

DİYABETES MELLİTUSLU HASTALARDA HIF-1 α , MMP-9, IL8 SEVİYELERİ İLE DİYABETİK AYAK ÜLSERİ GELİŞİMİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

Nurdan Pür¹, Fatma Kesmez Can², Nurinnisa Öztürk³, Kamber Kasalı⁴

¹Erzurum Şehir Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği

²Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Erzurum

³Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı, Erzurum

⁴Atatürk Üniversitesi Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi Anabilim Dalı

Giriş ve Amaç

- Diyabetes mellitus (DM), kısmi ya da mutlak insülin eksikliği veya periferik dokularda insüline karşı gelişmiş olan insülin direnci nedeniyle ortaya çıkan, multisistemik tutulumu neden olan, hiperglisemi ile karakterize kronik bir metabolizma bozukluğudur.
- 2019 yılında dünya çapında diyabet prevalansının %9,3 ile 463 milyon kişi olduğu, 2030'da %10,2 ile 578 milyon ve 2045'te %10,9 ile 700 milyona yükseleceği tahmin ediliyor.
- 2019'da yetişkin sağlık harcamalarının %10'unu DM oluşturmaktadır.
- DM' da ortaya çıkan komplikasyonlar önemli morbidite ve mortalite sebebidir. Diyabetik ayak ülserleri (DAÜ) mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonların birlikte görüldüğü durumdur.
- DM hastalarının hayatları boyunca diyabetik ülser geliştirme riskine bakılınca %25-34 gibi bir oran tespit edilmiştir.
- Ayak ülserine bağlı morbidite ve mortaliteyi azaltmak için risk faktörlerinin erken tanınması ve yönetimi önemlidir.

Giriş ve Amaç

- Gelişimi için en önemli risk faktörleri arasında nöropati, periferik vasküler hastalık(hipoksi) ve zayıf glisemik kontrol yer alır.
- Normal bir yara iyileşmesi; hemostaz, inflamasyon, epitelizasyon, fibroplazi ve olgunlaşmadan oluşur. Kronik yaralar DAÜ gibi genelde inflamasyon aşamasında kalır yara iyileşmesi bozulur.
- Hipoksi durumunda aktive edilen HIF-1 (Hipoksi ilişkili faktör) geni hipoksiye adaptasyon için diğer transkripsiyon faktörleri ve enzimlerle ilişkilidir.
- Biriken kanıtlar sonucunda hipoksi ve düzensiz HIF salınımı diyabet komplikasyonlarının gelişiminde rol oynamaktadır.

Giriş ve Amaç

- Matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9); MMP sınıfının en büyük üyesidir ve jelatinaz ailesine aittir. MMP'ler tüm yara iyileşmesi aşamasında yer alır.
- DAÜ'lerinde ortaya çıkan hipoksi ve inflamasyon; dokuya zarar veren ve zayıf yara iyileşmesine yol açan MMP-9'un seviyesini artırır. Bunun sonucunda oksidatif stres artar, angienez bozulur, kronik bir inflamasyon sonucu yara iyileşmesi bozulur.
- İnterlökin 8 (IL-8) esas olarak nötrofiller üzerinde biyolojik aktivitelere sahip olan yeni sınıflandırılmış CXC kemokin süper ailesine ait proinflamatuvar bir polipeptittir. Lökositler için en önemli kemoatraktanlardan biridir.
- Yoğun inflamasyon, diyabetik yaralarla ilişkilendirilirken, nötrofil infiltrasyonunun azalması iyileşme ile ilişkilidir.

Giriş ve Amaç

- Bu çalışmamızla diyabetik ayak ülseri oluşumunu önceden tespit edip; erken tanı koyarak gereksiz debridman, amputasyon, hastane yatışı, morbidite ve mortalitenin önüne geçebilmek hedeflenmiştir.
- Literatüre bakıldığında bu 3 parametrenin DAÜ'inde birlikte kullanımına ait bir çalışma yoktur bu yönüyle çalışmamız özgündür ve sonuçlarımızla literatüre ışık tuttuğumuzu düşünmekteyiz.
- Biz tezimizde klinik kullanım kolaylığı olması ve çoğu çalışmada sık kullanılması sebebiyle Wagner yara sınıflamasını kullandık. (Evre 2, evre 3 ve evre 4 hastalar dahil edildi)

Evre 0	Deri sağlam, ayakta yüksek ülser riski var
Evre I	Yüzeysel ülser
Evre II	Derin ülser, tendon, kemik ve eklem kapsülüne varan ülser
Evre III	Derin dokuları kapsayan ülser, apse oluşumu, osteomyelit, tendinit
Evre IV	Ayağın bir kısmını kapsayan gangren
Evre V	Tüm ayakta gangren

Materyal Metod

- Çalışmamız diyabetik ayak ülseri tanısı almış Tip 2 DM'li hastalarda HIF-1 α , IL-8 ve MMP-9 düzeylerinin diyabetik ayak ülseri ile arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlayan prospektif vaka-kontrol çalışmasıdır.
- 15.04.2021 ve 15.04.2022 tarihleri arasında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Klinik ve Polikliniğine başvuran toplam 90 katılımcıdan oluşmaktadır. Çalışmamıza dahil edilen kişiler 3 gruba ayrıldı; 1. Grup: Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniğinde takip edilen diyabetik ayak ülseri tanısı almış 30 hasta, 2. Grup: Diyabet tanısı almış ancak diyabetik ayak gelişmemiş 30 hasta, 3. Grup: Sağlıklı gönüllü 30 bireyden oluşmaktadır.

Materyal Metod

- Hastalarımızdan HIF-1 α , MMP-9, IL-8 düzeyleri için bir adet venöz biyokimya tüpüne kanları alındı pıhtılaşmaları tamamlandıktan sonra 3000 rpm'de, on dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Serum  rnekleri adı kodlanarak -80  derecede dondurularak analiz edilinceye kadar saklandı. Analiz işlemleri için serum örnekleri uygun koşullarda  z lmeleri sağlandıktan sonra tüm analizler tek oturumda Atatürk Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkez Müdürlüęü Tıbbi Biyokimya Laboratuvarında analiz edildi
-  ıkan sonuçlarımız için istatistiksel analizler IBM SPSS 20 istatistik analiz programı ile yapıldı.
- İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak alındı.

Bulgular

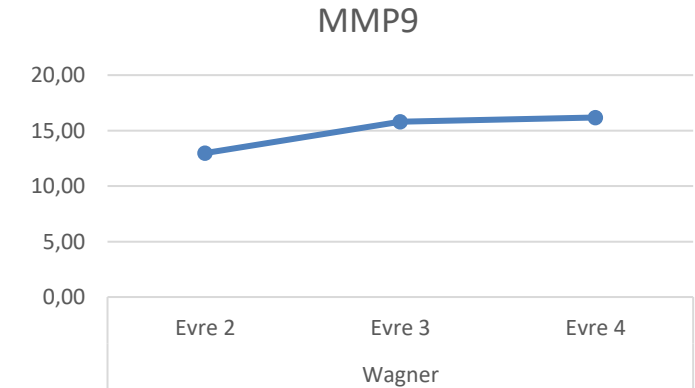
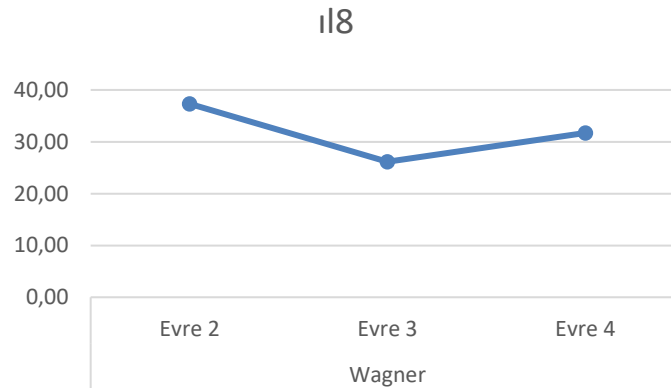
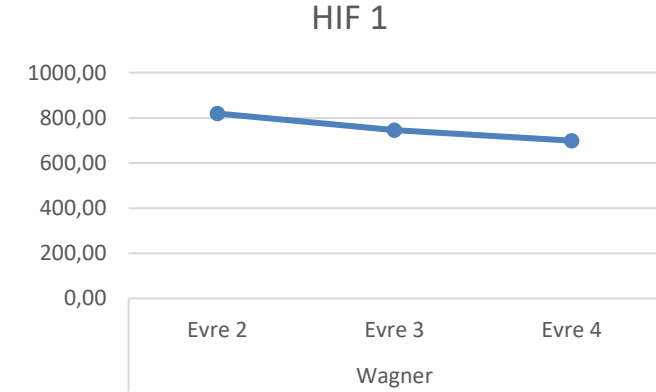
	Grup 1	Grup 2	Grup 3		
	Mean±SD; Median (Min-max)	Mean±SD, Median (Min-max)	Mean±SD; Median (Min-Max)	P	POST HOC
IL-8 (pg/ml) ¥	31,73±10,50; 32,90 (11,08-49,25)	16,29±6,03; 13,38 (10,13-29,84)	8,32±1,51; 8,36 (5,48-10,94)	0,001	hepsi
MMP-9 (ng/ml) ¥	14,99±3,71; 15,25 (8,52-20,53)	10,29±1,33; 10,56 (7,29-11,98)	3,85±2,25; 3,66 (0,62-8,89)	0,001	Hepsi
HIF-1α (pg/ml) ¥	754,58±114,48; 747,99 (533,20-989,88)	466,11±70,07; 473,94 (325,64-588,28)	383,02±101,29; 340,18 (244,18-583,60)	0,001	1-3 1-2

Gruplar arası parametreler

Bulgular

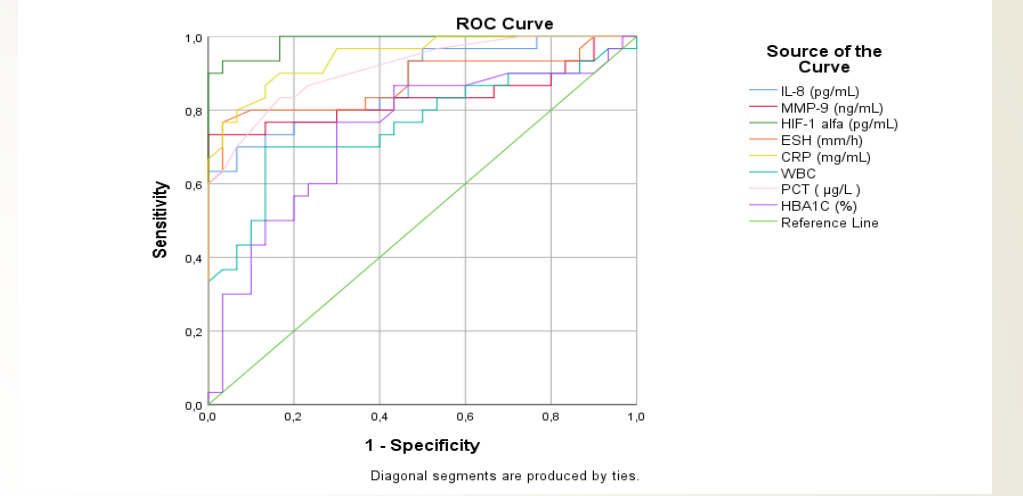
- Wagner evrelerine göre çalıştığımız parametrelerin düzeyini incelediğimizde tek anlamlı parametremiz HIF-1 α idi Wagner evresi arttıkça azalıyordu (p=0,054).

	Wagner evre 2		Wagner evre 3		Wagner evre 4		p ^j
	Mean \pm sd	Median (min-max)	Mean \pm sd	Median (min-max)	Mean \pm sd	Median (min-max)	
IL-8	37,32 \pm 8,56	38,87 (19,69-49,25)	26,15 \pm 9,40	25,62 (12,93-40,59)	31,71 \pm 11,15	36,77 (11,08-41,14)	0,093
HIF-1 α	819,23 \pm 92,90	816,50 (690,50-970,50)	745,77 \pm 129,62	743,87 (533,20-989,88)	698,75 \pm 92,74	712,93 (551,62-850,00)	0,054
MMP-9	12,97 \pm 3,97	13,24 (8,52-19,14)	15,80 \pm 3,45	15,10 (10,91-20,53)	16,18 \pm 3,13	16,07 (9,06-20,24)	0,105



Bulgular

- Parametrelerimizin diyabet hastalarında diyabetik ayağa gidişte kullanılabilir birer biyobelirteç olabilirliğini araştırmak amacıyla istatistiksel roc analizi yapıldı. Grafik incelendiğinde en fazla eğri altında kalan alan HIF-1 α ' ya ait idi.



	Eğri altında kalan alan \pm standart sapma (Auc \pm Std)	Alan için %95 güven aralığı alt - üst	Kesim noktası (cut-off)	Sensitivite	Spesifite	P
HIF-1 α (pg/mL)	0,99 \pm 0,01	0,97-1,00	580,29	0,933	0,967	<0,001
CRP (mg/mL)	0,95 \pm 0,03	0,89-0,99	35,5	0,867	0,867	<0,001
PCT (µg/L)	0,91 \pm 0,04	0,85-0,98	0,066	0,833	0,833	<0,001
ESH (mm/h)	0,88 \pm 0,05	0,78-0,97	49	0,767	0,967	<0,001
IL-8 (pg/mL)	0,87 \pm 0,045	0,78-0,96	27,450	0,700	0,933	<0,001
MMP-9 (ng/mL)	0,83 \pm 0,059	0,72-0,95	11,971	0,733	0,933	<0,001
WBC (/mm ³)	0,76 \pm 0,06	0,64-0,89	9855	0,700	0,867	<0,001
HbA1c (%)	0,74 \pm 0,07	0,61-0,87	8,35	0,767	0,700	<0,001

Tartışma

- Literatürdeki birçok çalışmada diyabeti olanlarda HIF-1 α disfonksiyonu olduğu ve yara iyileşmesini olumsuz etkilediği mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlarla ilişkisi olduğu gösterilmiştir.
- Bizim çalışmamızda en yüksek HIF-1 α düzeyleri grup 1 de idi ancak Wagner evreleri ile HIF-1 α seviyelerini karşılaştırdığımızda evre arttıkça HIF-1 α düzeyi düşmekte idi ve istatistiksel anlamlılık mevcut idi (p= 0,054).

Tartışma

- Diyabette bozulmuş yara iyileşmesinin ana sebebi hipoksidir buda HIF-1 α 'nın bozulmuş yanıtının sonucudur. DAÜ' olan hastalarda HIF-1 α öncelikle hipoksiden ötürü artmaya başlar ancak yara evresi arttıkça bozulmuş hipoksik yanıtın ötürü artması gereken HIF-1 α düzeyi artmak yerine azalmaktadır çalışmamız bu açıdan literatürü desteklemektedir.
- Çalışmamız bu bulgular ışığında bize diyabette başlangıçta HIF-1 α düzeylerinin arttığı; sonrasında bozulmuş HIF-1 α salınımı sonucu komplikasyonlar ilerledikçe nekrozun artması ile HIF-1 α seviyesinin azaldığını düşünmekteyiz.
- Yaptığımız çalışma için en ilgi çekici sonucumuz; HIF-1 α DAÜ gelişmeden önce DAÜ oluşum riskini öngören pozitif bir biyobelirteç iken, DAÜ' i oluşmaya başladıktan sonra Wagner evre 2,3,4 için cut-off değerinin üstünde kalarak; Wagner evresi ilerledikçe seviyesi düşmektedir, buda bize DAÜ' progresyonu için negatif bir biyobelirteç olduğunu göstermektedir.

Tartışma

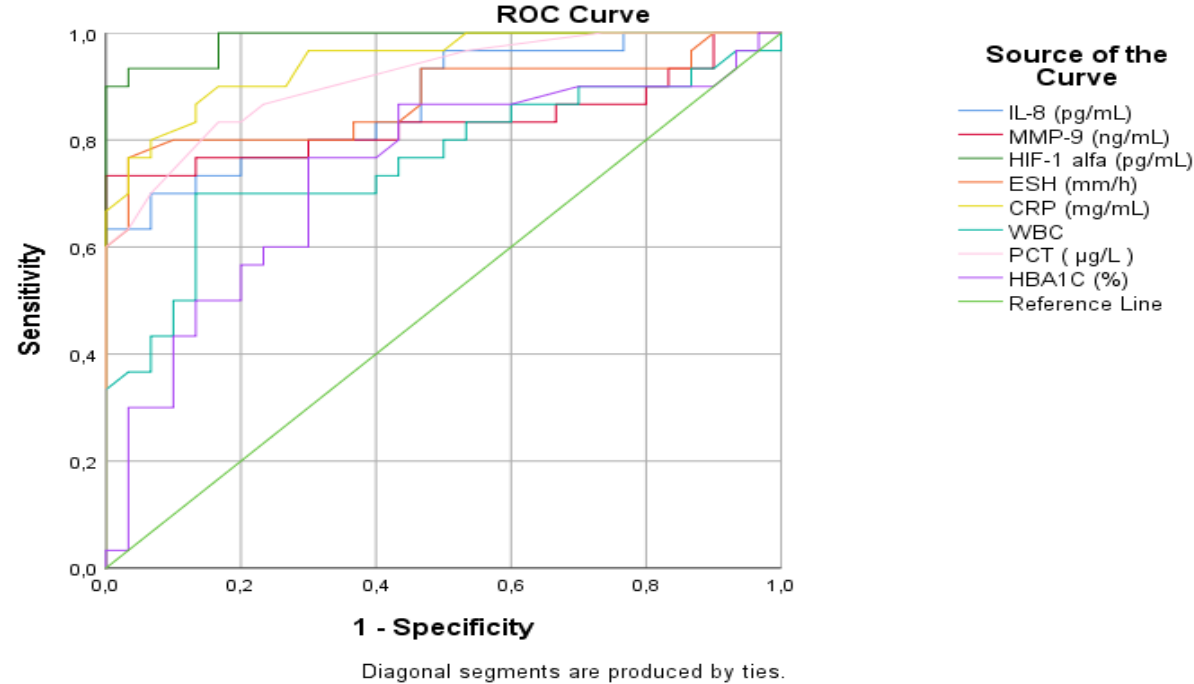
- Çalışmamızda MMP-9 gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,001$). Çalışmamız bu yönüyle literatürdeki birçok çalışma ile benzer özellik taşımaktaydı. MMP-9 seviyelerinin yüksek olmasının bozulmuş yara iyileşmesi ile ilgili olduğunu düşündük.
- MMP-9 seviyelerinin Wagner evresi arttıkça arttığını tespit ettik ancak bu artış örneklem sayımızın yetersiz olmasından ötürü istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,105$).
- Çalışmamızdan yola çıkarak DAÜ'i olan hastalarda yara iyileşmesini düzeltmek için MMP-9 seviyelerinin düşürülmesi gerektiğini savunmaktayız.

Tartışma

- Diyabetik yaralarda bozulmuş yara iyileşmesinin ana sebeplerinden birisi devam eden yoğun inflamasyon idi. Bu inflamatuvar yanıtı başlatan ve sürdüren faktörlerden biri nötrofil kemotaksisini sağlayan kemokin IL-8'dir.
- Hipoksik koşullar altında yükselen HIF-1 α IL-8 ile korele olarak artmakta idi.
- Bizim çalışmamızda IL-8 seviyeleri gruplar arasında istatistiksel anlamlı idi($p=0,001$). Wagner evresi ile IL-8 düzeyleri karşılaştırıldığında Wagner evresinin ilerlemesi ile IL-8 düzeyleri arasında istatistiksel anlamlılık yoktu ($p=0,093$).
- Bu bilgiler ışığında IL-8 DAÜ'ine giden yolda anlamlı bir biyobelirteç iken DAÜ'i geliştikten sonra yüksek olmasına rağmen prognozu değerlendirmede kullanılabilecek bir parametre değildir

Sonuçlar

- Çalışmamızı yapma amacımız DAÜ'ü oluşumunu önceden tespit edebilecek yeni biyobelirteçler bularak literatüre katkı sağlayabilmektir. Roc analiz grafiği incelendiğinde tüm parametreler biyobelirteç olarak kullanılabilir çıkmış olup hepsi referans eğrisinin üstünde kalmıştı. Grafik incelendiğinde en fazla eğri altında kalan alan HIF-1 α 'ya ait idi.



Sonuçlar

- Aynı zamanda DAÜ'ine gidişte erken biyobelirteç olarak kullanılabilirlik açısından HIF-1 α 'nın en kıymetli parametre olmasının sebebi olarak daha ülser gelişmeden inflamasyon oluşmadan altta yatan ana mekanizma olan hipoksi varlığında diğerlerinden önce artmaya başlayan ve bizi erken uyarıcı bir biyobelirteç olabileceğini düşündük. DAÜ' i geliştikten sonrada progresyonu belirlemek içinde kullanılabilir bir parametredir.
- IL-8 ve MMP-9'un CRP (C-reaktif protein), ESH (sedimentasyon) ve PCT (procalsitonin)'ye göre daha az anlamlı olmasının sebebi olarak; bu iki parametrenin inflamasyon dışında vücuttaki birden çok farklı fizyolojik olayda yer almasına bağlı olabileceğini düşündük.



- Dinlediđiniz için teŐekkür ederim..