T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI
DOKTORA PROGRAMI

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Tammam SİPAHİ

TİP 2 DİYABETES MELLİTUSLU HASTALARDA ANJİYOTENSİNOJEN M235T, ANJİYOTENSİNOJEN T174M VE ANJİYOTENSİN TİP 1 RESEPTÖR A1166C POLİMORFİZMLERİNİN DİYABETİK NEFROPATİ GELİŞİMİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

(Doktora Tezi)

Fulya YÜKÇÜ

Referans no: 10043521

EDİRNE-2015

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI
DOKTORA PROGRAMI

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Tammam SİPAHİ

TİP 2 DİYABETES MELLİTUSLU HASTALARDA ANJİYOTENSİNOJEN M235T, ANJİYOTENSİNOJEN T174M VE ANJİYOTENSİN TİP 1 RESEPTÖR A1166C POLİMORFİZMLERİNİN DİYABETİK NEFROPATİ GELİŞİMİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

(Doktora Tezi)

Fulya YÜKÇÜ

Destekleyen Kurum: TÜBAP-2014/71

Tez No:

EDİRNE-2015

T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

ONAY

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı doktora programı çerçevesinde ve Doç. Dr. Tammam SİPAHİ danışmanlığında doktora öğrencisi Fulya YÜKÇÜ tarafından tez başlığı Tip 2 Diyabetes Mellitus'lu Hastalarda Anjiyotensinojen M235T, Anjiyotensinojen T174M ve Anjiyotensin Tip 1 Reseptör A1166C Polimorfizlerinin Diyabetik Nefropati Gelişimine Etkisinin Araştırılması." olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı 18/06/2015 tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından "Doktora Tezi" olarak kabul edilmiştir.

İmza

JÜRİ BAŞKANI

Doç. Dr. Tammam SİPAHİ

Üye

Doç. Dr. Tevfik GÜLYAŞAR

Üye

Doç. Dr. Birsen AYDEMİR

Üye

Doç. Dr. Ali Rıza KIZILER

Üye

Doç. Dr. Ali YILMAZ

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesinden tezimin bitim aşamasına kadar rehberliğini benden esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Tammam SİPAHİ'ye, Doç. Dr. Tevfik GÜLYAŞAR'a ve Endokrinolojii Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Sibel GÜLDİKEN'e, hasta materyalini sağlamamda yardımcı olan Nefroloji Bilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Sedat ÜSTÜNDAĞ'a ve bölüm doktorlarına, Yrd. Doç. Dr. Nevra ALKANLI'ya ve istatistikler için Biyoistatistik Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Necdet SÜT'e, manevi desteklerinden dolayı aileme, projemizin gerçekleşmesinde desteklerinden dolayı TÜBAP'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ 1

GENEL BİLGİLER 3

DİYABETES MELLİTUS TANIMI VE SINIFLANDIRILMASI 3

DİYABETİK NEFROPATİ 4

PREVALANS VE İNSİDANS 6

DİYABETİK NEFROPATİNİN PATOGENEZİ 6

PATOGENEZ VE YAPISAL RENAL DEĞİŞİKLİK 8

DİYABETİK NEFROPATİNİN PATOLOJİSİ 8

MİKROALBUMİNÜRİ VE PROTEİNÜRİ 9

DİYABETİK NEFROPATİNİN EVRELERİ 10

DİYABETİK NEFROPATİNİN KLİNİK ÖZELLİKLERİNE GÖRE SINIFLANDIRILMASI 11

DİYABETİK NEFROPATİDE RİSK FAKTÖRLERİ 12

HİPERTANSİYON 16

HİPERTANSİYONUN PATOGENEZİ 16

HİPERTANSİYON-BÖBREK İLİŞKİSİ 17

KLASİK (SİSTEMİK) RENİN ANJİYOTENSİN ALDOSTERON SİSTEMİ 19

RENİN ANJİYOTENSİN ALDOSTERON SİSTEMİ 21

RENİN ANJİYOTENSİN ALDOSTERON SİSTEMİ ve DİYABETİK NEFROPATİ 23

ANJİYOTENSİNOJEN M235T/T174M GEN POLİMORFİZMLERİ 23

ANJİYOTENSİN II TİP 1 RESEPTÖR A1166C GEN POLİMORFİZMİ 24
GEREÇ VE YÖNTEMLER 26
BULGULAR 37
TARTIŞMA 49
SONUÇLAR 58
ÖZET 61
SUMMARY 62
KAYNAKLAR 63
RESİMLEMELER LİSTESİ 72
ÖZGEÇMİŞ 74
EKLER

SİMGE VE KISALTMALAR

ACE **:** Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim

AGT **:** Anjiyotensinojen

ASA **:** Asetilsalisilik asit

AT1 **:** Anjiyotensin I

ATR1 **:** Anjiyotensin II Tip1 Reseptör

Bç **:** Baz çifti

DM **:** Diyabetes Mellitus

DN **:** Diyabetik Nefropati

DNA **:** Deoksiribonükleik Asit

GFR **:** Glomerüler Filtrasyon Hızı

HT **:** Hipertansiyon

Kb **:** Kilobaz

KVH **:** Kardiyovasküler Hastalıklar

OAD **:** Oral antidiyabetik

OD **:** Optik Dansisite

PZR **:** Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RAAS **:** Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi

RFUP **:** Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi

SDBY **:** Son Dönem Böbrek Yetmezliği

UV **:** Ultraviyole

GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya sağlık örgütünün tahminlerine göre 2025 yılında dünyada yaklaşık 300 milyon kişiyi etkileyecek olan Tip 2 Diyabetes Mellitushastalığı, pankreasın β hücrelerinden salgılanan insülin hormonunun sekresyonunun, normal hatta normalden yüksek olması ve/veya periferik insülin kullanımında direncin varlığı sonucu oluşan, karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasının bozuklukları ile karakterize bir hastalıktır (1).

Diyabetes Mellitusla (DM) ilgili morbidite ve mortaliteden daha çok kardiyovasküler hastalıklar (KVH) ve diyabetik nefropati (DN) sorumlu tutulmaktadır. DN, son dönem böbrek yetmezliği (SDBY)'nin en önemli nedenlerinden biri olup sıklığı hızla artmaktadır (2).

Diyabetik nefropati, persistan albüminüri (günde 300 mg'dan fazla albümin ekskresyonudur), kan basıncında yükselme, glomerüler filtrasyon hızında (GFR) progresif azalma ve kardiyovasküler morbidite ve mortalitede artış ile karakterizedir (3).

Renin anjiyotensin aldosteron sisteminin (RAAS) sistemik hipertansiyon, konjestif kalp yetmezliği ve diyabetik nefropatinin patofizyolojisinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Bu sistemin bloke edilmesi kan basıncını düşürür, kalp yetmezliği semptom ve bulgularını iyileştirir, diyabetik nefropatide renal fonksiyonun bozulmasını önler (4).

Renin anjiyotensin aldosteron sistemi anjiyotensinojen (AGT), renin, anjiyotensin I, anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE), anjiyotensin II, anjiyotensin II tip 1,2,3 ve 4 gen reseptör tiplerinden (AT1R, AT2R, AT3R ve AT4R) oluşur. ACE anjiyotensin I'i AT1R'ye bağlanan anjiyotensin II'ye dönüştürür. AT1R de işlevini fosfotidilinositol-kalsiyum ikincil ulak sistemini etkileyen G proteini üzerinden gerçekleştirir ve vazokonstriksiyona neden olur (5).

Anjiyotensinojen geni, kromozom 1q42-43' de lokalize, beş tane ekson içeren bir gendir. AGT'nin, çoğu çalışmada önemi nedeniyle 235. ve 174. pozisyondaki (M235T ve T174M) metionin ve treonin rezidülerinin yerdeğişikliğine odaklanılmıştır (5).

Plazma AGT seviyesi genotipe göre önemli ölçüde değişiklik gösterir. T235 homozigotlar, M235 homozigotlardan %20 daha yüksek AGT seviyesine sahiptir. Östrojenler, glukokortikoidler ve tiroid hormonlarının stimülasyonu plazma AGT seviyesinde artışa yol açan genotip dışındaki faktörlerdir. Plazma seviyesindeki artış anjiyotensin II oluşumunu etkiler. Anjiyotensin II ise glomerüler filtrasyon hızının ayarlanmasında kritik öneme sahip olması dışında, kan basıncı ve volüm homeostazisinin uzun süreli regülasyonunda da dominant rol oynar (5).

AT1R geni 3.kromozomda (3q21-q25), 5 ekson ve 4 introndan oluşan bir gendir. AT1R gen polimorfizmi ekson 5'in 3' çevrilmemiş bölgesi 1166. pozisyonunda adenine/cytosine (A/C) yer değiştirmesiyle karakterizedir. C alleli anjiyotensin II' ye artmış yanıtla ilişkili olup, SDBY hastalarında renal fonksiyonlarda bozulma ve tip 2 diyabetin 10. yılından sonra artmış albüminüri insidansı ile ilişkilendirilmiştir (6).

Yukarıda verilen bilgilerin ışığında, biz de bu çalışmada Tip 2 Diyabetes Mellituslu hastalarda anjiyotensinojen M235T, anjiyotensinojen T174M ve anjiyotensin tip 1 reseptör A1166C polimorfizmlerinin diyabetik nefropati gelişimine etkisini araştırmayı hedefledik.

Tip 2 Diyabetik hastalarda nefropati gelişiminde kolaylaştırıcı rol oynayan genetik faktörlerin bilinmesi, zamanında ve etkin koruyucu tedbirlerin alınabilmesini sağlayabilir. Koruyucu önlem ve tedavilerin en erken dönemde başlanması ise bir taraftan hastaların yaşam kalitesini artırırken, diğer yandan SDBY gelişimini geciktirerek hastaların diyalizsiz yaşam süresinin uzamasını ve hastalığın ülkemiz ekonomisine olan maliyetin azalmasına sebep olabilir.

Bu çalışmamızda RAAS ile ilişkili genetik polimorfizmlerin, diyabetik nefropati ile ilişkisinin olup olmadığının ortaya konulması ile hastalık progresyonunun yavaşlatılmasına katkı sunabilmesi bakımından, Tip 2 DM ve diyabetik nefropatili hastalarda, AGT gen ve AT1R gen polimorfizmlerini araştırmayı amaçladık.

GENEL BİLGİLER

DİYABETES MELLİTUS TANIMI VE SINIFLANDIRILMASI

Amerikan Diyabet Derneği (ADA) tarafından 2003'de yeniden belirlenen tanı kriterlerine göre; poliüri, polidipsi, glikozüri, ketonüri ve açıklanamayan ağırlık kaybı gibi semptomlar ile birlikte herhangi bir zamanda ölçülen plazma glikoz düzeyinin ≥ 200 mg/dL bulunması veya 10-12 saat açlık sonu sabah kan glikozunun ≥ 126 mg/dL bulunması DM olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca 75 gr glikoz ile yapılan oral glikoz tolerans testinde 2. saatteki glikozun ≥ 200 mg/dL olması ile DM tanısı konmaktadır. DM için çeşitli sınıflandırmalar ileri sürülmektedir. Son sınıflamada Tip 1 DM, Tip 2 DM, gestasyonel diyabet ve diğer spesifik tipler olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır (7).

Diyabetlilerin %10-15'ini Tip 1 DM oluşturur. Genetik yatkınlık ve çevresel etkenlerle pankreas beta hücrelerinin ilerleyici harabiyetine bağlı olarak gelişir. Çoğunlukla çocukluk ve adolesan yaşta başlar. Tip 1 DM, genellikle hızlı gelişir; bazı hastalarda yavaş seyir izler ve yıllar içinde insülin eksikliği artarak oral antidiyabetiklere yanıt vermez hale gelir (8).

Tüm diyabetli hastaların %90'ını oluşturan Tip 2 DM'de insülin direnci gelişimi ve/veya insülin salgılanmasında bozukluk vardır. Çoğunluğu orta yaşlı, şişman ve kadın hastalar olup, bazen genç yaşta başlayabilir. Genç yaşta başlayan hipergliseminin olması, ketozisin yokluğu ve insülin kullanılmadan hipergliseminin düzeltilememesi durumunda erken başlangıçlı Tip 2 diyabet düşünülmelidir (8).

Ayrıca ilk kez gebelik sırasında ortaya çıkan gestasyonel diyabet ve pankreas hastalıkları, sürrenal ve hipofiz bezi hastalıkları, endokrin sistem ile ilişkili genetik sendromlar, kortikosteroid ve tiazid gibi bazı ilaçların kullanımına bağlı sekonder diyabet gelişebilmektedir (7).

İnsidans ve prevalansı coğrafik ve etnik farklılıklar gösteren DM, özellikle kuzey ülkelerinde yüksek oranda görülmektedir. Danimarka'da 22 yaş üzerinde diyabet prevalansı %38'lere çıkmaktadır (9). Ülkemizde 2004 yılında yapılan çalışmada %7,2 olduğu bildirilmiştir (10).

Endüstriyel ülkelerde prevalansı artan DM'nin komplikasyonları da yüksek oranda gelişmektedir. Akut ve kronik komplikasyonları olan diyabetin akut komplikasyonları arasında diyabetik ketoasidoz, hiperozmolar koma, laktik asidoz sayılabilir. Organ hasarına yol açan kronik komplikasyonları, genel olarak makro ve mikrovasküler olarak gruplandırılabilir. Makrovasküler grupta hipertansiyon (HT), kardiyovasküler, serebrovasküler hastalıklar sayılabilir. Nöropati, retinopati ve nefropati ise mikrovasküler komplikasyonlarıdır. Bunların dışında deri, bağ dokusu, eklemler, sinir sistemi gibi diğer sistemlerle ilgili sorunlar mikrovasküler bozulma ile gelişir (7). DN oluşum mekanizmaları, aynı zamanda diğer mikrovasküler komplikasyonlara da ışık tutmaktadır.

DİYABETİK NEFROPATİ

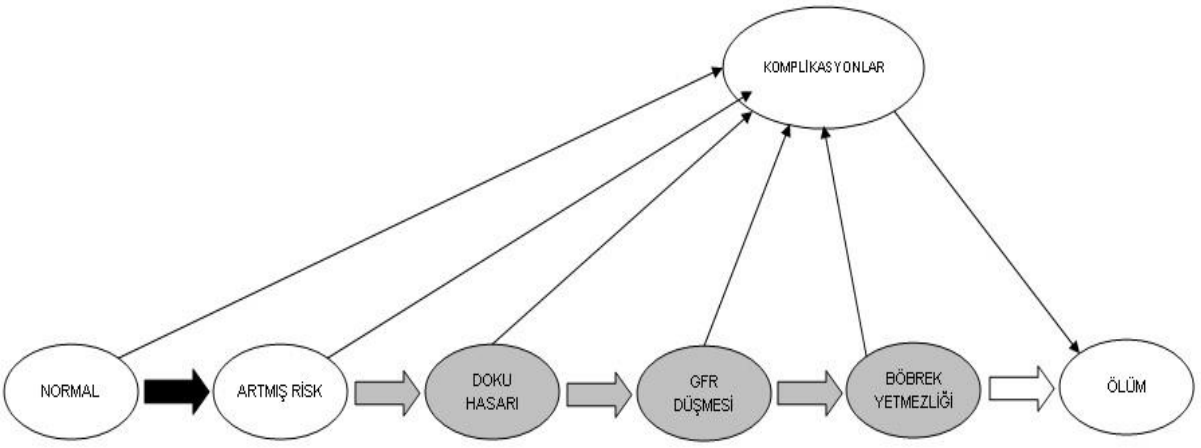
Diyabetik nefropati, mikroanjiopati sonucu böbrekte oluşan hasarlanmaya verilen genel isimdir ve diyabete bağlı gelişen morbidite ve mortalitenin başlıca nedenidir (11,12). Diyabet yüksek orandaki sıklığına ve diyabetlilerin kardiyovasküler kaynaklı ölüm oranının azalmasına bağlı olarak tüm dünyada SDBY'nin en sık sebebi haline gelmiştir (13,14). Renal replasman tedavisine ihtiyaç duyan hastaların % 40 ını da diyabetliler oluşturur (15,16). Son yıllarda DN hastalarındaki dramatik artış obezite, metabolik sendrom ve Tip 2 diyabetteki epidemik artışla paralel gitmektedir. Tip 2 (%90) nin Tip1 (%10) e göre prevalansının yüksek olması sebebiyle DN hastalarının çoğunluğu Tip 2 diyabet hastasıdır. DN gelişimi için risk faktörleri; hiperglisemi, hipertansiyon, dislipidemi, sigara, aile öyküsü, ve renin anjiyotensin aldosteron aksını etkileyen gen polimorfizmi gibi genetik faktörlerdir (17). Örneğin diyabet ve hipertansiyonu olan hastalarda SDBY gelişme riski sadece hipertansiyonu olan hastalara göre 5-6 kat daha fazladır (18).

Diyabetik bir hastada üç ila altı ay arasında en az iki idrar analizinde günlük 300 mg ve üzerinde albüminüri veya günlük 500 mg ve üzerinde proteinüri saptanması ile DN tanısı konulur. DN tanısı alan kişiler tedavi edilmezlerse proteinüri nefrotik düzeye ilerler ve böbrek fonksiyonları zamanla kaybolur. Bu böbrek fonksiyon değişiklikleri, glomerüler bazal membran kalınlaşması, ekstrasellüler matriks birikimi ile mezengial genişleme, sayısında ve/veya yoğunluğunda azalmayı içeren glomerüler epitelyal hücrelerde (podosit) değişiklikler,

glomerülosklerozis ve tubulointerstisyal fibrozisi içeren yapısal anormalliklerin sonucu olarak gelişmektedir (19,20). Glomerüler bazal membran değişiklikleri, glomerüler hiperfiltrasyon ile birliktedir ve artan glomerüler hidrostatik basınç mikroalbüminüriye neden olur. Diyabetik nefropatideki böbrek fonksiyon kaybına mezangial değişiklikler neden olmaktadır. Diyabetik nefropatideki mezangial genişleme ve bazal membran kalınlaşması aralarında Tip IV kollajenin de bulunduğu proteinlerin birikimi sonucu olmaktadır (21). Bazı hastalarda glomerüler bazal membran kalınlaşması mikroalbüminüri ile ilişkiliyken, bazılarında bu patolojik değişikliğe karşın mikroalbüminüri gözlenmez. Bu nedenle mikroalbüminürinin gözlenmemesi diyabetik nefropatinin dışlanması için yeterli olamayabilir (22).

Diyabetik nefropati, Amerika ve Avrupa ülkelerinde SDBY nedenleri arasında ilk sıradadır ve Amerikada yeni gelişen SDBY'nin %40'ını DN oluşturmaktadır (23). Ülkemizde ise 2001 yılı Türk Nefroloji Derneği raporuna göre yeni tanı konulan SDBY'li hastaların %25.3'ünün etiyolojisinde DM yer almaktadır (24).

Tip 1 ve Tip 2 DM'de böbrek lezyonlarının patolojisi benzer olmakla birlikte Tip 1 DM'de nefropatinin gelişmesinde ve ilerlemesinde hipergliseminin payı büyüktür ve genellikle HT ve KVH, nefropati geliştikten sonra oluşur (25).



Şekil 1. Diyabette nefropati gelişme aşamaları (25)

PREVALANS VE İNSİDANS

Tip 1 DM'nin %30-50'sinde, Tip 2 DM'nin %15'inde nefropati gelişir. İnsidans erkeklerde ve diyabeti 15 yaşından önce başlayanlarda daha yüksektir (26). Tip 1 DM'li hastalardan mikroalbüminüri ortaya çıkanların; %80'inde 10-15 yıl içinde klinik nefropati geliştiği görülmektedir. Klinik nefropati gelişenlerin; 10 yıl içinde %50'si, 20 yıl içinde %75'den fazlası SDBY'ne ilerlemektedir. Mikroalbüminürisi olan Tip 2 diyabetli hastaların %20-40'ında nefropati gelişmektedir. Klinik nefropati gelişenlerin %20'sinde ise 20 yıl içinde SDBY gelişmektedir. Tip 2 DM'nin sıklığı Tip 1 DM'ye göre 10-15 kat fazla olduğundan, diyabetik nefropatili hastaların önemli bir bölümünü Tip 2 DM'li hastalar oluşturur. Bu rakamlar diyabete bağlı böbrek hastalığının önemli bir toplumsal ve ekonomik problem olduğunu göstermektedir (2,26).

DİYABETİK NEFROPATİNİN PATOGENEZİ

DN patogenezinde iki önemli mekanizma vardır:

1. Hemodinamik mekanizma,
2. Glikotoksisite ve anormal lipid profili ile oluşan metabolik olaylar (Non hemodinamik mekanizma).

1. Hemodinamik Mekanizma

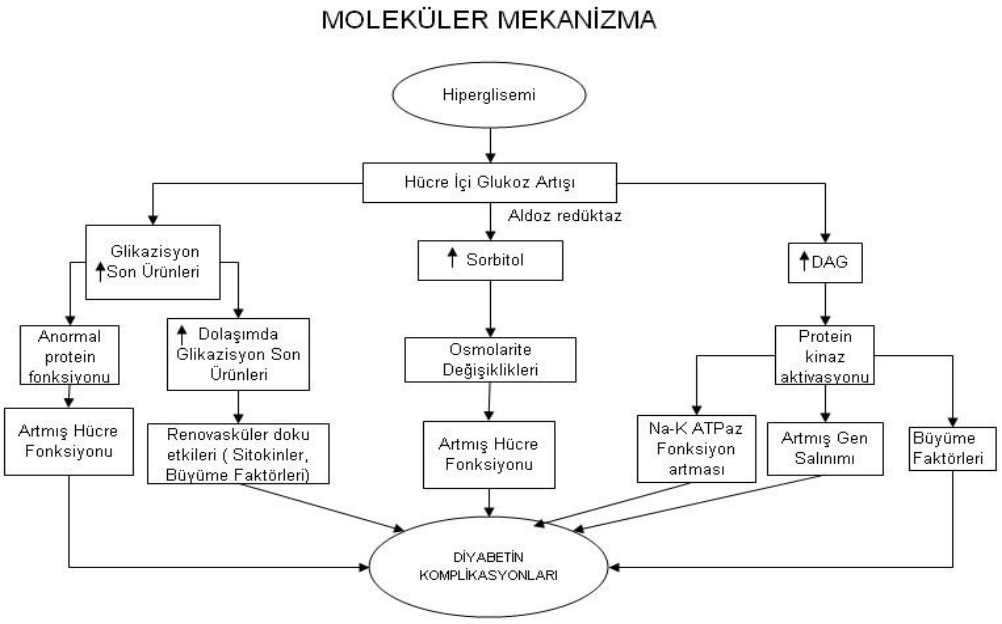
Hemodinamik mekanizmaki erken değişiklikler, glomerüler bazal membranda, tübüler bazal membranda ve bowman kapsülünde kalınlaşmayı içerir. Mezankimal hücrelerde hipertrofi olur. Hipertrofik mezanşimal hücreler ekstraselüler matriks üretimini belirgin olarak arttırırlar. DN, primer glomerül hastalığı olarak kabul edilmişse de son dönemde fonksiyonun bozulma hızının tübülointerstisyel fibrozis ile daha çok ilişkili olduğu kabul edilmektedir. Ayrıca, afferent ve efferent arteriyollerde hızlıca hiyalinozis oluşur. Glomerülere düşen mezankimal hacmin artması sonucunda, glomerüler kapiller yüzey alanı azalır. Bu durum renal fonksiyondaki klinik azalma ile ilişkilidir. Glomerüloskleroz nodüler veya diffüz olabilir. Nodüler glomerüloskleroz diyabetik nefropatinin bir işaretidir ve ancak DN'li hastaların %80'inde yoktur (27). Bu patolojik değişiklikler olurken, filtrasyon alanında ve nefron kitlesinde azalma, kalan nefronlarda daha yüksek kapiller akıma neden olur. Böylece intraglomerüler HT, hiperfiltrasyon ve bazal membrandaki selektif geçirgenlikteki değişiklikler ile hızlanan ilerleyici proteinüri oluşur. Bu süreç; sistemik HT, efferent arteriyollerde vazokonstrüksiyona neden olan AT2 düzeyinin artması, renal vazodilatasyona

ve glomerüler HT'nin artmasına neden olan proteinden zengin diyetl ile hızlanır. Renal fonksiyon bozuldukça sistemik ve glomerüler HT artar ve kısır döngü oluşur (28).

2. Non hemodinamik Mekanizma

Non hemodinamik mekanizmada ise glikotoksisite ve hemodinamik stres hücresel fonksiyonu değiştirerek poliol yolunda aldoz redüktaz yönünde artma oluşturur. İnsüline bağlı olmayan dokularda hücre içi glikoz seviyesi yükselir. Poliol yolunun en önemli enzimi olan ve bu yolun aktivitesini sınırlayan aldoz redüktaz enzimi glikozu sorbitole dönüştürürken, diğer bir enzim olan sorbitol dehidrogenaz, sorbitolü fruktoza çevirir. Sorbitol hücre zarını geçemediğinden hücre içinde birikir (27). Sorbitol birikimi, ozmotik etkilerle piridin nükleotidlerinin redoks durumunu değiştirerek (NADH/NAD+ oranında ve protein kinaz C'de artış) hücre içi miyoinositol seviyelerini azaltır. Bu durum doku hasarına neden olur.

DN patogenezinde genetiğin de rolü vardır. DN, aynı aile içinde birden fazla kişide görülebilir. Pima yerlilerinde yapılan bir çalışmada, Tip 2 DM'li iki kuşağın hiçbirinde, birinde veya her ikisinde proteinüri olan ailelerin çocuklarında sırasıyla %14.3, %22.9 ve %45.9 oranında proteinüri görülmüştür. DM'li hastaların ailelerinde HT, DM veya KVH varlığı nefropatiye yatkınlık oluşturur. Bugüne kadar aday genler ile yapılan çalışmaların büyük bölümünde, DN varlığını kesin olarak gösteren gen saptanmamıştır. Çevresel faktörleri de içeren multifaktöriyel kalıtım ve birden fazla gen, DN etiyolojisinde düşünülmektedir (29).



Şekil 2. Diyabetik nefropati gelişimi moleküler mekanizması (29)

PATOGENEZ VE YAPISAL RENAL DEĞİŞİKLİK

Diyabetik nefropati metabolik ve hemodinamik faktörler arasındaki etkileşimle olur. Hiperglisemiyle oksidatif stres artar renal polioller oluşur ve ileri glikozilasyon son ürünleri böbrekte birikir. Hemodinamik faktörler, sistemik kan basıncında ve glomerüler içi basınçta artış ve vazoaktif hormon yolaklarınının aktivasyonudur. Bu hemodinamik faktörler kendi başına ya da metabolik faktörlerle etkileşerek bazı intraselüler yolakları aktive eder ve diyabetik nefropatideki yapısal ve fonksiyonel değişikliklerin (albuminüri, glomerüler hasar) nedeni olan sitokinlerin yapımını indükler. Diyabetik nefropatide mikroanjiopatik ve makroanjiopatik hasar birlikte görülür. Mikroanjiopati DM nedeniyle uzun dönem hiperglisemiye maruz kalan böbrekte gelişen jeneralize küçük damar hastalığıdır. Arteriol ve glomerüler kapillerlerde yapısal değişiklikler olur. Diyabetik makroanjiopatik hasarlar ise renal arterlerin aterosklerozu, glomerüller ve tubülüslerde iskemik atrofi, infarkt, fibrozis gibi sekeller olarak karşımıza çıkar.

Tip 1 DM ve Tip 2 DM'nin renal lezyonları arasında temel bir farklılık yoktur. Diyabetik nefropatide böbrek boyutları artmıştır (2).

DİYABETİK NEFROPATİNİN PATOLOJİSİ

Diyabetik nefropatinin patolojisinde iki önemli lezyon gözlenir. Bunlar glomerüler lezyonlar ve özellikle arteriolosklerozun neden olduğu renal vasküler lezyonlardır (16).

En önemli glomerüler lezyonlar, kapiller bazal membran kalınlaşması, diffüz glomerüloskleroz ve nodüler glomerülosklerozdur (Kimmerstiel-Wilson lezyonu) (30).

Kapiller bazal membran kalınlaşması; diyabetik mikroanjiopatinin erken lezyonudur ve hemen hemen tüm diyabetik hastalarda gözlenir. Kapiller bazal mebran kalınlaşmasına sıklıkla tubulus bazal membranındaki kalınlaşma da eşlik etmektedir. Glomerüler kapiller bazal membranlar tüm damar boyunca kalınlaşma gösterirler. Bu değişim diyabetin başlangıcından birkaç yıl içerisinde elektron mikroskopik incelemede gözlenebilir (30,31).

Diffüz glomerüloskleroz; mezangial hücre proliferasyonu ve beraberinde mezangial makrikste diffüz artış olarak tanımlanabilir ve her zaman bazal membran kalınlaşması ile ilişkilidir. 10 yıldan fazla süredir diyabetik olan hastaların çoğunda gözlenen bir lezyondur. Glomerülosklerozun belirgin hale gelmesinden sonra hastalarda nefrotik sendrom meydana gelir (30,31).

Nodüler glomerüloskleroz; diffüz glomerüloskleroz zemininde görülür. Lobülün mezangial merkezinde tabakalaşmış matriksin top şeklindeki birikimleri ile karakterize bir glomerül lezyonudur. Tubuler glomerüllerin efferent arteriollerinden kaynaklanan damarlar tarafından beslendiklerinden ileri glomerülosklerozda tubullerde iskemi ve interstisyel fibrozis görülür. Ayrıca nodüllerin içinde mezengial hücrelerin sayısı artmıştır, periferik kapiller kıvrımlarda mikroanevrizmalar görülebilmektedir (31).

Renal ateroskleroz ve arterioloskleroz; diyabetiklerdeki sistemik kan damarı etkilerinin sadece bir parçasıdır. Böbrek, en sık ve en şiddetli etkilenen organdır, fakat arterdeki ve arteriollerdeki değişiklikler tüm vücutta görülenler ile aynıdır (30).

MİKROALBUMİNÜRİ VE PROTEİNÜRİ

Diyabet hastalarında herhangi başka bir nedene bağlı böbrek hastalığı olmadan 6 aylık dönem içinde idrarda en az iki kere varlığı saptanan kalıcı proteinüri DN lehine güçlü bir bulgudur. (32). Albumin diyabetik nefropatide idrarda atılan ana proteindir ve idrarda 300 mg/gün (300 mg/g kreatinin) den yüksek olması proteinüri veya makroalbuminüri olarak tanımlanır (33). Erken dönem DN tanısında ise kalıcı mikroalbuminüri varlığından yararlanılır. Mikroalbuminüri idrar albumin düzeylerinin 30-300 mg/gün (30-300 mg/gr kreatinin) arasında olduğu konsantrasyonlara denir (33,34). Tedavi edilmediği takdirde mikroalbüminürisi bulunan tip 1 diyabetli hastaların % 80’ inde idrar albumin atılımı her sene % 10-20 hızla artarak 10-15 sene içinde aşikar nefropatiye ilerler. Tip 2 diyabetli hastaların ise % 20-40’ı diyabetik nefropatiye ilerler (35). Diyabet tanısı alan bir hastanın normoalbuminüriden mikroalbuminüriye, mikroalbüminüriden diyabetik nefropatiye, nefropatiden son dönem böbrek yetmezliğine yıllık ilerleme hızı sırasıyla; % 2.0, % 2.8 ve % 2.3’dür (36).

DN kesin tanısı halen renal biyopsi ile koyulmaktadır. Ancak bu invazif yöntemin uygulanmadığı durumlarda makroalbüminüri ile birlikte diyabetik retinopatinin bulunması tanıyı güçlendirmektedir. Tip 1 diyabettte diyabetik nefropatiye retinopati % 90’dan fazla oranda, Tip 2 diyabetli hastalarda hastaların % 60’ ına eşlik eder (37). ADA, Tip 2 DM'e tanı konulduğunda ve Tip 1 DM'e tanı konulduktan 5 yıl sonra mikroalbüminüri taraması yapılması; sonra yılda 1 kez taramaya devam edilmesini önermektedir (38).

Mikroalbüminüri taraması 3 yöntemle yapılabilir (38);

1. Spot idrarda albümin/kreatinin oranının ölçümü
2. 24 saatlik idrarda ölçüm
3. Zamana dayalı idrarda ölçüm (4 veya 8 saatlik)

Spot idrarda albümin/kreatinin oranının saptanması 24 saat boyunca idrar toplamaktan daha pratik bulunmuştur ve doğru sonuç verdiğinden tercih edilmektedir. Albümin atılımında bilinen diürnal varyasyon nedeniyle sabah ilk idrar veya sabah idrarları en idealidir. Fakat bu zamanlama kullanılamıyorsa, aynı bireyde farklı dönemlerdeki ölçüm aynı saatlerde yapılmalıdır (39).

Tablo 1. İdrar protein atılımında değişiklikler (38)

Kategori	Spot idrar albumini (mg/gr kreatinin)	24 saatlik idrar albumini (mg/24 saat)	Süreli idrar albumini (µg/dakika)
NORMAL	<30	<30	<20
MİKRO ALBUMİNÜRİ	30-299	30-299	20-199
KLİNİK ALBUMİNÜRİ	≥300	≥300	≥200

DİYABETİK NEFROPATİNİN EVRELERİ

1-Glomerüler Hiperfiltrasyon

İlk DM tanısı esnasında mevcuttur. Böbrekler büyümüş ve süzme fonksiyonu artmıştır. Kan şekerinin kontrolü ile bu durum birkaç haftada düzelir (40).

2-Normoalbuminüri

24 saatlik idrar albumin atılımının 30 mg'ın altında olması normoalbuminüri olarak adlandırılır. Sadece böbreğin mikroskopik incelemesinde anormallikler vardır. DM başladıktan birkaç yıl sonra ortaya çıkar, onlarca yıl sürebilir yani bazı hastalarda ciddi böbrek hastalığı oluşmaz. (40).

3-Yerleşmekte Olan Albuminüri

Mikroalbuminüri evresidir. Mikroalbuminüri 24 saatlik idrar albumin atılımının 30-299 mg olmasıdır. Nefropatinin ilerlemesini anlamak için önemli bir göstergedir (40).

4-Açık Nefropati

İdrarla protein kaybının rutin, basit testlerle saptanabildiği dönemdir. Böbreğin süzme fonksiyonu azalmaya başlar yani kanda üre, kreatinin gibi maddeler birikmeye başlar. Bu dönemde GFR ve kreatinin normal bulunabileceğinden hipertansiyon, retinopati gibi diğer anjiyopatik komplikasyonlar da birlikte değerlendirilmelidir (40).

5-Son Dönem Böbrek Yetmezliği

Ağır hipertansiyon, üre, kreatinin yüksekliği vardır. Üremi ile birlikte sıvı retansiyonu, ödem gibi diğer komplikasyonlar da görülmeye başlar. Tedaviye yönelik olarak hemodiyaliz önerilebilir. (40).

DİYABETİK NEFROPATİNİN KLİNİK ÖZELLİKLERİNE GÖRE SINIFLANDIRILMASI

1-Artmış Risk

Ailede hipertansiyon ve diyabet bulunması yaşam tarzını düzenlenmesini gerektirir.

2-Evre 1

Glomerüler filtrasyon hızı yüksek veya normaldir. Diyabetin başlangıcından itibaren 5-10 yıl geçmiştir. Retinopati bulunabilir ve kan basıncı yükselme eğilimindedir. Mikroalbuminüri mevcuttur.

3-Evre 2

Glomerüler filtrasyon hızı genellikle normaldir. Diyabetin başlangıcından itibaren 10-15 yıl geçmiştir. Retinopati ve yüksek tansiyon mevcuttur. Aşikar albuminüri bulunur.

4-Evre 3

Glomerüler filtrasyon hızı 60 -89 mL/dak/1.73m2 arasındadır. Hipertansiyon, retinopati, kardiyovasküler hastalıklar ve diğer diyabet komplikasyonları oluşmuştur.

5-Evre 4

Glomerüler filtrasyon hızı 30 -59 mL/dak/1.73m2 arasındadır. Diyabet komplikasyonları oluşmuştur.

6-Evre 5

Böbrek yetmezliği evresidir. GFR<29 'dur. Üremi mevcuttur. Diyaliz ve transplantasyon hazırlığı yapılır (41).

Tablo 2. Diyabetik Nefropatinin Evreleri (Mogenson sınıflaması)

1. Hiperfiltrasyon dönemi	
Histopatoloji	Böbrek ve glomerül büyüktür
GFR	Normal GFR'nin %20-40'ı kadar artmıştır.
Proteinüri	Belirgin albüminüri yoktur.
Kanbasıncı	Normaldir.
Tedavi	Hiperglisemik tedavi ile düzelir
2. Normoalbüminürik dönem	
Histopatoloji	Bazal membran kalındır(ilk yılda başlar)
GFR	Normaldir.
Proteinüri	15-20µg/dk albüminüri kadardır.
Kanbasıncı	Normaldir 1 mmHg/yıl artmaya başlar
Tedavi	Hiperglisemik tedavi ile düzelebilir.
3. Mikroalbüminürik dönem	
Histopatoloji	Bazal membran kalın, mezengium geniştir.
GFR	Normal
Proteinüri	20-200µg/dk veya 30-300 mg/gün mikroalbüminüri kadardır.
Kanbasıncı	Artmaya başlar
Tedavi	Hiperglisemi ve antihipertansif tedavi ile düzelebilir.
4. Makroalbüminürik dönem	
Histopatoloji	Diffüz interkapiller glomeruleskleroz, mezengial genişleme
GFR	Azalmıştır (Yaklaşık 10 ml/yıl azalır)
Proteinüri	Mikroalbüminüri >300 mg/gün
Kan basıncı	Artmıştır
Tedavi	Hiperglisemi ve antihiperglisemik tedaviyle GFR daha az düşer
5. Son dönem böbrek yetersizliği	
Histopatoloji	Belirgin glomerulosklerozvardır.
GFR	< 15 ml/dk'dan azdır.
Proteinüri	Glomerulosklerozgelişince azalır.
Kanbasıncı	Çok yüksektir.
Tedavi	Tüm tedaviye karşın geri dönüşü yoktur. RRT gerekli

DİYABETİK NEFROPATİDE RİSK FAKTÖRLERİ

Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi ve Diyabetik Nefropati

Diyabetik nefropati patogenezinde Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi önemli bir faktördür. RAAS'ın inhibe edilmesiyle diyabetik hastaların böbreklerindeki hasarın durduğu görülmüştür. Transgenik gen (mRen-2) reninin aşırı salınımına neden olur. Bu geni taşıyanlarda RAAS daha çok salınır ve nefropatinin progresyonu hızlanır. Benzer ACE geni plazma ACE aktivitesinin artmasına neden olur ve nefropatiye eğilimi arttırır (42). ACE aktivitesi ACE geninin polimorfizimi ile yakından ilişkilidir. ACE geninin varlığı, insertion (I), yokluğu deletion (D) olarak adlandırılır. DD genotipe sahip kişilerde ACE düzeyi en yüksektir (%126). II genotiplilerde ACE düzeyi %76 iken, heterozigot ID 'de %100'dür (43). RAAS'ı etkileyen, nefropati ile ilişkili çok sayıda genetik çeşitlilik vardır (25).

ACE inhibitörleri ve Diyabetik Nefropati

Diyabetli hastalarda yapılan çoğu çalışmada nefropati, kardiyovasküler olayları ve mortaliteyi azalttığından, hipertansif diyabetlilerde tedaviye ACE inhibitörü ile başlanması önerilir (44). Nefropati olsun ya da olmasın ACE inhibitörleri diyabetik hipertansiflerde tercih edilen ilaçlardır. Diyabete bağlı böbrek hastalığının önlenmesinde yararlı olduklarının gösterilmesi ACE inhibitörlerinin diyabetik hipertansiyon tedavisinde özel bir önem kazanmasını sağlamıştır (45). The Heart Outcomes Protection Evaluation (MICRO-HOPE) çalışmasında diyabetik ve hipertansif hastalarda ACE inhibitörlerinin sol ventrikül hipertrofisine engel olduğu, tüm kardiyovasküler olayları azalttığı ve albuminüriyi gerilettiği kanıtlanmıştır. Normotansif ve mikroalbuminürili hastalarda 4,5 yıl sonunda idrarda albümin atılımında %25, kalp krizi riskinde %22, inme riskinde %33, kardiyovasküler ölümlerde %37, toplam ölümlerde %24 azalma olduğu gösterilmiştir (46).

Anjiyotensin Reseptör Blokerleri ve Diyabetik Nefropati

Anjiyotensin II' nin AT1 reseptörünü bloke eden Anjiyotensin Reseptör Blokerleri (ARB), tüm antihipertansifler içinde en iyi tolere edilen ve hasta uyumu en fazla olan ilaçlardır. ACE inhibitörlerine benzer oranda kan basıncı düşmesi ve proteinüride azalma sağladıkları yönünde bulgular vardır(47). Reduction of end points in NIDDM with the Angiotensin II Antagonist Losartan (RENAAL) ve Irbesartan Diabetic Nephropathy Trial (IDNT) çalışmalarında sırasıyla losartan ve irbesartanın Tip 2 diyabeti bulunan aşikar nefropatili hastalarda serum kreatininin iki katına çıkması, SDBY başlangıcı ve mortalite üzerine etkisi, Irbesartan Micro-Albuminuria in type 2 diabetes (IRMA-2)'de ise irbesartanın Tip 2 DM'li hastalarda mikroalbuminüriden makroalbuminüriye ilerleme üzerine etkisini araştırmışlardır (47,48). Bu üç çalışmada, ARB'lerin renin anjiyotensin sistemini inhibe eden konvansiyonel tedavilerle karşılaştırıldığında bazal proteinüriyi %33-38 arasında azalttığı rapor edilmiştir. RENAAL ve IDNT çalışmalarında ARB'lerin serum kreatinin düzeylerinin ikiye katlanmasını engellediği ve böbrek fonksiyon kaybını yavaşlattığı görülmüştür. Ancak tüm nedenlerden ölümlere bakıldığında istatistiksel fark saptanmamıştır. IRMA-2'de ARB ile mikroalbuminüriden makroalbuminüriye ilerlemenin azaldığı rapor edilmiştir. Sonuç olarak; diyabetik nefropatili hastalarda ACE inhibitörü ve ARB kombinasyonunun maksimum dozda kullanılması en etkin tedavi şeklidir.

Glomerüler Filtrasyon Oranı ve Diyabetik Nefropati

Diyabetik nefropati gelişiminde pek çok faktörün rol oynadığı bilinmektedir. Özellikle nefropatinin başlangıç döneminde, GFR ve efektif renal plazma akımının arttığı ve bu değişimlerin normoalbuminürik dönemde başladığı gösterilmiştir. Beş yıldan daha az süreli Tip 1 diyabeti olan hastaların yaklaşık yarısında GFR normalin %25–50 gibi yüksek bir orandadır. Glomerüler hiperfiltrasyonu olan hastalarda diyabetik böbrek hastalığı için yüksek risk görülmektedir. Özellikle başlangıç GFR 150 mL/dk'nin üzerinde ise nefropati gelişimi için aşikardır. Ancak, hiperfiltrasyon daha az derecede etkilenen ve mikroalbüminüri için gelişmiş risk altında olan hastalarda nefropati daha yavaş bir seyir gösterebilir (49).

Glisemik Kontrol ve Diyabetik Nefropati

Her iki diyabet tipinde de glisemik kontrol, nefropatiden korunmak için ilk adımdır. HbA1c düzeyinin %8 'in üzerinde olması başlangıç nefropatisi ile yakından ilişkilidir. Çalışmalar, başlangç nefropatisinde olduğu kadar aşikar nefropatide de glisemik kontrolün GFR' nin düşüş oranıyla yakından ilişkili olduğunu göstermiştir (50). Tip 1 diyabet hastalarında The Diabetes Control and Complications Trial (DCCT), Tip 2 diyabet hastalarında da UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) glikozile hemoglobin düzeyi (HbA1c) ile böbrek ve göz bulgularının güçlü ilişki içinde olduğunu göstermiştir. Ayrıca DCCT çalışması yüksek HbA1c'nin nefropati açısından ilerlemeyi arttırdığını göstermiştir (51). UKPDS' de ise Tip 2 diyabetik hastaların başlangıç nefropati aşamasında aşikar nefropatide etkili olduğu kanıtlanmıştır (52).

Dislipidemi ve Diyabetik Nefropati

Tip 2 diyabet metabolik sendromun bir bileşenidir. Metabolik sendrom ise bozulmuş glikoz toleransı, insülin rezistansı, obezite, hipertansiyon ve dislipideminin birlikteliğidir. Bu metabolik bozukluklar mikroalbuminüri ile ilişkilidir (53).

Diyabetik hastalarda hedef düşük yoğunluklu lipoprotein kolestrolü (LDL-C) < 100 mg/gün, diyabetle birlikte kardiyovasküler hastalığı olanlarda < 70 mg/gün'dür. Diyabetik hastalarda lipid düşürücü tedavinin GFR yi koruduğu ve proteinüriyi azalttığı gösterilmiştir (54).

Cinsiyet Yaş ve Diyabetik Nefropati

Kadın hastalar DN prevalans ve ilerlemesi açısından daha yüksek risk taşırlar. Bu cinsiyet farklılıkları özellikle Tip 1 diyabetli hastalarda nefropatinin başlangıç yaşıyla ilgilidir.

Nefropati genellikle puberte ile menopoz öncesi dönemde oluşur. Menopoz sonrası dönemde erkek ve kadın arasındaki fark ortadan kalkar. Cinse bağlı nefropati gelişimi farkının böbrek kitle oranı, kan basıncı, cinsiyet hormonları ve lipit farklarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Cinsiyet hormonları nefropatiyi direkt etkilemektedir. Hormonlar renal hipertrofi ve glomerüloskleroza neden olmaktadır (55).

Demir depolarındaki farklılık da DN gelişimini etkilemektedir. Kadınlar puberte ile menopoz arasında daha düşük demir deposuna sahiptirler. Erken diyabetik nefropatili hastalarda proksimal tubuluslarda demir konsantrasyonunun arttığı gösterilmiştir. Demir, oksidatif stres yaratarak tübüler zedelenmeye neden olmaktadır. Bu mekanizma ile Beta Talasemili hastalar ve hemokromatosizli diyabetli hastalarda nefropati oluşma riski diğer hastalara göre daha yüksektir (56).

Hiperglisemi ve Diyabetik Nefropati

Hiperglisemi, hem Tip 1 hem de Tip 2 DM' de, mikroalbuminüri gelişimi için önemli bir risk faktörüdür (57). Mikro ve makroalbuminüri varlığında metabolik kontrolün rolü daha azdır ve bazı çalışmalar GFR'de yüksek glikoz düzeylerinin zararlı etkisini göstermektedir. Son zamanlarda mikrovasküler komplikasyonları azaltmak için DM'da yoğun tedavinin önemi üzerinde durulmaktadır (58).

Sigara Kullanımı ve Diyabetik Nefropati

Tip 2 diyabet hastalarında sigara kullanımı nefropati için bağımsız risk faktörü olup böbrek fonksiyon kaybını hızlandırır. Sigara içen diyabetiklerde mikroalbuminüri gelişimi ve SDBY'ne gidiş riski içmeyenlere göre daha fazladır. Tip 1 diyabet hastalarında sigarayı bırakmanın böbrek fonksiyon kaybını yavaşlattığı ve hastalığın ilerleme riskini %30 azalttığı bilinmektedir. Tip 2 diyabetiklerde sigarayı bırakmanın böbrek koruyucu etkisi gösterilmemiş olmakla birlikte kardiyovasküler riski azalttığı gibi renovasküler riski de azaltması beklenebilir (59,60)

Kan Basıncı Kontrolü ve Diyabetik Nefropati

Nefropati başladıktan sonra tablonun ilerlemesine yol açan en önemli risk faktörü hipertansiyondur. Normal bireylerde glomerüler mikrodolaşımı sistemik kan basıncındaki değişikliklere karşı glomerül öncesi yüksek basınç tarafından korunur. Diyabetik nefropatili hastalarda ise afferent arteriyollerde vazodilatasyon nedeniyle aort basıncının önemli bir bölümü glomerül yatağına aktarılır. Böylece glomerül kapiller basıncı, normal kan basıncı

değerinde bile yükselir ve bu artış sistemik hipertansiyon varlığında daha da belirgin hale gelir (45).

Bir çok çalışmada mikroalbuminüri başlaması ile kan basıncının yükselmeye başlaması arasında yakın ilişki bulunmuştur. Mogensen, aşikar nefropatili hastaların hipertansiyon varlığında böbrek yetmezliği gelişmesini hızlandırdığını göstemiş ve ortalama arteriyel kan basıncının 90'nın üstünde olmasının GFR'deki düşüş oranını arttırdığını saptamıştır (29). Framingham çalışmasında; makrovasküler olaylarda diyastolik kan basıncından çok sistolik kan basıncının nefropati gelişmesinde önemli olduğunu vurgulamıştır (61).

HİPERTANSİYON

Hipertansiyon, endüstri toplumlarının birçoğunda erişkin nüfusun %25'ini etkileyen temel sağlık sorunudur (62). Arterlerde ölçülen kan basıncının normal kabul edilen değerlerin üzerinde olması olarak tanımlanır. Epidemiyolojik verilere göre otuzlu yaşlarda %20-25 olan HT prevalansının 60 yaş ve üzerinde %50'lere çıktığı gösterilmiştir (63). Ülkemizde HT prevalansının erişkin erkeklerde %36,3 erişkin kadınlarda ise %49,1 olduğu bulunmuştur (64). Kan basıncı vücudun aktivitesine bağlı olarak değişiklik gösterebileceği gibi günün saatlerine göre de değişiklik gösterir. En yüksek kan basıncına sabah saat 8-12 arasında rastlanır.. Son yıllarda HT seviyesi gittikçe aşağı seviyelere çekilerek 160/9 5mmHg'lerden 140/90 mmHg seviyelerine inmiştir. HT sınıflaması Tablo 3'deki gibidir.

Tablo 3. Hipertansiyon Sınıflaması (65).

Kan Basıncı Sınıfı	Sistolik Kan Basıncı	Diyastolik Kan Basıncı
Normal	<120	Ve < 80
Prehipertansiyon	120-139	Veya 80-89
Evre 1 Hipertansiyon	140-159	Veya 90-99
Evre 2 Hipertansiyon	≥160	≥100

HİPERTANSİYON PATOGENEZİ

Kan basıncının oluşumunda kalp debisi ve periferik damar direnci rol oynar ve bu faktörleri etkileyen nedenler hipertansiyona yol açar. Hipertansiyonun patogenezinde birden fazla faktör rol almaktadır. Bu faktörler arasında genetik faktörler, böbrekten tuz atılım yetersizliği, renin anjiyotensin sistemi, sempatik sinir sistemi, kalp atım hacmini arttıran

faktörler, periferik damar direnci, vasküler hipertrofi, endotel kökenli faktörler ve insülin direnci yer alabilir. Bu faktörlerin hepsi hastalığın etiyolojisinin belirlenmesinde rol almaktadır (66).

HİPERTANSİYON-BÖBREK İLİŞKİSİ

Hipertansiyonun böbrek fonksiyon bozukluğu ile ilişkisi olduğu kavramı ilk kez 1800'li yıllarda Bright tarafından öne sürülmüştür. Bright kalbin hipertrofisi ile böbreğin küçülmesi arasındaki ilişkiyi tanımlamış ve bunun nedeninin böbrek yetmezliğinde biriken iritan humoral maddelerin daralttığı damarların kan pompalama gereksiniminin arttırdığı kardiyak yükü olarak tanımlamıştır. Renal hipertansiyonda sıvı birikiminin rolü ise ilk kez 1871 yılında Traube tarafından ortaya konmuştur ve renal parankimin büzüşmesi sonucu 39 üriner sekresyon yolu ile arterial sistemden uzaklaştırılan sıvı miktarının azaldığını, sonuçta hipertansiyon ortaya çıktığını ileri sürmüştür (62).

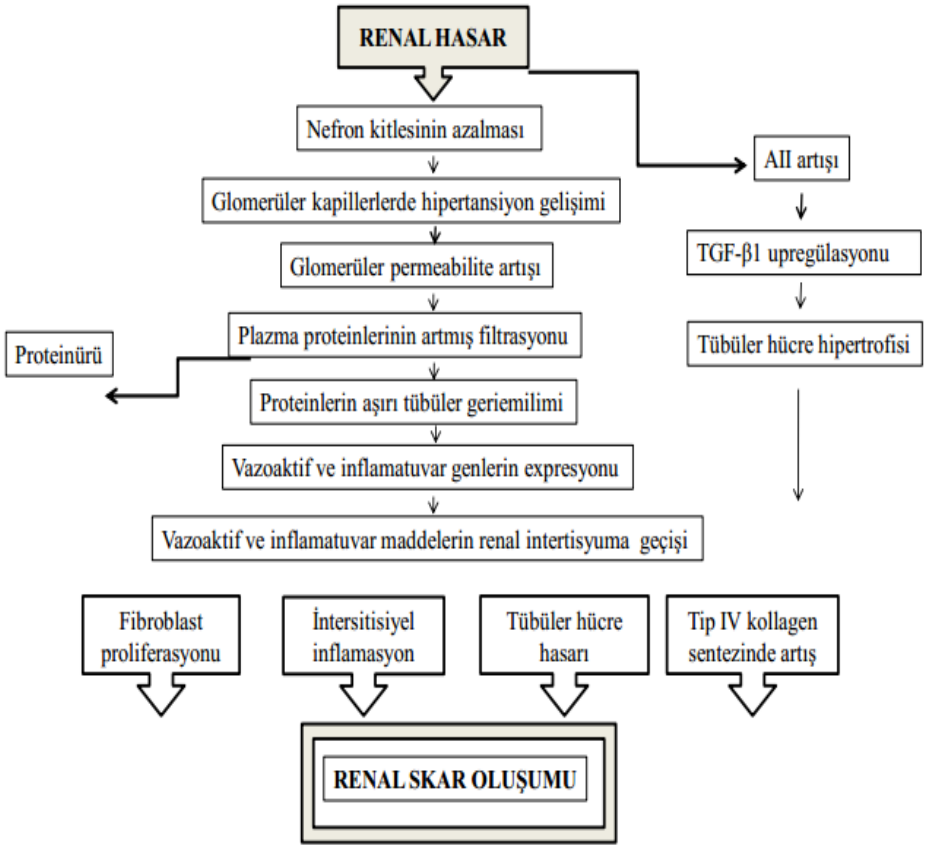
Böbreğin histolojisi normal olsa bile esansiyel hipertansiyonun patogenezinde merkezi rol aldığı düşünülmektedir. Son dönem yapılan çalışmalarda hipertansiyonun Mendeliyan geçişli şekilli ilişkin 8 gende mutasyon olduğunu göstermişlerdir. Bu genetik bozuklukların her birinde renal tübüler sodyum geri emilimi artmakta (bozulmuş natriürez) ve tuz duyarlı hipertansiyon ortaya çıkmaktadır. Ayrıca primer renal parankim hastalıklar ve renal damarlardaki anormallikler sekonder hipertansiyona neden olabilmektedir. Diğer yandan böbrekler hipertansiyon yükünden rahatsız olmaktadır. Ayrıca DN ve diğer primer böbrek hastalığı nedenlerine bağlı olarak kronik böbrek yetersizliğinin ilerlemesinde hipertansiyonunun temel bir progresyon faktörü olduğu görülmektedir.

Bu karmaşık ilişkiye başka bir açıdan bakıldığında kan basıncı düzenlenmesinde Ohm kanunlarına göre arteriyel kan basıncı kardiyak debi ile sistemik vasküler direncin çarpımı tarafından belirlenmektedir. Yani hipertansiyon iki değişkenden birinin artışına bağlı olarak değişir. Bu durumda böbreğin ektrasellüler sıvı (ESS) hacminin düzenlenmesindeki merkezi rolü nedeniyle kan basınıcı üzerinde çok önemli bir etkisi olduğu gözlenmektedir. Böbrekte su ve tuz tutulumu, ESS hacmimin artmasına, kan hacminin artmasına, venöz dönüş ve dolum basıncına neden olmakta ve bunların sonucunda kalp debisinin arttırarak hipertansiyona neden olmaktadır (62).

Hipertansiyonun erken dönemlerinde böbrekte kan akımında azalma olmasına rağmen filtrasyon fraksiyonunda artış olur. Böylece glomerüler filtrasyon değerinde bir değişiklik gözlenmez. Hipertansiyonun böbrekte oluşturduğu yapısal değişiklikler benign ve malign arteriyoler nefroskleroz olarak incelenir. Benign arteriyoler nefrosklerozda görülen vasküler değişiklikler tüm vasküler sistemde hipertansiyonun yol açtığı değişikliklerin bir parçasıdır,

hipertansiyonun süre ve şiddetine bağlıdır. Tipik lezyon her büyüklükteki damar duvarında kalınlaşmadır. Malign arteriyoler nefrosklerozda ise histopatolojik bulguları intimal proliferasyon ve fibrinoid nekrozdur. Hipertansif hastalarda saptanan bu yapısal ve fonksiyonel değişikliklerin bir kısmının ise hipertansiyonunun nedeni mi sonucumu olduğu halen tartışılmaktadır. Hipertansiyonun ülkemizde de SDBY nedenlerinden biridir. Türk Nefroloji Derneği verilerine göre son dönem böbrek yetmezliğinin %25'i hipertansiyona bağlıdır (66).

Deneysel çalışmalara bakıldığında, ilk kez 1934 yılında Goldblatt ve ark.ları hayvan deneylerinde böbrek damarlarında daralma meydana getirerek HT oluşturmuşlar ve HT patogenezinin anlaşılmasına katkıda bulunmuşlardır (62). Goldblatt hipertansiyonun bir diğer şekli olan iki böbrek/bir klips hipertansiyonunda bir böbreğe dokunmayıp diğer böbreğin arterini klipslemiştir. Bu şekilde oluşturulan insanlardaki unilateral renal arter stenozu ile benzerdir. Bu modelde bir arterin sıkıştırılması ile iskemik böbrek tarafından renin üretiminin artması sonucunda kan basıncında hızlı bir yükselme olur. RAAS'ın aktivasyonu, AT2'ye bağlı vazokonstrüksiyona ve iskemik böbrekte olduğu kadar karşı böbrekte de natriüzrezin bozulmasına ve hipertansiyona yol açar (39) (Şekil 3).



Şekil 3. Hipertansiyonda renal hasar oluşum mekanizması

Böbreğin az kanlaması renin anjiyotensin mekanizması stimülasyonu ile hipertansiyona neden olur.

KLASİK (SİSTEMİK) RENİN ANJİYOTENSİN ALDOSTERON SİSTEMİ

Renin

Finli fizyolog Robert Tigerstedt ve İsveçli öğrencisi Per Bergman 1896-1897 yılları arasında Karolinska Enstitüsünde yaptığı deneylerde renini keşfetmişlerdir. Tavşan böbreği korteks emülsiyonlarının kan basıncını yavaşça artırdığını gözlemlemişler, ısıtma ile etkisi kaybolan bu maddenin bir protein olduğunu düşünmüşler ve bu proteine 'renin' adını vermişlerdir (67). Prorenin katepsin B enzimi ile renine dönüşmektedir. Aktif renin, Anjiyotensinojenin (AGT) Anjiyotensin I'e (AT1) dönüşümünde sadece enzim olarak davranan, biyolojik olarak aktif olmadığı düşünülen, yaklaşık 40 kDa ağırlığında aspartil proteazdır. Esas olarak afferent arteriol jukstaglomerüler hücrelerinde, daha az oranda da özelleşmiş, düz kas benzeri hücrelerde sentezlenir. Gen lokalizasyonu 1. kromozomdadır. Jukstaglomerüler aparat hücrelerine giden sempatik sinirlerin uyarılması, böbrek kan akımının azalması, tübüluslara geçen ultrafiltratın Na+ düzeyinin azalması, böbrekteki renin salınımını uyarır (68).

Anjiyotensinojen (AGT)

50-100 kDa ağırlığında, büyük oranda karaciğerde olmak üzere böbrekler, adrenal glandlar, akciğer, kalp, vasküler dokular, testisler ve gastrointestinal traktusda da sentezlenen bir alfa 2 globulindir. Renin aracılığıyla AT1'e dönüşür ve organizmadaki etkinliği net olarak bilinmemektedir. Plazmadaki konsantrasyonu glikokortikoidler, östrojen ve oral kontraseptiflerle artmaktadır (69).

Anjiyotensin I (AT1)

Dolaşımdaki AT1'in %90'ı, ACE aracılığıyla akciğerde yüksek biyoaktiviteli AT2'ye dönüştürülür (68).

Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim

Yapısında iki çinko grubu bulunan bir metalloproteaz olan ACE, AT1'in AT2'ye dönüşümünde ve bradikinin yıkımında da rol aldığı için, RAAS ve kallikrein-kinin sisteminde kilit görev yapar. Bradikininin inaktif peptidlere dönüşmesini sağlayan ACE, kininaz II olarak da adlandırılır. ACE inhibisyonu, dokularda kininlerin (bradikinin ve

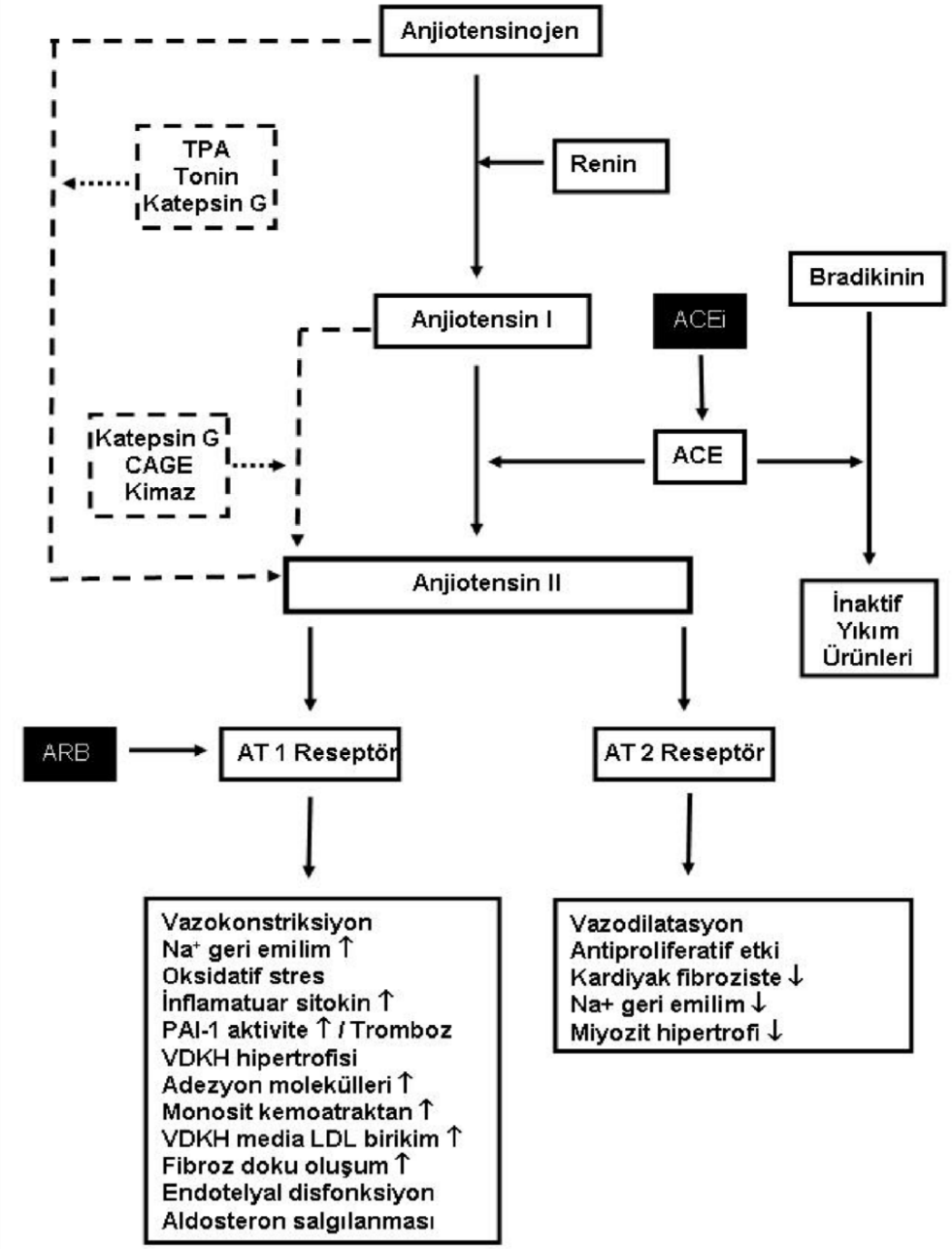
kalidin) birikmesine bağlı anjiyoödem, kuru öksürük, boğazda kuruma ve gıcıklanma gibi yan etkilere yol açabilir. Gen lokalizasyonu 17. kromozomda olan ACE'nin iki ayrı mRNA ile kodlanan iki formu vardır. Yüksek molekül ağırlıklı formu (170 kD) endotel, epitel, nöronal hücrelerde, düşük moleküler ağırlıklı (90kD) formu ise germinal hücrelerde bulunur. Organizmadaki dağılımı yaygın olan ACE, öncelikle damar endoteli, kalp, adrenal bezler ve akciğerlerde bulunur. Fizyolojik koşullardaki en yüksek ACE etkinliği, akciğer endotelinde bulunduğundan AT1'in çoğu akciğerlerde AT2'ye dönüşür (70,71).

Anjiyotensin II (AT2)

AT2, RAAS'ın asıl aktif mediatörüdür. ACE, dolaşımla akciğerlere taşınan AT1'in karboksi ucundaki iki aminoasiti uzaklaştırıp aktif oktapepid olan AT2'ye dönüştürür (53). AT2 oluşmasını sağlayan alternatif yollar da vardır. Örneğin bazı patolojik durumlarda kimaz aracılığıyla AT1'den AT2 oluşmaktadır. Normalde vasküler dokuda aktif olmayan kimaz enzimi, hasarlanmış ve aterosklerotik damar duvarlarında aktive olur ve AT2 oluşumunu sağlar. İnterstisyel sıvıda bulunan serin proteaz inhibitörleri, kimaz enzimini etkin şekilde inhibe ederler (67).

Aldosteron

Başlıca AT2 ve potasyumun etkisiyle adrenal korteks zona glomerüloza tabakasında sentezlenen steroid hormondur. Aldosteronun, ter ve tükrük bezleri, renal tübüler epitel ve distal kolondan sodyum emilimini ve potasyum salınımını uyarması genomik 20 aksiyonlarla oluşur. Etkisini bu hücrelerdeki özgün nükleer reseptörler aracılığıyla yapar. Yakın zamandaki çalışmalarda, aldosteronun nongenmik etkilerinin olduğu da gösterilmiştir. Nongenomik etkilerini, klasik mineralokortikoid inhibitörlere duyarsız olan reseptörler aracılığıyla doğrudan gerçekleştirmektedir. Protein kinaz C ve kalsiyum artışına yol açarak kalp, damarlar ve böbrekte inflamasyon ve fibrozisi uyarmaktadır. AT2'ye benzer şekilde, dokuda kolajen birikimini artırarak miyokardda fibrozise neden olmaktadır (73).



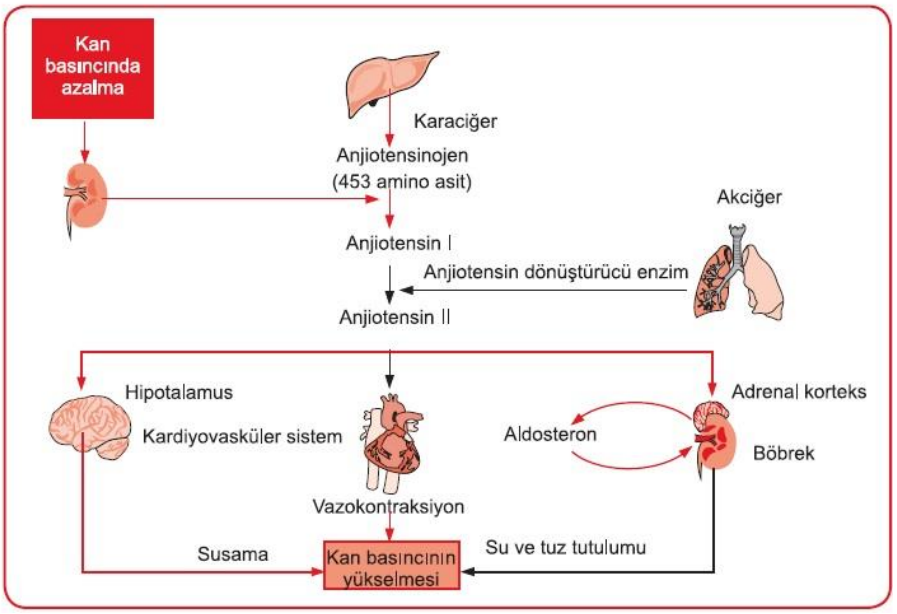
Şekil 4. Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi

TPA: Tissue plasminojen aktivatör; **CAGE:** Kimostatin-duyarlı anjiyotensin II oluşturucu enzim**; AT1:** Anjiyotensin II tip 1 reseptörü; **ARB:** Anjiyotensin II tip 1 reseptör blokerleri; **Na+:** Sodyum; **PAI-1:** Plazminojen aktivatör inhibitörü-1; **VDKH:** Vasküler düz kas hücre; **LDL:** Low density lipoprotein; **ACE:** Angiotensin converting enzyme; **ACEi:** Angiotensin converting enzyme inhibitor.

RENİN ANJİYOTENSİN ALDOSTERON SİSTEMİ

Renin anjiyotensin aldosteron sistemi bir hormon kaskadı olup, böbrekteki jukstraglomerüler hücrelerden renin salgılanmasıyla başlar. Renal perfüzyonda azalma ve artmış sempatik aktivite renin salgılanmasının başlıca uyaranlarıdır. Renin karaciğerde üretilen AGT'nin AT1'e dönüşümünü sağlar. AT1'in kan basıncı üzerindeki etkisi minimaldir. AT1 akciğerlerde bulunan ACE sayesinde AT1'e dönüşür. AT2, ACE dışı

yollarla (kimaz, katepsin G, kimostatin duyarlı AT2 oluşturucu enzim gibi lokal doku enzimleriyle) da meydana getirilir (74).



Şekil 5. Renin anjiyotensin aldosteron sistemi (74)

Bu sistem hem diyabete bağlı olan hem de diyabete bağlı olmayan böbrek hastalığının ilerlemesinde önemlidir. RAAS aktivasyonu diyabete bağlı böbrek hastalığının hem gelişiminde hem de ileri evrelerinde önemli rol oynamaktadır. RAAS ayrıca kan basıncının regulasyonunda, sıvı ve elektrolit dengesinde rol oynamaktadır (75).

Renin anjiyotensin aldosteron sisteminin hipertansiyon patogenezinde oynadığı rolün yanısıra, AT2 ayrıca ekstraselüler matriks birikimini ve fibrozisi uyaran fibroblast büyüme faktörü, trombosit türevli büyüme faktörü, dönüştürücü büyüme faktörü beta gibi sitokinlerin sentezini arttırarak da doğrudan kronik böbrek hastalığının ilerlemesini hızlandırır (76).

AT2 düz kas proliferasyonunu sağlayan ve ekstraselüler proteinlerin plazmin tarafından parçalanmasını engelleyen plazminojen aktivatör inhibitörü I (PAI-1) ekspresyonunu arttırır (75).

AT2 aynı zamanda adrenal bezlerden aldosteron salınımını da uyarır. RAAS'ın son ürünü olan aldosteronun da böbrek hastalıklarında önemli rolü olduğu ve kimi etkilerinin AT2'den bağımsız olduğu öne sürülmüştür. AT2 düzeyleri düşük olan primer hiperaldosteronizmli hastalarda albüminüri insidansının esansiyel hipertansiyonlu hastalardan daha fazla olduğu ortaya konulmuştur (75). Aldosteron tuz tutmaya ikincil kan

basıncını yükseltici etkisinden bağımsız olarak PAI-1 üretimini arttırmak gibi başka mekanizmalarla da kardiyak ve böbrek fibrozisine yol açar (77,78).

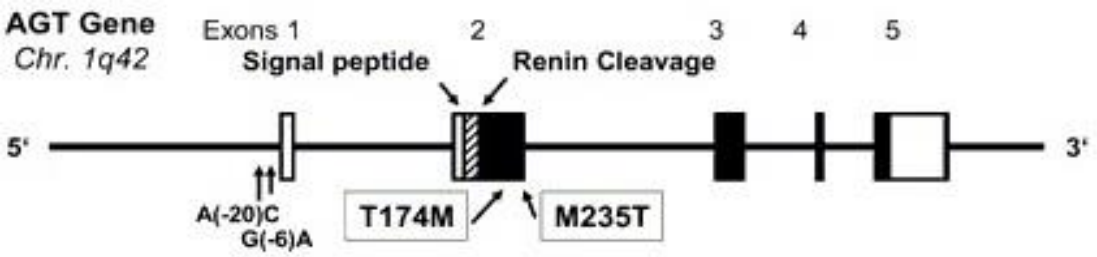
Birçok anjiyotensin reseptörü olduğu saptanmıştır. İnsanlarda etkili olduğu düşünülen en az iki adet anjiyotensin reseptörü vardır. Bunlar AT1 ve AT2 reseptörleridir. Anjiyotensinin hemodinamik etkilerinin çoğunu ortaya çıkaran AT1 reseptörü olup bu reseptör damar düz kas kontraksiyonu, kalp ve damarlarda hipertrofi, aldosteron salgılanması, pitüiter bezden arginin vazopressin salgılanması gibi olaylarda, aynı zamanda hücre proliferasyonu ve doku 'remodelling'de de rol oynar (74,79). AT2 reseptörünün ise tartışmalı olmakla beraber AT1 reseptörünün tersi yönde antiproliferatif ve vazodilatör etkiler gösterdiği düşünülmektedir. ACE inhibitörleri anjiyotensin üretimini azalttıkları için hem AT1 hem de AT2 reseptörlerinin aktivasyonunu engellerler. Buna karşılık anjiyotensin reseptör antagonistleri sadece AT1 reseptör aktivasyonuna engel olurlar. Anjiyotensin 2 afferent arteriole göre efferent arteriolde daha fazla vazokonstriksiyon yapmaktadır (75).

RENİN ANJİYOTENSİN ALDOSTERON SİSTEMİ VE DİYABETİK NEFROPATİ

Son 20 yıldır RAAS ile diyabetik renal hastalığın ilerlemesi arasındaki ilişki yoğun şekilde araştırılmaktadır (80). DM'lilerde HT, retinopati, nefropati ve kardiyovasküler hastalıkların sık gelişmesi RAAS'ın diyabetik komplikasyonların oluşması ve progresyonundaki önemini göstermektedir. RAAS bileşenlerinden özellikle AT2'nin DN patogenezindeki rolü iyi bilinmektedir. AT2 etkilerini, hem direkt reseptörleri aracılığıyla hem de indirekt olarak hücre içi sinyalleri uyararak vozoaktif ajanların, büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin salınımını artırarak göstermektedir (81).

ANJİYOTENSİNOJEN M235T / T174M GEN POLİMORFİZMLERİ

Anjiyotensinojen geni, kromozom 1q42-43' de lokalize, beş tane ekson içeren bir gendir. AGT'nin, çoğu çalışmada önemi nedeniyle 235. ve 174. pozisyondaki metionin ve treonin rezidülerinin yer değişikliğine odaklanılmıştır (5).



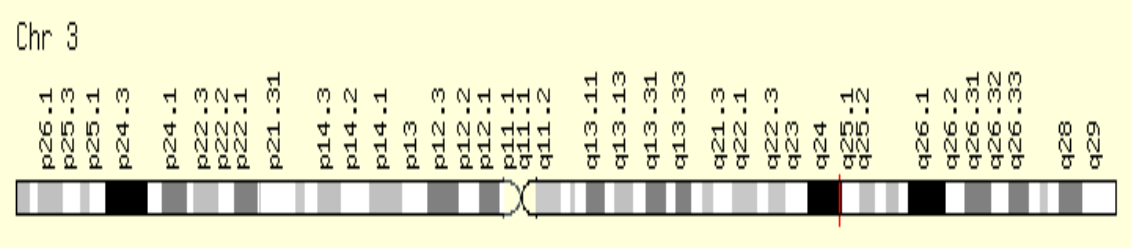
Şekil 6. AGT M235T / T174M genlerinin lokalizasyonu (5)

Plazma AGT seviyesi genotipe göre önemli ölçüde değişiklik gösterir. T235 homozigotlar, M235 homozigotlardan %20 daha yüksek AGT seviyesine sahiptir. Östrojenler, glukokortikoidler ve tiroid hormonlarının stimülasyonu plazma AGT seviyesinde artışa yol açan genotip dışındaki faktörlerdir. Plazma seviyesindeki artış AT2 oluşumunu etkiler. AT2 ise glomerüler filtrasyon hızının ayarlanmasında kritik öneme sahip olması dışında, kan basıncı ve volüm homeostazisinin uzun süreli regülasyonunda da dominant rol oynar (5).

ANJİYOTENSİN II TİP 1 RESEPTÖR A1166C GEN POLİMORFİZMİ

AT1R geni üçüncü kromozomun uzun kolunda bulunur, 55 kb'den daha uzundur ve 5 ekzon ile 4 intron içerir. Kodlama bölgesi beşinci ekzonda iken, ilk dört ekzon 5' transle olmayan ekzonları kodlar. AT1R geniyle ilgili çeşitli polimorfizmler tanımlanmıştır (82). Bonnardeaux ve ark. tüm kodlayan bölgeyi (ekzon 5) ve 3' transle olmayan bölgeyi taramışlar ve ekzon 5 içindeki şu bölgelerde beş tane sık rastlanan polimorfizm tanımlamışlardır: +573, +1062, +1166, +1517, +1878. Sonradan, 5' transle olmayan bölgede -1424, -810, -521, -153 pozisyonlarında ve dördüncü ekzonda +55 pozisyonunda başka polimorfizmler de tanımlanmıştır (83).

Bu polimorfizmler içinde bugüne kadar en iyi değerlendirilmiş olanı A1166C polimorfizmidir. Bu polimorfizm, AT1R geninin 3' transle olmayan bölgesinde bulunan 1166 pozisyonunda, ya bir adenin (A) ya da bir sitozin (C) bazı bulunmasıyla ortaya çıkmaktadır. AT1R A1166C polimorfizmi çeşitli çalışmalarda HT, Sol ventrikül hipertrofisi, koroner kalp hastalığı ve DN gibi bazı hastalık süreçleriyle ilişkili bulunmuştur (84).



Şekil 7. AT1R A1166C geninin lokalizasyonu (84)

AT1R A1166C polimorfizminin nefropati ile ilişkisini araştırmak üzere bugüne kadar yapılmış çalışmalardan elde edilen sonuçlar birbiriyle uyumlu değildir. Aşikar albuminüri saptanan ve insülin bağımlı olmayan diyabet hastası 114 kadınla yapılan bir çalışmada, C allelinin böbrek yetmezliği riskinin artışıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (85). Benzer şekilde, insülin bağımlı diyabetik hastalarla yapılan bir çalışmada, kötü glisemik kontrol ile AT1R A1166C polimorfizminin, DN gelişim riski üzerinde sinerjik etkileri olduğu ileri sürülmüştür. Bu ilişki, daha sonra yapılan bazı çalışmalar tarafından doğrulanmamış olmakla birlikte, daha yakın zamanda yapılmış bazı çalışmalarla C allelinin böbrek fonksiyonlarında daha hızlı kötüleşmeyle alakalı olduğu saptanmıştır (86, 87).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

GEREÇLER

Tip 2 Diyabetes Mellituslu Hastalarda Anjiyotensinojen M235T, Anjiyotensinojen T174M ve Anjiyotensin Tip 1 Reseptör A1166C Polimorfizmlerinin Diyabetik Nefropati Gelişimine Etkisinin Araştırılması başlıklı tez çalışması için ilk olarak Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na başvuruldu.

Biyoistatistik Ana bilim Dalı tarafından örnek bir çalışmanın genotip dağılımları baz alınarak çalışmamızın etki büyüklüğü 0,2387 olarak hesaplandı. Bu etki büyüklüğünde α=0,05 hata payı ve % 80 power değeri ile hasta ve kontrol olarak her bir gruptan 105'er bireyin çalışmaya alınmasının uygun olduğu hesaplandı.

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji ve Endokrinoloji Bilim dalları izleminde olan hastaların dosyaları taranarak en az bir ay arayla yapılmış iki değerlendirmede gizli, açık diyabetik nefropatisi veya diyabetik nefropati nedeni ile diyalize girmekte durumu olan toplam 101 hasta (Nefropati grubu) ile diyabetik nefropatisi olmayan 100 hasta alınarak (Nefropati olmayan grup) toplam 201 olgu dahil edilmesine karar verildi.

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 05.02.2014 tarihli toplantısında almış olduğu kararla tez çalışmamız TÜTF-GOKAEK 2014/24 protokol numarasıyla kabul edildi (Ek 1).

Tez, ayrıca 2014/71 nolu proje ile Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklendi.

Tez çalışması Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakültesi Endokrinoloji ve Nefroloji Bilim dalı Polikliniğine başvurmuş ve Tip 2 Diyabetes Mellitus ve Diyabetik Nefropati tanısı

almış kişilerin rutin inceleme için alınmış olan tam kan sayımı tüplerinden elde edilen numunelerle yapılmıştır.

Çalışmamız Trakya Üniversitesi bünyesinde Tıp Fakültesi'nin Biyofizik Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Hasta grubu olarak;

1) Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji ve Endokrinoloji Bilim dalları izleminde Tip 2 diyabetes mellitus tanısı almış olanlar kişilerin dosyaları taranarak en az bir ay arayla yapılmış iki değerlendirmede gizli, açık diyabetik nefropatisi veya diyabetik nefropati nedeni ile diyalize girmekte durumu olanlar,
2) 18 yaşını doldurmuş yetişkinler (65 yaşından büyük olanlar dahil) çalışmaya alınmıştır.

Kontrol grubu olarak;

1) Tip 2 diyabetes Mellitus Hastalığı olan fakat diyabetik nefropatisi olmayan,
2) 18 yaşını doldurmuş yetişkinler (65 yaşından büyük olanlar dahil) çalışmaya alınmıştır.

Hasta ve kontrol gruplarını oluşturan bireylere bilgilendirilmiş gönüllü olur formu verilmiştir ve yapılan çalışma hakkında kişiler bilgilendirilerek onayları alınmıştır (Ek 2).

Bu çalışmanın *Turnitin* programına göre orjinallik raporu ektedir (Ek 3).

Çalışmamız 101 kişiden oluşan hasta grubu ve 100 kişiden oluşan kontrol grubu olmak üzere toplam 201 kişi ile gerçekleştirildi. Hasta grubunun yaş ortalaması 62,14 ± 9,35 iken, kontrol grubunun yaş ortalaması 60,70 ± 9,85 olarak hesaplandı. Hasta grubunun yaş aralığı 38-87, kontrol grubunun yaş aralığı ise 38-81 idi.

Hasta ve kontrol gruplarından rutin kontrol sırasında etilendiamintetraasetik asitli (EDTA'lı) vakumlu tüplere alınmış 2'şer mililitrelik kan örnekleri labotaruvarda +4ºC'de saklandı. Alınan kan örneklerinden DNA izolasyon kiti kullanılarak DNA'lar izole edildi. İzole edilen DNA'lar % 0.8'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek ve nanodrop cihazıyla ölçümler yapılarak bu DNA'ların konsantrasyonları nanogram/mikrolitre (ng/µl) olarak belirlendi ve kaliteleri gözlendi.

M235T, T174M ve A1166C gen polimorfizmlerinin belirlenmesi için gerekli olan polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) öncesinde istenen bölgelere özgü primer çeşitleri kullanılarak $MgCl_2$ titrasyonu ile uygun miktarın tüm gen bölgeleri için 2,5 mM olduğu belirlendi.

Polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılan ürünler % 2'lik agaroz jellere yüklenip etidyum bromit (EtBr) ile boyandıktan sonra elektroforezde 110 voltta yürütüldü ve

transmilatörle ultraviyole (UV) ışık altında gözlendi. Çoğaltılan PZR ürünleri istenen bölgelere özgü restriksiyon enzimleri kullanılarak restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFUP) yöntemi ile 37ºC'de 1 saat kesime bırakıldı. Kesim sonucunda ürünler % 2,5'luk agaroz jellerde EtBr yardımı ile elektroforezde 110 voltta yürütüldükten sonra transmilatörle UV ışık altında polimorfizmler saptandı.

Anjiyotensinojen M235T gen polimorfizmi için Tth111I, Anjiyotensinojen T174M gen polimorfizmleri için NcoI ve Anjiyotensin Tip 1 Reseptör A1166C gen polimorfizmi için HaeIII restriksiyon enzimleri kullanıldı. Anjiyotensinojen ve Anjiyotensin Tip 1 Reseptör gen polimorfizmleri genotip dağılımları kesim sonucunda belirlendi.

Çalışmada Kullanılan Kimyasal Malzemeler

- Agaroz (BioMax)
- Borik Asit (Sigma)
- EDTA (Sigma)
- Tris (Bio Basic)
- Etidyum Bromür (EtBr) (Sigma)
- 100 bç DNA marker (Fermantas)
- dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) (Fermantas)
- Primerler (Fermantas)
- Taq DNA polimeraz Seti (Fermantas)
- Tth111I Restriksiyon Enzimi (Fermantas)
- NcoI Restriksiyon Enzimi (Fermantas)
- HaeIII Restriksiyon Enzimi (Fermantas)

Çalışmada Kullanılan Cihazlar

- Agaroz Elektroforez Tankı (Bio-Metra)
- Güç Kaynağı (Bio-Metra)
- Derin Dondurucu (Arçelik)
- Manyetik Karıştırıcı (Wisestir)
- Otoklav (Nüve)
- Otomatik Mikro Pipetler (Dragon, Thermo Scientific)
- Santrifüj (Beckman Coulter)
- Terazi (AND)

- Thermal Cycler (Techne)
- Vortex (VELP)
- ETÜV (Heraeus)
- Termo-Shaker (Boeco)

ÇÖZELTİLER

10xTris Borat Elektroforez (TEB) Çözeltisi (1 litre) pH: 7.4

60.5 gr Tris

3.72 gr $Na_2EDTA.2H_2O$

30.85 gr borik asit

Deoksiribonükleik Asit İzolasyonunda Kullanılan Çözeltiler

RNAse A

PureLink Genomic Lysis/Binding Buffer

Etanol

Wash Buffer 1

Wash Buffer 2

Elution Buffer

Proteinaz K: 20 mg/ml

YÖNTEMLER

Deoksiribonükleik Asit İzolasyonu

Deoksiribonükleik asit molekülünün absorbe edildiği dalga boyu 260 nanometredir (OD_{260}). DNA konsantrasyonunun belirlenmesinde bu değer kullanılmaktadır (88). DNA molekülü için 1 OD'nin 50 µg/ml'ye karşılık geldiği bilinmektedir**.** DNA miktarlarının belirlenmesinde; DNA (µg/ml) = 260nm'deki OD x Seyreltme Faktörü (Dilution Factor) x Katsayı (DNA için 50) formülü kullanılmaktadır (89). Teorik olarak OD_{260}/OD_{280} değeri 1,75-2 arasında olmalıdır. OD_{260}/OD_{280} oranı bu değerler arasında ise UV skaladaki absorbsiyon nükleik asitlerden kaynaklanmaktadır. Bu oran 1,75'ten düşük olduğunda protein ve diğer UV absorbe edicilerin varlığından, 2'den fazla olduğunda ise örneğin kloroform veya fenol ile kontamine olmuş olabileceğinden söz edilmektedir. Nükleik asit saflığının belirlenmesinde kullanılan diğer oran da OD_{260}/OD_{230} oranıdır, fakat bu oran daha az hassastır (88).

Kullanılan invitrogen DNA izolasyon kit protokolü aşağıdaki gibidir:

1) 200 ml kana 20 µl Proteinaz K eklendi.

2) Elde edilen örneğe 20 µl RNAse A eklendi, vortekslendi ve 2 dk inkübasyon yapıldı.

3) 200 µl PureLink Genomic Lysis/Binding Buffer eklendi ve homojen oluncaya kadar vortekslendi.

4) 55^0C'de 10 dk inkübe edildi.

5) 200 µl etanol eklendi ve 5 saniye vortekslendi.

6) Örnek, kolona alındı.

7) 10.000 x g'de 1dk santrifüj edildi.

8) 500 µl Wash Buffer 1 eklendi ve 10.000 x g'de 1dk santrifüj edildi

9) 500 µl Wash Buffer 2 eklendi ve 10.000 x g'de 3dk santrifüj edildi.

10) Kolon steril ependorfa alındı.

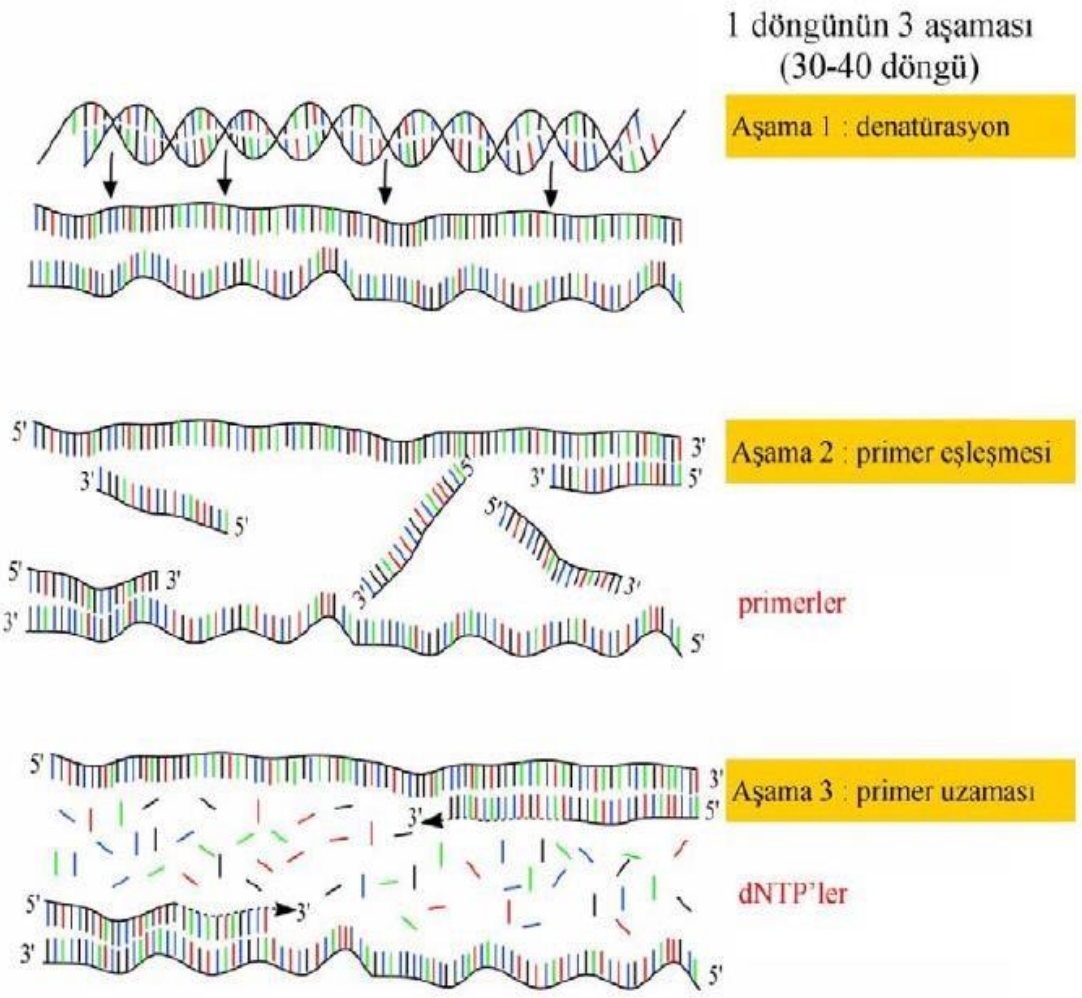
11) 200 µl Elution Buffer eklendi, 1 dk oda sıcaklığında inkübe edildi.

12) 10.000 x g'de maksimum hızda 1dk santrifüj edildi. Tüm bu işlemlerden sonra saf DNA'lar elde edildi (90).

POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU

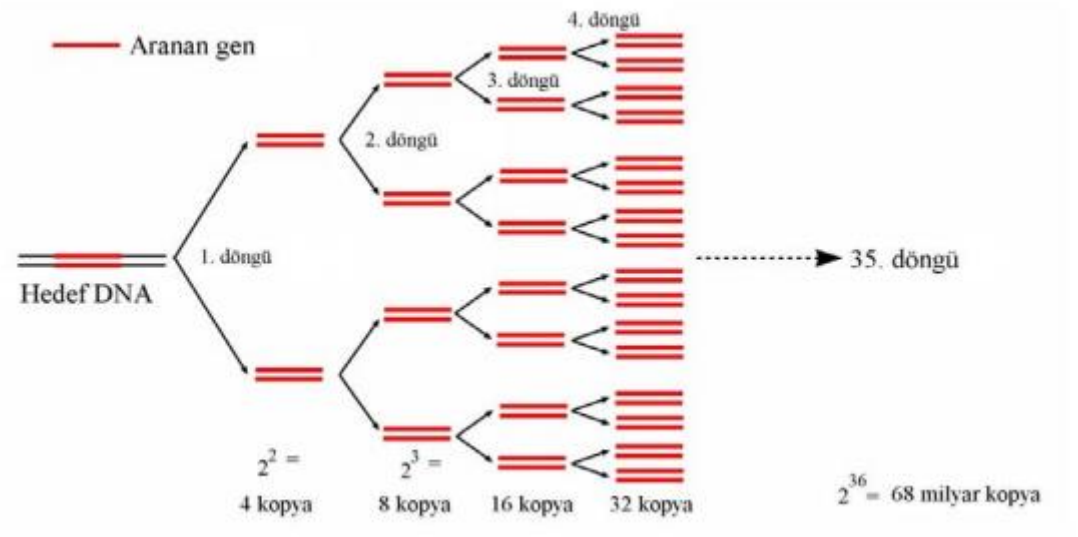
Polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ilk kez 1985 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde bulunan, Cetus şirketine bağlı olarak çalışan Kary Mullis ve arkadaşları tarafından bulunmuştur. PZR, bir DNA zincirinde bilinen iki parça arasında uzanan özel bir DNA bölümünün enzimatik olarak çoğaltıldığı in vitro bir tekniktir. PZR yöntemi kullanılarak kısa zamanda milyonlarca gen kopyası çoğaltılabilmektedir. PZR tekniği diagnostik ve adli tıpta genlerin belirlenmesinde, özel DNA parçalarının klonlanmasında ve gen ifade modellerinin tespit edilmesinde kullanılmaktadır (91). PZR yönteminde üç temel basamak vardır ve çoğaltılmış olan DNA miktarı, bu üç adımın tekrarlanmasına bağlıdır.

1) **Denatürasyon (90-95ºC):** Çift sarmal olan DNA'nın yüksek sıcaklıkta tek sarmal haline gelmesi aşamasıdır.
2) **Primer bağlanması (50-70ºC):** Bu aşamada primer olarak kullanılan oligonükleotidler hedef DNA'ya bağlanmaktadır.
3) **DNA sentezi ya da primer uzaması (70-75ºC):** Bu aşamada Magnezyum (Mg^{+2}) iyonları varlığında primerlere, katalizör olan DNA polimeraz aracılığıyla nükleotid eklenmekte ve böylece DNA zinciri uzamaktadır. Denatürasyon, primer bağlanması ve DNA sentezi ya da primer uzaması PZR yönteminde bir döngüyü oluşturmaktadır (Şekil 8) (91).



Şekil 8. Bir polimeraz zincir reaksiyonu döngüsü (91)

Her döngünün sonunda yeni sentezlenen DNA zincirleri bir sonraki döngü için hedef zincir olabilir. Başarılı bir amplifikasyonda ilk döngü ürünleri iki primerin bağlanma bölgeleri arasındaki uzaklıktan daha fazla uzunluktadır. İkinci döngüde istenen uzunluktaki DNA zincirleri oluşmaktadır. Ürün miktarı diğer amplifikasyon döngülerinde $(2^n-2n)x$ formülü ile lineer olarak çoğalır. Burada n, döngü sayısı; 2n, ilk ve ikinci döngüden sonra elde edilen, uzunluğu bilinmeyen ürünler; x ise ana zincirin kopya sayısıdır. Örneğin 36 döngüden sonar 2^{36} kez amplifikasyon gerçekleşir (Şekil 9) (91).



Şekil 9. Deoksiribonükleik asitin polimeraz zincir reaksiyonu ile üstel olarak çoğaltılması (91)

Polimeraz zincir reaksiyonunun temel bileşenleri; kalıp olarak kullanılan DNA molekülü, DNA polimeraz enzimi (Taq DNA polimeraz), enzim tamponu, primerler, deoksi nükleotid trifosfatlar (dATP, dGTP, dCTP ve dTTP) karışımı ve magnezyum klorürdür ($MgCl_2$) (92).

Polimeraz Zincir Reaksiyonunda Kullanılan Primer Dizileri

Anjiyotensinojen M235T gen polimorfizmi için

5’-CCG TTT GTG CAG GGC CTG GCT CTC T-3’ (Forward)

5’-CAG GGT GCT GTC CAC ACT GGA CCC C-3’ (Reverse)

Anjiyotensinojen T174M gen polimorfizmi için

5’-TGG CAC CCT GGC CTC TCT CTA TCT-3’ (Forward)

5’-CAG CCT GCA TGA ACC TGT CAA TCT-3’ (Reverse)

Anjiyotensin Tip 1 Reseptör A1166C gen polimorfizmi için

5’-GCA GCA CTT CAC TAC CAA ATG GGC-3’ (Forward)

5’-CAG GAC AAA AGC AGG CTA GGG AGA-3’ (Reverse)

Polimeraz Zincir Reaksiyonu İçin Hazırlanan Karışımlar

Anjiyotensinojen ve Anjiyotensin Tip 1 Reseptör gen polimorfizmleri için kişi başına kullanılan miktarlar

1.5 µl MgCl2 (25 mM)
2.5 µl PZR Tamponu(10XTaq Buffer ile ($NH_4)_2SO_4$)
0.5 µl dNTP (5 mM)
0.5 µl M235T Primer F (10 pmol/µl)
0.5 µl M235T Primer R (10 pmol/µl)
0.25 µl Taq Polimeraz enzimi (5 u/µl)
17.25 µl 2 µl DNA
Toplam Hacim: 25 µl

Polimeraz Zincir Reaksiyonu İçin Gerekli Koşullar

Anjiyotensinojen M235T gen polimorfizmi için

Başlangıç:	95ºC, 5 dakika	
	95ºC, 1 dakika	
	68ºC, 1 dakika	35 döngü
	72ºC, 1dakika	
Sonlanma:	72ºC, 10 dakika	

Anjiyotensinojen T174M gen polimorfizmi için

Başlangıç:	95ºC, 5 dakika	
	94ºC, 15 saniye	
	64ºC, 45 saniye	38 döngü
	72ºC, 45 saniye	
Sonlanma:	72ºC, 10 dakika	

Anjiyotensin Tip 1 Reseptör A1166C gen polimorfizmi için

Başlangıç:	95ºC, 5 dakika	
	94ºC, 1 dakika	35 döngü
	55ºC, 1 dakika	
	72ºC, 1 dakika	
Sonlanma:	72ºC, 7 dakika	

Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimerfizmi

Restriksiyon enzimleri, kısa DNA dizilimlerini özgün olarak tanıyan ve bu DNA dizilimlerine yakın bölgelerden veya bu dizilimler içindeki spesifik bölgelerden çift yönlü simetrik olarak DNA'yı kesen enzimlerdir. Bu enzimlerin büyük bir kısmı bakterilerde, çok az bir kısmı da virüs ve ökaryotlarda bulunmaktadır. Belli bir restriksiyon enzimi DNA'yı keseceği 4-8 nükleotitlik (genelde 6 nükleotidlik) restriksiyon noktası tanımaktadır (92). DNA fragmentlerinin büyüklüğü kullanılan restriksiyon enzimlerine bağlıdır. Restriksiyon enzimleri ile kesim sonucunda oluşan parçalara restriksiyon parçaları adı verilmektedir. RFUP hızlı, ucuz ve uygulanması kolay bir yöntemdir. RFUP yönteminde restriksiyon enzimlerinin DNA'daki kesim noktalarındaki değişmelerden faydalanılır (88).

Anjiyotensinojen M235T için RFUP

M235T için RFUP aşağıdaki ürünler kullanılarak 200 µl'lik kesim tüpleri içerisinde hazırlandı.

1 x Fast Digest Buffer

0.5 µl Tth111I restriksiyon enzimi

2.5 µl dH_2O

5 µl PZR ürünü

Toplam Hacim: 9 µl

Yukarıdaki karışım hazırlandıktan sonra 37°C'de 1 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresinin sonunda ürünler EtBr ile hazırlanan %2,5'luk agaroz jelde yürütülerek UV ışık altında oluşan bantlar gözlendi.

Tth111I Restriksiyon Enziminin çalışma mekanizması aşağıdaki gibidir:

5'...G A C N↓N N G T C...3'

3'...C T G N N↑N C A G...5'

Anjiyotensinojen T174M için RFUP

T174M için RFUP aşağıdaki ürünler kullanılarak 200 µl'lik kesim tüpleri içerisinde hazırlandı.

1 x Fast Digest Buffer

0.5 µl NcoI restriksiyon enzimi

2.5 µl dH_2O

5 µl PZR ürünü

Toplam Hacim: 9 µl

Yukarıdaki karışım hazırlandıktan sonra 37°C'de 1 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresinin sonunda ürünler EtBr ile hazırlanan %2,5'luk agaroz jelde yürütülerek UV ışık altında oluşan bantlar gözlendi.

NcoI Restriksiyon Enziminin çalışma mekanizması aşağıdaki gibidir:

5'...C↓C A T G G...3

3'...G G T A C↑C...5'

Anjiyotensin Tip 1 Reseptör A1166C için RFUP

A1166C için RFUP aşağıdaki ürünler kullanılarak 200 µl'lik kesim tüpleri içerisinde hazırlandı.

1 x Fast Digest Buffer

0.5 µl HaeIII restriksiyon enzimi

2.5 µl dH_2O

5 µl PZR ürünü

Toplam Hacim: 9 µl

Yukarıdaki karışım hazırlandıktan sonra 37°C'de 1 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresinin sonunda ürünler EtBr ile hazırlanan %2,5'luk agaroz jelde yürütülerek UV ışık altında oluşan bantlar gözlendi.

HaeIII Restriksiyon Enziminin çalışma mekanizması aşağıdaki gibidir:

5'...G G↓C C...3'

3'...C C↑G G...5'

RFUP Yöntemi İle Kesim Sonuçları

Tablo 4. Anjiyotensinojen M235T ve T174M gen polimorfizmleri kesim sonuçları

Polimorfizm Bölgesi	Genotipler	PZR Ürün Uzunluğu	Kesim Sonuçları
AGT M235T	MM TT TM	165 bç	165 bç 141 bç ve 24 bç 165 bç, 141 bç ve 24 bç
AGT T174M	TT MM TM	353 bç	353 bç 198 bç ve 155 bç 353 bç, 198 bç ve 155 bç

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu; **bç:** baz çiftçi; **AGT:** Anjiyotensinojen.

Tablo 5. Anjiyotensin Tip 1 Reseptör A1166C gen polimorfizmi kesim sonuçları

Polimorfizm Bölgesi	Genotipler	PZR Ürün Uzunluğu	Kesim Sonuçları
AT1R A1166C	AA CC AC	255 bç	255 bç 231 bç, 24 bç 255 bç, 231 bç ve 24 bç

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu; **bç:** baz çiftçi, **AT1R:** Anjiyotensin Tip 1 Reseptör.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Bu çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS (Statistics Package of Social Science) v20 (Lisans No:10240642) istatistik paket programı kullanılarak gerçekleştirildi. Yaş, boy, kilo, vücut yüzey alanı (VYA) ve vücut kitle indeksi (VKİ) değişkenlerinin değerlendirilmesinde iki örneklem grubu arasında ortalamalar açısından fark olup olmadığını belirlemek amacıyla bağımsız t-testi kullanıldı. Hasta ve kontrol gruplarının genotip dağılımları, alkol, sigara, hastalık öyküsü, hipertansiyon ve kullandığı ilaçların etken maddelerinin karşılaştırmalarında değişkenler arasında gözlenen ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığını test etmek amacıyla ki-kare analiz yöntemi kullanıldı. Hasta ve kontrol gruplarının diyabet yaşı, sistolik ve diyastolik kan basıncı, 24 saat idrarda protein sonucu, 24 saat idrarda total protein, mikroalbumin, idrar volumü, 24 saatlik idrarda kreatin klirensi, ilaç öyküsü, HDL-C, LDL-C ve HbA1c değişkenlerinin değerlendirilmesinde Mann Whitney U testi kullanıldı. Bulunan sonuçlar sayı (yüzde) ya da ortalama ± standart sapma olarak ifade edildi. $P<0.05$ değeri istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya, AGT geninin M235T ve T174M, AT1R geninin A1166C gen bölgeleri için; diyabetik nefropati tanısı almış Tip 2 diyabetli 101 hasta ve diyabetik nefropati tanısı almamış Tip 2 diyabetli 100 kontrol olmak üzere toplam 201 kişi dahil edildi. Çalışmaya katılan gruplara ilişkin demografik ve klinik bulgular incelendi.

Çalışmaya alınan diyabetik nefropatili hasta grubu ve kontrol grubunun yaş, boy, kilo ve vücut kitle indeks bulguları istatistiksel olarak Student-t testine göre incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6. Hasta ve kontrol grupları arasında klinik bulguların karşılaştırılması.

Hasta ve kontrol grupları klinik bulguları	Genel		P
	Hasta grubu (n=101)	Kontrol grubu (n=100)	
Yaş (yıl)	62,14 ± 9,35	60,70 ± 9,85	0,290
Boy (cm)	164,09 ± 9,54	161,53± 8,38	0,045
Kilo (kg)	84,85 ± 14,31	81,42 ± 15,50	0,105
VYA (m2)	1,93 ± 0,17	1,87 ± 0,19	0,043
VKİ	31,70± 5,89	31,27± 5,89	0,599

VYA: Vücut yüzey alanı; **VKİ:** Vücut kitle indeksi**;**
Student-t testi.

Hasta ve kontrol grubunda diyabet yaşı, SKB, DKB, total protein sonucu, total protein, mikroalbuminüri, idrar volumü, kreatin klirensi, ilaç öyküsü, HDL-C, LDL-C, HbA1c parametreleri incelendi ve bu iki grup mann-whitney u testiyle karşılaştırıldı.

Tablo 7. Hasta ve kontrol grupları arasında klinik bulguların karşılaştırılması.

Hasta ve kontrol grupları klinik bulguları	Genel		P
	Hasta grubu (n=101)	Kontrol grubu (n=100)	
Diyabet yaşı (yıl)	12,17 ± 7,63	11,02 ± 7,71	0,192
SKB (mmHg)	138,55 ± 18,27	123,94 ± 15,67	0,000
DKB (mmHg)	79,35 ± 13,22	75,00 ±10,52	0,088
Total protein sonucu (mg/gün)	1202,77 ± 1637,13	85,20 ± 55,33	0,000
Total protein (mg/dl)	51,76 ± 76,56	6,70 ± 23,62	0,000
Mikroalbuminüri (mg/gün)	675,31 ± 870,96	13,15 ± 13,13	0,000
Mikroalbuminüri (mg/dl)	27,60 ± 36,29	0,50 ± 0,80	0,000
İdrar volumü (ml)	2649,50 ± 952,22	2412,96 ± 1017,10	0,050
Kreatin Klirensi (mg/dk)	78,69 ± 57,42	106,34 ± 39,02	0,000
İlaç öyküsü	8,77 ± 7,72	7,05 ± 8,85	0,035
HDL-C (mg/dL)	46,20 ± 13,28	51,95 ± 16,35	0,043
LDL-C (mg/dL)	112,72 ± 37,43	113,01 ± 34,15	0,911
HbA1c	7,20 ± 1,35	8,14 ± 7,98	0,908

SKB: Sistolik kan basıncı; **DKB:** Diyastolik kan basıncı; **HDL-C:** Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol; **LDL-C:** Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol; **HbA1c** Glikozile hemoglobin.
Mann-Whitney U testi.

Hasta ve kontrol grubunda, cinsiyet, hipertansiyon, alkol ve sigara kullanımı, aile diyabet öyküsü incelendi ve bu iki grup ki-kare testiyle karşılaştırıldı (Tablo 8-12).

Tablo 8. Hasta ve kontrol grupları arasında cinsiyet karşılaştırılması.

Cinsiyet	Hasta grubu (n=101)	Kontrol grubu (n=100)	Toplam (n=201)	p
Kadın	50 (% 49,5)	67 (% 67,0)	117 (% 58,2)	0,012
Erkek	51 (% 50,5)	33 (% 33,0)	84 (%41,8)	
Toplam	101 (% 100)	100 (% 100)	201 (% 100)	

Ki-kare testi.

Tablo 9. Hasta ve kontrol grupları arasında hipertansiyon karşılaştırılması.

Hipertansiyon	Hasta grubu (n=66)	Kontrol grubu (n=65)	Toplam (n=131)	p
Yok	6 (% 9,1)	24 (% 36,9)	30 (% 22,)	0,001
Var	60 (% 90,9)	41 (% 63,1)	101 (%77,1)	
Toplam	66 (% 100)	65 (% 100)	131 (% 100)	

Ki-kare testi.

Tablo 10. Hasta ve kontrol grupları arasında alkol kullanımı karşılaştırılması.

Alkol Kullanımı	Hasta grubu (n=100)	Kontrol grubu (n=100)	Toplam (n=200)	p
Yok	91 (% 97,0)	97 (% 97,0)	188 (% 94,0)	0,137
Var	9 (% 9,0)	3 (% 3,0)	12 (% 6,0)	
Toplam	100 (% 100)	100 (% 100)	200 (% 100)	

Ki-kare testi.

Tablo 11. Hasta ve kontrol grupları arasında sigara kullanımı karşılaştırılması.

Sigara Kullanımı	Hasta grubu (n=101)	Kontrol grubu (n=100)	Toplam (n=201)	p
Yok	81 (% 80,2)	93 (% 93,0)	174 (% 86,6)	0,014
Var	20 (% 19,8)	7 (% 7,0)	27 (% 13,4)	
Toplam	101 (% 100)	100 (% 100)	201 (% 100)	

Ki-kare testi.

Tablo 12. Hasta ve kontrol grupları arasında aile diyabet öyküsünün karşılaştırılması.

Aile diyabet öyküsü	Hasta grubu (n=101)	Kontrol grubu (n=100)	Toplam (n=201)	p
Yok	35 (%34,7)	47 (% 47,0)	82 (% 40,8)	0,075
Var	66 (65,3)	53 (53,0)	119 (% 5912,2)	
Toplam	101 (% 100)	100 (%100)	201 (% 100)	

Ki-kare testi.

Hasta ve kontrol grubunda kullanılan ilaçların etken maddeleri incelendi ve bu iki grup ki-kare testiyle karşılaştırıldı (Tablo 13-17).

Tablo 13. Hasta ve kontrol gruplarında kullanılan ilaçların etken maddelerinin karşılaştırılması.

RAS İnhibitörü Kullanımı	Hasta grubu (n=101)	Kontrol grubu (n=100)	Toplam (n=201)	p
Yok	78 (% 77,2)	81 (% 81,0)	159 (% 79,1)	0,628
Var	23 (% 22,8)	19 (% 19,0)	42 (% 20,9)	
Toplam	101 (% 100)	100 (% 100)	201 (% 100)	

RAS: Renin Anjiyotensin İnhibitörleri.

Ki-kare testi.

Tablo 14. Hasta ve kontrol gruplarında kullanılan ilaçların etken maddelerinin karşılaştırılması.

Statin Kullanımı	Hasta grubu (n=101)	Kontrol grubu (n=100)	Toplam (n=201)	p
Yok	89 (% 88,1)	92 (% 92,0)	181 (% 90,0)	0,494
Var	12 (% 11,9)	8 (% 8,0)	20 (% 10,0)	
Toplam	101 (% 100)	100 (% 100)	201 (% 100)	

Ki-kare testi.

Tablo 15. Hasta ve kontrol gruplarında kullanılan ilaçların etken maddelerinin karşılaştırılması.

ASA Kullanımı	Hasta grubu (n=101)	Kontrol grubu (n=100)	Toplam (n=201)	p
Yok	85 (% 84,2)	89 (% 89,0)	174 (% 86,6)	0,424
Var	16 (% 15,8)	11 (% 11,0)	27 (% 13,4)	
Toplam	101 (% 100)	100 (% 100)	201 (% 100)	

ASA: Asetilsalisilik asit.

Ki-kare testi.

Tablo 16. Hasta ve kontrol gruplarında kullanılan ilaçların etken maddelerinin karşılaştırılması.

İnsülin Kullanımı	Hasta grubu (n=101)	Kontrol grubu (n=100)	Toplam (n=201)	p
Yok	54 (% 53,5)	69 (% 69,0)	123 (% 61,2)	0,024
Var	47 (% 46,5)	31 (% 31,0)	78 (% 38,8)	
Toplam	101 (% 100)	100 (% 100)	201 (% 100)	

Ki-kare testi.

Tablo 17. Hasta ve kontrol gruplarında kullanılan ilaçların etken maddelerinin karşılaştırılması.

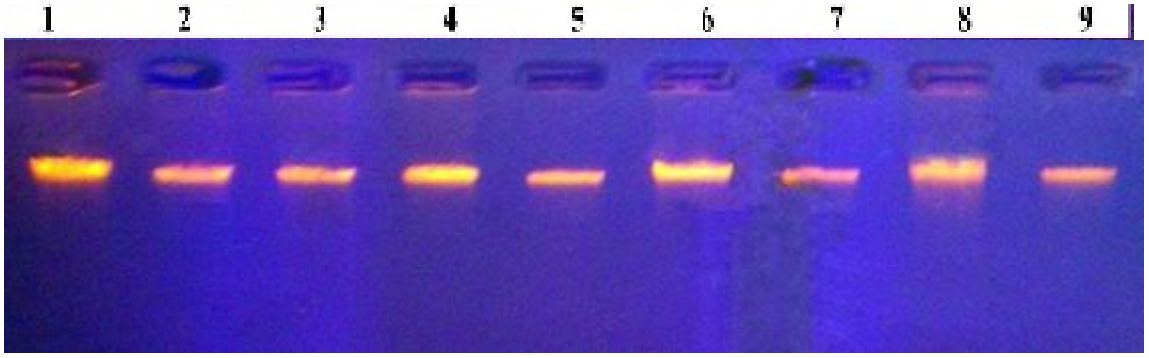
OAD Kullanımı	Hasta grubu (n=101)	Kontrol grubu (n=100)	Toplam (n=201)	p
Yok	56 (% 55,4)	51 (% 51,0)	107 (% 53,2)	0,528
Var	45 (% 44,6)	49 (% 49,0)	94 (% 46,8)	
Toplam	101 (% 100)	100 (% 100)	201 (% 100)	

OAD: Oral Antidiyabetik.

Ki-kare testi.

DNAİzolasyonu

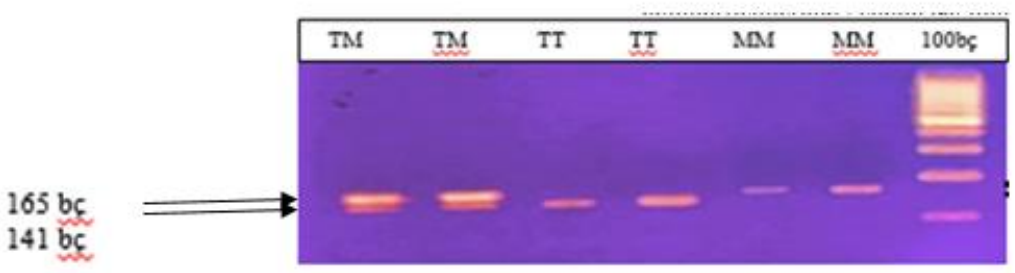
Hasta ve kontrol gruplarından alınmış rutin kanlardan izole edilen DNA'lar % 0.8'lik agaroz jelde yürütülerek oluşan bantlar UV ışık altında gözlemlendi (Şekil 10).



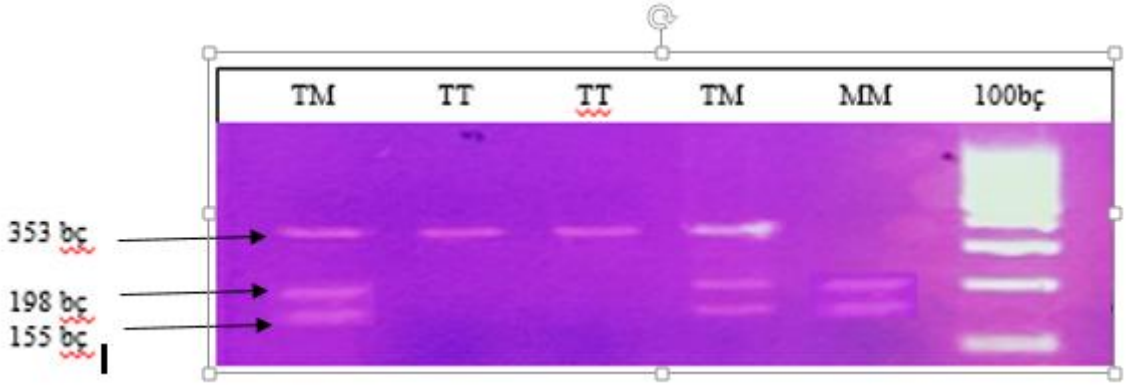
Şekil 10. Hasta ve kontrol deoksiribonükleik asit örneklerinin % 0.8 lik agaroz jelde yürütülmesi ve ultraviyole ışık altında görüntülenmesi

DNA'lar % 0.8'lik agaroz jelde gözlendikten sonra AGT ve AT1R gen polimorfizmleri için özgün bölgelere ait primerler kullanılarak PZR işlemi gerçekleştirildi. Oluşan PZR ürünleri % 2'lik agaroz jellerde yürütülerek UV ışık altında izlendi.

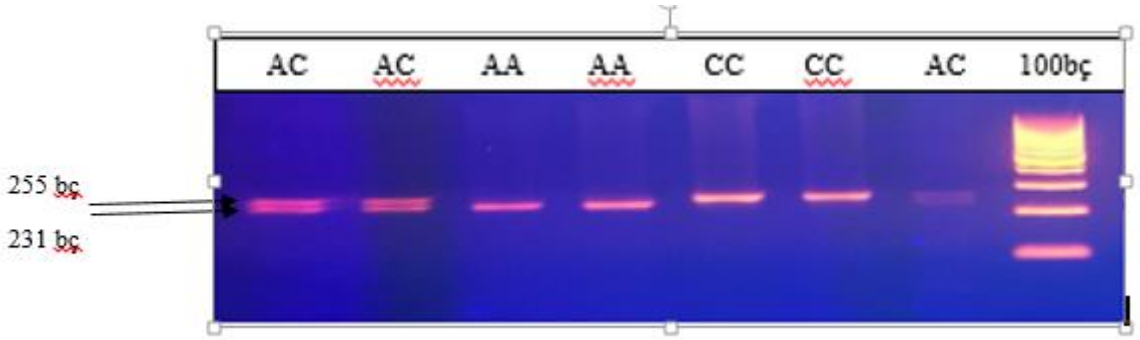
PZR işlemi sonucunda elde edilen ürünler, ilgili bölgelere ait restriksiyon enzimleri kullanılarak 37ºC'de 1 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresinin sonunda ürünler EtBr ile boyanan % 2.5' luk agaroz jellere yüklenip elektroforezde yürütüldükten sonra UV ışık altında polimorfizmler saptandı. Hasta ve kontrol grupları için AGT ve AT1R gen polimorfizmlerinin genotip dağılımları belirlendi (Şekil 11-13).



Şekil 11. AGT geninin M235T gen polimorfizmi için hasta ve kontrol kesim ürünlerinin % 2,5'luk agaroz jelde yürütülmesi ve ultraviyole ışık altında görüntülenmesi



Şekil 12. AGT geninin T174M gen polimorfizmi için hasta ve kontrol kesim ürünlerinin % 2,5'luk agaroz jelde yürütülmesi ve ultraviyole ışık altında görüntülenmesi



Şekil 13. AT1R geninin A1166C gen polimorfizmi için hasta ve kontrol kesim ürünlerinin % 2,5'luk agaroz jelde yürütülmesi ve ultraviyole ışık altında görüntülenmesi

AGT M235T Gen Polimorfizminin Genotip Dağılımları

AGT M235T gen polimorfizmi için genotip dağılımları incelendiğinde; diyabetik nefropati hasta grubunda TT genotipinin görüldüğü 5 hasta (% 5), TM genotipinin görüldüğü 71 hasta (% 71) ve MM genotipinin görüldüğü 24 hasta (% 24) bulunmuştur. Kontrol grubunda ise TT genotipinin görüldüğü 13 kişi (% 13,1), TM genotipinin görüldüğü 65 kişi (% 65,7) ve MM genotipinin görüldüğü 21 kişi (% 21,2) saptanmıştır. Tip 2 Diyabet hasta grubu ve kontrol grubunun TT, TM ve MM genotipleri karşılaştırıldığında önemli bir farklılık görülmedi. İstatistiksel olarak Ki-kare testi kullanılarak yapılan değerlendirmede hasta ve kontrol grupları arasında AGT M235T genotipleri bakımından anlamlı bir fark bulunamamıştır (p:0,134) (Tablo 18).

Tablo 18. Anjiyotensinojen M235T gen polimorfizminin hasta ve kontrol gruplarına göre genotip dağılımı

			Hasta grubu (n=101)	Kontrol grubu (n=100)	Toplam (n=201)	p*
M235T	TT	n	5	13	18	0,134
		% M235T içinde	% 27,8	% 72,2	% 100	
		% grup içinde	% 5,0	% 13,1	% 9,0	
	TM	n	71	65	136	
		% M235T içinde	% 52,2	% 47,8	% 100	
		% grup içinde	% 71,0	% 65,7	% 68,3	
	MM	n	24	21	45	
		% M235T içinde	% 53,3	% 46,7	% 100	
		% grup içinde	% 24,0	% 21,2	% 22,6	
Toplam		n	99	100	199	
		% M235T içinde	% 49,7	% 50,3	% 100	
		% grup içinde	% 100	% 100	% 100	

Ki-kare testi.

AGT M235T için istatistiksel olarak Hardy-Weinberg uygunluğu test edildi (Tablo 19, 20).

Tablo 19. Hasta grubunun allel dağılımı

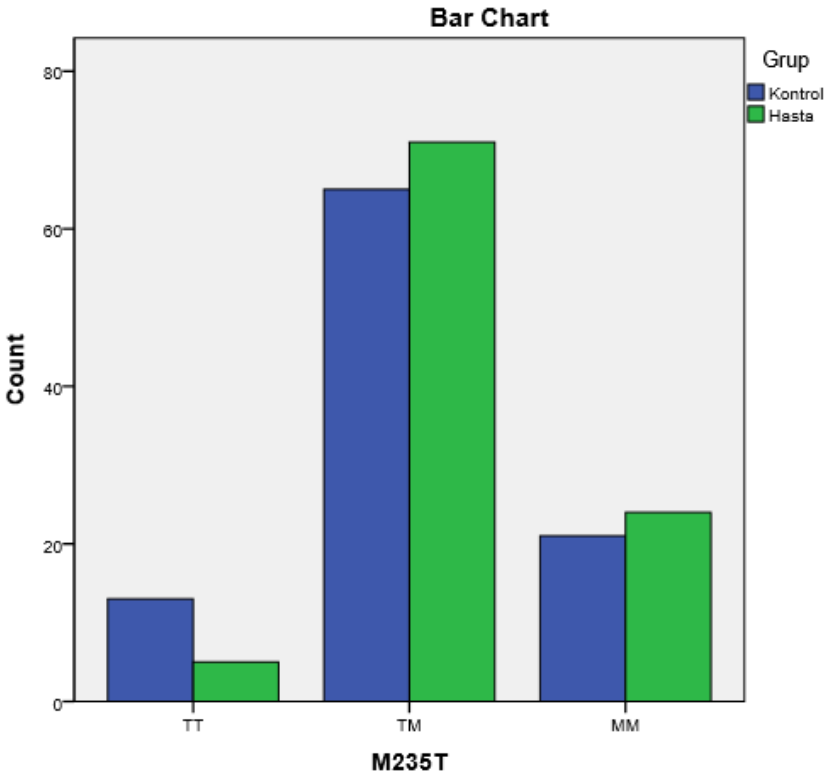
Hasta Allel Dağılımı	T	M
n=200	81	119
Frekans	0,4050	0,5950
HW p	0,0000	

Tablo 20. Kontrol grubunun allel dağılımı.

Kontrol Allel Dağılımı	T	M
n=198	91	107
Frekans	0,4596	0,5404
HW p	0,0012	

AGT M235T gen polimorfizminin hasta ve kontrol gruplarında Hardy-Weinberg testine göre uygun bulunmadı ($p<0,05$). Bu yüzden AGT M235T gen polimorfizmi hastalığa sebep olmaktadır.

AGT M235T gen polimorfizminin hasta ve kontrol grupları için dağılımı Şekil 14'de gösterilmiştir.



Şekil 14. AGT M235T gen polimorfizminin hasta ve kontrol arasındaki dağılımı.

AGT T174M Gen Polimorfizminin Genotip Dağılımları

AGT T174M gen polimorfizmi için genotip dağılımları incelendiğinde; diyabetik nefropati hasta grubunda TT genotipinin görüldüğü 71 hasta (% 71), TM genotipinin görüldüğü 28 hasta (% 28) ve MM genotipinin görüldüğü 1 hasta (% 1) bulunmuştur. Kontrol grubunda ise TT genotipinin görüldüğü 74 kişi (% 74,7), TM genotipinin görüldüğü 24 kişi (% 24,3) ve MM genotipinin görüldüğü 1 kişi (% 1) saptanmıştır. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde hasta ve kontrol grupları arasında AGT T174M genotipleri bakımından anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p:0,833$) (Tablo 21).

Tablo 21. Anjiyotensinojen T174M gen polimorfizminin hasta ve kontrol gruplarına göre genotip dağılımı

			Hasta grubu (n=101)	Kontrol grubu (n=100)	Toplam (n=201)	p*
T174M	TT	n	71	74	145	0,833
		% T174M içinde	% 49,0	% 51,	% 100	
		% grup içinde	% 71,0	% 74,7	% 72,9	
	TM	n	28	24	52	
		% T174M içinde	% 53,8	% 46,2	% 100	
		% grup içinde	% 28,0	% 24,2	% 26,1	
	MM	n	1	1	2	
		% T174M içinde	% 50,0	% 50,0	% 100	
		% grup içinde	% 1,0	% 1,0	% 1,0	
Toplam		n	100	99	199	
		% T174M içinde	% 50,3	% 49,7	% 100	
		% grup içinde	% 100	% 100	% 100	

Ki-kare testi.

Anjiyotensinojen T174M için istatistiksel olarak Hardy-Weinberg uygunluğu test edildi (Tablo 22, 23).

Tablo 22. Hasta grubunun allel dağılımı

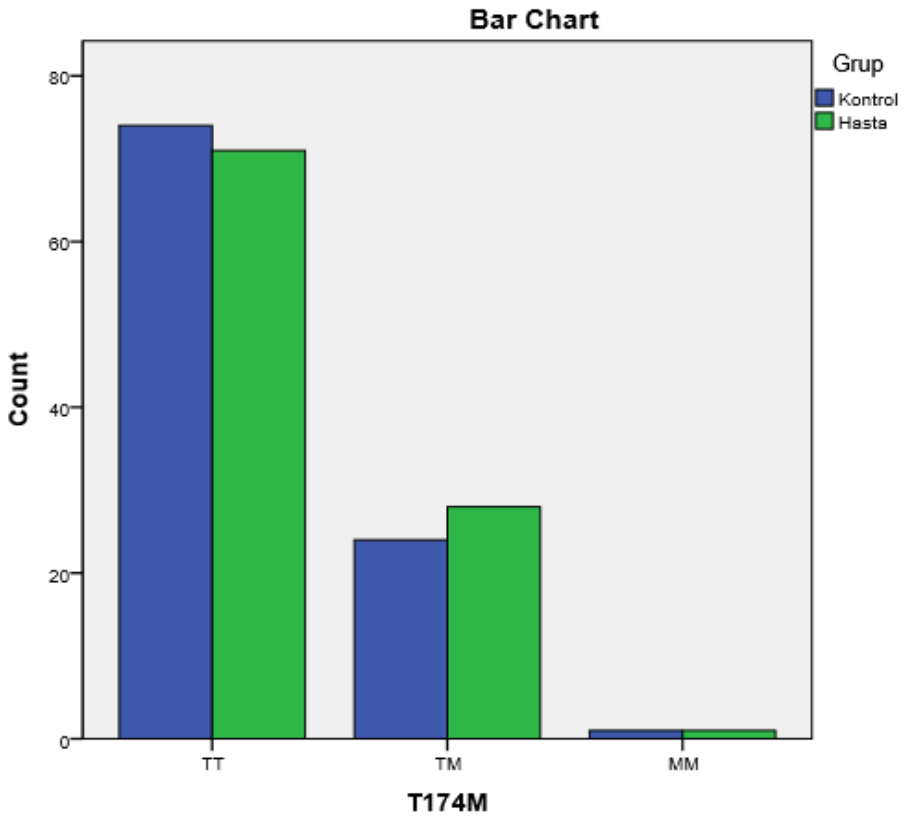
Hasta Allel Dağılımı	T	M
n=200	170	30
Frekans	0,8500	0,1500
HW p	0,6905	

Tablo 23. Kontrol grubunun allel dağılımı.

Kontrol Allel Dağılımı	T	M
n=198	172	26
Frekans	0,8687	0,1313
HW p	1,0000	

AGT T174M hasta ve kontrol gruplarında Hardy-Weinberg testine göre uygun bulundu (p>0,05). Bu yüzden AGT T174M gen polimorfizmi hastalığa sebep olmamaktadır.

AGT T174M gen polimorfizminin hasta ve kontrol grupları için dağılımı Şekil 15'te gösterilmiştir.



Şekil 15. T174M gen polimorfizminin hasta ve kontrol arasındaki dağılımı.

AT1R A1166C Gen Polimorfizminin Genotip Dağılımları

AT1R A1166C gen polimorfizmi için genotip dağılımları incelendiğinde; diyabetik nefropati hasta grubunda AA genotipinin görüldüğü 57 hasta (% 57), AC genotipinin görüldüğü 36 hasta (% 36) ve CC genotipinin görüldüğü 7 hasta (% 7) bulunmuştur. Kontrol grubunda ise AA genotipinin görüldüğü 60 kişi (% 60,6), AC genotipinin görüldüğü 31 kişi (% 31,3) ve CC genotipinin görüldüğü 8 kişi (% 8,1) saptanmıştır. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde hasta ve kontrol grupları arasında AT1R A1166C genotipleri bakımından anlamlı bir fark bulunamamıştır (p:0,774) (Tablo 24).

Tablo 24. Anjiyotensin Tip 1 Reseptör A1166C gen polimorfizminin hasta ve kontrol gruplarına göre genotip dağılımı

			Hasta grubu (n=101)	Kontrol grubu (n=100)	Toplam (n=201)	p*
A1166C	AA	n	57	60	117	0,774
		% A1166C içinde	% 48,7	% 51,3	% 100	
		% grup içinde	% 57,0	% 60,6	% 58,8	
	AC	n	36	31	67	
		% A1166C içinde	% 53,7	% 46,3	% 100	
		% grup içinde	% 36,0	% 21,3	% 337	
	CC	n	7	8	15	
		% A1166C içinde	% 46,7	% 53,3	% 100	
		% grup içinde	% 7,0	% 8,1	% 7,5	
Toplam		n	100	99	199	
		% A1166C içinde	% 50,3	% 49,7	% 100	
		% grup içinde	% 100	% 100	% 100	

Ki-kare testi.

AT1R A1166C için istatistiksel olarak Hardy-Weinberg uygunluğu test edildi (Tablo 25, 26).

Tablo 25. Hasta grubunun allel dağılımı

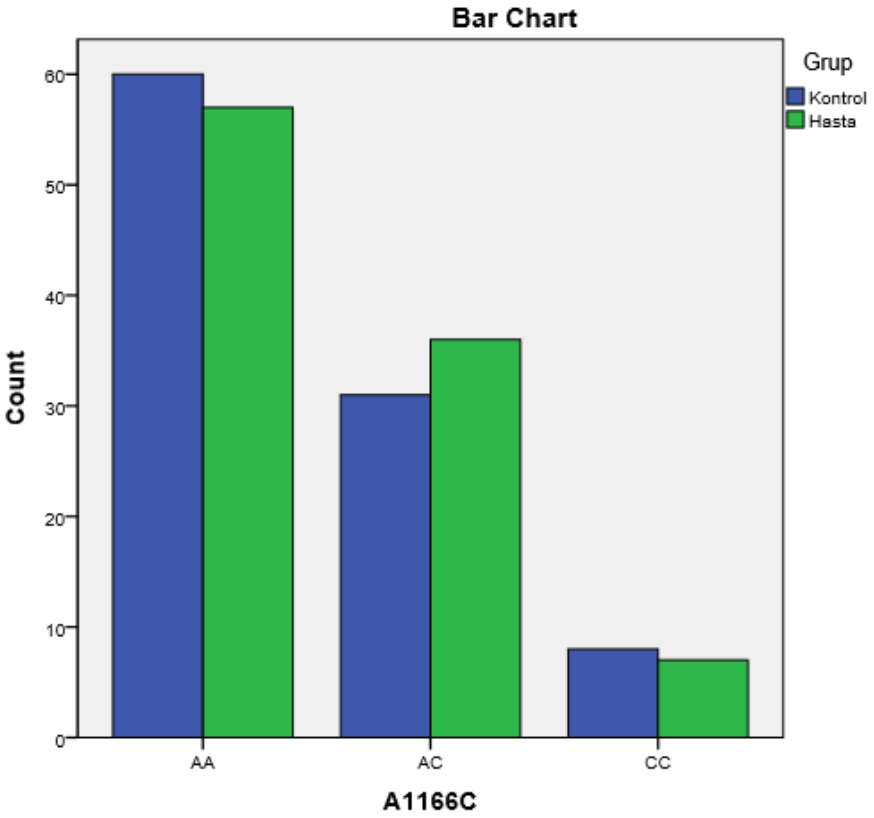
Hasta Allel Dağılımı	A	C
n=200	150	50
Frekans	0,7500	0,2500
HW p	0,7889	

Tablo 26. Kontrol grubunun allel dağılımı.

Kontrol Allel Dağılımı	A	C
n=198	151	47
Frekans	0,7626	0,2374
HW p	1,1724	

AT1R A1166C hasta ve kontrol gruplarında Hardy-Weinberg testine göre uygun bulundu (p>0,05). Bu yüzden AT1R A1166C gen polimorfizmi hastalığa sebep olmamaktadır.

AT1R A1166C gen polimorfizminin hasta ve kontrol grupları için dağılımı Şekil 16'da gösterilmiştir.



Şekil 16. AT1R A1166C gen polimorfizminin hasta ve kontrol arasındaki dağılımı.

TARTIŞMA

Diyabetes mellitus, çeşitli metabolik işlev bozukluklarına yol açan karmaşık bir sendromdur. Bu metabolik işlev bozuklukları, diyabetik nefropati, retinopati ve nöropati gibi mikrovasküler komplikasyonlar şeklinde kendini gösterir. DN, diyabetik hastaların yaklaşık %40'ını etkileyen, diyabetin önemli bir komplikasyonudur. Klinik olarak, proteinüri, glomerüler filtrasyondaki düşüş oranı, hipertansiyon, kardiyovasküler morbidite ve mortalitede artış ile karakterizedir. Diyabetik nefropatili bir birey, hiperglisemi, artmış kan basıncı ve genetik değişiklikler gibi çeşitli risk faktörlerine yatkın olabilir (93).

Diyabetes mellitustaki hiperglisemi kan volüm artışına neden olmaktadır. Bu da renal kanlanma ve intraglomerüler basınç artışı ile DN gelişimini başlatmaktadır. Artan glikoz böbrek, göz ve sinir gibi dokularda insülinden bağımsız olarak hücre içine girerek fonksiyonunu bozmaktadır. Hiperglisemi ve buna bağlı oksidatif stres artışı ile polyol yolu aktive olmakta, protein-lipid-lipoprotein-aminoasitlerin glikozilasyonu ile ileri glikozilasyon son ürünlerinin yapımı artmaktadır. Hemodinamik değişimler ve metabolik bozukluklar birlikte ya da bağımsız olarak hücre içi sinyal iletimini aktive ederek sitokinlerin yapımını artırmaktadır. Böylece hemodinamik olarak başlayan değişikliklere, nefronun fonksiyonel ve yapısal bozulmaları da eklenerek süreç içinde DN gelişmektedir (73).

Diyabetik bir bireyin diyabetik nefropatiye yatkınlığını belirleyen biyobelirteç genleri tanımlamak için aday genlerle olan çok sayıda çalışma bulunmaktadır. DN ile ilişkili genlerin tek nükleotid polimorfizmlerinin hastalığın sonucu üzerinde büyük bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur ancak DN varlığını kesin olarak gösteren gen saptanamamıştır (94).

Renin anjiyotensin aldosteron sistemi; kan basıncı ve sıvı/elektrolit dengesindeki düzenleyici etkisiyle, hemodinamik stabilitenin sağlanmasında önemli rol oynayan kompleks

bir sistem olarak tanımlanabilir. Vücutta temelde iki çeşit RAAS bulunmaktadır. İlki hormonal (klasik) RAAS, diğeri ise doku RAAS'ıdır. Hormonal RAAS; plazmada bulunan anjiyotensinojenden, böbreklerden salgılanan renin yoluyla anjiyotensinlerin oluşumu ve meydana getirdikleri etkileri içermektedir. Doku RAAS ise; böbrek, damar duvarı, kalp, beyin ve adrenal bezde benzer mekanizmalarla fonksiyon göstermekte, ancak hormonal RAAS'dan bağımsız olduğu düşünülmektedir. Özellikle doku RAAS'ının hipertansiyon, kronik böbrek hastalığı, inme, akut miyokard enfarktüsü ve sistolik kalp yetmezliği gibi mortalite ve morbiditeye yol açan birçok hastalığın patofizyolojisinde önemli rol oynadığını gösteren pek çok çalışma bulunmaktadır.

Kontrol altında olmayan kan basıncı, renal fonksiyonlar üzerinde akut veya kronik hasara neden olabilir. Böbreğin glomerüler, tübüler veya vasküler alanını ilgilendiren birçok akut ve kronik hastalığın seyrinde hipertansiyon tespit edilmektedir ve bu hastalıkların uzun dönem takiplerinde hipertansiyon varlığı sıklıkla devam etmektedir. Hipertansif bir hasta incelenirken mutlaka böbrek fonksiyonları değerlendirilmeli ve iyi bir idrar analizi yapılmalıdır. İdrar; proteinüri, hematüri varlığı açısından değerlendirilmeli, kan üre azotu ve kreatinin düzeylerine bakılmalı ve glomerüler filtrasyon hızı hesaplanarak, hipertansiyona yol açabilecek olası bir böbrek hastalığı gözden kaçırılmamalıdır (95).

Hipertansiyona eşlik eden nefropatinin erken bulgusu mikroalbüminüridir ve böbrek hasarının ilerlemesinde proteinürinin düzeyi önemlidir. Mikroalbüminüri; hipertansiyona bağlı uç organ hasarının ve mortalitenin bağımsız bir risk faktörüdür. 1 gr/gün ve üzerinde proteinüri varlığı, nefron hasarı ile yakın ilişkili olup; özellikle tedavide kullanılan ACE inhibitörü gibi seçkin ajanların proteinüri ve renal korunmadaki ek faydaları, ama asıl olarak kan basıncı tedavisinde hedef değerlere ulaşılması, proteinüriyi azaltacak ve uzun dönemde renal sağ kalım üzerine olumlu katkı sağlayacaktır (95).

Hipertansiyon bir yandan DN'nin ortaya çıkışına neden olurken; diğer taraftan da var olan böbrek hasarını ve hastalığını hızlandırmaktadır. Son dönemde yapılan toplum tabanlı CREDİT (Chronic Renal Disease In Turkey) çalışmasında, ülkemizdeki kronik böbrek hastalığı prevalansı % 15.7 gibi oldukça yüksek oranda saptanmış olup; bu hasta grubunda % 32.7 hipertansiyon sıklığı tespit edilmiştir. Kronik böbrek hastalığı giderek önemi artan bir toplum sağlığı sorunudur ve hastalığın evresi ilerledikçe, hipertansiyon sıklığında artış bilinen bir gerçektir. Evre 5 kronik böbrek hastalığında hipertansiyon sıklığı %90'a kadar ulaşabilmektedir. Buna paralel olarak hipertansiyon; tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de, renal replasman tedavisine başlanan (hemodiyaliz, periton diyalizi veya böbrek nakli) hastalarda, SDBY'nin en sık ikinci etiyolojik nedenini oluşturmaktadır (95).

Renin anjiyotensin aldosteron sistemi, renin, AGT, ACE, AT I, AT II ve reseptör genlerini kapsamaktadır. AGT, karaciğer tarafından sentezlenir. Bu sentezin başlıca göstergesi plazma AGT seviyesidir. Beyin, büyük arterler, kalp, böbrek, odipoz doku diğer AGT'in sentez edildiği yerlerdir. AGT proteini 452 aminoasit içerir. İnsan AGT geni kromozom 1q42-43'te lokalize olmuş ve 5 ekson ile 4 intron içerir. Genomik dizi yaklaşık 13 kilobaz uzunluğundadır (96).

Tip 2 Diyabetik hastalarda nefropati gelişiminde kolaylaştırıcı rol oynayan genetik faktörlerin bilinmesi, zamanında ve etkin koruyucu tedbirlerin alınabilmesini sağlayabilir. Koruyucu önlem ve tedavilerin en erken dönemde başlanması ise bir taraftan hastaların yaşam kalitesini artırırken, diğer yandan SDBY gelişimini geciktirerek hastaların diyalizsiz yaşam süresinin uzamasını ve hastalığın ülkemiz ekonomisine olan maliyetin azalmasına sebep olabilir.

Son zamanlarda AGT gen polimorfizmlerinin HT, koroner arter hastalığı ve iskemik inme ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bunların dışında kronik böbrek hastalığı, DM ve diyastolik kalp yetmezliği gibi hastalıklarda AGT gen polimorfizmlerinin etkili olduğu belirtilmiştir (5, 69, 84).

Bir tek nükleotid polimorfizmi olan AGT M235T gen polimorfizmi, AGT geninin 235. pozisyonunda metionin ve treonin rezidülerinin yer değiştirmesi ile karakterizedir (3).

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesinde yapılan bir çalışmada AGT M235T gen polimorfizmi ile HT arasındaki ilişki araştırılmıştır. 75 hipertansiyon hastası ve 40 sağlıklı birey olmak üzere toplam 114 vaka incelenmiş, fakat anlamlı bir sonuç elde edilememiştir (96).

Kim ve ark. (97) tarafından yapılan kurşuna maruz kalan 808 hipertansiyonlu erkek işçileri kapsayan çalışmada, normotansif ve hipertansif olmak üzere hastalar 2 gruba ayrılmıştır. Hipertansif gruptaki M allel frekansı, normotansif gruptakine göre daha yüksek bulunmuştur. TT genotipi kurşun maruziyetine uğramamış kişilerde anlamlı olarak yüksek bulunmuşken, buna karşın yüksek kan kurşun düzeylerindeki çalışanlarda T allel grubu istatiksel olarak anlamsız bulunmuştur. Buna ek olarak, AGT M alleli ve M allel taşıyıcısının (M ya da TM+MM) Kore'de kurşuna maruz kalan yüksek kan basınçlı erkek işçiler için risk faktörü olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Ding ve ark. (98) tarafından Çin'de gerçekleştirilen bir çalışmada meme kanserli hastalarda AGT, ACE ve AT1R gen polimorfizmlerinin etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda ACE geninin meme kanseri üzerine etkisi istatiksel olarak anlamlı çıkarken, M235T gen polimorfizmi ile hastalık arasında bir ilişki bulunamamıştır.

Chang ve ark. (4) tarafından Tayvan'da yapılan bir çalışmada, son dönem böbrek yetmezliği olan Tip 2 diyabetli hastalarda AGT M235T gen polimorfizminin etkisi incelenmiş ve polimorfizmin bu durum üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Hindistan'da yapılan bir çalışmada son dönem böbrek yetmezliği ile AGT M235T gen polimorfizminin ilişkisi araştırılmıştır. Bu polimorfizmin hastalık için risk faktörü olduğu sonucuna varılmıştır (13).

Öz'ün (6) Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde gerçekleştirdiği çalışmada prediyalitik ve diyalitik dönemdeki son dönem böbrek yetmezlikli hastalar, açlık plazma glikozu ve Oral Glikoz Tolerans Testi (OGTT) 2. saat plazma glikoz değerlerine göre normal glikoz toleranslı ve glikoz intoleranslı olmak üzere iki guruba ayrıldı. ACE, AT1R ve AGT M235T genotip dağılımının glikoz tolerans durum ile ilişkisi incelendiğinde, genotiplerin dağılımı açısından istatistiksel açıdan anlamlı olabilecek fark saptanmadı.

Chen ve ark. (99) tarafından, arseniğe maruz kalmayan bölgedeki kronik böbrek hastalarında ACE, AGT, AT1R ve CYP11B2 gen polimorfizmleri ve arseniğin birleşik etkilerini araştırmak için ilk kez Tayvan'da yapılan hastane temelli olgu- kontrol çalışmasında 233 kronik böbrek hastası ve 449 kontrol grup çalışmaya dahil edilmiştir. AGT M235T genotip dağılımları ve allel sıklıkları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Lin ve ark. (100) kronik böbrek yetmezliği ve koroner kalp hastalığı olan Tip 2 diyabet hastaları ile yaptıkları bir çalışmada, AGT M235T gen polimorfizminin T allelinin koroner kalp hastası olan bayanlarda daha yüksek olduğunu bulmuşlardır.

Ichikawa ve ark. (101) bir Japon popülasyonunda Tip 2 DM hastaları ile yaptıkları çalışmada, yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi, kan şekeri, glikozile hemoglobin ve lipid profili gibi birçok öğede hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılıklar bulmuşlardır. Ancak M235T polimorfizmi ve Tip 2 DM arasında herhangi bir ilişki saptayamamışlardır.

Tang ve ark. (102) Asyalı beyazlarda bir meta analiz çalışması yapmışlar, DN gelişmekte olan Tip 1 ve Tip 2 DM hastaların M235T gen polimorfizmine yatkınlığını araştırmışlardır. M235T polimorfizminin bu popülasyonlar üzerinde herhangi bir etkisi olmadığı sonucuna varmışlardır

Sancakdar'ın (3) Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde gerçekleştirdiği çalışmada AGT M235T gen polimorfizmi ile DN arasındaki ilişki araştırılmıştır. Kontrol grubu olarak 100 diyabetli hasta, çalışma grubu olarak 194 nefropatili hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma sonucunda DN için AGT M235T gen polimorfizminin genetik bir risk faktörü olmadığı saptanmıştır.

Yukarıda incelediğimiz çalışmalarda görüldüğü gibi gen polimorfizmlerinin kombinasyonları incelenmiş ve farklı populasyonlarda birbirleriyle örtüşmeyen sonuçlar bildirmişlerdir. Biz de çalışmamızda, polimorfizmlerin genotip kombinasyonlarını ayrı ayrı inceledik.

Bizde bu çalışmada, hasta ve kontrol grupları arasında Anjiyotensinojen M235T, Anjiyotensinojen T174M ve Anjiyotensin Tip 1 Reseptör A1166C gen polimorfizmleri ilişkisi inceledik. AGT M235T gen polimorfizmi için genotip dağılımları incelendiğinde; diyabetik nefropatili hasta grubunda TT genotipinin görüldüğü 5 hasta (% 5), TM genotipinin görüldüğü 71 hasta (% 71) ve MM genotipinin görüldüğü 24 hasta (% 24) bulduk. Kontrol grubunda ise TT genotipinin görüldüğü 13 kişi (% 13,1), TM genotipinin görüldüğü 65 kişi (% 65,7) ve MM genotipinin görüldüğü 21 kişi (% 21,2) saptadık. Tip 2 Diyabet hasta grubu ve kontrol grubunun TT, TM ve MM genotipleri karşılaştırıldığında önemli bir farklılık göremedik. İstatistiksel olarak da değerlendirildiğinde hasta ve kontrol grupları arasında AGT M235T genotipleri bakımından anlamlı bir fark bulamadık ($p>0,05$).

Bulgularımız Sarkar ve ark. 2015'te Hindistan'da M235T gen polimorfizminin SDBY riskini artırdığı yönünde yaptıkları çalışmayla çelişmektedir. Buna karşın çalışmamız, Chen ve ark. Tayvan'da (2014), Ding ve ark. Çin'de (2014), Tang ve ark. Asyalı beyazlarda (2014) yaptıkları çalışmalarındaki M235T gen polimorfizminin hastalık ile bir ilişkisinin bulunmadığını yönündeki görüşleriyle uyumludur.

Bir tek nükleotid polimorfizmi olan AGT T174M gen polimorfizmi, AGT geninin ekson 2'de, 174. pozisyonunda treonin ve metionin rezidülerinin yer değiştirmesi ile karakterizedir (103).

Yaptığımız literatür incelemelerinde T174M gen polimorfizmi ile DN'ye ilişkin yapılan herhangi bir çalışmaya rastlamadık.

Liu ve ark. (104) yaptıkları çalışmada Batı Çin'deki Henoch–Schönlein purpuralı (HSP) çocuklarda RAAS gen polimorfizmini araştırmayı amaçlamışlardır. Çalışmaya 142 HSP'li çocuk ve 218 sağlıklı çocuk dahil etmişlerdir. T174M T allelinin gastrointestinal hastalıkların yanısıra eklem hastalığıyla da ilişkili olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca T allelinin varlığının çoklu organ yetmezliği riskinin artmasına yol açabileceği sonucuna ulaşmışlardır.

Rusya'da 18 olgu-kontrol çalışmasının bir arada bulunduğu 8,147 koroner arter hastası ve 5,344 sağlıklı kontrol grubunu kapsayan bir meta-analiz çalışması yapılmıştır. Meta-analiz sonucu T174M gen polimorfizminin beyazlarda koroner arter hastaları için risk faktörü olabileceğini göstermişken, Asyalılar ile bir ilişki saptanamadı. Bu durum, Asya ve beyaz

ırkın etnik geçmişlerindeki farklılıklardan ve yaşadıkları çevreden kaynaklandığını düşündürmektedir (105).

Freitas ve ark. (106) tarafından Portekiz'de yapılan bir çalışmada, koroner arter hastaları üzerinde AGT T174M gen polimorfizminin etkisi incelenmiş ve polimorfizmin bu durum üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Ancak cinsiyet, sigara kullanımı, SKB, DKB, HDL-C, HT, DM, dislipidemi gibi parametreler ile hastalık arasında anlamlı bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir.

Jakubiak ve ark. (107) kalp yetmezliği olan Kanadalı beyaz ırklarda RAAS gen polimorfizmini araştırmayı amaçlayan bir meta analiz çalışması yapmışlardır. Çalışma sonucunda kalp yetmezliği olan hastalarda 235TT genotipi, T235 ve M174 allellerinde önemli derecede artış gözlemlemişlerdir.

Çin'de gerçekleştirilen bir meta analiz çalışmasında hipertansiyonlu hastalar ile AGT T174M gen polimorfizminin ilişkisi araştırılmıştır. 2000-2009 arasında yayınlanan kaynaklardan yararlanarak, çalışmaya 2188 hipertansiyonlu hasta ve 2459 kontrol dahil edilmiştir. M allel karşılaştırmaları arasında önemli heterojenlikler gözlenmiştir. Coğrafi konum ve örneklem büyüklüğü sınıflandırılarak bir alt grup analizi yapılmış ve T174M gen polimorfizmi ile HT riski arasında bir ilişki bulunamamıştır (103).

Bir meta analiz çalışmasında Meksika popülasyonunda AGT genindeki varyant ve haplotiplerin AGT plazma seviyeleri ile ilişkisi araştırılmıştır. DNA ve plazma örnekleri esansiyel HT öyküsü olmayan 149 birey arasından seçilmiştir. Erkekler ve kadınlar arasında yaş, VKİ, SKB, DKB, nabız ve otalama arter basıncı, AGT plazma seviyeleri ve HT arasında herhangi bir fark gözlenmemiştir. Buna karşılık T174M gen polimorfizmi ile plazma AGT seviyesini arasında anlamlı bir ilişki saptandı (108).

Agachan ve ark. (109) Türkiye'deki hipertansif hastalarda ACE I/D, AT1R ve AGT gen polimorfizmlerini incelemişlerdir. Hasta ve kontrol grupları arasındaki VKİ, SKB, DKB, LDL-C gibi parametrelerin istatiksel olarak anlamlı oldukları sonucuna ulaşmışlardır. Hipertansif hastalardaki M allelini kontrol grubuna göre daha yüksek bulmuşlarken, MM genotipi ile hipertansiyon arasında anlamlı bir fark bulamamışlardır.

Benzer şekilde yine Türkiye'de HT hastaları ile yapılan bir çalışmada T174M gen polimorfizmi ile hastalık arasında anlamlı bir ilişki olmadığı saptanmıştır (96).

Chen ve ark. (99) tarafından, arseniğe maruz kalmayan bölgedeki kronik böbrek hastalarında yapılan çalışmada T174M polimorfizmi ve hastalık arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır.

Çalışmamızda AGT T174M gen polimorfizmi için genotip dağılımlar incelendiğinde; diyabetik nefropati hasta grubunda TT genotipinin görüldüğü 71 hasta (% 71), TM genotipinin görüldüğü 28 hasta (% 28) ve MM genotipinin görüldüğü 1 hasta (% 1) bulduk. Kontrol grubunda ise TT genotipinin görüldüğü 74 kişi (% 74,7), TM genotipinin görüldüğü 24 kişi (% 24,3) ve MM genotipinin görüldüğü 1 kişi (% 1) saptadık. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde hasta ve kontrol grupları arasında AGT T174M genotipleri bakımından anlamlı bir fark bulamadık ($p>0,05$).

T174M gen polimorfizmi ve DN ile ilgili kısıtlı sayıda literatür bilgisi olduğundan, çalışmamızda T174M gen polimorfizminin çeşitli hastalıklar ile ilişkisini içeren çalışmaları tatrtışmamızda incelemek zorunda kaldık.

Bulgularımız Liu ve ark. 2010'da Batı Çin'de, Jakubiak ve ark. 2008'de Kanadalı beyaz ırklarda yaptıkları çalışmalarla çelişmektedir. Buna karşın çalışmamız, Wang ve ark. Tayvan'da (2013), Freitas ve ark. Portekiz'de (2008), Liao ve ark. Çin'de (2014), Chen ve ark. Tayvan'da (2014) yaptıkları çalışmalarındaki T174M gen polimorfizminin hastalık ile bir ilişkisinin bulunmadığını yönündeki görüşleriyle uyumludur.

Çalışmamızda hasta ve kontrol grupları arasında Freitas ve ark., ve Agachan ve ark. nın çalışmalarıyla uyumlu şekilde, boy, VYA, cinsiyet, SKB, HDL-C, HT, sigara kullanımı gibi parametreler ile hastalık arasında anlamlı bir ilişki bulduk. Bunun yanısıra hasta ve kontrol grupları arasındaki total protein sonucu, total protein, mikroalbuminüri, kreatin klirensi, idrar volümü ilaç öyküsü, insülin kullanımını da DN ile ilişkilendirdik.

AT1R kalp, iskelet kası, beyin, karaciğer, akciğer ve böbrek üstü bezi de dahil olmak üzere farklı organlardan eksprese edilir. İnsan AT1R geni 3.kromozomda (3q21-q25), 5 ekzon ve 4 introndan oluşan bir gendir. AT1R gen polimorfizmi ekson 5'in 3' çevrilmemiş bölgesi 1166. pozisyonunda adenine/cytosine (A/C) yer değiştirmesiyle karakterizedir (5).

Hipertansiyonlu hastalar ile sağlıklı bireyler arasında yapılan bazı çalışmalarda A1166C genotip dağılımları bakımından önemli fark bulunmuştur (109). Bazı çalışmalarda ise A1166C allel sıklığı HT hastalarında önemli derecede yüksek değildir (97).

Kim ve ark. (97) tarafından yapılan çalışmada hasta ve sağlıklı bireyler arasında AT1R A1166C genotip dağılımları ve allel sıklıkları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Patnaık ve ark. (110) tarafından Hindistan'da yapılan başka bir çalışmada ise erkek popülasyonunda C alleli ile bir ilişki bulunamazken, kadın popülasyonunda C allelinin HT ile ilişkili olduğu bulunmuştur.

Kikuya ve ark. (111) bir Japon popülasyonunda yaptıkları çalışmada, A1166C polimorfizmi ile HT veya aterosklerozla ilişkili herhangi bir klinik parametre arasında ilişki saptayamamışlardır.

Çin'de gerçekleştirilen bir çalışmada A1166C gen polimorfizmi ile meme kanseri arasında bir ilişki olmadığı saptanmıştır (98).

Kurt ve ark. (112) Türk toplumunda akut inmeli hastalarda AT1R genindeki A1166C gen polimorfizmlerinin sıklığını belirlemek ve akut inme gelişiminde bu polimorfizmin rolünü incelemek için yaptıkları çalışmada, A1166C pozisyonunda allel sıklığını hastalarda % 97 A ve % 3 C kontrollerde ise % 92 A ve % 8 C olarak bulmuşlardır. Çalışma sonucunda Türk toplumunda akut inme ile A1166C gen polimorfizmi arasında bir ilişki bulunamamıştır.

Yine diğer bir çalışmada RAAS geni ve inflamatuar gen polimorfizmlerinin diyastolik kalp yetmezliği ile ilişkisini içeren son çalışmalar incelenmiş. A1166C gen polimorfizminin AT1R geninin diğer genetik varyantlarına göre diyastolik kalp yetmezliği için anlamlı olduğu vurgulanmıştır (113).

Öztürk ve ark. (114) tarafından yürütülmüş bir çalışmada, ilk kez anterior miyokard enfarktüsü geçirmiş olan hastalarda renkli dopler ultrason kullanılarak karotis ve brakial arterlerdeki kan akım karakteristikleri ile AT1R gen polimorfizmleri arasındaki ilişki araştırılmıştır. AC ve CC genotipine sahip hastalarda AA genotipine sahip olanlara kıyasla, brakial ve karotis arterde ölçülen zirve sistolik hızların daha fazla olduğu gösterilmiştir.

Freitas ve ark. (106) tarafından Portekiz'de yapılan bir çalışmada, koroner arter hastaları üzerinde AT1R A1166C gen polimorfizminin etkisi incelenmiş ve polimorfizmin bu durum üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Ancak bu çalışma, karotis-femoraldeki nabız dalga hızı değerlerindeki artış üzerine AT1R A alleli ve AA genotipinin önemli bir etkisi olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Tayvan'da yapılan hastane temelli olgu-kontrol çalışmasında A1166C gen polimorfizminin genotip dağılımlarının kronik böbrek hastalığı için risk faktörü olmadığı bildirilmiştir (99).

Ichikawa ve ark. (101) Japon popülasyonunda RAAS'ın genetik varyantlarını incelemek amacıyla, 282 Tip 2 DM ve 500 kontrol olmak üzere 782 kişiyi çalışmaya dahil etmişlerdir Ancak A1166C gen polimorfizmi ve Tip 2 DM arasında herhangi bir ilişki saptayamamışlardır.

Lin ve ark. (100) kronik böbrek yetmezliği ve koroner kalp hastalığı olan Tip 2 diyabet hastaları ile yaptıkları bir çalışmada AT1R ve AGT M235T gen polimorfizmlerini incelemişlerdir. Sonuç olarak C allelinin kadınlarda ve erkeklerde doğrudan kronik böbrek

yetmezliği ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca koroner kalp hastalığı olan erkeklerde C allelini risk faktörü olarak belirlemişlerdir.

Diyabetik nefropati gelişen diyabetlilerde yapılan 9 çalışmayı kapsayan bir meta analiz çalışmasında A1166C polimorfizminin CC genotipinin genel popülasyon ile C allelinin ise Asya popülasyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (115).

Yin ve ark (116) diyabetik nefropati riskinin AT1R A1166C gen polimorfizmi ile ilişkilendirilmesini incelemişler, diyabetik nefropatili hastalarda C allel sıklığını basit diyabetliler ve kontrollere göre daha yüksek bulmuşlardır. Çalışma sonucuna göre, C alleli taşıyan diyabetik hastaların A alleli taşıyanlara göre diyabetik nefropatiye daha duyarlı olabileceklerini ancak hastalık ile gen polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki olmadığını ifade etmişlerdir.

Yapılan çalışmalarda, C alleli ve CC genotipi sıklıklarının genel popülasyon içinde oldukça az olduğu belirtilmiştir (114).

Yaptığımız çalışmada, AT1R A1166C gen polimorfizmi için genotip dağılımları incelendiğinde; diyabetik nefropati hasta grubunda AA genotipinin görüldüğü 57 hasta (% 57), AC genotipinin görüldüğü 36 hasta (% 36) ve CC genotipinin görüldüğü 7 hasta (% 7) bulduk. Kontrol grubunda ise AA genotipinin görüldüğü 60 kişi (% 60,6), AC genotipinin görüldüğü 31 kişi (% 31,3) ve CC genotipinin görüldüğü 8 kişi (% 8,1) saptadık. Bulgularımıza göre biz de hasta ve kontrol gruplarında CC genotipini literatürle aynı yönde olacak şekilde az sayıda bulduk. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde hasta ve kontrol grupları arasında AGT A1166C genotipleri bakımından anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

SONUÇLAR

"Tip 2 Diyabetes Mellituslu Hastalarda Anjiyotensinojen M235T / T174M Ve Anjiyotensin Tip 1 Reseptör A1166C Polimorfizmlerinin Diyabetik Nefropati Gelişimine Etkisinin Araştırılması" başlıklı çalışmamızın sonuçları aşağıda sunulduğu gibidir. Çalışmamızı Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji ve Endokrinoloji Bilim dalları izleminde olan hastaların dosyaları taranarak en az bir ay arayla yapılmış iki değerlendirmede gizli, açık diyabetik nefropatisi veya diyabetik nefropati nedeni ile diyalize girmekte durumu olan toplam 101 hasta grubu ile diyabetik nefropatisi olamayan 100 kontrol grubu olmak üzere planladık. Hasta grubunun 50'si kadın, 51'i erkek ve kontrol grubunun 67'si kadın, 33'ü erkek kişilerden oluşmaktadır. Hasta grubunun yaş ortalaması 62,14±9,35 ve kontrol grubunun yaş ortalaması 60,70±9,85 olarak hesaplandı.

Çalışmaya alınan DN'li hastaların ve kontrol gruplarının cinsiyet, yaş, boy, kilo, VKİ, VYA ve klinik bulguları değerlendirildi. Hasta ve kontrol grupları aile DM öyküsü, hipertansiyon, sigara ve alkol kullanmaları, kullandığı ilaçların etken maddeleri göz önünde bulundurularak istatistiksel olarak ki-kare testi ile değerlendirildi. Hasta ve kontrol gruplarının diyabet yaşı, sistolik ve diyastolik kan basıncı, 24 saat idrarda protein sonucu, 24 saat idrarda total protein, mikroalbuminüri, idrar volumü, 24 saatlik idrarda kreatin klirensi, ilaç öyküsü, HDL-C, LDL-C ve Hba1c değişkenlerinin değerlendirilmesinde Mann Whitney U testi kullanıldı.

Hasta ve kontrol grupları yaş, kilo, VKİ, diyabet yaşı, diyastolik kan basıncı, LDL-C, HbA1c bakımından incelendiğinde anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). RAS, statin, ASA, OAD kullanımına göre incelendiğinde anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). Ancak bu iki grup sistolik kan basıncı, 24 saat idrarda protein sonucu, 24 saat idrarda total protein,

mikroalbuminüri, idrar volumü, 24 saatlik idrarda kreatin klirensi, HDL-C, ilaç öyküsü parametrelerine ($p< 0,05$), hipertansiyona göre ($p<0,05$), aile DM öyküsüne göre ($p<0,05$), sigara ve alkol kullanımına göre ($p<0,05$), insülin kullanımına göre ($p<0,05$) değerlendirildiğinde hastalık aleyhinde risk faktörleri olabilecekleri söylenebilir.

AGT için 2 farklı polimorfizm ve AT1R için tek polimorfizmin genotip frekansları Hardy-Weinberg dağılımına uygunluğu test edilerek Ki-kare testi ile değerlendirildiğinde aşağıdaki dağılımlar elde edildi.

DN'li hasta ve kontrol gruplarında AGT M235T, AGT T174M polimorfizmleri için genotip dağılımları istatistiksel olarak incelendiğinde anlamlı bir sonuç elde edilemedi ve p değerleri sırasıyla ($p>0,05$, $p>0,05$) bulundu. AT1R A1166C polimorfizmi genotipleri açısından istatistiksel olarak incelendiğinde de anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). AGT M235T gen polimorfizminin T ve M allelleri hasta ve kontrol gruplarında Hardy-Weinberg testine göre uygun bulunmadı ($p<0,05$). Bu yüzden AGT M235T gen polimorfizmi hastalığa sebep olmaktadır.

AGT M235T/T174M ve AT1R A1166C gen polimorfizmleriyle, başta HT olmak üzere çeşitli hastalıklar arasındaki ilişki birçok çalışmada araştırılmış olmakla birlikte birbiriyle çelişen sonuçlar elde edilmiştir. Sonuçlar arasındaki bu uyumsuzlukları büyük ölçüde, farklı popülasyonlardaki gen-çevre etkileşimlerine, farklı hasta seçim kriterlerine, popülasyonlar ve ırklar arası farklılıklara bağlamaktayız.

Yaptığımız bu çalışmanın çıkarımlarını aşağıdaki şekilde sunabiliriz;

- hasta-kontrol grupları ile AGT M235T / T174M ve AT1R A1166C gen polimorfizmleri arasında anlamlı bir fark bulamadık ($p>0,05$).

-AGT M235T gen polimorfizminin T ve M allelleri hasta ve kontrol gruplarında Hardy-Weinberg testine göre uygun bulunmadı ($p<0,05$). Bu yüzden AGT M235T gen polimorfizmi hastalığa sebep olmaktadır.

- Hasta ve kontrol grupları yaş, kilo, VKİ, diyabet yaşı, diyastolik kan basıncı, LDL-C, HbA1c bakımından incelendiğinde anlamlı bir fark bulamadık ($p>0,05$).

-RAS, statin, ASA, OAD kullanımına göre incelendiğinde anlamlı bir fark bulamadık ($p>0,05$).

-DN'li grup için, hipertansiyon hastalığı, sigara ve alkol tüketimleri, insülin kullanımı ve aile DM öyküsü hastalık aleyhine risk faktörleri olabilir.

-DN riski taşıyan kişilerde hastalığa yakalanmadan gen polimorfizmi ile sistolik kan basıncı, 24 saat idrarda protein sonucu, 24 saat idrarda total protein, mikroalbuminüri, idrar

volumü, 24 saatlik idrarda kreatin klirensi, ilaç öyküsü, HDL-C birlikte değerlendirerek klinik açıdan önlemler alınmasına önemli katkılar sunabilir.

ÖZET

Bu çalışmada, tip 2 diyabetes mellituslu hastalarda AGT M235T / T174M ve AT1R A1166C gen polimorfizmlerinin diyabetik nefropati gelişimine etkisinin araştırılmasını amaçladık.

Çalışma, diyabetik nefropatisi olan Tip 2 Diyabetes Mellituslu 105 hasta (hasta grubu) ve Tip 2 Diyabetes Mellitusu olan ancak Diyabetik Nefropatisi olmayan 105 kontrolden (kontrol grubu) oluşmaktadır. AGT M235T / T174M ve AT1R A1166C gen polimorfizmleri, polimeraz zincir reaksiyonu ve sonrasında restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir.

Sonuçlar hasta-kontrol grupları ile AGT M235T / T174M ve AT1R A1166C gen polimorfizimleri arasında anlamlı bir fark bulunmadığını göstermiştir.

Buna karşın; hipertansiyon, sigara, alkol tüketimi, insülin kullanımı ve aile DM öyküleri hastalık aleyhinde risk faktörleri olabilir.

Anahtar Kelimeler: Diyabetik nefropati, anjiyotensinojen gen polimorfizmi, anjiyotensin tip 1 reseptör gen polimorfizmi.

,

THE EFFECTS OF ANGIOTENSINOGEN M235T / T174M AND ANGIOTENSIN TYPE 1 RECEPTOR A1166C GENE POLYMORPHISMS ON THE DEVELOPMENT OF DIABETIC NEPHROPATHY IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS

SUMMARY

We aimed to investigate angiotensinogen M235T / T174M and angiotensin type 1 receptor A1166C gene polymorphisms on the development of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus, in this study.

This study included 105 type 2 diabetes mellitus patients with diabetic nephropathy patients (patient group) and 105 type 2 diabetes mellitus with out of Diabetic Nephropathy (control group). Angiotensinogen M235T / T174M and Angiotensin Type 1 Receptor A1166C gene polymorphisms were identified using polymerase chain reaction and followed by restriction fragment length polymorphism methods.

The results showed no significant difference between AGT M235T / T174M ve AT1R A1166C gene polymorphisms with patient-control group.

But although; hypertension, smoking, consumption of alcohol, use of insulin and family DM history may be negative risk factors for the disease.

Key Words: Diabetic Nephropathy, angiotensinogen gene polymorphism, angiotensin type 1 receptor gene polymorphism.

.

KAYNAKLAR

1. Michael M, Engelgau KM, Venkat N, William HH. Screening for Type 2 Diabetes. Diabetes Care 2000;23(10):1563-80.

2. Yenigün M, Altuntaş Y. Her Yönüyle Diabetes Mellitus, 2001, Nobel Tıp Kitabevleri

3. Sancakdar E. Diabetik Nefropatiye Genetik Yatkınlıkta Adducin GLY460TRP, ACE I/D VE AGT M235T Gen Polimorfizmlerinin Rolü (tez). Elazığ: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2010.

4. Chang H. R, Ching C. H, Shu K. H, Chen C. H, Lian J. D, Wu M. Y. Study of the Polymorphism of Angiotensinogen, Anigiotensin-Converting Enzyme and Angiotensin Receptor in Type II Diabetes with End Stage Renal Disease in Taiwan. J Chin Med Assoc 2003;66:51-56.

5. Sipahi T, Güldiken B, Güldiken S, Üstündağ S, Turgut N, Budak M, et al. Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim ve Anjiyotensin II Tip 1 Reseptörü Gen Polimorfizmlerinin Trakya Bölgesindeki Türk Hastalarda Görülen İskemik İnme ile İlişkisi. Trakya Üniv Tıp Fak Derg 2009:26 (1):1-8.

6. Öz D. Son dönem böbrek yetmezlikli hastalarda Ace gen polimorfizmi, anjiotensinojen gen polimorfizmi ve anjiotensin reseptör tip 1 gen polimorfizminin bozulmuş glikoz toleransı ile ilişkisi (tez). Manisa: Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2009.

7. The expert commitee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Report of the expert commitee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 2003;26 Suppl 1:5-20.

8. Eisenborth JS, Polonsky KS, Buse JB. Type 1 diabetes mellitus. Lorsen R, Kronenberg H, Melmed S, Polonsky KS. In: Williams Textbook of Endocrinology. 10th edition. Pennsylvania: Elsevier Science; 2003. p.1485-508.

9. Drivsholm T, Ibsen H, Schroll M, Davidsen M, Borch-Johnsen K. Increasing prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance among 60 year old Danes. Diabet Med 2001;18:126-32.

10. Satman I, Yilmaz T, Sengul A, Salman S, Salman F, Uygur S, et al. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the Turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). Diabetes Care 2002;25:1551-6.

11. A. M. Blazquez-Medela, Jose M. Lopez-Novoa, Carlos Martinez-Salgado. Mechanisms Involved in the Genesis of Diabetic Nephropathy. Current Diabetes Reviews. Volume 6, Issue 2, pp.68-87 (20), March 2010.

12. Caroline Jane Magri, Stephen Fava. The role of tubular injury in diabetic nephropathy. European Journal of Internal Medicine (20): pp. 551–555, 2009.

13. Sarkar S, Gupta V, Kumar A, Chaudhary M, Diyundi S, Sehajpal P.K, et.al. M235T Polymorphism in the AGT Gene and A/G I8-83 Substitution in the REN Gene Correlate with End-Stage Renal Disease. ephron 2015;129:104–108.

14. Piero Ruggenenti and Giuseppe Remuzzi. Nephropathy of type 1 and type 2 diabetes: diverse pathophysiology, same treatment? Nephrology Dialysis Transplantation, 15(12): 1900-1902, 2000.

15. A.O. Phillips and R. Steadman. Diabetic nephropathy: The central role of renal proximal tubular cells in tubulointerstitial injury. Histology and Histopathology, 17: 247-252, 2002.

16. Zachary T. Bloomgarden, MD. Diabetic Nephropathy. Diabetes Care, (vol. 31 – no. 4): pp. 823-827, April 2008.

17. Fauci, Braunwald, Kasper, Hauser, Longo, Jameson, Loscalzo. Harrison's Principles of Internal Medicine. 17th Edition. Mc Graw Hall, 2008.

18. Hsueh WA, Moore L, Bryer-Ash M. Contemporary diagnosis and management of type 2 diabetes. 2rd Edition. Handbooks in Health Care Co., Pennsylvania, 2005.

19. Giunti S, Barit D, Cooper ME. Mechanisms of diabetic nephropathy. Hypertension 48: 519-526, 2006.

20. Ritz E. Diabetic Nephropathy. Saudi J Kidney Dis Transplantation 17(4): 481490, 2006.

21. Mason RM, Wahab NA. Extracellular matrix metabolism in diabetic nephropathy. J Am Soc Nephrol 14: 1358–1373; 2003.

22. Tsilibary EC. Microvascular basement membranes in diabetes mellitus. J Pathol 2003; 200: 537-546.

23. American Diabetes Association. Nephropathy in diabetes Diabetes Care. 2004;27:79-83

24. Türk Nefroloji Derneği 2001 Registry Raporu. İstanbul 2002.

25. Sağlam G. Tip 2 Diabet Hastalarında Farklı Diabet ve Hipertansiyon Tedavilerinin Metabolik Kontrol, Mikroalbuminüri ve Hipertansiyon Üzerine Olan Etkilerinin Değerlendirilmesi (tez). İstanbul: Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi;2009.

26. Çetinkaya A. Diyabetik nefropati ve tedavisi. Editör: Yılmaz T. Diabetes mellitusun tedavisi 2003: 117-122.

27. Lewis EJ, Hunsicker LG, Clarke WR ve ark. Renoprotective effect of the angiotensin-receptor antagonist irbesartan in patients with nephropathy due to type 2 diabetes. N Engl J Med. 2001,20;345(12):851-60.

28. Agodoa L. United States Renal Data System (USRDS). Nefrologia. 2000; 20 Suppl 5:13-6.

29. Aladağ N. Tip 2 Diabetes Mellituslu Hastalarda Mikroalbuminüri ve Serum Ürik Asit Seviyeleri Arasındaki İlişki (tez). İstanbul: Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi;2008.

30. Claresalzler MJ, Crawford JM, Kumar V. Pankreas. İn Kumar V, Cotran RS, Robbins SL (ed)s Basic Pathology 7th Edition. Philadelphia: Elsevier Science, 2002: 635-656

31. Türk S, Demir M. Diabetik nefropati. Türkiye Klinikleri J Nephrol 2004;2:109-114

32. Williamson MA, Snyder ML (eds). Wallach's Interpretation of Diagnostic Tests. 9th edition. Wolter Kluwer Health, Lippincott Williams Wilkins; 2011.

33. Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser S, Longo D, Jameson JL (eds). Harrison's Principles of Internal Medicine. 17th Edition. USA: Mc Graw Hall; 2008.

34. Bancha Satirapoj MD. Review on Pathophysiology and Treatment of Diabetic Kidney Disease. J Med Assoc Thai 2010;93:228-41.

35. Zachwieja J, Soltysiak J, Fichna P, et al. Normal-range albuminuria does not exclude nephropathy in diabetic children. Pediatr Nephrol 2010;25:1581

36. Adler AI, Stevens RJ, Manley SE, et al. Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes: The United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS 64). Kidney Int 2003;63:225– 32.

37. Brenner BM. Brenner Rector's the Kidney. 7th edition. Vol 2. Saunders; 2004.

38. American Diabetes Association. Diabetic nephropathy. Diabetes Care 2003;26:94-8.

39. Seyrek A.N. Spot İdrarda Protein/Kreatinin ve Albumin/Kreatinin Oranı ile 24 Saatlik
1) İdrarda Total Protein ve Albumin Miktarının Korelasyonu (tez). Adana: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi;2012.

40. Çil E. Diyabetik Nefropatide Risk Faktörleri Yönetiminin Morbidite Üzerine Etkisi (tez). İstanbul: Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi;2005.

41. Barry J Goldstein, Dirk Müller-Wieland Type 2 diabetes mellitus. 2003;211212.

42. Defronzo RA, Diabetic Nephropathy: Etiologic and therapeutic considerations, Diabetes Rev (1995) 3:510-64.

43. Huang W, Gallois Y, Bouby N et al, Genetical increased angiotensin converting enzyme level and renal complications in the diabetic mause, Proc Natl Acad SCI USA 2001; 98:13330-4

44. Landmark K, Aursnes I. Anti-ischemic and infarction-reducing effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors. Tidsskr Nor Laegeforen. 2001 Jun 20;121(16):1923-6.

45. Nizamoğlu A. Diyabetik Nefropatisi Olan Hastalarda İskemi Modifiye Albümin Düzeyinin Renal Fonksiyon İle İlişkisi (tez). Bursa: Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi;2012.

46. Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) Study Investigators. Effects of ramipril on cardiovascular and microvascular outcomes in people with diabetes mellitus: resullts of the HOPE study and MICRO-HOPE substudy, Lancet 2000;355:253-9 111.

47. Brenner BM, Cooper ME. Effects of losartan on renal and cardiovasculer outcomes in patients with type 2 diabetes and nephropathy. N Engl J Med 2001;345:861-9.

48. Parving HH, Lehnert H, Brochner-Mortensen J, Gomis R, Andersen S, Arner P. Effect of irbesartan on the development of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. Ugeskr Laeger 2001; 163:5519-24.

49. Avcı E, Çakır E. Diyabetes Mellitusun Mikrovasküler Komplikasyonu: Diyabetik Nefropati. Selçuk Tıp Derg 2014;30(Ek Sayı-1): 15-18.

50. Viberti G, Recent advances in understanding mecanism and natural history of diabetic renal disease. Diabetes Care. 1988 11(Suppl 1):3-6.

51. Stratton IM, Adler AI, Neil HA et al. Association of glcaemia. UKPDS 35. BMJ ,2000; 321;405-12.

52. Addler AI, Stration IM, Neil HA et al. Association of systolic blood pressure with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 36). BMJ. 2000;321:41219 62.

53. Reaven GM, Role of insulin rezistance in human disease, Diabetes 1988;37:1595-607.

54. Jorge L G, Mirela de Azevedo, Sandra P. Silveiro, Luıs Henrique Canani, Maria Luiza Caramori . Diabetic Nephropathy: Diagnosis, Treatment, Prevention. Diabetes Care 28:164-176,2005.

55. Aytuğ F. Tip 2 diyabetik mikroalbüminürik hiperlipidemik hastalarda atorvastatin tedavisinin proinflamatuvar (IL-1), antiinflamatuvar (IL- 10) belirteçlere etkisinin araştırılması (tez). İstanbul: Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştirma Hastanesi.

56. Per-Henrik G, Merlin C, John L. The Presence and Severity of Chronic Kidney Disease Predicts All-Cause Mortality in Type 1 Diabetes. Diabetes July 2009 vol. 58no. 7 1651-1658.

57. Cox DJ, Kovatchev PB, Gonder-Frederick AL, et al. Relationships Between Hyperglycemia And Cognitive Performance Among Adults With Type 1 And Type 2 Diabetes. Diabet Care 2005; 28:1. 29.

58. Patel A, MacMahon S, Chalmers J, et al. Intensive blood glucose control and vascular outcomes in patients with type 2 diabetes. N Engl J Med 2008; 358 (24): 2560-72.

59. Hsueh WA; Moore L, Bryer-Ash M:Contemporary Diagnosis and Management of Type 2 Diabetes. Second edition. Pennsylvania, USA, Handbooks in health Care Co. Avrupa Tıp Kitapçılık,2004; 264-285

60. Remuzzi G, Schieppati A, Ruggenenti P:Clinical Practice.Nephropathy in patients with type 2 diabetes.N Engl J Med 2002;346:1145-1151

61. ACCF/AHA 2011 Expert Consensus Document on Hypertension in the Elderly. Vol. 57, No. 20, 2011. ISSN 0735-1097.

62. Nolan CR, Schrier RW. Kidney in hypertension. In: Schrier RW editor. Renal and Electrolyte Disorders.6th edition. Lippincott Williams&Wilkins, 2005. p.272-324.

63. Burt VL,Whelton P,Roccella EJ,Brown C,Cutler JA,Higgins M,HoraN MJ,Labarthe D. Prevalance of hypertension in the US adult population.Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey,1988- 1991.Hypertension 1995;25:303-304.

64. Sansoy V,Soydan İ, Tokgözoğlu L, Adalet K. TEKHARF, oniki yıllık izleme deneyimine göre Türk erişkinlerinde kalp sağlığı. İstanbul Türkiye,2003.

65. JNC 7 report. JAMA. 2003 May 21:289(19):2560-72

66. Sungur C, Akpolat T. Böbreklerin Temel Fonksiyonları ve Düzenlenmesi. In: Akpolat T, Utaş C, Süleymanlar G. Editors. Nefroloji El Kitabı. 4. Baskı Ġstanbul Nobel Tıp Kitabevi. 2007. p.1-251.

67. Fyhrquist F, Saijonmaa O. Renin-angiotensin system revisited. J Intern Med. 2008 Sep;264(3):224-36.

68. Akalın S, Akçiçek F, Büyüköztürk K, Canberk A, Çağlar N, Eryılmaz Y ve ark. Anjiotensin II ve anjiotensin II antagonistleri. İstanbul: Print Center; 2001:58-65.

69. Catanzoro DF. Angiotensinogen: physiology, moleculer biology, and relevance to hypertension. In: Oparil S, Weber MA (Eds). Hypertension. Philadelphia: WB Saunders Company; 2000. p.77-89.

70. Fabiani ME, Dinh DT, Nasis L, Johnson CL. Angiotensin-converting enzyme: basic properties distribution and functional role. In: Oparil S, Weber MA (Eds). Hypertension. Philadelphia: WB Saunders Company; 2000. p.90-100.

71. Şen S. Primer hipertansiyon patogenezinde renin-anjiotensin-aldosteron sisteminin rolü. Türk Nefroloji, Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi 2004;13(2) 45-50.

72. Leung PS, Carlsson PO. Tissue renin–angiotensin system: its expression, localization, regulation and potential role in the pancreas. Journal of Molecular Endocrinology 2001;26:155–64.

73. Peynirci H. Deneysel Diyabetik Nefropatide İrbesartan, Antioksidan ve Kombinasyon Tedavilerinin Karşılaştırılması (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi;2010.

74. Jacobsen PK. Preventing end stage renal disease in diabetic patientsdual blockade of the renin-angiotensin system. J Renin Angiotensin Syst 2005 Sep; 6: 55-68.

75. Yıldırım T. Evre 3-5 Kronik Böbrek Hastalarında Renin anjiyotensin Aldosteron Sistemini Baskılayan İlaçlarin Kullanımı: Etkinlik Ve Güvenlik Analizi (tez). Ankara: Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2009.

76. Fogo AB. Mechanisms of progression of chronic kidney disease. Pediatr Nephrol 2007; 22: 2011-2022.

77. Hostetter H, Rosenberg M, Ibrahim H, ve ark. Aldosterone in progressive renal disease. Semin Nephrol 2001; 21: 573-579.

78. Epstein M. Aldosterone blockade: an emerging strategy for abrogating progressive renal disease. Am J Med 2006; 119: 912-919.

79. Siragy HM. The role of AT2 receptor in hypertension. Am J Hypertens 2003; 13(suppl): S62-67.

80. Gilbert RE, Krum H, Wilkinson-Berka J, Kelly DJ. The renin–angiotensin system and the long-term complications of diabetes: pathophysiological and therapeutic considerations. Diabet Med 2003;20:607–21.

81. Ribeiro-Oliveira A Jr, Nogueira AI, Pereira RM, Boas WWV, Dos Santos RA, Simões e Silva AC. The renin–angiotensin system and diabetes: an update. Vasc Health Risk Manag 2008;4(4):787–803.

82. Duncan JA, Scholey JW, Miller JA. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in humans: physiology and pathophysiology of the genotypes. Curr Opin Nephrol Hypertens. 2001; 10: 111-116.

83. Bonnardeaux A, Davies E, Jeunemaitre X, Fery I, Charru A, Clauser E, Tiret L, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in human essential hypertension. Hypertension 1994; 24: 63-69.

84. Wang JG, Staessen JA. Genetic polymorphisms in the renin-angiotensin system: relevance for susceptibility to cardiovascular disease. Eur J Pharmacol. 2000; 410: 289-302.

85. Tomino Y, Makita Y, Shike T, Gohda T, Haneda M, Kikkawa R, et. al. Relationship between polymorphism in the angiotensinogen, angiotensin-converting enzyme or angiotensin II receptor and renal progress in Japanese NIDDM patients. Nephron 1999; 82: 139–144.

86. Buraczynska M, Ksiazek P, Zaluska W, Spasiewicz D, Nowicka T, Ksiazek A. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism in end-stage renal disease. Nephron 2002; 92: 51-55.

87. Coll E, Campos B, Gonzalez-Nunez D, Botey A, Poch E. Association between the A1166C polymorphism of the angiotensin II receptor type 1 and progression of chronic renal insufficiency. J Nephrol 2003; 16: 357-364.

88. Oral B. Laktik Asit Bakterilerinde Tür İçi ve Türler Arası Ayrımda 16S-Ardra Tekniğinin Değerlendirilmesi (tez). Ankara: Ankara Üniversitesi;2010.

89. Akçay F. İnsan Serum Paraoksonaz Enzimi (Pon 1) 192 Gln-Arg Gen Polimorfizminin Belirlenmesi (tez). Balıkesir: Balıkesir Üniversitesi;2006.

90. Life Technologies (US). PureLink genomic DNA isolation protocol of invitrogen medical research corpration. New York: 2012.

91. M, Querci M. Gıda örneklerinde genetiği değiştirilmiş organizma analizleri bölüm 6; Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR). JRJ European Commission 2010;9,10.

92. Alkanlı N. İskemik İnmeli Hastalarda Calca, Mthfr Gen Polimorfizmleri İle Plazma Total Homosistein Düzeylerinin Araştirilması (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi;2014.

93. Bowden DW. Genetics of diabetes complications. Curr Diab Rep 2002;2:191-200

94. Rizvi S, Syed TR, Farzana M. Association of genetic variants with diabetic nephropathy. World J Diabetes 2014 December 15;5(6):809-816.

95. Numune Sağlık Dergisi Hipertansiyon özel sayısı. 2011;7.

96. Ay A. Hipertansiyonlu Hastalarda Anjiyotensinojen M235T/T174M Gen Polimorfizminin Araştırılması (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi;2007.

97. Kim H.K, Lee H, Kwon J.T, Kim H.J. A polymorphism in AGT and AGTR1 gene is associated with lead-related high blood pressure. Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System 2014;1-8.

98. Ding P, Yang Y, Ding S, Sun B. Synergistic association of six wellcharacterized polymorphisms in three genes of the renin-angiotensin system with breast cancer among Han Chinese women. Journal of the Renin-AngiotensinAldosterone System. 2014; 1–8.

99. Chen W.J, Huang Y, Shiue H, Chen T, LinY, Huang C, et. al. Renin angiotensin aldosterone system related gene polymorphisms and urinary total arsenic is related to chronic kidney disease. Toxicology and Applied Pharmacology 2014;279:95–102.

100. Lin J, Hu F, Qi L, Curhan G. Genetic polymorphisms of angiotensin-2 type 1 receptor and angiotensinogen and risk of renal dysfunction and coronary heart disease in type 2 diabetes mellitus. BMC Nephrology 2009;10:9.

101. Ichikawa M, Konoshita T, Nakaya T, Yamamoto K, Yamada M, Sato S, et.al. Genetic variant of the renin-angiotensin system and prevalence of type 2 diabetes mellitus: a modest but significant effect of aldosterone synthase. Acta Diabetol 2014;51:595–599.

102. Tang W, Zhou T. B, and Jiang Z. Association of the angiotensinogen M235T gene polymorphism with risk of diabetes mellitus developing into diabetic nephropathy. Journal of the Renin-Angiotensin Aldosterone System 2014; 1-7.

103. Liao X, Yang Z, Peng D, Dai H, Lei Y, Zhao Q, et.al. Association of T174M polymorphism of angiotensinogen gene with essential hypertension: A meta-analysis. Genetics and Molecular Biology, 2014;37(2):473-479.

104. Liu D, Lu F, Zhai S, Wei L, Ma S, Chen X. Renin-angiotensin system gene polymorphisms in children with Henoch–Schönlein purpura in West China. Journal of Renin-Angiotensin-Aldosterone System 2010.

105. Wang W.Z. Association between T174M polymorphism in the angiotensinogen gene and risk of coronary artery disease: a meta-analysis. Journal of Geriatric Cardiology 2013;10: 59−65.

106. Freitas A, Mendonça I, Brion M, Sequeira M, Reis R, et.al. RAS gene polymorphisms, risk factors and the advent of coronary artery disease in the Portuguese population. BMC Cardiovascular Disorders 2008;8:15

107. Jakubiak M, Denus S, Dube S, Belanger F, White M, Turgeon J. Ten renin-angiotensin system-related gene polymorphisms in maximally treated Canadian Caucasian patients with heart failure. Br J Clin Pharmacol 2008;65(5):742–751.

108. Ortiz E, Villarreal A, Ruiz L, Carrillo K, Elizalde, A, Gil T, et.al. Variants and Haplotypes in Angiotensinogen Gene Are Associated With Plasmatic Angiotensinogen Level in Mexican Population. Am J Med Sci. 2011;342(3):205–211.

109. Agachan B, Isbir T, Yilmaz H, Akoğlu E. AngiotensinconvertingenzymeI/D, angiotensinogen T174M/M235T and angiotensin II type 1 receptor A1166C gene polymorphisms in Turkish hypertensive patients. Experımental and Molecular Medıcıne, 2003;35(6):545-549.

110. Patnaık M, Patı P,Swaın S.N, Mohapatra M.K, Dwıbedı B, Kar S.K. Aldosterone synthase C-344T, angiotensin II type 1 receptor A1166C and 11-β hydroxysteroid dehydrogenase G534A gene polymorphisms and essential hypertension in the population of Odisha, India. Journal of Genetics, December 2014; 93(3).

111. Kikuya M, Sugimoto K, Katsuya T, Suzuki M, Sato T, Funahashi J, Katoh R, Kazama I, Michimata M, Araki T, Hozawa A, Tsuji I, Ogihara T, Yanagisawa T, Imai Y, Matsubara M. A/C1166 Gene Polymorphism of the Angiotensin II Type 1 Receptor (AT1) and Ambulatory Blood Pressure: the Ohasama Study. Hypertens Res 2003; 26: 141-145.

112. Kurt H, Bayramoglu A, Gunes H, Ozbabalik D, Degirmenci I, Colak E, et.al. Frequency of angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism in Turkish acute stroke patients. J. Cell. Mol. Med. 2013;17(4):475-481.

113. Wu C.K, Lee J.K, Chianh F.T. Impact of the renin angiotensin system and inflammatory gene polymorphisms on diastolic heart failure. Journal of the Formosan Medical Association 2014;113:69-71.

114. Öztürk Ö, Öztürk Ü, Bilici A. The Effect of Angiotensin II Type-1 Receptor Gene Polymorphisms on Doppler Blood Flow Parameters of Carotid and Brachial Arteries in Patients with Myocardial Infarction. Echocardiography 2006; 23: 536-541.

115. Yang C, Zhou T. Relationship between the angiotensinogen A1166C gene polymorphism and the risk of diabetes mellitus developing into diabetic nephropathy. Journal of the Renin-AngiotensinAldosterone System 2015;1-5.

116. Yin X, Li H, Xuan J, Chen Y, Li L, Dong X AGTR1 A1166C polymorphism is associated with risk of diabetic nephropathy. Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. 2013 Jan;42(1):45-51.

RESİMLEMELER LİSTESİ

ŞEKİLLER **Sayfa**

Şekil 1. Diyabette nefropati gelişme aşamaları 5
Şekil 2. Diyabetik nefropati gelişimi moleküler mekanizması 7
Şekil 3. Hipertansiyonda renal hasar oluşum mekanizması 18
Şekil 4. Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi 21
Şekil 5. Renin anjiyotensin aldosteron sistemi 22
Şekil 6. AGT M235T / T174M genlerinin lokalizasyonu 24
Şekil 7. AT1R A1166C geninin lokalizasyonu 25
Şekil 8. Bir polimeraz zincir reaksiyonu döngüsü 31
Şekil 9. Deoksiribonükleik asitin polimeraz zincir reaksiyonu ile üstel olarak çoğaltılması. 32
Şekil 10. Hasta ve kontrol deoksiribonükleik asit örneklerinin % 0.8 lik agaroz jelde yürütülmesi ve ultraviyole ışık altında görüntülenmesi 41
Şekil 11. AGT geninin M235T gen polimorfizmi için hasta ve kontrol kesim ürünlerinin % 2,5'luk agaroz jelde yürütülmesi ve ultraviyole ışık altında görüntülenmesi 41
Şekil 12. AGT geninin T174M gen polimorfizmi için hasta ve kontrol kesim ürünlerinin % 2,5'luk agaroz jelde yürütülmesi ve ultraviyole ışık altında görüntülenmesi 42
Şekil 13. AT1R geninin A1166C gen polimorfizmi için hasta ve kontrol kesim ürünlerinin % 2,5'luk agaroz jelde yürütülmesi ve ultraviyole ışık altında görüntülenmesi 42
Şekil 14. AGT M235T gen polimorfizminin hasta ve kontrol arasındaki dağılımı 44
Şekil 15. AGT T174M gen polimorfizminin hasta ve kontrol arasındaki dağılımı 46
Şekil 16. AT1R A1166C gen polimorfizminin hasta ve kontrol arasındaki dağılımı 48

TABLOLAR **Sayfa**

Tablo 1. İdrar protein atılımında değişiklikler 10
Tablo 2. Diyabetik Nefropatinin Evreleri (Mogenson sınıflaması)..... 12
Tablo 3. Hipertansiyon Sınıflaması..... 16
Tablo 4. Anjiyotensinojen M235T ve T174M gen polimorfizmleri kesim sonuçları 36
Tablo 5. Anjiyotensin Tip 1 Reseptör A1166C gen polimorfizmi kesim sonuçları 36
Tablo 6. Hasta ve kontrol grupları arasında klinik bulguların karşılaştırılması 37
Tablo 7. Hasta ve kontrol grupları arasında klinik bulguların karşılaştırılması..... 38
Tablo 8. Hasta ve kontrol grupları arasında cinsiyet karşılaştırılması..... 38
Tablo 9. Hasta ve kontrol grupları arasında hipertansiyon karşılaştırılması..... 38
Tablo 10. Hasta ve kontrol grupları arasında alkol kullanımı karşılaştırılması..... 39
Tablo 11. Hasta ve kontrol grupları arasında sigara kullanımı karşılaştırılması..... 39
Tablo 12. Hasta ve kontrol grupları arasında aile diyabet öyküsünün karşılaştırılması..... 39
Tablo 13. Hasta ve kontrol gruplarında kullanılan ilaçların etken maddelerinin karşılaştırılması. 39
Tablo 14. Hasta ve kontrol gruplarında kullanılan ilaçların etken maddelerinin karşılaştırılması. 40
Tablo 15. Hasta ve kontrol gruplarında kullanılan ilaçların etken maddelerinin karşılaştırılması. 40
Tablo 16. Hasta ve kontrol gruplarında kullanılan ilaçların etken maddelerinin karşılaştırılması. 40
Tablo 17. Hasta ve kontrol gruplarında kullanılan ilaçların etken maddelerinin karşılaştırılması. 40
Tablo 18. Anjiyotensinojen M235T gen polimorfizminin hasta ve kontrol gruplarına göre genotip dağılımı..... 43
Tablo 19. Hasta grubunun allel dağılımı 43
Tablo 20. Kontrol grubunun allel dağılımı..... 43
Tablo 21. Anjiyotensinojen T174M gen polimorfizminin hasta ve kontrol gruplarına göre genotip dağılımı..... 45
Tablo 22. Hasta grubunun allel dağılımı 45
Tablo 23. Kontrol grubunun allel dağılımı..... 45
Tablo 24. Anjiyotensin Tip 1 Reseptör A1166C gen polimorfizminin hasta ve kontrol gruplarına göre genotip dağılımı..... 47
Tablo 25. Hasta grubunun allel dağılımı 47
Tablo 26. Kontrol grubunun allel dağılımı..... 47

ÖZGEÇMİŞ

Fulya YÜKÇÜ

Doğum Tarihi: 25.12.1983

EĞİTİM:

1990-1995 Denizli, 24 Mayıs İlk Okulu

1995-1998 İstanbul, Bayrampaşa Hürriyet İlköğretim Okulu

1998-2002 İstanbul, Çemberlitaş Kız Lisesi

2003-2008 Edirne, Trakya Üniversitesi Fen- Edebiyat Fakültesi Fizik Bölümü

2008-2011 Edirne, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Yüksek Lisans

2011-2015 Edirne, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Doktora

YAYINLAR:

Ulusal ve Uluslararası Kongre ve Sempozyum Bildirileri

1. Klinik Araştırmalarda Etik Yaklaşım Kursu 1-2 Haziran 2009 EDİRNE
2. The 2nd International Biophysics Congress and Biotechnology GAP & 21st National Biophysics Congress 5-9 OCTOBER 2009 DİYARBAKIR
3. Bilimsel Araştırma ve Yayınlarda Etik İlkeler Sempozyumu 25 Aralık 2009 EDİRNE
4. XXII. Ulusal Biyofizik Kongresi 28 Eylül-1 Ekim 2010 AYDIN
5. Türkiye Bilimler Akademisi 1. Kök Hücre Kursu ve 5. Kök Hücre Sempozyumu 25-26 Haziran 2010 ANKARA
6. Yüzey Bilimlerinin Temelleri: Optik ve Elektron Mikroskopileri ile Diğer Güncel Mikroskopiler ve Biyofizikteki Uygulamaları kursu, 12-13 Ekim 2010. EDİRNE
7. Türkiye Bilimler Akademisi 2. Kök Hücre Kursu ve 6. Kök Hücre Sempozyumu 25-26 Haziran 2011 ANKARA
8. International Symposium on New Approaches in Cardiovascular Disorders From Genes & Molecules Applications May 04-08, 2011 ANKARA
9. Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından düzenlenen "Laboratuvar Hayvalarını Kullanım Kursu" 2011, EDİRNE
10. 23. Ulusal Biyofizik Kongresi 13-16 Eylül 2011 EDİRNE
11. 24. Ulusal Biyofizik Kongresi 25-28 Eylül 2012 İSTABUL
12. 25. Ulusal Biyofizik Kongresi 24-27 Eylül 2013 TRABZON
13. TÜBİTAK Sağlık Bilimleri Alanında Proje Hazırlama, Yazma ve Yürütme Eğitimi 3-5 Nisan 2014 EDİRNE
14. Trakya İç Hastalıkları Günleri 30 Mayıs-1 Haziran 2014 EDİRNE

Araştırma Projeleri

1. Tip 2 Diabetes Mellitus'lu Hastalarda Matriks Gla Proteininin G-7A ve T-138C Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması. (TÜBAP-2009/114), 2011.

2. Tip 2 Diyabetes Mellituslu Hastalarda Anjiyotensinojen M235T, Anjiyotensinojen T174M ve Anjiyotensin Tip 1 Reseptör A1166C Polimorfizmlerinin Diyabetik nefropati gelişimine Etkisinin Araştırılması. (TÜBAP-2014/71), 2015.

SCI-SSCI veya SCI Expanded Kapsamındaki Yayınlar

1. Soysal A.N, Guldiken S, Sipahi T, **Yukcu F**, Betul Ekiz B.B, Huseyin S, Ege T, Tugrul A. Relationship Between an Osteoprotegerin Gene Polymorphism and Diabetic Vascular Complications. Clin. Lab. 2015;61:595-601.

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler

1. **Yukcu F,** Sipahi T, Guldiken S, Huseyin S, Ekiz B.B. Study of Matrix Gla Protein G-7A and T-138C Gene Polymorphisms in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. Medical Science and Discovery. October 2015. Vol.2, No.5.

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler

1. Alkanli N, Sipahi T, Okman T.K, Basak A.A, **Yukcu F**, Sener S. The association of Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Gene Polymorphism and Preeclampsia in the Turkish Women. 2nd International Biophysics Biotechnology at GAP & 21st National Biophysics Congress Bildiri Özetleri, 2009;102. Diyarbakır.
1. **Yukcu F**, Sipahi T, Guldiken S, Ekiz B.B. Study of Gene Polymorphisms of Matrix Gla Proteins G-7A and T-138C in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. International Symposium on New Approaches in Cardiovascular Disorders From Genes & Molecules to Clinical Applications bildiri kitapçığı. 2011;60. Ankara.

Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler

1. Başak A.A, Sipahi T, Alkanlı N, **Yükçü F**, Kılıç O. T, Şener S. eNOS İntron 4 VNTR Polimorfizminin Trakya Bölgesindeki Kadınlarda Görülen Preeklampsi ile İlişkisi. 22. Ulusal Biyofizik Kongresi, Bildiri Özetleri Kitabı, 2010;40-41, Aydın.
2. Alkanlı N, Sipahi T, Kılıç O. T, Başak A.A, **Yükçü F**, Şener S. Anjiyotensin II Tip 1 Reseptör Gen Polimorfizminin Türk Kadınlarında Görülen Preeklampsi İle İlişkisi. 22. Ulusal Biyofizik Kongresi, Bildiri Özetleri Kitabı, 2010;57-58, Aydın.
3. **Yükçü F**, Sipahi T, Bilir E. B, Başak A.A, Alkanlı N, Güldiken S. Tip II Diabetes Mellitus'lu Hastalarda Matriks Gla Proteininin G-7A Gen Polimorfizminin Araştırılması. 22. Ulusal Biyofizik Kongresi, Bildiri Özetleri Kitabı, 2010;58-59, Aydın.

4. Alkanlı N, Sipahi T, **Yükçü F**, Bilir E. B, Güldiken S, Şener S. ACE (I/D) GEN Polimorfizminin Tip 2 Diabetes Mellitus İle İlişkisi. 23. Ulusal Biyofizik Kongresi, Bildiri Özetleri Kitabı, 2011;58 Edirne.
5. **Yükçü F**, Sipahi T, Güldiken S, Bilir E. B. Matriks Gla Protein T-138C Gen Polimorfizminin Tip 2 Diabetes Mellitus Hastalığındaki Rolü. 23. Ulusal Biyofizik Kongresi, Bildiri Özetleri Kitabı 2011;72-73 Edirne.
6. Soysal A. N, Güldiken S, Sipahi T, **Yükçü F**, Bilir E. B, Hüseyin S, Ege T, Tuğrul A. Tip 2 Diyabetik Olgularda Mikrovasküler ve Makrovasküler Komplikasyonların Osteoprotegerin Polimorfizmi ile ilişkisi. 34. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Kongresi, Bildiri Özetleri Kitabı, 2012;214-215, Antalya.
7. Ünlü A, Erkan O, **Yükçü F**, Sipahi T. Kazal Tip 5 Serin Proteaz İnhibitörünün Modellenmesi. 24. Ulusal Biyofizik Kongresi, Bildiri Özetleri Kitabı, 2012;55, İstanbul.
8. **Yükçü F**, Erkan O, Ünlü A, Karlıkaya C, Sipahi T. Astım Hastalarında Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim İnsersiyon/Delesyon Gen Polimorfizminin Belirlenmesi. 24. Ulusal Biyofizik Kongresi, Bildiri Özetleri Kitabı, 2012;80, İstanbul.
9. **Yükçü F**, Sipahi T, Güldiken S, Bilir E. B, Erkan O. Tip II Diabetes Mellitus Hastalarında Ace Gen Polimorfizminin Diyabetik Nefropati ile İlişkisi. 25. Ulusal Biyofizik Kongresi, Bildiri Özetleri Kitabı, 2013;83, Trabzon.
10. Erkan O, Karlıkaya C, Çetinsu V, **Yükçü F**, Sipahi T. Astım Hastalarında SPINK5 G-1258A Gen Polimorfizminin Araştırılması. 25. Ulusal Biyofizik Kongresi, Bildiri Özetleri Kitabı, 2013; 101, Trabzon.
11. Sipahi T, **Yükçü F**, Üstündağ S, Güldiken S. Tip 2 Diyabetes Mellituslu Hastalarda Anjşyotensinofen M235T Polimorfizminin Diyabetik Nefropati Gelişimine Etkisinin Araştırılması. 26. Ulusal Biyofizik Kongresi, Bildiri Özetleri Kitabı, 2014;33, Tokat.
12. **Yükçü F**, Sipahi T, Üstündağ S, Güldiken S. Tip 2 Diyabetes Mellituslu Hastalarda Anjiyotensinojen T174M Polimorfizminin Diyabetik Nefropati Gelişimine Etkisinin Araştırılması. 26. Ulusal Biyofizik Kongresi, Bildiri Özetleri Kitabı, 2014;51, Tokat.

EKLER

Ek 1

T.C. TRAKYAÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU Edirne, Türkiye

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYIBAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTF-GOKAEK 201/24	
	PROTOKOL ADI	Tip 2 Diyabetes Mellituslu Hastalarda Anjiyotensinojen M235T, Anjiyotensinojen T174M ve Anjiyotensin Tip 1 Reseptör A1166C Polimorfizmlerinin Diyabetik nefropati gelişimine Etkisinin Araştırılması	
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI / ADI	Doç. Dr. Tammam SİPAHİ	
	ARAŞTIRMA MERKEZİ		
	DESTEKLEYİCİ		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Tek Merkez Ulusal	Çok Merkez Uluslararası
KARAR BİLGİLERİ	**Karar No: 03/ 14**	**Tarih:05.02.2014**	
	Üniversitemiz Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Tammam SİPAHİ'nin sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Doktora Öğrencisi Fulya YÜKÇÜ'nün tez çalışmasının araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, araştırmaya ilişkin giderlerin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödetilmediği koşullarda gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel standartlar açısından sakınca bulunmadığına mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.	
ETİK KURUL BİLGİLERİ			
ÇALIŞMA ESASI	Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF-GOKAEK Yönergesi		

ÜYELER

Ünvan/Ad/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki(*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ülfet VATANSEVER ÖZBEK Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D	K	E☐ H☒	E☒ H☐	
Yrd. Doç. Dr. Esin KARLIKAYA Başkan Yardımcısı	Tıp Tarihi ve Etik	T.Ü.T.F. Tıp Tarihi ve Etik A.D.	K	E☐ H☒	E☒ H☐	
Prof. Dr. Ç. Hakan KARADAĞ Üye	Tıbbi Farmakoloji.	T.Ü.T.F Tıbbi Farmakoloji A.D	E	E☐ H☒	E☒ H☐	
Yrd. Doç. Dr. F. Nesrin TURAN Üye	Biyoistatistik	T.Ü.T.F. BiyoistatistikA.D.	K	E☐ H☒	E☒ H☐	
Yrd. Doç. Dr. Hilmi TOZKIR Üye	Tıbbi Genetik	T.Ü.T.F. Tıbbi Genetik A.D.	E	E☐ H☒	E☒ H☐	
Doç. Dr. Hasan ÜMİT Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E☐ H☒	E☒ H☐	
Doç. Dr. Selma Arzu VARDAR Üye	Fizyoloji	T.Ü.T.F. Fizyoloji A.D.	K	E☐ H☐	E☐ H☐	İZİNLİ
Doç. Dr. Sedat ÜSTÜNDAĞ Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E☐ H☐	E☐ H☐	İZİNLİ
Doç. Dr. Burcu TOKUÇ Üye	Halk Sağlığı	T.Ü.T.F. Halk Sağlığı A.D.	K	E☐ H☐	E☐ H☐	İZİNLİ
Prof. Dr. Koray ELTER Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	T.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	E	E☐ H☐	E☐ H☐	İZİNLİ
Yrd. Doç. Dr. Rugül KÖSE ÇINAR Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Ruh Sağ. ve Has. A.D.	K	E☐ H☒	E☒ H☐	
Prof. Dr. Recep YAĞIZ Üye	Kulak, Burun ve Boğaz Hastalıkları	T.Ü.T.F. K.B.B. Hast. A.D.	E	E☐ H☒	E☒ H☐	
Doç. Dr. Atakan SEZER Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	E☐ H☐	E☒ H☐	İZİNLİ
Doç. Dr. Berkan DEMİRAL Üye		T.Ü. İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi	E	E☐ H☐	E☐ H☐	İZİNLİ
Avukat Baki KURNAZ Üye		T.Ü. Rektörlüğü	E	E☐ H☒	E☒ H☐	

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Recep YAĞIZ
Dekan a.
Dekan Yardımcısı

Ek 2

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Bir araştırma projesine davet edilmektesiniz. Bu araştırmanın yürütülmesi, Trakya Üniversitesi Girişimsel olmayan klinik araştırmalar Etik Kurulu'nun 05.02.2014 tarih ve 2014/03 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Araştırmaya katılmaya karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını anlamanız çok önemlidir.

Araştırmaya katılım tamamen gönüllülük ilkesine bağlı olup katılmayı reddetmeniz herhangi bir cezaya ya da elde edilecek herhangi bir yararın kaybedilmesine kesinlikle yol açmayacaktır.

Aynı şekilde araştırmaya katılmayı kabul ettikten sonra da araştırmanın herhangi bir yerinde hiçbir neden göstermeksizin herhangi bir zarar ya da elde edilmesi beklenen bir yarar kaybına yol açmadan araştırmadan çekilebilirsiniz.

Araştırma kapsamında yapılan işlemlerin mali giderleri Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (TÜBAP) tarafından karşılanacak olup size ya da sosyal güvenlik kurumunuza hiçbir mali yük getirmeyecektir.

Aşağıdaki bilgileri dikkatlice okuyun ve araştırmaya katılmak isteyip istemediğinize karar vermek için lütfen biraz düşünün. Açık olmayan bir bölüm varsa ya da daha ayrıntılı bilgiye ihtiyaç duyuyorsanız ya da araştırmaya katılmaya gönüllü olduktan sonra soracağınız sorular varsa 542 400 3137 numaralı cep telefonundan Fulya YÜKÇÜ'ye başvurabilirsiniz.

1. **Araştırmayla İlgili Bilgiler:**

   a. Araştırmanın bilimsel adı: Tip 2 Diyabetes Mellituslu Hastalarda Anjiyotensinojen M235T, Anjiyotensinojen T174M ve Anjiyotensin Tip 1 Reseptör A1166C Polimorfizmlerinin Diyabetik nefropati gelişimine Etkisinin Araştırılması.

   b. Araştırmanın anlaşılabilir basit adı: Şeker hastalığında bazı genlerin son dönem böbrek hastalığı gelişimine etkisinin araştırılması.

   c. Sorumlu Araştırmacının adı ve görev yeri: : Doç. Dr. Tammam SİPAHİ, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı.

   d. Araştırmanın içeriği: Sizden polikliniğe başvurduğunuzda alınan kan örneklerinden 5 ml kan alınacak. Bu kan örnekleri Biyofizik laboratuvarında çeşitli yöntemlerle incelenerek genetik değişikliklerin son dönem böbrek hastalığınız ile ilgili olup olmadığı araştırılacaktır.

   e. Araştırmanın amacı: Bu çalışmada, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji ve Endokrinoloji Bilim dallarında Tip 2 Diyabetes Mellitus nedeni ile takip edilen hastalarda adı geçen bazı genlerin son dönem böbrek hastalığı gelişimine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

   f. Araştırmanın niteliği (Klinik, Laboratuvar, Epidemiyolojik - Tez çalışması vb….): Araştırmamız klinik, laboratuvar ve epidemiyolojik doktora tez çalışması niteliğine sahiptir.

   g. Araştırmanın başlama tarihi ve öngörülen süresi: 10Şubat 2014 ve 2 yıl

   h. Araştırmaya katılması beklenen gönüllü sayısı: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji ve Endokrinoloji Bilim dalları izleminde olan hastaların dosyaları taranarak en az bir ay arayla yapılmış iki değerlendirmede gizli, açık diyabetik nerfropatisi veya diyabetik nefropati nedeni ile diyalize girmekte durumu olan toplam 105 hasta (Nefropati grubu) ile diyabetik nefropatisi olmayan 105 hasta alınarak (Nefropati olmayan grup) toplam 210 olgu dahil edilmesine karar verilmiştir.

i. Katılımcının araştırmaya dahil edilme nedeni: 18 yaşını tamamlamış olmak, Tip 2 Diyabetes Mellitus tanısı almış olmak.

j. Araştırmada uygulanacak yöntemler: Kan sayım tüpüne alınmış olan 2ml kan laboratuvarda özel işlemlerden geçirilerek adı geçen genlerin değişiklikleri araştırılacak.

k. Uygulama Sırasında Karşılaşabileceğiniz Riskler ve Rahatsızlıklar: Bu çalışma için ek kan alımı ve risk söz konusu değildir.

2. **Gönüllü İçin Araştırmadan Beklenen Yarar:** Tip 2 Diyabetik hastalarda son dönem böbrek hastalığı gelişiminde kolaylaştırıcı rol oynayan genetik faktörlerin bilinmesi, zamanında ve etkin koruyucu tedbirlerin alınabilmesini sağlayacaktır. Koruyucu önlem ve tedavilerin en erken dönemde başlanması ise bir taraftan hastaların yaşam kalitesini artırırken, diğer yandan son dönem böbrek hastalığı gelişimini geciktirerek hastaların diyalizsiz yaşam süresinin uzamasını ve hastalığın ülkemiz ekonomisine olan maliyetinin azalmasını sağlayacaktır.
3. **Araştırmaya Seçenek Olan Diğer Girişimler:** Başka herhangi bir girişim olmayacaktır.
4. **Zararların Tazmini ve Araştırma Konusundaki Diğer Soruların Cevaplandırılması:** Araştırmanın yaratacağı herhangi bir zarar veya risk bulunmamaktadır.

Doktora Öğrencisi Fulya YÜKÇÜ
Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı
0542 400 31 37

5. **Araştırma Giderleri ve Bütçesi:** Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (TÜBAP) tarafından karşılanacaktır.
6. **Gönüllülük, Çalışmayı Reddetme ve Çalışmadan Çekilme Hakkı, Çalışmadan Çıkarılma:** Araştırmada yer almak tamamen kişilerin isteğine bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirler yada herhangi bir aşamada neden belirtmeksizin araştırmadan ayrılabilirler. Araştırmacı da kişileri araştırmadan çıkarabilir. Araştırmanın sonuçları bilimsel olarak kullanılacaktır.
7. **Kimlik bilgilerinin ve elde edilen verilerin gizliliği nasıl sağlanacak?** Kişilere ait tüm klinik ve tıbbi bilgiler gizli tutulacaktır, araştırma yayınlansa bile klinik bilgiler verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilere ulaşabileceklerdir. Kişinin kendisi de gerektiğinde bu bilgilere ulaşabilecektir.
8. **Araştırma sonunda gönüllülere bilgi verilecek mi?** Araştırma sonucunda gönüllülere herhangi bir bilgi verilmeyecektir ancak gönüllüler souçlar hakkında bilgi almak isterlerse araştırmacıya ulaşabilecekler ve bilgi alabileceklerdir.

GÖNÜLLÜNÜN ÇALIŞMAYA KATILMA ONAYI

Yukarıda açıkça tanımlanan çalışmanın ne amacla, kimler tarafından ve nasıl gerçekleştirileceği anlayabileceğim bir ifade ile bana anlatıldı.
Bu araştırmadan elde edilen bilgilerin bana ve başka insanlara sağlayacağı yararlar bana anlatıldı.
Araştırma sırasında meydana gelebilecek riskler ve rahatsızlıklar bana anlayabileceğim bir dille anlatıldı.
Araştırma sırasında oluşabilecek zarar durumunda gerçekleştirilecek işlemler bana anlatıldı.
Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ve haklarım konusunda 24 saat bilgi alabileceğim bir yetkilinin adı ve telefonu bana verildi.
Araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik ve testler ile tıbbi bakım hizmetleri için benden ya da bağlı bulunduğum sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyeceği bana anlatıldı.
Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.
Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.
Sorumlu araştırmacı / hekime haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim.
Bu çalışmaya katılmayı reddetmem ya da sonradan çekilmem halinde hiçbir sorumluluk altına girmediğimi ve bu durumun şimdi ya da gelecekte gereksinim duyduğum tıbbi bakımı hiçbir biçimde etkilemeyeceğini biliyorum.
Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı / hekim ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmalim nedeniyle, benim onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabilir.
Çalışmanın sonuçları bilimsel toplantılar ya da yayınlarda sunulabilir. Ancak, bu tür durumlarda kimliğim kesin olarak gizli tutulacaktır.
Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren Gönüllü Bilgilendirme Formu adlı metni kendi anadilimde okudum.
Bu bilgilerin içeriği ve anlamı, yazılı ve sözlü olarak açıklandı.
Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularıma doyurucu cevaplar aldım.
Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.
Bu metnin imzalı bir kopyasını aldım.

Gönüllünün; (El yazısı ile)

Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

.....

.....

Tarih:

Velayet ya da vesayet altında bulunanlar için; (El yazısı ile)

Veli ya da Vasinin Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

.....

.....

Tarih:

Açıklamaları Yapan Araştırmacının Adı- Soyadı: (El yazısı ile)

İmzası:

Tarih:

Ek 3

T.C.
TRAKYA ÜNİVERİSTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI
ORİJİNALLİK RAPORU

Öğrencinin Adı Soyadı: Fulya YÜKÇÜ
Numarası: 1108303251
Anabilim Dalı: Biyofizik
Programı: Biyofizik ◯ **Yüksek Lisans** **X** Ⓧ **Doktora**
Tez başlığı/Konusu: TİP 2 DİYABETES MELLİTUSLU HASTALARDA ANJİYOTENSİNOJEN M235T / T174M VE ANJİYOTENSİN TİP 1 RESEPTÖR A1166C POLİMORFİZMLERİNİN DİYABETİK NEFROPATİ GELİŞİMİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

Yukarıda açık adı bulunan tezimin "Kapak Sayfası, Giriş ve Amaç, Genel Bilgiler, Bulgular, Tartışma, Sonuçlar, Özet ve Summary" bölümlerinden oluşan toplam 63 sayfalık kısmına ilişkin 10/06/2015 Tarihinde tez danışmanım tarafından *Turnitin* adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanmış olan orijinallik raporuna göre tezimin benzerlik oranı % 21 olarak belirlenmiştir.

Uygulanan filtrelemeler;

1-Kabul ve Onay Sayfası hariç
2-Teşekkür hariç
3-İçindekiler hariç
4-Simge ve Kısaltmalar hariç
5-Gereç ve Yöntemler Hariç
6-Kaynaklar hariç
7-Şekiller Listesi hariç
8-Özgeçmiş hariç
9-Ekler hariç

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez çalışması Orijinallik Raporu Uygulama Esaslarını inceledim ve bu uygulama esaslarında belirtilen maksimum benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini, aksinin ispat edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğruluğunu beyan ederim. 10/06/2015

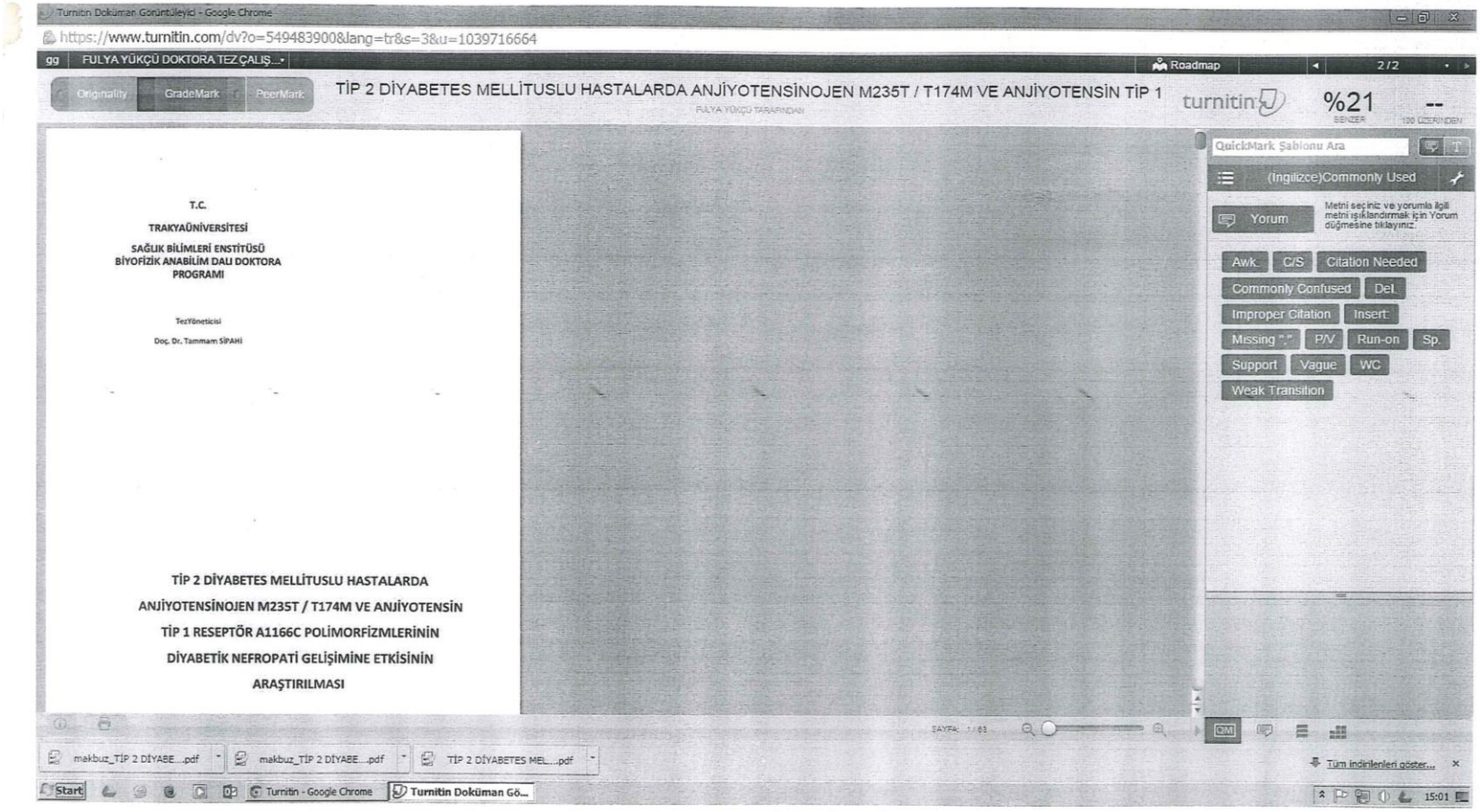
Öğrencinin Adı Soyadı, İmza
Fulya YÜKÇÜ

Ek:Orijinallik Raporu (63 Sayfa)

UYGUNDUR
10/06/2015

Doç. Dr. Tahmon SİPAHİ

Danışman Adı Soyadı, İmza


Turnitin Doküman Görüntüleyici - Google Chrome
https://www.turnitin.com/dv?o=549483900&lang=tr&s=3&u=1039716664
FULYA YÜKÇÜ DOKTORA TEZ ÇALIŞ...
Roadmap
2 / 2
Originality
GradeMark
PeerMark
TİP 2 DİYABETES MELLİTUSLU HASTALARDA ANJİYOTENSİNOJEN M235T / T174M VE ANJİYOTENSİN TİP 1
FULYA YÜKÇÜ TARAFINDAN
turnitin
%21
BENZER
--
100 ÜZERİNDEN
T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI DOKTORA PROGRAMI
Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Tammam SİPAHİ
TİP 2 DİYABETES MELLİTUSLU HASTALARDA ANJİYOTENSİNOJEN M235T / T174M VE ANJİYOTENSİN TİP 1 RESEPTÖR A1166C POLİMORFİZMLERİNİN DİYABETİK NEFROPATİ GELİŞİMİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI
QuickMark Şablonu Ara
(İngilizce)Commonly Used
Yorum
Metni seçiniz ve yorumla ilgili metni işıklandırmak için Yorum düğmesine tıklayınız.
Awk.
C/S
Citation Needed
Commonly Confused
Del.
Improper Citation
Insert
Missing ","
P/V
Run-on
Sp.
Support
Vague
WC
Weak Transition
SAYFA: 1 / 63
makbuz_TİP 2 DİYABE....pdf
makbuz_TİP 2 DİYABE....pdf
TİP 2 DİYABETES MEL....pdf
Tüm indirilenleri göster...
Start
Turnitin - Google Chrome
Turnitin Doküman Gö...
15:01

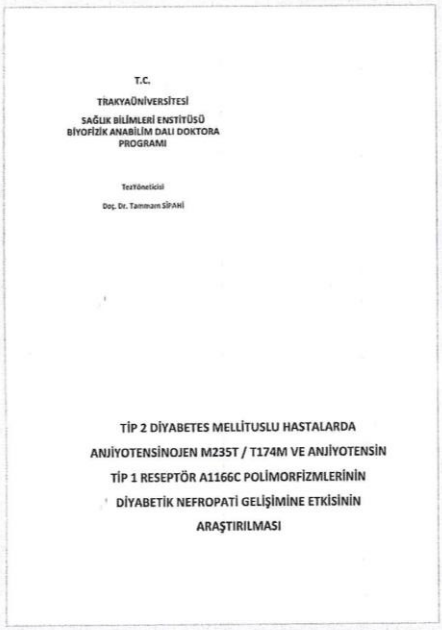
turnitin

Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen:	Fulya Yükçü
Ödev başlığı:	FULYA YÜKÇÜ DOKTORA TEZ ÇA..
Gönderi Başlığı:	TİP 2 DİYABETES MELLİTUSLU HA...
Dosya adı:	intihal.docx
Dosya boyutu:	1.19M
Sayfa sayısı:	63
Kelime sayısı:	10,758
Karakter sayısı:	78,537
Gönderim Tarihi:	10-Haz-2015 11:55AM
Gönderim Numarası:	549483900



T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI DOKTORA
PROGRAMI

Tez Yöneticisi

Doç. Dr. Tamram ŞİPAHİ

TİP 2 DİYABETES MELLİTUSLU HASTALARDA
ANJİYOTENSİNOJEN M235T / T174M VE ANJİYOTENSİN
TİP 1 RESEPTÖR A1166C POLİMORFİZMLERİNİN
DİYABETİK NEFROPATİ GELİŞİMİNE ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI

Copyright 2015 Turnitin. Tüm hakları saklıdır.