



T.C.

BEZMÎÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ

Nöroloji Anabilim Dalı

**DIYABETİK HASTALARDA DIYABETİK NÖROPATİ
GELİŞİMİ İLE OKSİDATİF STRES, DNA HASARI, MMP-
2,-9,-10 VE IL-1 β , IL-6, TNF- α ARASINDAKİ İLİŞKİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Tuğçe ÖZDEMİR GÜLTEKİN

(Uzmanlık Tezi)

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Azize Esra BAŞAR GÜRSOY

İSTANBUL 2016

ÖNSÖZ

Öncelikle bugüne kadar hayatımın her aşamasında yanımda olan ve ihtiyaç duyduğum her türlü desteği bir an olsun eksik etmeyen sevgili annem Gülay Özdemir, babam Behçet Özdemir ve ablam Ayşe Çınar'a, ilkokul öğretmenim Osman Topyıldız başta olmak üzere eğitim hayatım boyunca değerli bilgi ve tecrübelerini paylaşan tüm öğretmenlerime ve Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı'ndaki uzmanlık eğitimim süresince, tıbbi bilgi ve deneyimlerimin artması için katkılarını esirgemeyen Ana Bilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Talip Asil'e,

Asistanlık eğitimimde büyük emeği geçen, sevgi ve hoşgörüsünü hissettiğim tez danışmanım, değerli hocam Doç. Dr. Azize Esra Başar Gürsoy'a, tez sürecinde destek ve yardımları ile yanımda olan Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Abdurrahim Koçyiğit ve Huri Dedeakay'a,

Bu tez çalışmasının ortaya çıkmasında büyük katkıları olan, desteğini esirgemeyen, büyük bir özveri ile çalışan değerli meslektaşım Dr. Elif Gökçal'a,

Değerli hocalarım Doç. Dr. Gülsen Babacan Yıldız, Prof. Dr. Temel Tombul, Doç. Dr. Gülşen Kocaman'a ve ayrıca her zaman destek olan değerli hocam Dr. Mehmet Kolukısa'ya,

Asistanlık eğitimimde bilgi ve tecrübelerini paylaşarak önemli rol oynayan değerli hocalarım Prof. Dr. Abdulkadir Koçer, Prof. Dr. Alpay Alkan ve Doç. Dr. Ayşe Aralaşmak'a,

Her türlü desteği, bilgisi ve arkadaşlığı ile yanımda olan Dr. Çiğdem Deniz başta olmak üzere Dr. Vildan Güzel, Dr. Gülistan Halaç, Dr. Rengin Bilgen, Dr. Hasan Hüseyin Karadeli, Dr. Muhammed Emin Özcan'a,

Asistanlık eğitimim dahil her zaman yanımda olan arkadaşım Dr. Aslı Yaman başta olmak üzere Dr. Can İsen, Dr. Eren Gür, Dr. Elvin Niftaliyev, Dr. Gözde Baran, Dr. Emin Nasirov ve ihtisasım süresince birlikte çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma, teknisyenlerimiz İsa Yeşilyurt, Cevat Çakır ve Aynur Daşkaya'ya, asistanlık eğitimimde büyük katkısı olan Fatma Erdoğan başta olmak üzere, Yeter Özen, AYTEKİN KÜREKÇİ, Habibe Bal'a, tüm servis ve yoğun bakım hemşirelerimize, sekreterlerimiz Şüheda Uzun, Sevil Seçen ve Gülşah Kayran'a, Bahattin Mazak ve tüm hastane personeline teşekkür ederim.

Bana her zaman destek olan sevgili eşim Dr. Mehmet Hamza Gültekin'e tüm yardımları için teşekkür ederim.

Dr. Tuğçe ÖZDEMİR GÜLTEKİN

ÖZET

DİYABETİK HASTALARDA DİYABETİK NÖROPATİ GELİŞİMİ İLE OKSİDATİF STRES, DNA HASARI, MMP-2, -9, -10 VE IL 1- β , IL-6, TNF- α ARASINDAKİ İLİŞKİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Diyabetik nöropati diyabetin mikrovasküler komplikasyonlarından biridir. Diyabetik nöropati etiyopatogenezinde vasküler ve metabolik pek çok mekanizmanın rol oynadığı bilinmektedir. Bu çalışmada Tip 2 diyabetik hastalarda diyabetik nöropati gelişimi ile oksidatif stres, DNA hasarı, MMP-2, MMP-9, MMP-10, TNF- α , IL-1 β , IL-6, Vitamin D düzeyleri ilişkisinin araştırılması amaçlanmaktadır.

Çalışmaya toplamda 150 hasta alınmış olup 42'si sağlıklı gönüllülerden, 108'i tip 2 diyabetik hastalardan oluşmaktadır. 108 hastanın 56'sı diyabetik polinöropatisi olmayan grubu (DPNP(-)), 52'si ise diyabetik polinöropatisi olan grubu (DPNP(+)) oluşturmuştur. Tüm hastalarda DNA hasarı, MMP-2, MMP-9, MMP-10, TNF- α , IL-1 β , IL-6, Vitamin D ve oksidatif stres belirteçleri olan TAS, TOS, OSI düzeylerini belirlemek amacı ile biyokimyasal analiz yapılmıştır. Nöropatik ağrı açısından değerlendirmek amacı ile tüm hastalara DN4 anketi yapılmış ve hastaların demografik verileri kaydedilmiştir.

Diyabetik nöropatisi olan hastalarda diyabetik olmayanlara göre TNF- α , IL-1 β , IL-6, MMP-9, MMP-10, TOS, OSI ve DNA hasarı düzeyleri anlamlı derecede yüksek ($p < 0,001$), TAS düzeyi ise anlamlı derecede düşük ($p = 0,001$) saptanmıştır. Hastalar nöropatik ağrı skoruna göre sınıflandırıldığında ise DN4 skoru ≥ 4 olanlarda DN4 skoru < 4 olanlara göre TNF- α , IL-1 β , IL-6, MMP-9, MMP-10, TOS, OSI ve DNA hasarı düzeyleri anlamlı derecede yüksek ($p < 0,001$), TAS düzeyi ise anlamlı derecede düşük ($p = 0,002$) saptanmıştır.

Bu çalışma ile nöroinflamasyon ve oksidatif stresin diyabetik polinöropati ve nöropatik ağrı patogenezinde rol oynadığını saptayarak bu konuda yapılacak yeni çalışmalar ışığında yeni tedavilerin bulunması ile diyabetik polinöropati ve nöropatik ağrının tedavisinde daha başarılı sonuçlar alınabileceği desteklenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Diyabetik nöropati, Nöropatik ağrı, Nöroinflamasyon, Oksidatif Stres, DNA Hasarı.

ABSTRACT

EVALUATION OF THE ASSOCIATION BETWEEN DIABETIC NEUROPATHY DEVELOPMENT AND OXIDATIVE STRESS, DNA DAMAGE, MMP-2, MMP-9, MMP-10, TNF- α , IL-1 β , IL-6, VITAMIN D LEVELS IN DIABETIC PATIENTS

Diabetic polyneuropathy is one of the microvascular complications of diabetes. A lot of mechanisms such as vascular and metabolic processes have been known to be involved in etiopathogenesis. In this study, we aimed to investigate the association between oxidative stress, DNA damage, MMP-2, MMP-9, MMP-10, TNF- α , IL-1 β , IL-6, Vitamin D levels and the occurrence of diabetic polyneuropathy and neuropathic pain.

150 participants were involved in the study. 42 of these were healthy controls and 108 were patients with type II diabetes. Patients with type II diabetes were grouped according to existence of polyneuropathy. There were 56 patients without polyneuropathy (DPNP(-)) and 52 patients with polyneuropathy (DPNP(+)).

Demographical characteristics of all participants were recorded. Vitamin D, TNF- α , IL-1 β , IL-6, MMP-2, MMP-9, MMP-10, TAS, TOS, OSI and DNA damage levels were studied in all participants. DN4 questionnaire were performed in diabetic patients to evaluate neuropathic pain.

Serum TNF- α , IL-1 β , IL-6, MMP-9, MMP-10, TOS, OSI and DNA damage levels were significantly higher ($p < 0,001$), on the other hand serum TAS levels were significantly lower in DPNP(+) patients than DPNP(-) patients ($p = 0,001$). After classification according to neuropathic pain scores, TNF- α , IL-1 β , IL-6, MMP-9, MMP-10, TOS, OSI and DNA damage levels were significantly higher ($p < 0,001$), on the other hand serum TAS levels were significantly lower in patients with DN4 score ≥ 4 than patients with DN4 score < 4 ($p = 0,002$).

These results support that neuroinflammation, oxidative stress and DNA damage have important roles in pathogenesis of diabetic polyneuropathy and neuropathic pain. New treatment options should be developed for diabetic polyneuropathy and neuropathic pain in consideration of these mechanisms.

KeyWords: Diabetic neuropathy, neuropathic pain, neuroinflammation, oxidative stress, DNA damage

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
KISALTMALAR.....	vii
TABLO VE ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. DİYABETES MELLİTUS	5
2.1.1. TANIM VE TARİHÇE.....	5
2.1.2. DİYABETES MELLİTUS EPİDEMİYOLOJİSİ.....	6
2.1.3. DİYABETES MELLİTUS TANISI	7
2.1.4. DİYABETES MELLİTUS SEMPTOMLARI.....	8
2.1.5. DİYABETES MELLİTUS SINIFLAMASI	8
2.1.5.1. Tip 1 Diyabetes Mellitus.....	10
2.1.5.2. Tip 2 Diyabetes Mellitus.....	10
2.1.6. DİYABETES MELLİTUS KOMPLİKASYONLARI.....	11
2.1.6.1. Diyabetin akut komplikasyonları.....	11
2.1.6.2. Diyabetin kronik komplikasyonlar	11
2.1.6.2.1. Makrovasküler komplikasyonlar.....	12
2.1.6.2.2. Mikrovasküler komplikasyonlar	13
2.1.6.2.2.1. DİYABETİK RETİNOPATİ	13
2.1.6.2.2.2. DİYABETİK NEFROPATİ	14
2.1.6.2.2.3. DİYABETİK NÖROPATİ.....	14
2.1.6.2.2.3.1. Diyabetik nöropati epidemiyolojisi.....	15

2.1.6.2.2.3.2.	Diyabetik Nöropatik Ağrı	16
2.1.6.2.2.3.3.	Diyabetik Nöropatinin Sınıflaması	17
2.1.6.2.2.3.4.	Diyabetik Nöropatinin Etiyopatogenezi.....	20
2.1.6.2.2.3.4.1.	Diyabetik Nöropatinin Etiyopatogenezindeki Vasküler Mekanizmalar	22
2.1.6.2.2.3.4.2.	Diyabetik Nöropatinin Etiyopatogenezindeki Metabolik Mekanizmalar	23
2.1.6.2.2.3.4.3.	Diyabetik Nöropatinin Etiyopatogenezindeki Diğer Mekanizmalar	25
3.	GEREÇ VE YÖNTEMLER	29
4.	BULGULAR.....	38
5.	TARTIŞMA.....	49
6.	SONUÇ.....	55
7.	KAYNAKLAR	56

KISALTMALAR

ADA	: Amerikan Diyabet Birliği
AGE	: İleri glikasyon son ürünleri
BDNF	: Beyin-derive nörotrofik faktör
CGRP	: kalsitonin-gen-ilişkili peptid
CRP	: C-reaktif protein
COX-2	: Siklooksijenaz-2
DM	: Diyabetes Mellitus
DKA	: diyabetik ketoasidoz
DPNP	: Diyabetik polinöropati
DSPN	: Distal Simetrik Polinöropati
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü
EMG	: Elektromiyografi
eNOS	: endotelial nitrik oksit sentaz
ETC	: Elektron transport zinciri
GLA	: gama linoleik asit
HDL	: yüksek dansiteli lipoprotein
HHD	: hiperozmolar hiperglisemik durum
HT	: hipertansiyon
IDF	: Uluslararası Diyabet Federasyonu
IFG	: bozulmuş açlık glukozu
IL	: İnterlökin
IL-1 β	: İnterlökin-1beta
LDL	: düşük dansiteli lipoprotein
MKSF	: Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör
MMP	: Matriks Metalloproteinaz

NGF	: Sinir büyüme faktörü
NO	: Nitrik oksit
OGTT	: Oral glukoz tolerans testi
OSİ	: Oksidatif Stres İndeksi
PARP	: Poli-ADP riboz polimeraz
ROS	: Serbest oksijen radikalleri
TAS	: Total Antioksidan Seviye
TG	: Trigliserid
TGF- β	: Transforme edici büyüme faktörü
TNF- α	: Tümör Nekroz Faktör-alfa
TOS	: Total Oksidan Seviye
TURDEP	: Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Projesi
T. KOL	: Total kolesterol
VCAM-1	: vasküler hücre adezyon molekülü
Vit D	: Vitamin D
vWF	: von Willebrand faktör
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

TABLO VE ŞEKİLLER LİSTESİ

Tablo 1. Diyabetes Mellitus Tanı Kriterleri.....	7
Tablo 2. Diyabetes Mellitus ve glukoz metabolizmasının diğer bozukluklarında tanı kriterleri	8
Tablo 3. Etiyolojisine göre Diyabetes Mellitus sınıflaması.....	9
Tablo 4. Katılımcıların demografik özellikleri.....	38
Tablo 5. Hastaların HbA1c, HDL, LDL, Trigliserid, Total Kolesterol değerleri.....	40
Tablo 6. Hastaların Vitamin D, IL-6, TNF- α , IL-1 β , MMP-2, MMP-9, MMP-10, TAS, TOS ve OSI değerleri	42
Tablo 7. Hastaların yaş, HbA1c, kolesterol seviyeleri ile Vitamin D, IL-6, TNF- α , IL-1 β , MMP-2, MMP-9, MMP-10, TAS, TOS ve OSI değerlerinin korelasyonu	43
Tablo 8. Laboratuvar parametrelerinin birbirleriyle korelasyonu	44
Tablo 9. Hipertansiyonu olan ve olmayan hastaların laboratuvar parametreleri.....	45
Tablo 10. DPNP(+) ve DPNP(-) gruplardaki hastaların DN4 skoruna göre dağılımları	45
Tablo 11. Diyabetik hastaların DN4 skoru <4 olanlar ile DN4 skoru \geq 4 olanların laboratuvar parametreleri.....	47
Tablo 12. Diyabetik hastaların diyabet süresi ve DN4 skorunun laboratuvar sonuçları ile korelasyonu.....	48

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diyabetes Mellitus (DM), %1-4 prevalans ile en sık rastlanılan metabolik hastalıktır[1, 2]. DM, mutlak veya göreceli insülin yetersizliği veya etkisizliğinin neden olduğu karbonhidrat, protein ve yağ metabolizması bozukluğu ile sonuçlanan, pek çok sistemde komplikasyona neden olan kronik ve metabolik bir hastalıktır[3, 4].

Diyabetes Mellitus'a eşlik eden metabolik bozukluk pek çok organı ilgilendiren fizyopatolojik değişikliklere ve buna bağlı olarak, kişi ve toplum üzerinde ciddi bir sağlık yüküne neden olmaktadır. DM, dünya çapında giderek artan insidansı ile gelecekte de başta gelen morbidite ve mortalite sebebi olmaya devam edecektir[3].

Tüm dünyada 2014 yılı itibariyle 387 milyon DM hastasının bulunduğu ve 2035 yılında bu sayının 592 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir[5].2013 yılında yayınlanmış olan Türkiye verisinde DM prevalansı %13,7 olarak saptanmıştır. Bu çalışmada Türkiye'de toplam diyabet hasta sayısının 6 milyonun üzerinde olduğu ve hastaların %45,5'inin hastalığının farkında olmadığı bulunmuştur[6].

Diyabetes Mellitusun birçok farklı tipi vardır, bu tiplerin oluşmasında genetik zemin, çevresel faktörler ve hayat tarzı etkilidir[3].Etiyolojisine göre kapsamlı bir sınıflaması olsa da DM'un iki büyük sınıfı tip 1 ve tip 2 diyabet olarak adlandırılır[7].

Tip 1 diyabet otoimmün bir hastalık olup pankreas beta hücrelerinin yıkımı sonucu ortaya çıkar. Tip 2 diyabet ise genetik ya da genetik olmayan nedenlerin kombinasyonu ile insülin direnci ve pankreas beta hücrelerinin insülini salgılamasında görülen bozukluğun bir arada bulunmasıyla ortaya çıkar[8].

Diyabetes Mellitusun akut ve kronik komplikasyonları bulunmaktadır. Diyabetik ketoasidoz ve nonketotik hiperosmolar durum DM'un akut komplikasyonları iken, kronik komplikasyonları vasküler ve vasküler olmayanlar olarak ikiye ayrılabilir. Vasküler komplikasyonlarda ayrıca kendi içerisinde mikrovasküler(nöropati, retinopati, nefropati) ve makrovasküler(koroner arter hastalığı, periferik vasküler hastalık, serebrovasküler hastalık) olarak ayrılabilir.Vasküler olmayan komplikasyonlar; gastroparezi, seksüel disfonksiyon ve deri değişiklikleri gibi problemlerdir.Bu ayrılma çok net olmamakla birlikte bütün komplikasyonların gelişiminde birden fazla patolojik süreç söz konusudur[3].Diyabette görülen kronik komplikasyonlar hipergliseminin

süresi ile ilişkili olup, yaşam kalitesinde ve beklenen yaşam süresinde azalmaya ve belirgin morbiditelerin oluşmasına neden olurlar[3].

DM gelişmiş batı ülkelerinde periferik nöropatilerin en sık nedenidir[9]. Diyabetik polinöropati diyabetin sık rastlanılan komplikasyonlarından biridir[10]. Diyabetik polinöropatinin en sık rastlanılan formu olan distal simetrik polinöropati(DSPN)'nin tahmini prevalansı %40-60 arasında değişmektedir[11].

Ön planda miyelinsiz ve ince miyelinli sinir liflerini etkileyen DSPN, yerleştiğinde büyük oranda geri dönüşüzdür. Genellikle elektrofizyolojik incelemelerde aksonal hasarla seyreden duysal ve motor bir polinöropatiyi yansıtan bulgular saptanır[12, 13]. Tip 2 diyabet hastalarında polinöropatiye ek olarak diyabetik nöropatik ağrı da günlük yaşam kalitesini düşüren önemli sorunlardan biridir[9].

Diyabetik polinöropati patofizyolojisi tip 2 diyabetik hastalarda farklı mekanizmalarla açıklanmaya çalışılmaktadır. Polyol yolu ile ilgili olan hipotez üzerinde en çok durulan ve çalışılan metabolik hipotezdir. Glukoz, aldozreduktaz enzimi tarafından sorbitole dönüştürülmekte, hiperglisemi nedeni ile bu yolun aşırı çalışması hücre içinde sorbitol birikimine yol açmaktadır. Bu birikim ile hücre içi miyoinozitol ve taurini azalmakta, bu da hücre metabolizmasının bozulmasına yol açarak Na/K ATP az aktivitesini azaltmakta ve sinir iletim hızının düşmesine neden olmaktadır[9, 14].

Esansiyel yağ asitleri ve prostoglandin metabolizma bozuklukları ile ilişkili sinir membran yapısı ve mikrovasküler yapı değişiklikleri bir diğer mekanizmadır. Nörotrofik faktörlerin azalmasının (Nörotrofin 3, insülin benzeri büyüme faktörü), nonenzimatik glikasyon son ürünlerinde artışın ve immun mekanizmaların da diyabetik nöropatinin gelişimi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir[9, 15].

Son yıllarda büyük önem kazanan diyabetik nöropati gelişimindeki mekanizmalardan biri oksidatif stres ve serbest radikal sentezinde artış ve kalıcı hipergliseminin yol açtığı proteinlerin nonenzimatik glikasyonudur[9, 16].

Son dönemde yapılan çalışmalarda hiperglisemiye bağlı artan oksidatif stres, sitokinlerin uyarımı, matriks metalloproteinazların(MMP) aktivasyonu, DNA hasarına bağlı değişmiş gen ekspresyonları ve bunların birbirleri ile ayrı ayrı ilişkileri sonucu ortaya çıkan nöronal hücre ölümüne bağlı olarak diyabetik nöropati ortaya çıktığı düşünülmektedir[17].

MMP'lar; ekstrasellüler matriks ile bazal membran komponentlerini parçalama yeteneğine sahip ve aktif bölgesinde çinko içeren, kalsiyum bağımlı homolog bir enzim ailesidir[18]. MMP enzim ailesi, kollojenazlar (MMP-1, -8, -13, -18), stromelizinler (MMP-3, -7, -10, -11, -12), jelatinazlar (MMP-2, -9) ve membran tip MMP'lar (MT-MMP-14, -15, -16, -17) olmak üzere 4 farklı gruptan oluşmaktadır. Ayrıca yeni tanımlanan MMP-4, -5, -6, -19 ve -20 bu grupların içerisinde değerlendirilememektedir. Jelatinazlar(MMP-2, 9), denatüre kollojenin ve bazal membranın yıkımından sorumludurlar. Endotelial, epitelial, yağ, kas, periferik sinir hücrelerinin ekstrasellüler matriksinin yıkımından sorumludur. Stromelizinler, kartilaj proteoglikanları dahil bütün ekstrasellüler matriks komponentlerini yıkıma uğratabilmektedirler[19].

Transkripsiyonal düzeyde, interlökin-1beta (IL-1 β), interlökin-6 (IL-6), platelet derive büyüme faktörü, epidermal büyüme faktörü (EGF), tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) ve makrofaj koloni stimüle edici faktör(MKSF) gibi inflamatuvar sitokinlerin büyük bir bölümü, büyüme faktörleri ve tümör promotörleri, MMP transkripsiyonel aktivasyonunu indükler[20].Oksidatif stres mitokondriyal MMP'ların major aktivatörlerinden biridir[21].

Deneysel çalışmalar, MMP düzenlenmesinde proinflamatuvar sitokinlerin rol oynadığını düşündürmektedir. IL-1 β ve TNF- α gibi sitokinler MMP üretimini uyarırken, transforme edici büyüme faktörü(TGF- β), IL-4, kortikoid hormonlar ve insülin benzeri büyüme faktörü MMP sentezini inhibe eder[22]. Endotel hücrelerinin hiperglisemik kültürleri, MMP-1, MMP-2 ve makrofaj derive MMP-9'un ekspresyonunu ve aynı anda aktivitesini artırmıştır[20].

Hipoksi ve iskeminin artırdığı sitokinlerden TNF- α ve IL-6'nın da diyabetik periferik nöropati etiolojisinde rol aldığı düşünülmektedir[23].

Yapılan deneysel çalışmalar vitamin D eksikliğinin MMP'ları aktive ederek diyabetik nöropati etiolojisinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir[24].

Diyabetik hastalarda oksidatif strese bağlı DNA hasarı ortaya çıkmakta ve inflamasyon belirteçleri ile olan ilişki net olarak bilinmemektedir. DNA'daki hasarın düzeyinin ölçülmesinde kullanılan en yaygın ölçme yöntemlerinden birisi tek hücre jel elektroforez yöntemi ya da kısa adıyla Comettir. Tek hücre jel elektroforezi ya da "Comet Analiz" canlı populasyonlarında, hücre düzeyinde DNA hasar tespitinde kullanılan, hızlı, basit ve çok hassas flouresan mikroskopik yöntemdir[25]. Comet

yöntemi, alkali pH da farklı molekül ağırlıklarına ve farklı elektrik yüke sahip DNA moleküllerinin elektriksel alanda farklı şekilde göç etmeleri esasına dayanır[26].

Bu çalışmada diyabetik hastalarda diyabetik nöropati gelişen ve gelişmeyen gruplarda oksidatif stres, comet analiz yöntemi ile DNA hasarının gösterilmesi, diyabetik nöropati gelişimi ve DNA hasarının MMP-2, MMP-9, MMP-10, TNF $-\alpha$, IL-1 β , IL-6, Vitamin D düzeyleri ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmaktadır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. DİYABETES MELLİTUS

2.1.1. TANIM VE TARİHÇE

Diyabetes Mellitus, mutlak veya göreceli insülin yetersizliği veya etkisizliğinin neden olduğu karbonhidrat, protein ve yağ metabolizması bozukluğu ile sonuçlanan, pek çok sistemde komplikasyona neden olan kronik ve metabolik bir hastalıktır[3].

Diyabet antik çağlardan bu yana bilinmektedir ve MÖ 1550 yıllarına ait Ebers Papirüslerinde bugünkü diyabete benzer hastalıklar yazılı olarak yer almaktadır. Grek dilinde “akıp gitmek, erimek” anlamına gelmekte olan diyabetes kelimesi ilk kez 2. yy’da Kapadokyalı Aretaeus tarafından kullanılmıştır. MS 5. Ve 6. yy’larda Susruta gibi Hintli hekimler bazı hastaların aşırı idrar yaptığını, bunların idrarının tatlı olduğunu ve bu nedenle karınca ve diğer böceklerin idrarlara akın ettiğini bildirmişler ve hastalığa madhumeha (ballı idrar) ismini vermişlerdir[27].

İngiliz Thomas Willis tarafından diyabetlilerin idrarlarının tatlı olduğu 17. yy’da tekrar belirtilmiştir. İngiliz Matthew Dobson 1776’da hastaların serum ve idrarlarında şeker olduğunu bildirmiştir[28].1798 yılında diyabeti diğer diyabetes (insipitus) türünden ayırmak amacıyla İngiliz cerrah John Rollo tarafından idrarın tatlı olduğunu belirten Latince mellitus (bal gibi tatlı) terimi kullanılmıştır[29].

Fransız Claude Bernard 19. yy’da diyabetle ilgili çok sayıda keşif yapmıştır; karaciğerde glikojen depolandığını, tavşanlarda medulla hasarı ile diyabet oluştuğunu ve diyabetle santral sinir sistemi arasında ilişki olduğunu ileri sürmüştür. Berlinli Paul Langerhans 1869’da pankreasta özel küçük hücre kümeleri oluşunu tespit etmiş, 1893’te ise Edouard Laguesse tarafından onun ismine izafeten, bu hücre gruplarına “Langerhans adacıkları” denmiştir. Oskar Minkowski ve Josef von Mering 1889’da köpeklerde pankreası çıkararak ilk deneysel diyabeti oluşturmuşlardır. İnsülin 1921 yılında Frederick G. Banting, Charles H. Best, James B. Collip ve JJR MacLeod tarafından Toronto Üniversitesi’nde ilk kez keşfedilmiş ve ilk kez 1 Ocak 1922’de hastaya uygulanmıştır. Frederick Sanger insülinin primer yapısını 1955’te tanımlamış ve bundan dolayı 1958’de Nobel ödülü almıştır. 1969’da Dorothy Hodgkin ve ark. insülinin üç boyutlu yapısını açıklamışlardır[28].

Rekombinant DNA teknolojisi ile 1978 yılından itibaren insan insülini üretilebilir hale gelmiştir. 1990'lı yılların ortalarından itibaren yapısal değişiklikler uygulanarak daha iyi farmakokinetik özelliklere sahip insülin preparatları üretilmiştir[27].

Sülfonamidlerden türetilen sülfonilüreler 1955 yılından itibaren kullanıma girmiştir ve böylece 1950'li yıllardan bu yana oral antidiyabetikler diyabet tedavisinde kullanılmaktadır[30].

2.1.2. DİYABETES MELLİTUS EPİDEMİYOLOJİSİ

Diyabetes Mellitus en sık rastlanılan endokrinolojik hastalıktır. DM'a eşlik eden metabolik bozukluk pek çok organı ilgilendiren fizyopatolojik değişikliklere ve buna bağlı olarak, kişi ve toplum üzerinde ciddi bir sağlık yüküne neden olmaktadır. DM, dünya çapında giderek artan insidansı ile gelecekte de başta gelen morbidite ve mortalite sebebi olmaya devam edecektir[3, 28].

2013 yılında tüm dünyada 387 milyon DM hastasının bulunduğu ve 2035 yılında bu sayının 592 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir[5]. Hızlı kentleşme, beslenme alışkanlıklarının değişmesi ve sedanter yaşam hastalığın prevalansındaki artışın asıl nedenleridir[31].

Dünyadaki tüm DM olgularının %77'si az-orta gelir düzeyindeki ülkelerde yaşamaktadır ve hastaların %46,3'ünü henüz tanı konulmamış olgular oluşturmaktadır. 2014 yılında tüm dünyada 5,9 milyon hastanın DM nedeniyle hayatını kaybettiği ve bu hastaların %50'sinin 60 yaş altında oldukları bildirilmiştir. Yanlış beslenme ve yaşam tarzı nedeni ile son yıllarda çocuklarda ve gençlerde de tip 2 diyabet prevalansının hızla arttığı bildirilmektedir.

Diyabet, kişinin üretkenliğini azaltması, kronik hastalık nedeniyle iş gücü kaybı ortaya çıkarması, direkt hasta bakım maliyetlerini arttırması ve erken mortaliteye yol açması nedeni ile ülkeler üzerinde ciddi ekonomik etkiler oluşturmaktadır. ABD'de DM'un toplam yıllık maliyetinin %72'sinin direkt sağlık hizmetleri, %28'inin ise hastalık nedeniyle kişilerin üretkenliğinin azalması ve iş gücü kaybına bağlı olduğu gösterilmiştir[32]. DM'un toplam maliyeti 612 milyar dolardır ve bu dünyadaki toplam sağlık harcamalarının %11'ine karşılık gelmektedir[5].

Türkiye’de DM epidemiyolojisi üzerine iki farklı çalışma gerçekleştirilmiştir. 1997-1998 yıllarında yaklaşık 25000 kişi ile yapılan (Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Projesi)TURDEP-I çalışmasının sonuçlarına göre DM prevalansı %7,2, bozulmuş glukoz toleransı sıklığı ise %6,7 olarak bulunmuştur[33].

2010 yılında yaklaşık 26500 kişi ile yapılan TURDEP-II çalışmasında ise DM prevalansının artış göstererek %13,7 olduğu saptanmıştır. Diyabet prevalansında yaklaşık iki kat artış olduğu saptanmıştır. Türkiye’de diyabeti olan hasta sayısının 6 milyonun üzerinde olduğu ve hastaların %45,5’inin hastalığının farkında olmadığı da bu çalışmada gösterilmiştir[6].

2.1.3. DİYABETES MELLİTUS TANISI

Diyabet ve glukoz metabolizmasının diğer bozukluklarının tanı ve sınıflamasında son 15 yılda değişiklikler yapılmıştır. Önce 1997 yılında, Amerikan Diyabet Birliği (ADA) yeni tanı ve sınıflama kriterlerini yayınlamış ve hemen ardından 1999’da Dünya Sağlık Örgütü (WHO) bu kriterleri küçük revizyonlarla kabul etmiştir[34].

Daha sonra 2003 yılında, bozulmuş açlık glukozu (IFG) tanısı için ADA tarafından küçük bir revizyon yapılmıştır. Buna karşılık WHO ve Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) tarafından 2006 yılında yayınlanan raporda ise 1999 kriterlerinin korunması benimsenmiştir[34].Amerikan Diyabet Birliği’nin son diyabet tanı kriterleri tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Diyabetes Mellitus Tam Kriterleri[35]

Açlık kan glukozu ≥ 126 mg/dl (7,0 mmol/l); (en az 8 saat süre ile gıda almama durumu açlık olarak tanımlanmaktadır)*
veya
OGTT sonrası 2. saat plazma glukozu ≥ 200 mg/dl (11,1 mmol/l); (test Dünya Sağlık Örgütü’nün tanımladığı şekilde suda çözülmüş 75 g anhidroz glukoz eşdeğeri içeren glukoz yüküyle gerçekleştirilmelidir)*
veya
HbA1c $\geq 6,5$; (DCCT ile standardize edilmiş ve NGSP sertifikasyonuna sahip bir laboratuar metodu ile gerçekleştirilmelidir)*
veya

Hipergliseminin klasik semptomları ya da hiperglisemik kriz mevcut olan bir hastada random plazma glukozu ≥ 200 mg/dl (11,1 mmol/l)

*Hipergliseminin kesin olmadığı durumda sonuçlar tekrarlayan testlerle doğrulanmalıdır.

Tablo 2. Diyabetes Mellitus ve glukoz metabolizmasının diğer bozukluklarında tam kriterleri[34]

	Aşikâr DM	İzole IFG**	İzole IGT	IFG+IGT	DM riski yüksek
APG (≥ 8 st açlıkta)	≥ 126 mg/dl	100-125 mg/dl	<100 mg/dl	100-125 mg/dl	-
OGTT 2.stPG (75 g glukoz)	≥ 200 mg/dl	<140 mg/dl	140-199 mg/dl	140-199 mg/dl	-
Rastgele PG	≥ 200 mg/dl + Diyabet Semptomları	-	-	-	-
HbA1c***	$\geq 6,5$ (≥ 48 mmol/mol)	-	-	-	%5,7-6,4 (39-46 mmol/mol)

(*)Glisemi venöz plazmada glukoz oksidaz yöntemi ile 'mg/dl' olarak ölçülür. 'Aşikâr DM' tanısı için dört tam kriterinden herhangi birisi yeterli iken 'İzole IFG', 'İzole IGT' ve 'IFG + IGT' için her iki kriterin bulunması şarttır. (**)2006 yılı WHO/IDF Raporunda normal APG kesim noktasının 110 mg/dl ve IFG 110-125 mg/dl olarak korunması benimsenmiştir. (***)Standardize metotlarla ölçülmelidir. DM: Diyabetes mellitus, APG: Açlık plazma glukoza, 2.st PG: 2. saat plazma glukoza, OGTT: Oral glukoz tolerans testi, A1c: Glikozillenmiş hemoglobin A1c, IFG: Bozulmuş açlık glukoza (impaired fasting glucose), IGT: Bozulmuş glukoz toleransı (impaired glucose tolerance), WHO: Dünya Sağlık Örgütü, IDF: Uluslararası Diyabet Federasyonu.

2.1.4. DİYABETES MELLİTUS SEMPTOMLARI

Klasik semptomlar; poliüri, polidipsi, polifaji veya iştahsızlık, halsizlik, çabuk yorulma, ağız kuruluğu ve noktüridir. Bulanık görme, açıklanamayan kilo kaybı, inatçı infeksiyonlar, tekrarlayan mantar infeksiyonları ve kaşıntı ise daha az görülen semptomlardır[34].

2.1.5. DİYABETES MELLİTUS SINIFLAMASI

Diyabetin etiyojisi ve patogenezinin giderek daha iyi anlaşılması ile hastalığın sınıflaması sürekli yenilenmektedir. DM'un tüm tiplerinde hiperglisemi ortak özellik

olmakla birlikte, hiperglisemiye neden olan fizyopatolojik mekanizma farklıdır. DM’ün bazı formlarında mutlak insülin eksikliği veya bozuk insülin salgılanmasına neden olan genetik bir kusur varken, diğer bazı tiplerinde temel özellik insüline karşı direnç olmasıdır. Son yıllarda DM’u hiperglisemiye neden olan patogeneze göre sınıflama çalışmaları vardır(Tablo 3)[28].

Tablo 3. Etiyolojisine göre Diyabetes Mellitus sınıflaması[36]

I. Tip 1 diyabet (β hücre hasarı olup, genellikle mutlak insülin eksikliği vardır)	
A. İmmün aracılı	
B. İdiyopatik	
II. Tip 2 diyabet (İnsülin direnci ve nispi insülin eksikliği veya insülin salgı defekti ve insülin direnci olabilir)	
III. Gestasyonel diyabet (Gebelik sırasında ortaya çıkan ve genellikle doğumla birlikte düzelen diyabet)	
IV. Diğer spesifik diyabet tipleri	
A. β-hücre fonksiyonlarının genetik defekti (monogenik diyabet formları)	B. İnsülin etkisindeki genetik defektler
1. 12. Kromozom, HNF-1a (MODY3)	1. Tip A insülin direnci
2. 7. Kromozom, Glukokinaz (MODY2)	2. Leprechaunizm
3. 20. Kromozom, HNF-4a (MODY1)	3. Lipoatrofik diyabet
4. 13. Kromozom, IPF-1 (MODY4)	4. Rabson-Mendenhall sendromu
5. 17. Kromozom, HNF-1b (MODY5)	5. Diğerleri
6. 2. Kromozom, NeuroD1 (MODY6)	
7. Mitokondriyal DNA	
8. Diğerleri	
C. Ekzokrin Pankreas hastalıkları	D. Endokrinopatiler
1. Pankreatit	1. Akromegali
2. Travma/pankreatektomi	2. Cushing sendromu
3. Neoplazi	3. Glukagonoma
4. Hemokromatoz	4. Feokromositoma
5. Kistik fibroz	5. Hipertiroidi
6. Fibrokalkülöz pankreatopati	6. Somatostatinoma
7. Diğerleri	7. Aldosteronoma
	8. Diğerleri
E. İlaç veya kimyasal ajanlar	F. Enfeksiyonlar
1. Atipik anti-psikotikler	1. Konjenital rubella
2. Anti-viral ilaçlar	2. Sitomegalovirus
3. β -adrenerjik agonistler	3. Diğerleri
4. Diazoksid	
5. Fenitoin	
6. Glukokortikoidler	
7. α –İnterferon	
8. Nikotik asit	
9. Pentamidin	
10. Proteaz inhibitörleri	
11. Tiyazid grubu diüretikler	
12. Tiroid hormonu	
13. Vacor	
14. Diğerleri (post transplant diyabet)	
H. İmmün aracılıklı nadir diyabet formları	G. Diyabetle ilişkili diğer genetik sendromlar
	1. Alström sendromu
	2. Down sendromu
	3. Friedreich tipi ataksi
	4. Huntington koresi
	5. Klinefelter sendromu
	6. Laurence-Moon-Biedl sendromu
	7. Miyotonik distrofi
	8. Porfiriya
	9. Prader-Willi sendromu
	10. Turner sendromu
	11. Wolfram (DIDMOAD) sendromu

1. Anti--insülin reseptör antikorları 2. “Stiff-man” sendromu 3. Diğerleri	12. Diğerleri
--	---------------

2.1.5.1. Tip 1 Diyabetes Mellitus

Mutlak insülin eksikliği mevcuttur. Hastaların %90’ında otoimmün (Tip 1A), yaklaşık %10’unda nonotoimmün (Tip 1B) β -hücre yıkımı söz konusudur. Tip 1A diyabette, genetik olarak yatkınlığı bulunan kişilerde çevresel tetikleyici faktörlerin de etkisiyle otoimmünite tetiklenir ve ilerleyici β -hücre hasarı başlar. Klinik diyabet semptomları β -hücre rezervinin %80-90 oranında azalma sonrası ortaya çıkmaktadır. Tip 1A diyabetiklerde başlangıçta kanda adacık otoantikorları bulunmakta iken Tip 1B diyabetiklerde bulunmamaktadır.

Tip 1 diyabet genellikle 30 yaşından önce başlar ve okul öncesi, puberte ve geç adolesan dönemde üç pik görülür. Hiperglisemiye ilişkin (ağz kuruluğu, polidipsi, açlık hissi, poliüri, kilo kaybı ve yorgunluk gibi) semptom ve bulgular aniden ortaya çıkar. Hastalar sıklıkla zayıf ya da normal kilodadır. Bununla birlikte, son yıllarda fenotip açısından insülin direnci hakim tip 2 diyabete benzeyen, kilolu kişilerde görülen ve ‘Duble diyabet’, ‘Hibrid diyabet’, ‘Dual diyabet’ veya ‘Tip 3 diyabet’ olarak adlandırılan tip 1 diyabet formu da tanımlanmış bulunmaktadır[34].

2.1.5.2. Tip 2 Diyabetes Mellitus

İnsülin direnci ve insülin sekresyonunda azalma sonucu ortaya çıkmaktadır. Postreseptör düzeyinde defekt nedeni ile organizmanın ürettiği insülin kullanımının bozulması sonucu glukoz hücre içine alınıp enerji olarak kullanılamaz. Yağ ve kas dokusu gibi periferik dokularda insülin etkisi yetersiz kalır. Diğer taraftan kan glukoz düzeyine yanıt olarak pankreas yeterince insülin salgılayamaz. Karaciğerde glukoz yapımı aşırı derecede artmıştır. Bundan insülin sekresyon defekti ve sabaha karşı daha aktif olan kontr-insüliner sistem sorumludur.

İnsülin direnci tip 2 diyabetin genellikle daha öncesinden başlayarak uzun yıllar tabloya hakim olmakta, insülin sekresyonunda ciddi azalma ise diyabetin ileri dönemlerinde veya araya giren hastalıklar sırasında ön plana geçmektedir.

Tip 2 diyabet genellikle 30 yaş sonrasında görülür. Son 10-15 yılda çocukluk veya adolesan çağında ortaya çıkan tip 2 diyabet vakaları obezitenin artması ile birlikte daha sık görülmeye başlamıştır. Ailedeki genetik yoğunluğun artması, sonraki nesillerde

diyabet riskini artırır ve hastalık da daha erken yaşlarda ortaya çıkar[34].Hastalar sıklıkla obez veya kiloludur (Beden kitle indeksi>25 kg/m²)[35].

Hastalık genellikle sinsi başlangıçlıdır. Pek çok hastada başlangıçta hiçbir semptom yoktur. Bazı hastalar ise bulanık görme, el ve ayaklarda uyuşma ve karıncalanma, ayak ağrıları, tekrarlayan mantar infeksiyonları veya yara iyileşmesinde gecikme nedeniyle başvurabilir[34].

2.1.6. DİYABETES MELLİTUS KOMPLİKASYONLARI

Diyabetes Mellitusun akut ve kronik komplikasyonları bulunmaktadır.

2.1.6.1. Diyabetin akut komplikasyonları

Diyabetin önemli iki akut komplikasyonu diyabetik ketoasidoz(DKA) ve hiperozmolar hiperglisemik durumdur(HHD). DKA'da kontrolsüz hiperglisemi, metabolik asidoz ve artmış keton üretimi, HHD'da ise belirgin ketoasidoz yokken şiddetli hiperglisemi, hiperozmolarite ve dehidratasyon vardır. DKA ve HHD arasındaki temel fark HHD'da hastada var olan düşük düzeydeki endojen insülinin keton yapımını ve sonuçta asidoz gelişmesini önleyebilmesidir. Her iki metabolik komplikasyon mutlak veya göreceli insülin eksikliği ve karşıt düzenleyici hormonlardaki(glukagon, katekolaminler, kortizol ve büyüme hormonu) artış sonucu gelişir.

DKA'lu hastaların çoğunluğunda otoimmün tip 1 diyabet vardır. Ancak travma, cerrahi, enfeksiyon gibi akut hastalıklarda oluşan katabolik stres sırasında tip 2 diyabetikler de DKA açısından risk altındadır. Pek çok ülkede DKA, tip 1 diyabetik çocuk ve adolesanda en önemli ölüm nedenini oluşturur(24 yaş altı diyabetiklerde ölümlerin yaklaşık yarısından sorumludur). Erişkin bireylerde DKA'a ikincil mortalite ise gelişmiş ülkelerde %1'in altındadır. Ancak ileri yaşta ve yaşamı tehdit eden ek hastalığı olanlarda mortalite daha yüksektir(>%5). HHD'da mortalite ise DKA'dan daha yüksektir(yaklaşık %5-20).

Her iki metabolik komplikasyonun prognozu çok genç ve çok yaşlı bireylerde ve ilk tanı anında koma, hipotansiyon ve ciddi eşlik eden morbiditeler varlığında belirgin olarak daha olumsuzdur[37].

2.1.6.2. Diyabetin kronik komplikasyonlar

Diyabetes Mellitus'un kronik komplikasyonları vasküler ve vasküler olmayanlar olarak ikiye ayrılabilir. Vasküler komplikasyonlar da ayrıca kendi içerisinde mikrovasküler(nöropati, retinopati, nefropati) ve makrovasküler(koroner arter hastalığı, periferik vasküler hastalık, serebrovasküler hastalık) olarak ayrılabilir. Vasküler olmayan komplikasyonlar; gastroparezi, seksüel disfonksiyon ve deri değişiklikleri gibi problemlerdir. Bu ayrılma çok kesin olmamakla birlikte bütün komplikasyonların gelişiminde çoklu patolojik süreçler söz konusudur[3].

Diyabette görülen kronik komplikasyonlar hipergliseminin süresi ile ilişkili olup, yaşam kalitesinde ve beklenen yaşam süresinde azalmaya ve belirgin morbiditelerin oluşmasına neden olurlar[38].

2.1.6.2.1. Makrovasküler komplikasyonlar

Diyabet hastalarının %60-75'i makrovasküler hastalık başlığı altında yer alan koroner arter hastalığı, inme ve periferik arter hastalıkları nedeni ile kaybedilir[34]. Makrovasküler hastalık prevalansı DM'ta artmıştır ve daha erken yaşlarda görülür[39]. DM'ta koroner, serebrovasküler ve periferik arter hastalığı riski 4 kata kadar artmıştır[40].

Makrovasküler değişikliklerin ilk adımında ateroskleroz bulunmaktadır ve diyabetlilerde hiperglisemi, lipid artışı, insülin direnci, obezite ve hipertansiyona bağlı olarak daha erken ve sık ortaya çıkar ve daha hızlı ilerler[41]. Postprandiyal hipergliseminin ateroskleroz gelişiminde risk faktörü olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir[42].

Diyabetes Mellitus, kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde en önemli risk faktörleri arasındadır[43]. Diyabetik hastalarda oluşan endotel disfonksiyonu ve hızlanmış aterosklerozun kardiyovasküler komplikasyonların oluşumunda önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Diyabetik hastalarda 20 yıllık takip sonrası aterosklerotik kardiyovasküler hastalık gelişme oranının diyabetik olmayanlara göre 2-3 kat arttığı, 1970 yılında yayınlanmış olan Framingham çalışmasında gösterilmiştir[44]. Diyabetli hastalarda zemindeki otonom ve duysal nöropatiler nedeni ile akut koroner sendroma eşlik eden belirti ve bulgular hafif veya atipik olabilir[45].

Büyük damarlardaki aterosklerotik değişiklikler ve trombüs oluşumu okluzyonla birlikte olabilir. Böyle bir durumda alt ekstremitenin büyük bir segmentinin gangreni

ortaya çıkar ve vasküler tıkanmanın derecesine ve seviyesine bağlı olarak gangrenin ilerlemesi ile amputasyon sıklığı artar. Kapiller bazal membran kalınlaşması diyabetik makrovasküler hastalığın en önemli bulgusudur[42].

Diyabet, serebrovasküler hastalıklar için bir risk faktörüdür. Uzun süreli tedavi edilmemiş diyabetik mikroanjiyopati doku hipoksisi ve iskemik lezyonlara yol açarak inme riskini artırır. Diyabetik hastalarda serebrovasküler olayların sıklığı ve morbiditesi diyabetik olmayanlara göre daha yüksektir. Koroner ve serebral vasküler yapılarda ileri ateroskleroz, vazokonstriktörlere artmış ve vazodilatörlere azalmış vasküler yanıt, ayrıca serebral kan akımının otoregülasyonunda bozukluk gözlenir[46].

2.1.6.2.2. Mikrovasküler komplikasyonlar

Diyabetin uzun dönemde küçük damarlar üzerine ortaya çıkan etkileri nedeniyle oluşan mikrovasküler komplikasyonları retinopati, nefropati ve nöropatidir.

2.1.6.2.2.1. DİYABETİK RETİNOPATİ

Diyabetik retinopati dünya genelinde 20-65 yaş arasında körlük nedenlerinin başında gelip DM'un önemli ve sık gözlenen mikrovasküler komplikasyonudur[47]. Retinopati, ilerleyici görme kaybı ve körlüğe yol açarak hastaların yaşam kalitesini düşürür[48].

Tedavi yöntemlerinin gelişmesi ile diyabetik hastaların yaşam süresi uzadıkça diyabetik retinopati görülme sıklığı artmaktadır[47]. Dünya sağlık örgütü tarafından dünyadaki toplam 37 milyon körlük olgusunun %4.8'inden diyabetik retinopatinin sorumlu olduğunu tahmin edilmektedir[49].

Kronik hiperglisemi vasküler endotelial hasara neden olmakta ve böbrek hastalığı, sistemik hipertansiyon ve hiperlipidemi gibi eşlik eden risk faktörleri ile hasar artmaktadır[50]. Tip 1 diyabetli hastaların neredeyse tamamında, tip 2 diyabet hastalarında ise diyabet tanısı aldıktan sonra 20 yıl hayatta kalanların %77'sinde retinopati gelişmektedir[49].

Diyabet hastalarında meydana gelen retinopati erken retinal mikrovasküler disfonksiyon ile karakterizedir[38]. Makula ödemi ve proliferatif retinopatiye bağlı komplikasyonlar görme bozukluğunun en önemli nedenleridir[50].

Erken retinal arter patolojisi bulunan hastalarda hiperglisemi ve majör vasküler risk faktörlerinden bağımsız olarak diyabetik polinöropati gelişim riski daha yüksek bulunmuştur[51].

2.1.6.2.2.2. DİYABETİK NEFROPATİ

Erişkin yaştaki diyabetli hastalarda en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biridir[34]. Gelişmiş ülkelerde renal replasman ünitelerinde tedavi gören son dönem böbrek yetmezliği hastalarının 1/3'ini diyabetik hastalar oluşturur. Diyabetik nefropati Avrupa ve Amerika'da Tip 1 diyabetiklerin %30-50'sinde, Tip 2 diyabetiklerin %5-15'inde gelişir[52]. Diyabetik nefropati; patolojik seviyede üriner albumin ekskresyonu, diyabetik glomerüler lezyonlar ve glomerüler filtrasyon hızında azalma ile karakterize bir durumdur[53]. Diyabetik böbrekte önce diffüz sonra da eksüdatif lezyon gelişir. Arteriollerde hiyalinizasyon olur ve efferent arteriolde oluşan hiyalinizasyon diyabete özgü histopatolojik bir lezyondur. Diyabetik süreçte diffüz ve nodüler interkapiller glomerüloskleroza ek olarak renal papilla nekrozu, kronik piyelonefrit, aterosklerotik renal arter darlığı, toksik nefropati gibi nedenlerle de renal tutulum görülebilir[54].

Diyabetik nefropati gelişim süreci 5 evredir:

Evre 1: Hiperfiltrasyon ve hipertrofi evresi

Evre 2: Sessiz dönem

Evre 3: Mikroalbuminürik evre

Evre 4: Klinik (aşikar) diyabetik nefropati dönemi

Evre 5: Son Dönem Böbrek Yetmezliği

Diğer mikrovasküler komplikasyonlarda olduğu gibi diyabet süresi uzadıkça nefropati riskinde artış gözlenir. Nefropati kardiyovasküler nedenlere bağlı ölüm riskini artırır[55].

2.1.6.2.2.3. DİYABETİK NÖROPATİ

Diyabetik nöropati diyabetin en sık görülen, yaşam kalitesini etkileyen ve aynı zamanda en az tanınan, hem tip 1 hem tip 2 diyabetik hastalarda ortaya çıkan kronik dönem komplikasyonudur[12, 56].

American Diabetes Association ve American Academy of Neurology sponsorluğunda 1988 yılında yapılan San Antonio Konferansı ortak kararına göre, nöropati yapan diğer nedenler dışlandıktan sonra, periferik somatik ve/veya otonom lif etkilenmesi ile ortaya çıkan klinik ve subklinik nöropatlere diyabetik nöropati denir. Periferik sinir sisteminin somatik ve veya otonomik kısımlarına ait bulguları içerir[57].

Ondokuzuncu yüzyıldan itibaren diyabetin sinir sistemi ile olan ilişkisi bilinmektedir. 1864 yılında Marchal De Calvi diyabet sonucu periferik nöropati ortaya çıkabileceğini belirtmiştir. 1866 yılında Ogle diyabetik hastalarda sinir sisteminde bozukluklar olduğunu ve bunun da diyabet sonucu oluştuğunu belirtmiştir[58]. 1884'te Bauchard patellar tendon refleksinin bazı diyabetik hastalarda kaybolduğunu ve bunun muhtemelen nöropatik hasara bağlı geliştiğini bildirmiştir. 1897'de Williamson hastalarının %50'sinde patella refleksinin alınmadığını kaydetmiş ve bunun hastalığın ciddiyetiyle ilgili olduğunu belirtmiş, kısa bir süre sonra bu hastalarda aşil refleksini de alamadığını rapor etmiştir. 1904'te Pawy diyabet ve empotans birlikteliğini bildirmiştir[59]. 1923'te insülinin bulunmasından önce diyabetik nöropatinin birçok klinik belirtisinden bahsedilmiştir. 1945'te Rundles diyabetik otonomik nöropatibulgularını betimlemiştir[59]. Pirart'ın 1947-1973 yılları arasında takip ettiği 4400 hastada diyabet tanısı konulduğunda nöropati prevalansı %7,5, tanı konulduktan 25 sene sonraki prevalansı ise yaklaşık %50 olarak belirtmiştir. Yıllık insidansın diyabetin süresi ile ilgili olduğu ve plato izlenmediği bildirilmiştir. On yıldan daha uzun süre diyabeti olanların en az yarısında nöropati saptanmıştır[60].

2.1.6.2.2.3.1. Diyabetik nöropati epidemiyolojisi

Diyabetik hastalarda DM tanısı aldıkları ilk yılda polinöropati oranı % 7 iken 25 yıllık izleme sonucu polinöropati önlenemez bir şekilde %50'ye çıkmıştır. Bu klinik değerlendirmeye elektromiyografi (EMG) ve diğer yardımcı testlerde eklendiğinde diyabette polinöropati oranı %60'ın üzerine çıkmaktadır. Buna subklinik polinöropatilerde eklendiğinde %90'lara ulaşmaktadır[61].

Diyabetik nöropatinin herhangi bir türü hastaların hemen neredeyse tümünde; polinöropati, tuzak nöropatileri, radikülopati ve otoimmün tutulum gibi farklı şekillerde görülebilir. DSPN diyabetin en sık görülen formudur. Rochester Diyabetik Kohort çalışmasında tip 1 diyabetiklerde %54, tip 2 diyabette %45 oranında diyabetik polinöropati bulunmuştur[1].

Diyabetik polinöropati patogenezi karmaşık ve birden fazla yolla olmasına rağmen, semptomların başlamasından önce erken ve doğru tanı konulması diyabetik polinöropati ilerlemesini tersine çevirmede ya da geciktirmede çok önemlidir. Son çalışmalar göstermiştir ki erken teşhis edilirse nöropati önlenebilir ve tedavi edilebilir bir hastalıktır[62].

TURNEP çalışmasına göre klinik nörolojik muayene ile saptanan klinik diyabetik nöropati prevalansı %40 olarak bulunmuştur. Klinik diyabetik nöropati sinir ileti çalışmaları ile kombine edildiğinde EMG destekli diyabetik polinöropati prevalansı %62,2 olarak saptanmıştır. Bu hastaların da %16,9'u hafif, %46,3'ü orta ve %36,8'i ağır nöropatiye sahiptir. Klinik diyabetik polinöropatili hastaların %86,6'sında EMG destekli diyabetik polinöropati saptanmış olmasına karşın EMG destekli diyabetik polinöropatili tüm hastaların %56,5'inde klinik diyabetik polinöropati saptanmıştır. Klinik olarak diyabetik polinöropatili olmayan hastaların %45,5'inde EMG destekli diyabetik polinöropati saptanmıştır[11].

Bouhassira ve arkadaşları (2007) diyabetik polinöropati prevalansını %43 ve ağrılı diyabetik polinöropati prevalansını ise %14 olarak bildirmişlerdir. Tip 2 diyabetik hasta grubunda prevalanslar diyabetik polinöropati için %51 iken ağrılı diyabetik polinöropati için %18 olarak saptanmıştır[63]. Posta yolu ile yapılan toplum bazlı bir anket çalışmasında ise klinik diyabetik polinöropati prevalansı %26,4 olarak bulunmuştur[64].

TURNEP çalışmasında Türkiye'ye dağılmış 14 merkezde 1113 diyabet hastasında diyabetik nöropatik ağrı %14 oranda bulunmuştur. Toplumda %13,7 sıklıkta bulunan diyabette nöropatik ağrının da bu kadar sık bulunuşu, diyabeti özellikle öne çıkarmaktadır[11].

2.1.6.2.2.3.2. Diyabetik Nöropatik Ağrı

Diyabette periferik nöropatik ağrı, diyabeti olan kişilerde periferik somatosensoryel sistemdeki anormalliklerin direkt bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır[65].

Diyabetik popülasyonda nöropatik ağrı prevalansını tahmin etmek çok zordur. Fakat kabaca hastaların %3 ila %25'inde nöropatik ağrı olduğu tahmin edilmektedir[66].

Uygulamada, ağrılı diyabetik polinöropati tanısı hastanın ağrıyla açıklamasına dayanmaktadır. Semptomlar simetrik, distalde ve genellikle gece alevlenmeleri şeklindedir. Yaygın olarak iğne batması, derin ve keskin, elektrik çarpmasına benzer ağrı ve muayene sonucu saptanan sıklıkla allodini ve hiperaljeziyle olan yanma olarak tanımlanır[66, 67].

Semptomların bulgu yokluğunda ortaya çıkabilmesine ve zaman zaman akut ağrılı diyabetik polinöropati olmasına rağmen semptomlar genellikle, periferik nöropati klinik bulguları ile ilişkilidir. Basit sayısal derecelendirme ölçekleri, ağrılı semptomların sıklığını ve şiddetini değerlendirmek için kullanılabilir ve nöropatik ağrı nedeni olabilecek diğer nedenler ekarte edilmelidir[68].

Nöropatik Ağrı Anket ve Sorgulama Testleri

1. LANSS (Leeds Assessment of Neuropathic Symptoms and Signs)
2. PAIN DETECT
3. VAS (Visual Analogue Scale)
4. ID-Pain
5. SF-36 (Short Form 36)
6. NPQ (Northwick Park Neck Pain Questionnaire)
7. NPS (Neuropathic Pain Scale)
8. DN4 (Douleur Neuropathique 4 questions)
9. Michigan Nöropati Tarama Sorgusu (Michigan Neuropathy Screening Instrument)
10. BPI (Brief Pain Inventory)

Douleur Neuropathique 4 questions (DN4) anketinde 4 soru ve 10 cevap başlığı bulunmaktadır. 7 başlık hastanın semptomları ile ilgili ve 3 başlık nörolojik muayene ile ilgilidir. 10 toplam puandan 4 ve üzerinde alınması nöropatik ağrı varlığını gösterir. %83 duyarlılık ve %90 özgüllüğe sahiptir[69].

2.1.6.2.2.3.3. Diyabetik Nöropatinin Sınıflaması

Diyabetik nöropati, tek bir nörolojik klinik tabloya değil, çeşitli dağılımda periferik sinir tutulumlarına neden olabilmektedir. Diyabetik nöropati için çok çeşitli sınıflamalar yapılmıştır.

Simetrik Jeneralize Polinöropati

a. Kronik Polinöropati

- Distal Simetrik Sensorimotor Polinöropati
- Otonomik Polinöropati
- Konik İnflamatuar Demiyelizan Polinöropati ile Kombinasyon

b. Akut Polinöropati

- Akut Ağrılı Duysal Polinöropati
- Hiperglisemik Polinöropati
- Kaşektik Polinöropati
- Hiperinsülin Polinöropati

Asimetrik Multifokal Polinöropati

- #### a. Proksimal Diyabetik Polinöropati (Diyabetik Amiyotrofi-Lumbosakral Radikülopleksusnöropati)
- #### b. Trunkal Polinöropati (Torakolomber Radikülopati)

Diyabetik mononöropatiler

- #### a. Kranial Nöropatiler
- #### b. Ekstremitte Nöropatileri
- #### c. Mononöropati Multipleks[70].

Diyabetin seyri sırasında ortaya çıkan nöropati tablolarını ayırt etmek, bu nöropatilerin tedavisi açısından önem arz etmektedir. Diyabet komplikasyonu olarak gelişen nöropatilerde direkt hiperglisemi kontrolü önemliyken, demiyelinizan polinöropatiler veya proksimal nöropatilerde immün ve vaskülitik mekanizmaların rol oynadığı ve bu yüzden immünsüpressan ve immünmodülatuar tedavi verilmesi gerektiği bildirilmiştir[71, 72].

Distal simetrik sensorimotor polinöropati: En yaygın görülen diyabetik nöropati formu DSPN'dir. DSPN'nin yıllık insidansının United Kingdom Prospective

Diabetes Study ve Diabetes Control and Complications Trial sonuçlarına göre%2 civarında olduğu bildirilmiştir[73].

Avrupa'da yapılan klinik çalışmalarda DSPN prevalansı %22,7-28,5 iken toplum çalışmalarında ise %41,6-47,6 arasında saptanmıştır[73, 74]. Yavaş ve sinsi ilerleyen bir nöropati tipidir. DSPN, tip 2 diyabetik hastalarda ilk klinik bulgu olarak karşımıza çıkabilir. Klinik olarak en sık el ve ayaklarda eldiven/çorap tarzı duyum azlığı görülür. Önce miyelinsiz ve ince miyelinli sinir lifleri etkilenir ve genellikle düzelmemesine karşılık sıkı glisemik kontrol ile 5 yıllık süreçte DSPN'nin azaldığı gösterilmiştir[13]. Duysal lifler, motor lifler veya her ikisinde de tutulum olabilir. Genellikle ilk tutulum en distaldeki duysal liflerde olur. Bu yüzden de hastalar ekstremitelerde distallerinde karıncalanma, uyuşma, yanma, elektrik çarpması, zonklama şeklinde pozitif semptomlar ve ağrı, parestezi, hipoestezi den oluşan negatif semptomlara sahiptirler. Uzun aksonlar nöropatik hasara daha duyarlı olduğu için tutulum genelde alt ekstremiteden başlamaktadır. Semptomlar ayaklardan başlayarak sinsi şekilde proksimale doğru ilerler ve genelde uyuşukluk dizlere ilerledikten sonra el ve ayaklarda defisit başlar. En sık ve en erken kaybolan refleks ise aşil refleksidir. Progresif sinir kaybı yalnızca somatik değil otonom sinir liflerini de etkileyebilir[12, 70].

DSPN olgularının yaklaşık %50'si asemptomatiktir ve bu gruptaki hastalar ciddi komplikasyon riskiyle karşı karşıyadır. DSPN olgularının erken evrede yapılan deri biyopsilerinde intraepidermal sinir yoğunluğunun azalması yanında ince lif hasarı bulguları bulunmaktadır. Bozulmuş glikoz toleransı ve bozulmuş açlık glikozu da ince lif nöropatisinin sık bir nedenidir[75].

Otonom nöropati: Sıklıkla DSPN'ye eşlik eder. Küçük miyelinli ve miyelinsiz sinir liflerinin diyabette tutulması ile birlikte gider. Diyabetin ilk 10 yılı içinde anlamlı olarak görülmemektedir. Otonomik belirtilerin çoğu subklinik olsa bile diyabetin gidişatını olumsuz yönde etkiler. Tüm diyabetik hastaların yaklaşık %5'inde bulunur[61].En sık görülenler empotans, ortostatik hipotansiyon ve visseral otonomik nöropati iken nöropatik ödem, kardiyak ritim bozukluğu, anhidroz-kuru ayak, nokturnal terleme ve nörojenik mesane şeklinde de karşımıza çıkar[71, 76].

Akut ağrılı diyabetik polinöropati: Nadir görülen bir polinöropati formudur. Başlangıçta ayaklarda daha belirgin el ve ayaklarda çok şiddetli yanıcı-yakıcı ağrılar

olmaktadır. Dokunmak dahi ağrı ve yanma oluşturabilmektedir. Bu tablo daha çok DSPN tablosu üzerine distal ağrılı polinöropatinin eklenmesinden kaynaklanabilir[70].

Kaşıktik polinöropati: Akut ağrılı diyabetik polinöropatinin bir formudur. Diyabet kontrolünün zor olduğu kadın hastalarda ortaya çıkar ve bu hastalar istem dışı bir şekilde hızla kilo kaybederler. Bu sırada ağrılı polinöropati görülür ve insülin tedavisine belirgin bir şekilde cevap verir[61].

Hiperinsülin nöropatisi: İlk kez insülin kullanacak hastalarda ortaya çıkar. İnsülin tedavisine geçildikten sonra insülinin periferik sinirlerde hipoksiye neden olarak aksonal dejenerasyona yol açması ile ortaya çıkar. Haftalar ve aylar içinde kaybolan bir polinöropatidir. Daha düşük doz insülin ile glisemi kontrolünün yavaş yavaş yapılması önerilmektedir[70, 71].

Proksimal diyabetik polinöropati(Diyabetik Amiyotrofi, Lomber Radikülopleksusnöropati): DSPN'den sonra en sık görülen diyabetik polinöropati formu olduğu kabul edilir. Bu form akut veya subakut başlangıçlıdır ve başlangıçta kilo kaybı görülebilir. Bir süre sonra pelvifemoral kaslarda güçsüzlük ve atrofi görülür. Patellar refleks genellikle kaybolur. Birçok olgu 8-12 ay içinde spontan kısmi veya tam düzelme gösterir[70].

Trunkal radikülopati: Genellikle orta veya alt torakal kök tutulumu ile uyumlu bulgular saptanır, lomber köklere de yayılım olabilir. En belirgin semptom ağrıdır ve ilgili sinir köklerinin dermatom alanlarında gözlenir. Zona ya da miyokard infarktusu ile karıştırılabilir. Ağrı ile birlikte kilo kaybı da görülebileceği için maligniteyi düşündürülebilir. Akut veya yavaş ilerleyici olabilen bir tablodur. Patogenezi belirsizdir[61, 70].

Kraniyal nöropatiler: Diyabet seyrinde üçüncü kraniyal sinir felçleri sık gözlenir. Pupilmotor liflerin normal kalması, serebral anevrizma ve kitlelerden ayırt ettiricidir. Pupilmotor lifler yüzeysel seyretmesi ve iskemik bir tutulumda normal kalması, daha çok ileri yaşta ortaya çıkması, akut başlayıp birkaç ay içinde spontan düzelmesi iskemi patogenezi desteklemektedir. Olguların yarısında aynı göz çevresinde ağrı mevcuttur. Dördüncü ve altıncı kraniyal sinir tutulumu görülebilir[70].

2.1.6.2.2.3.4. Diyabetik Nöropatinin Etiyopatogenezi

Patogenezi tam olarak bilinmemekte ve tartışmalıdır. Metabolik, vasküler, genetik ve immün mekanizmalar üzerinde durulmaktadır[70]. Diyabetik nöropati gelişiminde her bir mekanizmanın ayrı ayrı ele alınması vasküler, metabolik ve immün mekanizmaların bir bütün olarak çalışması nedeni ile mümkün olmamaktadır.

Özellikle DSPN'nin patogenezi karmaşık ve çok faktörlüdür. Nöropati gelişimindeki risk faktörleri hiperglisemi, diyabetin süresi, ileri yaş, hipertansiyon, hipoinsülinemi, hiperinsülinemidir. Bunlara ek olarak sigara ve alkol kullanımı, uzun boylu olmak, albüminüri, vücut kitle indeksi, trigliserid ve kolesterol düzeyleri ve genetik faktörlerden söz edilir[61].

Diyabetik polinöropatilerin tümü ele alındığında beş önemli patogenezi üzerinde durulmaktadır;

- Sinir liflerinin vasküler yetmezliği veya sinir kan akımında azalma(vasküler)
- Sinir lifleri üzerinde direkt metabolik bozulmanın ortaya çıkması (metabolik)
- Birincil duysal nöron perikaryonunun hedef organ olması ve nörotropik maddelerle olan retrograd desteğin bozulması (nörotropizm)
- Genetik mekanizmalar
- İmmün mekanizmalar

Deneysel ve insan diyabetik polinöropati verilerine dayanılarak DSPN'lerde vasküler ve metabolik mekanizmaları birlikte ele alan bir patogenezi ortaya atılmıştır. Bu patogenezin en temelinde kronik hiperglisemi bulunmaktadır[70].Glukozun olumsuz etkileri klinik diyabet tanısı için gerekli sınırın altındayken başlamaktadır[77].

Polyol yolu, ileri glikasyon son ürünleri (AGE), heksozamin akışı, mitojen-aktif protein kinazlar, Na⁺/K⁺-ATPaz değiştirilmiş aktivitesi, poli-ADP riboz polimeraz (PARP) aşırı aktivasyonu ve siklooksijenaz-2 (COX-2) aktivasyonu gibi büyük yolların bazıları diyabetik nöropati gelişimi ve ilerlemesinde önemli bir rol oynadığı rapor edilmiştir[78-84].

2.1.6.2.2.3.4.1. Diyabetik Nöropatinin Etiyopatogenezindeki Vasküler Mekanizmalar

Diyabetik hastalarda kronikhiperglisemi nedeniyle sinir mikroçevresinde belirgin bozukluklar ortaya çıkmaktadır. Meydana gelen bazı metabolik değişikliklerin sonucu olarak, özellikle vazo nervorumların etkilendiği vasküler anormallikler görülmektedir[72, 85].

Sinir biyopsilerinde aksonal dejenerasyon ve segmental demiyelinizasyon gösterilmiştir. Sinir biyopsilerindeki histopatolojik bulgular olan mikroanjiopatik anormallikler ve asimetrik aksonal dejenerasyon DSPN oluşumundaki vasküler teoriyi desteklemektedir[86, 87]. Buna ek olarak diyabetik nöropati hayvan modellerinde sinir kan akımında azalma olduğu bazı araştırmacılar tarafından gösterilmiştir[88].Endonöral ve epinöral arteriollerin endotelial hiperplazisi mikroanjiopatiyi, bu da iskemik mekanizmaların patogenezde rolü olduğunu düşündürmüştür[89].

Yüksek glukoz konsantrasyonlarının nitrik oksit (NO) ile serbest oksijen radikalleri (ROS) arasındaki dengeyi bozması ve sonuç olarak endotel disfonksiyonu ortaya çıkarması vasküler patolojiyi başlatmaktadır. Hiperglisemi süperoksit anyonu üretimini uyarmakta ve bu da nitrik oksidi güçlü bir oksidan madde olan ve fosfolipid membranlardan kolayca geçebilen peroksinitrite dönüştürmektedir[77].Ayrıca sürekli oksidatif stres varlığının endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) enziminin etkisini azalttığını ve NO üretimini engellediğini gösteren kanıtlar da bulunmaktadır[90].

Serbest oksijen radikallerinin aşırı üretimi ile yüksek glukoz düzeyleri ve diyabetin vasküler komplikasyonlarının ortaya çıkmasında önemli rol oynayan biyokimyasal yollar arasında nedensel bir ilişki bulunduğu kabul edilmektedir. Hiperglisemi tarafından tetiklenen ROS üretimi ile polyol ve heksozamin akışı, ileri glikolizasyon son ürünlerinin üretimi, protein kinaz C aktivasyonu ve NF-kB-aracılı vasküler inflamasyon uyarılır. TNF- α , IL-6 gibi sitokinler uyarılır[77, 91].

Serbest oksijen radikallerine ek olarak diyabetik hastalarda vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM)-1 ve von Willebrand faktör (vWF) gibi endotel fonksiyonu ile ilgili çeşitli biyomarkerlar ile C-reaktif protein (CRP) ve tümör nekroz faktör (TNF- α) gibi sistemik inflamasyon belirteçlerinin patolojik düzeyde arttığı gösterilmiştir. Bunlara ek olarak hasarlanmış endotel; vazokonstriksiyon, düz kas hücre

proliferasyonu, koagülasyon bozuklukları, lökosit agregasyonu, tromboz ve vasküler inflamasyon ortaya çıkmasına neden olur[90, 92].

2.1.6.2.2.3.4.2. Diyabetik Nöropatinin Etiyopatogenezindeki Metabolik Mekanizmalar

Polyol yolu: Hiperglisemi sinir lifi ve çevresinde polyol yolu aktivasyonunda artışa neden olmaktadır. Aldoz Redüktaz enzimi ile sorbitol artışı, sonrasında da Sorbitol Dehidrogenaz enzimi ile fruktoz artışı ortaya çıkmaktadır. Sorbitol ve fruktozun sinir dokusunda birikimi ise dokuda harabiyete yol açmaktadır. Bu aktivite artışı ve sorbitol birikiminin sinir hasarına farklı yollarla katkıda bulunduğu düşünülmektedir[70, 78].

Polyol yolunun aktivitesinin artması Na-K-ATPaz aktivitesinin azalmasına neden olur. Na-K-ATPaz aktivitesindeki azalmanın protein kinaz C yolunu aktive ettiğini gösteren yayınlar mevcuttur[93]. Protein kinaz C aktivasyonu ile sitozolik fosfolipaz A2 aktivitesi ve arasıdonat ve prostoglandin E2 üretimi artar[94].

Polyol yolunun aktivasyonu ile sinir dokusu ve mikro çevresinde NO azalmasına neden olarak sinir lifi kan akımının azalmasına yol açtığı ve sinir lifinin iskemi altında kalmaktadır[95, 96].

Polyol yolundaki aktivite artışının diğer bir etkisi DM'ta görülen sinir miyoinositol azalması ile ilişkilidir. Miyoinositol azalması periferik sinir membranında önemli rol oynayan Na-K-ATPaz enziminde azalmaya sebep olur. Bu enzim sinir iletimi ile yakından ilişkili olup böylece sinir iletim hızında azalma ortaya çıkar. Tip I diyabetteki insülin eksikliği ve Tip II diyabetteki insüline direnç nedeni ile periferik glukoz alımı azalır. Glukoz enerji kaynağı olarak yeterince olmadığı için de aerobik glikoliz azalır ve bu da ATP azalmasına yol açar[93].

Ayrıca polyol yolu aktivasyonu direkt veya dolaylı olarak protein glikolizasyonuna katkıda bulunmaktadır. Sinir liflerinde biriken fruktoz, glikozilasyonu çok daha aktif hale getirir. Bu olayda sinir proteinlerinde bir bozulma ile oluşan, AGE olarak adlandırılan metabolik ara ürünler ortaya çıkar. AGE'ler kan akımını azaltır ve uzun dönemde vasa nervorumda ve sinir lifinde yapısal bozukluklara sebep olur[91, 97].

Miyoinozitol azalması: Hiperglisemi sinir miyoinozitolünde azalmaya yol açar. Miyoinozitol normalde ikincil araçlar yoluyla Na-K-ATP az enzimine ve sinir

iletiminde etkilidir. Polyol yolu artması sonucu miyoinozitol azalır ve böylece sinir lifinde iletim azalır[70].

Protein glikozilasyonu: Kronik hiperglisemi AGE oluşumuna sebep olmaktadır. Yapısal proteinlerin kimyasal değişimi sonucu ortaya çıkan bu son ürünler NO azalmasına yol açar; ayrıca aterogenetik rolü vardır ve kapillerin patolojik olarak değişmesine yol açarlar. AGE'ler serbest radikal oluşumunu tetikler ve ayrıca aksonal transportun azalmasına neden olarak da sinir işlevini bozar. AGE oluşumunu engelleyen Aminoguanidine ise deneysel olarak sinir kan akımını ve sinir iletim hızını düzene sokmaktadır[98].

Esansiyel yağ asidi metabolizması bozukluğu ve oksidatif stres: Hiperglisemi ile sinir kan akımı azalıp endonöral hipoksi oluşurken; bir yandan da oksidatif stres ile sinir hücre ve membranlarında yıkım meydana gelmektedir. Periferik sinirlerde sitozolik ve lipofilik antioksidan maddeler doğal olarak bulunurlar, serbest radikallerin oluşmasına ve zincirleme reaksiyonun başlamasına karşı koruyuculardır. En önemlileri süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktazdır. Diyabette SOD ve glutatyon peroksidaz enzimlerinde azalma saptanmıştır[99].

Diyabette serbest radikallerin oluşmasında iskemi, hiperglisemi, mitokondriyal akışta artma, katekolamin oksidasyonu ve immunité en önemli nedenlerdir.

Hiperglisemi ile AGE oluşumu NO azalmasına, bu da endovasküler direncin artırarak kan akımının azalmasına ve endonöral hipoksiye yol açar. NO azalmasına ek olarak belirli eikosanoidler ve lökotrienlerin azalması da serbest oksijen radikallerinin oluşmasına neden olur. Bunun sonucu olarak sinir liflerinde ilerleyici mikro ve makrovasküler patoloji ile sinir lifi dejenerasyonu ortaya çıkar[14].

Memelilerin periferik sinir lifleri yüksek miktarda fosfolipid yüklü oldukları için oksidatif strese karşı duyarlıdır. Serbest radikal ile mücadele halinde fosfolipid miktarı azalır. Diyabette antioksidasyon-glikasyon ve endonöral hipoksi ile lipid peroksidasyon ortaya çıkar.

Deneysel diyabette Linoleik asitin gama linoleik asite (GLA) dönüşümünde bozukluk olduğu saptanmıştır. İnsanda da buna benzer bir şekilde esansiyel yağ asitlerinin dönüşümünde bozukluk olduğu bulunmuştur. Besinlerle alınan linoleik asitin karaciğerde GLA'ya dönüşümünde Tip 1 DM'de daha fazla olmak üzere blok olduğu

düşünülmektedir. Di-homo-GLA ve araşidonik asit karaciğerde GLA'dan üretilen iki maddedir. Her iki madde plazma yolu ile sinir hücresi membranı da dahil olmak üzere hücre membranlarına yerleşir. Tip 1 ve Tip 2 diyabette her iki maddenin plazmadan hücre membranına geçişinde blok saptanmıştır. GLA ve metabolitleri sinir kan akımı ve sinir iletiminde önemli role sahiptir. Deneysel diyabette GLA verilerek bozulmuş olan sinir işlevi düzeltilebilmiştir. İnsan diyabetik polinöropatisinde de plaseboya göre anlamlı klinik ve elektrofizyolojik değişiklikler saptanmıştır[70].

Sinir büyüme faktörleri: Proteinlerin sentezinin düzenlenmesi sinir içinde oluşan nörotrofik faktörlerle sağlanır ve bu maddeler retrograd aksonal akış ile hücre içine yol alır. Böylece hedef hücrenin doğası ve aktivitesi devam ettirilmiş olur. Nörotrofik faktörlerden en çok bilineni sinir büyüme faktörü(NGF)'dür. Beyin-derive nörotrofik faktör(BDNF), Nörotrofin-3, Nörotrofin-4, Nörotrofin-5, Siliar-Nörotrofik faktör, insülin benzeri büyüme faktörü de sinir gelişiminde rol oynar. Aksotomide trofik ajan desteği kesilir ve sinir lifinde somatofugal atrofi ortaya çıkar. Deneysel olarak NGF verilmesi ile duysal nöronlarda substance-P, taşikininler, kalsitonin-gen-ilişkili peptid(CGRP) artışı saptanmış olup aksotomiye uğramış nöronlarda duysal gangliyon hücresinde düzelme olduğu gözlenmiştir[100].

Mitokondriyal işlev bozukluğu: Mitokondri solunum ve serbest yağ asiti metabolizmasında önemli role sahip olmasının yanında DNA replikasyonu, transkripsiyonu ve translasyonunu sağlar. Bir diğer teori oksidatif stres ilişkili mitokondriyal anomalilerin diyabetik nöropati patogenezinde merkezi bir konumda olduğudur[101]. Oksidatif stres ve diyabetteki büyüme hormonu eksikliğinin ana hedefinin mitokondri olduğu düşünülmektedir. Duyusal nöronlardaki insülin reseptörleri de mitokondride lokalizedir[76, 102]. Bu Elektron transport zinciri(ETC) bileşenlerinin işleyişindeki defektlerin ATP üretimini azalttığı ve serbest radikallerin üretimini artırdığı fark edilmiştir. Serbest radikallerin mitokondriyal DNA ve nükleer DNA hasarına neden olduğu saptanmıştır[103].

2.1.6.2.2.3.4.3. Diyabetik Nöropatinin Etiyopatogenezindeki Diğer Mekanizmalar

Diyabetiklerde total kolesterolce LDL düzeylerinde bir farklılık saptanmamış olsa da, yüksek LDL ve düşük HDL komplikasyonların gelişimi için önemli risk faktörleridir. Tip II diyabette dislipidemi Tip 1'dekinden daha fazladır. Tip 2 diyabetin lipid ve lipoprotein metabolizması üzerine olan etkisi karmaşıktır ve insülin direnci,

obezite, tedavi şekli, glisemik kontrol, diyabet ile ilişkili hastalıklar için kullanılan ilaçlar ve diyabet komplikasyonlarından etkilenmektedir[104].Son dönemde yapılan çalışmalarla dislipideminin diyabetik nöropatinin gelişmesine önemli bir katkısının olduğu belirtilmektedir[105].

Distal simetrik nöropatili hastaların sinir biyopsilerinde inflamatuvar hücelere rastlanılmış olması immün mekanizmaların da patogeneizde rolü olduğunu göstermektedir[89].AGE üretiminin artması, polyol yolu, protein kinaz C yolu, MAPK yolağı gibi tüm karakteristik klasik yollar doğrudan ya da dolaylı olarak inflamatuvar mediyatörlerin salınımının başlamasına ya da artmasına neden olabilir[23].Özellikle proteinlerin ve lipid AGE ürünlerinin birikimi inflamatuvar araçların üretimini stimüle etmektedir ve transkripsiyon faktörü NF-KB aktivasyonu, inflamatuvar süreçlerin güçlü bir indükleyicisidir[106].

AGE mikroglia üzerinde bulunan çeşitli reseptörler üzerine etki eder ve IL-1, IL-6, IL-17, TNF-a, kemoatraktan protein-1, C-reaktif protein gibi sitokinlerin ve CCL-2, CXC gibi kemokinler ve benzerlerinin üretimini uyarır[107, 108]. IL-1, IL-6 ve IL-17 gibi sitokinler, nöropatik ağrıya neden olan periferel reseptörlere duyarlı olabilir[109].TNF- α , kan perfüzyonunu azaltabilen hücre adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırır ve böylece nörotrofik destek azalır[110].

Hipergliseminin metabolik akışı arttırdığı ve süperoksit anyonunun oluşumuna neden olduğu bilinmektedir[14]. Aşırı süperoksit üretimi diğer serbest oksijen radikallerinin oluşumunu tetikler. Süperoksit, nitrik oksit ile birleşerek birçok önemli proteinlerin nitrasyona neden güçlü bir reaktan olan peroksinitrit oluşumuna neden olur ve bu yapısal ve fonksiyonel hasara yol açmaktadır[111]. Peroksinitrit aracılı DNA hasarı, NADH enerji havuzu kullanarak DNA'ya poli-ADP-riboz ünitelerinin transferine yol açan bir nükleer enzim olan PARP aktivasyonuna yol açar. NADH tükenmesi biyoenerjetik krize sebep olur ve böylece nekroza doğru hücreyi götürür[112].Nekrotik hücre ölümü, selüler artığın bırakılması olarak bilinir, böylece hasarlı noktaya daha fazla inflamatuvar hücre gelir ve lokal inflamatuvar atak ortaya çıkar.

Proinflamatuvar mediyatörlere çok sayıda kemokinin yanı sıra TNF- α , IL-6, IL-1 β , COX-2 ve iNOS da dahildir[113].Bu sitokinler ve kemokinlere karşı antikorlar ya da kimyasal maddeler diyabetik nöropati ile ilişkili proinflamatuvar atak hafifletebilir[110, 114].

Son dönemde yapılan çalışmalarda hiperglisemiye bağlı artan oksidatif stres, sitokinlerin uyarımı, MMP'ların aktivasyonu, DNA hasarına bağlı değişmiş gen ekspresyonları ve bunların birbirleri ile ayrı ayrı ilişkileri sonucu ortaya çıkan nöronal hücre ölümüne bağlı olarak diyabetik nöropatinin ortaya çıktığı düşünülmektedir[17].

MMP'lar; ekstrasellüler matriks ile bazal membran komponentlerini parçalama yeteneğine sahip olan ve aktif bölgesinde çinko içeren, kalsiyum bağımlı homolog bir enzim ailesidir[18]. MMP enzim ailesi, kollojenazlar (MMP-1, -8, -13, -18), stromelizinler (MMP-3, -7, -10, -11, -12), jelatinazlar (MMP-2, -9) ve membran tip MMP'lar (MT-MMP-14, -15, -16, -17) olmak üzere dört farklı gruptan oluşmaktadır. Ayrıca yeni tanımlanan MMP-4, -5, -6, -19 ve -20 bu grupların içerisinde değerlendirilememektedir. Jelatinazlar(MMP-2, 9), denatüre kollojenin ve bazal membranın yıkımından sorumludurlar. Endotelial, epitelial, yağ, kas, periferik sinir hücrelerinin ekstrasellüler matriksinin yıkımından sorumludur. Stromelizinler, kartilaj proteoglikanları dahil bütün ekstrasellüler matriks komponentlerini yıkıma uğratabilmektedirler[19].

Transkripsiyonal düzeyde, IL-1 β , IL-6, platelet-derive büyüme faktörü, EGF, TNF- α ve makrofaj koloni stimüle edici faktör gibi inflamatuvar sitokinlerin büyük bir bölümü, büyüme faktörleri ve tümör promotörleri, MMP transkripsiyonel aktivasyonunu indükler[20]. Oksidatif stres mitokondriyal MMP'ların major aktivatörlerinden biridir[21]. Deneysel çalışmalar, MMP düzenlenmesinde proinflamatuvar sitokinlerin rol oynadığını düşündürmektedir. IL-1 β ve TNF- α gibi sitokinler MMP üretimini uyarırken, TGF- β , IL-4, kortikoid hormonlar ve insülin benzeri büyüme faktörü MMP sentezini inhibe eder[22]. Endotel hücrelerinin hiperglisemik kültürleri, MMP-1, MMP-2 ve makrofaj derive MMP-9'un ekspresyonunu ve aynı anda aktivitesini artırmıştır[20].

Hipoksi ve iskeminin artırdığı sitokinlerden TNF- α ve IL-6 da diyabetik periferik nöropati etiolojisinde rol aldığı düşünülmektedir[23].

Yapılan deneysel çalışmalar vitamin D eksikliğinin MMP'ları aktive ederek diyabetik nöropati etiolojisinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir[24].

Diyabetik hastalarda oksidatif strese bağlı DNA hasarı ortaya çıkmakta ve inflamasyon belirteçleri ile olan ilişki net olarak bilinmemektedir. DNA'daki hasarın düzeyinin ölçülmesinde kullanılan en yaygın ölçme yöntemlerinden birisi olan tek hücre

jel elektroforez yöntemi ya da kısa adıyla Comettir. “Comet Analiz” canlı populasyonlarında, hücre düzeyinde DNA hasar tespitinde kullanılan, hızlı, basit ve çok hassas flouresan mikroskopik yöntemdir[25]. Comet yöntemi, alkali pH da farklı molekül ağırlıklarına ve farklı elektrik yüke sahip DNA moleküllerinin elektriksel alanda farklı şekilde göç etmeleri esasına dayanır[26].

Diyabetik hastalarda inflamasyon ve oksidatif strese neden olan çok sayıda risk faktörünün bulunmasından dolayı tek bir mekanizma üzerinden etki gösteren terapötik yaklaşımlar komplikasyonları önlemekte yeterli olmamaktadır. Risk faktörleri bulunan diyabetik hastalarda hiperglisemi, oksidatif stres, inflamasyon ve insülin direncini birlikte hedef alan yaklaşımlar diyabetik vaskülopatiyi engellemek için gereklidir[115].



3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Nisan 2015-Ocak 2016 tarihleri arasında Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hastanesi'ne başvuran, Tip 2 DM tanısı bulunan 108 hasta ve sistemik hastalığı olmayan 42 sağlıklı gönüllü (kontrol grubu) çalışmaya dahil edildi. Tüm gönüllülere nöropati açısından değerlendirmek amacı ile elektrofizyolojik inceleme yapıldı. Tip 2 diyabetik 108 hastanın EMG incelemesi sonucuna göre 52 hasta diyabetik nöropatisi olan gruba (DPNP (+) grup) ve 56 hasta ise diyabetik nöropatisi olmayan gruba (DPNP(-) grup) dahil edildi.

Gönüllülerin araştırmaya dâhil edilme kriterleri

- 18-80 yaş arası hastalar,
- American Diabetes Association kriterlerine göre Tip 2 diyabet tanısı alan hastalar,
- Uygun oral antidiyabetik veya insülin tedavisi altındaki hastalar.

Gönüllülerin araştırmaya dâhil edilmeme kriterleri

- Diyabet dışında başka bir nedenle ilişkili (herediter, toksik, inflamatuvar) nöropati varlığı,
- Multiple Skleroz, Parkinson Hastalığı, Demans gibi nörodejeneratif hastalık varlığı,
- Vitamin D ve kalsiyum replasman tedavisi alan hastalar,
- Genetik, otoimmün veya inflamatuvar hastalık varlığı,
- Spondiloartropati öyküsü olan hastalar,
- Karaciğer hastalığı olan hastalar,
- Nöromuskuler hastalık tanısı olan hastalar,
- Malignitesi olan hastalar,
- İmmüsupresan, steroid veya hormonoterapi alanlar,
- Gebe ve emziren kadınlar,
- Son 1 ay içinde enfeksiyöz hastalık öyküsü olanlar,
- Sigara ve alkol kullanımı olanlar.

Çalışma öncesi yapılacak olan işlemler anlatılarak gönüllülerden onam alındı. Gönüllülerin anamnezleri alınarak fizik muayeneleri yapıldı. Gönüllülerin yaş, cinsiyet, DM süresi, bilinen hastalıkları, kullanmakta oldukları ilaçlar, premorbid durumları, aile

öyküsü ve alışkanlıkları sorgulandı. Tüm katılımcıların HbA1c, düşük dansiteli lipoprotein (LDL),yüksek dansiteli lipoprotein (HDL), trigliserid(TG), total kolesterol düzeyleri kaydedildi. Nöropatik ağrı değerlendirilmesi için DN4 anketi yapıldı.

Elektrofizyolojik incelemeler

Elektrofizyolojik incelemelerin tümü Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroloji Kliniği Nörofizyoloji Laboratuvarında gerçekleştirildi. Tüm çalışmalar Keypoint Elektromiyografi cihazı (Medtronic, Skovlunde, Danimarka)ile yapılmıştır. Deneklerin sinir iletimleri deri sıcaklığı 31-33 derece aralığında çalışıldı. Motor sinir incelemelerinde 10Hz-5kHz filtreleme ve 5 ms/div süpürme zamanı, uyarı zamanı 0,2 ms ve uyarı frekansı 1/s idi. Duyu sinir ileti incelemelerinde, filtre aralığı 20Hz-2kHz, süpürme zamanı 1 ms/div, uyarı zamanı 0,2 ms idi.

Üst ekstremité duyu çalışması sırasıyla median ve ulnar sinir için ortodromik teknikle 2. ve 5. parmaktan yüzük elektrodlarla uyarılarak ve 12 cm proksimalinden bilek seviyesinde sinir trasesi üzerinden yüzeysel elektrod ile kaydedilerek yapılmıştır. Motor sinir ileti çalışmasında; median sinir için kayıt elektrodunun 6cm proksimalinden bilek düzeyinden ve antekubital bölgeden uyarılarak Abduktor polllis brevis kasından, ulnar sinir için motor sinir kayıt elektrotundan 6 cm proksimalinden bilek düzeyinden, dirsek altı ve üstü bölgeden uyarılarak Abduktor digiti minimi kasından kayıt yapılmıştır.

Alt ekstremité duyu ileti çalışmaları; sural sinir duyusal iletisi, dış malleol 14 cm proksimalinden baldır posterolateralinden uyarılarak, dış malleol posteriordan kayıtlanmıştır. Superfisiyal peroneal duyusal iletisi; tibialis anterior kası tendonu ve lateral malleol arasından kayıtlanarak, kayıt elektrotunun 12 cm proksimalinden lateral baldırdan, peroneus longus kasının tendonu anteriorundan uyarılmıştır.

Alt ekstremité motor ileti çalışmasında; peroneal motor sinir Ekstansor Digitorum Brevis kası üzerindeki kayıt elektrotundan 8 cm proksimal ve fibula başı altından uyarılarak, posterior tibial sinir iletisi Abduktor Hallusis kası üzerindeki kayıt elektrotundan 8-10 cm proksimalinde iç malleol arkasından ve medial popliteal fossadan uyarılarak gerçekleştirilmiştir.

Motor sinir ileti incelemeleri supramaksimal uyarım şiddetinde yapılmış, birleşik kas aksiyon potansiyeli amplitüdü izolektrik hatla negatif pik arasındaki genlik farkı olarak hesaplanmıştır.

Sinir ileti incelemeleri laboratuar değerlerimize göre median sinir duysal ileti incelemeleri için duysal sinir aksiyon potansiyeli amplitüdü 12 mikrovolt üzeri ve sinir ileti hızı 45 metre/saniyenin üzeri, ulnar sinir duysal ileti incelemeleri için duysal sinir aksiyon potansiyeli amplitüdü 8 mikrovolt üzeri ve sinir ileti hızı 45 metre/saniye üzeri normal olarak kabul edildi.

Alt ekstremitede sural sinir duysal yanıt amplitüdünün 10 mikrovolt üzeri ve ileti hızı 40 metre/saniye üzeri olması, süperfisyal peroneal sinir için duysal yanıt amplitüdünün 6 mikrovolt üzeri ve ileti hızının 40 metre/saniye üzerinde olması normal kabul edildi.

Median ve ulnar sinir motor yanıt amplitüdü 5 milivolt ve üzeri, ileti hızı 50 metre/saniye üzeri, tibial sinir motor yanıt amplitüdü 4 milivolt ve üzeri, ileti hızı 40 metre/saniye üzeri, peroneal sinir motor yanıt amplitüdü 2 milivolt ve üzeri, ileti hızı 40 metre/saniye üzeri normal olarak kabul edildi.

İleti incelemelerinde median, ulnar ve peroneal sinir tuzak nöropatileri dışında bir tanesi sural sinir duysal aksiyon potansiyel amplitüdünün düşük bulunması olmak üzere iki ya da daha fazla sinirde anomali saptanması diyabetik polinöropati lehine değerlendirildi.

İstatistiksel Analizler

Çalışmada elde edilen bulguların istatistiksel değerlendirmesi SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 23.0 programı ile yapılmıştır.

Sürekli değişkenler için ikili gruplarda Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Üç ve daha fazla grup olduğu durumlarda Kruskal Wallis testi, ikili kıyaslamalar için Dunn testi kullanılmıştır. Kategorik değişkenler için kıkare testi kullanılmıştır. Parametreler arası ilişkilerin değerlendirilmesinde de Spearman's Korelasyon Analizi kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık 0,95 önem düzeyinde p değerinin 0,05'ten küçük olması kabul edilmiştir.

Kan Analizi

Çalışmaya katılan bireylerden antekubital brakial venden vacutainer kullanılarak biyokimya tüpüne kan örneği alındı. Biyokimya tüpüne alınan materyal 3000 xg de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serum ependorfa alınıp çalışma gününde kullanılmak üzere -80° C ye kaldırıldı.Çalışma gününde ependorflar oda ısısına getirilerek donmuş halde olan serumların erimesi sağlandı.Serum örneklerinde IL-1 Beta, IL-6, TNF-Alfa, MMP-2, MMP-9, MMP-10 parametrelerinin değerleri ELISA yöntemi ile plak okuyucusunda (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06, USA) ölçüldü.Örneklerdeki D vitamini miktarı Tandem MS AB SCIEX QTRAP 4500 cihazı ile ölçüldü.

Serum örneklerinde Total Antioksidan Seviye (TAS) ve Total Oksidan Seviye (TOS), plak okuyucuda (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06, USA) sırasıyla 240 nm ve 520 nm dalga boylarında ölçüldü. Ölçülen TAS ve TOS değerleri Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplamasında kullanıldı.

Çalışmaya katılan bireylerden ayrıca heparinli tüplere tam kan örneği alındı. Alınan kan örneklerine Comet Assay Yöntemi ile DNA hasar tayini yapıldı

Gereçler

- Santrifüj (Nüve NF1200, Nüve NF1200R)
- Distilesucihazı (Nüve Water Distiller-ND112)
- Vorteks (BioCoteVoortex Mixer SA8, bibby scientific, UK)
- Orbital karıştırıcı (Biosan, OS-20, EU)
- Etüv (Nüve Cooled Incubator, ES120)
- Manyetik karıştırıcı (Stuart heat stir, CB162, bibby scientific, UK)
- -80°C derin dondurucu(New Brunswick Scientific. C54285 model)
- ELISA okuyucusu (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06, USA)
- ELISA yıkayıcısı (Thermo Scientific WellWash microplate washer, 2011-08,USA)
- Pipet (1000, 500, 200,100,10 uL'lik; Gilson)
- 8'li multipipet
- Pipet uçları (1000, 200,100,10 uL'lik)

ELISA KITLERİ

- Human IL-1 Beta ELISA kiti (eBioscience, Cat no: BMS224/2)

- Human IL-6 ELISA kiti (eBioscience, Cat no: BMS213/2)
- Human IL-TNF Alpha ELISA kiti (eBioscience, Cat no: BMS223/4)
- Human MMP-2 ELISA kiti (SunRed Biotechnology, Cat no: 201-12-0905)
- Human MMP-9 ELISA kiti (eBioscience, Cat no: BMS2016/2)
- Human MMP-10 ELISA kiti (SunRed Biotechnology, Cat no: 201-12-0906)

Test Protokolü:

- Kit ve numuneler oda ısısına getirildi.
- Kit içerisinde çıkan antikor kaplı mikropak yıkama solüsyonu ile 400 µl de 2 defa yıkandı. Yıkama işlemi için wash buffer belirtilen prosedüregöre hazırlandı.
- Kit içerisinde liyofilize halde gelen standartlar, prosedüre uygun olacak şekilde dilüe edildi.
- Antikor ile kaplanmış olan kuyucuklara standartlar ve numunelerden 100 µL konuldu.
- Daha sonra tüm kuyucuklara Biotin konjugat 50 µL pipetlendi. Mikropak çalkalayıcı üzerinde 2 saat inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrası kuyucuklar elde edilen bu yıkama tamponuyla 3 kere, 350 µL ile yıkandı.
- Kit prospektüsünde belirtilen oranda hazırlanan Streptavidin HRP tüm kuyucuklara 100 µL pipetlendi. Mikropak çalkalayıcı üzerinde 1 saat inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrası kuyucuklar elde edilen bu yıkama tamponuyla 3 kere, 350 µL ile yıkandı.
- Tüm kuyucuklara 100 µL TMB substrat pipetlendi. Mikropak ışık görmeyecek şekilde oda ısısında 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Reaksiyonun durdurulması için 10 dakika sonunda stop solüsyon çözeltisinden 50 µL kuyucuklara eklenerek ELISA okuyucusunda (Thermo Scientific, USA) 450 nm de absorbansları okundu.

Hesaplama:

Standartların absorbansı belirlenerek x eksenindeabsorbans, y ekseninde konsantrasyon olacak şekilde lin-lin ve log-log grafikler elde edilip sonuçlar pg/ml ve ng/ml şeklinde ifade edildi.

Total Antioksidan Kapasite (TAS)

İnflamasyonlar, aldığımız besin maddeleri, normal metabolizma, radyasyon, yaşlanma, normalden yüksek oksijen basıncı (pO_2), ozon (O_3), azot dioksit (NO_2), kimyasal maddeler, sigara ve ilaçlar gibi birçok uyarıların etkisiyle, oksidan adı verilen moleküller ortaya çıkar. Bu oksidan moleküllere serbest radikaller ya da reaktif oksijen türleri (ROS) de denilmektedir.

Oksidanlar: hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine zarar vererek; kanser, kalp hastalıkları, bağırsak hastalıkları, depresyon, damarlarda yapı bozuklukları ve erken yaşlanma gibi onlarca önemli soruna yol açabilirler.

Kullanılan Reaktifler

Reaktif 1: 75 mM Clark tamponu (pH=1.8) içerisinde 10 mM o-Dianisidine ve 45 mM $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ çözülerek hazırlandı.

Reaktif 2: 7,5 mM hidrojen peroksit 75 mM Clark tamponu (pH=1.8) içerisinde karıştırılarak hazırlandı.

Prensip:

Fe^{2+} -o-dianisidine kompleksi hidrojen peroksit ile Fenton tipi reaksiyon oluşturarak OH radikalini oluşturur. Bu güçlü reaktif oksijen türü indirgenerek düşük pH'da renksiz o-dianisidine molekülü ile reaksiyona girerek sarı-kahverengi dianisidine radikallerini oluştururlar. Dianisidil radikalleri, ileri oksidasyon reaksiyonlarına katılarak renk oluşumu artmaktadır. Ancak, örneklerdeki antioksidanlar bu oksidasyon reaksiyonlarını bastırarak renk oluşumunu durdurmaktadırlar.

Çalışma zamanında, daha önce $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 'de saklanan serum örnekleri oda ısısına getirildi. Total protein ölçümleri yapılmış doku örnekleri ile beraber çalışmaya dahil edildi. Tüm örneklerden 100'er μl alınıp üzerlerine sırasıyla, 150 μl R1 ve 150 μl R2 eklendi. 1 dakika $37\text{ }^\circ\text{C}$ 'de bekletildikten sonra spektrofotometrede

(ThermoScientificMultiscan FC, 2011-06,USA) 240 nm’de okundu. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanıldı ve sonuçlar mmol.Trolox.ekivalent/L olarak ifade edildi.

Total Oksidan Seviye (TOS)

Kullanılan Reaktifler:

Reaktif 1: 140 mM’lık NaCl çözeltisi içerisine 25 mM H₂SO₄ çözülerek ana solüsyon hazırlandı. Ana solüsyonda, önce% 10 oranında gliserol çözüldü, daha sonra total hacimde 250 µM Xlenolorange çözülerek hazırlandı.

Reaktif 2: Ana solüsyon içerisinde önce 10 mM o-Dianisidinedihydrochloride çözüldü, daha sonra 5 mM amonyomferröz sülfat çözülerek reaktif hazırlandı.

Prensip:

Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferrik iyon oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xylenolorange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülür.

Çalışma zamanında, daha önce -80 °C’de saklanan serum örnekleri oda ısısına getirildi. Total protein ölçümleri yapılmış doku örnekleri ile beraber çalışmaya dahil edildi. Tüm örneklerden 100’ er µl alınıp üzerlerine sırasıyla 150µl R1 ve 150µl R2 eklendi. 1 dakika 37°C’de bekledikten sonra spektrofotometrede (ThermoScientificMultiscan FC, 2011-06,USA) 520 nm’de okundu. Standart olarak H₂O₂ kullanıldı ve sonuçlar µmol.H₂O₂.ekivalent/L olarak ifade edildi.

OKSİDATİF STRES İNDEKSİ (OSI)’NİN HESAPLANMASI

TAS’ın birimi µmol.Trolox.ekivalent/L’ye çevrilir ve aşağıdaki formül kullanılarak oksidatif stres indeksi hesaplanır.

$$\text{Oksidatif stres indeksi (OSI)} = \frac{\text{TOS} (\mu\text{mol.H}_2\text{O}_2.\text{ekivalent/L})}{\text{TAS} (\mu\text{mol.Trolox.ekivalent/L})} \times 100$$

$$\text{TAS} (\mu\text{mol.Trolox.ekivalent/L})$$

DNA HASARI (COMET ASSAY) ANALİZİ

Çalışmaya katılan bireylerden heparinli biyokimya tüplerine tam kan örneği alındı. DNA hasarı analizi için kan örnekleri alınır alınmaz lenfosit seperasyonu yapıldı.

Lenfosit seperasyonu:

- Cam biyokimya tüpene 1 ml histopaq konuldu. Üzerine 1 ml gelen tam kan örneğinden pipetlendi.
- Cam tüp, 2100 rpm de 25 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj işleminden sonra tüpte oluşan bulut tabaka pipet vasıtasıyla alındı ve 1,5 ml'lik ependorfa konuldu. Tüm yüzeyi kaplayacak kadar PBS (Phosphate Buffer Saline) pipetlendi.
- Ependorf, 1600 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.
- Üst kısım dökülerek dip kısımdaki lenfositler elde edildi.

Çalışmada kullanılmak üzere aşağıdaki solüsyonlar hazırlandı:

Lizis Tamponu (pH10) : - 146,1 gr NaCl₂

- 1,2 gr Trisma Base

- 37,2 gr EDTA

- %1 Triton-X

Elektroforez Tamponu : - 12 gr NaOH (0,3 M)

- 0,372 g EDTA (tririplex)(E2) (1 Mm)

Low Melting Agar: - %0,6 lık low melting agar

- PBS

Normal Melting Agar: - %1 lık agar

- PBS

DNA Hasarı Protokolü

- Çalışma boyunca tüm örneklerden lenfositler elde edildi.

- Çalışmaya başlamadan önce ependorf hafifçe karıştırıcı vasıtasıyla karıştırıldı. Çalışmaya, dipteki lenfositlerden 10 µl olacak kadar dahil edildi.
- Hazırladığımız normal melting agarın içerisine temiz ve kullanılmamış lamaları daldırıp çıkardık ve kurumaya bırakıldı.
- Lamalar kuruduktan sonra, low melting agar ile lenfosit örneklerimizi karıştırıp (10 µl örnek+ 85 µl agar) lamaların üzerine yükleyip lamel ile kapatıldı.
- Lamalar daha sonra 5 dakika kadar +4 C° de bekletildi.
- Lamaların üzerindeki lameller yavaşça çıkarıldı. Tüm lamalar şalelerin içinde lizis tamponunda da + 4 C° de 50 dakika bekletildi.
- Lizis işlemi bittikten sonra tüm lamalar 3 defa PBS ile yıkandı.
- Yıkadığımız lamaları elektroforez tankına yerleştirip içine 1 litre hazırlanılan elektroforez tamponu koyuldu ve 40 dakika inkübasyona bırakıldı.
- 40 dakikanın bitiminde 18 dakika 25 V da 300 Amperde jeller yürütüldü.
- Elektroforez işlemi bittikten sonra lamalar 2 kez PBS ve 1 kez distile su ile yıkandı.
- Lamaların üzerlerine 15 erul Etidyum Bromid (2 mg/ml) eklenip lamel ile kapatılıp floresan mikroskopta (Leica DM 1000 Led, Germany) incelendi. İnceleme işlemi karanlıkta yapıldı.
- Skorumlama, baş ve kuyruk uzunlukları hesaplanarak Comet Assay IV yazılım programı vasıtasıyla değerlendirildi.

4. BULGULAR

Bu çalışma Nisan 2015-Ocak 2016 tarihleri arasında Bezmialem Vakıf Üniversitesi Nöroloji Anabilim Dalında yürütüldü. Çalışmaya yaşları 34-75 arasında olan toplam 150 katılımcı alındı. Bunların 42'si sağlıklı gönüllüler, 56'sı DPNP(-) (Diyabetik Polinöropati -) , 52'si ise DPNP(+)(Diyabetik Polinöropati+) olan hastalardı.

Kontrol grubundaki 42 hastanın 13'ü erkek, 29'u kadın; DPNP(-) gruptaki 56 hastanın 21'i erkek, 35'i kadın; DPNP(+) gruptaki 52 hastanın 24'ü erkek, 28'i kadın olarak saptandı. Katılımcıların ortanca, minimum ve maksimum yaş değerleri; sağlıklı kontroller, DPNP(-) ve DPNP(+) hasta gruplarında sırasıyla 52(40-70), 55(34-75) ve 58(40-70) olarak saptandı. Gruplar arası cinsiyet ve yaş dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ($p>0,05$).

Diyabetik hastalar arasında hipertansiyon (HT) görülme sıklığı DPNP(+) grupta % 27,DPNP(-) grupta ise %24 olup HT varlığı açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

Diyabet hastaları arasında ortanca diyabet süresi DPNP(-) grupta 6 yıl iken, DPNP(+) grupta 15 yıl idi. DPNP(+) grubunun ortanca diyabet süresi, DPNP(-) grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,001$).

Kullanılan tedavilere bakıldığında DPNP(-) grubundan 56 hastanın 39'unun sadece oral antidiyabetik (OAD), 1'inin sadece insülin, 16'sının OAD+insülin kullandığı saptandı. DPNP(+) grubundan 52 hastanın 17'sinin sadece OAD, 7'sinin sadece insülin, 28'inin OAD+insülin kullandığı saptandı.

Tablo 4. Katılımcıların demografik özellikleri

GRUP	Kontrol (n=42)	DPNP(-) (n=56)	DPNP(+) (n=52)	p
Yaş, ortanca(min-maks)	52 (40-70)	55 (34-75)	58 (40-70)	0,154
Cinsiyet				
Erkek, n %	13, % 31	21, % 37	24, % 46	0,31
Kadın, n %	29, % 69	35, % 63	28, % 54	
HT varlığı, n %	-	24, % 43	27, % 52	0,35
Diyabet süresi, yıl, ortanca (min-maks)	-	6 (1-30)	15 (1-40)	<0,001

Çalışmaya dahil edilen gönüllülerin ortalanca HbA1c değerleri DPNP(+) grupta 8,28(5,37-12,06), DPNP(-) grupta 6,75(5,5-11,5) , kontrol grubunda ise 5,54(4,81-6,42) idi. DPNP(+) grubunun ortalanca HbA1c değeri, DPNP(-) grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p= 0,027$). DPNP(-) grubunun ortalanca HbA1c değeri de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,001$)(Tablo 5).

Gönüllülerin ortalanca HDL değerleri DPNP(+) grupta 42,8(28-68) mg/dl, DPNP(-) grupta 45,95(26-96) mg/dl, kontrol grubunda ise 49,5(34-70,3) mg/dl idi. DPNP(+) grubunun ortalanca HDL değeri, DPNP(-) grubundan düşük bulundu ancak istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). DPNP(-) grubun ortalanca HDL değeri de kontrol grubuna göre düşük bulundu ancak istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). DPNP(+) grubunun ortalanca HDL değeri, kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ($p=0,001$)(Tablo 5).

Katılımcıların ortalanca trigliserid(TG) değerleri DPNP(+) grupta 178,5(73-517) mg/dl, DPNP(-) grupta 149(60-564) mg/dl, kontrol grubunda ise 112,5(60-276) mg/dl idi. DPNP(+) grubun ortalanca TG değeri, DPNP(-) gruptan yüksek bulundu ancak istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). DPNP(-) grubun ortalanca TG değeri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,012$). DPNP(+) grubunun ortalanca TG değeri, kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,001$)(Tablo 5).

Çalışmaya dahil edilen gönüllülerin ortalanca LDL değerleri DPNP(+) grupta 117(54-215) mg/dl, DPNP(-) grupta 112,5(71-253) mg/dl, kontrol grubunda ise 109(55-167) mg/dl idi. DPNP(+) grubunun ortalanca LDL değeri, DPNP(-) grubundan yüksek, DPNP(-) olan grubunun da kontrol grubundan yüksek olduğu bulundu ancak istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$)(Tablo 5).

Ortalanca total kolesterol değerleri DPNP(+) grupta 198(106-320)mg/dl, DPNP(-) grupta 201 (135-372)mg/dl, kontrol grubunda ise 195(127-268)mg/dl idi. Gruplar arası total kolesterol düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$)(Tablo 5).

Tablo 5. Hastaların HbA1c, HDL, LDL, Trigliserid, Total Kolesterol değerleri

GRUP	Kontrol (n=42)	DPNP(-) (n=56)	DPNP(+) (n=52)	
	Ortanca (min-maks)	Ortanca (min-maks)	Ortanca (min-maks)	P
HBA1C %	5,54 (4,81-6,42)	6,75 (5,5-11,5)	8,28 (5,37-12,06)	0,000
HDL (mg/dl)	49,5 (34-70,3)	45,95 (26-96)	42,8 (28-68)	0,002
LDL (mg/dl)	109 (55-167)	112,5 (71-253)	117 (54-215)	0,198
TG (mg/dl)	112,5 (60-276)	149 (60-564)	178,5 (73-517)	0,000
T. KOLESTEROL(mg/dl)	195 (127-268)	201 (135-372)	198 (106-320)	0,337

Gönüllülerin ortanca Vitamin D (Vit D) değerlerine bakıldığında DPNP(+) grupta 7,93 (1,78-39,78) ng/ml, DPNP(-) grupta 8,62 (1,16-57,53) ng/ml, kontrol grubunda ise 10,48(2,69-58,28) ng/ml idi. DPNP(+) grubunun ortanca Vit D değeri, DPNP(-) grubundan düşük, DPNP(-) grubunun da kontrol grubundan düşük olduğu bulundu ancak istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$)(Tablo 6).

Çalışmaya dahil edilen gönüllülerin ortanca IL-6 değerleri DPNP(+) grupta 75,11 (58,11-93,10) pg/ml, DPNP(-) grupta 54,10 (21,10-65,32) pg/ml, kontrol grubunda ise 18,11 (9,32-30,15) pg/ml idi (Tablo 6).

Ortanca TNF- α değerleri DPNP(+) grupta 375,53 (290,55-465,49) pg/ml, DPNP(-) grupta 270,51 (105,50-326,58) pg/ml, kontrol grubunda ise 90,57 (46,58-150,75) pg/ml idi (Tablo 6).

Ortanca IL-1 β değerleri DPNP(+) grupta 154,46 (120,46-190,43) pg/ml, DPNP(-) grupta 112,44 (46,44-134,87) pg/ml, kontrol grubunda ise 40,46 (2,87-64,54) pg/ml idi(Tablo 6).

Ortanca MMP-9 değerleri DPNP(+) grupta 12,57 (9,02-19,46) ng/ml, DPNP(-) grupta 7,77 (5,21-12,87) ng/ml, kontrol grubunda ise 3,14 (1,02-6,57) ng/ml idi (Tablo 6).

Ortanca MMP-10 değerleri DPNP(+) grupta 32,65 (14,80-44,65) ng/ml, DPNP(-) grupta 16,51 (10,90-311,50) ng/ml, kontrol grubunda ise 6,00 (2,94-9,76) ng/ml idi (Tablo 6).

DPNP(+) grubunun ortanca IL-6, TNF- α , IL-1 β , MMP-9, MMP-10 değerleri, DPNP(-) grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,001$). DPNP(-) grubun ortanca IL-6, TNF- α , IL-1 β , MMP-9, MMP-10 değeri de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,001$) (Tablo 6).

Gonullulerin ortanca MMP-2 değerleri DPNP(+) grupta 699,17 (35,81-1831,56) ng/ml, DPNP(-) grupta 745,40 (23,55-8956,23) ng/ml, kontrol grubunda ise 42,73 (28,70-1530,15) ng/ml idi (Tablo 6). MMP-2 diyabetik olanlar da kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti ancak DPNP(+) ve DPNP(-) gruplar arasında MMP-2 değerleri farklılık göstermedi.

Çalışmaya dahil edilen gonullulerin ortanca TAS değerleri DPNP(+) grupta 0,84 (0,62-1,03), DPNP(-) grupta 0,93 (0,67-1,95), kontrol grubunda ise 1,84 (0,79-2,09) idi. DPNP(+) grubunun ortanca TAS değeri, DPNP(-) grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede duşok bulundu ($p=0,001$). DPNP(-) grubunun ortanca TAS değeri de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede duşok bulundu ($p<0,001$) (Tablo 6).

Ortanca TOS değerleri DPNP(+) grupta 11,33 (7,69-14,10), DPNP(-) grupta 9,60 (7,19-12,85), kontrol grubunda ise 7,89 (6,17-9,94) idi. Ortanca OSI değerleri DPNP(+) grubunda 13,36 (9,46-20,00), DPNP(-) grubunda 10,41 (5,54-14,40), kontrol grubunda ise 4,67 (3,33-11,11) idi. DPNP(+) grubunun ortanca TOS ve OSI değerleri, DPNP(-) grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti bulundu ($p<0,001$). DPNP(-) grubunun ortanca TOS ve OSI değeri de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti bulundu ($p<0,001$) (Tablo 6).

Çalışmaya dahil edilen hastalarda ortanca DNA hasarı düzeyine bakıldığında DPNP(+) grupta 59,23(31,51-71,89), DPNP(-) grupta 41,08(30,66-63,78), kontrol grubunda ise 24,70(14,33-31,29) olarak saptandı. Ortanca DNA hasarı değeri DPNP(+) grupta DPNP(-) gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti bulundu ($p<0,001$). DPNP(-) grubunun ortanca DNA hasarı düzeyi de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti bulundu ($p<0,001$) (Tablo 6).

Tablo 6. Hastaların Vitamin D, IL-6, TNF- α , IL-1 β , MMP-2, MMP-9, MMP-10, TAS, TOS ve OSI değerleri

GRUP	Kontrol (n=42)	DPNP(-) (n=56)	DPNP(+) (n=52)	
	Ortanca(min-maks)	Ortanca(min-maks)	Ortanca(min-maks)	p
Vit D (ng/ml)	10,48 (2,69-58,28)	8,62 (1,16-57,53)	7,93 (1,78-39,78)	0,143
IL-6 (pg/ml)	18,11 (9,32-30,15)	54,10 (21,10-65,32)	75,11 (58,11-93,10)	0,000
TNF- α (pg/ml)	90,57 (46,58-150,75)	270,51 (105,50-326,58)	375,53 (290,55-465,49)	0,000
IL-1 β (pg/ml)	40,46 (2,87-64,54)	112,44 (46,44-134,87)	154,46 (120,46-190,43)	0,000
MMP-2 (ng/ml)	42,73 (28,70-1530,15)	745,40 (23,55-8956,23)	699,17 (35,81-1831,56)	0,000
MMP-9 (ng/ml)	3,14 (1,02-6,57)	7,77 (5,21-12,87)	12,57 (9,02-19,46)	0,000
MMP-10 (ng/ml)	6,00 (2,94-9,76)	16,51 (10,90-311,50)	32,65 (14,80-44,65)	0,000
TAS	1,84 (0,79-2,09)	0,93 (0,67-1,95)	0,84 (0,62-1,03)	0,000
TOS	7,89 (6,17-9,94)	9,60 (7,19-12,85)	11,33 (7,69-14,10)	0,000
OSI	4,67 (3,33-11,11)	10,41 (5,54-14,40)	13,36 (9,46-20,00)	0,000
DNA HASARI	24,70 (14,33-31,29)	41,08 (30,66-63,78)	59,23 (31,51-71,89)	0,000

Katılımcıların yaş, HbA1c, kolesterol seviyeleri ile Vitamin D, IL-6, TNF- α , IL-1 β , MMP-2, MMP-9, MMP-10, TAS, TOS ve OSI değerlerinin korelasyonu Tablo 7’de verilmiştir. Buna göre yaş Vit D, IL-6, TNF- α , IL-1 β , MMP-2 ve TAS ile; HbA1c Vitamin D, IL-6, TNF- α , IL-1 β , MMP-2, MMP-9, MMP-10, TAS, TOS ve OSI ile; HDL IL-6, TNF- α , IL-1 β , MMP-2, MMP-9, MMP-10, TAS, TOS ve OSI ile; TG IL-6, TNF- α , IL-1 β , MMP-2, MMP-9, MMP-10, TOS ve OSI ile; LDL yalnızca MMP-2 ve TOS ile; total kolesterol ise yalnızca MMP-2 ile korele bulunmuştur. Bu korelasyonlardan HDL’nin IL-6, TNF- α , IL-1 β , MMP-2, MMP-9, MMP-10, TOS ve OSI ile olan ve HbA1c’nin TAS ile olan korelasyonu negatif iken, diğer tüm anlamlı korelasyonlar pozitif idi.

Tablo 7. Hastaların yaş, HbA1c, kolesterol seviyeleri ile Vitamin D, IL-6, TNF- α , IL-1 β , MMP-2, MMP-9, MMP-10, TAS, TOS ve OSI değerlerinin korelasyonu

		Vit D	IL-6	TNF- α	IL-1 β	MMP-9	MMP-10	MMP-2	TAS	TOS	OSI
YAŞ	sr	,166*	,223**	,232**	,227**	0,128	0,047	,186*	-0,087	,161*	0,133
	p	0,043	0,006	0,004	0,005	0,118	0,565	0,022	0,289	0,049	0,106
HBA1C	sr	-0,138	,659**	,667**	,662**	,673**	,712**	,532**	-,531**	,639**	,666**
	p	0,092	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
HDL	sr	0,076	-,272**	-,270**	-,271**	-,268**	-,296**	-0,153	0,149	-,199*	-,188*
	p	0,353	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000	0,061	0,069	0,015	0,021
LDL	sr	-0,113	0,116	0,114	0,115	0,117	0,087	,225**	-0,031	,177*	0,108
	p	0,169	0,158	0,166	0,161	0,155	0,290	0,006	0,707	0,030	0,190
TRİGLİSERİD	sr	-0,077	,271**	,274**	,272**	,279**	,332**	,276**	-0,123	,270**	,227**
	p	0,347	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000	0,001	0,134	0,001	0,005
TOTAL KOLESTEROL	sr	-0,081	0,042	0,041	0,041	0,062	0,031	,184*	-0,021	0,141	0,094
	p	0,324	0,611	0,621	0,617	0,448	0,705	0,025	0,797	0,085	0,252

Çalışmamızda bakılan Vitamin D, IL-6, TNF- α , IL-1 β , MMP-2, MMP-9, MMP-10, TAS, TOS ve OSI değerlerinin birbirleriyle korelasyonu ise Tablo 8’de verilmiştir. Buna göre

Vitamin D; MMP-2 ve MMP-10 ile negatif olarak korele idi. IL-6; TNF- α , IL-1 β , MMP-2, MMP-9, MMP-10, TOS ve OSI ile pozitif olarak korele iken TAS ile negatif olarak korele idi. TNF- α ; IL-6, MMP-2, MMP-9, MMP-10, TOS ve OSI ile pozitif olarak korele iken TAS ile negatif olarak korele idi. IL-1 β ; IL-6, MMP-2, MMP-9, MMP-10, TOS ve OSI ile pozitif olarak korele iken TAS ile negatif olarak korele idi.

MMP-2; IL-6, TNF- α , IL-1 β , MMP-9, MMP-10, TOS ve OSI ile pozitif olarak korele iken Vitamin D ve TAS ile negatif olarak korele idi. MMP-9; IL-6, TNF- α , IL-1 β , MMP-2, MMP-10, TOS ve OSI ile pozitif olarak korele iken TAS ile negatif olarak korele idi. MMP-10; IL-6, TNF- α , IL-1 β , MMP-2, MMP-9, TOS ve OSI ile pozitif olarak korele iken Vitamin D ve TAS ile negatif olarak korele idi.

TAS; IL-6, TNF- α , IL-1 β , MMP-2, MMP-9, MMP-10, TOS ile negatif olarak korele idi. TOS; IL-6, TNF- α , IL-1 β , MMP-2, MMP-9, MMP-10 ile pozitif olarak

korele iken TAS ile negatif olarak korele idi. OSI; IL-6, TNF- α , IL-1 β , MMP-2, MMP-9, MMP-10 ile pozitif olarak korele idi(Tablo 8).

Tablo 8. Laboratuvar parametrelerinin birbirleriyle korelasyonu

		Vit D	IL-6	TNF- α	IL-1 β	MMP-9	MMP-10	MMP-2	TAS	TOS	OSI
Vit D	sr	1,000	-0,106	-0,106	-0,105	-0,140	-,196*	-,168*	0,069	-0,106	-0,106
	p		0,199	0,196	0,202	0,087	0,016	0,040	0,402	0,196	0,195
IL-6	sr	-0,106	1,000	,998**	1,000**	,843**	,823**	,534**	-,674**	,751**	,815**
	p	0,199		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
TNF- α	sr	-0,106	,998**	1,000	,999**	,844**	,820**	,538**	-,677**	,752**	,818**
	p	0,196	0,000		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
IL-1 β	sr	-0,105	1,000**	,999**	1,000	,844**	,822**	,536**	-,675**	,752**	,816**
	p	0,202	0,000	0,000		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
MMP-9	sr	-0,140	,843**	,844**	,844**	1,000	,839**	,518**	-,686**	,756**	,826**
	p	0,087	0,000	0,000	0,000		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
MMP-10	sr	-,196*	,823**	,820**	,822**	,839**	1,000	,577**	-,636**	,714**	,772**
	p	0,016	0,000	0,000	0,000	0,000		0,000	0,000	0,000	0,000
MMP-2	sr	-,168*	,534**	,538**	,536**	,518**	,577**	1,000	-,433**	,465**	,496**
	p	0,040	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000		0,000	0,000	0,000
TAS	sr	0,069	-,674**	-,677**	-,675**	-,686**	-,636**	-,433**	1,000	-,499**	-,840**
	p	0,402	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000		0,000	0,000
TOS	sr	-0,106	,751**	,752**	,752**	,756**	,714**	,465**	-,499**	1,000	,864**
	p	0,196	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000		0,000
OSI	sr	-0,106	,815**	,818**	,816**	,826**	,772**	,496**	-,840**	,864**	1,000
	p	0,195	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	

Çalışmaya dahil edilen Tıp 2 diyabetik 108 hastadan hipertansiyonu olan ve olmayan şeklinde iki grup oluşturulduğunda, bu iki grup arasında HbA1c, HDL, LDL, trigliserid, total kolesterol, Vitamin D, IL-6, TNF- α , IL-1 β , MMP-2, MMP-9, MMP-10, TAS, TOS ve OSI ortanca değerleri arasında anlamlı fark olmadığı bulundu ($p>0,05$)(Tablo 9).

Tablo 9. Hipertansiyonu olan ve olmayan hastaların laboratuvar parametreleri

HT	Hipertansiyon Yok(n:57)			Hipertansiyon Var(n:51)			p
	Ortanca	Minimum	Maksimum	Ortanca	Minimum	Maksimum	
HBA1C	7,56	5,37	11,50	7,60	5,77	12,06	0,54
HDL	43,00	26,00	81,00	43,00	29,00	96,00	0,98
LDL	118,00	54,00	215,00	112,00	71,00	253,00	1,00
TRİGLİSERİD	153,00	60,00	517,00	176,00	73,00	564,00	0,93
T. Kolesterol	211,00	106,00	327,00	194,00	142,00	372,00	0,58
Vit D (ng/ml)	7,84	1,59	39,25	8,69	1,16	57,53	0,60
IL-6 (pg/ml)	61,24	21,10	93,10	65,32	31,12	86,11	0,42
TNF- α (pg/ml)	306,18	105,50	465,49	326,58	155,58	430,57	0,37
IL-1 β (pg/ml)	126,71	46,44	190,43	134,87	66,47	176,46	0,40
MMP-9(ng/ml)	9,66	5,32	17,26	10,33	5,21	19,46	0,17
MMP-10ng/ml	24,01	10,90	311,50	28,57	11,26	38,70	0,62
MMP-2(ng/ml)	747,62	36,21	3123,25	723,63	23,55	8956,23	0,80
TAS	0,90	0,62	1,10	0,89	0,71	1,95	0,74
TOS	10,20	7,19	13,80	10,35	8,66	14,10	0,66
OSI	12,00	7,79	20,00	11,89	5,54	17,79	0,85

Diyabetik hastalardan DPNP(-) olanların %80'inin DN4 skoru 4'ün altında, %20'sinin DN4 skoru 4'ün üzerinde idi. DPNP(+) olanların ise %29'unun DN4 skoru 4'ün altında, %71'inin ise DN4 skoru 4'ün üzerinde idi(Tablo 10).

Tablo 10. DPNP(+) ve DPNP(-) gruplardaki hastaların DN4 skoruna göre dağılımları

		DN4		Total
		<4	\geq 4	
GRUP	DPNP(-)	45, %80	11, %20	56, %100
	DPNP(+)	15, %29	37, %71	52, %100
Total		60, %56	48, %44	108, %100

Çalışmaya dahil edilen tüm diyabetik hastalar DN4 skoruna göre gruplandırıldığında DN4 skoru <4 olan 60, DN4 skoru \geq 4 olan 48 hasta vardı. Bu hastaların ortanca HbA1c değeri DN4 skoru \geq 4 olanlarda 8,24(5,37-12,06), DN4 skoru <4 olanlarda 7,40 (5,50-11,50) idi. DN4 skoru \geq 4 olanların ortanca HbA1c değeri DN4 skoru <4 olanlardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,018$) (Tablo 11).

Çalışmaya dahil edilen diyabetik hastaların ortanca IL-6 değeri DN4 skoru \geq 4 olanlarda 72,21 (36,11-89,12), DN4 skoru <4 olanlarda 58,14 (21,10-93,10) idi. Ortanca TNF- α değeri DN4 skoru \geq 4 olanlarda 358,61(180,56-445,59), DN4 skoru <4 olanlarda 290,69 (105,50-465,49) idi. Ortanca IL-1 β değeri DN4 skoru \geq 4 olanlarda 148,65 (76,46-182,47), DN4 skoru <4 olanlarda 120,51 (46,44-190,43) idi. Ortanca MMP-9 değerine bakıldığında ise DN4 skoru \geq 4 olanlarda 11,51 (6,12-19,46), DN4 skoru <4 olanlarda 8,50 (5,21-16,37) idi. Ortanca MMP-10 değeri DN4 skoru \geq 4 olanlarda 31,61 (10,90-44,65), DN4 skoru <4 olanlarda 19,71 (11,04-311,50) idi.

DN4 skoru \geq 4 olanların ortanca IL-6, TNF- α , IL-1 β , MMP-9, MMP-10 değerleri DN4 skoru <4 olanlardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (her biri için $p<0,001$) (Tablo 11).

Çalışmaya dahil edilen diyabetik hastaların ortanca TAS değeri DN4 skoru \geq 4 olanlarda 0,85 (0,62-1,00), DN4 skoru <4 olanlarda 0,91 (0,70-1,95) idi. DN4 skoru \geq 4 olanların ortanca TAS değeri DN4 skoru <4 olanlardan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ($p=0,002$).

Çalışmaya dahil edilen diyabetik hastaların ortanca TOS değeri DN4 skoru \geq 4 olanlarda 11,04 (8,53-13,80), DN4 skoru <4 olanlarda 9,79 (7,19-14,10) idi. Hastaların ortanca OSI değeri ise DN4 skoru \geq 4 olanlarda 12,82 (10,20-20,00), DN4 skoru <4 olanlarda 10,49 (5,54-16,59) idi. DN4 skoru \geq 4 olanların ortanca TOS ve OSI değerleri DN4 skoru <4 olanlardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (her biri için $p<0,001$).

Ortanca DNA hasarı düzeyine bakıldığında DN4 skoru \geq 4 olanlarda 55,66(31,51-71,89), DN4 skoru <4 olanlarda ise 37,35(14,33-67,95) idi. DN4 skoru \geq 4 olanların ortanca DNA hasarı değeri DN4 skoru <4 olanlardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,001$) (Tablo 11).

Çalışmaya dahil edilen diyabetik hastaların ortanca HDL, LDL, trigliserid, total kolesterol, Vitamin D ve MMP-2 değerleri DN4 skoru ≥ 4 olanlar ile DN4 skoru < 4 olanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$) (Tablo 11).

Tablo 11. Diyabetik hastaların DN4 skoru < 4 olanlar ile DN4 skoru ≥ 4 olanların laboratuvar parametreleri

	DN4 < 4 n:60			DN4 ≥ 4 n:48			P
	Ortanca	Minimum	Maksimum	Ortanca	Minimum	Maksimum	
HBA1C	7,40	5,50	11,50	8,24	5,37	12,06	0,018
HDL	42,80	26,00	81,00	43,00	29,00	96,00	0,481
LDL	110,50	54,00	195,00	122,50	55,00	253,00	0,496
TRİGLİSERİD	152,00	67,00	564,00	173,50	60,00	517,00	0,663
T. Kolesterol	197,00	106,00	327,00	209,50	131,00	372,00	0,383
Vit D(ng/ml)	8,21	2,16	57,53	8,63	1,16	47,90	0,351
IL-6(pg/ml)	58,14	21,10	93,10	72,21	36,11	89,12	0,000
TNF- α (pg/ml)	290,69	105,50	465,49	358,61	180,56	445,59	0,000
IL-1 β (pg/ml)	120,51	46,44	190,43	148,65	76,46	182,47	0,000
MMP-9(ng/ml)	8,50	5,21	16,37	11,51	6,12	19,46	0,000
MMP-10(ng/ml)	19,71	11,04	311,50	31,61	10,90	44,65	0,000
MMP-2(ng/ml)	729,80	36,21	3783,41	767,86	23,55	8956,23	0,357
TAS	0,91	0,70	1,95	0,85	0,62	1,00	0,002
TOS	9,79	7,19	14,10	11,04	8,53	13,80	0,000
OSI	10,49	5,54	16,59	12,82	10,20	20,00	0,000
DNA HASARI	37,35	14,33	67,95	55,66	31,51	71,89	0,000

Diyabetik hastaların diyabet süresi ve DN4 skorunun laboratuvar sonuçları ile korelasyonu Tablo 12’de verilmiştir. Buna göre diyabetik hastaların diyabet süresi; DN4 skoru, HbA1c, IL-6, TNF- α , IL-1 β , MMP-9, MMP-10, TOS ve OSI ile pozitif olarak korele idi. DN4 ise; diyabet süresi, HbA1c, IL-6, TNF- α , IL-1 β , MMP-9, MMP-10, TOS ve OSI ile pozitif olarak korele iken TAS ile negatif olarak korele idi.

Tablo 12. Diyabetik hastaların diyabet süresi ve DN4 skorunun laboratuvar sonuçları ile korelasyonu

		DM SÜRE	DN4	Vit D	IL-6	TNF- α	IL-1 β	MMP-9	MMP-10	MMP-2	TAS	TOS	OSI
YAŞ	r	,190*	0,144	,209*	,273**	,289**	,280**	0,047	-0,025	0,140	-0,012	0,098	0,071
	p	0,048	0,138	0,030	0,004	0,002	0,003	0,630	0,797	0,150	0,903	0,311	0,466
DM SÜRE	r	1,000	,307**	-0,052	,341**	,341**	,341**	,292**	,266**	-0,029	-0,060	,348**	,261**
	p		0,001	0,594	0,000	0,000	0,000	0,002	0,005	0,763	0,535	0,000	0,006
DN4	r	,307**	1,000	-0,100	,523**	,524**	,525**	,411**	,466**	0,097	-,277**	,463**	,491**
	p	0,001		0,303	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,318	0,004	0,000	0,000
HBA1C	r	,329**	,225*	-0,061	,247**	,267**	,255**	,281**	,394**	0,058	-0,075	,313**	,279**
	p	0,001	0,019	0,532	0,010	0,005	0,008	0,003	0,000	0,548	0,439	0,001	0,003
HDL	r	0,010	0,082	0,022	-0,142	-0,139	-0,141	-,194*	-,213*	-0,010	-0,046	-0,051	-0,013
	p	0,922	0,400	0,824	0,143	0,153	0,147	0,044	0,027	0,917	0,634	0,600	0,892
LDL	r	0,010	0,013	-0,031	0,009	0,007	0,009	-0,005	-0,048	0,170	0,056	0,061	-0,003
	p	0,918	0,894	0,752	0,923	0,945	0,929	0,961	0,619	0,079	0,567	0,530	0,976
TRİGLİSERİD	r	-0,047	0,031	-0,029	0,085	0,091	0,086	0,089	0,152	0,089	0,153	0,112	-0,016
	p	0,626	0,748	0,764	0,383	0,351	0,378	0,362	0,116	0,359	0,114	0,249	0,871
T. Kolesterol	r	0,022	0,013	-0,047	-0,035	-0,037	-0,036	-0,048	-0,082	0,153	0,021	0,067	0,035
	p	0,825	0,894	0,629	0,719	0,707	0,711	0,622	0,401	0,115	0,831	0,488	0,718
Vit D	r	-0,052	-0,100	1,000	0,011	0,009	0,012	-0,037	-0,135	-0,118	0,045	-0,064	-0,077
	p	0,594	0,303		0,907	0,924	0,900	0,701	0,165	0,223	0,644	0,508	0,431
IL-6	r	,341**	,523**	0,011	1,000	,995**	,999**	,661**	,597**	-0,047	-,382**	,523**	,604**
	p	0,000	0,000	0,907		0,000	0,000	0,000	0,000	0,627	0,000	0,000	0,000
TNF- α	r	,341**	,524**	0,009	,995**	1,000	,998**	,665**	,589**	-0,038	-,391**	,527**	,612**
	p	0,000	0,000	0,924	0,000		0,000	0,000	0,000	0,699	0,000	0,000	0,000
IL-1 β	r	,341**	,525**	0,012	,999**	,998**	1,000	,664**	,594**	-0,043	-,386**	,525**	,608**
	p	0,000	0,000	0,900	0,000	0,000		0,000	0,000	0,658	0,000	0,000	0,000
MMP-9	r	,292**	,411**	-0,037	,661**	,665**	,664**	1,000	,637**	-0,048	-,395**	,551**	,641**
	p	0,002	0,000	0,701	0,000	0,000	0,000		0,000	0,620	0,000	0,000	0,000
MMP-10	r	,266**	,466**	-0,135	,597**	,589**	,594**	,637**	1,000	0,077	-,325**	,466**	,520**
	p	0,005	0,000	0,165	0,000	0,000	0,000	0,000		0,426	0,001	0,000	0,000
MMP-2	r	-0,029	0,097	-0,118	-0,047	-0,038	-0,043	-0,048	0,077	1,000	0,057	-0,084	-0,067
	p	0,763	0,318	0,223	0,627	0,699	0,658	0,620	0,426		0,556	0,388	0,494
TAS	r	-0,060	-,277**	0,045	-,382**	,391**	-,386**	,395**	-,325**	0,057	1,000	-0,109	-,667**
	p	0,535	0,004	0,644	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,556		0,263	0,000
TOS	r	,348**	,463**	-0,064	,523**	,527**	,525**	,551**	,466**	-0,084	-0,109	1,000	,781**
	p	0,000	0,000	0,508	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,388	0,263		0,000
OSI	r	,261**	,491**	-0,077	,604**	,612**	,608**	,641**	,520**	-0,067	-,667**	,781**	1,000
	p	0,006	0,000	0,431	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,494	0,000	0,000	

5. TARTIŞMA

Diyabetik polinöropati ve nöropatik ağrının patofizyolojisi tip 2 diyabetik hastalarda farklı mekanizmalarla açıklanmaya çalışılmaktadır[6, 11]. Son dönemde yapılan çalışmalarda hiperglisemiye bağlı artan oksidatif stres, sitokinlerin uyarımı, MMP aktivasyonu, DNA hasarına bağlı değişmiş gen ekspresyonları ve bunların birbirleri ile ayrı ayrı ilişkileri sonucu ortaya çıkan nöronal hücre ölümüne bağlı olarak diyabetik nöropati ve nöropatik ağrı ortaya çıktığı düşünülmektedir[17]. Bizim çalışmamızda da tip 2 diyabetik hastalarda nöropati ve nöropatik ağrı etiopatogenezinde lipidler, Vit D, sitokinler, MMP, oksidatif stres belirteçleri ve ayrıca DNA hasarı değerlendirilmiştir.

Pek çok çalışma göstermiştir ki sadece glukoz kontrolünün sağlanması Tip 2 diyabetik hastalarda diyabetik polinöropati gelişimi ve progresyonunu önlemede yeterli değildir[116]. Yapılan bir çalışmada vasküler komplikasyonu diyabetik hastalarda TG düzeyinin, diyabetik olmayanlardan yüksek olduğu bulunmuştur[117]. Son dönemde obezite, dislipidemi ve HT gibi kardiyovasküler risk faktörlerinin de tip 2 diyabetik hastalarda diyabetik polinöropati progresyonu ile ilişkili olduğu belirtilmektedir[118]. Tip 2 diyabetiklerin dahil edildiği prospektif bir çalışmada TG düzeyi diyabetik nöropatisi olanlarda olmayanlara göre daha yüksek bulunmuştur. HDL düzeyi ise diyabetik nöropatisi olanlarda olmayanlardan daha düşük olarak saptanmıştır. Yine aynı çalışmada HbA1c'nin yüksek olması ve diyabet süresinin artmasının diyabetik nöropati gelişiminde önemli birer risk faktörü olduğu belirlenmiştir. Total kolesterol ve LDL düzeyleri ile nöropati gelişimi arasında ise ilişki saptanamamıştır[119]. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde diyabetik nöropatisi olan hastalarda HbA1c, diyabet süresi ve TG düzeyleri nöropatisi olmayanlardan yüksek iken, HDL düzeyleri ise düşük olarak bulunmuştur. LDL ve total kolesterol seviyeleri ile nöropati gelişimi arasında ise anlamlı fark gözlenmemiştir. Yine HDL ve TG düzeylerinin sitokinler, MMP'lar ve oksidatif stres belirteçleri ile korelasyonunun görülmesi HDL ve TG'in bu mekanizmaları etkileyen faktörler olduğunu düşündürmüştür.

Vit D eksikliğinin diyabetik nöropatisi olan hastalarda nöropatisi olmayanlara göre daha sık olduğu bildirilmiştir[24, 120]. Bizim çalışmamızda da benzer olarak DPNP(+) grupta istatistiksel anlamlılık kazanmasa da Vit D seviyesi düşük bulunmuştur. Ayrıca Vit D'nin nöropatik ağrı ile ilişkisinin araştırıldığı çalışmalar

bulunmaktadır. Bunlardan birinde Vit D eksikliği olanlarda hissizlik ve uyuşmanın Vit D düzeyi normal olanlara göre daha fazla görüldüğü bildirilmiştir[121]. Ancak bizim sonuçlarımıza göre Vit D düzeyi ile nöropatik ağrı arasında ilişki bulunmamıştır. Ayrıca Vit D yaş, HbA1c, MMP-2 ve MMP-10 dışındaki parametrelerle korele bulunmamıştır.

Çalışmamızda IL-6, TNF- α , IL-1 β diyabetik hastalarda kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Çalışmamıza benzer olarak Tip 2 diyabet hastalarında TNF- α , IL-6 ve hsCRP gibi proinflamatuvar sitokinlerin arttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır[122-127].

Bilindiği üzere diyabet insülin direnci ve insülin salınımında görece azalmayla karakterizedir. Yağ dokusu sitokinlerin yoğun bulunduğu dokulardan olup vücut yağ kitlesinin artışı inflamatuvar sitokinlerin artışına neden olmaktadır[128]. İnsülin direncinin yağ dokusunda TNF- α , IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin artmış salınımı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir[129]. Lipolizin modülasyonu, yağ dokusu tarafından glukoz alınımının bozulması veya insülin sinyal yolağını bloke eden FFA seviyelerinin artışı, insülin direnci ve sitokinler diyabet gelişiminde rol oynayan mekanizmalardandır[130]. Son yıllarda IL-1 β ve TNF- α gibi inflamatuvar sitokinleri kodlayan genlerdeki polimorfizm de diyabet gelişiminde ve komplikasyonların oluşumunda suçlanmaktadır[131].

Diyabetik polinöropati patofizyolojisinde hiperglisemiye bağlı metabolik bozukluklar ve mikrovasküler hasar yıllardır bilinmekte olsa da son yıllarda yapılan çalışmalarda diyabetik polinöropatinin gelişiminde de inflamatuvar bir sürecin önemli rol oynadığı göstermiştir[132]. Sitokin ve kemokinler sadece inflamatuvar ve immün yanıtları arttırmakla kalmayıp oksidatif stresi de arttırarak nöronal hasarı daha da fazlalaştırmaktadır[133]. Birçok prelinik ve klinik çalışma özellikle sitokin ve kemokinlerin rol aldığı inflamatuvar sürecin diyabetik nöropati gelişiminde önemli rolü olduğunu göstermiştir[114, 134, 135]. Bizim çalışmamızda da diyabetik polinöropatisi olan hastalarda IL-6, IL-1 β ve TNF- α seviyeleri polinöropatisi olmayan diyabetik hastalardan daha yüksek bulunmuştur.

Miyokard ve vasküleyapıların matriks yeniden yapılanmasında temel görev alan MMP'lar MMP-2 ve MMP-9'dur. Literatürde MMP-2 VE MMP-9 düzeylerinin diyabetik hastalarda kontrol grubuna göre yüksek saptandığı çalışmalar bulunmaktadır[136, 137]. Bizim çalışmamızda da MMP-2 ve MMP-9 diyabetiklerde

yüksek bulunmuştur. Diyabetik nöropatisi olanlarda ise MMP-9 anlamlı yüksek saptanırken nöropatisi olan ve olmayan gruplar arasında MMP-2 değerleri farklılık göstermemiştir. MMP-9 ve MMP-2'nin diyabetik ve diyabetik olmayan ratlarda incelendiği bir hayvan çalışmasında diyabetik ratlarda endotel hücrelerinde MMP-9 ekspresyonu ve aktivitesi artarken MMP-2 seviyeleri arasında fark bulunmamıştır. Yine bu çalışmada antioksidan tedavi ile MMP-9 aktivitesinin azaldığının gösterilmesi hiperglisemi ile MMP-9 un indüklenmesinde oksidatif stresin de rol oynadığı şeklinde yorumlanmıştır[138].

Plazma MMP-9 yüksekliğinin sistemik HT'ü olan hastalarda da görüldüğünü bildiren çalışmalar da vardır[139, 140]. Tip 2 diyabetiklerde diyabetik olmayanlara göre MMP-9'u yüksek bulmuş olan çalışmada kan basıncı kontrollerine göre hastalar gruplandırıldığında ise yalnızca kontrolsüz HT olanlarda tip 2 DM ile MMP-9 arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır[141].Bizim çalışmamızda ise kan basıncı kontrolü değerlendirilmeye alınmamıştır. HT olan ve olmayan diyabetik hastalar karşılaştırıldığında ise MMP-9 değerleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

MMP-10 ile yapılmış çalışmalar ise çok sınırlıdır. MMP-10 ile yapılmış nadir çalışmalardan birinde MMP-10'un aterosklerotik vasküler yeniden yapılandırılmadaki rolünün MMP-10 yüksekliği ile inflamatuvar belirteçlerin artışının ilişkili olduğu gösterilmiştir[142]. Tip 1 diyabette MMP-10'un incelendiği 2 çalışma bulunmaktadır. Bunlardan birinde Tip 1 diyabetiklerde MMP-10 seviyeleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuş ve multivaryant analizlerde bu yüksekliğin nefropati ve proliferatif retinopati gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir[143]. Diğer bir çalışmada da tip 1 diyabetiklerde MMP-10 yüksekliği albüminüri ile ilişkili bulunmuştur. Bilindiği kadarıyla diyabetik polinöropatide MMP-10 düzeyini irdeleyen çalışma yoktur ve bizim çalışmamız diyabetik polinöropatili hastalarda MMP-10 plazma düzeyinin de MMP-9 ile birlikte arttığını gösteren ilk çalışmadır.

Oksidatif stres, diyabet ve kronik komplikasyonlarının gelişmesi ile ilişkilendirilmiştir[144].Hiperglisemiye uzun süre maruziyete bağlı olarak reaktif oksijen radikallerinin arttığı ve adacık hücrelerinde oksidatif stres oluştuğu bildirilmiştir[145]. Oksidatif stres ve kronik hiperglisemi, mitokondriyal elektron transport zinciri ile hiperglisemi tarafından indüklenmiş serbest oksijen radikallerinin

aşırı üretimine neden olarak diyabetik komplikasyonların gelişimine yol açmaktadırlar[146].

Tip 2 diyabetik hastalarda oksidatif stresi araştıran bir çalışmada TAS seviyesi diyabetik hastalarda diyabetik olmayanlardan düşük bulunmuştur[147]. Diyabetin mikrovasküler komplikasyonlarından biri olan diyabetik nefropati ile oksidatif stres ilişkisini araştırmak için yapılan bir çalışmada tip 2 diyabetik hastalarda TOS ve OSI seviyeleri diyabetik olmayanlardan, diyabetik nefropatili hastalarda ise diyabetik hastalardan daha yüksek bulunmuştur. TAS düzeyi ise diyabetik nefropatili hastalarda diyabetik hastalardan daha düşük bulunmuş ancak diyabetik olan ve olmayan hastalar arasında anlamlı fark bulunmamıştır[148].

Diyabetik nöropati ile oksidatif stres ilişkisini araştıran bir çalışmada TAS düzeyi diyabetik hastalarda diyabetik olmayanlardan daha düşük, TOS ve OSI ise daha yüksek bulunmuş ancak diyabetik nöropatili hastalar ile diyabetik hastalar arasında TAS, TOS ve OSI düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır[149]. Yapılan bir başka çalışmada ise TAS düzeyi diyabetik nöropatili hastalarda diyabetik olmayan kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur[150]. Bizim çalışmamızda ise TAS seviyeleri diyabeti olan hastalarda olmayanlardan, diyabetik nöropatisi olanlarda ise diyabetik nöropatisi olmayanlardan anlamlı derecede düşük bulunmuştur. TOS ve OSI değerleri ise diyabetik nöropatisi olan grupta diyabetik nöropatisi olmayanlardan, diyabetik hastalarda ise sağlıklı kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Oksidatif stresin tetiklediği DNA hasarı diyabetik komplikasyonların gelişiminde rol oynamaktadır[151]. Diyabetik hastalarda DNA hasarını inceleyen bir çalışmada diyabetik olan hastalarda diyabetik olmayan hastalara göre DNA hasarının daha fazla olduğu, diyabetik nöropatisi olan hastalarda da diyabetik hastalara göre daha fazla olduğu gösterilmiştir. Ayrıca DNA hasarı ile diyabet süresinin pozitif olarak korele olduğu saptanmıştır[152].

Tip 2 diyabetik hastalarda hiperglisemi ile DNA hasarını araştıran bir çalışmada DNA hasarı seviyesi hiperglisemik seyreden diyabetik hastalarda hiperglisemik seyretmeyen diyabetik hastalardan ve diyabetik olmayanlardan yüksek bulunmuş, hiperglisemik seyretmeyen diyabetikler ve diyabetik olmayanlar arasında ise anlamlı farklılık saptanmamıştır[153].

Comet analiz yöntemi ile DNA hasarı ve diyabetik nöropati ilişkisini araştıran bir başka çalışmada DNA hasarı diyabetik hastalarda diyabetik olmayanlardan yüksek bulunmuştur. Diyabetik nöropatili hastalarda diyabetik nöropatisi olmayan diyabetik hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da DNA hasarının daha fazla olduğu saptanmıştır[154]. Bizim çalışmamızda ise DNA hasar seviyesi diyabetik hastalarda diyabeti olmayanlara göre, diyabetik nöropatisi olan diyabetik hastalarda da diyabetik nöropatisi olmayan diyabetik hastalara göre daha yüksek bulunmuştur.

Özetle çalışmamızda diyabetik polinöropatisi olan hastalarda IL-6, IL- β , TNF- α , MMP-9, MMP-10, TOS ve OSİ düzeylerinin ve DNA hasarı seviyelerinin en yüksek, TAS düzeyinin ise en düşük olduğu bulunmuştur. Bu da diyabetik polinöropatinin patofizyolojisinde inflamasyon, oksidatif stres ve DNA hasarının birlikte rol aldığını desteklemektedir. Bu parametrelerin de birbiriyle korelasyonunun gösterilmesi mekanizmaların birlikte işlediği ve her bir faktörün diğerini tetiklediğini desteklemektedir.

Hastalarımız nöropatik ağrı skalasına göre gruplandırıldığında da DN4 skoru 4 ve üzerinde olanlarda IL-6, IL-1 β , TNF- α , MMP-9, MMP-10, TOS ve OSİ düzeylerinin yüksek ve TAS düzeyinin ise düşük olduğu görülmüştür. Yine korelasyon analizlerinde diyabet süresi ve DN4'ün IL-6, IL-1 β , TNF- α , MMP-10, TAS, TOS ve OSİ ile korelasyonunun gösterilmesi diyabet süresi arttıkça inflamasyon ve oksidatif stresin arttığını ve nöropatik ağrının ağırlaştığını düşündürmektedir.

Nöropatik ağrının gelişiminde mikroglia, astrositler ve immun hücreler gibi non-nöronal hücrelerin aktivasyonunun önemli rol oynadığına dair kanıtlar artmaktadır[155]. Çalışmalar glia hücrelerinin nöronlar arasındaki iletişimi etkilediği ve patolojik ağrının oluşmasında rol oynadığını göstermektedir[156]. Santral sinir sisteminin makrofajları olarak görev yapan mikroglia hücreleri sinir sistemi ve immun sistem arasındaki sinyallerden sorumludurlar. Mikrogliaların nöropatik ağrının başlamasında sorumlu tutulmaktadır[157]. Mikroglialar persistan ağrı ile sonuçlanan periferik sinir ya da santral hasar sonrası gelişen nöroimmun yanıtta rol oynamaktadırlar[158]. Bu hücrelerin hiperglisemik durumda spinal kordda aktive olduğu bildirilmektedir[159].

Patolojik ağrının oluşmasında mikroglialardan salınan proinflamatuvar sitokinlerin önemli rolü olduğu bildirilmektedir[155]. Rat çalışmalarında tip 1 diyabete eşlik eden ağırlı nöropatinin IL-1, IL-6 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin

salınımı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bir çalışmada da minosiklin administrasyonu hem ağrı gelişimini azaltmış hem de IL-1 ve TNF- α seviyelerinde düşüşe neden olmuştur[157].

Bu çalışmalar spinal mikrogliaların hiperglisemik durumlarda aktive olarak proinflamatuvar sitokinlerin ve oksidatif stresin artmasında neden olduğunu desteklemektedir. Bizim çalışmamızda nöropatik ağrısı olan hastalarda plazmada proinflamatuvar sitokinler ve oksidatif stres markerlerinin artmış olduğu gösterilmiştir.

Bunun yanında transkripsiyonel seviyede IL-1 β , IL-6, TNF- α ve makrofaj koloni stimüle edici faktör gibi inflamatuvar sitokinler, büyüme faktörleri ve tümör promoterlerinin bir bölümü MMP transkripsiyonel aktivasyonuna neden olmaktadır. Bunlara ek olarak hiperglisemi de MMP gen ekspresyonunu kontrol eden faktörlerdendir[20]. MMP-2 ve MMP-9'un aktivasyonunda sitokinler ve büyüme hormonları da rol almaktadır[160].Oksidatif stres de MMP'ların önemli aktivatörlerindendir[21].

Diyabette, hiperglisemi sitozolik MMP-2 ve MMP-9'u aktive eder ve bu MMP'lar mitokondriyal membrana zarar verir. Zamanla mitokondride birikir, yapısını bozar ve mitokondriyal DNA hasarı başlar[21, 161].

Nöropatik ağrının oluşmasında da en çok suçlanan MMP'lar MMP-2 ve MMP-9'dur[162]. Hiperglisemi ve direkt sinir hasarı glia hücrelerinden özellikle MMP-2 ve MMP-9 salgılanmasına neden olmaktadır. Bu MMP'lar da mikroglialardaki sitokin ve kemokin reseptörlerini aktive eden sitokinlerin salgınımına neden olmakta ve IL-1 β ve IL-6 salgınımı artmaktadır[163].Bu sitokinler de sonrasında MMP-2 salgınımını daha da arttırmaktadır[164]. İn vitro çalışmalarda da MMP-2 ve MMP-9'un lenfositlerde TNF- α salgınımına neden olduğu gösterilmiştir[165].

Çalışmamızda sitokinler, MMP'lar ve oksidatif stresin yanında DNA hasarı da nöropatik ağrısı yüksek olanlarda olmayanlara göre daha yüksek bulunmuştur. Bilindiği kadarıyla çalışmamız nöropatik ağrı ile DNA hasarının ilişkisini irdeleyen ilk çalışmadır. MMP'ların mitokondriyal DNA hasarına neden olduğu bilinmemekte ise de nöropatik ağrı patofizyolojisinde DNA hasarının yeri konusunda yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ

Diyabetik polinöropati diyabetin önemli komplikasyonlarından biri olup patogeneğinde mikrovasküler hasar, metabolik bozukluklar ve glial hücre aktivasyonu ile ilişkili nöroimmünojik sistemdeki değişiklikler rol oynamaktadır.

Son yıllarda diyabetik nöropatik ağrının patogeneğinde nöroinflamasyon ve oksidatif stresin önemli rol oynadığı yönünde kanıtlar artmaktadır. Bizim çalışmamızda da diyabetik polinöropati ve nöropatik ağrısı olan hastalarda inflamasyon ve oksidatif stres belirteçlerinin yüksek bulunması yapılan çalışmaları desteklemektedir. Diyabetik komplikasyonların gelişiminde DNA hasarını işaret eden ise sınırlı çalışma vardır. Bizim çalışmamızın sonuçlarından biri de artan inflamasyon ve oksidatif stresin DNA hasarını da arttırdığı ve diyabetik nöropati ve eşlik eden ağrı ile ilişkili olduğudur.

Diyabetik nöropatik ağrı tedavisi en zor ağrı tiplerinden biri olup genellikle tedaviler yeterli fayda sağlamamaktadır. Ayrıca zamanla gelişen intolerans ve neden olabildikleri toksisiteler konvansiyonel tedavilere alternatif olabilecek yeni tedavi arayışlarını gündeme getirmiştir. Patogeneğinde inflamasyon ve oksidatif stresin önemli rolünün gösterilmesi ile nöropatik ağrının tedavisinde antiinflamatuvar ve antioksidan tedavilerin araştırılmasını gündeme getirmiştir.

Diyabetik nöropatik ağrıyı önlemede kullanılabilecek yeni tedaviler henüz prelinik çalışma aşamasında olup yapılacak yeni çalışmalar ile bu tedavilerin geliştirilmesi nöropatik ağrı tedavisinin klinik başarısı için önem arz etmektedir. Bizim çalışmamızda da nöroinflamasyon ve oksidatif stres belirteçlerinin bir kısır döngü içerisinde birbirini etkileyerek artması sonucu patogeneğinde rol oynadıkları gösterilmiş, bu döngünün inhibe edilmesi ile diyabetik nöropati gelişiminin ve nöropatik ağrının azaltılabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda inflamasyon ve oksidatif stres belirteçlerinin diyabetin mikrovasküler bir komplikasyonu olan diyabetik nöropatide yüksek olduğunun saptanması, yapılacak yeni çalışmalar ışığında bulunacak tedaviler ile diyabetin belki de tüm vasküler komplikasyonlarının azaltılabileceğini düşündürmektedir. Diyabetik nöropati ve nöropatik ağrı ile ilgili yapılan çalışmalar kısıtlı olup yeni çalışmaların yapılması gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Dyck, P.J., et al., *The prevalence by staged severity of various types of diabetic neuropathy, retinopathy, and nephropathy in a population-based cohort: the Rochester Diabetic Neuropathy Study*. Neurology, 1993. **43**(4): p. 817-24.
2. Ross, M.A., *Neuropathies associated with diabetes*. Med Clin North Am, 1993. **77**(1): p. 111-24.
3. Powers , A.C., *Diabetes Mellitus*, in *Harrison's Principles of Internal Medicine*, A.S. Fauci, et al., Editors. 2013, Mc Graw Hill Company New York. p. 2275-2280.
4. Association, A.D., *Diagnosis and classification of diabetes mellitus*. Diabetes Care, 2013. **36 Suppl 1**: p. S67-74.
5. *IDF Diabetes Atlas*. 2013: International Diabetes Federation.
6. Satman, I., et al., *Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults*. Eur J Epidemiol, 2013. **28**(2): p. 169-80.
7. DiabetesAssociation, A., *Diagnosis and classification of diabetes mellitus*. Diabetes Care, 2013. **36 Suppl 1**: p. S67-74.
8. Harris, M.I., *Definition and classification of diabetes mellitus and criteria for diagnosis*, in *Diabetes Mellitus: A Fundamental and Clinical Text*, D. LeRoith, S. I. Taylor, and J. M.Olefsky, Editors. 2004, Lippincott Williams& Wilkins: Philadelphia. p. 457-467.
9. Öge, A.E., *Yaygın edinsel nöropatiler*, in *Nöroloji Temel Kitabı*, M. Emre, Editor. 2013, Güneş Tıp Kitapevleri: İstanbul. p. 535-539.
10. Jensen, T.S., et al., *New perspectives on the management of diabetic peripheral neuropathic pain*. Diab Vasc Dis Res, 2006. **3**(2): p. 108-19.
11. Erbas, T., et al., *Prevalence of peripheral neuropathy and painful peripheral neuropathy in Turkish diabetic patients*. J Clin Neurophysiol, 2011. **28**(1): p. 51-5.
12. Boulton, A.J., et al., *Diabetic neuropathies: a statement by the American Diabetes Association*. Diabetes Care, 2005. **28**(4): p. 956-62.
13. Zochodne, D.W., *Diabetic polyneuropathy: an update*. Curr Opin Neurol, 2008. **21**(5): p. 527-33.
14. Brownlee, M., *The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism*. Diabetes, 2005. **54**(6): p. 1615-25.
15. Vincent, A.M., et al., *Diabetic neuropathy: cellular mechanisms as therapeutic targets*. Nat Rev Neurol, 2011. **7**(10): p. 573-83.
16. Hinder, L.M., et al., *Decreased glycolytic and tricarboxylic acid cycle intermediates coincide with peripheral nervous system oxidative stress in a murine model of type 2 diabetes*. J Endocrinol, 2013. **216**(1): p. 1-11.

17. Kuhad, A., P. Singh, and K. Chopra, *Matrix metalloproteinases: potential therapeutic target for diabetic neuropathic pain*. *Expert Opin Ther Targets*, 2015. **19**(2): p. 177-85.
18. Rundhaug, J.E., *Matrix metalloproteinases and angiogenesis*. *J Cell Mol Med*, 2005. **9**(2): p. 267-85.
19. Maskos, K., *Crystal structures of MMPs in complex with physiological and pharmacological inhibitors*. *Biochimie*, 2005. **87**(3-4): p. 249-63.
20. Kadoglou, N.P., et al., *Matrix metalloproteinases and diabetic vascular complications*. *Angiology*, 2005. **56**(2): p. 173-89.
21. Mohammad, G. and R.A. Kowluru, *Novel role of mitochondrial matrix metalloproteinase-2 in the development of diabetic retinopathy*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011. **52**(6): p. 3832-41.
22. Thraikill, K.M., R. Clay Bunn, and J.L. Fowlkes, *Matrix metalloproteinases: their potential role in the pathogenesis of diabetic nephropathy*. *Endocrine*, 2009. **35**(1): p. 1-10.
23. Singh, R., L. Kishore, and N. Kaur, *Diabetic peripheral neuropathy: current perspective and future directions*. *Pharmacol Res*, 2014. **80**: p. 21-35.
24. Skalli, S., et al., *Vitamin D deficiency and peripheral diabetic neuropathy*. *Eur J Intern Med*, 2012. **23**(2): p. e67-8.
25. Singh, N.P., et al., *DNA damage and repair with age in individual human lymphocytes*. *Mutat Res*, 1990. **237**(3-4): p. 123-30.
26. Ostling, O. and K.J. Johanson, *Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells*. *Biochem Biophys Res Commun*, 1984. **123**(1): p. 291-8.
27. Das, A.K. and S. Shah, *History of diabetes: from ants to analogs*. *J Assoc Physicians India*, 2011. **59 Suppl**: p. 6-7.
28. Yöntem, A., *Diabetes Mellitus Fizyoloji, Tanımlama, Sınıflama, Etiyopatogenez, Klinik Özellikler*, in *Endokrinoloji Metabolizma ve Diyabet*, M. Özata, Editor. 2011, İstanbul Tıp Kitabevi: İstanbul. p. 543-564.
29. Lakhtakia, R., *The history of diabetes mellitus*. *Sultan Qaboos Univ Med J*, 2013. **13**(3): p. 368-70.
30. Savona-Ventura, C., *The History of Diabetes Mellitus - A Maltese perspective*. 2002, Malta: The Author. 41.
31. Hu, F.B., *Globalization of diabetes: the role of diet, lifestyle, and genes*. *Diabetes Care*, 2011. **34**(6): p. 1249-57.
32. American Diabetes, A., *Economic costs of diabetes in the U.S. in 2012*. *Diabetes Care*, 2013. **36**(4): p. 1033-46.
33. Satman, I., et al., *Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP)*. *Diabetes Care*, 2002. **25**(9): p. 1551-6.

34. Grubu, T.D.M.Ç.v.E., *TEMED-Diabetes Mellitus ve Komplikasyonları Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu*. 7. baskı ed. 2015, Ankara: Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği.
35. American Diabetes, A., *2. Classification and Diagnosis of Diabetes*. Diabetes Care, 2016. **39 Suppl 1**: p. S13-22.
36. American Diabetes, A., *Diagnosis and classification of diabetes mellitus*. Diabetes Care, 2012. **35 Suppl 1**: p. S64-71.
37. Eraslan Biberoglu, S., *Diyabetin Akut Komplikasyonları*, in *Endokrinoloji Metabolizma ve Diyabet*, M. Özata, Editor. 2011, İstanbul Tıp Kitabevi: İstanbul. p. 627-639.
38. Fowler, M.J., *Microvascular and Macrovascular Complications of Diabetes*. Clinical Diabetes, 2008. **26(2)**: p. 77-82.
39. Akalın, S., et al., *Diabetes Mellitus 2000*, ed. C. Yılmaz, M.T. Yılmaz, and Ş. İmamoğlu. 2000, İstanbul: Gri Tasarım.
40. Luscher, T.F., et al., *Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: Part II*. Circulation, 2003. **108(13)**: p. 1655-61.
41. Yılmaz, C., S. Çetinkalp, and C. Değirmenci, *Diabet Tedavisi*. Vol. 7. 2003, İzmir: Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği Yayınları.
42. Yenigün, M., *Her Yönü ile Diyabetes Mellitus*. 1995, İstanbul: Haseki Hastanesi Vakfı Yayını II.
43. Dokken, B.B., *The Pathophysiology of Cardiovascular Disease and Diabetes: Beyond Blood Pressure and Lipids*. Diabetes Spectrum, 2008. **21(3)**: p. 160-165.
44. Keskin, Ö. and B. Balci, *Diabetes Mellitus ve Kardiyovasküler Komplikasyonlar*. Kafkas J Med Sci 2011. **1(2)**: p. 81-85.
45. Marchant, B., et al., *Silent myocardial ischemia: role of subclinical neuropathy in patients with and without diabetes*. J Am Coll Cardiol, 1993. **22(5)**: p. 1433-7.
46. Moghaddasi, M., M. Mamarabadi, and A.H. Habibi, *A comparison of cerebral vasomotor reactivity in diabetic and nondiabetic Iranian patients*. J Res Med Sci, 2010. **15(1)**: p. 50-3.
47. Akçicek, F., et al., *Diabetes Mellitus*, ed. M. Tüzün. 1997: Novo Nordisk.
48. Bello, N.A., et al., *Retinopathy and clinical outcomes in patients with type 2 diabetes mellitus, chronic kidney disease, and anemia*. BMJ Open Diabetes Res Care, 2014. **2(1)**: p. e000011.
49. Paulson, O.B., et al., *Cerebral blood flow response to functional activation*. J Cereb Blood Flow Metab, 2010. **30(1)**: p. 2-14.
50. Polat, B. and F. Batioğlu, *Diabetik Retinopatide Güncel Tıbbi Tedavi Yaklaşımları*. Ret-Vit, 2007. **15**: p. 153-159.
51. Ding, J., et al., *Early retinal arteriolar changes and peripheral neuropathy in diabetes*. Diabetes Care, 2012. **35(5)**: p. 1098-104.

52. Herman, W.H., *Eye Disease and Nephropathy in NIDDM*. Diabetes Care, 1990. **13**(2): p. 24-29.
53. Lim, A., *Diabetic nephropathy - complications and treatment*. Int J Nephrol Renovasc Dis, 2014. **7**: p. 361-81.
54. Aslan, M., et al., *Diabetes Mellitusta Tanı ve Sınıflandırma*, in *İç Hastalıkları*. 2003, Güneş Kitabevi: İstanbul. p. 2279-2295, 2295-2299, 2321-2332.
55. Gross, J.L., et al., *Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention, and treatment*. Diabetes Care, 2005. **28**(1): p. 164-76.
56. Tesfaye, S., et al., *Diabetic neuropathies: update on definitions, diagnostic criteria, estimation of severity, and treatments*. Diabetes Care, 2010. **33**(10): p. 2285-93.
57. *Report and recommendations of the San Antonio conference on diabetic neuropathy*. Ann Neurol, 1988. **24**(1): p. 99-104.
58. Thomas, P. and D.R. Tomlinson, *Diabetic and hypoglysemic neuropathy: Peripheral Neuropathy*. 1993, Philadelphia: W.B.Sounders Company.
59. Macleod, A. and P. Sönksen, *Diabetic neuropathy*, in *Diabetic Complication*, K.M. Shaw, Editor. 1996, John Wiley and Sons Ltd. p. 123-147.
60. Boru, U.T., et al., *Prevalence of peripheral neuropathy in type 2 diabetic patients attending a diabetes center in Turkey*. Endocr J, 2004. **51**(6): p. 563-7.
61. Ertekin, C., *Diyabetik Nöropatiler, Santral ve Periferik EMG Anatomi-Fizyoloji Klinik*. 2006, İzmir: Meta Yayıncılık.
62. Park, T.S., J.H. Park, and H.S. Baek, *Can diabetic neuropathy be prevented?* Diabetes Res Clin Pract, 2004. **66 Suppl 1**: p. S53-6.
63. Van Acker, K., et al., *Prevalence and impact on quality of life of peripheral neuropathy with or without neuropathic pain in type 1 and type 2 diabetic patients attending hospital outpatients clinics*. Diabetes Metab, 2009. **35**(3): p. 206-13.
64. Davies, M., et al., *The prevalence, severity, and impact of painful diabetic peripheral neuropathy in type 2 diabetes*. Diabetes Care, 2006. **29**(7): p. 1518-22.
65. Treede, R.D., et al., *Neuropathic pain: redefinition and a grading system for clinical and research purposes*. Neurology, 2008. **70**(18): p. 1630-5.
66. Boulton, A.J., et al., *Diabetic somatic neuropathies*. Diabetes Care, 2004. **27**(6): p. 1458-86.
67. Apfel, S.C., et al., *Positive neuropathic sensory symptoms as endpoints in diabetic neuropathy trials*. J Neurol Sci, 2001. **189**(1-2): p. 3-5.
68. Cruccu, G., et al., *EFNS guidelines on neuropathic pain assessment*. Eur J Neurol, 2004. **11**(3): p. 153-62.
69. Bouhassira, D., et al., *Comparison of pain syndromes associated with nervous or somatic lesions and development of a new neuropathic pain diagnostic questionnaire (DN4)*. Pain, 2005. **114**(1-2): p. 29-36.

70. Ertekin, C., *Diyabetik Nöropatiler Klinik ve Elektrofizyolojik Değerlendirme*. 2000, İzmir: Meta Basım. 57.
71. Dyck, P.J. and P.K. Thomas, *Pathology- Symmetric Polyneuropathy*. 3th ed. Peripheral Neuropathy. 1993, USA: W.B- Saunders Company. 1230.
72. Ropper, A.H. and R.H. Brown, *Diabetic Neuropathy*, in *Adams and Victor's Principles of Neurology*. 2006, McGraw-Hill Company: USA. p. 1134-1136.
73. Partanen, J., et al., *Natural history of peripheral neuropathy in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus*. N Engl J Med, 1995. **333**(2): p. 89-94.
74. *The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group*. N Engl J Med, 1993. **329**(14): p. 977-86.
75. Tan, E., *Nöropatik ağrı*. 2009, İstanbul: Veri medical yayıncılık.
76. Sumner, C.J., et al., *The spectrum of neuropathy in diabetes and impaired glucose tolerance*. Neurology, 2003. **60**(1): p. 108-11.
77. Paneni, F., et al., *Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part I*. Eur Heart J, 2013. **34**(31): p. 2436-43.
78. Oates, P.J., *Aldose reductase, still a compelling target for diabetic neuropathy*. Curr Drug Targets, 2008. **9**(1): p. 14-36.
79. Schmid, U., et al., *Benfotiamine exhibits direct antioxidative capacity and prevents induction of DNA damage in vitro*. Diabetes Metab Res Rev, 2008. **24**(5): p. 371-7.
80. Du, X.L., et al., *Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. **97**(22): p. 12222-6.
81. Purves, T., et al., *A role for mitogen-activated protein kinases in the etiology of diabetic neuropathy*. FASEB J, 2001. **15**(13): p. 2508-14.
82. Forbes, J.M. and M.E. Cooper, *Mechanisms of diabetic complications*. Physiol Rev, 2013. **93**(1): p. 137-88.
83. Negi, G., et al., *Functional and biochemical evidence indicating beneficial effect of Melatonin and Nicotinamide alone and in combination in experimental diabetic neuropathy*. Neuropharmacology, 2010. **58**(3): p. 585-92.
84. Pop-Busui, R., et al., *Dissection of metabolic, vascular, and nerve conduction interrelationships in experimental diabetic neuropathy by cyclooxygenase inhibition and acetyl-L-carnitine administration*. Diabetes, 2002. **51**(8): p. 2619-28.
85. Vinik, A.I. and A. Mehrabyan, *Diabetic neuropathies*. Med Clin North Am, 2004. **88**(4): p. 947-99, xi.
86. Dyck, P.J., et al., *Human diabetic endoneurial sorbitol, fructose, and myo-inositol related to sural nerve morphometry*. Ann Neurol, 1980. **8**(6): p. 590-6.

87. Dyck, P.J., et al., *Fiber loss is primary and multifocal in sural nerves in diabetic polyneuropathy*. Ann Neurol, 1986. **19**(5): p. 425-39.
88. Lawrence, E. and S.D. Brain, *Altered microvascular reactivity to endothelin-1, endothelin-3 and NG-nitro-L-arginine methyl ester in streptozotocin-induced diabetes mellitus*. Br J Pharmacol, 1992. **106**(4): p. 1035-40.
89. Younger, D.S., et al., *Diabetic peripheral neuropathy: a clinicopathologic and immunohistochemical analysis of sural nerve biopsies*. Muscle Nerve, 1996. **19**(6): p. 722-7.
90. Pitocco, D., et al., *Oxidative stress in diabetes: implications for vascular and other complications*. Int J Mol Sci, 2013. **14**(11): p. 21525-50.
91. Brownlee, M., *Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications*. Nature, 2001. **414**(6865): p. 813-20.
92. Cameron, N.E. and M.A. Cotter, *Pro-inflammatory mechanisms in diabetic neuropathy: focus on the nuclear factor kappa B pathway*. Curr Drug Targets, 2008. **9**(1): p. 60-7.
93. Cameron, N.E., et al., *Protein kinase C effects on nerve function, perfusion, Na(+), K(+)-ATPase activity and glutathione content in diabetic rats*. Diabetologia, 1999. **42**(9): p. 1120-30.
94. Koya, D. and G.L. King, *Protein kinase C activation and the development of diabetic complications*. Diabetes, 1998. **47**(6): p. 859-66.
95. Hirata, K., et al., *Inhibition of endothelial nitric oxide synthase activity by protein kinase C*. Hypertension, 1995. **25**(2): p. 180-5.
96. Soskic, S.S., et al., *Regulation of Inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) and its Potential Role in Insulin Resistance, Diabetes and Heart Failure*. Open Cardiovasc Med J, 2011. **5**: p. 153-63.
97. Chung, S.S., et al., *Contribution of polyol pathway to diabetes-induced oxidative stress*. J Am Soc Nephrol, 2003. **14**(8 Suppl 3): p. S233-6.
98. King, R.H., *The role of glycation in the pathogenesis of diabetic polyneuropathy*. Mol Pathol, 2001. **54**(6): p. 400-8.
99. Du, X., et al., *Inhibition of GAPDH activity by poly(ADP-ribose) polymerase activates three major pathways of hyperglycemic damage in endothelial cells*. J Clin Invest, 2003. **112**(7): p. 1049-57.
100. Ekberg, K. and B.L. Johansson, *Effect of C-peptide on diabetic neuropathy in patients with type 1 diabetes*. Exp Diabetes Res, 2008. **2008**: p. 457912.
101. Rolo, A.P. and C.M. Palmeira, *Diabetes and mitochondrial function: role of hyperglycemia and oxidative stress*. Toxicol Appl Pharmacol, 2006. **212**(2): p. 167-78.
102. Smith, R.A. and M.P. Murphy, *Mitochondria-targeted antioxidants as therapies*. Discov Med, 2011. **11**(57): p. 106-14.
103. Fernyhough, P., T.J. Huang, and A. Verkhratsky, *Mechanism of mitochondrial dysfunction in diabetic sensory neuropathy*. J Peripher Nerv Syst, 2003. **8**(4): p. 227-35.

104. Işık, S., et al., *Kalp hastalarında diyabet yönetimi*. Anadolu Kardiyoloji Dergisi, 2009. **9**: p. 238-247.
105. Azal, Ö. and A. Taşpınar, *Hiperlipidemi ve diyabetik nöropati*, in *Türk Diyabet Yıllığı 2010-2011*. 2011, Türk Diyabet Cemiyeti ve Türkiye Diyabet Vakfı. p. 59-69.
106. Yan, S.D., et al., *Enhanced cellular oxidant stress by the interaction of advanced glycation end products with their receptors/binding proteins*. J Biol Chem, 1994. **269**(13): p. 9889-97.
107. Wada, R. and S. Yagihashi, *Role of advanced glycation end products and their receptors in development of diabetic neuropathy*. Ann N Y Acad Sci, 2005. **1043**: p. 598-604.
108. Vlassara, H., et al., *Inflammatory mediators are induced by dietary glycotoxins, a major risk factor for diabetic angiopathy*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002. **99**(24): p. 15596-601.
109. Wang, X.M., et al., *Discovering cytokines as targets for chemotherapy-induced painful peripheral neuropathy*. Cytokine, 2012. **59**(1): p. 3-9.
110. Shi, X., et al., *Beneficial effect of TNF-alpha inhibition on diabetic peripheral neuropathy*. J Neuroinflammation, 2013. **10**: p. 69.
111. Pacher, P., J.S. Beckman, and L. Liaudet, *Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease*. Physiol Rev, 2007. **87**(1): p. 315-424.
112. Szabo, C., *Multiple pathways of peroxynitrite cytotoxicity*. Toxicol Lett, 2003. **140-141**: p. 105-12.
113. Ramesh, G., A.G. MacLean, and M.T. Philipp, *Cytokines and chemokines at the crossroads of neuroinflammation, neurodegeneration, and neuropathic pain*. Mediators Inflamm, 2013. **2013**: p. 480739.
114. Kellogg, A.P., et al., *Protective effects of cyclooxygenase-2 gene inactivation against peripheral nerve dysfunction and intraepidermal nerve fiber loss in experimental diabetes*. Diabetes, 2007. **56**(12): p. 2997-3005.
115. Sena, C.M., A.M. Pereira, and R. Seica, *Endothelial dysfunction - a major mediator of diabetic vascular disease*. Biochim Biophys Acta, 2013. **1832**(12): p. 2216-31.
116. Callaghan, B.C., et al., *Enhanced glucose control for preventing and treating diabetic neuropathy*. Cochrane Database Syst Rev, 2012. **6**: p. CD007543.
117. Peeters, S.A., et al., *Plasma levels of matrix metalloproteinase-2, -3, -10, and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 are associated with vascular complications in patients with type 1 diabetes: the EURODIAB Prospective Complications Study*. Cardiovasc Diabetol, 2015. **14**: p. 31.
118. Costa, L.A., et al., *Aggregation of features of the metabolic syndrome is associated with increased prevalence of chronic complications in Type 2 diabetes*. Diabet Med, 2004. **21**(3): p. 252-5.
119. Smith, A.G. and J.R. Singleton, *Obesity and hyperlipidemia are risk factors for early diabetic neuropathy*. J Diabetes Complications, 2013. **27**(5): p. 436-42.

120. Shehab, D., et al., *Does Vitamin D deficiency play a role in peripheral neuropathy in Type 2 diabetes?* Diabet Med, 2012. **29**(1): p. 43-9.
121. Soderstrom, L.H., et al., *Association between vitamin D and diabetic neuropathy in a nationally representative sample: results from 2001-2004 NHANES.* Diabet Med, 2012. **29**(1): p. 50-5.
122. Kologrivova, I.V., et al., *System of matrix metalloproteinases and cytokine secretion in type 2 diabetes mellitus and impaired carbohydrate tolerance associated with arterial hypertension.* Bull Exp Biol Med, 2014. **156**(5): p. 635-8.
123. Haffner, S.M., *The metabolic syndrome: inflammation, diabetes mellitus, and cardiovascular disease.* Am J Cardiol, 2006. **97**(2A): p. 3A-11A.
124. Hu, F.B., et al., *Inflammatory markers and risk of developing type 2 diabetes in women.* Diabetes, 2004. **53**(3): p. 693-700.
125. Koh, K.K., S.H. Han, and M.J. Quon, *Inflammatory markers and the metabolic syndrome: insights from therapeutic interventions.* J Am Coll Cardiol, 2005. **46**(11): p. 1978-85.
126. Weyer, C., et al., *Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia.* J Clin Endocrinol Metab, 2001. **86**(5): p. 1930-5.
127. Su, S.C., et al., *Circulating pro-inflammatory cytokines and adiponectin in young men with type 2 diabetes.* Acta Diabetol, 2011. **48**(2): p. 113-9.
128. Olefsky, J.M. and C.K. Glass, *Macrophages, inflammation, and insulin resistance.* Annu Rev Physiol, 2010. **72**: p. 219-46.
129. Pickup, J.C., et al., *Plasma interleukin-6, tumour necrosis factor alpha and blood cytokine production in type 2 diabetes.* Life Sci, 2000. **67**(3): p. 291-300.
130. Greenberg, A.S. and M.L. McDaniel, *Identifying the links between obesity, insulin resistance and beta-cell function: potential role of adipocyte-derived cytokines in the pathogenesis of type 2 diabetes.* Eur J Clin Invest, 2002. **32** Suppl 3: p. 24-34.
131. Hur, J., et al., *The identification of gene expression profiles associated with progression of human diabetic neuropathy.* Brain, 2011. **134**(Pt 11): p. 3222-35.
132. Pop-Busui, R., et al., *Inflammation as a Therapeutic Target for Diabetic Neuropathies.* Current Diabetes Reports, 2016. **16**(3): p. 1-10.
133. Vincent, A.M., et al., *Biology of diabetic neuropathy.* Handb Clin Neurol, 2013. **115**: p. 591-606.
134. Doupis, J., et al., *Microvascular reactivity and inflammatory cytokines in painful and painless peripheral diabetic neuropathy.* J Clin Endocrinol Metab, 2009. **94**(6): p. 2157-63.
135. Hur, J., et al., *Identification of factors associated with sural nerve regeneration and degeneration in diabetic neuropathy.* Diabetes Care, 2013. **36**(12): p. 4043-9.

136. Derosa, G., et al., *Evaluation of metalloproteinase 2 and 9 levels and their inhibitors in diabetic and healthy subjects*. Diabetes Metab, 2007. **33**(2): p. 129-34.
137. Derosa, G., et al., *Comparison between metalloproteinases-2 and -9 in healthy subjects, diabetics, and subjects with acute coronary syndrome*. Heart Vessels, 2007. **22**(6): p. 361-70.
138. Uemura, S., et al., *Diabetes mellitus enhances vascular matrix metalloproteinase activity: role of oxidative stress*. Circ Res, 2001. **88**(12): p. 1291-8.
139. Tayebjee, M.H., et al., *Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and matrix metalloproteinase-9 levels in patients with hypertension Relationship to tissue Doppler indices of diastolic relaxation*. Am J Hypertens, 2004. **17**(9): p. 770-4.
140. Yasmin, et al., *Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), MMP-2, and serum elastase activity are associated with systolic hypertension and arterial stiffness*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005. **25**(2): p. 372.
141. Vitlianova, K., et al., *Blood pressure control predicts plasma matrix metalloproteinase-9 in diabetes mellitus type II*. Arch Med Sci, 2015. **11**(1): p. 85-91.
142. Rodriguez, J.A., et al., *Metalloproteinases and atherothrombosis: MMP-10 mediates vascular remodeling promoted by inflammatory stimuli*. Front Biosci, 2008. **13**: p. 2916-21.
143. Toni, M., et al., *Matrix metalloproteinase-10 plays an active role in microvascular complications in type 1 diabetic patients*. Diabetologia, 2013. **56**(12): p. 2743-52.
144. Van Campenhout, A., et al., *Impact of diabetes mellitus on the relationships between iron-, inflammatory- and oxidative stress status*. Diabetes Metab Res Rev, 2006. **22**(6): p. 444-54.
145. Poitout, V. and R.P. Robertson, *Glucolipotoxicity: fuel excess and beta-cell dysfunction*. Endocr Rev, 2008. **29**(3): p. 351-66.
146. Nishikawa, T., et al., *Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage*. Nature, 2000. **404**(6779): p. 787-90.
147. Rani, A.J. and S.V. Mythili, *Study on total antioxidant status in relation to oxidative stress in type 2 diabetes mellitus*. J Clin Diagn Res, 2014. **8**(3): p. 108-10.
148. Verma, A.K., et al., *Serum prolidase activity and oxidative stress in diabetic nephropathy and end stage renal disease: a correlative study with glucose and creatinine*. Biochem Res Int, 2014. **2014**: p. 291458.
149. Uzar, E., et al., *Serum prolidase activity and oxidative status in patients with diabetic neuropathy*. Neurol Sci, 2012. **33**(4): p. 875-80.
150. Sayin, R., et al., *Serum prolidase enzyme activity and oxidative stress levels in patients with diabetic neuropathy*. Endocrine, 2014. **47**(1): p. 146-51.
151. Hinokio, Y., et al., *Oxidative DNA damage in diabetes mellitus: its association with diabetic complications*. Diabetologia, 1999. **42**(8): p. 995-8.

152. Prasad, M., et al., *Evaluation of DNA damage in Type 2 diabetes mellitus patients with and without peripheral neuropathy: A study in South Indian population*. J Nat Sci Biol Med, 2015. **6**(1): p. 80-4.
153. Xavier, D.J., et al., *Assessment of DNA damage and mRNA/miRNA transcriptional expression profiles in hyperglycemic versus non-hyperglycemic patients with type 2 diabetes mellitus*. Mutat Res, 2015. **776**: p. 98-110.
154. Kasznicki, J., et al., *Evaluation of oxidative stress markers in pathogenesis of diabetic neuropathy*. Mol Biol Rep, 2012. **39**(9): p. 8669-78.
155. Mika, J., et al., *Differential activation of spinal microglial and astroglial cells in a mouse model of peripheral neuropathic pain*. Eur J Pharmacol, 2009. **623**(1-3): p. 65-72.
156. Watkins, L.R., et al., *Norman Cousins Lecture. Glia as the "bad guys": implications for improving clinical pain control and the clinical utility of opioids*. Brain Behav Immun, 2007. **21**(2): p. 131-46.
157. Pabreja, K., et al., *Minocycline attenuates the development of diabetic neuropathic pain: possible anti-inflammatory and anti-oxidant mechanisms*. Eur J Pharmacol, 2011. **661**(1-3): p. 15-21.
158. DeLeo, J.A. and R.P. Yezierski, *The role of neuroinflammation and neuroimmune activation in persistent pain*. Pain, 2001. **90**(1-2): p. 1-6.
159. Tsuda, M., et al., *Activation of dorsal horn microglia contributes to diabetes-induced tactile allodynia via extracellular signal-regulated protein kinase signaling*. Glia, 2008. **56**(4): p. 378-86.
160. Dimas, G., F. Iliadis, and D. Grekas, *Matrix metalloproteinases, atherosclerosis, proteinuria and kidney disease: Linkage-based approaches*. Hippokratia, 2013. **17**(4): p. 292-7.
161. Santos, J.M., et al., *Interrelationship between activation of matrix metalloproteinases and mitochondrial dysfunction in the development of diabetic retinopathy*. Biochem Biophys Res Commun, 2013. **438**(4): p. 760-4.
162. Lakhan, S.E. and M. Avramut, *Matrix metalloproteinases in neuropathic pain and migraine: friends, enemies, and therapeutic targets*. Pain Res Treat, 2012. **2012**: p. 952906.
163. Ji, R.R. and M.R. Suter, *p38 MAPK, microglial signaling, and neuropathic pain*. Mol Pain, 2007. **3**: p. 33.
164. Kawasaki, Y., et al., *Distinct roles of matrix metalloproteases in the early- and late-phase development of neuropathic pain*. Nat Med, 2008. **14**(3): p. 331-6.
165. Shubayev, V.I. and R.R. Myers, *Upregulation and interaction of TNFalpha and gelatinases A and B in painful peripheral nerve injury*. Brain Res, 2000. **855**(1): p. 83-9.



T.C.
BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 71306642-050.01.04-
Konu : Etik Kurul Kararı

Sayın Yrd.Doç.Dr. Azize Esra GÜRİSOY
Nöroloji Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

11.03.2015 tarihinde yapılan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu toplantısında "Diyabetik Hastalarda Diyabetik Nöropati Gelişimi ile Oksidatif DNA Hasarı, MMP-2,9,10 ve IL 1- β , IL-6, TNF- α Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi " başlıklı başvurunuz değerlendirilmiş olup karar yazısı ektedir.
Bilgilerinize.

Prof.Dr. Reha ERKOÇ
Başkan

EK :
Karar yazısı (3 sayfa)

31/03/2015 Mem. : M.İNCE
01/04/2015 Mem. : A.KUTLU IŞIK

Mevcut Elektronik İmzalar

REHA ERKOÇ (Klinik Araştırmalar Etik Kurulu - Başkan) 02/04/2015 09:04

Bezmialem Vakıf Üniversitesi Adnan Menderes Bulvarı (Vatan Caddesi) Fatih / İstanbul
Tel: 0 (212) 523 22 88
E-Posta: info@bezmialem.edu.tr

Ayrıntılı bilgi için irtibat: Merve İnce
Faks: 0 (212) 533 23 26
Elektronik ağı: www.bezmialem.edu.tr

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Diyabetik Hastalarda Diyabetik Nöropati Gelişimi ile Oksidatif DNA Hasarı, MMP-2,9,10 ve IL1-β, IL-6, TNF- α Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

11.03.2015

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Adnan Menderes Bulvarı Vatan caddesi 34093 Fatih/Istanbul
	TELEFON	(0212) 523 22 88 - 1028
	FAKS	(0212) 533 23 26
	E-POSTA	etikkurulu@bezmialem.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Azize Esra BAŞAR GÜRSOY			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Nöroloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ	Bezmialem Vakıf Üniversitesi BAP Birimi			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 4	<input type="checkbox"/>		
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma (akademik amaçlı / uzmanlık tezi)		<input checked="" type="checkbox"/>			
Diğer ise belirtiniz					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	-	-	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (Hasta ve Kontrol Grubuna Yönelik)	-	-	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>

Sayfa 1 / 3

Etik Kurulu Başkanı
Prof. Dr. Reha ERKOÇ

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Diyabetik Hastalarda Diyabetik Nöropati Gelişimi ile Oksidatif DNA Hasarı, MMP-2,9,10 ve IL1-β, IL-6, TNF- α Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

	Belge Adı		Açıklama
	DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	SİGORTA	<input type="checkbox"/>
ARAŞTIRMA BÜTÇESİ		<input checked="" type="checkbox"/>	
BIYOLOJİK MATERİYEL TRANSFER FORMU		<input type="checkbox"/>	
İLAN		<input type="checkbox"/>	
YILLIK BİLDİRİM		<input type="checkbox"/>	
SONUÇ RAPORU		<input type="checkbox"/>	
GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ		<input type="checkbox"/>	
DİĞER:		<input checked="" type="checkbox"/>	- Sorumlu araştırmacı ve yardımcı araştırmacılara ait özgeçmiş formları - Çalışmanın Helsinki Bildirgesi, İKU/İLU'ya uygun yürütüleceğine dair taahhütname - Araştırma ile ilgili yayınlar
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 5 / 25	Tarih: 11.03.2015	
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.		

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Diyabetik Hastalarda Diyabetik Nöropati Gelişimi ile Oksidatif DNA Hasarı, MMP-2,9,10 ve IL 1-β, IL-6, TNF- α Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Reha ERKOÇ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
			E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Reha ERKOÇ	İç Hastalıkları	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Orhan ÖZTURAN	Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Faruk ÖKTEM	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Özcan KARAMAN	İç Hastalıkları	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Adem KIRIŞ	Radyoloji	Mehmet Akif Ersoy G.K.D.C Eğitim Araştırma Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ahmet MİHMANLI	Ağız-Diş ve Çene Cerrahisi	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Hayrullah KÖSE	Biyofizik	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ertuğrul KAYA	Tıbbi Farmakoloji	Düzce Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Ömer UYSAL	Bioistatistik ve Tıp Bilişimi	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Mahmut GÜRGAN	Deontoloji ve Tıp Tarihi	Herhangi bir kurumda çalışmıyor	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. İbrahim TOPÇU	Deontoloji ve Tıp Tarihi	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Mehmet AKHOROZ	Emekli	Kurum Dışı	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Avukat Şevkiye KARAHAN	Hukuk	Bezmialem Vakıf Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	

* :Toplantıda Bulunma

Karar: Onaylandı Reddedildi

Sayfa 3 / 3

Etik Kurul Başkanı
Prof. Dr. Reha ERKOÇ