 3.7’de görüldüğü gibi hasta grubu ve kontrol grubu arasındaki TNF- α gen polimorfizmlerinin hastalık gelişimi üzerine etkisi incelendiğinde 3 gen bölgesi için istatistiksel anlamlılık bulunmuştur. TNF- α -(238), TNF- α -(857) ve TNF- α -(1031) bölgelerinde anlamlı bir fark bulunmuşken TNF- α -(238) anlamlı bir fark gözlenememiştir. Anlamlı fark gözlenen sitokin polimorfizmlerinde en çok etki ise TNF- α -(857) bölgesinde gözlenmiştir. Bu

bölgede meydana gelen sitokin polimorfizmlerinin bireylerde Tip-2 diyabet gelişmesi açısından hastalık riskini 3.27 kat arttırdığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde TNF- α -(238) bölgesinde gözlenen polimorfizmlerin Tip-2 diyabet gelişmesi riskini 2,14 kat arttırdığı gözlenmiştir. TNF- α -(1031) bölgesinde gözlenen polimorfizmlerin hastalık gelişimini 1,82 kat arttırdığı hesaplanmıştır.



4. TARTIŞMA

Günümüzde, Tip-2 diyabet prevalansı her geçen gün artmakta ve buna bağlı olarak da toplumun büyük bir kısmı bu hastalıktan etkilenmektedir. Türk toplumunda da her geçen gün diyabetli hasta sayısı artmakta olup ülkemiz için önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmektedir (THSK, 2014). Kontrol altına alınmadığında çok ciddi komplikasyonlara ve hatta sakat kalmalara neden olabilen diyabetin patofizyolojisinin iyi bir şekilde anlaşılması diyabet ile mücadeleye katkıda bulunarak olup daha sağlıklı bir toplumun gelişimine yardım edecektir.

Bilindiği üzere diyabetin patofizyolojisindeki birçok farklı mekanizma yer alabilmektedir. Bu önemli mekanizmalardan birisi inflamasyon yanıtıdır. Oksidatif stres, reaktif oksijen türleri ve buna bağlı olarak da sitokin salgılanmasında meydana gelen artış vücudumuzdaki inflamasyon yanıtının temel mekanizmasıdır. Bu inflamasyon yanıtı aslında önemli bir savunma mekanizması olsa da inflamasyonun kronikleşmesi daha farklı problemleri beraberinde getirmektedir. Enflamasyonun kronikleşmesi pankreastaki insülin salgılayan beta hücrelerine kalıcı olarak zarar vermekte bu da insülin salgısını etkilemektedir. Enflamasyon yanıtının kronikleşmesi sadece pankreasa zarar vermemekte vücutta glukozu enerji olarak kullanan diğer vücut hücrelerinde de insülin alınımına etki etmektedir. Bu etki zaman içerisinde insülin direncine sebep olarak farklı bir yolak üzerinden de diyabet gelişimini tetiklemektedir.

Kronik inflamasyonun oluşumunda başlıca temel iki faktör vardır diyebiliriz. Bunlar; çevresel faktörler ve kişinin kendi genetik özellikleridir. Genetik özellikler kişiden kişiye değişmektedir ve bu değişimin en önemli nedenlerinden birisi de kişide meydana gelen varyasyonlardır. Bu varyasyonlardan en önemlilerinden birisi SNP'ler olup bu varyasyonlara bağlı olarak bireylerde farklı alel grupları

oluşabilmektedir. Farklı alel grupları bireylerin polimorfik olmasına neden olarak aynı çevresel faktörlere farklı biyolojik cevaplar verilmesine sebep olur. Sitokin polimorfizmi açısından düşünecek olursak bu polimorfizmler bizim verdiğimiz enflamasyon yanıtta önemli rol oynayabilmektedir. Yabani veya heterozigot veya homozigot mutant olma özelliklerimize göre vücudumuzda farklı miktarlarda sitokin ekspresyonları gerçekleşecek ve buna bağlı olarak bazı hastalıklara karşı yatkınlığımız değişecektir. Kronik hastalıklar başta olmak üzere birçok hastalığın, farklı bireylerde farklı bir şekilde seyir etmesinin başlıca nedeni de budur.

Yapılan birçok çalışma enflamasyon sitokinlerde meydana gelen polimorfizmlerin hastalık gelişiminde rol oynadığını göstermiştir (Bidwell ve ark., 1999; Gallagher ve ark., 2003; Haukim ve ark., 2002; Hollegaard ve ark., 2006). Artmış sitokin salınımının Tip-2 diyabetle ilişkili olduğuna dair kanıtlar bulunmaktadır (Mirza ve ark., 2012). TNF- α 'nın serum seviyelerinin yükselmesi insülin direnciyle ilişkilendirilmiştir (Mishima ve ark., 2000).

Bu bilgilerden hareketle Türk popülasyonunun sitokin gen bölgelerinde meydana gelen polimorfizmlerin Tip-2 diyabet gelişimini nasıl etkilediğinin araştırılarak ortaya konması amaçlanarak yapılan bu çalışma, diyabetin hali hazırda Türkiye'deki en önemli sağlık problemlerinden biri olması nedeniyle önemlidir. Bireylerde gözlenen polimorfizmlerin etnik özelliklere göre büyük değişiklikler gösterebildiği dikkate alındığında çalışmanın önemi daha da artmaktadır. Daha önce konuyla ilgili yapılmış benzer bazı çalışmalar bulunsa da en önemli sitokinlerden birisi olan TNF- α 'nın (-238), (-857), (-863) ve (-1031) gen lokuslarında görülen polimorfizmlerin Tip-2 diyabet ile olan ilişkisini ortaya koyan Türk popülasyonu üzerinde yapılan bir çalışmaya rastlanamamıştır. Bu nedenle sözkonusu tez çalışmasından elde edilen genotipik sonuçlar, yapılan diğer çalışmalar ile birlikte değerlendirildiğinde TNF- α sitokininin diyabet üzerindeki etkilerinin aydınlatılması açısından önemlidir.

Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre TNF- α 'nın (-238) bölgesinde meydana gelen polimorfizmin hastalığın gelişmesine etki ettiği ve hastalık gelişme riskini 2,14 kat arttırdığı tespit edilmiştir. Shiau ve arkadaşları tarafından Tayvanlı hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada TNF- α 'nın (-238) gen bölgesinde görülen polimorfizmin hastalık gelişimine etki etmediği bulunmuştur (Shiau ve ark., 2003). Jamil ve arkadaşları tarafından 2017 yılında yayınlanan bir çalışmada da benzer şekilde Arap popülasyonu üzerinde çalışma yapılmış; ancak ilgili gen bölgesi ve diyabet gelişimi arasında istatistiksel olarak önemli bir ilişki bulunamamıştır (Jamil ve ark., 2017). Huey-HerngSheu ve arkadaşları tarafından Çinli popülasyon üzerinde yapılan bir çalışmada da TNF- α 'nın (-238) gen bölgesinde polimorfizmin hastalık gelişimine etki etmediği gösterilmiştir (Huey-HerngSheu ve ark., 2001). Feng ve arkadaşları tarafından yapılan bir meta analizde Ocak 2009'a kadar yayınlanan çalışmalar incelenmiş ve Avrupa ve Asya popülasyonlarında TNF- α 'nın (-238) polimorfizminin Tip-2 diyabet gelişimine etki etmediği bulunmuştur (Feng, 2009).

Öte yandan Day ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmaya göre popülasyonda (-238) bölgesinde meydana gelen polimorfizmin insülin direnci ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (Day ve ark., 1998). Bu çerçevede elde edilen sonucun Türk popülasyonunda da pozitif çıkması etnik farklılıkların önemini göstermektedir.

TNF- α 'nın bir başka üzerinde sık durulan bölgelerinden birisi de (-857) bölgesidir. Yaptığımız çalışmaya göre bu bölgede meydana gelen polimorfizm Tip-2 diyabet gelişimini Türk popülasyonunda yaklaşık 3,27 kat arttırmaktadır.

Literatür incelemesi yapıldığında çalışmaların çoğunun bu bölgenin diğer hastalıklarla veya Tip-1 diyabetle olan ilişkisine odaklandığı fark edilmiştir. Tip-2 diyabet açısından incelenecek olursa Japon popülasyonu üzerinde 2000 yılında

yapılan bir çalışmada da benzer sonuç bulunmuştur. Bu çalışmaya göre bireylerin (-857) bölgesinde polimorfik olması Tip-2 diyabet gelişimine genetik yatkınlığı arttırmaktadır (Kamizono ve ark., 2000). Aynı zamanda bu bölgenin ağır akut pankreatit gelişmesinde rol oynadığı da yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (Hollegaard ve Bidwell, 2006). Bunun dışında bu bölgede meydana gelen polimorfizmlerin direkt diyabet gelişimi ile ilişki içerisinde olmayabileceği ancak bu bölge polimorfizminin obezite gelişmesinde önemli bir faktör olabileceği ifade edilmiştir (Kamizono ve ark., 2000; Haukim ve ark., 2002). Tip-2 diyabet gelişmesinde en önemli risk gruplarından birinin ise obez bireyler olduğu düşünüldüğünde (-857) polimorfizmi ve Tip-2 diyabet arasında doğrudan olmasa da dolaylı olarak bir ilişki olabileceği düşünülmektedir. Buna ek olarak TNF- α 'nın (-857) gen bölgesinde görülen polimorfizmin yüksek LDL kolesterol seviyeleri de karotis plak oluşumu ile ilişkili olduğu da gösterilmiştir (Yamashina ve ark., 2007).

Yaptığımız çalışmada TNF- α 'nın (-863) gen bölgesinde meydana gelen polimorfizmin hastalık gelişimi ile ilişkisi bulunamamıştır. İsveçliler üzerinde yapılan bir araştırmaya göre bireylerin (-863) bölgesinde polimorfik olması, kan serumunda azalmış TNF- α bulunmasına sebep olmaktadır (Skoog ve ark., 1999). Artmış TNF- α konsantrasyonunun hastalık gelişimiyle ilişkilendirildiği düşünüldüğünde bu sonuç bizim çalışmamızla paralellik taşımaktadır. Bunun dışında Yamashina ve arkadaşları tarafından yapılan ve (-857) bölgesinin yüksek LDL değerleri ile ilişkili bulunduğu çalışmada (-863) bölgesinin de ilişkisine bakılmıştır. Bu çalışmada da (-863) bölgesinin artan kolesterol ve karotis plak oluşumuyla ilişkili olmadığı bulunmuştur. Bu bağlamda bölgenin direkt veya obezite nedeniyle doğrudan bir şekilde Tip-2 diyabetle ilişkisinin olmadığı düşünülmektedir. Başka çalışmalara göre de (-863) bölgesinde meydana gelen polimorfizmler azalmış TNF- α sekresyonuna neden olmuştur (Costa ve ark., 2003; Gupta ve ark., 2015). Bu durumda aslında (-863) bölgesinde polimorfik olmanın koruyucu bir özellikte olabileceği ifade edilmiştir.

Hamaguchi ve Kamizono'nun yaptığı çalışmalar da bu durumu destekler niteliktedir. Yapılan bu iki çalışmada da birinde Tip-1 diyabet ile (-863) gen polimorfizmi diğerinde ise Tip-2 diyabet ile (-863) arasında bir ilişkiye rastlanamamıştır (Hamaguchi ve ark., 2000; Kamizono ve ark., 2000). Öte yandan Hollegaard ve Bidwell'in yayınladığı online veri tabanı ise bu polimorfizmin Tip-2 diyabet ile ilişkili olduğu iddia edilmektedir (Hollegaard ve Bidwell, 2006).

Yaptığımız çalışmada TNF- α 'nın (-1031) gen bölgesinde meydana gelen polimorfizmin hastalık gelişimi ile ilişkili olduğu ve bu bölgenin polimorfik olmasının hastalık gelişimi riskini 1,82 kat arttırdığı tespit edilmiştir. Bu bölgenin Tip-2 diyabet ile ilişkisini gösteren çalışmalara pek rastlanmamıştır. Bölgenin Tip-1 diyabet ile olan ilişkisi üzerinde yapılmış çalışmalardan birisi Shbaklo ve arkadaşları tarafından 2003 yılında yayınlanmıştır. Araştırmaya göre bölgenin Tip-1 diyabet gelişimine etkisinin bulunmadığı belirtilmektedir (Shbaklo ve ark., 2003). Bunun dışında yine Hamaguchi ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada da (-1031) gen polimorfizmi ve Tip-1 diyabet arasında herhangi bir ilişkiye rastlanamamıştır. Öte yandan Kuzey Hintliler üzerinde yapılan bir çalışmada bu bölgede meydana gelen polimorfizmin diyabetik nefropati gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Gupta ve ark., 2015). Öte yandan (-1031) gen bölgesinde görülen polimorfizm birçok farklı hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Başlıca ilişkilendirilen hastalıklar arasında Crohn hastalığı, Parkinson hastalığı, Grave hastalığı, polikistik over sendromu ve endometriosis bulunmaktadır (Kamizono ve ark., 2000; Kawasaki ve ark., 2000; Lee ve ark., 2008; Nishimura ve ark., 2001; Yun ve ark., 2011). Elde edilen bu veriler doğrultusunda bu bölgenin de Tip-2 diyabetle ilişkili olabileceği, bu konuda yeterince çalışma yapılmadığı ve daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu düşünülmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tip-2 diyabet vücudumuzda üretilen insülinin hedef hücreler tarafından etkin bir şekilde kullanılmaması sonucu oluşan kronik bir rahatsızlıktır. Sağlıklı olmayan diyet alışkanlıkları ve yetersiz fiziksel aktivite en önemli diyabet riskleri arasında yer almaktadır. Tip-2 diyabetin gelişmesinde en önemli fizyolojik etkenler obezite, stres, enfeksiyon ve sigaraya bağlı olarak meydana gelen ve bağlı olarak NF-κB aktivasyonudur. Bu aktivasyon sonucunda enflamatuar sitokinlerin salınımı tetiklenir ve insülin sinyallerinde problemler ortaya çıkmaktadır. Bunun dışında kanda glukoz ve serbest yağ asiti miktarının artmasına bağlı olarak da reaktif oksijen türevleri artmaya başlamaktadır. Bu türevler de enflamatuar sitokinlerinin salınımının uyarılmasında önemli role sahiptirler. Bunu takiben öncelikle insülin sinyallenmesi etkilenir ve insanlarda insülin rezistansı görülmeye başlanır. Bu enflamasyon durumu kronikleştiği ve ilerlediği takdirde insanlarda beta hücrelerinde harabiyet meydana gelir ve Tip-2 diyabet tablosu gözlenmeye başlanır.

Bu faktörler diyabetin gelişmesinde en önemli faktörler olsa da tüm bu olaylar olurken vücudumuzun verdiği tepkinin 'şiddetinin' de büyük bir önemi bulunmaktadır. Bireyler arasında yukarıda bahsedilen mekanizmalar işlerken genetik yapılarına bağlı olarak sitokin salınımında farklılıklar gözlenir.

Bu mekanizmaların işleminde birçok sitokin yer almaktadır ve bu sitokinler birbirlerini pozitif veya negatif anlamda etkileyebilmektedirler. Bu sitokinlerin en önemlilerinden birisi de TNF-α'dır. TNF-α birçok hastalığın gelişmesinde koruyucu ve hastalık gelişimini hızlandırıcı etkiye sahiptir. Yapılan çalışmalarda TNF-α'nın (-238), (-857), (-863) ve (-1031) gen lokuslarında meydana gelen polimorfizmlerinin Tip-2 diyabet gelişimini nasıl etkilediği ile ilgili tartışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmaların sonuçları toplumlardan toplumlara göre değişmektedir. Bu sebeple söz

konusu polimorfizmlerin hastalık gelişimini nasıl etkilediğinin Türk popülasyonunda da araştırılması büyük önem taşımaktadır.

Çalışmamızda TNF- α 'nın (-238), (-857), (-863) ve (-1031) gen lokuslarında meydana gelen polimorfizmlerin hastalık gelişimindeki etkisini görmek amacıyla 169 hasta ve 50 sağlıklı bireyden elde edilen numuneler üzerinde analizler yapılmıştır. Buna ek olarak kontrol ve hasta bireylerin demografik özellikleri, biyokimya laboratuvar sonuçları da incelenerek bu parametrelerin iki grup arasında nasıl değişkenlik gösterdiğinin de analizi yapılmaya çalışılmıştır.

Sonuç olarak TNF- α 'nın (-238), (-857) ve (-1031) bölgelerinde meydana gelen polimorfizmlerin Türk popülasyonunda hastalık gelişimini arttırdığı bulunmuştur. Farklı etnik gruplarda yapılacak olan bu ve benzeri çalışmalar sonucunda ilerleyen zamanlarda genetik veri tabanları oluşturulacak bu da bize hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde bu genetik varyasyonların etkilerinin daha iyi aydınlatılmasına olanak sağlayacaktır.

ÖZET

TNF- α Enflamatuvar Sitokin Gen Polimorfizminin Diyabet Hastalığı Gelişimi Üzerine Etkisinin Araştırılması

Diabetes mellitus (DM) periferel sistemde insülin etkisizliği ya da insülin eksikliği nedeniyle oluşabilen kronik hiperglisemi ile karakterize metabolik bir hastalıktır ve karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki sorunlara neden olmaktadır. Vücutta enflamasyona neden olan TNF- α enflamatuvar sitokinlerinde görülen genetik polimorfizmlerin Tip-2 diyabet gelişimini etkileyip etkilemediği ile ilgili farklı çalışmalar vardır. Bu nedenle bu tez çalışmasında TNF- α geninde görülen bu 4 genetik varyasyonun incelenmesi hedeflenmiştir. Bu bölgeler, TNF- α (-238), (-857), TNF- α (-863), TNF- α (-1031) bölgeleridir.

Kontrol grubu olarak 50 sağlıklı kişi ve Tip-2 diyabetli 169 kişi hasta grubu olarak seçilmiştir. Elde edilen numunelere PCR ve RFLP protokolleri uygulanmış ve elde edilen sonuçlar SPSS kullanılarak istatistiksel analiz yapılmıştır.

Sonuç olarak TNF- α (-238) (-857) ve (-1031) gen polimorfizmleri Tip-2 diyabet gelişimine artmış risk ile ilişkili olarak bulunmuştur. TNF- α (-857) polimorfik geni diyabet gelişimini yaklaşık 3 kat arttırırken, risk TNF-a (-238) bölgenin polimorfizmi 2 kat ve TNF- α (-1031) bölgenin polimorfizmi riski 1.8 kat arttırmaktadır. TNF- α (-863) polimorfizminde kontrol grubu ile hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Anahtar Kelimeler: enflamatuvar sitokinler, TNF- α , sitokin polimorfizmi, Tip-2 diyabet

SUMMARY

Investigation Of The Effect Of TNF- α Inflammatory Cytokine Gene Polymorphisms On The Development Of Type 2 Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus (DM) is a chronic hyperglycemic and metabolic illness which can occur due to lack of insulin in the body or ineffectiveness of insulin in the peripheral system and it causes problems in the metabolism of carbohydrates, fat and proteins. In the recent studies, there has been a controversy whether genetic polymorphism of TNF- α inflammatory cytokines which can cause inflammation in the body affects Type 2 diabetes' or not. That's why in this thesis study, we aimed to analyze 4 genetic variations in TNF- α gene. These genes are TNF- α (-238), (-857), TNF- α (-863), TNF- α (-1031).

50 healthy people are selected as control group and 169 people who has Type-2 diabetes are selected as patient group. PCR and RFLP protocols were applied to samples and statistical analysis was made by using SPSS.

As a results TNF- α (-238), (-857) and TNF- α (-1031) gene polymorphisms found associated with higher risk on the development of Type-2 diabetes. While the polymorphism on TNF- α (-857) gene increased the risk almost 3 times, the risk associated with TNF- α (-238) was almost 2 times and TNF- α (-1031) gene was 1,8. There was no statistical significance between control and patient groups on TNF- α (-863) polymorphism.

Keywords: inflammatory cytokines, TNF-alpha, cytokine polymorphism, Type-2 diabetes

KAYNAKLAR

- ADA (2014). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, **37(Supplement 1)**: 81-90
- ALBERTI KGMM, ZIMMET PZ (1998). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO Consultation. *Diabetic Medicine* **15(7)**: 539–553
- ATEŞ I, SUZEN HS, YUCESoy B, TEKIN IO, KARAKAYA A (2008). Association of cytokine gene polymorphisms in CWP and its severity in Turkish coal workers. *American Journal of Industrial Medicine*, **51(10)**: 741–747
- ATEŞ İ, KARAKAYA A, SUZEN S, ALTUNER D, ŞAHİN SB (2015). Tip 2 diyabet hastalığı komplikasyonlarının gelişiminde rol oynayan sitokin gen polimorfizmlerinin araştırılması araştırma projesi. *Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Raporları* Proje Kodu: 12B3336005
- ATKINSON MA, BLUESTONE JA, EISENBARTH GS, HEBROK M, HEROLD KC, ACCILI D, PIETROPAOLO M, ARVAN PR, VON HERRATH M, MARKEL DS, RHODES CJ (2011). How Does Type 1 Diabetes Develop? The Notion of Homicide or β -Cell Suicide Revisited *Diabetes* **60(5)**: 1370-1379
- AYDINTUĞ O (1997). Sitokinler. Bölüm 11: *Klinik İmmünoloji*. Ed: G. Tokgöz. Ankara. s:85-100.
- BAGGIOLINI M, DEWALD B, MOSER B (1997). Human chemokines: an update. *Ann. Rev. Immunol*, **15**: 675-700.
- BAILLIE J (2008). Endoscopic therapy in acute recurrent pancreatitis. *World J Gastroenterol*, **14(7)**:1034-7
- BECKMAN JA, CREAGER MA, LIBBY P (2002). Diabetes and Atherosclerosis Epidemiology, Pathophysiology, and Management. *The Journal of the American Medical Association*, **287(19)**: 2570-2581
- BIDWELL J, KEEN L, GALLAGHER G, KIMBERLY R, HUIZINGA T, MCDERMOTT MF, OKSENBERG J, MCNICHOLL J, POCIOT F, HARDT C, D'ALFANSO S (1999). Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases. *Genes and Immunity*, **1**:3–19

- BROOKES AJ (1999). The essence of SNPs. *Gene*. **234(2)**:177-86
- BROWNLEE M (2005). The Pathobiology of Diabetic Complications A Unifying Mechanism. *Diabetes*, **54(6)**: 1615-1625
- BROWNLEE M (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 414: 813–820
- BROWNLEE M (1995). Advanced Protein Glycosylation In Diabetes And Aging. *Annual Review of Medicine*, **46**: 223-234
- BROWNLEE M (1992). Glycation Products and the Pathogenesis of Diabetic Complications. *Diabetes Care*, **15(12)**: 1835-1843
- BORST SE (2004). The role of TNF- α in insulin resistance. *Endocrine* **23(2-3)**: 177-182
- BOULTON AJM, VINIK A, AREZZO JC, BRIL M, FELDMAN E, FREEMAN R, MALIK RA, MASER RE, SOSENKO JM, ZIEGLER D (2005). Diabetic Neuropathies A statement by the American Diabetes Association, *Diabetes Care*, **28(4)**: 956-962
- BOYLE PJ (2007). Diabetes Mellitus and Macrovascular Disease: Mechanisms and Mediators. *The American Journal of Medicine*, **120(9)**: 12-17
- CHALLIS BG (2013). Proopiomelanocortin Deficiency. *GeneReviews* ISSN: 2372-0697
- CHIANG JL, KIRKMAN MS, LAFFEL LMB, PETERS AL (2014). Type 1 Diabetes Through the Life Span: A Position Statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care*, **37(7)**: 2034-2054
- CHOY EHS, PANAYI GS (2001). Cytokine Pathways and Joint Inflammation in Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med*, **344**: 907-916
- CHUNG KF (2001). Cytokines in chronic obstructive pulmonary disease. *European Respiratory Journal*, **18**: 50-59
- COSTA A, FERNÁNDEZ-REAL JM, VENDRELL J, BROCH M, CASAMÍTJANA R, RÍCART W, CONGET I (2003). Lower rate of tumor necrosis factor- α -863A allele and higher concentration of tumor necrosis factor- α receptor 2 in first-degree relatives of subjects with type 2 diabetes. *Metabolism*, **52(8)**: 1068-1071
- COUSTAN DR (2013). Gestational Diabetes Mellitus. *Clinical Chemistry* **59(9)**: 1310–1321

- CROOK M (2004). Type 2 diabetes mellitus: a disease of the innate immune system? An update. *Diabetic Medicine* **21(3)**: 203–207
- DANDONA P, ALJADA A, Bandyopadhyay A (2004a). Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends in Immunology*, **25(1)**: 4-7
- DANDONA P, ALJADA A, CHAUDHURI A, MOHANTY P (2004). Endothelial Dysfunction, Inflammation and Diabetes. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, **5(3)**: 189-197
- DAY CP, GROVE J, DALY AK, STEWART MW, AVERY PJ, WALKER M (1998). Tumour necrosis factor-alpha gene promoter polymorphism and decreased insulin resistance. *Diabetologia*, **41(4)**: 430–434
- DEAN L, MCENTYRE J (2004). The Genetic Landscape of Diabetes. *National Center for Biotechnology Information*
- DONATH MY, SHOELSON SE (2011). Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nature Reviews Immunology* **11**: 98–107
- DONATH MY, BÖNI-SCHNETZLER M, ELLINGSGAARD H, HALBAN PA, EHSES JA (2010). Cytokine production by islets in health and diabetes: cellular origin, regulation and function. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, **21(5)**: 261-267
- DONATH MY, STØRLING J, BERCHTOLD LA, BILLESTRUP N, MANDRUP-POULSEN T (2008). Cytokines and β -Cell Biology: from Concept to Clinical Translation. *Endocrine Reviews*, **29(3)**: 334–350
- DRONAVALLI S, DUKA I, BAKRIS GL (2008). The pathogenesis of diabetic nephropathy. *Nature Clinical Practice Endocrinology & Metabolism*, **4**: 444–452
- EBERHART, MS, OGDEN C, ENGELGAU M., CADWELL B., HEDLEY AA, SAYDAH, SH (2004). Prevalence of Overweight and Obesity Among Adults with Diagnosed Diabetes United States, 1988-1994 and 1999-2002. *Morbidity and Mortality Weekly Report (Centers for Disease Control and Prevention)* **53(45)**: 1066-1068.
- FENG R, LI Y, ZHAO D, WANG C, NIU Y, SUN C (2009). Lack of association between TNF 238 G/A polymorphism and type 2 diabetes: a meta-analysis. *Acta Diabetol* **46**: 339–343
- FISHBAIN H (1995). Acute Metabolic Complications in Diabetes. *Diabetes in America Chapter 13* 283-291

- GOSTER JR (2001). The functions of cytokines and their uses in toxicology. *International Journal of Experimental Pathology* **82(3)**: 171-192
- GALAN HL VE BATTAGLIA FC (2004). The biology of abnormal fetal growth and development. - Diabetes in Women Adolescence Pregnancy and Menopause. *Lippincott Williams & Wilkins* 159-168
- GALLAGHER G, ESKDALE J, BIDWELL JL (2003). Cytokine genetics - Polymorphisms, functional variations and disease associations. *The Cytokine Handbook, 4th Edition* 19-55
- GITTOES NJL, AYUK J, FERNER RE (2010). Drug - Induced Diabetes. Textbook of Diabetes, 4th Edition Blackwell Publishing 265-279
- GOLDBERG RB (2009). Cytokine and cytokine-like inflammation markers, endothelial dysfunction, and imbalanced coagulation in development of diabetes and its complications. *J Clin Endocrinol Metab.*, **94(9)**: 3171-82.
- GUPTA S, MEHNDIRATTAA M, KALRA S, KALRA OP, SHUKLA R, GAMBHIR JK (2015). Association of Tumor Necrosis Factor (TNF) promoter polymorphisms with plasma TNF- α levels and susceptibility to diabetic nephropathy in North Indian population. *Journal of Diabetes and its Complications*, **29(3)**: 338-342
- GÜVENÇ A (2014). Enflamatuvar sitokin polimorfizminin diyabet komplikasyonları üzerine etkisinin araştırılması. *AÜEF Farmasötik Toksikoloji ABD Yüksek Lisans Tezi*
- HAMAGUCHI K, KIMURA A, SEKI N, HIGUCHI T, YASUNAGA S, TAKAHASHI M, SASAZUKI T, KUSUDA Y, OKEDA T, ITOH K, SAKATA T (2000). Analysis of tumor necrosis factor-alpha promoter polymorphism in type 1 diabetes: HLA-B and -DRB1 alleles are primarily associated with the disease in Japanese. *Tissue Antigens*, **55(1)**:10-6
- HAMMES HP, LIN J, RENNER O, SHANI M, LUNDQVIST A, BETSHOLTZ C, BROWNLEE M, DEUTSCHHO U (2002). Pericytes and the Pathogenesis of Diabetic Retinopathy. *Diabetes*, **51(10)**: 3107-3112
- HASBOLD J, HONG JS, KEHRY MR, HODGKIN PD (1999). Integrating signals from IFN-gamma and IL-4 by B cells: positive and negative effects on CD40 ligand-induced proliferation, survival, and division-linked isotype switching to IgG1, IgE, and IgG2a. *J. Immunol.*, **163**: 4175-4181

- HAUKIM N, BIDWELL JL, SMITH AJP, KEEN LJ, GALLAGHER G, KIMBERLY R, HUIZINGA T, MCDERMOTT MF, OKSENBERG J, MCNICHOLL J, POCIOT F, HARDT C, D'ALFONSO S (2002). Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases, Supplement 2. *Genes and Immunity*, **3**: 313–330
- HOLLEGAARD MV, BIDWELL JL (2006). Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases, Supplement 3. *Genes and Immunity*, **7**: 269–276
- HOTAMISLIGIL GS, ARNER P, CARO JF, ATKINSON RL, SPIEGELMAN BM (1995). Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor alpha in human obesity and insulin resistance. *J. Clin. Invest.*, **95**: 2409-2415
- HOTAMISLIGIL GS, SHARGILL NS, SPIEGELMAN BM (1993). Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*, **259(5091)**:87-91
- HUEY-HERNG W, LEE WJ, LIN LY, CHANG RL, CHEN YT (2001). *Metabolism*, **50(12)**: 1447-1451
- IDF (2013). Diabetes Atlas 6th Edition. *International Diabetes Federation Publications*, ISBN: 2-930229-85-3.
- IDF (2017). Diabetes Atlas 8th Edition. *International Diabetes Federation Publications*, ISBN: 978-2-930229-87-4.
- JAMİL K, JAYARAMAN A, AHMAD J, JOSHI S, KUMAR YS (2017). TNF-alpha -308G/A and -238G/A polymorphisms and its protein network associated with type 2 diabetes mellitus. *Saudi Journal of Biological Sciences* **24(6)**: 1195-1203
- KAMIZONO S, YAMADA K, SEKI N, HIGUCHU T, KIMURA A, KONAKA K, ITOH K (2000). Susceptible locus for obese type 2 diabetes mellitus in the 5'-flanking region of the tumor necrosis factor- α gene. *HLA Immune Response Genetics*, **55(5)**: 449–452
- Kawasaki A, Tsuchiya N, Hagiwara K, Takazoe M, Tokunaga K (2000). Independent contribution of HLA-DRB1 and TNF α promoter polymorphisms to the susceptibility to Crohn's disease. *Genes and Immunity*, **1**: 351–357
- KERL ME (2001). Diabetic Ketoacidosis: Pathophysiology and Clinical and Laboratory Presentation. *Compendium* **23(3)**: 220-228
- KERNER W, BRÜCKEL J, GERMAN DIABETES ASSOCIATION (2014). Definition, classification and diagnosis of diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, **122(7)**: 384-6

- KHARROUBI AT, DARWISH HM (2015). Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World J Diabetes*, **6(6)**: 850–867
- KING, G.L. (2008). The role of inflammatory cytokines in diabetes and its complications. *J. Periodontol*, 79: 1527-1534.
- KINIKLI G, TURGAY M (1997). Otoimmünite. Bölüm 10: *Klinik İmmünoloji*. Ed: G. Tokgöz. Ankara. s:85-100.
- KIPS JC (2001). Cytokines in asthma. *European Respiratory Journal*, **18**: 24-33
- KUNZ M, IBRAHİM SM (2009). Cytokines and Cytokine Profiles in Human Autoimmune Diseases and Animal Models of Autoimmunity. *Mediators Inflamm* Volume 2009, Article ID 979258
- KURBAN S, AKPINAR Z, MEHMETOĞLU İ (2010). Multiple skleroz hastalarında serum paraoksonaz ve arilesteraz aktiviteleri ile oksidatif stresin araştırılması. *Genel Tıp Derg*, **20(1)**: 13-17
- LAMB, RE, GOLDSTEIN, BJ (2008). Modulating an oxidative-inflammatory cascade: potential new treatment strategy for improving glucose metabolism, insulin resistance, and vascular function. *Int. J. Clin. Pract.*, **62**: 1087-1095.
- LEE GH, CHOİ YM, KİM SH, HONG MA, OH ST, LİM YT, MOON SY (2008). Association of tumor necrosis factor- α gene polymorphisms with advanced stage endometriosis. *Human Reproduction*, **23(4)**: 977–981
- LUMINEXCORP (2017). Sitokin Ağı Erişim: <https://www.luminexcorp.com/blog/partner-product-offerings-bio-rad-millipore-sigma-affymetrix-rd-systems/> Erişim Tarihi:25.12.2017
- MCKAY S, HIRST SJ, HAAS MB (2000). Tumor Necrosis Factor-alpha enhances mRNA expression and secretion of Interleukin-6 in cultured human airway smooth muscle cells. *Am. J. Resp. Cell Mol. Biol.*, **23**: 103–111
- MILLS RE, PITTARD WS, MULLANEY JM, FAROOQ U, CREASY TH, MAHURKAR AA, KEMEZA DM, STRASSLER DS, PONTING CP, WEBBER C, DEVINE SE (2011). Natural genetic variation caused by small insertions and deletions in the human genome. *Genome Res.*, **21(6)**: 830-9
- MINCIULLO PL, CATALANO A, MANDRAFFINO G, CASCIARO M, CRUCITTI A, MALTESE G, MORABITO N, LASCO A, GANGEMI S, NASILE G (2016). Inflammaging and Anti-Inflammaging: The Role of Cytokines in Extreme Longevity. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, **64:2** 111-126.

- MIRZA S, HOSSAIN M, MATHEWS C, MARTINEZ P, PINO P, GAY JL, RENTFRO A, MCCORMICK JB, FISCHER-HOCH SP (2012). Type 2-diabetes is associated with elevated levels of TNF-alpha, IL-6 and adiponectin and low levels of leptin in a population of Mexican Americans: A cross-sectional stud. *Cytokine* **57(1)**: 136-144
- MISHRA B, SHARMA M, SARKAR S, BAHL A, SAIKIA UN, RATHO RK (2015). Tumour necrosis factor-alpha promoter polymorphism and its association with viral dilated cardiomyopathy in Indian population: A pilot study. *Indian Journal of Medical Microbiology*, **33(1)**: 16-20
- MISHIMA Y, KUYAMA A, TADA A, TAKAHASHI A, SHIOKA A, KIBATA C (2001). Relationship between serum tumor necrosis factor- α and insulin resistance in obese men with Type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice*, **52(2)**: 119-123
- MIYAJIMA A, KITAMURA T, HARADA N, YOKOTA T, ARAI K (1992). Cytokine Receptors and Signal Transduction. *Annual Review of Immunology* **10**: 295-331
- NAGATSU T, SAWADA M (2005). Inflammatory Process in Parkinson's Disease: Role for Cytokines. *Current Pharmaceutical Design*, **11(8)**: 999-1016
- NAVIKAS V, LINK H (1996). Review: cytokines and the pathogenesis of multiple sclerosis. *Journal of Neuroscience*, **45(4)**: 322-333
- NEWGARD CB, MCGARRY JD (1995). Metabolic coupling factors in pancreatic beta-cell signal transduction. *Annu. Rev. Biochem.*, **64**: 689-719
- NEWSHOLME P, CRUZAT V, ARFUSO F, KEANE K (2014). Nutrient regulation of insulin secretion and action. *J Endocrinol*, **221**: 105-120
- NISHIMOTO N, KISHIMOTO T, YOSHIZAKI Y (1999). Anti-cytokine therapy in autoimmune diseases. *Intern. Med.*, **38**: 178-182
- NISHIMURA M, MIZUTA I, MIZUTA E, YAMASAKI S, OHTA S, KAJI R, KUNO S (2001). Tumor necrosis factor gene polymorphisms in patients with sporadic Parkinson's disease. *Neuroscience Letters*, **311(1)**: 1-4
- NOWOTNY K, JUNG T, HÖHN A, WEBER D, GRUNE T (2014). Advanced Glycation End Products and Oxidative Stress in Type 2 Diabetes Mellitus. *Biomolecules*, **5(1)**: 194-222
- OLLIER WER (2004). Cytokine genes and disease susceptibility. *Cytokine*, **28**: 174-178

- PIVONELLO R, DE LEO M, VITALE P, COZZOLINO A, SIMEOLI C, DE MARTINO MA, LOMBARDI G, COLAO A (2010). Pathophysiology of Diabetes Mellitus in Cushing's Syndrome. *Neuroendocrinology*, 92(suppl 1):77–81
- PRICE S, COLE D, ALCOLADO JC (2010). Diabetes due to exocrine pancreatic disease—a review of patients attending a hospital-based diabetes clinic. *International Journal of Medicine*, **103(10)**: 759–763
- RESMINI E, MINUTO F, COLAO A, FERONE D (2009). Secondary diabetes associated with principal endocrinopathies: the impact of new treatment modalities. *Acta Diabetologica* **46(2)**: 85-95
- SAWADA M, IMAMURA K, NAGATSU T (2006). Role of cytokines in inflammatory process in Parkinson's disease. *J Neural Transm* **70(Suppl)**: 373–381
- SAXENA M, SRIVASTAVA N, BANERJEE M (2013). Association of IL-6, TNF- α and IL-10 gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus. *Molecular Biology Reports* **40(11)**: 6271-6279
- SHAFIEE G, TEHRANI MM, PAJOUHI M, LARIJANI B (2012). The importance of hypoglycemia in diabetic patients. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders* **11**: 17
- SHBAKLO H, AZAR ST, TERWEDOW H, HALABY G, NAJA RP, ZALLOUAA PA (2003). No association between the -1031 polymorphism in the TNF- α promoter region and type 1 diabetes. *Human Immunology*, **64(6)**: 633-638
- SHIAU MY, WU CY, HUANG CN, HU SW, LIN SJ, CHANG YH (2003). TNF- α polymorphisms and type 2 diabetes mellitus in Taiwanese patients. *Tissue Antigens*, **61(5)**: 393-397
- SCHULMAN GI (2000). Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest*, **106(2)**:171-6
- SKOOG T, VAN'T HOOFT FM, KALLIN B, JOVINGE S, BOQUIST S, NILSSON J, ERIKSSON P, HAMSTEN A (1999). A Common Functional Polymorphism (C→A Substitution at Position -863) in the Promoter Region of the Tumour Necrosis Factor- α (TNF- α) Gene Associated With Reduced Circulating Levels of TNF- α . *Human Molecular Genetics*, **8(1)**: 1443–1449
- SJOBERG RJ (1989). Pancreatic Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, **12(10)**: 715-724
- SUN SY, YUE P, LOTAN R (1999). Implication of multiple mechanisms in apoptosis induced by the synthetic retinoid CD437 in human prostate carcinoma cells. *Oncogene*, **19**: 4513–4522

- TENG MW, BOWMAN EP, MCELWEE JJ, SMYTH MJ, CASANOVA JL, COOPER AM, CUA DJ (2015). IL-12 and IL-23 cytokines: from discovery to targeted therapies for immune-mediated inflammatory diseases. *Nat Med.*, **21(7)**:719-29.
- THSK (2014). Türkiye Diyabet Programı 2015-2020. T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu ISBN: 978-975-590-346-0
- TRAYHURN P, WOOD IS (2004). Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *British Journal of Nutrition*, **92(3)**: 347-355
- VILCEK J (). The cytokines: an overview. *The Cytokine Handbook, 4th Edition* 3-18
- YAMASHINA M, KANEKO Y, MAESAWA C, KAJIWARA T, ISHII M, FUJIWARA F, TANEICHI F, TAKEBE N, SHIDA W, TAKAHASHI K, MASUDA T, SATOH J (2007). Association of TNF- α Gene Promoter C-857T Polymorphism with Higher Serum LDL Cholesterol Levels and Carotid Plaque Formation in Japanese Patients with Type 2 Diabetes. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, **211(3)**: 251-258
- YUN HJ, CHOI JW, LEE KJ, SHIN JS, BAEK KH (2011). The promoter -1031(T/C) polymorphism in tumor necrosis factor-alpha associated with polycystic ovary syndrome. *Reproductive Biology and Endocrinology* **9:131**
- WANG WY, TAN MS, YU JT, TAN Y (2015). Role of pro-inflammatory cytokines released from microglia in Alzheimer's disease. *Ann Transl Med.* **3(10)**: 136
- WEISS J, SUMPIO B (2006). Review of prevalence and outcome of vascular disease in patients with diabetes mellitus. *Eur J Vasc. Endovasc. Surg.*, **31 (2)**: 143-50
- WHO (2016). Global Report on Diabetes, *WHO Publications*, ISBN: 978 92 4 156525-7.
- WHO (1999) Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications : report of a WHO consultation. Part 1, Diagnosis and classification of diabetes mellitus *WHO Publications*, WHO/NCD/NCS/99.2
- WHO ve IDF (2013). Definition And Diagnosis Of Diabetes Mellitus And Intermediate Hyperglycemia Report Of A WHO/IDF Consultation *WHO Publications*, ISBN: 92 4 159493 4
- WONG WM, WRIGHT NA (1999). Epidermal growth factor, epidermal growth factor receptors, intestinal growth, and adaptation. *J. Parent. Enteral. Nutr.*; **235(Supp 1)**: 83-S88
- ZHANG JM VE AN J (2007). Cytokines, Inflammation and Pain. *Int Anesthesiol Clin.*, **45(2)**: 27-37.

ÖZGEÇMİŞ

I – Bireysel Bilgiler

Adı: Emre Umut
Soyadı: Gürpınar
Uyruđu: TC
Askerlik Durumu: Tecilli
İletişim Adresi: Bağış Sokak Aytacı Apartmanı Kavaklıdere Mahallesi
17/4 Çankaya/ANKARA
Telefonu: 0 312 217 31 13

II – Eğitimi

Yüksek Lisans: Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı (2013-2018)
Konuk Araştırmacı Kopenhag Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi
Sosyal ve Klinik Eczacılık Anabilim Dalı (2016)
Lisans: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (2008-2013)
Yabancı Dil İngilizce

III – Mesleki Deneyimi

Eczacı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu (2013-...)
Stajyer, Novartis Türkiye (2012)

IV – Üye Olduğu Bilimsem Kuruluşlar

Türk Eczacıları Birliği
Tüm Kamu Eczacıları Derneği

V – Bilimsel İlgi Alanları

Yayımları:

- Systemic Measures and Legislative and Organizational Frameworks Aimed at Preventing or Mitigating Drug Shortages in 28 European and Western Asian Countries, *Front. Pharmacol.*, 18 January 2018,
- Antimicrobial Consumption (AMC) Network - AMC Data 2011 - 2014 , *World Health Organization Publications*, 2017, ISBN: 9789289052382
- Experiences from a pilot study on how to conduct a qualitative multi-country research project regarding use of antibiotics in Southeast Europe, *Journal of Pharmaceutical Policy and Practice*, 2016, 9:20

Projeleri:

Güney ve Doğu Avrupa'da antibiyotik tüketim davranışlarının bilgisinin ve tutumlarının araştırılması: Kalitatif bir araştırma

- projenin koordinasyonunda ve yönetilmesinde Türkiye adına proje yürütücüsü olarak görev alma
- eczacıları doktorlar ve hastalarla yüz yüze röportajların gerçekleştirilmesi
- röportajların Kopenhag Üniversitesi ve DSÖ Avrupa Ofisi ile işbirliği içerisinde analizlerinin gerçekleştirilmesi

Posterleri:

- Systemic Solutions, Legislative And Organizational Frameworks Aimed To Prevent Or Mitigate Drug Shortages In European Countries, ISPOR 19th Annual European Congress, Kasım-Aralık 2016, Viyana/Avusturya
- Evaluation of antibiotic prescribing including prescribing by family physicians in Turkey in 2013, European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Nisan 2015, Kopenhag/Danimarka
- Evaluation of antibiotic contents of prescriptions with acute sinusitis diagnosis prescribed by family physicians in Turkey throughout the year 2011, EuroDURG, Ağustos 2014, Gröningen/Hollanda

- Assessment of antibiotic contents of the prescriptions for acute tonsillitis diagnosis in Turkey throughout the year 2011, EuroDURG, Ağustos 2014, Gröningen/Hollanda
- The data of antidepressant use in Turkey according to ATC/DDD methodology, EuroDURG, Ağustos 2014, Gröningen/Hollanda
- A comparison between WHO essential medicines list and Turkish medicines list, EuroDURG, Ağustos 2014, Gröningen/Hollanda
- Evaluation of family physicians' prescriptions on the basis of anatomic therapeutic chemical-1 (ATC-1) and number of boxes in 2011 in Turkey, EuroDURG, Ağustos 2014, Gröningen/Hollanda
- Moxifloxacin and levofloxacin's excessive seasonal consumption, Eurodurg 2014, EuroDURG, Ağustos 2014, Gröningen/Hollanda
- Evaluation of antibiotic prescribing by family physicians in Turkey in 2012, and comparison of provinces in terms of the percentage of antibiotic-containing prescriptions, European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Mayıs 2014, Barcelona/ İspanya

VI - Bilimsel Etkinlikleri

Uluslararası Katılımlar

- Second Course on Interface Management of Pharmacotherapy, ülke temsilcisi, Kasım 2016, Barcelona/İspanya
- Yıllık Piperska Çalışma Grubu Toplantısı, konuşmacı, Mayıs 2016, Leiden/Hollanda
- WHO Regional Office for Europe Good Governance Consultation Meeting, cülke temsilcisi, Eylül 2015, Kopenhag/Danimarka
- WHO Regional Office for Europe New Medicines Consultation Meeting, ülke temsilcisi, Eylül 2015, Kopenhag/Danimarka
- WHO Antimicrobial Medicine Consumption (AMC) Network Meeting, ülke temsilcisi ve konuşmacı, Eylül 2015, Kopenhag/Danimarka
- 5th WHO Antimicrobial Resistance Workshop, ülke temsilcisi ve konuşmacı, Şubat 2015, Kopenhag/Danimarka

- 3rd ECDC Joint Meeting of the Antimicrobial Resistance and Healthcare-Associated Infections (ARHAI) Networks, ÷lke temsilcisi, Şubat 2015, Stockholm/İsveç
- WHO Workshop on Understanding Behaviours of Antibiotic Use, ÷lke temsilcisi, Kasım 2014, Bled/Slovenya
- Dñnya Sağlık Örgütü ATC/DDD Metodolojisi Kursu, Haziran 2014, Oslo/Norveç

