



**T.C.**  
**KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**İÇ HASTALIKLARI A.B.D.**

**DİYABETİK NEFROPATİ, RETİNOPATİ VE NÖROPATİLİ  
HASTALARDA OKSİDATİF STRES VE SERUM PROLİDAZ  
AKTİVİTESİ İLİŞKİSİ**

**HAZIRLAYAN**

**Dr. Tuğba YILMAZ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Yrd. Doç. Dr. Dilek TÜZÜN**

**KAHRAMANMARAŞ-2017**



**T.C.**

**KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ**

**TIP FAKÜLTESİ**

**İÇ HASTALIKLARI A.B.D.**

**DİYABETİK NEFROPATİ, RETİNOPATİ VE NÖROPATİLİ  
HASTALARDA OKSİDATİF STRES VE SERUM PROLİDAZ  
AKTİVİTESİ İLİŞKİSİ**

**HAZIRLAYAN**

**Dr. Tuğba YILMAZ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Yrd. Doç. Dr. Dilek TÜZÜN**

**KAHRAMANMARAŞ-2017**

# KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ




## Tıp Fakültesi Dekanlığı'na

Arş. Gör. Dr. Tuğba YILMAZ tarafından hazırlanan “Diyabetik Nefropati , Retinopati Ve Nöropatili Hastalarda Oksidatif Stres Ve Serum Prolidaz Aktivitesi İlişkisi” adlı bu tezin Tıpta Uzmanlık tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

  
Yrd. Doç. Dr. Dilek TÜZÜN

Danışman

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık tezi olarak 08./07/2017 tarihinde kabul edilmiştir.

Tez Değerlendirme Jüri Tutanağı:			İmza:
Başkan	Yrd. Doç. Dr. Dilek TÜZÜN	İç Hastalıkları Anabilim Dalı	
Üye	Doç. Dr. Özkan GÜNGÖR	İç Hastalıkları Anabilim Dalı	
Üye	Prof. Dr. Mesut ÖZKAYA	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı	

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Tarih : 08.07.2017

  
Prof. Dr. Tufan MERT

Dekan V.

Bu tez, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi tez yazım ve basım yönergesine uygundur.

## TEŞEKKÜR

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi'ndeki eğitimim süresince; tecrübesi, bilgisi, hoşgörüsü, baba şefkati ve disipliniyle; her zaman desteğini hissettiğim sayın hocam Prof. Dr. Bülent Kantarçeken'e,

Asistanlık dönemim boyunca ve tez süresince desteğini esirgemeyen, hoşgörü ve sabırla öğreten, eğitimci kişiliğinin yanında sevgisini hissettiren sayın hocam tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Dilek Tüzün'e,

Asistanlık sürem boyunca hoşgörü, sabır ve güler yüzle yaklaşan, deontolojiyi öğreten, her sıkıntımızda yardımcı olan sayın hocam Prof. Dr. Ali Çetinkaya'ya,

Asistanlık sürem boyunca kendisinden çok şey öğrendiğim, iş hayatında disiplini öğreten, eğitimci kişiliğinin yanında aile olmayı öğreten, sıkıntılarımızı sevinçlerimizi paylaşan sayın hocam Prof. Dr. Kamile Gül'e,

Dahiliye uzun bir yoldur; meşakkatli ve sürekli kendimizi yenilememiz gereken, bu yolda kalmamı sağlayan, asistanlık süresince hoşgörünün, bilginin insanı nasıl yücelttiğini gösteren sayın hocam Doç. Dr. Orçun Altunören'e,

Bu yolda ilerleyebilmenin okumaktan, disiplinle çalışmaktan, her şeyi sorgulamaktan geçtiğini öğütleyen, bilimsel olma yolunda ufkumuzu açan ve bu yolda desteğini hep hissettiğimiz sayın hocam Doç. Dr. Özkan Güngör'e,

Bu yolda her zorlukta yanımızda olduğunu hissettiren, abla şefkatiyle eğiten, öğreten sayın Uzm. Dr. Yasemin C. Yavuz'a,

Asistanlık sürem boyunca eğitimime katkıda bulunan Prof. Dr. Ekrem Doğan'a, Doç. Dr. Ozan Balakan'a, Doç. Dr. Gözde Yıldırım Çetin'e, Doç. Dr. Ayten Oğuz'a, Yrd. Doç. Dr. Fatih Öçal'a, Yrd. Doç. Dr. Ertuğrul Erken'e, Yrd. Doç. Dr. Murat İspiroğlu'na, Yrd. Doç. Dr. Kadir Gişi'ye ve Yrd. Doç. Dr. Murat Şahin'e,

Rotasyon sürecimde, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Kardiyoloji, Göğüs Hastalıkları ve Enfeksiyon hastalıkları öğretim üyesi hocalarıma, ayrıca bu araştırmanın yapılmasında büyük emeği geçen Biyokimya Anabilim Dalından Doç. Dr. Ahmet Çelik'e,

Asistanlık dönemim boyunca aynı ortamı paylaştığım, değerli asistan arkadaşlarıma, Dr. Suna Akdağ'a, Dr. Berivan Ganidağlı'ya, Dr. N. Sıla Sultanoğlu'na ve özellikle başladığım ilk günden itibaren yol ışığım olan, en zor anlarımda desteğim olan can dostum Uzm. Dr. Elif İnanç'a,

Hayatım boyunca her an desteklerini, sevgilerini hissettiğim, beni bugünlere getiren, yetiştiren canım anneciğim, babacığım ve teyzeciğime, biricik anneanneciğime, güzel aileme, güzel dostlarıma sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Kliniğimiz, polikliniğimiz ve yoğun bakımımızın değerli hemşire, sekreter ve personellerine teşekkür ederim.

Ocak 2017

Dr. Tuğba YILMAZ



**DİYABETİK NEFROPATİ, RETİNOPATİ VE NÖROPATİLİ HASTALARDA  
OKSİDATİF STRES VE SERUM PROLİDAZ AKTİVİTESİ İLİŞKİSİ**

**(Tıpta Uzmanlık Tezi)**

**Dr. Tuğba YILMAZ**

**KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ**

**TIP FAKÜLTESİ**

**Ocak-2017**

**ÖZET**

**Amaç:** Diyabetin mikrovasküler komplikasyonlarında oksidatif stresin belirteçlerini incelemek, prolidazın oksidatif stres göstergeleriyle ilişkisini incelemek, prolidazın prediktif değer olarak kullanılabilirliğini araştırmaktır.

**Gereç ve Yöntemler:** Çalışmaya 112 tip 2 Diyabetes Mellitusu olan hasta ve 44 sağlıklı kontrol birey alındı. Hastaların ayrıntılı anamnezleri alınıp fizik muayeneleri yapıldı. Her bir bireyin, açlık plazma glukozu (APG), hemogloblin A1c (HbA1C), kreatinin, alanin aminotransferaz (ALT), total kolesterol, düşük dansiteli lipoprotein (LDL), trigliserit (TG), tiroid stimulan hormon (TSH), serbest tiroksin(sT4), c reaktif protein (CRP), spot idrarda mikrototal protein düzeyleri bakıldı. Göz dibi muayenesi ile diyabetik retinopati varlığı araştırıldı. Nöropati varlığı açısından nörolojik muayeneleri yapıldı. Ayrıca tüm hastaların sabah alınan kan örneğinde oksidatif stress için katalaz (CAT), superoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GPx), malondialdehit (MDA), nitrik oksit (NO), serum prolidaz aktivitesi ölçümü yapıldı. Karotis intima media kalınlığı (KİMK) ölçüldü.

**Bulgular:** Tip 2 diyabetes mellitusu olan hastaların 80'inde (%71,42) komplikasyon mevcut iken 32'inde (%28,58) komplikasyon yoktu. Gruplar biyokimyasal veriler açısından karşılaştırıldığında; Açlık plazma glukozu sağlıklı kontrol grubunda  $81,57 \pm 6,34$ ; diyabetik komplikasyonu olmayan grupta  $150,50 \pm 36,40$  iken diyabetik komplikasyonu olan grupta  $164,10 \pm 56,21$  olarak saptandı. Açlık plazma glukozu diyabetik komplikasyonu olan grupta diğer gruplara anlamlı olarak yüksekti ( $p < 0,001$ ). HbA1c düzeyi diyabetik komplikasyonu olan grupta diğer gruplara anlamlı olarak yüksekti ( $p < 0,001$ ). HbA1c düzeyi; sağlıklı kontrol grubunda  $5,19 \pm 0,37$ ; diyabetik komplikasyonu olmayan grupta  $9,18 \pm 2,14$  iken diyabetik komplikasyonu olan grupta  $9,72 \pm 2,14$  olarak saptandı. CRP düzeyi diyabetik komplikasyonu olan grupta diğer gruplara anlamlı olarak yüksek saptandı

( $p < 0,001$ ). Kreatinin düzeyi; diyabetik komplikasyonu olan grupta diğer gruplara anlamlı olarak yüksekti ( $p < 0,001$ ). Spot idrarda protein düzeyi; diyabetik komplikasyonu olan grupta diğer gruplara anlamlı olarak yüksek saptandı ( $p < 0,001$ ). LDL düzeyi; diyabetik komplikasyonu olan grupta diğer gruplara anlamlı olarak yüksekti ( $p=0,018$ ). Trigliserit düzeyi, diyabetik komplikasyonu olan grupta diğer gruplara anlamlı olarak yüksek saptandı ( $p < 0,001$ ). TSH ve serbest T4 düzeyi açısından gruplar karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık izlenmedi. Gruplar oksidatif stres belirteçleri açısından karşılaştırıldığında; Antioksidan stres belirteçleri (CAT, SOD, GPx) diyabetik komplikasyonlu grupta diğer gruplara göre daha düşük olarak saptanırken oksidatif stres belirteçleri (MDA, NO) komplikasyonlu grupta diğer gruplara göre daha yüksek olarak saptandı ( $p$  sırasıyla  $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ). Gruplar prolidaz açısından karşılaştırıldığında; prolidaz düzeyi diyabetik komplikasyonlu grupta diğer gruplara göre daha yüksek olarak saptandı ( $p < 0,001$ ). Gruplar KİMK açısından karşılaştırıldığında; KİMK diyabetik hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek saptandı ( $p < 0,001$ ).

**Sonuç:** Çalışmamızda serum prolidaz aktivitesinin ve oksidatif stres parametrelerinin, komplikasyonu olan diyabetik hastalarda, sağlıklı kontrol ve diyabetes mellituslu olup komplikasyonu olmayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı arttığı ve prolidaz ile oksidatif stres belirteçleri arasında pozitif korelasyon olduğu bulunmuştur. Bu nedenle serum prolidaz aktivitesinin diyabetik hastalarda mikrokomplikasyonları belirlemede prediktif değeri olacağını düşünmekteyiz.

**THE RELATIONSHIP BETWEEN OXIDATIVE STRESS AND SERUM  
PROLIDASE ACTIVITY IN PATIENTS WITH DIABETIC NEPHROPATHY,  
RETINOPATHY AND NEUROPATHY**

**(Specialization In Medicine Thesis)**

**Dr. Tuğba YILMAZ**

**KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM UNIVERSITY FACULTY OF MEDICINE**

**January-2017**

**ABSTRACT**

**Aim:** To investigate the markers of oxidative stress in microvascular complications of diabetes, the relationship of prolidase with oxidative stress indicators and to investigate the utility of prolidase as a predictive value.

**Material and Methods:** 112 patients with type 2 diabetes mellitus and 44 healthy control subjects were included in the study. Detailed history of the patients was taken and physical examinations were performed. Glucose, hemoglobin A1c (HbA1C), creatinin, total cholesterol, LDL, triglyceride (TG), Thyroid stimulating hormone (TSH), free tyroxine (fT4), c-reactive protein (CRP) and micrototal protein levels in spot urine were measured in each individual. The presence of diabetic retinopathy was investigated by ocular examination. Neurological examinations were performed for neuropathy. In addition, catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO) and serum prolidase activity were measured for oxidative stress in the morning blood samples of all patients. Carotid intima media thickness (CIMT) was measured.

**Results:** Of the patients with type 2 diabetes mellitus, 80 (71.42%) had complications and 32 (28.58%) had no complications. When the groups were compared in terms of biochemical data; fasting plasma glucose was  $81.57 \pm 6.34$  in the healthy control group;  $150,50 \pm 36,40$  in the group without diabetic complication and  $164.10 \pm 56.21$  in the group with diabetic complication. Fasting plasma glucose was significantly higher in the diabetic complication group ( $p < 0.001$ ). HbA1c level was significantly higher in the diabetic complication group ( $p < 0.001$ ). HbA1c levels were;  $5.19 \pm 0.37$  in the healthy control group;  $9.18 \pm 2.14$  in the group without diabetic complication and  $9.72 \pm 2.14$  in the group with diabetic complication. CRP levels in diabetic complication group were significantly



higher than the other groups ( $p < 0.001$ ). Creatinine levels in diabetic complication group were significantly higher than the other groups ( $p < 0.001$ ). Protein levels in spot urine in diabetic complication group were significantly higher than the other groups ( $p < 0.001$ ). LDL levels in the diabetic complication group were significantly higher than the others group ( $p = 0.018$ ). Triglyceride levels in the diabetic complication group were significantly higher than the others groups ( $p < 0.001$ ). There was no statistically significant difference between the groups in terms of TSH and fT4 levels. When the groups were compared in terms of oxidative stress markers; the antioxidant stress markers (CAT, SOD, GPx) were found to be lower in the diabetic complication group than the other groups ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ , respectively), while oxidative stress markers (MDA and NO) were found to be higher in the diabetic complicated group. When the groups were compared in terms of prolidase; prolidase levels in the diabetic complication group were higher than the other groups ( $p < 0.001$ ). When the groups were compared in terms of CIMT; the CIMT was significantly higher in diabetic patients than in the healthy control group ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** In our study, serum prolidase activity and oxidative stress parameters were found to be statistically significantly higher in diabetic patients with complications than the healthy control and diabetic patients without complications. Also we found there is positive correlation between prolidase and oxidative stress markers. For this reason, we consider that serum prolidase activity has a predictive value in determining microvascular complications in diabetic patients.

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	I
ÖZET .....	III
ABSTRACT .....	V
İÇİNDEKİLER.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	IX
TABLolar DİZİNİ.....	X
KISALTMALAR DİZİNİ .....	XI
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2- GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. DİABETES MELLİTUS .....	3
2.1.1. Tanımı: .....	3
2.1.2. Epidemiyoloji: .....	3
2.1.3. Diabetes Mellitus'un sınıflaması .....	4
2.2. Karotis İntima Media Kalınlığı (KİMK) ve Ateroskleroz.....	18
2.3. Oksidatif Stres .....	20
2.3.1. Serbest radikaller .....	21
2.4. Antioksidan Sistemler .....	26
2.4.1. Antioksidan koruma sistemi .....	27
2.4.2. Enzimatik antioksidan sistemler.....	27
2.4.3. Non-enzimatik antioksidan sistemler .....	30
2.5.KOLLAJEN.....	33
2.5.1. KOLLAJENİN YAPISI.....	34
2. 6. PROLİDAZ ENZİMİ .....	34

2.6.1. İnsan Prolidazının Primer Yapısı ve Gen Lokalizasyonu.....	35
2.6.2. Prolin .....	35
2.6.3. Kollajen Doku ve Prolidaz Enzimi.....	37
2.6.4. Prolidaz İnhibitörleri ve Aktivatörleri .....	37
2.6.5. Prolidazın İzoenzimleri.....	40
2.6.6. Prolidaz İnhibitör ve Aktivatörleri .....	40
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	41
4. BULGULAR .....	47
4.1. Grupların Demografik ve Biyokimyasal Veriler Açısından Karşılaştırılması .....	47
4.2. Grupların Oksidatif Stres Belirteçleri ve Prolidaz Açısından Karşılaştırılması .....	50
4.3. Alt Grup Analizi .....	54
4.4. Korelasyon Analizi .....	57
5. TARTIŞMA.....	63
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	71
7. KAYNAKLAR.....	72

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b><u>Sayfa No</u></b>
Şekil 1. Oksijenin yüklü durumları ve hücre içindeki oksijen radikallerinin oluşumu, detoksifikasyonu.....	23
Şekil 2. Glutatyon redüktaz .....	29
Şekil 3. Kollajen yıkımında prolidaz ve prolinazın yeri.....	40
Şekil 4. Grupların Katalaz açısından karşılaştırılması.....	51
Şekil 5. Grupların SOD açısından karşılaştırılması.....	51
Şekil 6. Grupların GPx açısından karşılaştırılması.....	52
Şekil 7. Grupların NO açısından karşılaştırılması.....	52
Şekil 8. Grupların MDA açısından karşılaştırılması .....	53
Şekil 9. Grupların Prolidaz açısından karşılaştırılması .....	53
Şekil 10. Grupların KİMİK açısından karşılaştırılması .....	54
Şekil 11. Prolidaz alt grup analizi.....	56
Şekil 12. KİMİK alt grup analizi .....	57

## TABLolar DİZİNİ

	<b><u>Sayfa No</u></b>
Tablo 1.TURDEP -I ve TURDEP- II Çalışma Sonuçları.....	4
Tablo 2.Diabetes mellitusun etiyolojik sınıflaması .....	5
Tablo 3. Bazı reaktif oksijen türleri.....	22
Tablo 4. Grupların cinsiyete göre karşılaştırılması .....	47
Tablo 5. Grupların yaşa göre karşılaştırılması .....	48
Tablo 6. Grupların biyokimyasal verilere göre karşılaştırılması.....	49
Tablo 7. Grupların Oksidatif Stres Belirteçleri, Prolidaz ve KİMİK açısından Karşılaştırılması.....	50
Tablo 8. Komplikasyon Durumuna Göre Oksidatif Stres Belirteçleri ve Prolidaz Açısından Karşılaştırılması.....	55
Tablo 9. Komplikasyon Durumuna Göre KİMİK Açısından Karşılaştırılması.....	56
Tablo 10. Prolidaz ile biyokimyasal parametreler arasındaki ilişki .....	58
Tablo 11. Prolidaz ile Oksidatif Stres Belirteçleri Arasında İlişki .....	59
Tablo 12. Oksidatif Stres Belirteçleri ile biyokimyasal belirteçler arasındaki ilişki .....	61
Tablo 13. KİMİK ile Oksidatif Stres Belirteçleri ve Prolidaz Arasında İlişki.....	62

## KISALTMALAR DİZİNİ

AAA	: Ailevi Akdeniz Ateşi
ACE	: Anjiotensin konverting enzim
Ag+1	: Gümüş
A	: Alfa
ALT	: Alanin aminotransferaz
AGE	: Glikolizasyon son ürünleri
APG	: Açlık plazma glukozu
ARIC	: Atherosclerosis Risk in Communities
ATP	: Adenozin trifosfat
B	: Beta
BAP	: Biyolojik antioksidan potansiyeli
CAT	: Katalaz
CCA	: Common carotid arter
Cd+2	: kadmiyum
Co+2	: Kobalt
CRP	: C reaktif protein
Cu+2	: Bakır
CuZnSOD	: Bakır-Çinko Süperoksit dismutaz
DEAE	: Dietilaminetil
DM	: Diyabetes Mellitus
DN	: Diyabetik Nöropati
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EC	: (enzyme commision)
ECSOD	: Ekstraselüler süperoksit dismutaz
ESM	: Ekstrasellüler matrix
FDA	: Food and Drug Administration
Fe+2	: Demir
G6PD	: Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz
GFR	: Glomerüler filtrasyon düzeyi
GSH	: Glutasyon redüktaz
GSSG	: Glutasyon disülfid

GST	: Gen polimorfizmi
GPx	: Glutasyon peroksidaz
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrojen peroksit
HbA1c	: Hemoglobin A1c
HDL-kolesterol	: Yüksek dansiteli lipoprotein
HLA	: Human lökosit antijen
HPLC	: High liquid pressure chromatography
Hyp	: Hidroksiprolin
INT	: p-iyodonitrotetrazolium viyolet
İMK	: İntima media kalınlığı
IL-1 $\beta$	: İnterlökin-1 $\beta$
IRMA	: İnraretinal mikrovasküler anomali
KİMK	: Karotis İntima Media Kalınlığı
LDL-kolesterol	: Düşük dansiteli lipoprotein
MDA	: Malondialdehid
MI	: Miyokard infarktüsü
MMP	: Metalloproteinazlar
Mn	: Mangan
MnSOD	: Manganez Süperoksit Dismuta
NAC	: N-Asetilsistein
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotit
NADH	: İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotidin
Ni <sup>+2</sup>	: Nikel
NO	: Nitrik oksit
NPDR	: Non proliferatif diyabetik retinopati
NV	: Neovaskularizasyon
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	: Süperoksit
OGTT	: Oral glukoz tolerans testi
Pb <sup>+2</sup>	: Kurşun
PDR	: Proliferatif diyabetik retinopati
PEPD	: Prolidaz geni
PKC	: Protein kinaz C
Pro	: Prolin

Pt+4	: Platin
RA	: Romatoid artrit
RNA	: Ribonükleik asit
RTA	: Renal tübüler asidoz
ROS	: Reaktif oksijen radikalleri
sT4	: Serbest tiroksin
SDBY	: Son dönem böbrek yetmezliği
SOD	: Süperoksid dismutaz
TALP	: Total alkalen fosfataz
TAS	: Total antioksidan seviye
TBA	: Tiyobarbütirik asit
TG	: Trigliserit
TGF-B	: Transforming growth faktör beta
TSH	: Tiroid stimulan hormon
TURDEP	: Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik hastalıklar Prevelans Çalışması
Zn +2	: Çinko



## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diyabetes mellitus (DM), insülin eksikliği ya da insülin etkisindeki defektler nedeniyle organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamadığı, sürekli tıbbi bakım gerektiren, kronik bir metabolizma hastalığıdır (1). Tip 1, tip 2 DM, gestasyonel DM ve diğer DM tipleri olarak sınıflandırılır. Diyabetin akut ve kronik komplikasyonları mevcuttur. Akut komplikasyonlar; hipoglisemi, diabetik ketoasidoz, hiperosmolar non-ketotik durum iken, kronik komplikasyonlar ise mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlardır. Mikrovasküler komplikasyonlar nefropati, retinopati, nöropati olarak sınıflandırılırken makrovasküler komplikasyonlar ise koroner arter hastalığı, periferik arter hastalıkları, serebrovasküler hastalıklar olarak sınıflandırılabilir (1).

Oksidatif stres, oksijene ihtiyaç duyan tüm canlı sistemlerde çeşitli basamaklarda meydana gelen doğal bir süreçtir. Bazı özel mekanizmalarla biyolojik sistemler tarafından bu stres kontrol altına alınır. Ancak kontrol mekanizmaları yetersiz olduğunda oksidatif hasar oluşur. Prooksidan ve antioksidanlar arasında bir denge vardır. Oksidatif stres bu dengenin prooksidan maddeler lehine kaymasıdır (2). Kardiyovasküler hastalıklar, ateroskleroz, nörolojik hastalıklar, astım, amfizem, hepatit, siroz, kronik böbrek yetmezliği, DM, romatoid artrit gibi romatolojik hastalıklar, preeklampsi, yaşlanma, kanser dahil olmak üzere birçok hastalık oksidatif stres ile ilişkilidir (3).

Kollajen, ekstraselüler matrixin (ESM) ana proteinlerinden biridir. ESM turnoverinin artışı; ateroskleroz ve endotelial disfonksiyonun progresyon patofizyolojisinde rol oynayabilir. Kollajen biyosentezindeki enzimlerden biri prolidazdır. Prolidaz bir iminodipeptidazdır. Kollajen sentezi ve hücre büyümesinde rol alır. Kollajen yıkımının son basamağı prolidaz aracılığı ile olmaktadır. Prolidaz kollajen sentezi ve hücre gelişiminde rol alan prolinin dönüşümünde önemli rol oynamaktadır (4). Ek olarak oksidatif stres seviyeleri direk olarak kollajen üretiminin inhibisyonu ile ilişkilidir. Prolidazın bu aşamada önemli bir hedef enzim olduğu düşünülmektedir (5).

Kronik hastalıklarda oksidatif stres ve serum prolidaz aktivitesinin ilişkisi bildirilmiştir. Bununla birlikte, DM veya diyabetik nefropati (DN) hastalarda serum prolidaz aktivitesi ile ilgili sınırlı ve çelişkili bilgiler mevcuttur (6-8). Diyabetik retinopati ile prolidaz aktivitesinin ilişkisi bizim bilgilerimize göre incelenmemiştir. Bu nedenle biz de bu çalışmada tip 2 DM in mikrovasküler komplikasyonları olan nefropati, retinopati ve

nöropatide, prolidaz ve oksidatif stres belirteçlerinin ilişkisini incelemeyi ve DM' nin mikrovasküler komplikasyonlarında serum prolidaz aktivitesinin prediktif olarak kullanılıp kullanılmayacağını aydınlatmayı planladık.



## **2- GENEL BİLGİLER**

### **2.1. DİABETES MELLİTUS**

#### **2.1.1. Tanımı:**

Diyabetes mellitus (DM), insülin eksikliği ya da insülin etkisindeki defektler nedeniyle organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamadığı, sürekli tıbbi bakım gerektiren, kronik bir metabolizma hastalığıdır(1).

#### **2.1.2. Epidemiyoloji:**

Ülkemizde de diyabet prevalansındaki artış hızı, dünya ülkelerinden geri kalmamaktadır. Uluslararası Diyabet Federasyonu'nun Türkiye'ye yönelik olarak yaptığı öngörüye göre diyabet oranının şu anda %4,7 civarında olması gerekirken ülkemiz 2030 yılı için öngördüğü %9,7 oranını bile geride bırakmış durumdadır. Türkiye'de 20 yaş ve üzerinde olan bireyleri kapsayan Türk Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik hastalıklar prevalans çalışması -1 (TURDEP-I) %7,2 olan diyabet prevalansı, 2010 yılında aynı merkezlerde tekrar yapılan Türk Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik hastalıklar prevalans çalışması-2 (TURDEP- II) çalışmasına göre %90 artış ile %13,7 düzeyine ulaşmıştır. Türkiye'de diyabet sıklığı, TURDEP -I, TURDEP- II çalışmaları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Daha önceki çalışmanın aksine kentlerde diyabet oranı biraz daha yüksek olup, TURDEP-II çalışmasına göre kentsel ve kırsal diyabet sıklığı arasında çok anlamlı bir fark kalmamıştır. Bilinen diyabet ve yeni diyabet oranları birbirine yakındır (sırasıyla %45 ve %55). Diyabet sıklığı erkeklerde kadınlarda hafifçe daha düşük bulunmuş olup kadın ve erkekler arasında çok anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bölgesel diyabet prevalansı Kuzey Anadolu'da %14,5 ile en az, Doğu Anadolu'da ise %18,2 ile en fazladır. Diyabet farkındalığı Batı Anadolu'da en yüksek (bilinen diyabetlilerin toplam diyabetlilere oranı %61,6), Doğu Anadolu Bölgesi'nde ise en düşüktür (bilinen/toplam diyabet oranı %47,2). TURDEP-II çalışmasına göre 40-44 yaş grubundan itibaren nüfusun en az %10'u diyabetlidir (TURDEP-I'de ise %10'nun üzerindeki diyabet sıklığı 45-49 yaş grubunda başlamaktaydı). 1998'de yapılan TURDEP-I'e göre, yeni tamamlanan TURDEP-II çalışmasında Türkiye'de 12 yılda diyabet sıklığı %90, obezite ise %44 artmıştır. Saptanan

sonuçlar, ülkemizde obezite ve diyabetin en önemli toplum sağlığı sorunları olduğunu vurgulamaktadır (9).

**Tablo 1.** TURDEP -I ve TURDEP- II alışma Sonuçları(9-10).

	TURDEP -I	TURDEP- II
Diyabet	% 7,2	% 13,7
Bozulmuş glukoz toleransı	% 6,7	% 13,9
Obesite	% 22	% 44
Hipertansiyon	% 25	% 31
Sigara kullanım oranı	% 30	% 17,3

### **2.1.3. Diabetes Mellitus'un sınıflaması**

Diyabetes Mellitus, hiperglisemiye yol açan patojenik sürecin temeline göre sınıflandırılır. İki büyük sınıf tip 1 ve 2 diyabettir. Her ikisinin öncesinde de patolojik süreçler ilerledikçe artan anormal bir glukoz homeostazisi mevcuttur. Tip 1 DM önceleri juvenil başlangıçlı veya insüline bağımlı diyabetes mellitus olarak anılırđı. Otoimmün mekanizmalarla pankreatik adacık beta hücresi destruksiyonu sonucu ortaya çıkar. Tip 1 DM'li hastalar insülin replasmanına ihtiyaç duyarlar ve diyabetik ketoasidoza meyillilerdir. Tip 2 DM; önceleri erişkin başlangıçlı veya insüline bağımsız diabetes mellitus olarak anılırđı. Diyabetin en yaygın şeklidir. Hastaların çoğunda insülin direncine eşlik eden insülinin kompensatuvar sekresyon yetersizliği mevcuttur. Tip 2 DM'li hastalar kilo vererek bozulmuş glukoz toleransı evresine gerileyebilirler. Gestasyonel diyabet hastaları ise normal glukoz toleransı evresine gerileyebilirler( 11).

#### **2.1.3.1. DM'nin etyolojik sınıflaması**

Tablo 2'de özetlenen diyabet sınıflamasında dört klinik tip yer almaktadır. Bunlardan  (Tip 1 diyabet, Tip 2 diyabet ve Gestasyonel Diyabetes Mellitus) primer, diğeri (spesifik diyabet tipleri) ise sekonder diyabet formları olarak bilinmektedir.

**Tablo 2.**Diabetes mellitusun etiyolojik sınıflaması (TEM 2016 DM )

<b>I. Tip 1 diyabet (Genellikle mutlak insülin noksanlığına sebep olan b-hücre yıkımı vardır)</b> A.İmmun aracılıklı B.İdiyopatik	
<b>II. Tip 2 diyabet (İnsülin direnci zemininde ilerleyici insülin sekresyon defekti ile karakterizedir)</b>	
<b>III. Gestasyonel diabetes mellitus (GDM)</b> Gebelik sırasında ortaya çıkan ve genellikle doğumla birlikte düzelen diyabet.	
<b>IV. Diğer spesifik diyabet tipleri</b>	
<b>A. B-hücre fonksiyonlarının genetik defekti (monogenik diyabet formları)</b> <ul style="list-style-type: none"><li>● 20. Kromozom , HNF-4a (MODY1)</li><li>● 7. Kromozom, Glukokinaz (MODY2)</li><li>● 12. Kromozom, HNF-1a (MODY3)</li><li>● 13. Kromozom, IPF-1 (MODY4)</li><li>● 17. Kromozom, HNF-1b (MODY5)</li><li>● 2. Kromozom, NeuroD1 (MODY6)</li><li>● 2. Kromozom, KLF11 (MODY7)</li><li>● 9. Kromozom, CEL (MODY8)</li><li>● 7. Kromozom, PAX4 (MODY9)</li><li>● 11. Kromozom, INS (MODY10)</li><li>● 8. Kromozom, BLK (MODY11)</li><li>● Mitokondriyal DNA</li><li>● 11. Kromozom, Neonatal DM (Kir6.2, ABCC8, KCNJ11 mutasyonu)</li><li>● Diğerleri</li></ul>	<b>E.İlaç veya kimyasal ajanlar</b> <ul style="list-style-type: none"><li>● Atipik anti-psikotikler</li><li>● Anti-viral ilaçlar</li><li>● b-adrenerjik agonistler</li><li>● Diazoksid</li><li>● Fenitoin</li><li>● Glukokortikoidler</li><li>● a -İnterferon</li><li>● Nikotinik asit</li><li>● Pentamidin</li><li>● Proteaz inhibitörleri</li><li>● Tiyazid grubu diüretikler</li><li>● Tiroid hormonu</li><li>● Vacor</li><li>● Diğerleri (Transplant rejeksiyonunu önlemek için kullanılan ilaçlar)</li></ul>
<b>B.İnsülinin etkisindeki genetik defektler</b> <ul style="list-style-type: none"><li>● Leprechaunism</li><li>● Lipoatrofik diyabet</li><li>● Rabson-Mendenhall sendromu</li><li>● Tip A insülin direnci</li><li>● Diğerleri</li></ul>	<b>F.İmmun aracılıklı nadir diyabet formları</b> <ul style="list-style-type: none"><li>● Anti--insülin reseptör antikoları</li><li>● “Stiff-man” sendromu</li><li>● Diğerleri</li></ul>
<b>C.Pankreasın ekzokrin doku hastalıkları</b> <ul style="list-style-type: none"><li>● Fibrokalkülöz pankreatopati</li><li>● Hemokromatoz</li><li>● Kistik fibroz</li><li>● Neoplazi</li><li>● Pankreatit</li><li>● Travma/pankreatektomi</li><li>● Diğerleri</li></ul>	<b>G.Diyabetle ilişkili genetik sendromlar</b> <ul style="list-style-type: none"><li>● Alström sendromu</li><li>● Down sendromu</li><li>● Friedreich tipi ataksi</li><li>● Huntington korea</li><li>● Klinefelter sendromu</li><li>● Laurence-Moon-Biedl sendromu</li><li>● Miyotonik distrofi</li><li>● Porfiria</li><li>● Prader-Willi sendromu</li><li>● Turner sendromu</li><li>● Wolfram (DIDMOAD) sendromu</li><li>● Diğerleri</li></ul>
<b>D. Endokrinopatiler</b> <ul style="list-style-type: none"><li>● Akromegali</li><li>● Aldosteronoma</li><li>● Cushing sendromu</li><li>● Feokromositoma</li><li>● Glukagonoma</li><li>● Hipertiroidi</li><li>● Somatostatinoma</li><li>● Diğerleri</li></ul>	<b>H.İnfeksiyonlar</b> <ul style="list-style-type: none"><li>● Konjenital rubella</li><li>● Sitomegalovirus</li><li>● Koksaki B</li><li>● Diğerleri (adenovirus, kabakulak)</li></ul>

### **2.1.3.1. 1. Tip 1 DM**

Tip 1 DM'nin % 95'ninden fazlası otoimmuniteye bağlı olarak oluşurken %5'den azı idiyopatik olarak ortaya çıkar. Pankreatik beta hücresinin yıkım hızı oldukça değişkendir, bazı olgularda çok hızlı olabilirken, bazılarında uzun zamana yayılabilir. Birçok vakada immun yanıt sonucu tip 1 DM gelişip hiperglisemi belirginleşene kadar olan süreç uzundur ve aylar yıllar sürebilir. Dolaşımdaki insülinin neredeyse tamamen yok olduğu, plazma glukagonunun arttığı ve pankreatik beta hücresinin tüm inslinojenik uyarılara cevapsız kaldığı katabolik bir hastalıktır. İnsülin eksikliğinde, sadece insülinin  hedef dokusuna (karaciğer, kas, yağ) besinlerin girişi aksamakla kalmaz, aynı zamanda sürekli bir şekilde bu dokulardan dolaşıma glukoz, aminoasit ve yağ asiti girişi de olur. Ayrıca yağ asiti metabolizmasındaki değişiklikler ketonların üretimine ve birikmesine yol açar. Uygunsuz şekilde devam eden, bu tokluktaki açlık benzeri durum insülin replasmanı yapılmasıyla geri çevrilebilir.

Tip 1 DM tanısı konan hastaların çoğunda tanı sırasında beta hücre proteinlerine karşı antikorlar mevcuttur; adacık hücre antikorları, insülin otoantikoru, glutamik asit dekarboksilaz antikoru, tirozin fosfataz antikoru ve çinko transporter 8 antikoru bulunabilir. Bu antikorların çoğunlukla daha hiperglisemi oluşmadan ve hatta dekadlar öncesinde saptanabiliyor olması otoimmun sürecin uzun olabileceğinin kanıtıdır. Teşhis sonrası hastalık süresi uzadıca otoantikor düzeyleri azalır. Diyabeti otoimmun olmayan hastalarda bile insülin tedavisine başladıktan sonra düşük düzeyde insülin otoantikoru gelişir. Her ne kadar tip 1 diyabeti predikte etmek sırasında ve teşhiste faydalı olsa da beta hücresi proteinlerine karşı antikorlar direk olarak beta hücre hasarı yapmazlar. Aksine bunu yapan hücresel immun sistemdir. T lenfositleri, adacıklara infiltre olur ve beta hücre harabiyeti meydana gelir. Teşhis sırasında tip 1 diyabetli hastaların adacıklarında yaygın olarak sitotoksik ve yardımcı T lenfosit infiltrasyonu görülür. İmmün sistemdeki self tolerans basamaklarının bozulmasının sonucu olarak tip 1 DM oluşur.

### **2.1.3.1.2. Tip 2 DM**

Tip 2 diyabetin merkezinde insülin direnci ve insülin sekresyonunda defekt vardır. Primer defekt ile ilgili tartişmalar mevcut olsa da, çalışmaların çoğu insülin direncinin insülin sekresyon kusurundan daha önce var olduğunu desteklemektedir. Diyabetik hastaların %90'ını oluşturur. Hastalar sıklıkla obez veya fazla kiloludur. Çoğunlukla 30 yaş sonrası ortaya çıkar. Ancak obezite artışına paralel olarak son 10 yılda çocukluk veya

adolesan çağlarındaki Tip 2 DM vakalarında belirgin artış saptanmıştır. Tip 2 DM'nin güçlü bir genetik komponenti vardır. Tip 2 DM'nin tek yumurta ikizlerinde görülme sıklığı % 70-90 arasındadır. Tip 2 DM ebeveyni olanların diyabet riski artmıştır; eğer anne ve babanın her ikisinde de tip 2 DM varsa çocuklarında DM ortaya çıkma riski % 40'a yaklaşır. Genetik yatkınlığın yanısıra obezite, beslenme ve fiziksel aktivite gibi çevresel faktörler de fenotipi etkilediğinden hastalık poligenik ve multifaktöriyeldir. Ailede genetik yoğunluk arttıkça sonraki nesillerde diyabet riski artar ve hastalık daha erken yaşlarda ortaya çıkar. Hastalık genellikle sinsi başlangıçlıdır ve hastaların çoğunda başlangıçta semptom yoktur. Tip 2 DM'de hiperglisemi dereceli olarak arttığından yıllarca tanı konamaz. Erken evrelerde hastanın durumu diyabetin klasik semptomlarını algılayabileceği kadar ciddi değildir. Bununla birlikte böyle hastalar, makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonların gelişimi açısından artmış riske sahiptir. Bu hastalarda insülin sekresyonu defektif olup insülin direncini karşılamada yetersizdir(12).

### **2.1.3.1. 2. 1 Tip 2 Diyabetes Mellitus patogenezi**

Diyabetes mellitusun tüm tiplerinde temel özellik hiperglisemidir ancak hipergliseminin patofizyolojisi farklıdır. Tip 1 DM'de mutlak insülin eksikliği veya bozuk yapıda insülin salgılanmasına neden olan genetik bir kusur varken, tip 2 diyabette temel özellik insüline karşı bir direnç olmasıdır. Tip 2 diyabet patogenezinde beta hücre fonksiyon bozukluğu, insülin direnci ve hepatik glukoz üretimi artışı olmak üzere üç ana metabolik bozukluk rol oynar. Primer defekt olarak insülin direnci ve/veya insülin eksikliği ön plandadır(13). Son yıllarda bunlara eklenen dördüncü bir görüş, primer defektin hiperinsülinemi olduğu ve insülin direncinin hiperinsülinemiye bağlı olarak oluştuğu hipotezidir. Hiperinsülineminin nonoksidatif glukoz kullanımını veya glukojen sentezini bozarak tıpkı Tip 2 diyabette olduğu gibi insülin direncine yol açabileceği ileri sürülmektedir(14).

İnsülinin glukoz metabolizması üzerine biyolojik etkilerini gösterebilmesi için hedef dokulardaki insülin reseptörlerine bağlanmalıdır. Sonra reseptördeki tirozin kinaz aktive olur, bu esnada oluşan ikincil haberciler fosforilasyon-defosforilasyon reaksiyonlarını içeren bir seri olaylar başlatır ve hücre içi glukoz metabolizmasının uyarılmasına yol açar. İnsülin direnci hücresel düzeyde prereseptör, reseptör veya postreseptör düzeyde meydana gelebilir. İnsülin direncinde en önemli rolü oynayan dokular: kas, karaciğer veyağ dokusudur. Kastaki insülin direnci postreseptör düzeyinde olup insülinin glikojen sentetazı aktive etmesi ve öğün sonrası glukoz oksidasyonu

bozulmuştur. Hepatik glukoz üretimindeki artış ise açlık kan şekeri artmasına yol açar. Yağ dokusundaki hormon duyarlı lipaz; trigliseridleri, esterleşmemiş yağ asidine ve gliserole parçalar, bu işlem insülin tarafından inhibe edilir. İnsülin direnci varlığında hormon duyarlı lipaz aktivitesi inhibe edilemediğinden esterleşmemiş yağ asidi salınımı artar. Esterleşmemiş yağ asitleri de diyabetiklerde hipergliseminin daha da artmasına neden olur(15).

Tip 2 diyabet poligenik kalıtmalı, başlamasında sıklıkla obeziteyle ilişkili insülin direncinin etkili olduğu bir durumdur. Beta hücresi direnci kompanse etmek için rölatif olarak fazla insülin salgılar ve hastalık ilerledikçe insülin salgılama fonksiyonunda bozukluk olan beta hücresinin insülin salgılama kapasitesi daha da azalır ve hiperglisemi artar(16). Tip 2 diyabet belirgin ailesel yatkınlık gösterir, ancak klasik Mendeliyan kalıtım göstermez, bu da hastalığın ya genetik defektlerin kombinasyonundan ya da yatkınlık oluşturan genlerin ve predispozan çevresel faktörlerin aynı anda bulunmasından kaynaklandığına işaret eder. Tip 2 diyabetin aday poligenik gen mutasyonları, insülin genini kodlayan bölgedeki peroksizom proliferatif aktive edici reseptör gama,  $\beta$  hücresi adenosin trifosfat duyarlı potasyum kanalı, intestinal yağ asidi bağlayıcı protein 2, calpain 10 ve  $\beta$  adrenerjik mutasyonlarını kapsar.

#### **2.1.3.1. 2. 2. Tip 2 DM için risk faktörleri**

Tip 2 diyabetin gelişmesinde risk faktörleri aşağıda sıralanmıştır:

1. Cinsiyet: Gelişmekte olan toplumlarda kadınlarda daha sık görüldüğü halde gelişmiş toplumların çoğunda cinsiyet farkı bildirilmemiştir. Ancak İskandinav ülkelerinde erkeklerde prevalans daha yüksektir.
2. Genetik faktörler: Monozigot ikizlerde Tip 2 diyabet %90'a varan çok yüksek oranlarda görülür. Bu durum hastalığın gelişmesinde genetik faktörlerin önemli ölçüde rolü olduğunu düşündürmektedir.
3. Ailevi kümelenme: Birinci derecede akrabalarda diyabet bulunması, diyabet riskini 2-6 kat artırır. Ailedeki diyabetli sayısı arttıkça da risk artar.
4. Genetik belirteçler: Bazı etnik gruplarda Tip 2 diyabetin bazı HLA grupları ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir; ayrıca bazı ailevi özel diyabet formlarında da spesifik gen mutasyonları gösterilmiştir.



5. Obezite ve vücut yağ dağılımı: Obezite, Tip 2 diyabete sıklıkla eşlik eden bir metabolizma bozukluğu olmasının yanı sıra, kişide diyabet gelişeceğini belirleyen önemli bir risk faktörüdür.
6. Fiziksel inaktivite: Sedanter yaşam biçiminin Tip 2 diyabet gelişiminde önemli rol oynamaktadır.
7. Diyet: Yağdan zengin, karbonhidrattan nispeten fakir diyetle beslenen bireylerde Tip 2 diyabete yakalanma riskinin yüksek olduğu ileri sürülmektedir.
8. Cinsiyet hormonları: Seks hormonlarının bağlayıcı globulin düzeyinin düşük olması kadınlarda erişkin tip diyabet gelişeceğini habercisi olarak görülmektedir. Hiperandrojenizm, hiperinsülinemi ve insülin direncinin birlikte olduğu polikistik over sendromunda diyabet prevalansı yüksektir.
9. Alkol ve sigara kullanımı: Alkol ve sigara kullanımı ile Tip 2 diyabet gelişmesi arasında pozitif bir ilişki olduğu ileri sürülmüştür (12).

### **2.1.3.1. 2. 3. Tip 2 Diyabetin evreleri**

Tip 2 diyabet üç evreye ayrılır:

1-Preklinik evre: Beta hücre fonksiyonları nispeten normaldir. Periferik insülin direnci, normalden daha fazla insülin salınarak (hiperinsülinemi) aşılmaya çalışılmakta ve bu sayede bir süre normal glukoz toleransı sürdürülmektedir. Bu evrede oral glukoz tolerans testi (OGTT) normaldir.

2-Bozulmuş glukoz toleransı dönemi: Beta hücreleri çok çalışır ve salgı yetmezliği gelişir. OGTT patolojiktir. Açlık glisemisi normal olduğu halde OGTT’de ikinci saat değeri 140 mg/dl’nin üzerindedir. Bu dönemde de hiperinsülinemi devam etmekle beraber periferik direncini aşamamaktadır. Özellikle bol karbonhidratlı yemeklerden sonra poliüri ve polidipsi gelişebilir. Bu dönemde koroner arter hastalığı için risk faktörleri olan hipertansiyon, hipertrigliseridemi, yüksek dansiteli kolesterol (HDL-kolesterol) düşüklüğü sık görülür. Bu da makrovasküler komplikasyonlara yol açabilir.

3-Aşık diyabet dönemi: Bu döneme geçişte üç önemli mekanizma vardır. İlk ve en önemli mekanizma, beta hücre sayısında ve salgı fonksiyonunda azalmadır. Bunu genetik belirlese de hiperglisemi ve artmış yağ asitlerinin toksik etkisi de beta hücre fonksiyonlarını bozabilmektedir. İkinci mekanizma, karaciğerdeki glikoz üretiminin artmasıdır ki bu bozulmuş glikoz toleransı döneminde genelde normaldir. Üçüncü mekanizma ise periferik insülin direncinin giderek artmasıdır. Aşık diyabet döneminin başlangıcında insülin salgı rezervi yeterli olduğu için diyet ve oral antidiyabetikler yeterli

olmaktadır. Bu dönem değişken olmakla birlikte uzun yıllar sürer. Beta hücre rezervi zamanla azaldığında insülin tedavisine ihtiyaç duyar(17).

#### **2.1.3.1.2. 4. Tip 2 Diabetes Mellitus'un komplikasyonları**

Diabetes mellitusun komplikasyonları birçok organ sistemlerini etkileyebilir. Komplikasyonlar diyabetle ilişkili morbidite ve mortalitenin çoğundan sorumludur. Kronik komplikasyonlar vasküler ve vasküler olmayan komplikasyonlar olarak ayrılabilir. Vasküler komplikasyonlar da mikrovasküler (retinopati, nefropati, nöropati) ve makrovasküler (koroner arter hastalığı, periferik vasküler hastalık, serebrovasküler hastalık) olarak ayrılır. Vasküler olmayan komplikasyonlar; gastroparezi, seksüel disfonksiyon, deri değişiklikleri gibi problemlerdir. Uzun süreli diyabet işitme kaybı ile ilişkili olabilir. Yaşlı bireylerde tip 2 DM'nin mental fonksiyon bozukluğu ile ilişkisi net değildir. Kronik komplikasyon riski hiperglisemi süresi uzadıkça artar, genellikle hipergliseminin 2. dekadında ortaya çıkar. Tip 2 DM de uzun bir asemptomatik hiperglisemi dönemi olabilir. Bu nedenle tip 2 DM hastaların çoğunda tanı anında komplikasyonlar olabilir. Tip 1 ve tip 2 DM'de mikrovasküler komplikasyonlar kronik hiperglisemi sonucu gelişir. Kronik hiperglisemiye bağlı makrovasküler komplikasyonların gelişmesinde kronik hipergliseminin rolü daha az keskindir. Bununla birlikte tip 2 DM'de koroner kalp hastalığı ve mortalite ikiile üç kat daha yüksektir. HbA1C'ye ek olarak açlık plazma glukozu, postprandiyal glukoz düzeyleri ile korelasyon gösterir. Makrovasküler komplikasyonlarda hiperlipidemi, hipertansiyon gibi diğer faktörler de rol oynamaktadır.

#### **2.1.3.1.2. 4. 1 Tip 2 Diabetes Mellitus'un komplikasyonları mekanizması**

Kronik hiperglisemi diyabetik komplikasyonların gelişmesinde önemli bir etyolojik faktördür ancak hangi mekanizmayla hücre ve organ disfonksiyonuna yol açtığı bilinmemektedir. DM de hipergliseminin kronik komplikasyonlara nasıl yol açabileceğini açıklayan, birbiriyle zıt düşmeyen 4 farklı teori mevcuttur. Hipotezlerden biri artan intrasellüler glukoz hücresel proteinlerin nonenzimatik glikolizasyonuna uğrar. Glikolizasyon sonucu glikolizasyon son ürünleri (AGE) oluşur. Glukoz proteinlerin amino grubu ile etkileşir ve böylece nonenzimatik glikolizasyon oluşur AGE'ler proteinlere (kollajen, ekstrasellüler matriks proteinleri) çapraz bağlanır, ateroskleroza hızlandırır, glomerüler disfonksiyonu arttırır, nitrik oksit sentezini azaltır, endotel disfonksiyonunu

indükler ve ekstrasellüler matrix bileşimi ve yapısını değiştirir. Glisemi düzeyiyle AGE düzeyi uyumludur. Glomerüler filtrasyon hızı düştükçe AGE birikir. İkinci bir hipotezde, kronik hipergliseminin komplikasyonlara nasıl yol açtığı, hipergliseminin glukozun sorbitol yolu aracılığı ile olan metabolizmasını arttırması gözlemine dayalı olarak açıklanmıştır. İntrasellüler glukoz önce fosforilasyon ile sonra glikoliz ile metabolize olur. Ancak intrasellüler glukoz yükseldiği zaman, glukozun bir bölümü aldoz redüktaz enzimi tarafından sorbitole dönüştürülür. Yüksek sorbitol konsantrasyonları redoks potansiyelini değiştirir ve hücrel osmolaliteyi arttırır. Reaktif oksijen türleri oluşturur ve muhtemelen hücrel disfonksiyon diğer tiplerine neden olur. Bu teori insanlarda aldoz redüktaz inhibitörleri kullanılarak test edilmiş, ancak retinopati, nöropati veya nefropati klinik sonlanım noktalarında faydalı etki gösterilememiştir. Üçüncü bir hipotez; hiperglisemi diaçilgliserol oluşumunu arttırır ve bu da protein kinaz C'nin (PKC) bazı izoformlarının aktivasyonuna yol açar. PKC aynı zamanda, ekstrasellüler hücreler ve nöronlardaki ekstrasellüler matriks proteinleri ve fibronektin, tip 4 kollajen, kontraktıl proteinlerin gen transkripsiyonunu değiştirmektedir. PKC inhibitörlerine yönelik klinik çalışmalar yapılmaktadır. Dördüncü bir teoride, hiperglisemi ile fruktoz-6- fosfat (o-bağımlı glikolizasyon ve proteoglikan üretimi için bir substrat) oluşturan heksozamin yolağında akımı arttırdığı ileri sürülmüştür.

Heksozamin yolağı, endotelial nitrik oksit sentaz gibi proteinlerin glikolizasyonu ile ve transforme edici büyüme faktörü betadaki değişiklikler ile fonksiyon değiştirebilir. Büyüme faktörleri DM ile ilişkili komplikasyonların gelişiminde önemli rol oynuyor gibi görünmekte ve ileri sürülen bu yolakların çoğu bunların üretimi arttırmaktadır. Diyabetik proliferatif retinopatide vasküler endotelial büyüme faktörü A lokal olarak artar, lazer fotokoagülasyon sonrası ise azalır. Transforming growth faktör beta (TGF-B) diyabetik retinopatide artar, mezengial hücreler tarafından bazal membran kollajen ve fibrinojen üretimini stimüle eder. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü-1, epidermal büyüme faktörü, insülin benzeri büyüme faktörü 1, büyüme hormonu, temel fibroblast büyüme faktörü ve hatta insülin gibi diğer büyüme faktörlerinin de DM ile ilişkili komplikasyonlarda rolü olduğu ileri sürülmüştür. Düşünülen ortak mekanizma, hipergliseminin mitokondriyel reaktif oksijen metabolitleri ve süperoksit üretiminde artışa yol açması ve tüm bunların sonucu bahsedilen dört yolağın aktive olabileceğidir. Diyabetik komplikasyonların başlangıcının hiperglisemi ile olduğu düşünülüyor ancak bu durumun her basamakta etkili olup olmadığı halen araştırma aşamasındadır (18).

#### **2.1.3.1.2. 4. 2.Diyabetin Kronik Komplasyonları**

#### **2.1.3.1.2. 4. 2.1.Diyabetik retinopati**

Diyabetes mellitus Amerika Birleşik Devletleri'nde 20-74 yaş arasında körlüğün önlenabilir ve/veya tedavi edilebilir en önemli nedenlerinden biridir. Diyabetik hastaların kör olma olasılığı diyabetik olmayanlara göre 25 kat fazla olduğu için retinopati önemlidir. Retinopati; progresif diyabetik retinopati ve maküler ödemin sonucudur. Tip 1 DM hastalarının hastalığın ikinci dekadında nerdeyse tamamında, Tip 2 diyabetiklerinde %60'dan fazlasında retinopati vardır(19). Görmede azalma ve körlük nedeni: Tip 1 DM'de daha çok ciddi proliferatif retinopati, vitreusta hemoraji ve retinal ayrılmalara bağlı olarak, Tip 2 DM'de ise makula ödemi ve retinal iskemiye bağlı olarak gelişir.

Hastalık süresi uzadıkça diyabetik retinopatinin şiddeti ve görülme sıklığı da artar. Diyabetik retinopati gelişiminde öncelikli olan hastalığın süresidir. İnsüline bağımlı olmayan diyabetli hastalarda retinopati insidansı 11-12 yılda %23, 16 ve üstü yılda %60ve 16 ve üzeri yılda proliferatif diabetik retinopati (PDR) insidansı %3 saptanmıştır(20).

Diyabetik retinopati; nonproliferatif ve proliferatif retinopati olmak üzere iki evreye ayrılmaktadır. Nonproliferatif retinopati genellikle hastalığın birinci dekadın sonu veya ikinci dekadın erken döneminde meydana gelir. Retinal vasküler mikroanevrizmalar, leke şeklinde kanamalar, retinal ödem ve yumuşak eksüda ile karakterizedir. Bu dönemde retinal kapillerden protein, lipid ve eritrositler retina içine sızar. Sızma en fazla makulada olursa görme keskinliğinde azalma olur. Hafif non proliferatif retinopati venöz damar çapında değişiklik, intraretinal mikrovasküler anormallikler ve daha çok mikroanevrizma ve kanama ile karakterize olan daha yaygın göz hastalığına ilerler. Non proliferatif retinopatiye neden olan patofizyolojik mekanizmalar; retinal perisit kaybı, retinal vasküler permeabilite artışı, retinal kan akımındaki değişiklikler ve anormal retinal mikrovaskülerizasyondur. Sonuç olarak retinal iskemi oluşur.

Retinal iskemi sonucu neovaskularizasyon oluşur. Neovaskularizasyonla nonproliferatif retinopatiden ayırt edilir. Nonproliferatif retinopatide lezyonlar retinaya sınırlıdır ancak proliferatif retinopatide; retinaya ek olarak vitreus içine ilerleme vardır. Proliferatif retinopati her iki tip DM'de de oluşabilir ancak tip 1 DM'de daha yaygındır. Oluşan yeni damarlar optik sinir ve/veya makulada oluşabilir ve kolaylıkla rüptüre olarak vitröz hemorajiye fibrozise ve sonuç olarak retina dekolmanına neden olabilir. Görme genellikle retinal dekolmana ve vitreus hemorajisi olana kadar normaldir. Nonproliferatif retinopatisi olan her hastada proliferatif retinopati gelişmez, ancak nonproliferatif hastalık

ne kadar şiddetliyse 5 yıl içinde proliferatif retinopati gelişme riski o kadar yüksektir. Böylece diyabetik retinopatinin erken tanısı ve tedavisi için uygun zaman sağlanmış olur. Ancak anlamlı maküler ödem için nonproliferatif retinopati olmalıdır. Maküler ödem 3 yıl içinde %25 sıklıkla orta dereceli görme kaybı ile ilişkilidir. Floresan anjiyografi maküler ödem tanısında yararlıdır. Retinopati gelişiminde en önemli faktörler diyabetin süresi ve glisemik kontroldür. Genetik yatkınlık da söz konusudur ancak diyabetin süresi ve glisemik kontrol daha etkilidir. Hipertansiyon da bir risk faktörüdür.

Nonproliferatif retinopati de DM süresi 20 yılın üzerinde olan hastaların hemen hemen tamamında vardır (tip 1 DM de ilk 5 yıl içinde %25 insidans, yılda %80 insidans ) (21). Non proliferatif retinopati: hafif, orta, ağır ve şiddetli olarak dörde ayrılır. Hafif nonproliferatif diyabetik retinopatide (NPDR) mikroanevrizmalar ve az sayıda küçük retinal hemorajiler vardır. Orta NPDR de mikroanevrizmalar ve/veya retinal hemorajiler artmıştır ve dört kadranın en az birinde yoğun olarak gözlemlenir. Yumuşak eksüda ve retinal mikrovasküler anomaliler gözlenmeye başlanır. Ağır NPDR de ise mikroanevrizmalar ve retinal hemorajiler tüm kadranslarda gözlenir. Venöz kalibrasyondaki değişiklikler, retinal mikrovasküler anomaliler gözlenir. Şiddetli NPDR ağır NPDR'e göre daha yaygın ve daha ağırdır. Yaygın arterioller tıkanıklıklar, yumuşak eksudalar, venöz değişiklikler, özellikle intraretinal mikrovasküler anomaliler (İRMA) yoğunluğu ve genişliğinde artış görülür. Bir yıl içinde PDR gelişme riski %75'tir. NPDR'de mikroanevrizmalar, retina içi kanamalar, yumuşak ve sert eksudalar, makula ödemi, arteriyollerde tıkanıklık, venöz bozukluklar, İRMA mevcuttur.

Intraretinal mikrovasküler anomaliler arteriol ve venüller arasındaki genişlemiş, kıvrımlı ve telenjektazik kanallardır. Yeni damar oluşumundan ziyade, mevcut olan damarlarda endotelyal proliferasyon ve sonucunda nonperfüze alana doğru şant oluşumunu gösterirler. İRMA'nın çok sayıda olması NPDR'nin şiddetli dönemini ve kısa sürede hafif neovaskülarizasyon (NV) başlayacağını gösterir (22).

Proliferatif retinopati erken PDR ve yüksek riskli PDR olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Proliferatif retinopatinin karakteristik görünütüsü; retina yüzeyinde ve/veya optik disk üzerinde yeni damar oluşumu ve birlikte fibröz doku proliferasyonudur. Esas bulgu olan neovaskülarizasyonlar retina yüzeyinde özellikle temporal kadranda ve optik disk üzerindedir. Neovaskülarizasyonlar, büzüşme yeteneği olan fibröz dokuyla çevrilidir. PDR tanısı için retina yüzeyinde ve/veya optik disk üzerinde yeni damar oluşumunun ve birlikte fibröz doku proliferasyonunun olması gerekmektedir (23).

Erken PDR'de retinal neovaskularizasyonlar ve minimal fibröz doku proliferasyonu vardır. Yüksek riskli PDR'de preretinal ve vitreus içi hemorajilerin de olduğu vitreusa ilerlemiş neovaskularizasyon mevcuttur. Yine fibröz doku belirginleşmesi de mevcuttur. PDR de neovaskularizasyon, hemoraji, vitreus dekolmanı ve makula ödemi görülür.

Sonuç olarak: Tip 1 diyabetli hastalarda tanıdan 5 yıl sonra, puberteden itibaren yılda bir kez retinopati taraması yapılmalıdır. Tip 2 diyabetiklerde ise tanıda retinopati taraması yapılmalı, başlangıçta retinopatisi olmayan ya da minimal retinopatisi bulunan hastalar yılda bir kez, ileri evre hastalarda ise 3-6 ayda bir kontrol yapılmalıdır. Tanıda muayene bulguları normalse 1 yıl sonra tekrar değerlendirilmeli, bulgular yine normalse takip aralıkları iki yılda bir kez yapılabilir (1).

#### **2.1.3.1.2. 4. 2.2. Diyabetik nefropati**

DM nefropati risk faktörleri:

Genetik yatkınlık: Afrikan-Amerikan, Güney Asya gibi bazı etnik toplumlarda diyabetik nefropati görülme sıklığı daha yüksektir. Anjiyotensin konverting enzim (ACE) genotipi, nefropati gelişiminde risk faktörüdür. ACE gen delesyonu açısından homozigot olan hastalarda nefropati daha hızlı seyreder (24).

Cinsiyet: Hem tip 1 hem tip 2 DM'de nefropati oranı erkeklerde daha fazladır. Tip1 DM kadın cinsiyette 1.5 kat daha fazla görülmesine rağmen erkeklerde diyabetik nefropati daha sıktır (Erkek/kadın: 1,7/1,0). 40 yıl takip süresinde diyabetik nefropati erkeklerde %46 iken kadınlarda %32 oranında gelişmektedir. Son dönem böbrek yetmezliğinde ise erkek/kadın 1,1/1,0 olarak dikkati çekmektedir. Tip 2 DM'de de erkeklerde artmış eğilim bulunmaktadır. Bazı çalışmalarda bu oran erkek/kadın: 5/1 olmaktadır.

Arteriyel hipertansiyon: Diyabetik nefropati gelişimi açısından önemli bir risk faktörüdür. Hastalığın ilerleyişi ile ilişkili olduğu en iyi bilinen faktördür ve kan basıncı kontrolü mikroalbuminüri riskini azaltır.

Hiperglisemi: Mikroalbuminüri gelişimi açısından önemli bir risk faktörüdür. Glisemik kontrol mikroalbuminürik evreye geçişi azaltır.

Sigara: Nefropatinin başlaması ve ilerlemesinde önemli etkisi vardır. Böbrek yetmezliği olan ve sigara içen diyabetiklerde filtrasyon kaybı sigara içmeyen diyabetiklerin iki katı olarak gözlenmiştir (25).

Dislipidemi: Son yapılan çalışmalarda hiperlipideminin, diyabetik nefropati ilerleyişinde rolü olduğu gösterilmiştir. Ravid ve arkadaşlarının çalışmasında kolesterol yüksekliğinin mikroalbuminüri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (26).

Diyet: Diyetle alınan doymamış yağ asidi oranının doymuş yağ asidine göre fazla olması nefropatide gerileme sağlar. Diyetle alınan protein miktarının fazla olması albüminüri ile ilişkili bulunmuştur(27).

Diyabetik nefropati Amerika Birleşik Devletlerive ülkemizde son dönem böbrek yetmezliğinin (SDBY) ve diyabetle ilişkili morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenidir. Diyabetik hastalarda mikroalbuminüri; makroalbuminüri ve kardiyovasküler hastalık riskinde artış ile ilişkilidir. Diyabetik nefropatili hastalarda hemen daima diyabetik retinopati de mevcuttur. Diyabetik nefropati patogenezi de kronik hiperglisemi ile ilişkilidir. Kronik hipergliseminin hangi mekanizma ile SDBY'ne yol açtığı tam olarak açıklanamamıştır ancak soluble faktörlerin etkileşimi (büyüme faktörleri, anjiotensin 2, endotelin, AGE), renal mikrosirkülasyonda hemodinamik değişiklikler (glomerüler hiperfiltrasyon, glomerüler kapiller basınçta artış), glomerüllerde yapısal değişiklikler (ekstrasellüler matrikste artış, bazal membran kalınlaşması, fibrozis, mezengial genişleme) ile ilişkilidir. Bu etkilerden bir kısmı anjiotensin reseptörleri ile olur. Sigara içmek renal fonksiyonlardaki azalmayı hızlandırır. Diyabetli hastaların sadece % 20-40'ında diyabetik nefropati gelişmektedir ve yatkınlık sağlayan henüz tanımlanmamış etkenler mevcuttur. Bilinen bir risk faktörü ailede diyabetik nefropati öyküsüdür. Diyabetik nefropatinin gelişim sürecinde öngörülebilir olaylar mevcuttur. Diyabetik nefropati gelişimi tip 1 DM'de ortaya konmuş olmakla birlikte, tip 2 DM'de benzer bir durum olması muhtemeldir.

Glomerüler hiperperfüzyon ve renal hipertrofi diyabet başlangıcından sonraki ilk yıllarda oluşur ve glomerüler filtrasyon hızında artış ile karakterizedir. Diyabetin ilk 5 yılında glomerüler filtrasyon düzeyi (GFR) normale dönerken glomerüler bazal membran kalınlaşması glomerüler hipertrofi ve mezengial volüm genişlemesi olur. Tip 1 DM'de 5-10 yıl sonra hastaların % 40'ında idrarda albümin ekskresyonu artmaya başlar (mikroalbuminüri). Mikroalbuminüri albumin ekskresyonunun 24 saatlik idrarda 30-300mg/ gün veya spot idrarda (tercih edilir) 30/ 300 mcg/mg kreatinin olması olarak tanımlanır. Tip 1 DM'de mikroalbuminüri (başlangıç nefropati) ortaya çıkışı aşikar proteinüriye (>300 mg/gün) ilerlemenin çok önemli bir göstergesidir. Hastaların %50'sinde 10 yıl içinde mikroalbuminüri makroalbuminüriye ilerler. Kısa süreli mikroalbuminürisi olan bazı tip 1 DM'li bireylerde mikroalbuminüri geriler. Makroalbuminüri gelişince

GFR’de süreli bir düşüş gerçekleşir ve hastaların %50’sinde 7-10 yıl içinde SDBY gelişir. Makroalbuminüri geliştikten sonra kan basıncı hafifçe yükselir ve patolojik değişiklikler muhtemelen geri dönüşümsüzdür. Tip 1 ya da tip 2 DM olan bazı bireylerde mikro ya da makroalbuminüri olmadan GFR de düşüş vardır bu nedenle yıllık olarak serum kreatinine göre GFR nin değerlendirilmesi gerekir. Diyabetik hastalarda çoğunlukla tip 4 renal tübüler asidoz (hiperreninemik hipoaldosteronizm) görülür. Tip 4 renal tübüler asidozlu hastalarda ilaçlarla şiddetlenebilen (özellikle anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri) hiperpotasemiye yatkınlık vardır.

Diyabetik hastalara radyokontrast maddelerle indüklenabilen nefrotoksisiteye yatkındırlar. Kontrast boyalarla radyolojik prosedür uygulanacak diyabetik hastalar işlem öncesi ve sonrasında iyi hidrate edilmeli ve serum kreatin düzeyleri prosedürü takiben birkaç gün takip edilmelidir. Optimal tedavi glisemik kontrol ile önlem alınmasıdır. Kapsamlı diyabet bakımının gereği olarak, mikroalbuminüri etkili tedavinin mümkün olduğu erken dönemde araştırılmalıdır. Serum kreatin düzeyi, GFR hesaplaması için yılda bir ölçülmelidir (28).

#### **2.1.3.1.2. 4. 2.3. Diyabetik nöropati**

Diyabetik nöropati uzun süredir tanı almış tip 1 ve tip 2 diyabetiklerin yaklaşık %50’sinde gelişir. Polinöropati, mononöropati ve/veya otonom nöropati olarak ortaya çıkabilir. Diyabetin diğer komplikasyonları gibi nöropatinin gelişmesi de diyabet süresi ve glisemik kontrolle ilişkilidir. İlave risk faktörleri vücut kitle indeksi, sigaradır. Vücut kitle indeksi arttıkça, nöropati riski de artar. Kardiyovasküler hastalık, hipertrigliseridemi, hipertansiyon diyabetik periferik nöropati ile ilişkilidir. Hem miyelinli hem de miyelinli olmayan sinir lifleri kaybolur. Diyabetik nöropatinin klinik bulguları diğer nöropatilere benzer olduğu için diyabetik nöropati tanısı konmadan önce diğer nedenler dışlanmalıdır. Amerikan Diyabet Birliği’nin önerisine göre distal simetrik polinöropati için tanı anında, otonom nöropati için tip 1 DM’de tanıdan 5 yıl sonra, tip 2 DM’de ise tanı anında tarama yapılmalıdır. Diyabetik hastalarda nöropatinin her iki formu için de yıllık olarak tarama yapılmalıdır.

#### **2.1.3.1.2. 4. 2.3. 1. Polinöropati**

Diyabetik nöropatinin en sık görülen formu distal simetrik polinöropatidir. En sık distal duysal kayıp ile prezente olur, ancak hastaların %50’sinde nöropatiye ait semptom



bulunmaz, hiperestezi, parestezi ve ağrı da olabilir. Nöropati ilerlediğinde bu semptomların farklı kombinasyonları görülebilir. Semptomlar arasında ayaklardan başlayan ve proksimale ilerleyen uyuşma hissi, karıncalanma ve yanma hissi bulunabilir. Bu hastaların bazılarında nöropatik ağrı gelişir. Bu durum bazen glisemik kontrolde kötüleşmeden önce mevcut olabilir. Ağrı tipik olarak alt ekstremitelerde, istirahat halinde olup geceleri genellikle artabilir. Ağrılı diyabetik nöropatinin hem akut (süre <12 ay) hem de kronik formu tanımlanmıştır. Diyabetik nöropati ilerlediğinde ağrı hafifler ve kaybolur ancak alt ekstremitelerdeki duysal kayıp devam eder. Diyabetik poliradikülopati bir veya daha fazla sinir kökü trasesinde şiddetli ağrı ile karakterizedir. Diyabetik poliradikülopatiyeye motor güçsüzlük de eşlik edebilir. İnterkostal veya trunkal radikülopati toraks ve abdomende ağrıya neden olur. Lomber pleksusun veya femoral sinirin tutulumu kalça veya bacakta ağrı yapar ve kalça fleksör ve ekstansörlerde kas güçsüzlüğü ile ilişkili olabilir (diyabetik amyotrofi). Ancak diyabetik poliradikülopatinin genellikle 6-12 ay içinde kendiliğinden düzelmesi iyi yanıdır.

#### **2.1.3.1.2.4.2.3.2. Mononöropati:**

İzole kraniyal ya da periferik sinir disfonksiyonu DM'de polinöropatiye göre daha az görülür ve tek sinir trasesinde ağrı veya motor güçsüzlük ile ortaya çıkar. Vasküler patolojinin etkili olduğu düşünölmekle beraber kesin patogenezi bilinmemektedir. En sık formu üçüncü kraniyal sinir tutulumudur. Diplopi ile farkedilir. Fizik muayesinde pitoz, ışığa karşı normal papiller konstriksiyon vardır ancak birlikte oftalmopleji saptanır, 4., 6.veya 7. (bell paralizi) kranial sinirler etkilenebilir. Periferik mononöropati veya birden fazla sinirin eş zamanlı tutulumu da olabilir (mononöritis multiplex).

#### **2.1.3.1.2.4.2.3.3. Otonom nöropati:**

Uzun süreli tip 1 veya 2 DM de kolinerjik, noradrenerjik, peptiderjik (pankreatik polipeptit subtans p gibi peptitler) sistemleri ilgilendiren otonom disfonksiyon bulguları gelişebilir. Diyabetle ilişkili otonom nöropati; kardiyovasküler, gastrointestinal genitoüriner, sudomotor (ter bezleri ile ilgili) ve metabolik sistemler gibi birçok sistemi ilgilendirebilir. Kardiyovasküler sistemi etkileyen otonom nöropatide: istirahat taşikardisi ve ortostatik hipotansiyon olur. Ani ölümlerin de otonom nöropatiyle ilişkili olduğu bildirilmiştir. Diyabetik nöropatide görölen gastroparezi ve mesane boşalma bozuklukları da genellikle otonom nöropati ile ilişkilidir. Sempatik sinir sistemi disfonksiyonu sonucu

üst ekstremitelerde hiperhidroz, alt ekstremitelerde anhidroz gelişir. Ayaktaki anhidroz sonucu ciltte kaşıntı ve kuruluk olur. Sonuçta cilt ülserasyonu riski artar. Otonom nöropati karşıt düzenleyici hormon salınımını azaltarak hipogliseminin uygun şekilde hissedilmesinde yetersizliğe yol açarak (hipoglisemi habersizliği) hastayı ciddi hipoglisemi riski ile karşı karşıya bırakır bu durum glisemik kontrolü zorlaştırır.

Diyabetik nöropati tedavisi tatmin edici değildir. Glisemik kontrolde iyileşme sağlanmalıdır. İyi glisemik kontrol sinir ileti hızını iyileştirir ancak diyabetik nöropati semptomları iyileşmeyebilir. Otonom nöropati varlığı ve hipoglisemi habersizliği glisemi kontrolününün düzeltilme çabalarını zorlaştırabilir. Hipertansiyon ve hipertrigliseridemi gibi nöropatiye ait risk faktörleri de tedavi edilmelidir. Nörotoksinlerden kaçınma (sigara, alkol), vitamin eksikliğini yerine koyma, semptomatik tedavi tedavinin ana hatlarıdır. Ayaklardaki his kaybı hastanın ülserasyon komplikasyonu riskini arttırır. Nöropatisi olan hastalar ayaklarını kallus veya ülserasyon açısından hergün kontrol etmelidir. Kronik ağrılı diyabetik nöropatinin tedavisi zordur, fakat antidepresanlara (amitriptilin, desipramin, nortriptilin, imipramin gibi trisiklik antidepresanlar) veya duloksetin gibi selektif serotonin noradrenalin reuptake inhibitörleri ya da antikonvülzanlara (gabapentin, pregabalın, karbamezepin, lamotrijin) yanıt verebilir. Duloksetin ve pregabalın DM nöropati ile ilişkili ağrı tedavisi için FDA (food and drug administration) onay almıştır. Otonom nöropatiye sekonder ortostatik hipotansiyonun tedavisi de güçtür, birçok ajanın (fludrokortizon, mitodrin, klonidin, oktreetid ve yohimbin) sınırlı faydası olmakla birlikte ciddi yan etkileri vardır.

## **2.2. Karotis İntima Media Kalınlığı (KİMK) ve Ateroskleroz**

Arterler içten dışa doğru intima media ve adventisya olmak üzere üç tabakadan oluşur. İntima tek sıra endotel hücre tabakası içerir, aterosklerotik lezyonun olduğu bölgedir. Media tabakası düz kas hücreleri, elastik ve kollajen lifleri içerir. Adventisya tabakası en değişken tabaka olup yoğun kollajen ve elastik lifler içermektedir. İntima media kalınlığı (İMK) intima media kompleksini yani endotel hücrelerini, konnektif dokuyu, düz kas hücrelerini ve de plak oluşumu için gereken lipid yoğunluğunu gösterir (29). İMK ilk kez 1986 yılında Pignoli tarafından B-mod ultrasaund ile ölçülmüştür(30). 1990'lı yıllarda ölçümlerin daha rahat yapılabilmesi ve karotis arterin sık olarak incelenmesinden dolayı İMK ölçümünde karotis arter kullanılmaya başlanmıştır (31). O tarihten beri yapılan çeşitli çalışmaların sonucunda KİMK aterosklerozu belirlemede yeni

bir parametre olarak kullanılmaya başlanmıştır (31-34). KİMK'nın ultrasound ile gösterilmesi intima ile mediayı birbirinden ayıramaz. İMK'nın artışı intima ve media tabakasının kalınlaşması sonucunda olmaktadır (35,36). İntimal kalınlaşmadan primer olarak endotel fonksiyon bozukluğu sonucu oluşan ateroskleroz, medianın kalınlaşmasından ise genellikle hipertansiyona bağlı oluşan düz kas hipertrofisi sorumlu tutulmaktadır.

Normal metabolizma sırasında ya da patolojik intra ve extraselüler olaylarla ortaya çıkan serbest radikallerin etkileri oksidatif stres olarak adlandırılır. Bu radikaller ortamdan uzaklaştırılmadığı takdirde enzim ve proteinleri inaktive ederek veya serbest radikallerin kendisi primer olarak hücre hasarına veya ölümüne neden olabilirler. Sonuçta serbest radikaller erken yaşlanma, kanser, otoimmün hastalıklar, inflamasyon gibi birçok durumun etyopatogenezinde suçlanmaktadır (37).

Ateroskleroz oldukça sık rastlanan ve birçok faktörün etkisiyle oluşan bir arter duvar hastalığıdır. Çok sayıda çalışma yapılmakla birlikte patogenezi hala tam olarak bilinmemektedir. Aterosklerozun damar endotelinde hasarlanmaya yanıt olarak ortaya çıkan inflamatuvar bir süreç olduğu görüşü kabul görmektedir (37). Ateroskleroz gelişiminde inflamasyon major bir rol oynar (38,39). Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) rekürren kronik inflamasyonla seyreden bir hastalıktır ve ataksız dönemlerde dahi subklinik inflamasyon sürmektedir. Yapılan çalışmalarda AAA hastalarında aterosklerozun daha sık görüldüğü gösterilmiştir (40,41). Malatino ve ark.'nın yaptıkları çalışmada inflamasyon ve KİMK arasında anlamlı ilişki saptanmış ve karotid aterosklerozun mortalitenin bir prediktörü olabileceğini rapor etmişlerdir (42). Jian ve ark.'nın yaptıkları çalışmada koroner arter hastalarında oksidatif stres ve inflamasyon belirteçleri ile GST gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi incelemişler, GST T1 ya da GST M1 null genotipine sahip hastalarda koroner arter hastalığı için risk oluşturan inflamasyon belirteçlerini daha yüksek bulmuşlardır (43).

KİMK ölçümü kalp ritminden etkilenmediğinden ilaç kesilmesine gerek duyulmadan yapılabilir. İMK ölçümü diyastol sırasında, lümen çapının en dar, İMK'nın ise en geniş olduğu an yapılır. Sağlıklı bireylerde normal İMK 0.25-1.0 mm olarak kabul edilir (44). İMK yaşla ilişkilidir, yıl başına 0.01-0.02 mm artış gösterir. Bu nedenle yetişkinlerde normal olarak kabul edilen 1.0 mm sınırı gençlerde normal olarak kabul edilemez. Bugün için yaşa göre ayarlanmış bir skala bulunmasada genellikle gençlerde 0.75 mm üzerindeki değerler anormal olarak kabul edilmektedir. Bazı çalışmalarda ise anormal demek için o popülasyonun ortalama değerlerinin üzerinde olması gerektiği savunulmaktadır (44,45).

KİMK progresyon hızında ise 0.02-0.05 mm/yıl artış anormal olarak kabul edilmektedir(46).

KİMK yaygınlığı ve derecesi kardiyovasküler risk faktörleri ile semptomatik koroner arter hastalığının yaygınlığı ile ilişkili bulunmuştur. Koroner arter hastalığı ve inme gelişme riskini belirleyebilmiştir (32,47).

Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) çalışmasında İMK ile miyokard infarktüsü (MI) ilişkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada bilinen inme ve koroner arter hastalığı olmayan 45-64 yaş arasındaki 15792 kişi 6 ile 9 yıl arasında takip edilmiştir. MI'ı belirlemede ana karotis arter diğer bölgelere göre daha üstün bulunmuştur. Ayrıca KİMK, yaş, vücut kitle indeksi, sistolik kan basıncı, diyastolik kan basıncı, sigara, LDL-kolesterol ile ilişkili bulunmuştur (48). Rotterdam çalışmasında 55 yaş üzerindeki 8000 vaka ortalama 2.7 yıl takip edilmiş ve KİMK'da 0.163 mm'lik bir artışın MI görülme riskinde 1.43 oranında bir artışa neden olduğu tespit edilmiştir (49). Diğer risk faktörlerinin de değerlendirildiği ikinci bir analizde MI riskinin 1.25 kat arttığı gösterilmiştir. Kardiyovasküler Sağlık Çalışmasında (Cardiovascular Health Study) kardiyovasküler hastalık hikayesi olmayan 65 yaş üzerindeki 4476 vaka ortalama 6.2 yıl izlenmiştir. İMK arttıkça yıllık inme ve koroner arter hastalığı insidansının arttığı tespit edilmiştir (43). Diğer risk faktörlerinin de değerlendirildiği ikinci bir analizde ise mevcut risk artışının biraz azaldığı, ancak anlamlı kaldığı gösterilmiştir (50). Diğer risk faktörlerinin de değerlendirildiği ikinci bir analizde MI riskinin 1.25 kat arttığı gösterilmiştir.

### **2.3. Oksidatif Stres**

Oksidatif stres, oksijene ihtiyaç duyan tüm canlı sistemlerde çeşitli basamaklarda meydana gelen doğal bir süreçtir. Bazı özel mekanizmalarla biyolojik sistemler tarafından bu stres kontrol altına alınır. Ancak kontrol mekanizmaları yetersiz olduğunda oksidatif hasar oluşur (51). Prooksidan ve antioksidanlar arasında bir denge vardır. Oksidatif stres bu dengenin prooksidan maddeler lehine kaymasıdır (2). Kardiyovasküler hastalıklar, ateroskleroz, nörolojik hastalıklar, astım, amfizem, hepatit, siroz, kronik böbrek yetmezliği, DM, romatoid artrit gibi romatolojik hastalıklar, preeklampsi, yaşlanma, kanser dahil olmak üzere birçok hastalık oksidatif stres ile ilişkilidir (3).

### **2.3.1. Serbest radikaller**

Elektronlar orbital denem bölgelerde dönerler. Her orbital normal şartlarda birbirine zıt yönde dönen 2 elektron ihtiva eder. Serbest radikallerde ortaklanmamış elektron vardır. Bu da en sık olarak elektron transfer zincirinde oluşan elektronların transferi ile veya oksidazlar ile tek elektron transferi ile oluşur. Yine moleküldeki bağların homolitik olarak parçalanması sonucu elektronlardan her birinin farklı atomlar üzerinde kalmasıyla da serbest radikaller oluşur (52,53). Vücutta, çeşitli serbest radikaller türleri normalde belirli fonksiyonları gerçekleştirmek için üretilir. Süperoksit ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve nitrik oksit (NO), normal fizyoloji için gereklidir, fakat yaşlanma sürecini hızlandırdığına ve hastalık durumlarında selüler dejenerasyona aracılık ettiğine inanılan reaktif oksijen türünde üç serbest radikaldir. Bu ajanlar birlikte proteinler, lipidler ve deoksiribonükleik asite (DNA) hasar veren, yüksek ölçüde aktif singlet oksijen, hidroksil radikalleri ve peroksinitritleri üretir (54,55).

#### **2.3.1.1. Reaktif oksijen türleri**

Literatürde oksijen radikallerini ve ilgili radikal olmayan türleri tanımlamada pek çok farklı terim kullanılmıştır. Reaktif oksijen radikalleri (ROS), radikal olmayan oksijenden derive bazı birleşikleri ve oksijen radikallerini kapsar (tablo 3). Pek çok biyolojik molekül nonradikaldir. Serbest radikaller, nonradikallerle reaksiyona girdiğinde, yeni radikaller oluşur ve zincir reaksiyonları meydana gelebilir (56).

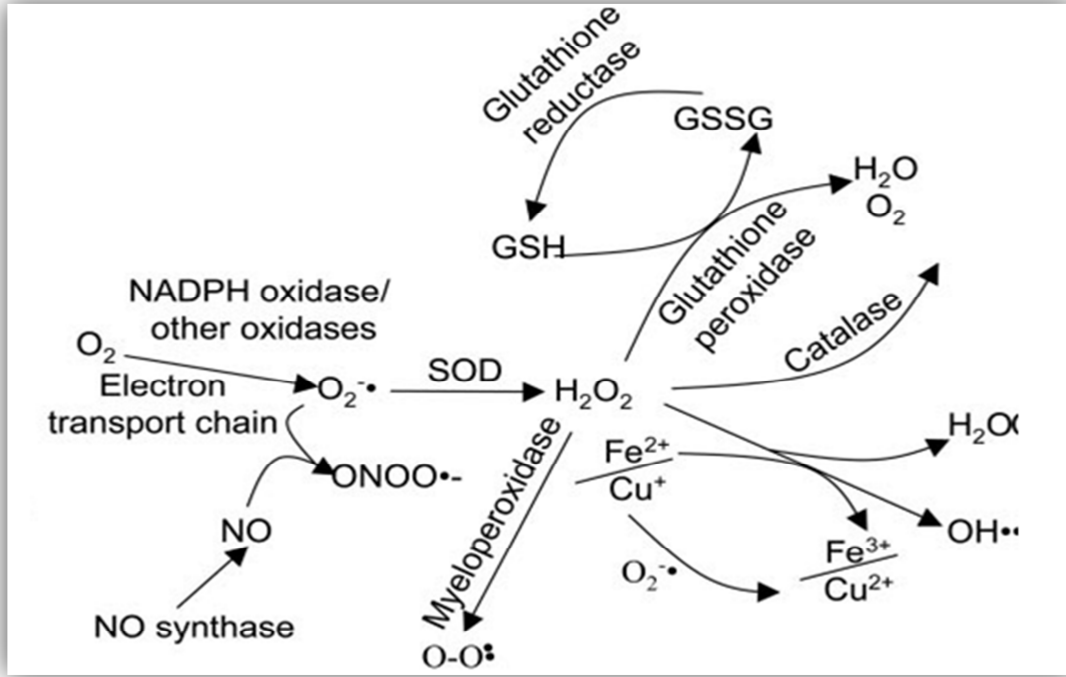
**Tablo 3.** Bazı reaktif oksijen türleri (56).

Serbest Radikaller	Nonradikaller
ROS	ROS
Süperoksit, $O_2^{\bullet-}$	$H_2O_2$
Hidroksil, $OH^{\bullet}$	Hipobromik asit, HOBr
Hidroksiperoksil, $HO_2^{\bullet}$	Hipokloröz asit, HOCl
Karbonat, $CO_3^{\bullet-}$	Ozon, $O_3$
Peroksil, $RO_2^{\bullet}$	Singlet oksijen, $O_2^1\Delta g$
Karbon dioksit radikal, $CO_2^{\bullet-}$	Organik peroksit, ROOH
Singlet $O_2^1\Sigma g^+$	Peroksinitrit, ONOO <sup>-</sup>
	Peroksinitrat, $O_2NOO^{\bullet}$
	Peroksinitröz asit, ONOOH
	Peroksimonokarbonat, $HOOCO_2^{\bullet}$
Reaktif klorin türleri Atomik klorin, $Cl^{\bullet}$	Reaktif klorin türleri Nitril klorit, $NO_2Cl$ Kloramin Klorin dioksit, $ClO_2$
Reaktif bromin türleri Atomik bromin, $Br^{\bullet}$	Reaktif bromin türleri Bromin klorit, BrCl
Reaktif nitrojen türleri Nitrik oksit, $NO^{\bullet}$ Nitrojen dioksit, $NO_2^{\bullet}$ Nitrat radikali, $NO_3^{\bullet}$	Reaktif nitrojen türleri Nitröz asit, HNO Nitroksil anyon, $NO^{\bullet}$ Peroksinitrit, ONOO <sup>-</sup>

### **2.3.1.1.1. Süperoksit radikali**

Süperoksit radikali canlılarda gösterilen ilk serbest radikaldır. Metal iyonları redükte ederveya oksitler. Mitokondride enerji üretilirken oksijen harcanır. Oksijen tüketilirken % 1-5'i süperoksit radikali oluşumu ile sonlanır (57).  $O_2^{\bullet-}$ , okside nikotinamid adenin dinükleotit (NAD) için, indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotidin (NADH) oksidasyonu sırasında mitokondrial elektron transfer zinciri tarafından ve oksidazlar gibi bazı enzimlerin yan ürünü olarak oluşur. Elektronların yaklaşık % 4'ü, solunum zincirine  $O_2^{\bullet-}$  formunda katılır.  $O_2^{\bullet-}$ , vasküler fonksiyonun regülasyonu, hücre bölünmesi,

enflamasyon, apoptoz ve nötrofilin bakteriyel aktivitesi üzerine faydalı etkileri vardır.  $O_2^-$ 'in azaldığında, bakteriyel enfeksiyonlara duyarlılıkta artışa neden olur (54).  $O_2^-$ 'in selüler seviyeleri, sıkı kontrol edilir ve aşırı artmış  $O_2^-$  düzeyleri,  $O_2^-$ 'i  $H_2O_2$  ve oksijene çeviren süperoksit dismutaz enzim ailesinin aktivitesi ile kaldırılır.  $O_2^-$  aşırı derecede oluşumu, bozulmuş hücrel metabolizma sahip komplikasyona eğilimli dokularda meydana gelir. ATP sentaz inhibe olur ve elektron transfer yavaşlar. Bunun sonucunda iki yolla, süperoksitin aşırı üretimine neden olur. Birincisi, yüksek reaktif kuinon ara maddelerinin yarı ömrü uzar, moleküler oksijen ve süperoksit formlarını birleştirmek için elektronların serbest kalışı artar. İkincisi, elektron transfer zinciri artık NAD'ı yeniden üretemediğinde, NADH oksidaz enzimi aktive edilir ve bir yan ürün olarak süperoksit üretir (54).



**Şekil 1.** Oksijenin yüklü durumları ve hücre içindeki oksijen radikallerinin oluşumu, detoksifikasyonu.

Hücre içindeki biyokimyasal reaksiyonlara katılan moleküler oksijen gibi, elektronlarda moleküller arasında hareket eder ve yüksek oranda reaktif ara ürünler üretilir. Bunlar, daha sonra spesifik enzim aktiviteleri ile kaldırılır. Bu reaksiyonlar yukarıdaki şemada özetlenmiştir (54).

#### **2.3.1.1.2. Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) radikali**

Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) süperoksidin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması ya da moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması sonucu meydana gelen peroksidin iki proton (h<sup>+</sup>) ile birleşmesi sonucu oluşur. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, süperoksidin spontan olarak veya SOD'ın katalizlediği dismutasyon sonrası üretilir. Üretildiği yerde kalan süperoksidin aksine, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sitozol boyunca ve membranlar arasında kolayca yayılabilir. Bu ROS, bakterilere karşı olan lökosit aracılı savunmanın bir parçasıdır. Çünkü H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, güçlü oksidan bir ajandır. Hücreler, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi suya çevirmek için çok miktarda katalaz, glutatyon ve tioredoksin ekprese eder. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, serbest Fe<sup>2+</sup> ile reaksiyona girdiğinde, demir oksitlenir ve hidroksil radikalleri üretilir. Hidroksil radikalleri üretiminin, doku hipoksisi ve endotel hasarına yol açan vazodilatasyonun kaybolması içeren pek çok ciddi sonuçları vardır (54).

#### **2.3.1.1.3. Nitrik oksit (NO)**

Nitrik oksit (NO), NO sentaz olarak bilinen sitozolik enzim aktivitesi yoluyla L- arjininden sentezlenir. NO sentaz'ın kalsiyum bağımlı izoformları, enflamasyon ve hücre aktivasyonu ile ilişkili indüklenebilir izoformları mevcuttur. NO, iyon kanallarını kontrol eden guanilat siklazı aktive ederek vasküler tonusun düzenlenmesinde major rol oynar. Kan basıncı ve böbrek fonksiyonlarının kontrolünde rol oynar. Ek olarak, NO oksijen-bağlanma bölgelerine yarışmalı olarak bağlanarak, sitokrom oksidazın direkt inhibisyonu yoluyla hücre solunumu düzenler. NO'in ayrıca nörotransmitter olarak rol oynadığına da inanılmaktadır. Daha önemlisi, NO bazı ortamlarda antioksidan olarak davranır ve lipid peroksidasyonunu engeller. Fakat süperoksit arttığında, NO süperoksit ile peroksinitrit oluşturmak üzere reaksiyona girer ve prooksidan hale gelir, lipid oksidasyon reaksiyonları oluşturur (54).

#### **2.3.1.1.4. Hidroksil radikali**

Hidroksil, bilinen en reaktif radikaldir. Yarılanma ömrü çok kısadır. Amino asitler, nükleik asitler, organik asitler fosfolipidler ve şekerler gibi biyokimyasal maddelerin bir çoğuyla reaksiyona girebilir. Tek atom halinde ve bir elektronu eksik olan oksijen ile H<sup>+</sup> 'in birleşmesinden oluşur. Gamma radyasyona maruz kalan dokularda da hidroksil radikali oluşabilir. Alınan enerji hücre suyu tarafından absorbe edilir ve sudaki oksijen-hidrojen kovalent bağının parçalanmasına neden olur. Böylece hidrojen ve oksijen üzerinde dış



orbitalde tek elektron kalır ve 2 radikal oluşur. Hidroksilin yarılanma ömrü çok kısadır ve pek çok molekülde H atomu çıkarılmasını sağlar (52-56,58,59).

### **2.3.1.2. Serbest radikallerin etkileri**

#### **2.3.1.2.1. Lipid peroksidasyonu**

Serbest radikallerin etkilerinde en duyarlı ve en çok maruz kalan moleküller lipidlerdir. Membranda bulunan yağ asitleri ve kolesterolün doymamış bağları serbest radikallerle reaksiyona girip peroksidasyona neden olabilir. İlk önce yağ asidi hidrojen ve kendi üzerinde birer elektron kalacak şekilde parçalanır ve lipid radikalini oluşturur. Lipid radikal de oksijenle reaksiyona girerek lipid peroksil radikalini oluşturur. Lipid peroksil radikal de diğer doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girer. Böylece zincirleme reaksiyon başlamış olur. Ayrıca lipid peroksiller ortamdaki hidrojen atomları ile de reaksiyona girerek lipid hidroperoksidleri de oluştururlar (52,60,61).

Lipid peroksidler daha nispeten daha stabil bir son ürün olan malondialdehid (MDA) ile 4-hidroksi nonenal gibi yıkım ürünlerine dönüşürler (52-56,58-61). Bu yıkım ürünleri de DNA veya proteinlerle reaksiyona girebilir ve mutajeniktirler. Üç veya daha fazla çift bağa sahip yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu MDA oluşmaktadır. Bu da tiyobarbutirik asid reaktif maddeler olarak ölçülmektedir. MDA lipid peroksidasyonunun şiddetiyle orantılı olarak artar, ancak spesifik değildir. Aynı zamanda membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmasına neden olabilir (52-56,58,60).

#### **2.3.1.2.2. Proteinlere etkisi**

Proteinlerin oksidatif olarak, spesifik aminoasitlerin oksidatif modifikasyonu, serbest radikal aracılı peptid ayrılma ve lipid peroksidasyon ürünleriyle reaksiyon nedeniyle agregasyon ve protein çapraz bağlarının oluşumu şeklinde üç yolla modifiye olur. Serbest radikal aracılı protein modifikasyonu sonucu enzim proteolizine daha hassas olur. Protein ürünlerindeki oksidatif hasar, enzim, reseptör ve membran transportu aktivitesini etkileyebilir. IgG, albümin gibi çok sayıda disülfid bağı içeren proteinler, üç boyutlu yapılarını kaybederek normal fonksiyonlarını yerine getiremez. Oksidatif olarak hasarlanan protein ürünleri, membran ve pek çok selüler fonksiyon hasarına neden olabilen çok reaktif grupları içerebilir. Peroksil radikalı, genellikle proteinlerin oksidasyonuna neden olan serbest radikal türü olarak kabul edilir. ROS, proteinlere hasar verir ve aminoasitlerde modifikasyona neden olur, karboniller üretir. Protein oksidasyonu,

yaşlanmaya neden olan sinyal iletim mekanizması, enzim aktivitesi, ısı stabilitesi ve proteolizis duyarlılığını etkiler (61).

### **2.3.1.2.3. DNA üzerine etkisi**

Deoksiribonükleik asit ve ribonükleik asit (RNA), oksidatif hasara karşı duyarlıdır. Özellikle yaşlanma ve kanserde, DNA'nın major hedef olduğu gösterilmiştir. Oksidatif nükleotidlerin, ultraviyole ışınları altında oluşan DNA'nın oksidatif hasarı veya serbest radikal hasarı nedeniyle arttıkları bulunmuştur. Kanser de dahil pek çok hastalıkta rol oynayan mitokondrial DNA'nın oksidatif hasara duyarlı olduğu gösterilmiştir (61).

### **2.3.1.3. MDA**

Membran komponentlerinin polimerizasyon ve çapraz bağlanmalarına neden olur. İyon transportu, deformabilite, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyindeki determinantların agregasyonu gibi etkilerle iç membranın bazı özelliklerini değiştirir. Nukleusa geçebildiği için DNA'nın nitrojen bazlarıyla da reaksiyona girer. Bu nedenlerle; mutajenik, genotoksik, karsinojeniktir(62). MDA dokularda ne kadar lipid peroksidasyonu olduğunu yansıtır. Molekül oksijenin azalmasına neden olarak süperoksit anyonu ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşumuna yol açar, bu ürünler hücre hasarı yapar (63).

## **2.4. Antioksidan Sistemler**

Antioksidan, serbest radikallere elektron veren ve onları nötralize eden yeteri kadar stabil bir moleküldür. Böylece serbest radikallerin hasar verme kapasitesini azaltır. Bu antioksidanlar, serbest radikalleri temizleme özelliği sayesinde hücresel hasarı geciktirir ya da inhibe eder (61,64). Düşük moleküler ağırlıklı antioksidanlar, serbest radikaller ile reaksiyona girer ve vital moleküller hasarlanmadan önce zincir reaksiyonunu sonlandırırlar. Bu antioksidanlardan bazıları (glutatyon, ubikinol ve ürik asit) normal metabolizma sırasında üretilir (61,64,65). Diğer daha hafif antioksidanlar diyetin içerisinde bulunur. Vücutta serbest radikalleri ortadan kaldıran çok sayıda enzim sistemi olmasına rağmen, esas mikrobesein (vitaminler) şeklindeki antioksidanlar vitamin E, C vitamini (askorbik asit) ve B karotendir (63-66). Vücudun üretemediği bu mikrobeseinlerin, bu nedenle diyet ile alınması gerekmektedir.

### **2.4.1. Antioksidan koruma sistemi**

Antioksidanlar 4 farklı mekanizma ile oksidanları etkisizleştirme işlemi yapar;

1. Scavenging (temizleme) etkisi: Enzimler tarafından oksidan maddeler zayıf bir moleküle çevrilir.
2. Quencher (baskılama) etkisi: vitamin ve flavonoidler tarafından oksidanlara hidrojen eklenir ve etkisiz hale gelir.
3. Onarma etkisi; hedef moleküllerin hasar sonrası tamiri veya temizlenmesi
4. Zincir koparma etkisi: ağır metallerin oksidanları bağlayarak etkisiz bırakması (hemoglobin, seruloplazmin ve E vitamini )

İntraselüler ve ekstraselüler ortamdaki enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar, ROS'ni detoksifiye ederler.

### **2.4.2. Enzimatik antioksidan sistemler**

Hücreler, antioksidan enzimlerin birbirleriyle etkileşen bir ağla oksidatif strese karşı korunur (63-67). Burada, oksidatif fosforilasyon gibi süreçler tarafından oluşturulan süperoksit, ilk olarak hidrojen peroksite, daha sonra su oluşturacak şekilde indirgenir. Bu detoksifikasyon yolu, ilk basamakta süperoksit dismutazın katalizlediği, daha sonra katalaz ve hidrojen peroksiti çıkaran çeşitli peroksidazla birlikte multiple enzimlerin sonucudur (61-68).

#### **2.4.2.1. Süperoksid dismutaz (SOD)**

Süperoksit dismutaz, süperoksitin daha az reaktif olan hidrojen peroksite dismutasyonunu katalizler:



SOD, en efektif intraselüler enzimatik antioksidandır. Süperoksit dismutaz, dokularda üç formda bulunur, her biri spesifik subselüler lokalizasyon ve farklı doku dağılımı göstermektedir (61-69). Ayrıca farklı aktif metal merkez, aminoasit yapısı, ko-faktörlere sahiptirler (55).

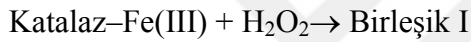
1. Bakır-Çinko Süperoksit dismutaz (CuZnSOD): CuZnSOD, sitoplazmada ve hemen hemen tüm memeli hücrelerinde organellerde bulunur (60). Spesifik olarak süperoksit anyonunun, oksijen ve suya dismutasyonunu katalizler (55).
2. İki protein subuniti vardır ve her biri katalitik olarak aktif bakır ve çinko atomu içerir.

3. Manganez Süperoksit Dismutaz (MnSOD): Hemen hemen tüm hücrelerde mitokondride bulunur. Dört protein subünitesi içerir ve her biri muhtemelen tek manganez atomu içerir (60). MnSOD, anti-tumöral aktiviteye sahip çok etkili antioksidan bir enzimdir (61).

4. Ekstraselüler süperoksit dismutaz (EC-SOD): Ekstraselüler süperoksit dismutaz endotel hücreleri ve fibroblastları içeren sadece birkaç hücre tipi tarafından sentezlenir. Hücre yüzeyine eksprese edilir ve heparan sülfata bağlanır. EC-SOD, ekstraselüler sıvıda saptanabilen major SOD'dır. Heparin enjeksiyonu sonrası vasküler endotelial yüzeyden dolaşıma salınır. EC-SOD, vasküler tonusun sağlanmasında rol oynuyor olabilir, çünkü endotelden derive gevşetme faktörü (nitrik oksit veya yakından ilişki bir birleşik) süperoksit tarafından plazmada nötralize edilmektedir (60).

#### **2.4.2.2. Katalaz**

İki basamaklı bir reaksiyon ile hidrojen peroksitin su ve oksijene dönüşümünü katalizler (60).

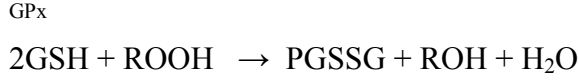
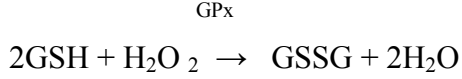


Katalaz, her birinde bir hem grubu ve NADPH molekülü içeren dört protein subünitesinden oluşur. Katalaz reaksiyonu için Michaelis sabit oranı oldukça yüksektir (59,60). Katalaz, daha çok, hidrojen peroksitte üretme kabiliyetine sahip enzimlerde içeren hücre içindeki peroksizomda yer almaktadır. Katalaz aktivitesi eritrosit, karaciğer ve böbrekte yoğun olmak üzere tüm dokularda bulunur (60).

#### **2.4.2.3. Glutasyon peroksidaz**

Glutasyon peroksidaz enziminin, selenyum-bağımsız (glutasyon-S-transferaz) ve selenyum-bağımlı (Se-bağımlı, GPx) iki formu vardır. Bu iki enzimin subunitlerinin sayısı, aktif merkezde selenyum bağlama özelliği ve katalitik mekanizmaları farklıdır. Glutasyon metabolizması, antioksidan savunma mekanizmalarının en önemlisidir.

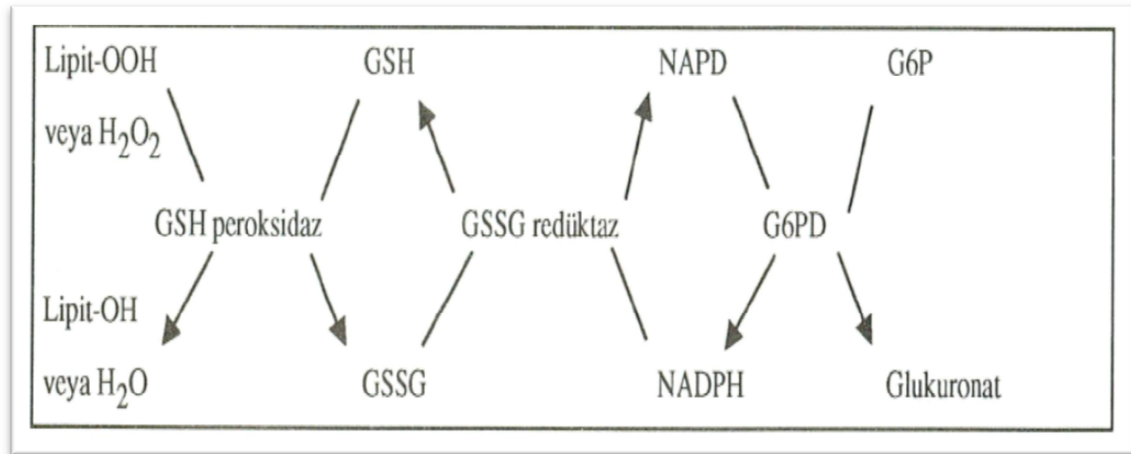
İnsanlarda, Se-bağımlı glutasyon peroksidazın dört farklı tipi vardır. Bu selenoenzimlerin antioksidan özellikleri, Fenton reaksiyonu için potansiyel substrat olan peroksidazların kaldırılmasını sağlamaktır. GPx, hücre içinde yüksek konsantrasyonlarda olan tripeptid glutasyon ile birlikte hareket eder. GPx'in katalitik reaksiyonu için substratlar, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> veya organik peroksit (ROOH)'dir. GPx, peroksidazı, GSH ile beraber suya (veya alkol) dönüştürür (61,55).



Suda çözünebilir bir tiyol olan ve birçok hücrede çok yüksek konsantrasyonlarda bulunan glutatyon, biyolojik membranları lipid peroksidasyonuna karşı korumaktadır. Bu koruma, enzimatik olarak gerçekleşmektedir (69). Glutatyon aynı zamanda hücre içinde tekli oksijen ( $^1\text{O}_2$ ), süperoksit anyonu ( $\text{O}_2^-$ ), hidroksi ( $\text{OH}$ ) radikalleri gibi birçok zararlı oksidanla enzim katalizi olmaksızın da reaksiyona girmektedir(70).

#### **2.4.2.4. Glutatyon redüktaz (GSH)**

Glutatyon redüktaz, oksidazlar tarafından protein sülfidrillerine tercih edilen bir substrattır. Protein sülfidril oksidasyonunu önlemektedir. GSH, protein sülfidrillerinin oksidasyonunu geriye de çevirir. Yüksek GSH ve düşük okside glutatyon düzeyleri önemlidir, çünkü yüksek glutatyon disülfid (GSSG) düzeyleri protein sülfidrilleriyle reaksiyona girer ve proteinleri inaktive eden karışık glutatyon-protein sülfidrilleri oluşturur. Gerekli GSH-GSSG oranları glutatyon redüktaz ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) enzimleri tarafından sürdürülür. NADPH'ın G6PD ile üretimi de oksijen hasarının tamirinde gereken biyosentetik süreçlerde önemli olabileceği düşünülmektedir. (Şekil 2)(61).



**Şekil 2.** Glutatyon redüktaz

### **2.4.3. Non-enzimatik antioksidan sistemler**

#### **2.4.3.1. Vitaminler**

##### **2.4.3.1.1. Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol)**

Tokoferollerin alfa, beta, gama, delta vb.çeşitli türleri bulunmaktadır. Antioksidan aktivitesi en yüksek olan tokoferol de  $\alpha$ -tokoferol'dür (71). E vitamini lipid peroksidasyon ürünlerini tutar, lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını durdurur ve reaktif oksijen radikallerini inaktive eder(72). Vitamin E parçalanmadan önce ve okside oluşunu takiben askorbik asit ile glutatyon tarafından yeniden indirgenebilir. Vitamin E ve C'nin birlikte verilmesi sonucu ortalama kan lipid peroksit konsantrasyonu azalır ve DNA'nın oksidatif hasarından kaynaklanan karsinogenezisve kromozomal kırıklar önlenir(73). Glutatyon peroksidaz ile vitamin E, serbest radikallere karşı tamamlayıcı etkilidir. Glutatyon peroksidaz oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırır, vitamin E peroksitlerin sentezini engeller(74). Vitamin E selenyum metabolizmasında da önemli rol oynar. Selenyumun organizmadan kaybını önleyerek veya onu aktif şekilde tutarak selenyum ihtiyacını azaltır (75). Vitamin E'nin antioksidan etkisi ile ilgili araştırmaların önemli kısmı, deri antioksidan kapasitesini arttırdığını ortaya koymaktadır. Cilt yaşlanmasına ve ışığın deri üzerinde zararlarına karşı korunmada vitamin E ve kombinasyonları etkilidir (71).

##### **2.4.3.1.2. Vitamin C (Askorbik Asit)**

Askorbik asit, güçlü indirgeyici aktivitesi nedeniyle iyi bir antioksidandır. Süperoksit, hidroksil, singlet oksijen, hidroperoksil, lipid peroksil radikalleri ile reaksiyona girerek onları ortamdan temizler. Lipid moleküllerinin oksidasyonu ile oluşan lipid peroksitler; vitamin C'nin antioksidan etkisiyle sulu ortamda çözülerek oksidan etkilerini kaybederler (76). Vitamin C, serbest radikal reaksiyonlarının önemli bir katalizörü veya bir prooksidan olarak kabul edilebilir. Ancak bu tip etkinin düşük konsantrasyonlarda görüldüğü, yüksek konsantrasyonlarda ise güçlü bir antioksidan olarak etki ettiği belirlenmiştir (77). Serbest radikal hasarını önleyebilmesi için, hem suda hem de yağda çözünür özellikte olması gerekir. E vitamini ile verilen askorbik asit, hem yağ hemde sulu ortamda etki gösterdiğinden, serbest oksijen radikallerini temizleyici etkisi oldukça kuvvetlidir (78).

### **2.4.3.1.3.Vitamin K**

Koagülasyon ve kemiklere kalsiyum çökmesinde rol alır. Vitamin K'nın metabolik ürünleri de zincir kırıcı bir antioksidan etkiye sahiptirler (79).

### **2.4.3.2. Karotenoidler**

Karotenoidler; hidroksil, süperoksit ve peroksil radikalleri ile etkileşime girerek radikal süpürücüsü gibidir. Serbest radikallere yeni radikal ekleyerek, yapısından bir hidrojen iyonu koparıp etkisiz hale getirerek veya yapısından bir elektron transfer ederek radikali etkisiz hale getirirler. Yapılarındaki çift bağların yerleşik olmayan eşleşmemiş elektronlara bağlanması sonucu antioksidan aktivite gösterirler. Yüksek konsantrasyonlarda, lipid peroksidasyonu engellerler (71).

#### **2.4.3.2. 1.Likopen**

Yapısındaki çift bağların fazla olması nedeniyle, diğer karotenoidlere oranla daha çok singlet oksijen yakalar. Ayrıca hidrojen peroksit ve nitrojen dioksiti de inaktive etme yeteneği vardır. Diğer karotenoidler gibi sülfonil radikallerini de tutar. Nitrojen dioksitin neden olduğu membran hasarı ve hücre ölümüne karşı lenfositleri korur. Likopenin antioksidan özellikleri yanında hücreler arası iletişimdeki rolüyle de hücreleri kansere karşı korur(80).

### **2.4.3.3. Melatonin**

Direkt antioksidan etki ile süperoksit radikali (HO·), hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), HOCl, nitrik oksid (NO·), peroksinitrit (ONOO·) gibi oksidatif strese yol açabilen serbest radikalleri detoksifiye ettiği ve böylece onların biyomoleküller üzerindeki zararlı etkilerini önleyebildiği bildirilmektedir. Melatoninin antioksidan özelliği, yapısında bulunan pirol halkasından kaynaklanmaktadır (81).

### **2.4.3.4.Tivol bileşikleri**

#### **2.4.3.4.1.Glutatyon**

Glutatyon karaciğerde sentezlenebilen bir tripeptittir. Okside olmuş hali glutatyon disülfittir (GSSG). Hücrede; sitozol, çekirdek ve mitokondride bulunur. Organizmada

hücre içinde depolanır ve GSH/GSSG oranı hücredeki oksidatif stress miktarını yansıtır(82). Glutasyon ve indirgenmiş formunda, oksidatif hasar ve toksik maddelere karşı hücreyi koruyan bol miktarda tiyol grubu vardır. Dokularda açığa çıkan lipid peroksidler, hidrojen peroksit, askorbik asit, serbest radikalleri indirger (83). Oksidatif strese karşı detoksifikasyon görevindeki glutasyon peroksidaz, glutasyon transferaz gibi enzimlere kofaktör olarak reaksiyonlara katılır(74). Eritrositleri, lökositleri ve göz lensini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir(84).

#### **2.4.3.4.2.Sistein**

Tiyol içeren aminoasitlerden biri olan sistein GSH sentezinde önemli rol oynar. GSH sentezi için hız belirleyici bir enzimi onarır. Dolayısıyla sistein, GSH sentezi için hız belirleyici bir aminoasit olarak kabul edilebilir. Sistein, protein sentezi için kritik bir substrat, GSH ve taurin sentezi için hız belirleyici bir belirteçtir; aynı zamanda, hücre dışı indirgeyici ajan olarak önemli rol oynar(85). Serbest radikal ve hipoklorid toplayıcısıdır(84).

#### **2.4.3.4.3.N-Asetilsistein (NAC)**

Sisteinin türevi olan N-asetilsistein, sistenin GSH'ye çevrilmesi aşamasında bir ara üründür. Endojen olarak yapılabilir ya da besinlerle alınabilir. Sülfidril grupları ile serbest radikalleri temizler. Ayrıca, hücrel redükte GSH konsantrasyonunu artırır ve doğal antioksidan savunmayı güçlendirir (86).

#### **2.4.3.4.4.Metionin**

Metionin, asetaldehidin düzeyini düşürüp alkolün zararlı etkilerini azaltabilmektedir (80). Metionin indirgenme yükseltgenme reaksiyonlarına bağlı olarak katalitik etki yapar ve hücreleri oksidatif hasara karşı korur(87).

#### **2.4.3.4.5.Taurin**

Yarı esansiyel bir aminoasittir. Lipid peroksidasyonunu ve nötrofil infiltrasyonunu inhibe ederek antioksidan etkili olduğu gösterilmiştir(88).



### **2.4.3.5. Flavonlar**

Flavonlar antioksidatif etkilerini; ksantin oksidaz, lipooksijenaz ve siklooksijenaz gibi enzimleri inhibe ederek, metal iyonları ile şelat oluşturarak, diğer antioksidanlarla etkileşime girerek, süperoksit anyonları, lipid peroksil radikalleri ve hidroksil radikalleri gibi serbest radikalleri yakalayarak yapar (80). Flavonlar selenyum, karnitin, transferrin, ürik asit, albümindir.

Selenyum, oksidatif hasara karşı protein, DNA ve kromozomları kormaktadır (75). Glutasyon peroksidaz aktivitesi için selenyum gerekir (82).

Karnitin yağ asitlerini taşır ve lipid peroksidasyonunu önler. Demir iyonları ile şelat oluşturur. Yapısında bulunan bileşikler sayesinde E vitamini, tiyol grupları, glutasyon yenilenmesinde rol alır(89).

Transferrin: Serbest demiri bağlar ve böylece antioksidan özellik gösterir(90).

Ürik asit: Süperoksit, hidroksil ve peroksil radikallerini temizler. peroksinitrit ve nitrik okside karşı antioksidan rol oynar (91).

Albümin: Geçiş metallerini bağlar, lipid hidroperoksid ve hipokloridleri toplar(91).

Bilirubin: Serbest radikal tutucusudur, süperoksit ve hidroksil radikallerini toplar (90).

### **2.5.KOLLAJEN**

Kollajen, fibriller bir yapı gösterir ve alfa ( $\alpha$ ) heliks yapısına sahip bir proteindir. Bu yapı sayesinde yüksek gerilme ve direnç sağlamaktadır. Yüksek organizasyonlu hayvanların toplam vücut proteininin üçte birini kollojenler oluşturur. Kollojenler deri, kemik, tendon, kıkırdak ve dişlerin ana fibriller proteindir. Yapısında %35 oranında glisin, %11 oranda bulunur ve bu nedenle beta ( $\beta$ ) keratine benzer. Kollojen diğer proteinlerden farklı olarak %12 oranında prolin ve %9 oranında ise hidroksiprolin ihtiva etmektedir(92). Kollajen, hayvansal bağ dokularının ana bileşenidir. Çoğu dokuda fibroblastlar tarafından sentezlenmektedir(93). Hepatosit ve presinüzoidal hücrelerin de kollajen oluşumuna katıldığı düşünülmektedir(94). Kollajen bağ doku iskeletinin temelini oluşturur. Hücrelerin çoğu kollajen bazal laminada ya da kollajen matrikste yerleşir.

Hücre hareketi, inflamasyon, yara iyileşmesi, trofoblast implantasyonu ve fetal gelişim için kollajen ile hücre ilişkisi gereklidir. Kollajen % 20-25 prolin (Pro) ve hidroksiprolin (Hyp), %33 glisin, % 5-11 lizin ve hidroksilizin aminoasitlerinden oluşur. Aynı genlerden ve en az 24 zincirden oluşan 15 adet kollajen vardır. Tip 1,2,3,5 ve 11

fibriler kollajendir. Yetişkinlerde % 85-90'ı Tip 1, % 8-11 Tip 3 , %2 -4 Tip 5 kollajen yapısındadır(95).

### **2.5.1. KOLLAJENİN YAPISI**

Kollojen molekülleri alfa-zincirleri adı verilen, birbiri etrafında biri üçlü heliks halinde sarılarak ip benzeri bir yapı oluşturan üç polipeptidden meydana gelir. Üç polipeptid zinciri aralarındaki hidrojen bağlarıyla birarada tutulur. Alfa-zincirleri dokularda bulunan çeşitli kollojen tiplerini oluşturmak üzere birleşir(96).

Kollajen biyosentezi evreleri: proalfa zincirlerinin oluşumu, hidroksilasyon, çapraz bağ oluşumudur. Yarılanma ömrü 50-300 gündür. Vücutta kullanılan kollajenin büyük kısmının belirli bir yenilenme süreci vardır ve en sağlam lifler de dahil olmak üzere yeni sentezlenen liflerle değiştirilir. İdrarda hidroksiprolin, in vivo kollajen yıkımının belirleyicisi olarak kullanılmaktadır(97).

### **2. 6. PROLİDAZ ENZİMİ**

Prolidaz, EC (enzyme commision) 3.4.13.9. iminopeptidaz, prolin dipeptidaz, peptidaz D olarakta bilinen hidrolazlar sınıfında bulunan bir enzimdir. Prolidaz birçok memeli dokusunda ve mikroorganizmalarda yaygın dağılım gösterir. Doğal enzim sitoplazmi ve homodimerik bir metalloenzimdir. Mangan (Mn<sup>+2</sup>) ve ona ek olarak enzimin maksimum aktivitesi için aktif merkezinde arginin ve anyonik amino asit artıklarının bulunması gerekir. Mn<sup>+2</sup> prolidaz aktivitesini 5- 10 kat arttırmaktadır. Bilinen tüm proteazlar monomer yapıdadır ancak tüm prolidazlar dimer yapı gösterir. Ancak bu şekilde katalitik aktiviteye sahiptir (4).Kollajen yıkımının son basamağı prolidaz aracılığı ile olmaktadır. Prolidaz; kollajen sentezinde ve hücre gelişiminde rol alan prolinin dönüşümünde rol alır

Uluslararası sınıflandırmaya göre; EC (enzyme commision) 3.4.13.9 sınıfında yer alır. Hidrolazlar çeşitli bağların hidrolizini katalizler. Bu bağlar; C-O, C-N, C-C ve fosforik anhidrit bağlarıdır. Prolidaz enzimi karboksil terminal pozisyonundaki prolin veya hidroksiprolin içeren dipeptitlerin hidrolizini katalizler. 1937 yılında Bergmann ve Fruton glisil-prolin'in önceden bilinen peptidazlardan farklı intestinal mukozal bir enzim tarafından hidroliz edildiğini saptamışlardır. O tarihten itibaren prolidaz adı verilen bu enzimin pek çok memeli dokusunda var olduğu gösterilmiştir(98).

Prolidaz enziminin aktif merkezinde tiyol grubu yer alır ve bu grup bloke edilirse aktivite düşer. Bu durum sisteinin enzim aktivitesi için gerekli olduğunu gösterir. Doğal enzim için optimum pH 7,6-7,8'dir ve izoelektronik nokta pH'sı 4,4-4,5 olarak saptanmış olup bu değer yapıdaki asidik amino asitlerin varlığını belirtmektedir. Enzimin karakteristiği araştırıldığında Dietilaminitil (DEAE) selüloz dizi kromatografisinde prolidazın iki pik verdiği görülmektedir(99). Prolidaz enzimi birçok memeli dokusunda ve mikroorganizmalarda dağılım göstermektedir. Doğal, sitoplazmik, homodimerik bir metaloenzim olan prolidazın aktivitesi Mn<sup>2+</sup> ile 5-10 kat artmaktadır. Bunun yanında enzimin maksimum aktivitesi için aktif merkezinde arjinin ve anyonik amino asit artıklarının olması gerekir(100). Proteazlar hep monomer yapıda olmasına rağmen tüm prolidazlar dimer yapı gösterirler ve ancak bu şekilde katalitik aktivite gösterirler(99). Prolidaz glikoprotein yapısındadır ve ağırlık olarak %5 karbonhidrat içermektedir. Prolidazın sekonder yapısında  $\alpha$ -heliks (%33),  $\beta$ -tabakalı (%41) ve 30 potansiyel beta bağlantı bölgelerine eşit bir şekilde dağılmış hidrofobik ve hidrofilik alanlar bulunmaktadır(101).

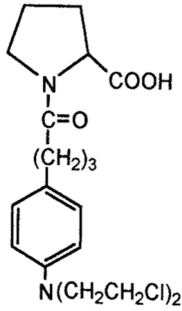
### **2.6.1. İnsan Prolidazının Primer Yapısı ve Gen Lokalizasyonu**

Prolidaz geni sembolü PEPD'dir ve insanda 19 numaralı kromozomun kısa kolunda lokalize şeklindedir. Enzim amino asit olarak X-Ala-Ala-Ala sırası ile başlamaktadır. Prolidaz geni polimorfik allelleri içerir, bu aktiviteyi engellemez ve bazı alleller prolidaz eksikliğine sebep olmaktadır. Amino asit sırasının saptanması ve gen lokalizasyonu enzimin eksikliğinin sebep olduğu kalıtsal hastalıkların temelini anlaşılması bakımından önemlidir(99).

### **2.6.2. Prolin**

Prolin ve hidroksiprolin prolidino halkasındaki azot atomuna bir hidrojen atomunun girmesi ile oluşmaktadır. Bunlar genelde iminoasit ismiyle adlandırılır. Amino asitlerin iminoasitler sınıfında yer alan esansiyel olmayan glutamatın halka yapısındaki bir türevidir. Bu aminoasit diğer amino asitlerden yan zinciri radikal grubunun hem amino grubu hem de  $\alpha$ -karbon grubuna bağlı olarak siklik bir yapıya yol açması yönünden farklıdır. Bu anlamda nitrojen atomunun kimyasal modifikasyonu prolin amino asitinin genel polaritesini ve basitliğini etkilemektedir. Dahası bu amino asitin siklik yapısı polipeptid omurganın yapısal yönlerine temel sınırlamalar getirmektedir. Prolin siklik

yapısının ikinci bir sonucu hiçbir fonksiyonel grup içermemesidir ki bu durumda hidrojen bağına veya peptid bir bağı rezonans stabilizasyonuna katılmayı engeller. Bu nedenle prolin  $\alpha$  helix veya  $\beta$  tabakalı sekonder yapılarıyla uyumlu olmayan tek amino asittir. Ancak prolin multipl prolin amino asidinin bir protein içinde birikimli olduğu zaman sol elli bir helikal yapı ortaya koyar. Bu çok yaygın bir durum olmasına rağmen bovin pankreas tripsin inhibitöründe 5-7 aminoasitleri için rapor edilmiştir. Prolin yapısal özelliklerine belirgin bir şekilde bağlı olan ikinci bir helikal formasyon da kemik, tendon ve destekleyici membran dokularının ana bileşeni olan kollajendir(102).



prolin analogunun kimyasal yapısı

Prolidaz, C- terminal prolin ile imidodipeptidlerin olduğu (EC 3.4.13.9) sitosolik egzopeptidazdır. Prolidaz C terminalinde prolin veya hidroksiprolin bulunan dipeptidlere spesifik bir hidrolazdır. Kollajenin yapısında yüksek miktarda (%25 pro ve Hyp) bulunduğu için bu enzim kollajen ve prokollajen yıkımında önemli rol oynar. Ancak prolidazın kemik yıkımının biyokimyasal göstergesi olarak değerlendirildiği bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

Fibroblastlardan ekstre edilen prolidazın I diye adlandırılan formun mol ağırlığının 105000 ve prolidaz II diye adlandırılan formun mol ağırlığının 151000 olduğu bildirilmiştir. Bunlardan sadece prolidaz I formunun insan plazmasında bulunduğu,  $Mn^{2+}$  iyonları ile uzun süreli preinkübasyonun prolidaz II aktivitesini inhibe ettiği bilinmektedir. Daha önceki çalışmalarda serum prolidaz aktivitesinin karaciğer sirozunda ve hasarında arttığı bildirilmiştir (103).

Fibroblastlardan ekstre edilen prolidazın I diye adlandırılan formun mol ağırlığının 105000 ve prolidaz II diye adlandırılan formun mol ağırlığının 151000 olduğu bildirilmiştir. Bunlardan sadece prolidaz I formunun insan plazmasında bulunduğu,  $Mn^{2+}$  iyonları ile uzun süreli preinkübasyonun prolidaz II aktivitesini inhibe ettiği bilinmektedir. Daha önceki çalışmalarda serum prolidaz aktivitesinin karaciğer sirozunda ve hasarında arttığı bildirilmiştir. Postmenopozal kadınlarda serum bone gla protein –osteocalcin (BGP) düzeyi normal, düşük veya yüksek bulunmuştur. Menopoz sonrası ortalama serum BGP

artışı, kırık riskinin arttığını gösterir. Osteokalsin düzeyleri sirkadiyen bir ritim göstererek sabahdan öğleye kadar azalır. Gece yarısından sonra ise artar. Aynı şekilde serum osteokalsin düzeyleri menstruel siklus sırasında değişir. Luteal fazda en yüksek değerlere rastlanmıştır. TALP (total alkalen fosfataz) enzimi kemik yapının biyokimyasal ölçütlerinden biridir. Hücre mebranlarının ekstra selüler yüzeyindeki glikozil-fosfatidilinozitol kalıntılarına bağlan bir glikoproteindir. Enzim membrana bağlıken tetramer, dolaşımda iken dimerdir. TALP'ın çeşitli izoformları vardır ve aktivitesinin yaşlanma ile özellikle postmenopozal kadınlarda arttığı gösterilmiştir. TALP enzimi kemik yapının biyokimyasal ölçütlerinden biridir. Hücre mebranlarının ekstra selüler yüzeyindeki glikozil-fosfatidilinozitol kalıntılarına bağlan bir glikoproteindir. Enzim membrana bağlıken tetramer, dolaşımda iken dimerdir. TALP'ın çeşitli izoformları vardır ve aktivitesinin yaşlanma ile özellikle postmenopozal kadınlarda arttığı gösterilmiştir(103).

### **2.6.3.Kollajen Doku ve Prolidaz Enzimi**

Prolidaz, EC 3.4.13.9. (enzyme commision) iminopeptidaz, prolin dipeptidaz, peptidaz D olarak bilinen hidrolazlar sınıfında bulunan bir enzimdir. Prolidaz, mikroorganizmalarda ve birçok 39 memeli dokusunda yaygın dağılım gösterir. Doğal enzim sitoplazmik, homodimerik bir metalloenzimdir.  $Mn^{+2}$  ye ek olarak enzimin maksimum aktivitesi için aktif merkezinde arginin ve anyonik aminoasit artıklarının bulunması gerekir.  $Mn^{+2}$  ile prolidaz aktivitesi 5-10 kat artmaktadır. Bilinen tüm proteazlar monomer yapıda olmasına rağmen tüm prolidazlar dimer yapı gösterir ve ancak bu şekilde katalitik aktiviteye sahiptirler(4). Kollajen yıkımının son basamağı prolidaz aracılığı ile olmaktadır. Prolidaz kollajen sentezi ve hücre gelişiminde rol alan prolinin dönüşümünde önemli rol almaktadır(4).

### **2.6.4. Prolidaz İnhibitörleri ve Aktivatörleri**

Yapılan çalışmalarda enzimin aktivasyonu için gerekli olan  $Mn^{+2}$  iyonu yerine başka metal iyonlarının ilavesi ile inhibisyon olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmalar domuz böbrek prolidazı üzerinde 1957 yılında yapılmıştır. Demir ( $Fe^{+2}$ ), kobalt ( $Co^{+2}$ ), nikel ( $Ni^{+2}$ ), bakır ( $Cu^{+2}$ ), çinko ( $Zn^{+2}$ ), kadmiyum ( $Cd^{+2}$ ), gümüş ( $Ag^{+1}$ ),  $Hg^{+2}$ , kurşun ( $Pb^{+2}$ ) ve platin ( $Pt^{+4}$ ) iyonlarının prolidazı inhibe ettiği bulunmuştur. Ortalama 0,001–0,0004M aralığındaki konsantrasyonlarda glutatyon kullanıldığında optimal stabilizasyon ve aktivite sağlandığı ancak glutatyonun yüksek konsantrasyonunun inhibisyona sebep

olduğu bulunmuştur(104). İnterstisyel kollajenaz enziminin kollajen molekülünün amino ucuna yakın bir yüzeyine bağlanmasıyla kollajen yıkımı başlamaktadır. Kollajen molekülüne etkili enzim orijinal kollajen molekülünün üçlü sarmal yapıdaki %25 ve %75 kadarını taşıyan iki adet sarmal yapıda molekül açığa çıkarmaktadır. Sarmal yapıları dayanıklı olmayan bu küçük 26 molekülün vücutta parçalanması ile elde edilen polipeptitler, proteazlar tarafından daha küçük petitler veya serbest aminoasitlere yıkılmaktadır. Prolidazın bütün bu biyolojik fonksiyonunun prolin döngüsüyle beraber kollajen dejenerasyon ürünleri ve diğer Xaa – Pro dipeptidlerin metabolizması olduğu düşünülmektedir. Prolidaz C-terminalinde prolin veya hidroksiprolin bulunan dipeptidleri hücre içinde hidroliz eder. Prolin yeniden döngüye katılır ve yeni protein sentezinde kullanılırken hidroksiprolin idrarla atılmaktadır(105).

Kollajen dokudaki aminoasitlerin yaklaşık %25'ini prolin ve hidroksiprolin oluşturduğundan, prolidaz kollajen yıkımında önemli rol oynamaktadır. Kemik, tendon ve destekleyici membran dokularını ana bileşeni olan kollejen prolinin yapısal özelliklerine belirgin bir şekilde ilişkilidir. Prolidaz hücre içi protein yıkımının son basamağında, özellikle yüksek miktarda prolin içeren prekollajenin yıkımı aşamasında ve prolinin kollajen yapımı döngüsüne yeniden katılımında rol oynamaktadır(106).

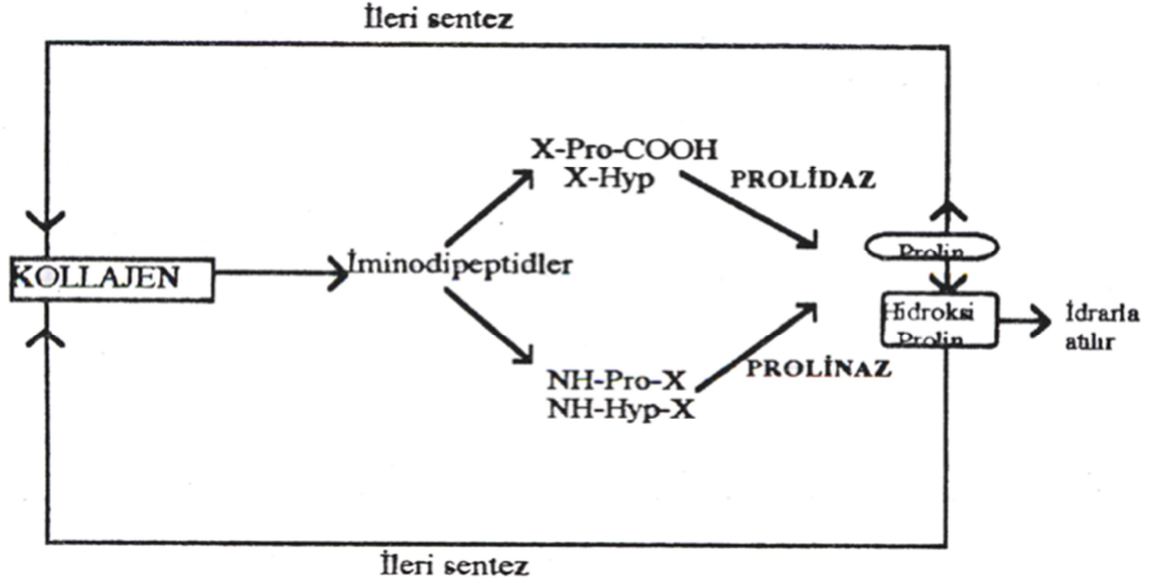
Kollajen yıkımı interstisyel kollajenaz enziminin kollajen molekülünün amino ucuna yakın bir yüzeyine bağlanmasıyla başlar. Üçlü sarmal yapıdaki kollajen molekülüne etkili enzim orijinal kollajen molekülünün %25 ve %75 kadarını taşıyan iki adet sarmak yapıda molekül açığa çıkarmaktadır. Sarmal yapıları dayanıklı olmayan bu küçük molekülün vücutta parçalanması ile elde edilen polipeptitler, proteazlar tarafından daha küçük petitler veya serbest amino asitlere yıkılmaktadır(107). Prolidazın bütün biyolojik fonksiyonunun prolin döngüsüyle beraber kollajen dejenerasyon ürünleri ve diğer Xaa – Pro dipeptidlerin metabolizması olduğuna inanılmaktadır. Prolidaz C-terminalinde aminoasidi prolin veya hidroksiprolin olan dipeptidleri hücre içinde hidroliz eder. Prolin yeniden döngüye girer ve yeni protein sentezinde kullanılırken hidroksiprolin idrarla atılmaktadır. Kollajen dokudaki aminoasitlerin yaklaşık %25'ini prolin ve hidroksiprolin oluşturduğundan, prolidaz kollajen yıkımında önemli rol oynamaktadır(108). Prolidaz hücre içi protein yıkımının son basamağında, özellikle yüksek miktarda prolin içeren prekollajenin yıkımı aşamasında rol oynamaktadır(109).

Enzim için substrat kaynağı kollajen olup iminopeptidler kollajenin yıkımının son basamağında ortaya çıkmaktadır(110). Prolidaz beslenme ile alınan proteinlerden ve vücuttaki depo kollajeninden imino asitlerin geri kazanılmasında önemli rol oynar(111).

Prolidaz C-ucunda prolin veya hidroksiprolinin imino azotunu içeren peptid bağı bulunduran bileşiklerin hızla hidrolizini katalizleyen tek enzim olduğu için spesifitesi yüksektir(112). Prolidaz eksikliğinde prolinin normal döngüsü bozulur, fazla miktarda prolin ve hidroksiprolin üre ile dışarı atılır. Sonuç olarak toplam prolin eksikliği oluşur (113). Prolidaz eksikliği kronik deri ülserleri, tekrarlayan enfeksiyonlar, zihinsel gerilik, splenomegali, karakteristik bir yüz görünümü (örneğin zayıf saçlar, yassı burun, düz alın, kalın dudaklar, hipertelorizm) gibi çeşitli klinik bulgularla ilişkilidir(114). Kardiyak matrikste en yoğun bulunan ekstraselluler matriks proteinleri olan tip I ve tip III kollajen total kollajen miktarının yaklaşık %80-90'nı oluşturur. Miyokardiyal fibrozis, hipertrofi ve infarktüse bağlı kardiyak hasar durumunda tip I/III kollajen oranı değişir (115).

Aterosklerozda kollajen yapımı enflamatuvar hücrelerin bu alana göçü ve salgıladıkları sitokinlere transforming growth factor- $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1) ve interlökin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) bağlı olarak uyarılır ve kardiyak dokuda fibrozis gelişimi ile sonuçlanır. Kardiyak ileti sistemindeki yapısal değişiklikler ise iletim bozukluklarına neden olmaktadır.

Kollajen yıkımının son basamağı prolidaz aracılığı ile olmaktadır. Prolidaz kollajen sentezi ve hücre gelişiminde rol alan prolinin dönüşümünde önemli rol oynamaktadır. Normal serum prolidaz değerleri 1000U/L'nin altındadır. 1500 U/L'yi aşan değerler kronik karaciğer hastalıklarında görülür. Diyabetiklerde serum prolidaz aktivitesinin oldukça düşük olduğu saptanmıştır(116). Siroz hastalarında serum prolidaz seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunduğu ve kollajen turnoverinin insan karaciğerinde siroz gelişimi ile değiştiği ve prolidaz aktivitesinin bu dejeneratif karaciğer hastalığında kollajen metabolizmasının bozukluklarını yansıtabileceği ortaya konmuştur (116). Kronik etanol ve selenyum verilen sıçanların karaciğerinde prolidaz I aktivitesi kontrollere oranla yüksek bulunmuştur. Prolidaz enziminin genetik eksikliğinin sonucunda mental retardasyon, tekrarlayan enfeksiyonlar ve deri lezyonları ile karakterize bir klinik tablonun ortaya çıktığı bildirilmiştir(117). Eksikliğinde çok daha yüksektir. Prolidaz eksikliği cilt ve diğer kollajen dokulardaki anormalliklerle karakterize bir sendromla sonuçlanır. Bu nadir genetik prolidaz eksikliği otozomal resesiftir. Prolidaz enziminin genetik eksikliğinin sonucunda mental gerilik, tekrarlayan enfeksiyonlar ve deri lezyonları ile karakterize bir klinik tablonun ortaya çıktığı bildirilmiştir (118).



Şekil 3. Kollajen yıkımında prolidaz ve prolidazın yeri

### 2.6.5. Prolidazın İzoenzimleri

Prolidazın substrat spesifitesi ile kimyasal özellikler bakımından farklılıklar gösteren 2 formundan (prolidaz I ve prolidaz II) oluşmaktadır. Prolidaz I birbirini tamamlayan eşit molekül ağırlığında 2 subüniteden oluştuğu (56 kilodalton) bulunmuştur(119). Prolidaz II ise birbirine eş iki subüniteden (95 kilodalton) oluştuğu gözlenmiştir. Prolidaz I tüm dokularda oluşur. Tüm iminodipeptitlerle reaksiyona girmesine rağmen gly-pro-dipeptide afinitesi daha yüksektir. Aksine prolidaz II ise gly-pro dipeptidine karşı düşük bir afinite gösterir. Prolidaz II'nin en yüksek aktiviteyi gly-pro yerine metproya karşı gösterdiği saptanmıştır(120). Cosson ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda prolidaz I ve prolidaz II'yi kromatografik olarak ayırdıktan sonra izoenzimlerin farklı doku dağılımları gösterdiklerini bulmuşlardır( 121).

### 2.6.6. Prolidaz İnhibitör ve Aktivatörleri

Prolidaz aktivasyonu için  $Mn^{+2}$  iyonu gereklidir.  $Fe^{+2}$ ,  $Co^{+2}$ ,  $Ni^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$ ,  $Cd^{+2}$ ,  $Ag^{+1}$ ,  $Hg^{+2}$ ,  $Pb^{+2}$  ve  $Pt^{+4}$  iyonları prolidaz aktivasyonunu inhibe ederler. Ortalama 0,001- 0,0004 M aralığındaki konsantrasyonlarda glutatyonun optimal stabilizasyon ve aktivite sağladığı, yüksek konsantrasyonunun ise inhibisyona sebep olduğu bulunmuştur. Ayrıca iyodoasetamin ve p-kloromerküri benzoatın da enzimi inhibe ettiğine değinmişlerdir(122).



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi (KSÜ) Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı'nda prospektif olarak yapıldı. Çalışma öncesinde tüm hastalara çalışma ayrıntılarını içeren bilgilendirilmiş onam formu verildi ve rızası alınan hastalar çalışmaya dahil edildi. Çalışma KSÜ Etik Kurulu'nun 07.05.2015 tarihli ve 12 sayılı kararı ile onaylandı.

#### **Çalışma Dizaynı Ve Hastalar:**

Çalışmamıza, 2015-2016 yılları arasında KSÜ Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı poliklinik ve kliniğinde takip ve tedavisi yapılan hastalar dahil edildi. Çalışmaya tip 2 Diyabetes Mellitusu olan 112 hasta ve sağlıklı olan 44 birey alındı. Tip 2 Diyabetes mellitusu olan hastalar mikrovasküler komplikasyonlar yönündende araştırıldı. Diyabetik nöropati tanısı, hastanın klinik semptom ve nörolojik muayenesi ile konuldu. Diyabetik retinopati tanısı için göz dibi muayenesi yapıldı. Diyabetik nefropati tanısı için spot idrar protein / kreatinin oranı ölçüldü. 300 mg/dl'nin üstü Nefropati olarak kabul edildi.

Tip 2 diyabetes mellitusu olan hastaların 80'inde (%71,42) mikrovasküler komplikasyon mevcut iken 32'inde (%28,58) komplikasyon yoktu. Diyabetik komplikasyonu olan hastaların 32'sinde sadece diyabetik nöropati, 13'ünde sadece diyabetik nefropati, 3'ünde sadece diyabetik retinopati, 21'inde nefropati ve retinopati birlikteliği, 3'ünde nöropati ve nefropati birlikteliği, 1'inde retinopati ve nefropati birlikteliği, 1'inde retinopati, nöropati ve nefropati birlikteliği mevcuttu.

Çalışmaya alınan bütün bireylerin: APG, kreatinin, ALT, LDL, TG, HbA1c, TSH, sT4, CRP, SOD, GPx, CAT, MDA, NO, Prolidaz seviyeleri ölçüldü. Karotis intima media kalınlıkları ölçüldü.

#### **Çalışmaya Kabul ve Dışlama Kriterleri**

Çalışmaya 18 yaş üstü, tip 2 DM tanılı hastalar ve sağlıklı kontrol grubu dahil edildi. Karaciğer yetmezliği, hiperkortizolemi, hiperprolaktinemi, tiroid disfonksiyonu olanlar, gebeler ve laktasyon döneminde olan kadınlar çalışmaya dahil edilmedi. Ayrıca sigara kullananlar çalışma dışı bırakıldı. Kontrol grup: herhangi bir ek hastalığı olmayan 18 yaş üstü kadın ve erkek bireylerden oluşmaktaydı.

Komplikasyonu olmayan tip 2 DM'li grup: diyabetin mikrovasküler komplikasyonlarından nefropati, retinopati ya da nöropatisi olmayan, ek hastalığı bulunmayan tip 2 DM'li hastalardan oluşmaktaydı.

Komplikasyonu olan tip 2 DM'li grup: diyabetin mikrovasküler komplikasyonlarından nefropati, retinopati, nöropatiden bir ya da daha fazlasına sahip tip 2 DM li hastalardan oluşmaktaydı.

### **Laboratuvar Analiz**

Hastaların glukoz, HbA1C, üre, kreatinin, total kolesterol, LDL, Trigliserit, alanin aminotransferaz, TSH, sT4, spot idrarda mikrototal protein düzeylerini içeren biyokimyasal ve hormonal parametreleri rutin laboratuvar yöntemleri ile çalışıldı. Ayrıca tüm hastaların sabah alınan kan örneğinde oksidatif stress için katalaz, SOD, GPx, MDA, NO, serum prolidaz aktivitesi tayini yapıldı.

Çalışmamızda, rutin biyokimyasal ve hormonal tetkikler için kanlar, 8-10 saat açlık sonrası, sabah, antikoagülsüz, jelli, sarı kapaklı tüplere alındı. Biraz oda ısısında bekletildikten sonra, 4000 rpm'de (dakikadaki devir sayısı) 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası oluşan serumlar, rutin biyokimyasal ve hormonal tetkikler için kullanıldı. Lipid profili, Advia 1800 cihazı kullanılarak, spektrofotometrik yöntemle KSÜ Tıp Fakültesi Merkez Biyokimya Laboratuvarında, bekletilmeden çalışıldı.

Kreatin, alanin aminotransferaz, lipid profili (LDL, TG) biyokimya analizörü ve ticari kit (Siemens, Advia 1800 Chemistry System, Germany) kullanılarak spektrofotometrik metodla ölçüldü. HbA1c, High liquid pressure chromatography (HPLC) cihazı ve ticari kit (BioRad D-10 Hemoglobin Testing System, France) kullanılarak HPLC metoduyla ölçüldü. TSH, sT4 hormon analizörü ve ticari kit (Siemens, Advia Centaur XP System, Germany) kullanılarak kemiluminesans metodla KSÜ Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarında ölçüldü.

Saklanan kan örneklerinde çalışılan tetkikler; Oksidatif stres ve antioksidan parametrelerinden; MDA, SOD, CAT, GPx, için antikoagülanlı, mor kapaklı tüplere kan alındı. 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. MDA düzeyleri için plazma örnekleri alındı. SOD, CAT, GPx, için eritrosit örnekleri serum fizyolojik ile yıkanarak, her bir parametre için eppendorf tüplerine konuldu. Analiz yapılıncaya kadar -20 derecede saklandı. NO için antikoagülsüz, jelli, sarı kapaklı tüplere kan alındı. 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek, üst kısım (süpernatant) eppendorf tüplerine alındı ve analiz edilinceye kadar -20 derecede saklandı.

### **Hemolizat Hazırlanması;**

Laboratuvara getirilen kanlar santrifüj tüplerine aktarılıp, santrifüjde 4000 rpm'de 5 dakika süre ile santrifüj edilip, plazmaları ayrıldı. Eritrosit pelletleri üzerine 3-4x hacim soğuk SF eklenip tüpler alt üst edilerek dikkatle karıştırıldı ve tekrar santrifüj edilip süpernatant atıldı. Süpernatant aspire edilirken eritrosit pelletleri üst kısmında tabaka oluşturan lökosit-trombosit içeriği de uzaklaştırıldı. İşlem en az üç kez (tamamen berrak süpernatant oluşuna dek) tekrarlanıp, analiz çeşidine göre hemolizat hazırlandı.

### **MDA Düzeylerinin Ölçülmesi ( Lipid Peroksidasyonu Değerlendirilmesi)**

Serum MDA düzeyleri, MDA'nın asidik PH ve sıcak ortamda tiyobarbitürik asitle oluşturduğu bileşiğin pembe-kırmızı renginin 532 nm dalga boyunda absorbansının spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanan Ohkawa ve arkadaşlarının yöntemi kullanılarak ölçüldü. Yöntemin uygulamasında ise; 0,1 ml serum üzerine 0,2 ml %8,1'lik sodyum dodesil sülfat, 1,5 ml %20'lik asetik asit, 1,5 ml %0,8'lik tiyobarbitürik asit ve 0,7 ml saf su konularak 95 °C'de 30 dakika su banyosunda kaynatıldı. Soğutulduktan sonra 1 ml saf su ve 5 ml butanol/piridin (1:14 oranında) eklendi ve sonra tüpler 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üstteki organik faz alınarak 532 nm dalga boyunda absorbans okunarak standart eğriden değerlendirildi. Sonuçlar nmol/ml protein olarak tanımlandı.

### **Serumda SOD Aktivitesinin Ölçülmesi:**

SOD aktivitesi, Serumlar 1:50 oranında 0,01 M fosfat tampon ile dilüe edilerek, bu dilüsyonda aktivite tayini yapıldı. Reaksiyon karışımı 1 ml'lik total volümde 25 µl enzim içeren hemolizat, 850 µl ksantin ve INT (p-iyodonitrotetrazolium viyole) içeren miks substrat ve 125 µl 80 U/L ksantin oksidaz içermektedir. Kör de tıpkı numune gibi hazırlandı fakat örnek yerine fosfat tamponu kondu. Ksantin oksidazın etkisiyle ksantin oluşturduğu süperoksid radikali; (O<sub>2</sub>-), 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolium (INT) boyası ile kırmızı renk meydana getirir. SOD, süperoksid radikalini hidrojen perokside dönüştürür.

SOD'un bu reaksiyonu inhibe etme derecesine bağlı SOD aktivitesi belirlenmiştir. SOD aktivitesi ile renk miktarı arasında ters ilişki vardır. Tepkimede, 37 °C'de ışık yolu 1 cm olan küvetlerde 505 nm dalga boyunda havaya karşı ilk 30 saniyedeki başlangıç absorbansları standart eğriden değerlendirildi. Enzim aktivite sonuçları U/ml olarak verildi.

### **Serumda NO Aktivitesinin Ölçülmesi:**

Serum NO düzeyleri Griess reaktifi kullanılarak ölçüldü. 5 ul nitrat redüktaz ve 2 mmol / l NADH'a(indirgenmiş nikotinamid adenin dinükeotidin)10 ul numune ilave edildi ve nitriti tüm nitrata dönüştürmek için 20 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Örnekler deproteinize edildi ve sonra Griess reaktifi (sülfanilamid ve N-1-Naphthylethylendiamine dihidroklorür) ilave edildi. Oda sıcaklığında, renk gelişimi sonrası absorbans değerleri, 540 nm'lik bir dalga boyunda ölçüldü. Her bir numune, iki kopya halinde test edildi. Serum nitriti, potasyum nitratın nitrite enzimatik dönüşümü ile elde edilen standart bir eğri ile hesaplandı. Sonuçlar litre başına mikromol/ml olarak NO olarak rapor edildi.

### **Serumda Glutasyon peroksidaz Düzeyinin Ölçülmesi:**

GPx aktivite ölçümü için Beutler metodu kullanılmıştır. GPx, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> vasıtasıyla redükte glutasyon (GSH)'nun okside glutasyon (GSSG)'a oksidasyonunu katalize eder. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> t-bütil hidroperoksidin bulunduğu ortamda GPx'in oluşturduğu GSSG, glutasyon redüktazve NADPHyardımıyla GSH'a indirgenir. GPx aktivitesi NADPH'm NADP'ye yükseltgenmesi sırasındaki absorbans farkının 340 nm'de spektrofotometrik olarak okunmasıyla tayin edilir. Enzim aktivite sonuçları U/ml olarak verildi.

### **Katalaz aktivite tayini**

Eritrositte CAT aktivitesi Beutler yöntemiyle saptandı (182). Reaksiyon karışımı; 1 Tris-HCl pH 8.0 tampon, 10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, belirli miktarda saf su ve enzim içeren hemolizattan oluşturuldu. Tepkime, 37 °C'de enzim tarafından yıkılan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin, 230 nm dalga boyunda ışık yolu 1 cm olan kuvars küvetlerde, 10 dakika süreyle her 5 dakikadaki absorbans değişimi izlenerek gerçekleştirildi. Kanda CAT aktivite sonuçları, Ü/g Hb protein olarak verildi.

## SERUM PROLİDAZ DENEYİ

1- Aşama: preinkübasyon

2ml 2,5 mmolar  $MnCl_2$ , 1,9 ml tampon, 100 $\mu$ l serum, 1/40 sulandırılmış bu karışım iyice vortekslenip ağzı kapalı bir şekilde 37 °C da 2 saat preinkübe edilir.

1. Aşama

	0 zaman tüpü	İnkübasyon tüpü
Tampon	400 $\mu$ l	400 $\mu$ l
Substrat	300 $\mu$ l	300 $\mu$ l
Distile su	200 $\mu$ l	200 $\mu$ l
Preinkübe edilmiş örnek	100 $\mu$ l	100 $\mu$ l

İnkübasyon örnekleri 30 dakika 37 °C da benmaride inkübe edilir. İnkübasyon süresi sonunda inkübasyon tüplerine 500  $\mu$ l TCA ilave edilir ve reaksiyon durdurulur. Daha sonra 0 zaman ve inkübasyon tüplerinin her ikisinde 5 dakika 2000 rpm'de santrifüj edilir. Oluşan süpernatant prolin ölçümü için kullanılır.

3. Aşama: Prolinin spektrofotometrik ölçümü:

Ayraçlar	Kör	Standart	0 zaman	İnkübasyon
Glasiyel asetik asit	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml
Süpernatant	-	-	1 ml	1 ml
Standart	-	1 ml	-	-
Distile su	1ml	-	-	-
Ninhidrin	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml

Bu tüpler ağzı kapatılarak vortekslenir, 20 dakika kaynar su banyosunda tutulur. Bu zaman sonunda tüpler buzlu su banyosunda soğutulur ve spektrofotometrede köre karşı 515 nm'de ölçülür. Prolidaz aktivite sonuçları mmol /L dakika olarak verilir

## **Karotis İntima Media Kalınlığı Ölçümü**

Karotis intima media kalınlığı ölçümleri tüm hastalara uygulandı. Karotis intima media kalınlığı ölçümleri 12-MHz lineer prob kullanılarak (Logiq P5, GE Medical Systems, WI, USA) hasta supin pozisyonundayken yapıldı. Bütün hastalarda iki arteria carotis communis, internal karotid arter ve karotis bulbusu ayrıntılı olarak morfolojik açıdan incelendi. Sağ ve sol karotis arterler bir endokrinolog tarafından ultrasonografi cihazı ile görüntüledi. Yalnızca arka (uzak) duvar bir cm'lik alan değerlendirildi, üç ayrı tarama açısı kullanıldı (anterior oblik, lateral, posterior oblik). Karotis intima media kalınlığı ölçümleri dört farklı yerden yapılarak ortalamaları alındı. Aterosklerotik plaklı segmentler kullanılmadı. Ultrasonografik analiz için, lümen-intima ve media-adventisya yüzeylerinin karakteristik ekojenitelerinden yararlanılarak intima-media kalınlığı ölçüldü.

## **İstatistik;**

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 16.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların ortalama standart sapma ( $\text{ort} \pm \text{std}$ ) yanısıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında ANOVA testi, niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare testi kullanıldı. Parametreler arasındaki ilişkilerin incelenmesinde ise pearson korelasyon testi kullanıldı. P değeri  $\leq 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Çalışmaya 112 tip 2 Diyabetes Mellitusu olan hasta ve 44 sağlıklı birey alındı. Tip 2 diyabetes mellitusu olan hastaların 80'inde (%71,42) komplikasyon mevcut iken 32'inde (%28,58) komplikasyon yoktu. Diyabetik komplikasyonu olan hastaların 32'sinde sadece diyabetik nöropati, 13'ünde sadece diyabetik nefropati, 3'ünde sadece diyabetik retinopati, 21'inde nefropati ve retinopati birlikteliği, 3'ünde nöropati ve nefropati birlikteliği, 1'inde retinopati ve nefropati birlikteliği, 1'inde retinopati, nöropati ve nefropati birlikteliği mevcuttu.

##### 4.1. Grupların Demografik ve Biyokimyasal Veriler Açısından Karşılaştırılması

Sağlıklı kontrol ve diyabetik hastalar yaş ve cinsiyet açısından karşılaştırıldıklarında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi ( Tablo 4, Tablo 5).

**Tablo 4.** Grupların cinsiyete göre karşılaştırılması

	<b>Kadin</b>	<b>Erkek</b>	<b>Toplam</b>	<b>p</b>
<b>SAĞLIKLI KONTROL</b>	28(%63,6)	16(%36,4)	44(%100)	0,676
<b>DM KOMP YOK</b>	20(%62,5)	12 (%37,56)	32(%100)	
<b>DM KOMP VAR</b>	45 (%56,3)	35 (%4,8)	80(%100)	

DM KOMP YOK, Diyabetik komplikasyonu olmayan hasta grubu; DM KOMP VAR, Diyabetik komplikasyonu olan hasta grubu

**Tablo 5.** Grupların yaşa göre karşılaştırılması

	N	Yaş (yıl)	p
<b>SAĞLIKLI KONTROL</b>	44	50,30±4,36	0,259
<b>DM KOMP YOK</b>	32	51,68±6,99	
<b>DM KOMP VAR</b>	80	52,38±6,73	

DM KOMP YOK, Diyabetik komplikasyonu olmayan hasta grubu; DM KOMP VAR, Diyabetik komplikasyonu olan hasta grubu

Gruplar biyokimyasal veriler açısından karşılaştırıldığında; Açlık plazma glukozu sağlıklı kontrol grubunda 81,57±6,34; diyabetik komplikasyonu olmayan grupta 150,50±36,40 iken diyabetik komplikasyonu olan grupta 164,10±56,21 olarak saptandı. Açlık plazma glukozu diyabetik komplikasyonu olan grupta diğer gruplara anlamlı olarak yüksekti (p <0,001).

HbA1c düzeyi diyabetik komplikasyonu olan grupta diğer gruplara anlamlı olarak yüksekti (p <0,001). HbA1c düzeyi; sağlıklı kontrol grubunda 5,19±,37; diyabetik komplikasyonu olmayan grupta 9,18±2,14 iken diyabetik komplikasyonu olan grupta 9,72±2,14 olarak saptandı. CRP düzeyi diyabetik komplikasyonu olan grupta diğer gruplara anlamlı olarak yüksek saptandı (p <0,001). Kreatinin düzeyi; diyabetik komplikasyonu olan grupta diğer gruplara anlamlı olarak yüksekti (p <0,001). Spot idrarda protein düzeyi; diyabetik komplikasyonu olan grupta diğer gruplara anlamlı olarak yüksek saptandı (p <0,001). LDL düzeyi; diyabetik komplikasyonu olan grupta diğer gruplara anlamlı olarak yüksekti (p=0,018). Trigliserid düzeyi, diyabetik komplikasyonu olan grupta diğer gruplara anlamlı olarak yüksek saptandı (p <0,001). TSH ve sT4 düzeyi açısından gruplar karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık izlenmedi (Tablo 6).



**Tablo 6.** Grupların biyokimyasal verilere göre karşılaştırılması

	Parametreler	Ortalama±Standart Sapma	p
SAGLIKLI KONTROL DM KOMP YOK DM KOMP VAR	CRP	3,30± 0,19 5,23±2,91 21,36±12,89	<0,001
SAGLIKLI KONTROL DM KOMP YOK DM KOMP VAR	APG(mg/dl)	81,57±6,34 150,50±36,40 164,10±56,21	<0,001
SAGLIKLI KONTROL DM KOMP YOK DM KOMP VAR	Kreatinin(mg/dl)	0,72±,14 0,72±,22 1,27±,96	<0,001
SAGLIKLI KONTROL DM KOMP YOK DM KOMP VAR	ALT(U/L)	18,27±7,79 27,09±10,24 26,17±16,91	0,004
SAGLIKLI KONTROL DM KOMP YOK DM KOMP VAR	LDL(mg/dl)	99,33±32,64 115,19±33,15 117,076±28,75	0,018
SAGLIKLI KONTROL DM KOMP YOK DM KOMP VAR	TG(mg/dl)	91,93±51,44 165,815±87,65 187,56±93,82	<0,001
SAGLIKLI KONTROL DM KOMP YOK DM KOMP VAR	TSH(mUI/mL)	1,99±1,07 2,06±,67 1,88±,62	0,501
SAGLIKLI KONTROL DM KOMP YOK DM KOMP VAR	ST4(mUI/mL)	1,17±,12 1,,20±,14 1,18±,15	0,775
SAGLIKLI KONTROL DM KOMP YOK DM KOMP VAR	HBA1C %	5,19±,37 9,18±2,14 9,72±2,14	<0,001
SAGLIKLI KONTROL DM KOMP YOK DM KOMP VAR	SpotPro (mg/dl)	67,83±26,96 103,05±37,82 *1461,57±259,70	<0,001

DM KOMP YOK, Diyabetik komplikasyonu olmayan hasta grubu; DM KOMP VAR, Diyabetik komplikasyonu olan hasta grubu; CRP, C-Reaktif Protein; APG, Açlık plazma glukoz; ALT, alanin aminotransferaz; LDL, düşük dansiteli lipoprotein; TG, trigliserid; TSH, tiroid stimüle edici hormon; sT4, serbest tiroksin; SpotPro; Spot idrarda protein

\*Standart hata kullanılmıştır

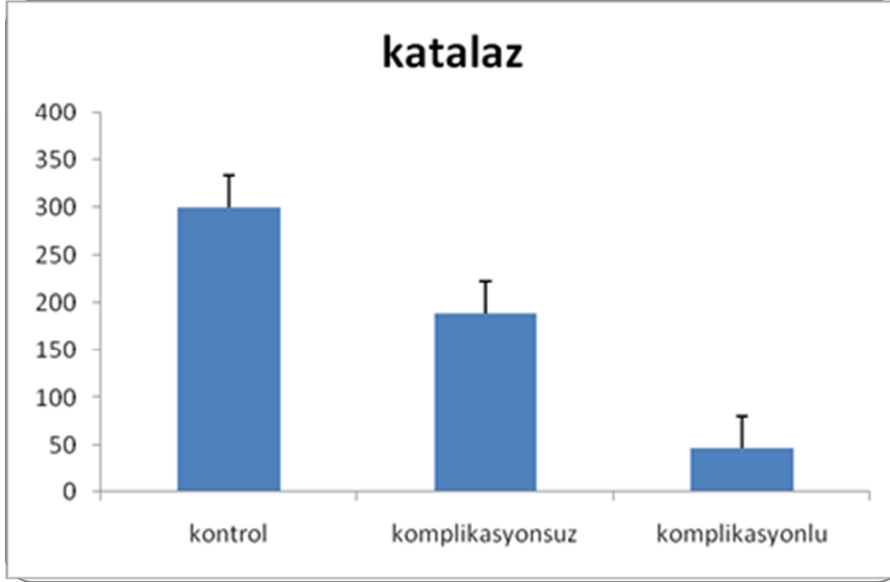
#### 4.2. Grupların Oksidatif Stres Belirteçleri ve Prolidaz Açısından Karşılaştırılması

Gruplar oksidatif stres belirteçleri açısından karşılaştırıldığında; antioksidan stres belirteçleri (CAT, SOD, GPx) diyabetik komplikasyonlu grupta diğer gruplara göre daha düşük olarak saptanırken oksidatif stres belirteçleri (MDA, NO) komplikasyonlu grupta diğer gruplara göre daha yüksek olarak saptandı (p sırasıyla  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ) (Tablo 10) (Şekil 4, 5, 6, 7, 8). Gruplar prolidaz açısından karşılaştırıldığında; prolidaz düzeyi komplikasyonlu grupta diğer gruplara göre daha yüksek olarak saptandı ( $p<0,001$ ) (Şekil 9). Gruplar KİMK açısından karşılaştırıldığında, KİMK; diyabetik hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek saptandı ( $p<0,001$ ) (Şekil 10).

**Tablo 7.** Grupların Oksidatif Stres Belirteçleri, Prolidaz ve KİMK açısından Karşılaştırılması

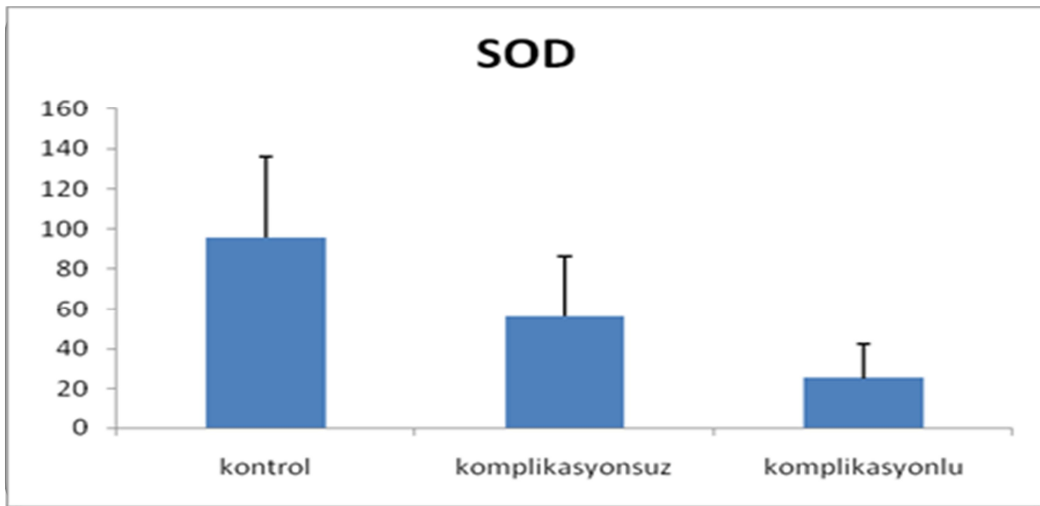
	Parametreler	N	Ortalama±Standart Sapma	p
SAGLIKLI KONTROL	CAT	44	300,49±56,56	<0,001
DM KOMP YOK		32	181,12±56,03	
DM KOMP VAR		80	66,82±75,91	
SAGLIKLI KONTROL	SOD	44	95,55±40,76	<0,001
DM KOMP YOK		32	51,74±24,03	
DM KOMP VAR		80	30,70±25,84	
SAGLIKLI KONTROL	GPX	44	1,50±0,35	<0,001
DM KOMP YOK		32	1,30±0,28	
DM KOMP VAR		80	0,65±0,27	
SAGLIKLI KONTROL	NO	44	1,37±0,13	<0,001
DM KOMP YOK		32	1,64±0,06	
DM KOMP VAR		80	2,57±0,93	
SAGLIKLI KONTROL	MDA	44	20,31±5,55	<0,001
DM KOMP YOK		32	33,86±3,21	
DM KOMP VAR		80	38,80±3,05	
SAGLIKLI KONTROL	Prolidaz	44	799,11±261,46	<0,001
DM KOMP YOK		32	1300,88±292,16	
DM KOMP VAR		80	1647,52±663,89	
SAGLIKLI KONTROL	KİMK	44	0,047±0,007	<0,001
DM KOMP YOK		32	0,072±0,014	
DM KOMP VAR		80	0,073±0,017	

DM KOMP YOK, Diyabetik komplikasyonu olmayan hasta grubu; DM KOMP VAR, Diyabetik komplikasyonu olan hasta grubu; CAT, Katalaz; SOD, Süperoksit Dismutaz; GPX, Glutasyon Peroksidaz; NO, Nitrik Oksit; MDA, Malondialdehit; KİMİK, Karotis Intima Media Kalınlığı



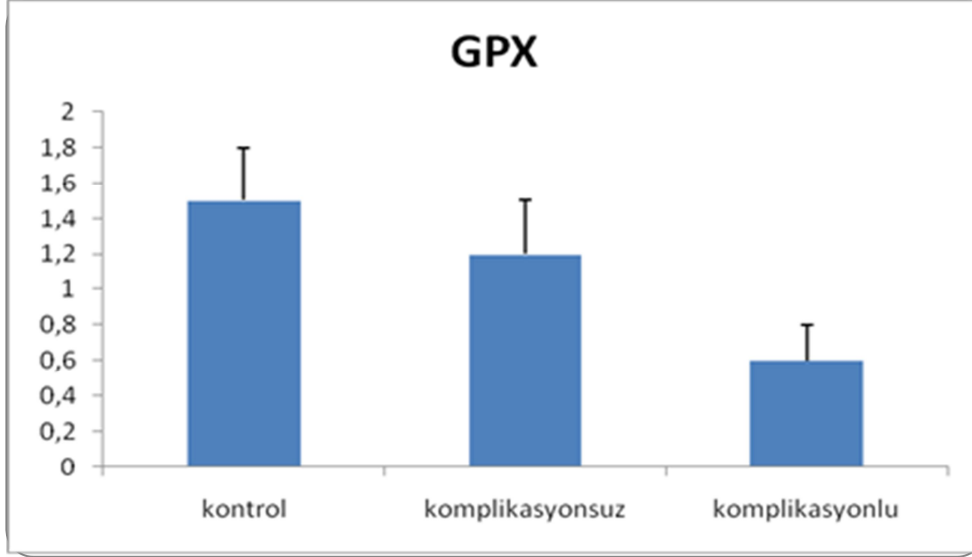
**Şekil 4.** Grupların Katalaz açısından karşılaştırılması

Komplikasyonsuz, Diyabetik komplikasyonu olmayan hasta grubu; Komplikeşyonlu: Diyabetik komplikasyonu olan hasta grubu



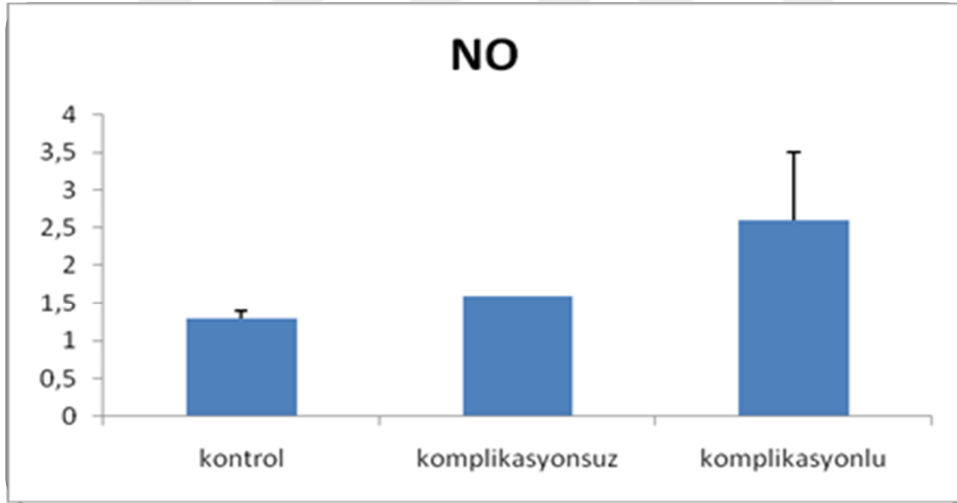
**Şekil 5.** Grupların SOD açısından karşılaştırılması

SOD, Süperoksit Dismutaz; Komplikeşyonlu, Diyabetik komplikasyonu olmayan hasta grubu; Komplikeşyonlu: Diyabetik komplikasyonu olan hasta grubu



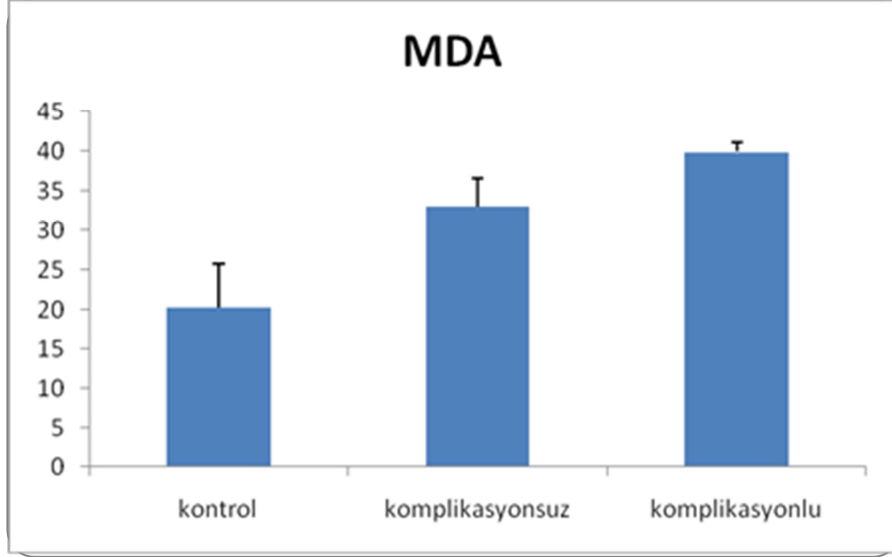
**ŞEKİL 6.** Grupların GPx açısından karşılaştırılması

GPX, Glutasyon Peroksidaz; Komplıkasıyonsuz, Diyabetik komplıkasıyonu olmayan hasta grubu; Komplıkasıyonlu: Diyabetik komplıkasıyonu olan hasta grubu



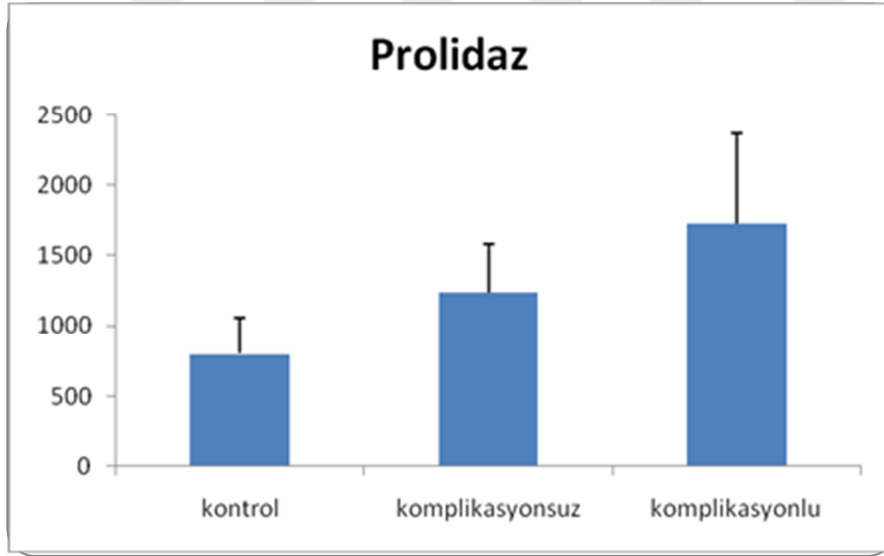
**ŞEKİL 7.** Grupların NO açısından karşılaştırılması

NO, Nitrik Oksit; Komplıkasıyonsuz, Diyabetik komplıkasıyonu olmayan hasta grubu; Komplıkasıyonlu: Diyabetik komplıkasıyonu olan hasta grubu



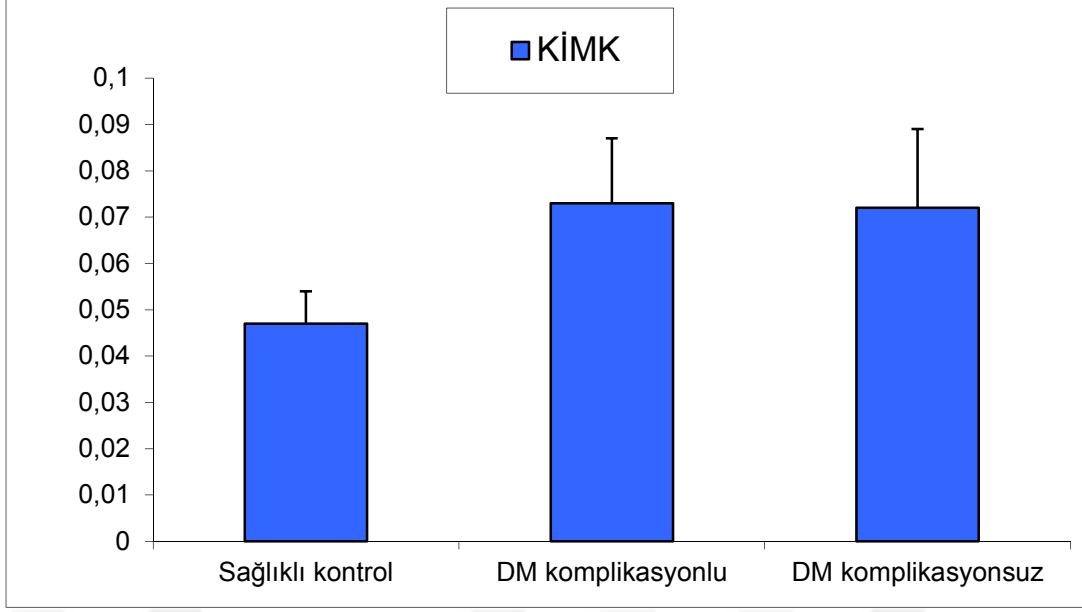
**ŞEKİL 8.** Grupların MDA açısından karşılaştırılması

MDA, Malondialdehit; Komplikasyonsuz, Diyabetik komplikasyonu olmayan hasta grubu; Komplikasyonlu: Diyabetik komplikasyonu olan hasta grubu



**Şekil 9.** Grupların Prolidaz açısından karşılaştırılması

Komplikasyonsuz, Diyabetik komplikasyonu olmayan hasta grubu; Komplikasyonlu: Diyabetik komplikasyonu olan hasta grubu



**Şekil 10.** Grupların KİMİK açısından karşılaştırılması

KİMİK, Karotis Intima Media Kalınlığı; Komplikeşonsuz, Diyabetik komplikeşonu olmayan hasta grubu; Komplikeşonlu: Diyabetik komplikeşonu olan hasta grubu

#### 4.3. Alt Grup Analizi

Diyabetik komplikeşonlara göre oksidatif stres belirteçleri açısından alt grup analizi yapıldığında;

Katalaz seviyesi; nefropati ve nöropatisi birlikte olan grupta en düşük saptandı.

Süperoksit dismutaz seviyesi; nefropati ve nöropatisi birlikte olan grupta en düşük saptandı. Glutasyon Peroksidaz Seviyesi; retinopati, nefropati ve nöropatisi birlikte olan grupta en düşük saptandı.

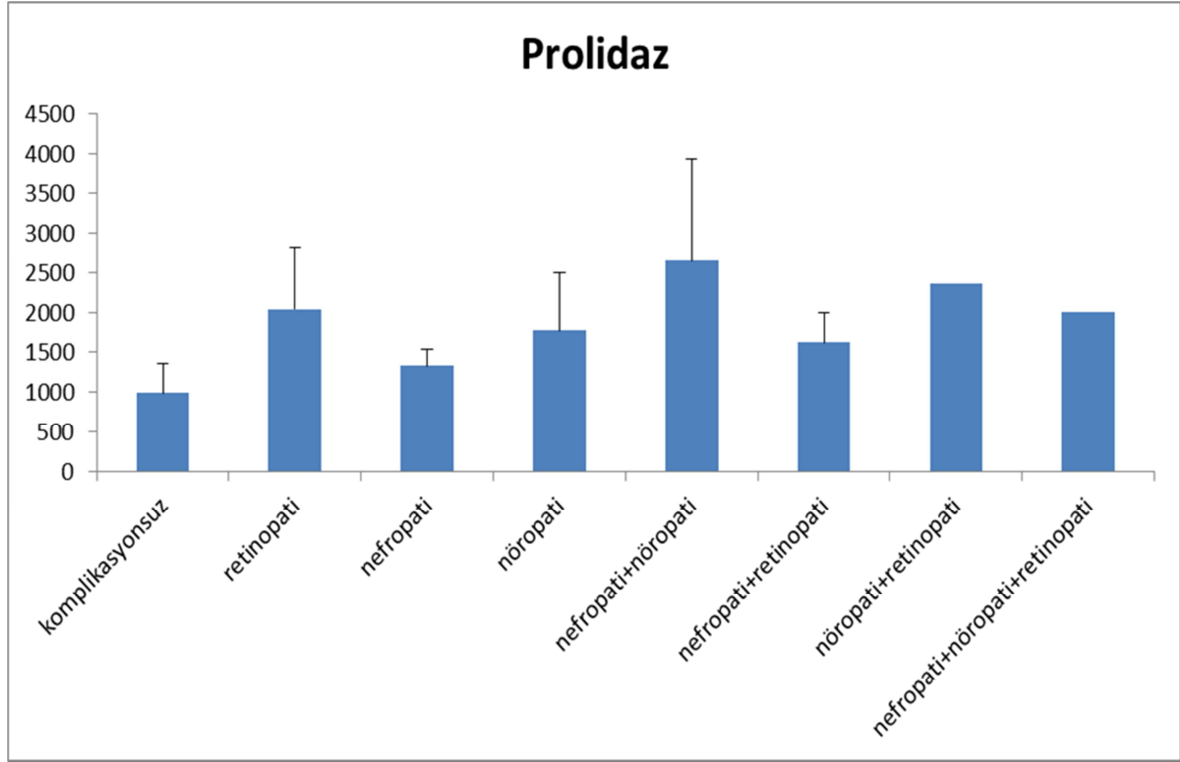
Nitrik oksit seviyesi; nefropati ve nöropatisi birlikte olan grupta en yüksek saptandı. Malondialdehit seviyesi; retinopati ve nöropatisi birlikte olan grupta en yüksek saptandı (Tablo 8).

Diyabetik komplikeşonlara göre prolidaz açısından alt grup analizi yapıldığında; prolidaz seviyesi, diyabetik nöropati ve nefropatisi birlikte olan hastalarda en yüksek düzeyde bulundu (Tablo 8) (Şekil 11).

**Tablo 8.** Komplikasyon Durumuna Göre Oksidatif Stres Belirteçleri ve Prolidaz Açısından Karşılaştırılması

	KOMPLİKASYON	N	Ortalama±Standart Sapma	p
<b>CAT</b>	RETİNOPATİ	3	79,00±29,46	<0,001
	NEFROPATİ	13	80,60±28,76	
	NÖROPATİ	32	41,05±30,38	
	NEFROPATİ+NOROPATİ	3	11,00±7,94	
	RETİNOPATİ+NEFROPATİ	21	41,85±30,93	
	RETİNOPATİ+NEFROPATİ+NOROPATİ	1	19,00	
	RETİNOPATİ+NÖROPATİ	1	12,00	
<b>SOD</b>	RETİNOPATİ	3	29,43±17,49	<0,001
	NEFROPATİ	13	33,76±23,95	
	NÖROPATİ	32	29,04±15,41	
	NEFROPATİ+NOROPATİ	3	10,39±5,22	
	RETİNOPATİ+NEFROPATİ	21	18,19±10,62	
	RETİNOPATİ+NEFROPATİ+NOROPATİ	1	15,29	
	RETİNOPATİ+NÖROPATİ	1	13,68	
<b>GPX</b>	RETİNOPATİ	3	0,85±0,03	<0,001
	NEFROPATİ	13	0,70±0,15	
	NÖROPATİ	32	0,58±0,20	
	NEFROPATİ+NOROPATİ	3	0,66±0,31	
	RETİNOPATİ+NEFROPATİ	21	0,56±0,25	
	RETİNOPATİ+NEFROPATİ+NOROPATİ	1	0,42	
	RETİNOPATİ+NÖROPATİ	1	0,52	
<b>NO</b>	RETİNOPATİ	3	3,09±1,34	<0,001
	NEFROPATİ	13	2,01±2,94	
	NÖROPATİ	32	2,72±1,01	
	NEFROPATİ+NOROPATİ	3	3,82±0,98	
	RETİNOPATİ+NEFROPATİ	21	2,55±0,73	
	RETİNOPATİ+NEFRO+NOROPATİ	1	3,78	
	RETİNOPATİ+NÖROPATİ	1	4,30	
<b>MDA</b>	RETİNOPATİ	3	40,71±0,59	<0,001
	NEFROPATİ	13	38,33±2,78	
	NÖROPATİ	32	39,68±1,88	
	NEFROPATİ+NOROPATİ	3	41,18±0,40	
	RETİNOPATİ+NEFROPATİ	21	39,89±0,93	
	RETİNOPATİ+NEFRO+NOROPATİ	1	41,12	
	RETİNOPATİ+NÖROPATİ	1	41,33	
<b>PROLİDAZ</b>	RETİNOPATİ	3	2051,33±780,00	<0,001
	NEFROPATİ	13	1330,31±205,10	
	NÖROPATİ	32	1781,19±730,35	
	NEFROPATİ+NOROPATİ	3	2658,67±1279,31	
	RETİNOPATİ+NEFROPATİ	21	1625,24±380,03	
	RETİNOPATİ+NEFROPATİ+NOROPATİ	1	2020,00	
	RETİNOPATİ+NÖROPATİ	1	2364,00	

CAT, Katalaz; SOD, Süperoksit Dismutaz; GPX, Glutatyon Peroksidaz; NO, Nitrik Oksit; MDA, Malondialdehit



**Şekil 11.** Prolidaz alt grup analizi

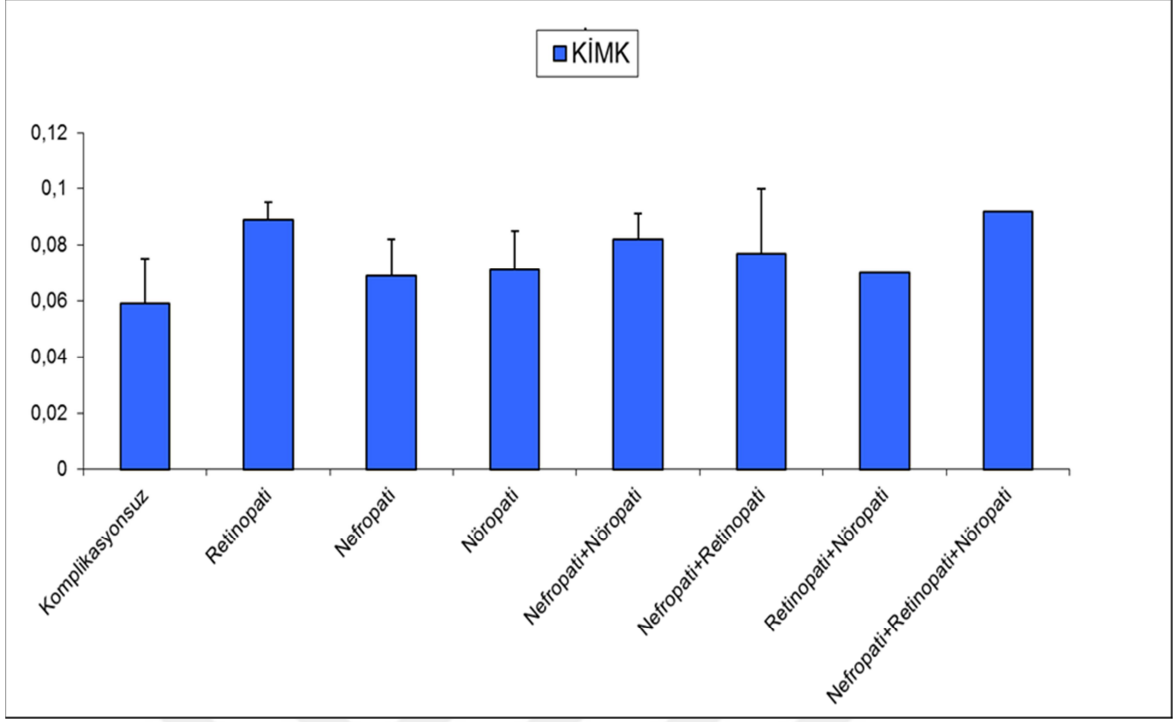
Diyabetik komplikasyonlara göre KİMK açısından alt grup analizi yapıldığında; KİMK; retinopati, nefropati ve nöropatisi birlikte olan grupta en yüksek düzeyde saptandı. Komplikasyon olmayan grupta da en düşük düzeyde saptandı. (Tablo 9) (Şekil 12).

**Tablo 9.** Komplikasyon Durumuna Göre KİMK Açısından Karşılaştırılması

		N	Ortalama±Standart Sapma	p
<b>KİMK</b>	<b>KOMPLİKASYON YOK</b>	82	0,059±0,016	<0,001
	<b>RETİNOPATI VAR</b>	3	0,089±0,006	
	<b>NEFROPATI VAR</b>	13	0,069±0,013	
	<b>NOROPATI VAR</b>	32	0,071±0,014	
	<b>NEFROPATI+NOROPATI</b>	3	0,082±0,009	
	<b>RETİNOPATI+NEFROPATI</b>	21	0,077±0,023	
	<b>RETİNOPATI+NEFROPATI+NOROPATI</b>	1	0,092	
	<b>RETİNOPATI+NOROPATI</b>	1	0,070	

KİMK, Karotis Intima Media Kalınlığı





**Şekil 12.** KİMK alt grup analizi

KİMK, Karotis Intima Media Kalınlığı

#### 4.4 Korelasyon Analizi

Prolidaz ile biyokimyasal parametreler arasındaki ilişki tablo 10 da gösterilmiştir.

Prolidaz ile HbA1C arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı ( $r=0,484;p<0,001$ ).

Prolidaz ile CRP arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı ( $r=0,621;p<0,001$ ).

Prolidaz ile CRP arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı ( $r=0,621;p<0,001$ ).

Prolidaz ile APG arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı ( $r=0,301;p<0,001$ ).

**Tablo 10.** Prolidaz ile biyokimyasal parametreler arasındaki ilişki

		Prolidaz	CRP	Kre	HbA1C	SpotPro	LDL	TSH	ST4	TG	APG
Prolidaz	r	1	0,621*	0,135	0,484*	0,073	0,145	-0,037	-0,037	0,135	0,301*
	p		0,000	0,093	0,000	0,362	0,071	0,651	0,645	0,092	0,000
CRP	r	0,621*	1	0,337*	0,412*	0,272*	0,156	-0,029	-0,011	0,092	0,331*
	p	0,000		0,000	0,000	0,001	0,051	0,717	0,896	0,255	0,000
Kre	r	0,135	0,337*	1	0,227*	0,466*	0,109	0,068	0,219*	-0,061	0,326*
	p	0,093	0,000		0,004	0,000	0,174	0,398	0,006	0,451	0,000
HbA1C	r	0,484*	0,412*	0,227*	1	0,267*	0,210*	-0,041	0,082	0,279*	0,614*
	p	0,000	0,000	0,004		0,001	0,008	0,612	0,306	0,000	0,000
SpotPro	r	0,073	0,272*	0,466*	0,267*	1	0,168*	-0,018	0,093	0,015	0,276*
	p	0,362	0,001	0,000	0,001		0,036	0,823	0,249	0,855	0,000
LDL	r	0,145	0,156	0,109	0,210*	0,168*	1	-0,058	0,002	0,205*	0,110
	p	0,071	0,051	0,174	0,008	0,036		0,474	0,979	0,010	0,174
TSH	r	-0,037	-0,029	0,068	-0,041	-0,018	-0,058	1	-0,006	-0,070	-0,047
	p	0,651	0,717	0,398	0,612	0,823	0,474		0,943	0,385	0,558
ST4	r	-0,037	-0,011	0,219*	0,082	0,093	0,002	-0,006	1	-0,044	0,151
	p	0,645	0,896	0,006	0,306	0,249	0,979	0,943		0,588	0,059
TG	r	0,135	0,092	-0,061	0,279*	0,015	0,205(	-0,070	-0,044	1	0,300*
	p	0,092	0,255	0,451	0,000	0,855	*)	0,010	0,385	0,588	0,000
APG	r	0,301*	0,331*	0,326*	0,614*	0,276*	0,110	-0,047	0,151	0,300*	1
	p	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,174	0,558	0,059	0,000	

CRP, C-Reaktif Protein; APG, Açlık plazma glukoz; LDL, düşük dansiteli lipoprotein; TG, trigliserid; TSH, tiroid stimüle edici hormon; sT4, serbest tiroksin; SpotPro; Spot idrarda protein

\*İstatiksel olarak anlamlı

Prolidaz ile oksidatif stres belirteçleri arasındaki korelasyon tablo 11’de gösterilmiştir. Prolidaz ile antioksidan stres belirteçleri (CAT, SOD, GPx) arasında istatiksel olarak anlamlı negatif korelasyon saptanırken oksidatif stres belirteçleri (MDA, NO) arasında istatiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı (tablo 11).

**Tablo 11.** Prolidaz ile Oksidatif Stres Belirteçleri Arasında İlişki

		<b>Prolidaz</b>	<b>CAT</b>	<b>SOD</b>	<b>GPX</b>	<b>MDA</b>	<b>NO</b>
<b>Prolidaz</b>	r	1	-0,745(**)	-0,537(**)	-0,500(**)	0,730(**)	0,883(**)
	p		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>CAT</b>	r	-0,745(**)	1	0,707(**)	0,750(**)	-0,899(**)	-0,716(**)
	p	<0,001		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>SOD</b>	r	-0,537(**)	0,707(**)	1	0,578(**)	-0,720(**)	-0,499(**)
	p	<0,001	<0,001		<0,001	<0,001	<0,001
<b>GPX</b>	r	-0,500(**)	0,750(**)	0,578(**)	1	-0,692(**)	-0,566(**)
	p	<0,001	<0,001	<0,001		<0,001	<0,001
<b>MDA</b>	r	0,730(**)	-0,899(**)	-0,720(**)	-0,692(**)	1	0,662(**)
	p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001		<0,001
<b>NO</b>	r	0,883(**)	-0,716(**)	-0,499(**)	-0,566(**)	0,662(**)	1
	p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

CAT, Katalaz; SOD, Süperoksit Dismutaz; GPX, Glutasyon Peroksidaz; NO, Nitrik Oksit; MDA, Malondialdehit

\*\*İstatiksel olarak anlamlı

Oksidatif Stres Belirteçleri ile biyokimyasal belirteçler arasındaki ilişki tablo 12'de gösterilmiştir.

Katalaz ile;

- Açlık plazma glukozu arasında istatiksel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ( $r=-0,477$ ;  $p<0,001$ ).
- HbA1c arasında istatiksel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ( $r=-0,579$ ;  $p<0,001$ ).
- Kreatinin arasında istatiksel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ( $r=-0,328$ ;  $p=0,025$ ).
- Spot protein arasında istatiksel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ( $r=-0,179$ ;  $p=0,025$ ).

Süperoksit Dismutaz ile;

-Açlık plazma glukozu arasında istatikselsel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ( $r=-0,413$ ;  $p<0,001$ ).

-HbA1c arasında istatikselsel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ( $r=-0,528$ ;  $p<0,001$ ).

- Kreatinin arasında istatikselsel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ( $r=-0,325$ ;  $p<0,001$ ).

Glutasyon Peroksidaz ile;

-Açlık plazma glukozu arasında istatikselsel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ( $r=-0,411$ ;  $p<0,001$ ).

-HbA1c arasında istatikselsel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ( $r=-0,505$ ;  $p<0,001$ ).

-Kreatinin arasında istatikselsel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ( $r=-0,337$ ;  $p<0,001$ ).

- Spot protein arasında istatikselsel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ( $r=-0,202$ ;  $p=0,025$ ).

Nitrik Oksit ile;

-Açlık plazma glukozu arasında istatikselsel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ( $r=-0,309$ ;  $p<0,001$ ).

-HbA1c arasında istatikselsel olarak anlamlı pozitif bir ilişki saptandı ( $r=+0,462$ ;  $p<0,001$ ).

-Kreatinin arasında istatikselsel olarak anlamlı pozitif bir ilişki saptandı ( $r=+0,202$ ;  $p<0,001$ ).

Malondialdehit ile;

-Açlık plazma glukozu arasında istatikselsel olarak anlamlı pozitif bir ilişki saptandı ( $r=+0,529$ ;  $p<0,001$ ).

-HbA1c arasında istatikselsel olarak anlamlı pozitif bir ilişki saptandı ( $r=+0,648$ ;  $p<0,001$ ).

-Kreatinin arasında istatikselsel olarak anlamlı pozitif bir ilişki saptandı ( $r=+0,292$ ;  $p<0,001$ ).

**Tablo 12.** Oksidatif Stres Belirteçleri ile biyokimyasal belirteçler arasındaki ilişki

	CAT	SOD	NO	MDA	GPX	SpotPro	HbA1C	TSH	KRE	APG	
CAT	r p	1 <0,001	- 0,716* <0,001	-0,899* <0,001	0,750* <0,001	-0,179* 0,025	-0,579* <0,001	0,012 0,884	-0,328* <0,001	-0,477* <0,001	
SOD	r p	0,707* 0,000	1 <0,001	- 0,499* <0,001	-0,720* <0,001	0,578* <0,001	-0,116 0,150	-0,528* <0,001	0,031 0,702	-0,325* <0,001	-0,413* <0,001
NO	r p	-0,716* <0,001	-0,499* <0,001	1	0,662* <0,001	-0,566* <0,001	0,138 0,086	0,462* <0,001	-0,044 0,583	0,202* 0,011	0,309* <0,001
MDA	r p	-0,899* <0,001	-0,720* <0,001	0,662* <0,001	1	-0,692* <0,001	0,210* 0,009	0,648* <0,001	0,008 0,920	0,292* <0,001	0,529* <0,001
GPX	r p	0,750* <0,001	0,578* <0,001	- 0,566* <0,001	-0,692* <0,001	1	-0,247* 0,002	-0,505* <0,001	0,040 0,623	-0,337* <0,001	-0,411* <0,001
SpotPro	r p	-0,179* 0,025	-0,116 0,150	0,138 0,086	0,210* 0,009	-0,247* 0,002	1	0,267* 0,001	-0,018 0,823	0,466* <0,001	0,276* <0,001
HbA1C	r p	-0,579* <0,001	-0,528* <0,001	0,462* <0,001	0,648* <0,001	-0,505* <0,001	0,267* 0,001	1	-0,041 0,612	0,227* 0,004	0,614* <0,001
TSH	r p	0,012 0,884	0,031 0,702	-0,044 0,583	0,008 0,920	0,040 0,623	-0,018 0,823	-0,041 0,612	1	0,068 0,398	-0,047 0,558
KRE	r p	-0,328* <0,001	-0,325* <0,001	0,202* ,011	0,292* <0,001	-0,337* <0,001	0,466* <0,001	0,227* 0,004	0,068 0,398	1	0,326* <0,001
APG	r p	-0,477* <0,001	-0,413* <0,001	0,309* <0,001	0,529* <0,001	-0,411* <0,001	0,276* <0,001	0,614* <0,001	-0,047 0,558	0,326* <0,001	1

CAT, Katalaz; SOD, Süperoksit Dismutaz; GPX, Glutasyon Peroksidaz; NO, Nitrik Oksit; MDA, Malondialdehit; Açlık plazma glukoz; TSH, tiroid stimüle edici hormon; SpotPro; Spot idrarda protein; KRE, kreatinin

\* İstatiksel olarak anlamlı

KİMK ile oksidatif stres belirteçleri arasındaki korelasyon tablo 13’de gösterilmiştir. KİMK ile antioksidan stres belirteçleri (CAT, SOD, GPx) arasında istatiksel olarak anlamlı negatif korelasyon saptanırken, oksidatif stres belirteçleri (MDA, NO) arasında istatiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı. KİMK ile prolidaz arasında istatiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı (tablo 13).

**Tablo 13.** KİMK ile Oksidatif Stres Belirteçleri ve Prolidaz Arasında İlişki

		<b>KİMK</b>	<b>CAT</b>	<b>SOD</b>	<b>GPX</b>	<b>MDA</b>	<b>NO</b>	<b>Prolidaz</b>
<b>KİMK</b>	<b>r</b>	1	-0,522*	-0,473*	-0,475*	0,549*	0,415*	0,446*
	<b>p</b>		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>CAT</b>	<b>r</b>	-0,522*	1	0,707*	0,750*	-0,899*	-0,716*	-0,745*
	<b>p</b>	<0,001		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>SOD</b>	<b>r</b>	-0,473*	0,707*	1	0,578*	-0,720*	-0,499*	-0,537*
	<b>p</b>	<0,001	<0,001		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>GPX</b>	<b>r</b>	-0,475*	0,750*	0,578*	1	-0,692*	-0,566*	-0,500*
	<b>p</b>	<0,001	<0,001	<0,001		<0,001	<0,001	<0,001
<b>MDA</b>	<b>r</b>	0,549*	-0,899*	-0,720*	-0,692*	1	0,662*	0,730*
	<b>p</b>	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001		<0,001	<0,001
<b>NO</b>	<b>r</b>	0,415*	-0,716*	-0,499*	-0,566*	0,662*	1	0,883*
	<b>p</b>	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001		<0,001
<b>Prolidaz</b>	<b>r</b>	0,446*	-0,745*	-0,537*	-0,500*	0,730*	0,883*	1
	<b>p</b>	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

KİMK, Karotis Intima Media Kalınlığı; CAT, Katalaz; SOD, Süperoksit Dismutaz; GPX, Glutatyon Peroksidaz; NO, Nitrik Oksit; MDA, Malondialdehit

## 5. TARTIŞMA

Diyabetes Mellitus, insülin eksikliği ya da insülin etkisindeki yetersizlikler nedeniyle organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamadığı, sürekli tıbbi bakım gerektiren, sık karşılaşılan endokrin metabolik bozukluklardan biridir (1). DM'nin akut ve kronik komplikasyonları mevcuttur. Kronik komplikasyonlar kendi içinde makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlar olmak üzere ikiye ayrılır. Makrovasküler komplikasyonlar; serebrovasküler hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar ve periferik damar hastalığı olarak karşımıza çıkmaktadır. Mikrovasküler komplikasyonlar ise diyabetik nefropati, diyabetik nöropati ve diyabetik retinopatiji kapsamaktadır (123).

Mikrovasküler komplikasyonların patogeneğinde asıl önemli olan hiperglisemidir. Hipergliseminin nasıl kronik komplikasyonlara yol açtığına yönelik dört farklı teori mevcuttur. Hipotezlerden biri glikolizasyon sonucu AGE oluşumudur. AGE proteinlere çapraz bağlanır. Endotel disfonksiyonunu indükler extrasellüler matrix yapısını ve bileşimini değiştirir. İkinci hipotez kronik hipergliseminin sorbitole dönüşüm sonucu hücrel osmolaliteyi arttırarak reaktif oksijen türleri oluşumuna neden olmasıdır. Üçüncü hipotez protein kinaz C aktivasyonudur. Ekstrasellüler hücreler ve nöronlardaki ekstrasellüler matriks proteinleri ve fibronektin, tip 4 kollajen, kontraktıl proteinlerin gen transkripsiyonunu değiştirmektedir. Dördüncü teori heksozamin yolağında akımın artışıdır (18). Bu olaylar, tromboksan, büyüme faktörleri, fibronektin ve tip IV-IV kolajenin yanısıra oksidatif stres oluşturan oksijen serbest radikallerinin üretimini arttırarak diyabetin komplikasyonlarının gelişimine ve ilerlemesine neden olur (124-126).

Diyabetik nefropati, renal replasman tedavisine başlanan hastalarda kronik böbrek yetmezliğinin önde gelen bir nedenidir (127). Hem tip 1 DM'nin hem de tip 2 DM'nin rölatif olarak en sık görülen mikrovasküler komplikasyonudur(128). Tip 1 ve tip 2 diyabeti olan hastaların yaklaşık %30-35'inde diyabetik nefropati gelişmektedir (129). Diyabetik nefropati, idrarla atılan proteinin miktarında artış ile ilişkilidir. Proteinürideki artış sadece nefropatinin gelişeceğinin habercisi olmakla kalmayıp beraberinde diyabetik hastaların kardiyovaskuler hastalık nedeni ile ölüm ihtimallerini güçlü bir şekilde ortaya koymaktadır (130). Yapısal olarak glomerüler hipertrofi, bazal membran kalınlaşması, tübüler atrofi ve interstisyel fibrozis görülür. Literature göre nefropatili hastalarda glomeruler bazal membran kalınlaşması ile mezengiyal artış meydana gelmektedir ve bunlar hastalığın ilerlemesiyle daha da belirginleşmektedir (131,132).

Diyabetik nöropati; diabetes mellitus'un önemli bir komplikasyonudur ve yüksek morbiditeye bağlıdır. Nöropati, DM'nin uzun vadeli komplikasyonlarından biridir (133-135).

Diyabetik nöropati, diabetes mellitus seyrinde klinik veya subklinik düzeyde ortaya çıkabilen periferik sinir tutulumudur. Diyabetik nöropati uzun süredir tanı almış tip 1 ve tip 2 diyabetiklerin yaklaşık % 50 sinde gelişir. Polinöropati, mononöropati ve / veya otonom nöropati olarak ortaya çıkabilir. Diyabetin diğer komplikasyonları gibi nöropatinin gelişmesi de diyabet süresi ve glisemik kontrolle ilişkilidir. İlave risk faktörleri vücut kitle indeksi, sigaradır (28). Diyabet tanısı konduğunda hastaların %10'unda nöropati bulunurken, 20 yılın sonunda bu oran %50 olmaktadır. Diyabetik nöropatinin gelişiminde; poliyol yolunun aktivasyonu, nonenzimatik glikolizasyondaki artış, vasküler disfonksiyon, lipit metabolizmasının hasarı önemli rol oynar. Diyabetik nöropati de diğer komplikasyonlar gibi hiperglisemi, metabolik dengesizlik ve oksidatif stres üzerine gelişmektedir(136 ). Tip 1 DM'li ve kesin nöropatisi olanların %44'ünde dizabilite ve Tip 2 DM'si olan ve duysal nöropatisi bulunan hastaların %74'ünde aktivitede kısmi kısıtlanma bildirilmiştir (137).

Diyabetin diğer mikrovasküler komplikasyonu ise retinopatidir. Kronik hiperglisemi, diyabetik retinopati oluşumu ve ilerlemesinde en önemli etkenlerden biridir. Diğer risk faktörleri içinde; insülin direnci ve hiperinsülinemi, değişmiş olan yağ asidi ve protein metabolizması, ozmotik etki, hipertansiyon, bozulmuş metabolik sempatik aktivasyon sayılabilir. Diyabette oksidatif stres de artabilmektedir, ancak ilgili mekanizmaların diyabetik komplikasyonlara katkısı tam olarak ispatlanmış değildir (138). Tip 1 DM hastalarının hastalığın ikinci dekadında nerdeyse tamamında, Tip 2 diyabetiklerinde %60'dan fazlasında retinopati vardır (19).

Kollajen vücutta en bol bulunan proteindir. Tüm proteinlerin dörtte birinden fazladır ve bağ doku oluşumunda esansiyeldir. Kollajen biyosentezi kollajen ve intrasellüler proteinlerin yıkımı için, prolidaz aktivitesine gereklidir (139). Kollajen aynı zamanda en majör extrasellüler matrix komponentidir. Ateroskleroz ve endotelyal disfonksiyonda kollajen biyosentezi progresyonunda artmış ekstrasellüler matrix turnoveri majör bir rol oynar (140). Metalloproteinazlar (MMP) ECM proteinlerin katabolizmasına katılan en önemli enzim sınıflarından biridir. Ek olarak oksidatif stres seviyeleri direk olarak kollajen üretiminin inhibisyonu ile ilişkilidir. Prolidazın bu aşamada önemli bir hedef enzim olduğu düşünülmektedir (141). Birçok çalışma MMPs lerin oksidatif stres ile ilişkili olduğunu desteklemektedir (5,142).



Prolidaz, dipeptitlerin karboksil terminal pozisyonundaki prolin veya hidroksiprolini ayıran bir sitozolik egzopeptidazdır (143). Kalp, beyin, böbrek, bağırsak mukozası, rahim ve timus, gibi çeşitli organlarda ve plazmada bulunur. Prolidaz aktivitesinin böbrek, bağırsak mukozası ve eritrositlerde nispeten daha yüksek olduğu gösterilmiştir; karaciğer ve plazmada daha düşük bulunmuştur (144).

Embriyonik gelişme, yara iyileşmesi, inflamasyon, karsinogenez, anjiyogenez, hücre göçü ve hücre farklılaşması gibi fizyolojik ve patolojik süreçlerde önemli rolleri vardır(145). Glomerüler bazal membranın en önemli bileşenlerinden biri tip 4 kollajendir. Prolidaz, prolin içeren ve çoğunlukla hidroksiprolin ile zenginleştirilmiş olan tip 4 kollajenin turnoverında önemli bir rol oynamaktadır (146).

Prolidaz aktivitesi önceki çalışmalarda değerlendirilmiştir. Bazı çalışmalar, klinik koşullarda prolidaz aktivitesinin arttığını bildirmişken (147-149), bazıları azaldığını bildirmiştir (6,7,151). Bununla birlikte, DM veya DN'li hastalarda serum prolidaz aktivitesi ile ilgili sınırlı ve çelişkili bilgiler mevcuttur (6-8,152). Diyabetik retinopati ile prolidaz aktivitesinin ilişkisi bizim bilgilerimize göre incelenmemiştir. Bu nedenle biz de bu çalışmada tip 2 DM nin mikrovasküler komplikasyonları olan nefropati, retinopati ve nöropatide, prolidaz ve oksidatif stres belirteçlerinin ilişkisini incelemeyi amaçladık.

Sayın ve arkadaşları, çalışmalarında tip 2 DM'li hastalarda prolidaz aktivitesi ile NO, MDA ve TAS (total antioksidan seviye) seviyeleri arasındaki ilişkileri incelenmiş ve diyabetik nöropati şiddetinin karşılaştırmıştır. Diyabetik nöropati hastalarının serum prolidaz aktivitesi ve TAS düzeyleri sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak düşük bulunmuş. Serum NO düzeyleri ve MDA düzeylerinin diyabetik nöropati hastalarında kontrollerden daha yüksek olduğunu gözlemlenmiştir. Bu çalışmada prolidaz aktivitesi ile NO ve MDA düzeyleri arasında negatif korelasyonlar bulunmuştur (153). Uzar ve arkadaşları diyabetik hastalarda yaptıkları çalışmalarında, serum prolidaz aktivitesini diyabetik nöropatilerde kontrol grup ile karşılaştırdıklarında belirgin yüksek bulmuşlardır. Bu çalışmada diyabetik hastalarda nöropati olsun ya da olmasın oksidatif stresin arttığı gösterilmiştir (8). Bizim çalışmamızda da prolidazın komplikasyonlarda, sağlıklı kontrol ve diyabetes mellituslu olup komplikasyonu olmayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı arttığı bulunmuştur. Ayrıca prolidaz aktivitesi, diyabetik nöropatisi olan diyabetiklerde komplikasyonu olmayan diyabetik hastalara göre daha yüksek bulunmuştur. Prolidaz ile antioksidan stres belirteçleri (CAT, SOD, GPx) arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon saptanırken oksidatif stres belirteçleri (MDA ve NO) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır.

Sabuncu ve arkadaşlarının çalışmasının sonuçlarına göre de normoalbuminurik olanlara göre diyabetik hastalardan, mikroalbuminurik grupta prolidaz aktivitesi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur. Prolidaz enzim aktivitesindeki bu yükseklik, mikroalbuminurik hastalarda kollajenin birikimiyle birlikte mikroanjiopatik patolojilerin ortaya çıktığını ve kollajenin metabolizmasının değişikliğe uğrayıp, turnoverının (yıkılıp yeniden sentez edilmesi) hızlandığını göstermektedir (150). Bizim çalışmamızda da diyabetik nefropatisi olan hastalarda prolidaz düzeyi diyabetik ve komplikasyonu olmayan hastalara göre daha yüksek saptandı.

Literatüre göre nefropatili hastalarda glomeruler bazal membran kalınlaşması ile mezengiyal artış meydana gelmektedir ve bunlar hastalığın ilerlemesiyle dahada belirginleşmektedir (154,155). Bunun nedeni olarak da bu dokularda kollajenin fazlaca birikmesi gösterilmektedir (132). Lijima ve arkadaşları ile Yagame ve arkadaşlarının ayrı ayrı yaptıkları çalışmalarda tip IV kollajenin üriner atılımının normoalbuminurik ve/veya sağlıklılarla karşılaştırıldığında mikroalbuminurik diyabetli hastalarda anlamlı olarak arttığını tespit etmişlerdir (156,157). Xu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada serum tip IV kollajen seviyesinin mikroalbuminurik diyabetlilerde artmış olduğu gösterilmiştir (158). Yine birçok çalışmada Tip III veya tip IV kollajenin serum konsantrasyonlarının insülin bağımlı olmayan diyabet ile ilişkili erken nefropatide prognostik bir belirteç olarak kullanılabilirliği gösterilmiştir (159-167). Ellis ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada tip I diyabetli hastalarda tip III kollajenin üriner atılımının diyabetik mikroalbuminuriklerde arttığını ve diyabetik nefropatide gösterge olarak kullanılabileceğini göstermişlerdir (168). Carboxy-Terminal Propeptide Type I Procollagen (P1CP), tip I kollajenin sentez ve depolanmasında görev almaktadır (169). Inukai ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada tip II diyabetli hastalarda P1CP düzeyinin idrar albumin atılımıyla korele olduğunu tespit etmişlerdir (170).

Glomeruler ekstrasellüler matriks dejenerasyonunun ana fizyolojik regülasyonunu matriks metalloproteinazlar sağlar. Ebihara ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada MMP-9'un serum konsantrasyonlarının tip II diyabetli hastalarda mikroalbuminuri gelişiminin belirteci olabileceği gösterilmiştir (171). Fakat matriks metalloproteinazların sadece kollajene spesifik olmaması, tek bir enzim aktivitesini ifade etmemesi ve diyabet gibi mikroanjiopatik komplikasyonlarla seyreden durumlarda sensitivite ve spesifitesinin çok yüksek olmaması nedeniyle prolidaz etiopatogenezinde mikroanjiopatik olayların yer aldığı diyabet ve benzeri hastalıkların ve komplikasyonlarının tanı ve takipleri açısından daha avantajlı gözükmektedir.

Bu çalışmaların sonucuyla da bizim çalışmamız uyuşmakta ve birbirini doğrulamaktadır. Çünkü kollajenin bu dokularda birikmesi bu proteinin metabolizmasının değişikliğe uğradığını, turnoverının hızlandığını göstermektedir. Prolidaz enzimi de kollajen proteininin hem yıkımında hem de yeniden sentez edilebilmesi için prolin amino asitinin temin edilmesinde esas enzim olması itibarıyla artmış bulunmaktadır. Bununla birlikte prolidaz enzim aktivitesinin diyabet ve onun nefropati veya diğer komplikasyonlarının erken tanı ve klinik seyirlerinin takibi açısından rutin bir parametre olarak kullanılabilirliğini ortaya koyabilmek için daha kapsamlı ve detaylı ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Diyabetes mellitus, Amerika Birleşik Devletleri'ndede 20-74 yaş arasında körlüğün önlenemez ve/veya tedavi edilebilir en önemli nedenlerinden biridir. Diyabetik hastaların kör olma olasılığı diyabetik olmayanlara göre 25 kat fazla olduğu için retinopati önemlidir. Retinopati; progresif diyabetik retinopati ve maküler ödemin sonucudur. Tip 1 DM hastalarının hastalığın ikinci dekadında neredeyse tamamında Tip 2 diyabetiklerinde %60'dan fazlasında retinopati vardır (19). Literatürde diyabetik retinopati ve prolidaz arasındaki ilişki ile ilgili yayın bulunmamaktadır. Biz diğer mikrovasküler komplikasyonlar gibi retinopati ile de prolidaz arasındaki ilişkiyi araştırdık. Sonuç olarak prolidaz aktivitesi, diyabetik retinopatisi olan diyabetiklerde komplikasyonu olmayan diyabetik hastalara göre daha yüksek bulundu.

Oksidatif stresin oksidanlardaki bir artış ve / veya antioksidan kapasitesinde bir azalma olarak tanımlanabileceği çok iyi bilinmektedir ve çeşitli oksidanlar ve antioksidanlar oksidatif durum üzerine ilave etkilere sahiptir (172). Verma ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarında göre tip 2 DM de diyabetik nefropatiye ve son dönem böbrek yetmezliğine ilerledikçe oksidatif stres markerlerinin arttığını gözlemlemişlerdir. Ayrıca Tip 2 DM, diyabetik nefropati ve SDBY'de kronik yüksek kan şekeri ile oksidatif marker ile anlamlı korelasyon gösterdiğini belirtmişlerdir. Yine kreatinin ile oksidatif stres markeri ile korelasyon saptamışlardır (152). Bizim çalışmamızda da kreatinin ile oksidan parametrelerle pozitif, antioksidan parametrelerle negatif korelasyon izlendi.

Kronik yüksek kan şekeri, Tip 2 DM'li hastalarda kronik oksidatif stresin neden olduğu glikoz toksisitesine yol açar (173,174). Susztak ve arkadaşları Tip 2 DM ve diyabetik nefropatili hastalarda, oksijen serbest radikallerinin artan glikoz artışı ile arttığını ve bunun oksidatif strese neden olduğunu belirtmişlerdir (175). Bazı çalışmalarda da; artmış kreatinin düzeyinin Tip 2 DM'li hastalarda oksidatif stres yaratan artmış glukoz ile korele olduğunu gösterilmiştir (176,177). Çalışmamızda da diyabetik hastalarda sağlıklı

kontrol gruba göre oksidan parametreler artmış olarak bulundu. Bunların aksine diyabetik ve diyabetik komplikasyonu olan hastalarda sağlıklı kontrole ve komplikasyonu olmayan diyabetiklere göre antioksidan değerleri azalmış olarak izlendi. Glukoz ile oksidan parametrelerle pozitif, antioksidan parametrelerle negatif korelasyon izlendi.

Nitrik oksit, non kollajen metabolizmasının regülasyonunda rol oynadığı gösterilmiştir. Yüksek NO konsantrasyonları artmış kollajen biyosentezi ve modifikasyonu ile ilişkilidir. Prolidaz ve onun NO ile ilişkisi kollajen turnover düzenlenmesinde önemli rol oynuyor olabilir (178,179). Aslan ve arkadaşları, NO ve ürünlerinin diyabetik nöropatili bireylerde belirgin olarak yüksek olduğu göstermişlerdir. Diyabet ve periferel sinirlerdeki metabolik değişiklikler NO üretiminde düşmeye ve sinirlere kan akımında azalmaya yol açıyor diye yorumlamışlardır (180). Bizim çalışmamızda da diyabetik hastalarda ve komplikasyonu olan diyabetik hastalarda NO yüksek düzeyde bulundu.

Karotis arter intima media kalınlığı sistemik aterosklerozun erken bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (181). Diyabetik nefropatisi olmayan Tip 2 diyabetik hastalarda intima media kalınlığının arttığı bilinmektedir (182). Kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar artmış intima media kalınlığı ile korelasyon gösterir (181). Bu durum aterosklerotik değişiklikleri erken tanıma gerekliliği doğurmaktadır. İntima media kalınlığı, gerilmiş duvar stresi gibi lokal nonaterosklerotik mekanizmalarla provoke edilmiş intimal hiperplazi ve intimal fibroeluler hipertrofi gibi fiziksel damar duvarı reaksiyonlarını yansıtır (181). Yüksek rezolüsyonlu B-mod ultrasonografi arteriyel duvar kalınlığını ölçmede ve aterosklerozun progresyonunu belirlemede non invazif olarak kullanılan bir metoddur (183). Uzun dönemdeki komplikasyonlar açısından düşünüldüğünde, erken tanı, diyabet tedavisinden ziyade koruyucu bir yaklaşıma odaklanmayı gerekli kılar (184). Bu yüzden çalışmamızda diyabetik kronik komplikasyonu olan hastalarda karotis intima media kalınlığını (KİMK) inceleyerek kardiyovasküler ve serebrovasküler olaylar gelişmeden risk hakkında fikir sahibi olunup olunmayacağını ortaya koymayı amaçladık.

Karotis aterosklerozu ölçümü ile diyabetik retinopati arasındaki ilişkiye yönelik birkaç çalışma bulunmaktadır (185-187). Bu çalışmalarda diyabetik retinopati ile ortalama KİMK ölçümü arasındaki anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır. Nonproliferatif diabetik retinopati hastalarında ortalama KİMK düzeyi proliferatif diyabetik retinopati hastalara göre daha yüksek bulunmuştur (186). Bir başka çalışmada ortalama KİMK in diyabetik retinopatiyle anlamlı bir şekilde ilişkili olmadığını gösterilmiştir (187). Miyamoto ve ark, çalışmasına göre CCA (common carotid arter) kalınlığı diyabetik retinopatiyle anlamlı korele bulunmuştur. Ancak ortalama KİMK ve plak skoru diyabetik retinopati ile anlamlı

korelasyon göstermemiştir. Bu çalışmaya göre retinal iskeminin sadece lokal kapiller dolaşıma ek olarak karotis arter dolaşımından da etkilendiğini düşündürmüştür. Buna ek olarak sonuçlar, karotid ateroskleroz ile diyabetik retinopati arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için ortalama KİMK ve plak skoru ile karşılaştırıldığında CCA çapının daha iyi bir ölçüm olabileceğini göstermektedir (188).

Momeni ve arkadaşlarının çalışmasına göre, KİMK, hastaların yaşıyla, sistolik kan basıncı ile ve üriner protein ekresyonu ile anlamlı korelasyon göstermiştir. Diyabetin süresi ve KİMK arasında da anlamlı korelasyon saptamışlardır. Bu çalışmada, makrovasküler komplikasyonlar için hassas bir marker olan KİMK'nın, mikrovasküler komplikasyonun önemli indeksi olan proteinüri ile anlamlı ilişkiyi gösterdiği saptanmıştır (189).

Diyabet agresif vasküler hastalıklar ile ilişkilidir. DM hastalarda ateroskleroz morbidite ve mortalitenin önde gelen sebeplerindedir. Yine DM renal hasar ve SDBY nin en sık nedenidir. DM nefropatinin erken belirteci mikroalbuminüridir. Albuminüri endotelial disfonksiyonun göstergesi olarak kabul edilir. İskemik kalp hastalıkları, SVO ve periferik vasküler hastalık gibi sonuçlara yol açan vasküler aterosklerozun güçlü bir göstergesidir. KİMK ile kardiyovasküler risk faktörleri arasındaki pozitif ilişkiye dayanarak, KİMK subkilinik KVS hastalıklar açısından index olarak kabul edilmiştir (190). Diyabetik hastalarda KİMK değeri diyabetik olmayanlara göre belirgin yüksektir (191). KİMK yüksekliği yaşlı hastalarda kardiyovasküler hastalık öyküsü olmadan da miyokard infarkt ve stroke için artmış risk ile ilişkili olabilir (192). Ali Momeni ve ark'nın çalışmasına göre KİMK in hem mikro hem de makrovasküler komplikasyonlar için marker olarak kullanılabileceği düşünülmüştür (189).

Malazy ve arkadaşları, kötü glisemik durum ile TAS, ve KİMK arasında anlamsız, zayıf bir korelasyon (sırasıyla  $r = -0.10$ ,  $-0.16$  ve  $+0.09$ ) saptamışlardır (193). Ono ve arkadaşları ise çalışmalarında tip 2 DM hastalarında SOD aktivitesi, ateroskleroz risk faktörleri ya da KİMK arasındaki ilişkiyi çalışmışlardır. Serum SOD aktivitesi vücut kitle indeksi, sistolik ve diyastolik kan basıncı ile ve serum trigliserid, serum glukoz düzeyleri ile negatif korele bulmuşlardır. Düşük serum SOD aktivitesi, KİMK ile pozitif korele bulunmuştur. Öte yandan özellikle erkeklerde serum SOD aktivitesi, koroner arter plağı oluşumuyla pozitif korele bulunmuştur. Serum SOD aktivitesi metabolik sendrom bileşenleri ile negatif ilişkili bulunmuştur. Düşük serum SOD değeri KİMK kalınlığı için bağımsız bir risk faktörü gibi görülmektedir. Öte yandan, serum SOD aktivite düzeyi, karotid plak oluşumu gibi artmış oksidatif stres durumuna sınırlı şekilde yükselirken reaktif olarak yükselmektedir (194). Bizim çalışmamızda da KİMK ile antioksidan stres

belirteçleri (CAT, SOD, GPx) arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon saptanırken, oksidatif stres belirteçleri (MDA ve NO) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı. KİMİK ile prolidaz arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda serum prolidaz aktivitesinin, komplikasyonu olan diyabetik hastalarda, sağlıklı kontrol ve diyabetes mellituslu olup komplikasyonu olmayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı arttığı bulunmuştur. Diyabetik hastalarda, sağlıklı kontrol gruba göre oksidan parametreler artmış olarak bulunmuştur. Bunların aksine diyabetik ve diyabetik komplikasyonu olan hastalarda sağlıklı kontrole göre antioksidan değerleri azalmış olarak izlenmiştir. Serum prolidaz aktivitesi ile antioksidan stres belirteçleri (CAT, SOD, GPx) arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon saptanırken oksidatif stres belirteçleri (malondialdehit ve nitrik oksit) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır. KİMK ile antioksidan stres belirteçleri arasında negatif, oksidatif stres belirteçleri arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Prolidazla KİMK arasında da istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır. Ancak altta yatan mekanizmaların ve diyabetik komplikasyonu gelişiminde serum prolidaz aktivitesinin önemini anlamak için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Türkiye Endokrinoloji Metabolizma Derneği DM ve Komplikasyonların Tanı, Tedavi ve İzlem Klavuzu 2016.
2. Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am. J. Med.* 1991;91: 31-38.
3. Pham-huy LA, He H, Pham-huy C. free Radicals, Antioksidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci.* 2008; 4(2): 89-96.
4. Hardenbergh PH, Munley MT, Bentel GC et al. Cardiac perfusion changes in patients treated for breast cancer with radiation therapy and doxorubicin: preliminary results. *Int J Rad Oncol Biol Phys.* 2001; 49: 1023-8.
5. Huang Y, Mironova M, Lopes-Virella MF, Oxidized LDL stimulates matrix metalloproteinase-1 expression in human vascular endothelial cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1999; 19(11):2640-7.
6. Erbagci AB, Araz M, Erbagci A, Tarakcioglu M, Namiduru ES. Serum prolidase activity as a marker of osteoporosis in type 2 diabetes mellitus. *Clin. Biochem.* 35, 2002; 263–268.
7. Altindag O, Erel O, Aksoy N, Selek S, Celik H, Karaoglanoglu M. Increased oxidative stress and its relation with collagen metabolism in knee osteoarthritis. *Rheumatol. Int.* 2007; 339–344.
8. Uzar E, Tamam Y, Evliyaoglu O, Tuzcu A, Beyaz C, Acar A et al. Serum prolidase activity and oxidative status in patients with diabetic neuropathy. *Neurol. Sci.* 2012; 33, 875–880.
9. Satman I, Yilmaz T, Sengul A et al. Population-based study of Diyabetes and risk characteristics in Turkey: Results of the Turkish Diabetes Epidemiology Study (TURDEP). *Diabetes Care.* 2002; 25: 1551-1556.
10. Sağlık Bakanlığı, Prof. Dr. Tosun N. , Prof. Dr. Satman İ. ve başkaları. Türkiye Diyabet önleme ve kontrol programı. Eylem Planı (2011-2014). Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Ankara. 2011; yayın no: 816.
11. Alvin C. Powers, *Diabetes Mellitus* (Çev: Teoman Akçay), Harrison. s.2275, Nobel Tıp Kitapevleri.
12. Yılmaz T. *Tip 1 Diabetes Mellitus: İmamoğlu Ş (editör) Diabetes Mellitus. 1. Baskı. İstanbul: Deomed Yayıncılık. 2006; 55-6.*



13. Yenigün M. Her Yönüyle Diabetes Mellitus. 2. Baskı. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul. 2001; s.51-61, 63-67, 69-81, 215-17.
14. De Fronzo RA, Bonadonna RC, Ferrannini E. Pathogenesis of NIDDM. In: Alberti KGMM, Zimmet P, De Fronzo RA, Keen H (eds), International Textbook of Diabetes Mellitus. Second edition. Chichester, John Wiley & Sons Ltd. 1997; 81:635-89.
15. DeFronzo RA. The triumvirate: beta cell, muscle, liver. A collusion responsible for NIDDM. Diabetes. 1998; 37: 667.
16. Yki-Järvinen H. Insulin resistance in type 2 diabetes. In: Pickup JC, Williams G, eds. Textbook of diabetes. 3rd ed. Oxford, England: Blackwell. 2003; 1-19.
17. Gündoğdu S, Acbay O. Tip 2 Diyabetin evreleri ve takip kriterleri. Aktüel Tıp Dergisi. 1996; 8: 557-559.
18. Alvin C. Powers, Diabetes Mellitus Komplikasyonların Mekanizması (Çev: Teoman Akçay), Harrison, s.2286, Nobel Tıp Kitapevleri.
19. Tarr JM, Kaul K, Chopra M, Kohner EM, Chibber R. Pathophysiology of diabetic retinopathy. ISRN Ophthalmol. 2013; 15; 343560 doi: 10.1155/2013/343560.
20. Klein R, Klein BE, Moss SE, Cruickshanks KJ. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy. XIV Ten-year incidence and progression of diabetic retinopathy. Arch Ophthalmol. 1994; 112(9):1217-28.
21. Alvin C. Powers, Diyabetik Retinopati (Çev: Teoman Akçay), Harrison. s.2287, Nobel Tıp Kitapevleri.
22. Patz A. Clinical and experimental studies on retinal neovascularization. Am J Ophthalmol. 1982; 94(6):715-43.
23. Engerman RL. Pathogenesis of diabetic retinopathy. Diabetes 1989;38(10):1203-6
24. Marre M, Bernadet P, Gallois Y, Savanger F, Tham-Tam G, Hallab M. Relationships between angiotensin I converting enzyme gene polymorphism, plasma levels, and diabetic renal complications. Diabetes. 1994; 43(3):384-8.
25. Gross JL, de Avezedo MJ, Silveiro SP, Canani LH, Caramori ML, Zelmanovitz T. Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention, and treatment. Diabetes care. 2005; 28(1):164-76.
26. Ravid M, Brosh D, Ravid Safran D, Levy Z, Rachmani R. Main risk factors for nephropathy in type 2 diabetes mellitus are plasma cholesterol levels, mean blood pressure, and hyperglycemia. Arch Intern Med. 1998; 158(9): 998-1004.

27. Franz MJ, Wheeler ML. Nutrition therapy for diabetic nephropathy. *Curr Diab Rep.* 2003; 3(5):412-7.
28. Alvin C. Powers, *Diyabetik Retinopati* (Çev: Teoman Akçay), Harrison. s. 2289, Nobel Tıp Kitapevleri.
29. Salonen JT, Salonen R. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression. *Circulation.* 1993; 87(suppl II):56-65.
30. Pignoli P, Tremoli E, Poli A et al. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation.* 1986; 74:1399-1406.
31. O'Leary DH, Polak JF. Intima -Media Thickness: a tool for atherosclerosis imaging and event prediction. *Am J Cardiol.* 2002; 90(suppl):18L-21L.
32. Mukherjee D. Carotid artery intimal medial thickness: Indicator of atherosclerotic burden and response to risk factor modification. *Am Heart J.* 2002; 144:753-9.
33. Mayet J. Is Carotid artery intima media thickening a reliable marker of early atherosclerosis? *J Cardiovasc Risk.* 2002; 9: 77-81.
34. Jadhav UM. Carotid intima media thickness as independent predictor of coronary artery disease. *Indian Heart J.* 2001; 53:458-62.
35. P. Sinha AK, Eigenbrodt M, Mehta JL. Does carotid intima media thickness indicate coronary atherosclerosis? *Curr Opin Cardiol.* 2002; 17: 526-30.
36. Kingwell BA. Wall changes induced by blood pressure and antihypertensive drugs in large arteries. Touboul PJ, Hennerici M, editors. *Intima -Media Thickness, Drugs and Stroke.* 1st edition. 2002; 19-24.
37. Kumral E, İnce B. *Ateroskleroz ve serebral hastalıklar*, Argos Yayıncılık, İzmir 2003.
38. George J, Harats D, Shoenfeld Y. Autoimmunity in atherosclerosis. The role of autoantigens. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2000; 18: 73-86.
39. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature.* 2002; 420:868-74.
40. Musabak, U et al. Does immune activation continue during an attack-free period in familial Mediterranean fever? *Clinical & Experimental Immunology.* 2004; 138(3): 526-533.
41. Ozen S. et al. Mutations in the gene for familial Mediterranean fever: do they predispose to inflammation? *The Journal of rheumatology.* 2003; 30(9): 2014-2018.
42. Malatino L, Mallamaci FS, Benedetto FA. Hepatocyte Growth Factor Predicts Survival and Relates to Inflammation and Intima Media Thickness in End-Stage Renal Disease. 2000; 36(5): 945-952.

43. Tang J-J, Wang M-W, Jia E. The Common Variant in the GST M1 and GST T1 genes is related to markers of oxidative stress and inflammation in patients with coronary artery disease, *Mol Biol Rep.* 2010; 37: 405-410.
44. Ebrahim S, Papacosta O, Whincup P et al. Carotid Plaque, Intima Media Thickness, Cardiovascular risk factors, and prevalent cardiovascular disease in men and women. *Stroke.* 1999; 30: 841-850.
45. Hennerici M, Meairs S. Ultrasound imaging of early Atherosclerosis. Touboul PJ, Hennerici M, editors. *Intima-Media Thickness, Drugs and Stroke.* 1 st edition. 2002; 83-89.
46. Fathi R, Marwick TH. Noninvasive tests of vascular function and structure: why and how to perform them. *Am Heart J.* 2001; 141:694-703.
47. Rothwell PM. The Interrelation between carotid, femoral and coronary artery disease. *Eur Heart J.* 2001; 22: 11-4.
48. Chambless LE, Heiss G, Folsom A et al. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in communities (ARIC) Study,1987-1993. *Am j Epidemiol,* 1997; 146:483-94.
49. Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ et al. Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation.* 1997; 96: 1432-7.
50. O'Leary DH. Carotid artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med.* 1999; 340:14-22.
51. Floyd RA, Davies KJA. Ed. DNA Damage in Mitochondria. *Mutat Res.* 1992; 275,249-255.
52. Memişoğulları R. Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi, *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi.* 2005; 3: 30-39.
53. Tamer L, Polat G, Eskandari G, Ercan B, Atik U. Serbest Radikaller, *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi,* 2000; 1: 52-58.
54. Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL: Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocrine Reviews.* 2004; 25: 612–628.
55. Rahman K. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin Interv Aging.* 2007; 2(2):219-236.

56. Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol.* 2006; 141(2):312-22.
57. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri Hacettepe Tıp Dergisi. 2002; 110-1118.
58. Cutler RG, Plummer J, Chowdhury K, Heward C. Oxidative stress profiling: part II. Theory, technology, and practice. *Ann N Y Acad Sci.* 2005; 1055:136-58.
59. Erdenel et al. Serbest Radikaller ve Antioksidan Sistemler, *Gazi Tıp Dergisi.* 1992; 3: 243-250.
60. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol.* 2001; 54: 176-186.
61. Lobo V, Patil A, Phatak A and Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health, *Pharmacogn Rev.* 2010 Jul-Dec; 4(8): 118–126.
62. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury *Lb Invset.* 1982; 412-426.
63. Fisun Ü, Tahan V, Akaya A ve ark. Primer akciğer kanserinde lipid peroksidasyonu ve eritrosit antioksidan enzim aktivitesi. *Tüberküloz ve toraks dergisi.* 1999; 31-35.
64. Halliwell B. How to characterize an antioxidant-An update. *Biochem Soc Symp.* 1995; 61: 73–101.
65. Shi HL, Noguchi N, Niki N. Comparative study on dynamics of antioxidative action of  $\alpha$ - tocopheryl hydroquinone, ubiquinol and  $\alpha$ - tocopherol, against lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med.* 1999; 27: 334–46.
66. Levine M, Ramsey SC, Daruwara R. Criteria and recommendation for Vitamin C intake. *JAMA.* 1991; 281:1415–23.
67. Sies H. Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. *Exp Physiol.* 1997; 82: 291–5.
68. Magnenat JL, Garganoam M, Cao J. The nature of antioxidant defense mechanisms: A lesson from transgenic studies. *Environ Health Perspect.* 1998; 106:1219–28.
69. Di Mascio, Murphy P, Sies H. Antioxidan defense system: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am. J. Clin. Nutr.* 1991; 53; 194-200.
70. Larson RA. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry.* 1988; 27(4); 969-978.
71. Larson RA. Naturally occuring antioxidants. Lewis publishers. New York. 1997.

72. Bader N, Bosy-Westphal A, Koch A, Mueller MJ. Influence of vitamin C and E supplementation on oxidative stress induced by hyperbaric oxygen in healthy men. *Ann Nutr Metab.* 2006; 503: 173-176.
73. Azzi A, Gysin R, Kempna P, Ricciarelli R, Villacorta L, Visarius T, Zingg JM. The role of  $\alpha$ -tokopherol in preventing disease: from epidemiology and molecular events. *Molecular aspects of medicine.* 2003; 24: 324-336.
74. Masella R, Di Benedetto R, Vari R, Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J Nutr Biochem.* 2005; 1610: 577-586.
75. El-Demardash FM. Antioxidant effect of vitamin e and selenium onlipid peroxidationenzyme activities and biochemical parameters in rats exposed to aliminium. *Journal of Trace Element in Medicine and Biology.* 2004; 18, 113-121.
76. Kra-Kud M, Dusin M, Valach M. Products of DNA protein and lipid oxidative damage in relation to vitamin C plasma concentration. *Physiol Res.* 2006; 552: 227-231.
77. Azqueta A, Arbillaga L, Pach G, Cascante M, Creppy EE, Lopez de Cerain A. A quinoxaline 14-di-N-oxide derivative induces DNA oxidative damage not attenuated by vitamin C and E treatment. *Chemico-Biological Interactions.* 2007; 168: 95-105.
78. Huang HY, Caballero B, Chang S. Multivitamin/mineral supplements and prevention of chronic disease. *Evid Rep Technol Assess.* 2006; 139; 1-117.
79. Dündar Y, Aslan R. Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar. Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları. Afyonkarahisar. 2000.
80. Cadenas E, Packer L. Handbook of antioxidants. Marcel dekker New York. 1996.
81. Anisimov VN, Popovich IG, Zabezhinski MA. Melatonin as antioxidant geroprotector and anticarcinogen. *Biochimica et Biophysica Acta.* 2006; 1757: 573-589.
82. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology.* 2007; 39: 44-84.
83. Aydılek N, Aksakal M. Testosteronun tavşanlarda karaciğer antioksidan sistemi üzerine etkisi. *YYÜ Vet Fak Derg.* 2003; 142: 22-25.
84. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınevi, Konya, 1995.

85. Parcell S. Sulfur in human nutrition and applications in medicine. *Altern Med Rev.* 2002; 7: 22-44.
86. Dekhuijzen PN. Antioxidant properties of N-acetylcysteine: their relevance in relation to chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J.* 2004; 234: 629-636.
87. Wassef R, Haenold R, Hansel A, Brot N, Heinemann SH, Hoshi T. Methionine sulfoxide reductase A and a dietary supplement S-methyl-L-cysteine prevent Parkinson's-like symptoms. *J Neurosci.* 2007; 2747: 12808-12816.
88. Çetiner M, Şener G, Şehirli AO, Ekşioğlu-Demiralp E, Ercan F, Sirvancı S et al. Taurine protects against methotrexate-induced toxicity and inhibits leukocyte death. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2005; 209: 39-50.
89. Rajasekar P, Anuradha CV. L-Carnitine inhibits protein glycation in vitro and in vivo: evidence for a role in diabetic management *Acta Diabetol.* 2007; 44: 83–90.
90. Ayçiçek A, Erel O, Koçyiğit A. Increased oxidative stress in infants exposed to passive smoking. *Eur J Pediatr.* 2005; 164:775-778.
91. Misso NL, Brooks-Wildhaber J, Ray S, Vally H, Thompson PJ. Plasma concentrations of dietary and nondietary antioxidants are low in severe asthma. *Eur Respir J.* 2005; 26: 257-264.
92. Prof. Dr. Engin M. Gözükara, Nobel Tıp Kitabevleri, 2010.
93. Brodsky B, Persikov AV. Molecular structure of the collagen triple helix. *Adv Protein Chem.* 2005; 70: 301-39.
94. Rescan PY, Clement P et al. Participation of hepatocytes in the production of basement membrane components in human and rat liver during perinatal period. *Cell diff develop.* 1989; 126: 1231-41.
95. Kadler KE, Baldock C, Bella J, Boot-Handford RP. Collagens at a glance *J. Cell Sci.* 2002;120, 1955–1958.
96. Cole WG, Patterson E, Bonadi J, et al. The clinicopathological features of three babies with lethal osteogenesis imperfecta resulting from the substitution of glycine by valine in the pro alpha 1 (I) chain of type I procollagen. *J Med Genet.* 1992; 29(2):112-8.
97. Emerk K ve Onat T *Temel Biyokimya.* 2. Baskı, Saray Medikal Yayıncılık ve Tic. Ytd. Şti, İzmir- Türkiye, 1997.
98. Davis NC, Smith EL. Purification and Some Properties of Prolidase of Swine Kidney, *J. Biol Chem.* 1957; 244:261-275.

99. Mock WL, Zhuang H. Chemical Modification Locates Guanidinyl and Carboxylate Groups Within The Active site of prolydase *Biochem biophys Res Com.* 1991; 180(1): 401-406.
100. Phang JM, Yeh GC. Scriver Disorders of Proline and Hydroxyproline Metabolism. In: *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*, (7th Ed) Scriver RC, Bland et al, Sly WS, (Eds) Mc Graw Hill, Montreal. 1995; 1125-1141.
101. Endo F, Tanoue A. Structural organization of the gene for human prolydase (Peptidase D) and Demonstration of a partial gene deletion in a patient with prolydase deficiency. *J. Biol chem.* 1989; 265(19): 11306-11311.
102. Radzicka A, Wolfenden R. Analogues of Intermediates in the Action of Pig Kidney Prolidase. *Biochemistry.* 1991; 30: 4160-4164.
103. Bielawska A, Bielawski K, Chrzanowski K et al. Prolidase-activated prodrug for cancer chemotherapy cytotoxic activity of proline analogue of chlorambucil in breast cancer MCF-7 cells. *Farmaco.* 2000; 55: 11-12,736-41.
104. Kodama H, Ohhashi T. Characteristics and Partial Purification of Prolidase and Deficiency. Effect of Glycyl-L-Proline on the Degradation of Newly Synthesized Collagen *Clin Physiol Biochem.* 1989; 7:128-136.
105. Chamson A, Germain N, Claudy A, Perier C, Frey J. "Study of basement membrane formation in dermal-epidermal recombinants in vitro." *Archives of dermatological research.* 1989; 281(4):267-72.
106. Alparslan S, Gultepe M: Serum Prolidase Activity: Its Value as an Indicator of Collagen Accumulation in Chronic Liver diseases. *Biyokimya Dergisi.* 1993;18(1):1-9.
107. Onat T, Emerk K, Sozmen EY. *İnsan Biyokimyası*, Palme Yayıncılık, Ankara, 2002.
108. Myara I, Myara A. Plasma prolydase activity: A Possible Index of Collagen Catabolism in Chronic Liver Disease. *Clin Chem.* 1984; 30(2):211-215.
109. Myara I, Cosson C, Moatti N, Lemonnier A: Human kidney prolydase-purification, preincubation properties and immunological reactivity. *Int. J Biochem.* 1994; 26(2): 207-214.
110. Berardesca E, Fidell D. Blood transfusions in the therapy of case of prolydase deficiency. *Brit J Dermatol.* 1992; 126:193-195.

111. Atara J, Umemura S, Yamamoto Y, Hagiyaama M, Nohara N. Prolidase deficiency: Its dermatological manifestations and some additional biochemical studies. *Arch Dermatol.* 1979; 115:62.
112. Boright A, Scriver CR. Prolidase Deficiency: Biochemical Classification of Alleles *Am J Hum Genet.* 1989; 44: 731-740.
113. Endo F, Matsuda I, Tanaka S, Ogata A. *Pediatr. Res.* 1982; 16,227-231.
114. Powell GF, Rasco MA, Maniscalco RM. A prolidase deficiency in man with iminopeptiduria. *Metabolism.* 1974; 23:505.
115. Hein SSchaper J. The extracellular matrix in normal and diseased myocardium. *J Nucl Cardiol.* 2001; 8: 188-96.
116. Celik H, Aksoy N, Aslan M, Naligul Y, Barut S. *Turk J Biochem* 2005; 29: 1-172
117. Atara ve ark. Prolidase deficiency: its dermatological manifestations and some additional biochemical studies. *Arch Dermatol.* 1979; Jan;115(1):62-7.
118. Alparslan S.ve Gültepe M. Serum prolidase activity: its value as an indicator of collagen accumulation in chronic liver diseases. *Turk J Biochem.* 1993;18:1-9.
119. Ohhashi T, Ohno T, Arata J, Sugahara K, Kodama H. Characterization of prolidase 1 ve 2 from erythrocytes of a control, a patient with prolidase deficiency and her mother. 1990; Jan 31;187(1):1-9.
120. Sugahara K, Ohno T. The Use of liquid chromatography Mass spectrometry for the identification and Quantification of Urinary immunodipeptidase in prolidase deficiency. *Eur J clin-Chem Clin Biochem.* 1993; 31: 317-322.
121. Cesson C, Myara I. Only prolidase I Activity is present in human plasma. *Int. J Biochem.* 1992; 24(3):427-432.
122. Boright AP, Scriver CR, Lancaster GA and F. Choy. Prolidase deficiency: biochemical classification of alleles. *Am J Hum Genet.* 1989; 44(5):731-740.
123. Donaghue KC, Chiarelli F, Trotta D, Allgrove J, Dahl-Jorgensen K. Microvascular and macrovascular complications associated with diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes.* 2009; 10(12): 195–03.
124. J. Pickup and G. Williams, *Text Book of Diabetes*, Blackwell Science, 2nd edition, 1997, sf 101, Blacwell Publishing.
125. Kahn CR, Weir GC, King GL, Jacobson AM, Moses AC and Smith RJ, *Joslin's Diabetes Mellitus*, Indian ed, Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia, Pa, USA, 2005.14th edition.



126. Maritim AC, Sanders RA, and Watkins JB III, "Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review," *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 2003; vol. 17, no. 1, pp. 24–38.
127. Wa Jorge L. Gross, Azevedo MD, et al. Diabetic Nephropathy: Diagnosis, Prevention, And Treatment. *Diabetes Care*. 2005; 28: 176–88.
128. Wiwanitkit V. Diabetic nephropathy without hyperglycemia. *Diab Met Syndr Clin Res Rev*. 2009; 3(2): 118-9.
129. Zelmanovitz T, Gerchman F, Balthazar AP, Thomazelli FC, Matos JD, Canani LH. Diabetic nephropathy. *Diabetol Metab Syndr*. 2009; 21(1): 1-10.
130. Mogensen CE. Prevention end stage renal disease. *Diabetic Medicine*. 1998;15(suppl4):551-556.
131. Duong HS, Zhang QZ, Le AD, Kelly AP, Kamdar R, Messadi DV. Elevated prolydase activity in keloids: Correlation with type I collagen turnover. *Br J Dermatol*. 2006; 154:820–828.
132. Myara I, Charpentier C, Lemonnier A. Optimal conditions for prolydase assay by proline colorimetric determination: Application to iminodipeptiduria. *Clin Chim Acta*. 1982;125:193–205.
133. Vlassara H. Recent progress in advanced glycation end products and diabetic complications. 1997; *Diabetes* 46, 19–25.
134. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes*. 1991; 40(4):405-12.
135. Sozmen B, Delen Y, Girgin FK, Sözmen EY. Catalase and paraoxanase in hypertensive type 2 diabetes mellitus: correlation with glycemic control. *Clin. Biochem*. 1999; 32(6):423-7.
136. Said G. Diabetic Neuropathy: on updata. *J Neurol* 1996; 243: 431–440.
137. Bird SJ, Brown MJ. The Clinical Spectrum of Diabetic Neuropathy. *Seminers in Neurology*. 1996; 16: 115–121.
138. İnan S. Diabetik Retinopati ve Etiyopatogenezi *Kocatepe Tıp Dergisi Kocatepe Medical Journal*. 2014; 15(2):207-17.
139. Sienkiewicz P, Palka M, Palka J. Oxidative stress induces IGF-I receptor signaling disturbances in cultured human dermal fibroblasts. A possible mechanism for collagen biosynthesis inhibition. *Cell. Mol. Biol. Lett*. 9. 2004; 643–650.
140. Newby AC, Southgate KM, Davies M. Extracellular matrix degrading

- metalloproteinases in the pathogenesis of arteriosclerosis. *Basic Res. Cardiol.* 1994; 89 Suppl 1:59-70.
141. Savas M, Yeni E, Virit A, Gulum M, Aksoy N, Ciftci H et al. Acute effect of phosphodiesterase type 5 inhibitor on serum oxidative status and prolidase activities in men with erectile dysfunction. *Clinics (Sao Paulo)* 65, 2010; 1311–1314 .
  142. Navab M, Berliner JA, Watson AD, Hama SY, Territo MC, Lusis AJ et al. The yin and yang of oxidation in the development of fatty streak: a review based on the 1994 George Lyman Duff Memorial Lecture. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1996; 16, 831–842.
  143. Zanaboni G, Dyne KM, Rossi A et al. Prolidase deficiency: biochemical study of erythrocyte and skin fibroblast prolidase activity in Italian patients. *Haematologica.* 1994; 79: 13-18.
  144. Hui KS, Lajtha A. Prolidase activity in brain: Comparison with other organs. *J Neurochem.* 1978; 30: 321–327.
  145. McRae PA, Porter BE. The perineuronal net component of the extracellular matrix in plasticity and epilepsy. *Neurochem Int.* 2012; 61: 963-972.
  146. Levidiotis V, Power DA. New insights into the molecular biology of the glomerular filtration barrier and associated disease. *Nephrology (Carlton).* 2005; 10(2):157–166.
  147. Brosset B, Myara I, Fabre M, Lemonnier A, Plasma prolidase and prolidase activity in alcoholic liver disease. *Clin. Chim. Acta.* 1988; 175:291–295.
  148. Myara I, Marcon P, Lemonnier A, Chatelier B, Mangeot M. Determination of prolinase activity in plasma. Application to liver disease and its relation with prolidase activity. *Clin. Biochem.* 1985; 18: 220–223.
  149. Demirbag R, Yildiz A, Gur M, Yilmaz R, Elci K, Aksoy N. Serum prolidase activity in patients with hypertension and its relation with left ventricular hypertrophy. *Clin. Biochem.* 2007; 40: 1020–1025.
  150. Sabuncu T, Boduroglu O, Eren MA, Torun AN, Aksoy N. The Value of Serum Prolidase Activity in Progression of Microalbuminuria in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus. *J Clin Lab Anal.* 2016 Sep;30(5):557-62.
  151. Evrenkaya TR, Atasoyu EM, Kara M, Unver S, Gultepe M, The role of prolidase activity in the diagnosis of uremic bone disease. *Ren. Fail.* 2006; 28, 271–274.
  152. Verma AK, Chandra S, Singh RG, Singh TB, Srivastava S, Srivastava R. 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; 291458
153. Sayın R, Aslan M, Kucukoglu ME, Luleci A, Atmaca M, Esen R, Demir H. Serum prolidase enzyme activity and oxidative stress levels in patients with diabetic neuropathy. *Endocrine.* 2014; Sep;47(1):146-51.
  154. Aslan M, Nazligul Y, Horoz M et al. Serum prolidase activity and oxidative status in *Helicobacter pylori* infection. *Clin Biochem.* 2007; 40: 37–40.
  155. Camuzcuoglu H, Arioz DT, Toy H, Kurt S, Celik H, Aksoy N. Assessment of preoperative serum prolidase activity in epithelial ovarian cancer. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2009;147: 97–100.
  156. Iijima T, Suzuki S, Sekizuka K et al. Follow-up study on urinary type IV collagen in patients with early stage diabetic nephropathy. *J Clin Lab Anal.* 1998; 12(6): 378–382.
  157. Yagame M, Suzuki D, Jinde K, et al. Significance of urinary type IV collagen in patients with diabetic nephropathy using a highly sensitive one-step sandwich enzyme immunoassay. *J Clin Lab Anal.* 1997; 11(2): 110–116.
  158. Xu X, Wu Z, Zhou Q et al. The role of determining the levels of serum kollagen type IV in diagnosing early diabetic nephropathy. *Ren Fail.* 2002; 24;747-753.
  159. Okazaki R, Matsuoka K, Horiuchi A, Maruyama K, Okazaki I. Assays of serum laminin and type III procollagen peptide for monitoring the clinical course of diabetic microangiopathy. *Diabetic Res Clin Pract.* 1988;5: 163-170.
  160. Matsumoto E, Matsumoto G, Ooshima A, Kikuoka H, Bessho H, Miyamura K et al. Serum type IV collagen concentrations in diabetic patients with microangiopathy as determined by enzyme immunoassay with monoclonal antibodies. *Diabetes.* 1990; 39: 885-890.
  161. Matsumoto E, Matsumoto G, Bessho H, Kikuoka H, Nanjo K. Serum concentrations of intact type IV collagen in diabetics. *J Diabetic Complication.* 1991; 5: 189-190.
  162. Hayashi Y, Makino H, Shikata K, Haramoto T, Yamasaki Y, Kumagai I & Ota, Z. Increased concentrations of the basement membrane component type IV collagen in sera and urine of diabetics. *J Diabetic Complication.* 1991; 5: 195-196.
  163. Hayashi Y, Makino H & Ota Z. Serum and urinary concentrations of type IV collagen and laminin as a marker of microangiopathy in diabetes. *Diabetic Med* 1992; 9: 366-370.

164. Tomono S, Kawazu S, Kato N, Ohno T, Utsugi T & Murata K. Clinical implications of serum levels of basement membrane components in diabetic patients with and without albuminuria. *J Diabetic Complication*. 1991; 5: 193-194.
165. Watanabe T, Negisghi K, Katayama S, Ishii J. & Kawazu S. Serum or urinary concentration of type IV collagen in diabetics. *J Diabetic Complication*. 1991; 5: 191-192.
166. Okazaki R, Matsuoka K, Atsumi Y, Maruyama K, Matsuki H & Okazaki I. Serum concentrations of basement membrane proteins in NIDDM as a prognostic marker for nephropathy. *Diabetic Res Clin Pract*. 1995; 27: 39-49.
167. Ishimura E, Nishizawa Y, Shoji S & Mori H. Serum type III, IV collagens and timp in patients with type II diabetes mellitus. *Life Sci*. 1996; 58: 1331-1337.
168. Ellis D, Forrest K, Erbey J & Orchard TJ. Urinary measurement of transforming growth factor- $\beta$  and type IV collagen as new markers of renal injury: application in diabetic nephropathy. *Clinical Chemistry*. 1998; 44,5: 950–956.
169. Risteli J and Risteli L. Analysing connective tissue metabolites in human serum. Biochemical, physiological and methodological aspects. *J Hepatol*. 1995; 22: 77-80.
170. Inukai T, Fujiwara Y, Tayama K et al. Serum levels of carboxy-terminal propeptide of human type I procollagen are an indicator for the progression of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*. 2000; 48: 23-28.
171. Ebihara I, Nakamura T, Shimada N, Koide H. Increased plasma metalloproteinase-9 concentrations precede development of microalbuminuria in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Am J Kid Dis*. 1998; 32: 544–550.
172. Wayner DD, Burton GW, Ingold KU, Barclay LR, Locke SJ. The relative contributions of vitamin E, urate, ascorbate and proteins to the total peroxyl radical-trapping antioxidant activity of human blood plasma. *Biochim. Biophys. Acta*. 1987 ; 924,408–419.
173. Shah S, Iqbal M, Karam J, Salifu M, and McFarlane SI, “Oxidative stress, glucose metabolism, and the prevention of type 2 diabetes: pathophysiological insights,” *Antioxidants and Redox Signaling*. 2007; vol. 9, no. 7, pp. 911–929.
174. Robertson RP and Harmon JS, “Diabetes, glucose toxicity, and oxidative stress: a case of double jeopardy for the pancreatic islet  $\beta$  cell,” *Free Radical Biology and Medicine*. 2006; vol. 41, no. 2, pp. 177–184.

175. Susztak K, Raff AC, Schiffer M and Böttinger EP, "Glucose induced reactive oxygen species cause apoptosis of podocytes and podocyte depletion at the onset of diabetic nephropathy," *Diabetes*. 2006; vol. 55, no. 1, pp. 225–233.
176. Monnier L, Mas E, Ginet C et al. "Activation of oxidative stress by acute glucose fluctuations compared with sustained chronic hyperglycemia in patients with type 2 diabetes," *Journal of the American Medical Association*. 2006; vol. 295, no. 14, pp. 1681–1687.
177. Terawaki H, Yoshimura K, Hasegawa T et al. "Oxidative stress is enhanced in correlation with renal dysfunction: examination with the redox state of albumin," *Kidney international*. 2004; vol. 66, no. 5, pp. 1988–1993.
178. Mei J M, Borchert GL, Donald SP, Phang JM. Matrix metalloproteinase (s) mediate (s) NO-induced dissociation of beta-catenin from membrane bound E-cadherin and formation of nuclear beta-catenin/LEF-1 complex. *Carcinogenesis*. 2002; 23, 2119–2122.
179. Surazynski A, Liu Y, Milyk W, Phang JM. Nitric oxide regulates prolidase activity by serine/threonine phosphorylation. *J. Cell. Biochem*. 2005; 96, 1086–1094.
180. Aslan M, Sabuncu T, Kocyigit A, Celik H, Selek S. Relationship between total oxidant status and severity of diabetic nephropathy in type 2 diabetic patients. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis*. 2007; 17, 734–740.
181. Vicenzini E, Ricciardi MC, Puccinelli F et al. Common carotid artery intima media thickness determinants in a population study. *J Ultrasound Med*. 2007; 26: 427-32.
182. Yokoyama H, Kuramitsu M, Kano S, tada J, Yokota Y, Kamikawa F. Relationship between metabolic syndrome components and vascular properties in Japanese type 2 diabetic patients without cardiovascular disease or nephropathy. *Diabetes Res Clin Pract*. 2007; 75: 200-206.
183. Yokoyama H, Aoki T, Imahori M, Kuramitsu M. Subclinical atherosclerosis is increased in type 2 diabetic patients with microalbuminuria evaluated by intima-media thickness and pulse wave velocity. *Kidney Int*. 2004; 66: 448-54.
184. Zimmet P, Lefebvre P. The global NIDDM epidemic treating the disease and ignoring the symptom. *Diabetologia*. 1996; 39: 1247-1248.
185. Malecki MT, Osmenda G, Walus-Miarka M, Skupien J, Cyganek K, Mirkiewicz-Sieradzka B et al. Retinopathy in type 2 diabetes mellitus is associated with

- increased intima-media thickness and endothelial dysfunction. *Eur J Clin Invest.* 2008; Dec; 38(12):925-30.
186. Rema M, Mohan V, Deepa R, Ravikumar R, Chennai Urban Rural. *Epidemiology Study-2, Association of carotid intima-media thickness and arterial stiffness with diabetic retinopathy: the Chennai urban rural epidemiology study (CURES- 2).* *Diabetes Care.* 2004; Aug;27(8):1962-7.
  187. Ogawa Y, Uchigata Y, Iwamoto Y. Progression factors of carotid intima-media thickness and plaque in patients with long-term, early-onset type 1 diabetes mellitus in Japan: simultaneous comparison with diabetic retinopathy. *J Atheroscler Thromb.* 2009; 16: 821–828.
  188. Michiaki Miyamoto, Kazuhiko Kotani, Kenta Okada, Yasutomo Fujii, Kei Konn, Shun Ishibashi, Nobuyuki Taniguchi, *Acta Diabetol.* The correlation of common carotid arterial diameter with atherosclerosis and diabetic retinopathy in patients with type 2 diabetes mellitus. 2012; 49: 63–68.
  189. Ali Momeni, Mohammad Ali Dyani, Morteza Sedehi, Elnaz Ebrahimi. Association Between Common Carotid Artery Intima-Media Thickness and Proteinuria in Type 2 Diabetic Patients. *Iran J. Kidney Dis.* 2015;9 (4):311-5.
  190. O’Leary DH, Polak JF, Kronmal RA et al. Distribution and correlates of sonographically detected carotid artery disease in the Cardiovascular Health Study. The CHS Collaborative Research Group. *Stroke.* 1992; 23: 1752-60.
  191. Temelkova-Kurktschiev TS, Koehler C, Leonhardt W et al. Increased intimal-medial thickness in newly detected type 2 diabetes: risk factors. *Diabetes Care.* 1999; 22: 333-8.
  192. Nichols WW, Pepine CJ, O’Rourke MF. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke. *N Engl J Med.* 1999; 340:1762-3.
  193. Ozra Tabatabaei-Malazy, Hossein Fakhrzadeh, Farshad Sharifi, Mojde Mirarefin, Seyed Masoud Arzaghi, Zohre Badamchizadeh, Mahtab Alizadeh Khoee and Bagher Larijani. Effect of metabolic control on oxidative stress, subclinical atherosclerosis and peripheral artery disease in diabetic patients. *J Diabetes Metab. Disord.* 2015; 10.1186/s40200-015-0215-5.
  194. Mitsutaka Ono, Noriko Takebe, Tomoyasu Oda, Riyuki Nakagawa, Mizue Matsui, Takayoshi Sasai, et al. Association of Coronary Artery Calcification with MDA-

LDL-C/LDL-C and Urinary 8-Isoprostane in Japanese Patients with Type 2 diabetes. Intern Med. 2014; 53(5):391-6.

