

# Diyabetes Mellitus'un Mikrovasküler Komplikasyonları Ve Proinflamatuvar Sitokin İnterlökin-18 Gen Varyasyonları Arasındaki İlişkilerin İncelenmesi

Investigation Of The Relationship Between Microvascular Complications Of Diabetes Mellitus And Proinflammatory Cytokine Interleukin-18 Gene Variations

Nevra ALKANLI<sup>1</sup>, Arzu AY<sup>2</sup>, Süleyman Serdar ALKANLI<sup>3</sup>

## ÖZET

Uzun süreli organ hastalığının gelişimi ile ilişkilendirilmiş olan Diyabetes Mellitus (DM); yüksek kan seviyeleri, insülin sekresyonu ya da fonksiyonundaki kusurlardan kaynaklanan, çeşitli komplikasyonlara yol açabilen metabolik bir bozukluktur. Hafif bir bozukluktan ciddi mortalite ve morbidite nedenine dönüşebilen DM'nin doğuştan gelen immün sistem düzensizliğine bağlı kronik inflamasyon ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Karmaşık etkileşime aracılık eden büyük ve küçük, düşük moleküler ağırlıklı hücre sinyalizasyon proteinleri ailesi *sitokinler* olarak adlandırılmaktadır. Bu sitokinler arasında; lökositler ve çeşitli diğer hücreler tarafından salgılanan uyarılara yanıt olarak interlökinler ile interferonlar bulunmaktadır. Sitokinler ve reseptörleri birbirlerine oldukça yüksek bir afinite göstermektedirler. Pro- ve anti-inflamatuvar sitokinler arasındaki dengesizlik sonucunda gelişen inflamasyon, DM ve komplikasyonlarına yol açabilmektedir. Bu sitokinlerin promotör ya da intron bölgelerinde yer alan genetik varyasyonlar, sitokinler arasındaki dengenin bozulmasına neden olabilmektedirler. Böylece bu dengenin bozulması ile gen ekspresyon değişiklikleri ortaya çıkabilmektedir. Pro-inflamatuvar özellikler içeren interlökin-1 (IL-1) süper ailesinin önemli bir üyesi de interlökin-18 (IL-18)'dir ve çeşitli hücreler tarafından üretilmektedir. Sitokin gen ekspresyonu ve T yardımcı hücre farklılaşmasını indükleyerek immün yanıtın düzenlenmesinde etkili olan IL-18'in inflamatuvar hastalıklar, otoimmün hastalıklar gibi çeşitli hastalıkların gelişimi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. IL-18 geninin promotör bölgesinde ortaya çıkan genetik varyasyonlar, transkripsiyon faktörlerinin bağlanması ile ilişkilidir ve böylece inflamatuvar sitokin ekspresyonu ya da aktivitesinin değişimine neden olabilmektedirler. Bu değişimlerden yola çıkılarak çeşitli hastalıkların patogenezi ile ilgili önemli bilgiler elde edilebilmektedir. IL-18 gibi inflamasyon mediyatörlerinin DM gelişiminde de etkili olabilecekleri düşünülmektedir. Bu yüzden bu derlemenin amacı; DM ve DM'de gelişen komplikasyonlar hakkında genel bilgiler verilmesinin yanısıra; DM'nin mikrovasküler komplikasyonlarının gelişiminde proinflamatuvar sitokin olan IL-18 gen varyasyonlarının genetik bir risk faktörü olarak etkilerinin incelenmesidir.

**Anahtar Kelimeler:** Diyabetes Mellitus, Mikrovasküler Komplikasyonlar, IL-18 geni, Genetik Varyasyonlar, Polimeraz Zincir Reaksiyonu

## ABSTRACT

Diabetes Mellitus (DM), which is associated with the development of long-term organ disease, is a metabolic disorder that can lead to various complications resulting from high blood levels, insulin secretion or defects in its function. It has been determined that DM, which can turn from a mild disorder to a serious cause of mortality and morbidity, is associated with chronic inflammation due to innate immune system disorder. The family of large and small, low molecular weight cell signalization proteins that mediate complex interaction are called cytokines. Among these cytokines; interleukins and interferons are found in response to stimuli secreted by leukocytes and various other cells. Cytokines and their receptors show a high affinity for each other. Inflammation resulting from imbalance between pro- and anti-inflammatory cytokines can lead to DM and its complications. Genetic variations in the promoter or intron regions of these cytokines can cause disruption of the balance between cytokines. Thus, gene expression changes can occur with disruption of this balance. An important member of the interleukin-1 (IL-1) super family, which includes pro-inflammatory properties, is interleukin-18 (IL-18) and is produced by various cells. It is thought that IL-18, which is effective in regulating immune response by inducing cytokine gene expression and T helper cell

<sup>1</sup> Dr. Öğr. Üyesi, T.C. Haliç Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul, TÜRKİYE, nevralkanli@halic.edu.tr, ORCID No: 0000-0002-3745-8838

<sup>2</sup> Dr. Öğr. Üyesi, Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Edirne, TÜRKİYE, arzuay78@yahoo.com, ORCID No: 0000-0002-8412-091X

<sup>3</sup> MSc, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul, TÜRKİYE, alkanliserdar@gmail.com, ORCID No: 0000-0003-0482-8246



differentiation, may be associated with the development of various diseases such as inflammatory diseases, autoimmune diseases. Genetic variations occurring in the promoter region of the IL-18 gene are associated with the binding of transcription factors and thus can lead to changes in inflammatory cytokine expression or activity. Based on these changes, important information about the pathogenesis of various diseases can be obtained. It is thought that inflammation mediators such as IL-18 may also be effective in the development of DM. Thus, the purpose of this review is; In addition to giving general information about the complications developing in DM and DM; it is the investigation of the effects of IL-18 gene variations, which are proinflammatory cytokines in the development of microvascular complications of DM, as a genetic risk factor.

**Key Words:** Diabetes Mellitus, Microvascular Complications, IL-18 gene, Genetic Variations, Polymerase Chain Reaction

## 1. GİRİŞ

DM; insülin hormon sekresyonunun veya insülin etkisinin azlığı sonucunda ortaya çıkan, insülin direncinin de gelişebileceği, kronik hiperglisemi ile karakterize multifaktöriyel bir metabolizma hastalığıdır. DM gelişimi; karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarındaki bozukluklar ile ilişkilendirilmiştir. DM, Tip 1 DM ve Tip 2 DM olmak üzere iki farklı tipte sınıflandırılmaktadır. DM gelişimi sonucunda dokularda ve organlarda çeşitli fonksiyonel değişiklikler ortaya çıkabilmekte ve bu değişiklikler de birtakım komplikasyonların oluşumuna yol açabilmektedir. DM komplikasyonları genel olarak akut komplikasyonlar ve kronik komplikasyonlar olmak üzere iki grupta sınıflandırılmaktadırlar. Bu komplikasyonlardan kronik komplikasyonlar da kendi içinde makrovasküler komplikasyonlar ve mikrovasküler komplikasyonlar olarak ayrılmaktadırlar. Mikrovasküler komplikasyonlar arasında diabetik nefropati (DN), diabetik retinopati (DR) ve diabetik nöropati (DNP) yer almaktadır (Avcı-Çakır 2014:15-18). Patogenezinde genetik ve çevresel faktörlerin birlikte rol oynadığı multifaktöriyel bir hastalık olarak bilinen DM hastalığının gelişiminde ve bu hastalık sonucunda ortaya çıkabilen komplikasyonların oluşumunda genetik faktörler oldukça önemli rol oynamaktadırlar (Ay, vd. 2018:1257-1265; Balasar-Yıldırım 2015:69-73). Bu genetik faktörler arasında yer alan, dünyadaki etnik popülasyonlar arasında önemli farklılıklar gösteren spesifik genlerde tanımlanmış tek nükleotid gen varyasyonları DM patogenezinde etkilidirler. Farklı popülasyonlarda sitokin gen varyasyonları ile gen-gen etkileşimleri arasındaki genotipik ilişkilerin tanımlanması, DM hastalığının yatkinliğinde önemli bir belirteç olarak klinik öneme sahiptir. Sitokin gen varyasyonları ile gerçekleştirilecek çalışmalar, prognostik belirteçlerin geliştirilmesinde etkilidirler. Bu prognostik belirteçlerin, DM ve DM'nin mikrovasküler komplikasyonları için önleyici veya geciktirici tedbirlerin alınabilmesinde, yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde yol gösterici olacakları düşünülmektedir (Bai, vd. 2016:10522-10528). IL-18 gibi bazı sitokinler / kemokinler, özellikle Tip 2 DM patogenezinde ve progresyonunda rol oynayan inflamasyon metabolizmasında oldukça etkilidirler. Sitokin genlerinin promotör bölgelerinde ortaya çıkan genetik varyasyonlar sonucunda ekspresyon düzeyleri etkilenebilmekte ve hastalık modifiye edilebilmektedir (Navarro-Gonzalez-Mora-Fernandez 2008:433-442). Bu yüzden bu derlemede; DM ve DM'de gelişen komplikasyonların mekanizmaları hakkında açıklamaların yapılması; DM'nin mikrovasküler komplikasyonlarının gelişiminde proinflamatuvar sitokin olan IL-18 gen

varyasyonlarının olası etkilerinin incelenerek literatüre katkıda bulunabilecek önemli sonuçların belirtilmesi amaçlanmıştır.

## 2. DİYABETES MELLİTUS

DM; dünyadaki en yaygın metabolik bozukluklardan biri olarak bilinmektedir ve mortalite ile morbiditenin önde gelen nedenlerinden biridir. Çevresel ve genetik faktörlerin birlikte rol oynadığı multifaktöriyel bir hastalık olan DM'de akut ve kronik olmak üzere birçok komplikasyon gelişebilmektedir. DM, progresif beta hücre disfonksiyonu ve değişen insülin direnci oranları ile karakterizedir. Özellikle tüm diyabet vakalarının büyük bir kısmını oluşturan Tip 2 DM'de genetik faktörler oldukça etkilidir. DM gelişen hastalarda kan şekeri seviyesinde oluşan değişiklikler, lipit metabolizmasındaki değişiklikler, trombosit disfonksiyonu gibi çeşitli faktörler makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlar için oldukça önemlidirler (Ay, vd. 2018:1257-1265).

### 2.1. DM ve İnflamatuvar Sitokinler

Karakteristik özelliklere, otokrin, parakrin ve jukstakrin etkilere sahip olan sitokinler; farmakolojik olarak aktif, düşük moleküler ağırlıklı polipeptitler grubudur. Bu moleküller farklı sinyalizasyon yollarının katılımı ile inflamatuvar immün yanıtların düzenlenmesinde rol oynayan humoral araçlar olarak bilinmektedirler ve interlökinler, tümör nekroz faktörleri, interferonlar, dönüştürücü büyüme faktörleri, kemokinler gibi çeşitli sınıflarda gruplandırılmaktadırlar. Vücuttaki çok çeşitli hücreler tarafından üretilen sitokinler, terapötik potansiyele sahip birçok fizyolojik yanıtta etkilidirler. Kronik inflamasyon ve doğuştan gelen immün sistem aktivasyonunun DM patogenezini ile ilişkili olduğu bilinmektedir. DM gelişen hastalarda, hastalığın başlamasından uzun zaman önce inflamasyon özellikleri gözlemlendiği bildirilmiştir. Çeşitli popülasyonlar ile gerçekleştirilmiş bazı çalışmalarda, inflamatuvar sitokinler gibi inflamatuvar parametrelerin DM ve mikrovasküler komplikasyonların gelişiminde güçlü belirteçler olduğu belirlenmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, inflamasyonun ve inflamatuvar sitokinlerin DN, DR, DNP gibi DM mikrovasküler komplikasyonlarının gelişiminde önemli genetik belirteçler olabileceği gösterilmiştir (Navarro-Gonzalez-Mora-Fernandez 2008:433-442).

## 2.2. DM ve Sitokin Gen Varyasyonları

Sitokin genlerinde ortaya çıkan genetik varyasyonlar, DM ve komplikasyonları için prognostik belirteçler olabilmekte ve hastalığa yatkınlık için risk haplotiplerinin belirlenmesini sağlayabilmektedirler. Böylece risk altında bulunan kişiler için önleyici tedbirler alınabilecek ve hastalığın başlaması geciktirilebilecektir. DM gibi çeşitli hastalıkların patogeneğinde immün yanıtlara neden olan sitokinler arasında interlekinler, tümör nekroz faktörleri ve adinopektinin inflamasyon mediyatörleri yer almaktadır (Banerjee-Saxena 2014:493-504). IL-4, IL-6, IL-10, IL-18, TNF- $\alpha$  gibi bazı sitokinler / kemokinler, adipositokin ailesinin üyelerinden bazıları, DM ve özellikle Tip 2 DM patogeneğinde ve progresyonunda rol oynayan inflamasyon ve glikoz metabolizmasında oldukça etkilidirler. Sitokin genlerinin promotör bölgelerinde ortaya çıkan genetik varyasyonlar sonucunda ekspresyon düzeyleri etkilenebilmekte ve hastalık modifiye edilebilmektedir. Böylece DM gibi çeşitli immünolojik hastalıkların inflamasyon dereceleri kontrol edilebilmektedir (Navarro-Gonzalez-Mora-Fernandez 2008:433-442). IL-1 süper ailesi sitokinlerinden biri olarak bilinen IL-18; makrofajlar, keratinositler, osteoblastlar, sinoviyal fibroblastlar, dendritik hücreler, Kupffer hücreleri, adrenal korteks, bağırsak epitelyal hücreleri ve mikroglial hücrelerde eksprese edilmektedirler. IL-1 $\beta$  dönüştürücü enzim (ICE; kaspaz-1) tarafından olgun 18 kilodaltonluk bir moleküle ayrılan Pro IL-18, 24 kilodaltonluk aktif olmayan bir öncü olarak üretilmektedir (Jones, vd. 2001:1739-1749). IL-18, IL-18R aracılığı ile ekstrasellüler olarak bağlanmaktadır. İnsülin üreten  $\beta$  hücreleri tarafından IL-18 salgılanmakta ve T hücrelerinde IFN- $\gamma$  indüklenmektedir (Nosadini, vd. 2000:476-484). Ayrıca plak stabilitesizliğinde önemli rol oynayan aterosklerotik plaklarda IL-18 yüksek oranda eksprese edilmektedir (Dalla Vestra, vd. 2005:78-82). Tip 2 DM gelişiminde artmış plazma IL-18 seviyelerinin gözlemlendiğini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (Navarro-Gonzalez-Mora-Fernandez 2008:433-442).

## 2.3. İnterlökin-18 Gen Varyasyonları

Pro- ve anti- inflamatuvar sitokinler arasında önemli bir denge bulunmaktadır. Sitokinlerin promotör veya intron bölgelerinde ortaya çıkan genetik varyasyonların sonucunda bu denge bozulmaktadır ve bu bozulma gen ekspresyonunda değişikliklere yol açmaktadır. IL-18, proinflamatuvar özelliklere sahip IL-1 süper ailesinin önemli bir üyesidir ve interferon-c için önemli bir uyarıcı görevi görmektedir. Kupffer hücreleri, monositler, makrofajlar ve dendritik hücreler gibi birçok hücre tarafından üretilen IL-18; doğal öldürücü hücreleri aktive etmekte ve inflamatuvar, otoimmün hastalıklarda proinflamatuvar sitokin olarak rol oynamaktadır. IL-18 ayrıca, sitokin gen ekspresyonunu ve T yardımcı hücre farklılaşmasını indüklemekte, böylece immün yanıtın düzenlenmesinde etkili bir faktör olabilmektedir. 6 ekzon ve 5 introndan meydana gelen IL-18 geni, kromozom 11q22.2-q22.3 üzerinde lokalizedir. IL-18 geninin promotör bölgesinde IL-18 -607C/A (rs1946518) ve IL-18 -137G/C (rs187238) olmak üzere iki yaygın tek nükleotid gen

varyasyonu tanımlanmıştır. IL-18 geninin promotör bölgesinde bu gen varyasyonlarının yanısıra çeşitli genetik varyasyonlar da belirlenmiştir. Bu gen varyasyonlarının transkripsiyon faktörlerinin bağlanmasında etkili olabilecekleri ve böylece IL-18 mRNA ekspresyonunun modüle edilmesinde rol oynayabilecekleri düşünülmektedir. IL-18 geninde ortaya çıkan bu genetik varyasyonlar sonucunda inflamatuvar sitokin ekspresyonu ve aktivitesi değişmekte ve böylece bu değişiklikler yolu ile hastalıkların patogenezi anlaşılabilir. IL-18 -607C/A (rs1946518) gen varyasyonu, genin -607. pozisyonundaki sitozin / adenin baz yer değiştirmesi ile karakterize iken; IL-18 -137G/C (rs187238) gen varyasyonu, IL-18 geninin -137. pozisyonundaki guanin / sitozin baz yer değiştirmesi ile karakterizedir. Ayrıca IL-18 -607C/A (rs1946518) gen varyasyonu; potansiyel cAMP duyarlı element bağlayıcı proteinin bağlanmasını bozmaktadır. IL-18 -137G/C (rs187238) gen varyasyonu ise Histon 4 Transkripsiyon Faktörü-1 (H4TF-1) nükleer faktör bağlanma bölgesini değiştirerek IL-18 transkripsiyon aktivitesini önemli ölçüde etkileyebilmektedir. IL-18 gen varyasyonlarının anormal immün yanıtı eksprese eden çeşitli hastalıklar ile ilişkili olduğunu gösteren bazı çalışmalar bulunmaktadır. IL-18 gen ekspresyonu ve regülasyonunu belirlemek için, IL-18 gen varyasyonları ile alerjik hastalıklar, viral enfeksiyonlar, otoimmün hastalıklar, çeşitli kanser türleri arasındaki ilişkilerin araştırılmasını amaçlayan çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların bazılarında IL-18 -607C/A gen varyasyonunun C alelinin ve IL-18 -137G/C gen varyasyonunun G alelinin artmış transkripsiyon ve protein üretimi ile ilişkili olduğu saptanmıştır. IL-18 gen varyasyonlarının belirlenmesinde kullanılan primer dizileri Tablo 1'de sunulmuştur. IL-18 gen varyasyonlarının belirlenmesinde kullanılan polimeraz zincir reaksiyonu koşulları ve ürün uzunlukları Tablo 2'de sunulmuştur (Alkanli, vd. 2020).

## 3. DM KOMPLİKASYONLARI

İnsülin hormon sekresyonunun ve insülin etkisinin mutlak ya da göreceli azlığı sonucunda gelişen DM, kronik hiperglisemik bir hastalıktır. Temel olarak Tip 1 DM ve Tip 2 DM olmak üzere iki tipte sınıflandırılan DM'nin büyük çoğunluğunu Tip 2 DM oluşturmaktadır (Avcı-Çakır 2014:15-18; Kurt, vd. 2004:12-17). DM'nin tiplerinden biri olan Tip 2 DM dünyada yaygın olarak gözlenen bir metabolik hastalıktır ve DM'de gelişen komplikasyonlar, bu hastalığın yüksek morbidite ve mortalitesi ile ilişkilidir (Balasar-Yıldırım 2015:69-73). DM gelişimi sonucunda dokularda ve organlarda biyokimyasal, morfolojik, fonksiyonel değişiklikler ortaya çıkmaktadır, bu değişiklikler ve çeşitli komplikasyonların gelişimi arasında anlamlı bir korelasyon olduğu bildirilmiştir. Temel olarak akut komplikasyonlar ve kronik komplikasyonlar olarak sınıflandırılan DM'de; diabetik ketoasidoz, laktik asidoz, hipoglisemi gibi komplikasyonlar akut komplikasyonlar kapsamında yer almaktadır. Kronik komplikasyonlar ise kendi içerisinde makrovasküler komplikasyonlar ve mikrovasküler komplikasyonlar olarak sınıflandırılmaktadırlar. Koroner kalp hastalıkları gibi



kardiyovasküler hastalıklar, serebrovasküler hastalıklar ve periferik damar hastalıkları kronik komplikasyonların makrovasküler komplikasyonlar grubunda yer almaktadır. Kronik komplikasyonların diğer grubu olan mikrovasküler komplikasyonları ise DN, DR ve DNP oluşturmaktadır (Avcı-Çakır 2014:15-18; Kurt, vd. 2004:12-17). Kapiller bazal membranda kalınlaşma, kapiller geçirgenlikte ve kan vizkozitesinde ortaya çıkan artış ile trombosit fonksiyonlarında bozulma gibi faktörler mikrovasküler komplikasyonlara yol açabilmektedir. Bu değişiklikler sonucunda ise mikroalbüminüri, mikrotrombüs oluşumu ortaya çıkabilmekte ve iskemik hasar gelişebilmektedir (Avcı-Çakır 2014:15-18) (Şekil 1).

#### 4. DM'NİN MİKROVASKÜLER KOMPLİKASYONLARI

##### 4.1. Diyabetik Nefropati

DN proteinüri varlığı olarak bilinmektedir ve kronik böbrek yetmezliği ile son dönem böbrek yetmezliğinin başlıca nedenlerinden biridir. DM hastalarında en sık gözlenen mikrovasküler komplikasyonlardan biri olan DN, Tip 1 DM ve Tip 2 DM gelişen hastalarda morbidite ve mortalitenin en önemli nedenlerindedir. İdrar albümin atılımında artma ve glomerüler filtrasyon hızında azalma ile karakterize olan DN; diğer böbrek hastalıkları olmadan, diyabetli bir hastada sürekli idrar albümin çubuğunun pozitif olması veya günde 300 miligramdan fazla albümin atılımı olarak tanımlanmaktadır. İlerleyen aşamalarda fizyolojik, patolojik ve klinik belirtiler sonrasında DN gelişmektedir. Tip 1 DM'de DN gelişiminde ve progresyonunda hiperglisemi önemli bir faktör olarak bilinmektedir. Ayrıca DN gelişimi sonrasında hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıklar da ortaya çıkabilmektedir. Tip 2 DM gelişiminde ise hipergliseminin yanı sıra, hipertansiyon ve hiperkolesterolemi gibi durumlar da gelişmektedir. DN patogenezinde önemli rol oynayan iki temel mekanizma bulunmaktadır. Bu mekanizmalar; hemodinamik mekanizma ve glikotoksisite, anormal lipid profili ile oluşan metabolik olaylar olarak sınıflandırılmaktadırlar. Hemodinamik mekanizma; glomerüler bazal membranda, tübüler bazal membranda ve Bowman kapsülünde kalınlaşma ile karakterize olan erken değişikliklerin ortaya çıktığı mekanizmadır. Hipertrofi ile birlikte mezengial hücreler gelişmekte ve ekstrasellüler matriks üretiminde artış gözlenmektedir. Böylece glomerüllere düşen mezengial hacim artmaktadır, buna bağlı olarak da glomerüler kapiller yüzey alanı ve dolayısıyla glomerüler filtrasyon hızı da azalmaktadır. Glikotoksisite, anormal lipid profili ile oluşan metabolik olaylarda; glikotoksisite ve hemodinamik stres sonucunda hücre fonksiyonunda değişme gözlenmektedir. Hücre fonksiyonunda değişme ile poliol yolunda aldoz redüktaz enzimi yönünde gelişen artma ilişkilendirilmiştir. İnsüline bağlı olmayan çeşitli dokularda hücre içi glikoz seviyesi artmaktadır. Aldo redüktaz, poliol yolunun en önemli enzimi olarak bilinmektedir ve bu enzim glikozun sorbitole dönüşümünde etkili bir rol oynamaktadır. Poliol yolunun diğer önemli enzimi olan sorbitol dehidrogenaz ise sorbitolün früktoza çevrilmesinde etkili bir enzimdir. Hücre zarını geçemeyen sorbitol, hücre içinde birikmekte ve hücre

içi miyoinositol düzeylerinin azalmasına neden olarak doku hasarının oluşumuna yol açmaktadır (Avcı-Çakır 2014:15-18; Kurt, vd. 2004:12-17). DN gelişimi 5 evrede sınıflandırılmaktadır. Bu evreler; glomerüler hipertrofi-hiperfiltrasyon dönemi, mezengial genişleme-bazal membran kalınlaşması dönemi, mikroalbüminüri-mezengial skleroz dönemi, proteinüri-hipertansiyon dönemi ve fibrozis-skleroz dönemi olarak ayrılmaktadırlar. Son dönem böbrek yetmezliği olarak da adlandırılan son evrede glomerüler filtrasyon hızı oldukça düşmektedir ve bu evrede hemodiyaliz, periton diyalizi gibi replasman tedavilerine ihtiyaç duyulmaktadır. Hiperglisemi, hipertansiyon, sigara, dislipidemi, proteinüri, glomerüler filtrasyon hızı, DN epidemiyolojisi ve DN gelişiminde etkili olan genetik risk faktörleri, DN gelişiminde rol oynayan önemli risk faktörleri arasındadır (Avcı-Çakır 2014:15-18). Ayrıca polimorfik bölgelerde meydana gelen değişiklikler, DM hastalarında DN gibi çeşitli mikrovasküler komplikasyonların gelişimi ile ilişkilendirilmişlerdir (Ay, vd. 2018:1257-1265).

##### 4.1.1. DN ve inflamatuvar sitokinler

Sitokinler hastalıkların altında yatan patofizyolojik süreçlerde önemli rol oynamaktadırlar ve pleiotropik etkiler gösteren sitokinlerin hücre tipi gibi faktörlere bağlı olarak farklı hücresel yanıtları tetikleyebilecekleri düşünülmektedir. Sinerjik olarak hareket edebilen sitokinler, birbirlerinin etkilerini belirgin olarak artırabilmekte ve onları üreten hücreleri veya bitişik hücreleri uyarak, doğrudan hücre-hücre etkileşimi yoluyla etki gösterebilmektedirler. Ayrıca sitokinlerin diğer sitokinlerin ve sitokin reseptörlerinin ekspresyonunu indükleyebildikleri de bilinmektedir (Vilcek, 2003:3-18). Hücreler üzerindeki etkileri yolu ile inflamatuvar ve immün yanıtları düzenleyen sitokinler, pleiotropik polipeptitler olarak önemli rol oynamaktadırlar. Bu sitokinler DM gibi çeşitli hastalıkların patofizyolojisinde etkilidirler. DM patogenezinde ve DM'de gelişebilen mikrovasküler komplikasyonlarda kronik düşük dereceli inflamasyon ve doğuştan gelen immün sistem aktivasyonu önemlidir. DM'de gelişen mikrovasküler komplikasyonlardan biri olan DN'nin gelişimi ve progresyonunda IL-1, IL-6, IL-18 ve TNF- $\alpha$  gibi inflamatuvar sitokinler önemli faktörlerdir. Bu inflamatuvar sitokin genlerinde ortaya çıkan genetik varyasyonlar DN'ye genetik yatkınlığın belirlenmesinde oldukça önemli rol oynamaktadırlar. Sitokin gen varyasyonlarının DN'de patojenik ajanlar olarak belirlenmesi, DN gelişiminde etkili olabilecek yeni potansiyel terapötik hedeflerin geliştirilebilmesi açısından önemlidir (Navarro-Gonzalez-Mora-Fernandez 2008:433-442). DN immün olmayan bir hastalık olarak bilinmesine rağmen; DN gelişiminde inflamatuvar ve immünolojik mekanizmaların son derece etkili olduğu gösterilmiştir. Bu yüzden lökositler, monositler ve makrofajlar gibi çeşitli hücrelerin; kemokinler, adhezyon molekülleri, enzimler, büyüme faktörleri ve nükleer faktörler gibi çeşitli faktörlerin DN gelişme süreci ile ilişkili oldukları düşünülmektedir. Pro- veya anti-inflamatuvar etkilerine göre sınıflandırılan IL-1, IL-6, IL-18 ve TNF- $\alpha$  gibi inflamatuvar sitokinlerin DM ile DN'nin mikrovasküler komplikasyonlarının gelişimi ile ilişkili olduğu

düşünülmektedir. Bu inflamatuvar sitokinlerden biri olan IL-18; IFN- $\gamma$ 'yı indükleyen güçlü bir inflamatuvar sitokindir ve insan mezengial hücrelerde fonksiyonel kemokin reseptör ekspresyonunu indüklemektedir. Ayrıca IL-18; diğer inflamatuvar sitokinlerin üretimine ve ICAM-1'in upregülasyonuna, endotelial hücrelerin apoptozuna yol açmaktadır. Yapısal olarak renal tübüler epitelde eksprese edilen IL-18'in potansiyel kaynakları arasında; infiltrate edici monositler, makrofajlar, proksimal tübüler hücreler ile birlikte T hücreleri yer almaktadır. DN gelişen hastalarda serum ve idrar IL-18 düzeylerinde anlamlı derecede artış gözlenmektedir ve bu parametrelerin idrar albümin atılımı ile de ilişkili oldukları belirlenmiştir (Navarro-Gonzalez-Mora-Fernandez 2008:433-442). IL-18 ve tübülointerstisyel hasar belirteci olarak bilinen  $\beta$ -2 mikroglobulinin üriner atılımı arasında anlamlı bir ilişki bulunmaktadır. Ayrıca serum ve idrar IL-18 konsantrasyonları ile albümin atılım hızı, albuminüri değişiklikleri arasında anlamlı ilişki olduğunu gösteren bir çalışma da bulunmaktadır (Nakamura, vd. 2005:2890-2895). DN gelişme oranları için bireyler arası değişkenlikler oldukça önemlidir ve genetik faktörlerin DN gelişiminde etkili oldukları düşünülmektedir. DN risk faktörleri arasında; hipertansiyon, zayıf glisemik kontrol ve albuminüri bulunmaktadır. Renin-anjiyotensin, nitrik oksit ve bradikinin sistemleri gibi faktörlerin DN patofizyolojisindeki rolleri araştırılmıştır (Rich, 2006:353-360). Tüm insan genetik varyasyonlarının büyük bir kısmını oluşturan tek nükleotid gen varyasyonları, genomdaki tek bir nükleotid değişikliğinde ortaya çıkan genetik varyasyonlardır. Oldukça fazla sayıda bulunan tek nükleotid gen varyasyonlarının kodlama bölgelerinde, birleşme yerlerinde ve promotör bölgelerinde meydana geldikleri ve bu yüzden de fonksiyonel öneme sahip oldukları düşünülmektedir. Bu tek nükleotid gen varyasyonlarından bazılarının DN'ye yakınlık üzerinde etkili oldukları bilinmektedir. Sitokin genlerindeki genetik varyasyonlar sonucunda nükleer transkripsiyon ve hücre fonksiyonları etkilenebilmektedir (Hollegaard-Bidwell 2006:269-276). DN patogenezi önemli ölçüde modüle edebilen inflamatuvar sitokinlerde tanımlanmış genetik varyasyonlar renal progresyona yakınlığı da etkileyebilmektedir (Lee, vd. 2005:32-36).

#### 4.1.2. DN ve IL-18 gen varyasyonları

DN, Tip 1 DM ve Tip 2 DM'nin mikrovasküler komplikasyonlarından biridir. DM'nin komplikasyonları arasında böbrek yetmezliği ve hatta ölüme yol açabilecek makrovasküler komplikasyonlar da bulunmaktadır. Bu hastalıklar arasında sadece böbrek hastalıkları değil, aynı zamanda interkapiller glomerülo nefrit, proteinin idrara sızması, hipertansiyon ve kusurlu böbrek aktivitesi gibi problemler bulunmaktadır. DN gelişimine neden olan gerçek moleküler mekanizma tam olarak anlaşılamamış olmasına rağmen; DN gelişiminde çeşitli süreçler ve yolların önemli rol oynadıkları öne sürülmektedir. Son zamanlarda gerçekleştirilmiş moleküler ve epigenetik mekanizmalara yönelik çalışmalarda, salgılanan proinflamatuvar sitokinler ve kemokinler gibi inflamasyon faktörleri ve DN gelişimi arasında anlamlı bir ilişki olduğu belirlenmiştir. DN gelişimi

ve IL-6, IL-8, IL-18 gibi interlökinler, Tümör Nekroz Faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) gibi çeşitli proinflamatuvar sitokinlerde artış arasında anlamlı bir ilişki olduğu bulunmuştur. Çok sayıda inflamatuvar süreçte etki gösterebilen IL-18; aktif monositler, dendritik hücreler ve glial hücreler tarafından üretilen sitokindir. IL-1 süper ailesine ait olan IL-18; lipopolisakkarit gibi mikrobiyal ürünler ile enfeksiyon sonrasında hücre aracılı immüniteyi indüklemek için IL-12 ile birlikte işlev görmektedir. Çalışmalarda, IL-18 ve IL-12 sitokin kombinasyonunun, IL-4'e bağlı olan IgE ve IgG1 üretimini inhibe ederek B hücrelerinde IgG2a üretimini arttırabildiği saptanmıştır. DN gelişimi ve IL-18 düzeylerindeki artışlar arasında önemli bir ilişki bulunmaktadır. IL-18 ayrıca diğer proinflamatuvar sitokinlerin, endotelial apoptozun, hücre içi adhezyon molekülü olan ICAM-1'in upregülasyonu ile hiperhomosisteineminin üretimine öncülük etmektedir. Bu yüzden IL-18'in ateroskleroz sürecinin yanısıra DN'nin gelişimi ve progresyonunda da önemli rol oynayabildiği belirlenmiştir. IL-18 geninin promotör bölgesindeki IL-18 -607C/A, IL-18 -137G/C ve IL-18 -656G/T gen varyasyonları ile serum IL-18 konsantrasyonlarının anlamlı olarak ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu genetik varyasyonlar sonucunda monositlerin IL-18 üretimini düzenledikleri gösterilmiştir ve bu genetik varyasyonlar IL-18 geninin transkripsiyonel aktivitesi ile oldukça ilişkilidir (Abd Elneam, vd. 2016:324-328). DN gelişen hastalarda, immün hücreleri etkileyen inflamatuvar süreçler sonucunda ortaya çıkabilen anjiyogenez, permeabilite, apoptoz ve proliferasyon gibi çeşitli süreçler etkilenebilmektedir. DN, normoalbuminüriden mikroalbuminüriye dönüşme ve böylece glomerüler filtrasyon hızında sürekli olarak azalma, yüksek arteriyel kan basıncı ile karakterizedir. İnterferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )'yı indükleyen bir inflamatuvar sitokin olan IL-18, ayrıca insan mezengial hücrelerinde fonksiyonel kemokin reseptör ekspresyonunu indüklemektedir. Bunun yanısıra IL-1 üretimine ve ICAM-1'in TNF- $\alpha$  ve upregülasyonuna neden olan IL-18, endotelial hücrelerin apoptozuna da yol açmaktadır (Sprague-Khalil 2009:539-552). Yapısal olarak renal tübüler epitelde eksprese edilen IL-18 için; infiltrate edici monositler, makrofajlar ve T hücreleri, interstisyel damarların endotel hücreleri ve proksimal renal tübüler hücreler önemli potansiyel kaynaklardır (Akçay, vd. 2009:137072). Mısır popülasyonu ile gerçekleştirilmiş bir çalışmada, serum IL-18 düzeylerinin ve IL-18 geninin promotör bölgesinde yer alan genetik varyasyonların haplotipinin DN gelişimi ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Abd Elneam, vd. 2016:324-328). Bir çalışmada da IL-18 -137G/C gen varyasyonu, diyabetik hastalarda DN gelişimi ile ilişkili olarak bulunmuştur ve bu genetik varyasyon, H4TF-1 nükleer faktör bağlanma bölgesinde değişikliğe yol açabilmektedir (Kumar, vd. 2014:852104). Çin popülasyonu ile gerçekleştirilmiş bir başka çalışmada da, IL-18 -137G/C gen varyasyonunun DN gelişimi için genetik bir risk faktörü olduğu belirlenmiştir (Bai, vd. 2016:10522-10528). Diyabetik hastalarda son dönem böbrek yetmezliğinin ve yüksek mortalitenin önemli bir nedeni olan DN, dünya çapında giderek artmaktadır. Erken teşhis ve tedaviler sayesinde DN'nin mortalite oranı azalmış olmasına rağmen; DN için önleyici tedbirlerin eksikliği önemli bir problemdir.



DN insidansı ve progresyonunda genetik yatkınlığın önemli bir faktör olabileceği düşünülmektedir. DN'nin patogenezi hala tam olarak belirlenememiş olmasına rağmen; DN patogenezinde yeni moleküler hedeflerin belirlenmesi önemlidir. DN gelişen hastalarda sağlıklı kontrollere kıyasla ICAM-1, IL-18 ve IL-1 gibi çeşitli sitokinlerin plazma düzeyleri anlamlı derecede daha yüksek olarak saptanmıştır. Hiperosmotik stres durumu altında IL-18'in yüksek sekresyon ve immün yanıt gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca plazma IL-18 düzeylerinin DN gelişen hastalarda anlamlı derecede daha yüksek olduğunu gösteren çalışma da bulunmaktadır ve bu durumun; ekspresyon seviyeleri, Th1 immünolojik fonksiyonu ile ilişkili olabileceği belirlenmiştir (Bouzgarrou, vd. 2008:607-614). DM'nin en sık gözlenen mikrovasküler komplikasyonlarından biri olan DN'nin patolojik süreçleri; böbrek hipertrofisi, glomerüller ve renal tübüllerin kalınlaşmış bazal membranı ve glomerüller, tübülointerstisyel ekstrasellüler matriksinin artması gibi durumları içermektedir. Pleiotropik bir sitokin olan IL-18, mononükleer makrofajların aktivasyonu ile üretilmektedir. IFN- $\gamma$  üretimini indükleyerek çeşitli hastalıkların patolojik süreçlerinde etkili olabilen IL-18'in diyabetik fare modelleri ile gerçekleştirilmiş deneylerde DN gelişimine katkıda bulunabileceği gösterilmiştir. Glomerüller mezengial hücrelerin proliferasyonunda önemli rol oynayan IL-18, glomerüller mezengial hücrelerin mitozunu etkilemekte ve prostaglandin salgılamaktadır. Bu durum da glomerüller hiperfiltrasyon ile ilişkilendirilmiştir ve glomerüller kılcal damarlarda değişikliklere yol açabilmektedir (Formanowicz, vd. 2015:18332). IL-18 ayrıca glomerüller kapiller yakınında renal interstisyum hücrenin uyarılmasını sağlayarak ekstrasellüler proteaz salgılanmasına neden olabilir (Xie, vd. 2015:387-395). Mutasyon tek bir bazın transversiyon, insersiyon veya delesyonlar ile transformasyonunu içermektedir. Tek nükleotid gen varyasyonlarının insan hastalıklarında yatkınlığa neden oldukları bildirilmiştir. IL-18 geninin promotör bölgesinde ortaya çıkan IL-18 -137G/C, IL-18 -607C/A ve IL-18 -656G/T gen varyasyonları sonucunda IL-18 ekspresyonu, salgılanması ile IFN- $\gamma$  ekspresyonu etkilenmektedir (Bouzgarrou, vd. 2008:607-614). Daha önce gerçekleştirilmiş bir çalışmada, IL-18 -607C/A gen varyasyonu ve artmış IgA nefropati, artmış ince glomerüller bazal membran hastalığı riski arasında anlamlı bir ilişki olduğu belirlenmiştir (Jung, vd. 2012:234-241). Başka bir çalışmada ise IL-18 -137G/C gen varyasyonunun Tip 1 DM'ye yatkınlık için genetik bir risk faktörü olduğu saptanmıştır. Bir meta-analiz çalışmasında da, IL-18 -607C/A gen varyasyonunun Tip 1 DM gelişimi ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (Bai, vd. 2016:10522-10528).

## 4.2. Diyabetik Retinopati

DM'de kronik hiperglisemi gelişmektedir ve hipergliseminin göz gibi çeşitli organlarda uzun dönemli hasar ve disfonksiyon ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Hiperglisemi gelişimi sonucunda retinada yapısal ve fonksiyonel değişiklikler ortaya çıkmaktadır. DR, körlüğün önemli nedenlerinden biridir ve DM'nin mikrovasküler komplikasyonları arasında yer almaktadır. Artmış vasküler geçirgenlik ve doku iskemisi ile neovaskülarizasyon

arasında anlamlı bir ilişki bulunmaktadır (Jihan vd. 2017:628-634). Mikrooklüzyon ve damar permeabilitesinde bozulma gerçekleşmektedir. Bu bozulma sonucunda da DR gelişmekte ve retinal hipoksi ortaya çıkmaktadır. DR; proliferatif ve nonproliferatif evreler olmak üzere iki evreden oluşmaktadır. Proliferatif evre; neovaskülarizasyon gelişimi ve optik sinir / maküla rüptürü ile karakterizedir (Avcı-Çakır 2014:15-18). DR; retinada bulunan mikroskobik damarların bütünlüğünü ağırlıklı olarak etkileyebilen ilerleyici bir hastalık olarak bilinmektedir. Dünya çapında görme kaybının başlıca nedenlerinden biri olan DR gelişiminde etkili olabilecek risk faktörleri arasında; diyabet süresi, hiperglisemi / glikat hemoglobin değeri, hipertansiyon, hiperlipidemi, gebelik ve nefropati ya da böbrek hastalıkları bulunmaktadır. 20 yıl boyunca Tip 2 DM hastalığından muzdarip hastalarda genellikle DR gelişimi saptanmıştır. Daha önce gerçekleştirilmiş çalışmalar daha sonraki çalışmalar ile kıyaslandığında; önceki çalışmalarda, daha yüksek bir DR insidans oranı belirlenmiştir. Retina mikrovaskülatürünün kan-retina bariyeri ve patolojik anjiyogenezin parçalanmasına yol açan değişiklikler sonucunda DR gelişebilmektedir. Anjiyogenez kompleks, çok aşamalı bir süreç olarak bilinmektedir ve endotelial hücrelerin proliferasyonunu, migrasyonunu ve farklılaşmasını, ekstrasellüler matriks degradasyonunu, mikrotübül oluşumunu ve yeni kapiller dalların türemesini içermektedir. Yeni kılcal damarlar kırılğan ve kanamaya eğilimli olan damarlardır. Gözde meydana gelen neovaskülarizasyon sonucunda; prematüre retinopatisi, DR, retinal ven tıkanıklığı ve yaşa bağlı maküler dejenerasyon gibi patolojik durumlar tetiklenebilmektedir. DR prevalansındaki artış diyabet süresi ile ilişkili olarak belirlenmiştir. Tip 2 DM'li hastaların bir kısmı ilk diyabet tanısı sırasında DR'ye sahiptir ve bu hastaların çoğunda zamanla DR gelişmektedir (Cilenšek, vd. 2010:421-426).

### 4.2.1. Diyabetik retinopati ve IL-18 gen varyasyonları

DR ve anjiyogenez ile ilişkili diğer hastalıklarda; artmış sitokin seviyeleri, inflamatuvar hücreler, büyüme faktörleri ve anjiyojenik faktörler etkilidirler. İnflamatuvar sitokin ailesine ait olan IL-18; aktif monositler, glial hücreler ve dendritik hücreler tarafından üretilen bir pleiotropik sitokindir ve çeşitli inflamatuvar hastalıklarda önemli rol oynamaktadır. IL-18 geninin promotör bölgesinde ortaya çıkan IL-18 -607C/A ve IL-18 -137G/C gen varyasyonları ile serum IL-18 konsantrasyonları arasında anlamlı ilişkiler olduğu düşünülmektedir. IL-18'in anjiyogenezde de önemli rol oynadığı bilinmektedir. Cao ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiş bir çalışmada, IL-18'in fibroblast büyüme faktörü ve tümör anjiyogenezin neden olduğu korneal neovaskülarizasyonu baskıladığı ve böylece bir anjiyogenez, tümör baskılayıcı olarak hareket ettiği öne sürülmüştür. IL-18 proteininin gözdeki işlevi tam olarak anlaşılamamış olsa da, IL-18 gen ekspresyonunun normal iris ve retinada tespit edildiği gösterilmiştir. IL-18 ayrıca proinflamatuvar diğer bir sitokin olan IL-8'in sentezini ve adhezyon moleküllerinin ekspresyonunu da düzenlemektedir. Daha önce gerçekleştirilmiş bir çalışmada, çeşitli sitokinler tarafından düzenlenen preretinal proliferatif membran oluşumunun,



proliferatif DR'nin patogenezinde önemli bir faktör olduğu belirlenmiştir. Başka bir çalışmada ise IL-18 -137G/C gen varyasyonunun C aleli DR için genetik bir risk faktörü olarak belirlenmişken; IL-18 -607C/A gen varyasyonunun A aleli DR'ye karşı koruyucu bir alel olarak belirlenmiştir. Kretowski ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiş bir çalışmada da, IL-18 gen varyasyonları ve IL-18 serum konsantrasyonlarındaki değişiklikler arasında anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır. Kafkasyalı bir popülasyon ile gerçekleştirilmiş bir çalışmada ise IL-18 -607C/A ve IL-18 -137G/C gen varyasyonlarının DR için genetik risk faktörleri olmadıkları belirlenmiştir (Cilenšek, vd. 2010:421-426).

### 4.3. Diyabetik Nöropati

Dünyadaki en yaygın kronik hastalıklardan biri olan DM, genetik olarak insülin etkinliğine yatkınlık kazanmaktan veya vücudun tepkisizliğinden dolayı artmış kan şekeri düzeylerine neden olmaktadır. Uluslararası Diyabet Federasyonu'na göre; DM dünya çapında oldukça fazla insanı etkilemektedir. DM tedavi edilmediği takdirde çeşitli makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonların gelişimine yol açabilmektedir. Serebrovasküler hastalıklar, koroner kalp hastalığı ve periferik vasküler hastalıklar DM'nin makrovasküler komplikasyonları arasında yer almaktadırlar. DN, DNP ve DR ise DM'nin mikrovasküler komplikasyonları olarak bilinmektedirler (Ramesh, vd. 2014:1470-1478). DM gelişiminde klinik ya da subklinik düzeyde ortaya çıkabilen, önemli morbidite ve mortalite nedeni olarak bilinen DNP, DM'nin diğer mikrovasküler komplikasyonudur ve özellikle alt ekstremiteleri etkilemektedir (Hamidi, vd. 2018:1-5). DNP prevalansı ve gelişiminde diyabet süresi, HbA1c düzeyi, sigara kullanımı ve cinsiyet gibi çeşitli faktörler etkilidir (Avcı-Çakır 2014:15-18). DNP grupları arasında en yaygın olarak gözlenen grup polinöropatilerdir ve DNP genellikle organ kayıplarına yol açabilen mikrovasküler bir komplikasyon olarak ayrıca nörotravmatik ekstremit ampütasyonlarına da neden olabilmektedir (Balasar-Yıldırım 2015:69-73). DM'nin en sık görülen mikrovasküler komplikasyonlarından biri olan DNP; Tip 1 DM veya Tip 2 DM'li kişilerin yaklaşık üçte birini etkilemektedir (Ramesh, vd. 2014:1470-1478).

#### 4.3.1. Diyabetik nöropati ve IL-18 gen varyasyonları

İmmün tepkisinin düzenlenmesinde etkili olan sitokinlerin ekspresyonu; enfeksiyon, inflamasyon, hormonal durumlar ve genetik varyasyonlar gibi çeşitli faktörler ile ilişkilidir. Bazı çalışmalarda, inflamasyonun ve pro-inflamatuar sitokinlerin DM'nin mikrovasküler komplikasyonlarının gelişiminde önemli rol oynadıkları gösterilmiştir. Multifaktöriyel bir mikrovasküler komplikasyon olan DNP; hiperglisemi ile indüklenebilen lokal metabolik ve enzimatik değişiklikler sonucunda gelişebilmektedir. Küçük ya da büyük duyu liflerini içeren DNP yavaş olarak ilerlemektedir. DNP'nin DM hastalarında genel olarak alt ekstremiteleri etkileyen sinir fonksiyonlarında azalma ile karakterize olduğu bilinmektedir. Sürekli yüksek seyreden kan şekeri düzeyleri sonucunda periferik sinirlerde hasar oluşmaktadır.

Ağrı, ambulasyon kaybı, ayak ülseri ve ampütasyon riskinde artış DNP komplikasyonları arasında bulunmaktadır. İkincil komplikasyonların önlenmesi ve yaşam kalitesinin iyileştirilebilmesi için DNP'nin erken teşhisi ve tedavisi son derece önemlidir (Ramesh, vd. 2014:1470-1478). Genetik ve moleküler düzeylerde yapılan çalışmalar sayesinde DNP'ye yol açan patofizyolojik süreçler hakkında önemli bilgiler elde edilebilmektedir. Sitokin genlerinde ortaya çıkan genetik varyasyonların enfeksiyon riskini ve progresyonunu etkileyebildikleri belirlenmiştir (Kovar, vd. 2007:238-241). DM gibi hastalıkların patogenezinde çevresel faktörler ve genetik faktörler birlikte rol oynamaktadırlar. Yüksek morbidite ve yaşam kalitesinde meydana gelen bozulma ile karakterize olan DM'nin yaygın mikrovasküler komplikasyonlarından biri olan DNP, periferik nöropati prevalansının yaklaşık %28'ini oluşturmaktadır (Tesfaye, vd. 2004:1377-1384). DM hastalarında bozulmuş insülin sinyalizasyonu ve insülin üretiminde tahribiyet ile ilişkili olan proinflatuar sitokinlerin artmış düzeyleri, DNP insidansı ile ilişkili olarak bulunmuştur. İnsüline duyarlı glikoz alımına engel olabilen bazı proinflatuar sitokinler ayrıca insülin direncini de tetikleyebilmektedirler. Yüksek proinflatuar seviyeleri ve DNP insidansı arasında anlamlı bir ilişki olduğu da gösterilmiştir. İnflatuar yolakların DM komplikasyonlarının gelişiminde ve progresyonunda önemli rol oynadıkları saptanmıştır. DNP gelişiminde etkili olabilecek risk faktörlerinin ve moleküler biyobelirteçlerin belirlenmesi, hastalığın erken teşhisi ve risk tahmininde yardımcı olabilecektir. Etkili tedavi yöntemlerinin geliştirilebilmesi için, DNP'nin altında yatan inflamatuvar süreçlerin hedeflenerek çoklu stratejilerin geliştirilebilmesini sağlayan entegre yaklaşımın yapılması gerekmektedir. Tasarlanmış DNP; spesifik sitokinleri, kemokinleri, büyüme faktörlerini, transkripsiyon faktörlerini hedeflemektedir. Bu tür stratejilerin DM ve DNP tedavisinde kullanılması desteklenmektedir. DM komplikasyonları üzerinde inflamatuvar özellikleri içeren yeni terapötik ve önleyici stratejiler gerçekte klinik tedaviye dönüştürülebileceklerdir. Sitokin gen varyasyonları ile DNP gelişimi arasındaki ilişkinin belirlenebilmesi için daha fazla örneklem büyüklüğü ile gerçekleştirilmiş çalışmalara gereksinim duyulmaktadır (Ramesh, vd. 2014:1470-1478, Banerjee-Saxena 2014:493-504).

## 5. SONUÇ

İnsanlarda yaygın olarak bulunan tek nükleotid gen varyasyonları, tüm popülasyonun yaklaşık %1'inde gözlenmektedir. Bu tek nükleotid gen varyasyonları ile çeşitli hastalıklara yatkınlıklar arasındaki ilişkilerin belirlenmesi, yeni tedavi ve önleyici tedbirlerin geliştirilebilmesi açısından son derece önemlidir. İnterlökin genlerinde ortaya çıkan genetik varyasyonlar sonucunda proteinlerin lokal serum seviyeleri etkilenebilmektedir. Bu yüzden bu genetik varyasyonların inflamasyon sürecinde önemli rol oynayabilecekleri düşünülmektedir. Bir proinflatuar sitokin olan IL-18, çeşitli inflamatuvar moleküllerin sentezini uyarabilmektedir. DM'de mikrovasküler komplikasyonların gelişiminde genetik varyasyonların genetik risk faktörleri olup olmadıklarını



araştırmak için gerçekleştirilmiş çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. IL-18 -607C/A ve IL-18 -137G/C gen varyasyonları ve DM ile DM'de gelişebilen mikrovasküler komplikasyonlar arasındaki ilişkiyi araştırmak için farklı popülasyonlar ile çeşitli çalışmalar yapılmış ve bu çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlardaki farklılıkların; hasta ve kontrol grupları için farklı seçim kriterlerinden, bu çalışmaların farklı ırk ve popülasyonlar ve küçük örneklem büyüklüğü içeren popülasyonlar ile gerçekleştirilmiş olmalarından, inflamatuvar yolların varlığından, hastalığı ve gelişen komplikasyonları etkileyen risk faktörlerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Çeşitli hastalıkların patogenezinde etkili olabilecek genetik varyasyonlar gibi bazı biyobelirteçlerin tanımlanması, yeni tedavi yöntemlerinin ve hastalıklar ile ilgili ilaçların geliştirilebilmesi için oldukça önemlidir. Bu çalışmalar, daha geniş ve farklı popülasyonlar ile gerçekleştirildiğinde, daha farklı sonuçlar elde edilebilecektir. DM hastalığının ve bu hastalıkta gelişebilen mikrovasküler komplikasyonların altında yatan genetik mekanizmanın, hastalığa yatkınlıkta rol oynayabileceği düşünülen sitokin genlerinde ortaya çıkan genetik varyasyonların belirlenmesi, DM hastalığının ve DM'de gelişebilen mikrovasküler komplikasyonların teşhis ve tedavisinde yeni yöntemlerin ve ilaçların geliştirilebilmesi bakımından yol gösterici olacaktır.

#### KAYNAKÇA

Abd Elneam, A.I., Mansour, N.M., Zaki, N.A., Taher, M.A. (2016). Serum Interleukin-18 and Its Gene Haplotypes Profile as Predictors in Patients with Diabetic Nephropathy. Open Access Maced J Med Sci, 4(3):324-328. <http://dx.doi.org/10.3889/oamjms.2016.074>.

Akçay, A., Nguyen, Q., Edelstein, C.L. (2009). Mediators of inflammation in acute kidney injury. Mediators Inflamm, 2009:137072. <http://dx.doi.org/10.1155/2009/137072>.

Alkanlı, N., Ay, A., Kehaya, S., Sut, N. (2020). Investigation of The Relationship Between IL-18 (-607 C/A), IL-18 (-137 G/C) Gene Variations and Ischemic Stroke Disease Development in Thrace Region of Turkey, Immunological Investigations, DOI: 10.1080/08820139.2020.1782932.

Ay, A., Alkanlı, N., Sipahi, T., Gulyasar, T., Ustundag, S., Guldiken, S., Sut, N. (2018). Investigation of the relationship between MTHFR, IRS and CALCA gene polymorphisms and development of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 32(5):1257-1265, DOI: 10.1080/13102818.2018.1485514.

Avcı, E., ve Çakır, E. (2014). Diyabetes Mellitusun Mikrovasküler Komplikasyonu: Diyabetik Nefropati (Microvascular Complication of Diabetes Mellitus: Diabetic Nephropathy). Selçuk Tıp Derg, 30(1):15-18.

Bai, L., Wang, D., Zhai, Q., Wang, J., Hai, J., Jin, S., Zhang, Q., Wang, T. (2016). Association of interleukin-18 polymorphisms and the susceptibility to diabetic nephropathy. Int J Clin Exp Pathol, 9(10):10522-10528.

Balasar, M., ve Yıldırım, M.S. (2015). MTHFR Geni C677T ve A1298C Polimorfizmlerinin Diyabetik Nöropati Etiyopatogenezindeki Rolü (The role of MTHFR C677T and A1298C Polymorphisms in the Etiopathogenesis of Diabetic Neuropathy). F.Ü. Sađ. Bil. Tıp Derg, 29(2):69-73.

Banerjee, M., Saxena, M. (2014). Genetic polymorphisms of cytokine genes in type 2 diabetes mellitus. World J Diabetes, 5(4):493-504. DOI: <http://dx.doi.org/10.4239/wjd.v5.i4.493>.

Bouzarrou, N., Hassen, E., Schvoerer, E., Stoll- Keller, F., Bahri, O., Gabbouj, S., Cheikh, I., Maamouri, N., Mammi, N., Saffar, H., Trabelsi, A., Triki, H., Chouchane, L. (2008). Association of interleukin-18 polymorphisms and plasma level with the outcome of chronic HCV infection. J Med Virol, 80:607-614.

Cilenšek, I., Hercegovac, A., Terzić, R., Globočnik Petrovič, M., Petrovič, D. (2010). Polymorphisms of interleukin-8 and -18 genes and diabetic retinopathy. Cent. Eur. J. Biol, 5(4):421-426. DOI: 10.2478/s11535-010-0038-9.

Dalla Vestra, M., Mussap, M., Gallina, P., Brueghin, M., Cernigoi, A.M., Saller, A., Plebani, M., Fioretto, P. (2005). Acute-phase markers of inflammation and glomerular structure in patients with type 2 diabetes. J Am Soc Nephrol, 16(1):78-82.

Formanowicz, D., Wanic-Kossowska, M., Paw- liczak, E., Radom, M., Formanowicz, P. (2015). Usefulness of serum interleukin-18 in predicting cardiovascular mortality in patients with chronic kidney disease-systems and clinical approach. Sci Rep, 5:18332.

Hamidi, A.K., Radfar, M., Amoli, M.M. (2018). Association between MTHFR variant and diabetic neuropathy Pharmacological Reports, 70:1-5.

Hollegaard, M.V., Bidwell, J.L. (2006). Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases, Supplement 3. Genes Immun, 7:269-276.

Jihan, A. M., Seham, M. A., Hamdia, E. A., & Eman, S. M. (2017). Relationship between Diabetic Retinopathy and Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Polymorphism. The Egyptian Journal of Hospital Medicine, 67(2):628- 634.

Jones, S., Jones, S., Phillips, A.O. (2001). Regulation of renal proximal tubular epithelial cell hyaluronan generation: implications for diabetic nephropathy. Kidney Int, 59:1739 - 1749.

Jung, H.Y., Cho, J.H., Lim, J.H., Yu, C.H., Choi, J.Y., Yoon, S.H., Park, S.H., Kim, Y.L., Kim, C.D. (2012). Impact of gene polymorphisms of interleukin-18, transforming growth factor-beta, and vascular endothelial growth factor on development of IgA nephropathy and thin glomerular basement membrane disease. Kidney Res Clin Pract, 31:234-241.

Kovar, F. M. (2007). In The Tumor Necrosis Factor [Alpha] -308 G/A Polymorphism Does Not Influence Inflammation





And Coagulation Response In Human. Endotoxemia, 27(3):238-241.

Kumar, D., Tiwary, P., Chakravarty, J., Sundar, S. (2014). Association of Interleukin 18 Gene Polymorphism with Susceptibility to Viscera Leishmaniasis in Endemic Area of Bihar an Indian Population. Scientific World Journal, 2014:852104.

Kurt, M., Atmaca, A., Gürlek, A. (2004). Diyabetik nefropati. Hacettepe Tıp Dergisi, 35:12-17.

Lee, S.H., Lee, T.W., Ihm, C.G., Kim, M.J., Woo, J.T., Chung, J.H. (2005). Genetics of diabetic nephropathy in type 2 DM: Candidate gene analysis for the pathogenic role of inflammation. Nephrology (Carlton) 10:32-36.

Nakamura, A., Shikata, K., Hiramatsu, M., Nakatou, T., Kitamura, T., Wada, J., Itoshima, T., Makino, H. (2005). Serum interleukin-18 levels are associated with nephropathy and atherosclerosis in Japanese patients with type 2 diabetes. Diabetes Care, 28:2890-2895.

Navarro-Gonzalez, J. F. ve Mora-Fernandez, C. (2008). The Role of Inflammatory Cytokines in Diabetic Nephropathy. J Am Soc Nephrol, 19:433-442. doi: 10.1681/ASN.2007091048.

Nosadini, R., Velussi, M., Brocco, E., Bruseghin, M., Abaterusso, C., Saller, A., Dalla Vestra, M., Carraro, A., Bortoloso, E., Sambataro, M., Barzon, I., Frigato, F., Muollo, B., Chiesura-Corona, M., Pacini, G., Baggio, B., Piarulli, F., Sfriso, A., Fioretto, P. (2000). Course of renal function in

type 2 diabetic patients with abnormalities of albumin excretion rate. Diabetes, 49:476-484.

Ramesh, M., Kumari, K. G., Sudhakar, G. (2014). The cytokine gene polymorphisms (TNF- $\alpha$ , IL-10 And IFN- $\gamma$ ) and the role of inflammatory cytokines in diabetic neuropathy. Int J Res Med Sci, 2(4):1470-1478. DOI:10.5455/2320-6012.ijrms20141142.

Rich, S.S. (2006). Genetics of diabetes and its complications. J Am Soc Nephrol, 17:353-360.

Sprague, A.H., Khalil, R.A. (2009). Inflammatory Cytokines in Vascular Dysfunction and Vascular Disease. Biochemical Pharmacology, 78(6):539-552. http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2009.04.029.

Tesfaye, S., Stevens, L.K., Stephenson, J.M., Fuller, J.H., Plater, M., Ionescu-Tirgoviste, C., Nuber, A., Pozza, G., Ward, J.D. (2004). Prevalence of diabetic peripheral neuropathy and its relation to glycemic control and potential risk factors. The Euro Diab IDDM complications study. Diabetologia, 39:1377-1384.

Vilcek, J. (2003). The cytokines: An overview. In: *The Cytokine Handbook*, 4th Ed., edited by Thomson AW, Lotze MT, Academic Press, London, pp 3-18.

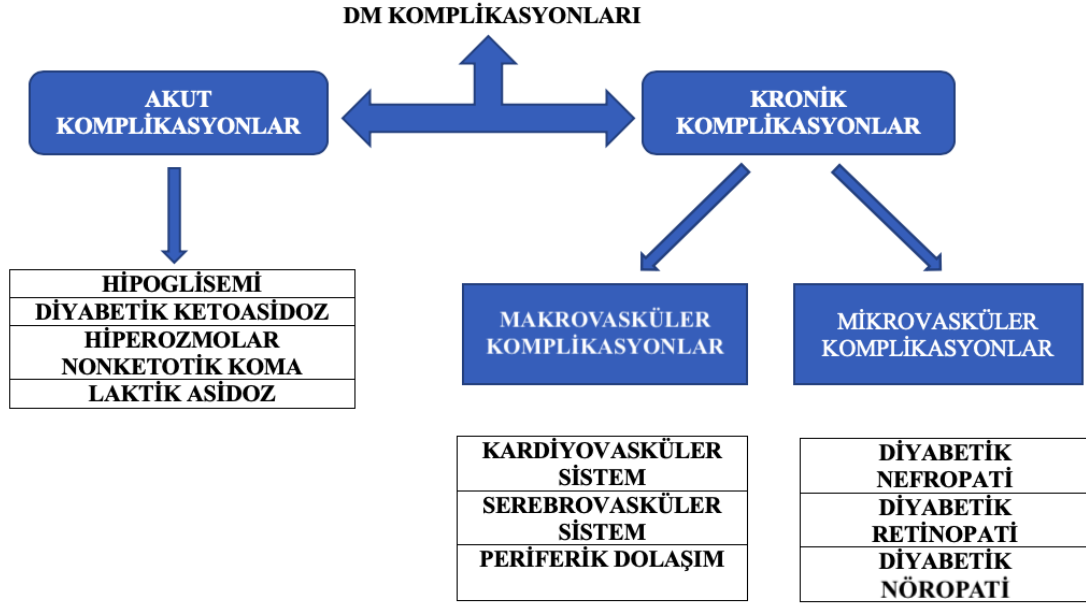
Xie, S.L., Chen, Y.Y., Zhang, H.F., Deng, B.Q., Shu, X.R., Su, Z.Z., Lin, Y.Q., Nie, R.Q., Wang, J.F. (2015). Interleukin 18 and extracellular matrix metalloproteinase inducer cross-regulation: implications in acute myocardial infarction. Transl Res, 165:387-395.

**Tablo 1: IL-18 Gen Varyasyonlarının Belirlenmesinde Kullanılan Primer Dizileri**

<b>IL-18 (-607C/A) gen varyasyonu için primer dizileri</b>	
5'-TAA CCT CAT TCA GGA CTT CC-3'	(reverse)
5'-GTT GCA GAA AGTGTA AAA ATT ATT AC-3'	(forward 1)
5'-GTT GCA GAA AGTGTA AAA ATT ATT AA-3'	(forward 2)
5'-CTT TGC TAT CAT TCC AGG AA-3'	(forward kontrol)
<b>IL-18 (-137G/C) gen varyasyonu için primer dizileri</b>	
5'-AGGAGG GCA AAATGC ACT GG-3'	(reverse)
5'-CCC CAA CTT TTA CGG AAG AAAAG-3'	(forward 1)
5'-CCC CAA CTT TTA CGG AAG AAA AC-3'	(forward 2)
5'-CCA ATA GGA CTG ATT ATT CCG CA-3'	(forward kontrol)

**Tablo 2: IL-18 gen varyasyonlarının belirlenmesinde kullanılan polimeraz zincir reaksiyonu koşulları ve ürün uzunlukları**

Gen Varyasyonu	PZR Koşulları	Döngü	PZR Ürün Uzunlukları (Baz çift)
IL-18 (-607 C/A) gen varyasyonu	94°C'de 3 dakika 94°C'de 20 saniye 54°C'de 20 saniye 72°C'de 20 saniye 72°C'de 5 dakika	40	196; Forward kontrol: 301
IL-18 (-137 G/C) gen varyasyonu	94°C'de 3 dakika 94°C'de 20 saniye 54°C'de 20 saniye 72°C'de 20 saniye 72°C'de 5 dakika	40	261; Forward kontrol: 446



Şekil 1: Diyabetes Mellitusun komplikasyonları