

TC
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**TİP 2 DİYABETİKLERDE ALKOL KULLANIMININ
MEMBRAN YAPI VE FONKSİYONLARI ÜZERİNE OLAN
ETKİLERİ**

Dr. Serkan DEĞİRMENCİ

**Biyokimya Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ESKİŞEHİR
2007**

TC
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**TİP 2 DİYABETİKLERDE ALKOL KULLANIMININ
MEMBRAN YAPI VE FONKSİYONLARI ÜZERİNE OLAN
ETKİLERİ**

Dr. Serkan DEĞİRMENCİ

**Biyokimya Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŐMANI
Doç.Dr.Güngör KANBAK**

**ESKİŞEHİR
2007**

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Serkan DEĞİRMENÇİ' ye ait "Tip 2 diyabetiklerde alkol kullanımının membran yapı ve fonksiyonları üzerine olan etkileri" adlı çalışma jürimiz tarafından Biyokimya Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:13.08.2007

Jüri Başkanı	Prof. Dr. Ömer ÇOLAK Biyokimya Anabilim Dalı	İmza
Üye	Prof. Dr. Mine İNAL Biyokimya Anabilim Dalı	İmza
Üye	Doç. Dr. Güngör KANBAK Biyokimya Anabilim Dalı	İmza

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yönetim Kurulu'nun
.....Tarih ve Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Özcan BÖR
Dekan Vekili

TEŐEKKÖR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalında yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren sayın hocalarıma, tezimde danışmanlığımı yapan Doç.Dr.Güngör KANBAK'a, Dahiliye Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr. Aysen AKALIN'a, Biyoistatistik Anabilim Dalı Arş.Gör.Ahmet MUSMUL'a, asistan arkadaşlarım ve eşime yardımları ve destekleri için teşekkür ederim.

ÖZET

Değirmenci,S. Tip 2 diabetiklerde alkol kullanımının membran yapı ve fonksiyonları üzerine olan etkileri. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi,Eskişehir,2007. Bu çalışmada, tip 2 diyabetik hastalarda alkol kullanımının membran yapısına ve fonksiyonlarına etkisi incelendi. Bu amaçla kontrol grubu (n=20), alkol kullanmayan diyabetik hastalar (n=42) ve alkol kullanan diyabetik hastalar (n=14) olmak üzere 3 grup oluşturuldu. Alkol alma kriteri en az 5-10 yıl haftada 3-4 kez günde 250 ml %40-50 lik alkollü içki (2-3 duble rakı veya viski) olarak belirlendi. Kan örnekleri 12 saatlik açlık periyodu sonrasında sabah saatlerinde alındı. Plazma total siyalik asit (TSA), plazma lipid bağlı siyalik asit (LSA), plazma siyalidaz aktivitesi, eritrosit membranı negatif yükü, HbA1c, GGT ve glukoz değerleri ölçüldü. Alkol kullanan diyabetik grup plazma TSA düzeyleri, sağlıklı kontrol grubuna göre ve diyabetik gruba göre anlamlı şekilde yüksek bulundu (sırasıyla $p<0.001$, $p<0.01$). Diyabetik grup plazma TSA düzeyleri sağlıklı kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.001$). Alkol kullanan diyabetik grup plazma LSA düzeyleri, sağlıklı kontrol grubuna göre ve diyabetik gruba göre anlamlı şekilde yüksek bulundu (sırasıyla $p<0.05$, $p<0.05$). Diyabetik grup plazma LSA düzeyleri sağlıklı kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$). Alkol kullanan diyabetik ve diyabetik grup plazma siyalidaz aktiviteleri, sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksekti (sırasıyla $p<0.05$, $p<0.05$). Alkol kullanan diyabetik grup plazma siyalidaz aktiviteleri diyabetik gruba göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenemedi ($p>0.05$). Alkol kullanan diyabetik ve diyabetik grup eritrosit membranı negatif yük düzeyleri, sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük bulundu. (sırasıyla $p<0.001$, $p<0.001$). Alkol kullanan diyabetik eritrosit membranı negatif yük düzeyleri diyabetik gruba göre düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenemedi ($p>0.05$). Sonuç olarak bulgularımız diyabetik hastalarda alkol kullanımının, membran yapı ve fonksiyonlarını olumsuz etkilediği ve membran hasarını arttırabileceği yönündedir.

Anahtar kelimeler: Alkol, diyabet, siyalik asit, siyalidaz, negatif yük

ABSTRACT

Değirmenci,S. Effects of Alcohol Consumption on Membrane Structure and Functions of Type II Diabetics. Eskişehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Medical Speciality Thesis in Department of Biochemistry,Eskişehir,2007. In this study, the effects of alcohol consumption on membrane structures and functions of type II diabetic patients were studied. For this purpose 3 groups including control group (n=20), alcohol consuming diabetic patients group (n=14) and diabetic patients without alcohol consumption group (n=42) were created. Alcohol consumption criteria was defined as drinking 3-4 days in a week (at least 250 ml. % 40-50 vol. alcoholic drink for each day) for 5-10 years. Blood samples were taken in morningtime after 12 hr. of fasting period. Plasma total sialic acid (TSA), plasma lipid bound sialic acid (LSA), plasma sialidase activity, erythrocyte membrane negativity, HbA1c, GGT and glucose levels were determined. Plasma TSA levels of alcohol consuming diabetic group were elevated compared to healthy control group and diabetic group ($p<0.01$ and $p<0.001$ respectively). Plasma TSA levels of diabetic group were significantly elevated compared to healthy control group ($p>0.001$). Plasma LSA levels of alcohol consuming diabetic group were elevated compared to healthy control group and diabetic group ($p<0.05$ and $p<0.05$ respectively). Plasma LSA levels of diabetic group were significantly elevated compared to healthy control group ($p>0.05$). Plasma sialidase activities of alcohol consuming diabetic group and diabetic group were significantly elevated compared to healthy control group ($p<0.05$ and $p<0.05$ respectively). Plasma sialidase activities of alcohol consuming diabetic group were elevated compared to diabetic group but this was not statistically significant ($p>0.05$). Erythrocyte membrane negativity levels of alcohol consuming diabetic group and diabetic group were significantly decreased ($p<0.001$ and $p<0.001$ respectively) compared to healthy control group. Erythrocyte membrane negativity levels of alcohol consuming diabetic group were decreased compared to diabetic group but this was not statistically significant ($p>0.05$). Our results indicate that alcohol consumption has negative effects on membrane structure and functions, and increases membrane damage in diabetic patients

Keywords: alcohol, diabetes, sialic acid, sialidase, negative charge

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLOLAR DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Diabetes Mellitus	3
2.1.1. Diabetes Mellitusun Tanımı ve Sınıflaması	3
2.1.2. Epidemiyolojisi	4
2.1.3. Diabetes Mellitusun Tanısı	5
2.1.4. Tip 2 Diabetes Mellitus	7
2.1.5. Diabetes Mellitus'un Kronik Komplikasyonları	8
2.2. Alkol Kullanımı ve Metabolizması	9
2.2.1. Alkol Kullanımı	9
2.2.2. Alkol Metabolizması	10
2.3. Eritrosit Membranı	13
2.3.1. Eritrosit Membranının Yapısı	13
2.3.2. Eritrosit Membranının Fonksiyonları	14
2.4. Siyalik Asit	15
2.4.1. Siyalik Asit Metabolizması	16
2.4.2. Doğada Bulunan Siyalik Asitler	18
2.4.3. Siyalidaz (Nöraminidaz)	20
2.4.4. Siyalik Asidin Biyolojik Fonksiyonları	21
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	23
3.1. Gereç	23
3.1.1. İstatistik	24
3.2. Yöntemler	25
3.2.1. Plazma TSA ve LSA Ölçümü	25
3.2.2. Plazma Siyalidaz aktivitesinin belirlenmesi	26
3.2.3. Eritrosit Membranı Negatif Yük Ölçümü	26
3.2.4. Glukoz, GGT ve HbA1c Ölçümü	26
4. BULGULAR	27
4.1. Serum Glukoz Düzeyleri	27
4.2. HbA1c Düzeyleri	28
4.3. Serum GGT Aktiviteleri	29
4.4. Plazma TSA Düzeyleri	30
4.5. Plazma LSA Düzeyleri	31
4.6. Plazma Siyalidaz Aktiviteleri	32
4.7. Eritrosit Membranı Negatif Yük Düzeyleri	33
5. TARTIŞMA	34
6. SONUÇ	40
KAYNAKLAR	41

SİMGELER VE KISALTMALAR

AKŞ	Açlık Kan Şekeri
BMI	Body Mass İndex
dl	Desilitre
DM	Diabetes Mellitus
GGT	γ Glutamil Transferaz
LSA	Lipid Bağlı Siyalik Asit
mg	Miligram
ml	Mililitre
mU	Miliünite
NANA	N-Asetil Nöraminik Asit
ng	Nanogram
nm	Nanometre
RBC	Red Blood Cell
SA	Siyalik Asit
TSA	Total Siyalik Asit

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 2.1. Etanolün ADH ile asetaldehide oksidasyonu	10
Şekil 2.2. Asetaldehidin asetata oksidasyonu	11
Şekil 2.3. Etanolün MEOS ile asetaldehide oksidasyonu	12
Şekil 2.4. Etanolün katalaz ile asetaldehide oksidasyonu	13
Şekil 2.5. Eritrosit membranının yapısı	14
Şekil 2.6. Siyalik asidin yapısı	15
Şekil 2.7. Siyalik asidin sentezi	17
Şekil 2.8. Siyalik asitin çekirdek ve golgideki reaksiyonları	18
Şekil 4.1. Serum glukoz düzeyleri	27
Şekil 4.2. HbA1c düzeyleri	28
Şekil 4.3. Serum GGT aktiviteleri	29
Şekil 4.4. Plazma TSA düzeyleri	30
Şekil 4.5. Plazma TSA düzeyleri	31
Şekil 4.6. Plazma siyalidaz aktiviteleri	32
Şekil 4.7. Eritrosit membranı negatif yük düzeyleri	33

TABLULAR

	Sayfa
Tablo 2.1. Diyabetin klinik evreleri ve etyolojik tiplerine göre sınıflaması	3
Tablo 2.2. Doğada bulunan siyalik asitler	19
Tablo 3.1. Gruplar arasındaki ortalama \pm standart hata (SH) değerleri	23
Tablo 4.1. Serum glukoz düzeyleri	27
Tablo 4.2. HbA1c düzeyleri	28
Tablo 4.3. Serum GGT aktiviteleri	29
Tablo 4.4. Plazma TSA düzeyleri	30
Tablo 4.5. Plazma TSA düzeyleri	31
Tablo 4.6. Plazma siyalidaz aktiviteleri	32
Tablo 4.7. Eritrosit membranı negatif yük düzeyleri	33

1.GİRİŞ

Diabetes mellitus (DM), kan glukoz konsantrasyonunun yükselmesiyle karakterize edilen metabolik bozukluklar grubudur ve mikrovasküler komplikasyonların artmış prevalansı ile birlikte. Tip 2 DM, diyabetin en yaygın formudur ve vakaların %90 ını oluşturur. İnsülin rezistansı veya anormal insülin sekresyonu ile karakterize edilir. Diyabetin pek çok ciddi komplikasyonu vardır. Bu komplikasyonlar diyabetik retinopati, nefropati ve nöropatiyi içerir. Komplikasyonların gelişimi ve şiddeti hastalığın süresine ve ne kadar iyi tedavi edildiğine bağlıdır.(1)

Siyalik asitler, nöraminik asidin asetile edilmiş türevlerini içermektedir. Memelilerde yaygın dağılıma sahiptir ve glikolipid ve glikoproteinlerin karbonhidrat zincirlerinin redükte edilmeyen ucunda terminal bileşen olarak bulunurlar.(2) Membrandaki bu yapılarda bulunan siyalik asit hücrenin dış yüzeyinde negatif bir yük oluşturur. Bu negatif yük diğer hücreler için bir itici güç meydana getirerek agregasyonu önler. Bu itici güç ayrıca hücrelerin sertliğini sağlamaktadır (48,49) Siyalik asitlerin bir kısmı serbest bir kısmı ise lipid bağlı şekilde bulunmaktadır. Başlıca; enzimlerde, kan grubu ürünlerinde, hücre membranlarında ve ekstrasellüler alanda bulunurlar. İnsan serumundaki siyalik asit konsantrasyonları doku yıkımı, doku proliferasyonu ve inflamasyonun olduğu patolojik durumlarda aşırı derecede yüksek bulunmuştur. Total siyalik asit ve/veya lipid bağlı siyalik asidin artmış düzeyleri birkaç tip kanser, diyabet ve böbrek hastalıkları dahil çeşitli hastalıklarda gözlemlenmiştir (4).

Siyalidaz (nöraminidaz) bir çok glikoproteinden siyalik asidi koparan bir enzimdir. Canlı sistemlerde siyalidaz aktivite düzeyindeki değişimler; enfeksiyonların, antijenlerin maskelenmesinin, bazı kanser türlerinin, siyalidosis ve galatozidosis gibi bazı ölümcül hastalıkların göstergesi olabilmektedir.(5) Yapılan bazı çalışmalarda, tip 2 diabetes mellituslu hastalarda total siyalik asit ile birlikte lipid bağlı siyalik asit ve siyalidaz aktivitesinin de arttığı tespit edilmiştir.(6,7)

Kronik olarak alkol tüketimi birçok organı etkileyen ciddi inflamatuvar ve dejeneratif hastalıkla birlikte. Alkol tüketimi diyabetikler dahil insanlar arasında yaygın prevalansa sahiptir (4,8,9).

Mekanizması henüz tam olarak bilinmemekle birlikte alkole bağılı patolojik bozukluklar, plazma membranı üzerindeki zararlı etkilerinin bir sonucu olabilir. Bununla beraber ortalama alkol alımının DM dahil çoğu hastalık durumunda faydalı olduğu rapor edilmiştir. Alkol Tip II diabetlilerde insülin sensitivitesini artırır.(11) Alkolün sitozol ve plazma membranlarındaki siyalidaz aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir. Yakın çalışmalar serum siyalik asit konsantrasyonunun alkoliklerde yükseldiğini göstermiştir.(4,8,9)

Biz bu tez çalışmasında tip 2 diyabetiklerde alkol kullanımının membran yapı ve fonksiyonları üzerine olan etkilerini incelemeyi amaçladık. Bu amaçla tip 2 diyabetik olup alkol kullanmayan, tip 2 diyabetik olup alkol kullanan hastalarda ve kontrol grubu olarak seçtiğimiz alkol kullanmayan ve diyabetik olmayan kişilerde plazma total siyalik asit (TSA), plazma lipid bağılı siyalik asit (LSA), plazma siyalidaz aktivitesi ve eritrosit membranı negatif yükünü ölçtük.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diabetes Mellitus

2.1.1. Diabetes Mellitusun Tanımı ve Sınıflaması

Diabetes Mellitus insülin hormon sekresyonunun ve/veya insülin etkisinin mutlak yada göreceli azlığı sonucu karbonhidrat protein ve yağ metabolizmasında bozukluklara yol açan kronik hiperglisemik bir grup metabolizma hastalığıdır. Açlık hiperglisemisi ile ya da daha erken evrede glukoz tolerans bozukluğu ile karakterizedir (10). Hastalık klinik olarak polidipsi, poliüri, polifaji, kilo kaybı, görme kaybı, ketoasidoz veya hiperosmolar nonketotik koma, bazı durumlarda ise retinopati, nöropati, nefropati, kalp ve damar hastalıkları gibi uzun dönem komplikasyonları ile tanınır. Asemptomatik ya da hafif semptomlarla seyreden DM hastaları ise çoğunlukla rutin tarama testleri ile tespit edilir. Günümüzde bir çok diabet formunun etyolojisi tespit edildiğinden, yeni bir sınıflamaya gereksinim duyulmuştur. Amerikan Diabet Birliği (ADA) tarafından 1997’de önerilen klinik sınıflama, 1999’da WHO tarafından adapte edilmiş ve DM’nin, klinik evre ve etyolojisine göre sınıflaması yapılmıştır (11,12). Bu sınıflama aşağıda bir tablo şeklinde sunulmuştur (Tablo 2.1)

Tablo 2.1. Diyabetin klinik evreleri ve etyolojik tiplerine göre sınıflaması

Evreler	Normoglisemi	Hiperglisemi			
	Normal glukoz toleransı	Bozulmuş glukoz regülasyonu IGT ve/veya IFG	İnsülin Gereksiz	Kontrol için İnsülin	İnsülin hayati
Tipler					
Tip 1	←				→
Tip 2	←			←	→
Diğer spesifik tipler	←			←	→
Gestasyonel Diabet	←			←	→

Daha önceki yıllarda, tedavi veya başlangıç yaşı gibi kriterler esas alınarak yapılan diyabet sınıflaması günümüzde patolojik sürece bakılarak yapılmaktadır (12)

Diabetes Mellitusun Etyolojik Sınıflaması (ADA, 1997)

I. Tip 1 diabetes mellitus (β hücre yıkımı, çoğunlukla mutlak insülin eksikliği)

A.İmmunolojik

B.İdiopatik

II. Tip 2 diabetes mellitus

Tip 2 DM insülin rezistansı, yetersiz insülin sekresyonu ve aşırı hepatik glukoz yapımı ile karakterizedir. Monozigotik ikizlerdeki konkordansı %70- 90 olup, anne ve babası diyabetli olan bireylerdeki görülme riski %40 civarındadır. Poligenik ve multifaktöryel özellik gösterir.

- relatif insülin eksikliği ve insülin direnci
- insülin salınım defekti ile birlikte insülin direnci ile birliktedir.

III. Diğer spesifik diabet tipleri

- β hücre fonksiyonunda genetik defektle karakterize
- İnsülin etkisinde genetik defekt
- Ekzokrin pankreas hastalıkları
- Endokrinopatiler
- İlaç yada diğer kimyasallara bağlı gelişenler
- Enfeksiyonlar- konjenital rubella, sitomegalovirus, koksaki virus
- İmmunolojik diabetin az izlenen formları- anti insülin antikoları
- Diyabetle ilişkilendirilen genetik sendromlar- Down sendromu

IV. Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM) (11,12,13)

2.1.2 Epidemiyolojisi

Dünyada, 177 milyondan fazla DM hastası olduğu tahmin edilmektedir. Dünya sağlık örgütünün (WHO) verilerine göre bu sayı 2025'te 300 milyona yükselecektir. Gelişmiş ülkelerin çoğunda ölüm nedenleri arasında dördüncü sıradadır. Son 20 yılda çoğunluğu Tip 2 diyabet olmak üzere DM prevalansında belirgin bir artış izlenmiştir. Günümüzde Tip 2 DM epidemisinden sözedilmeye başlanmıştır (14).

Amerika da 1976- 1988 yılları arasında 40- 74 yaşlarındaki yetişkinlerde DM prevalansı %11.4'ten %14.3'e yükselmiştir. Danimarka da 22 yıllık bir periyotta DM prevalansında %38 artış izlediği bildirilmiştir. Avustralyada 1981 yılında yapılan tahmine göre %3.4 olması gereken DM'li hasta sayısı şu an nüfusun %7.5'i dir. Ülkemizde ise 1997- 1998 yıllarında yapılan 'Türkiye Diyabetik Epidemiyoloji Çalışması (TÜDEP)'e göre, 20- 80 yaş grubu diyabet sıklığı %7.2, bozulmuş glukoz toleransı (IGT) %6.7, bilinmeyen (yeni) diyabet oranının ise yaklaşık %30 olduğu bulunmuştur (14).

Artan obezite ve fiziksel aktivite azlığı nedeniyle Tip 2 DM prevalansının daha hızlı artması beklenmektedir. Erkek ve kadında görülme sıklığı benzerdir fakat 60 yaşın üzerindeki erkeklerde sıklık bir miktar artmıştır. DM prevalansı 20 yaş altında % 0.19 iken 20 yaş üzeri % 8.6 ya yükselir. DM insidansında belirgin coğrafik farklılıklar vardır. İskandinav ülkeleri en yüksek insidansa sahiptirler. Bunlardan Finlandiyanın insidansı yıllık 35/100.000 ile yüksek, Japonya ve Çin'in Tip 1 DM insidansı 3/100 000 ile düşük, Kuzey Avrupa ve ABD'nin 8- 17/100.000 ile orta derecedir. Tip 2 DM prevalansı ve bozulmuş glukoz toleransı (IGT) Pasifik adalarında yüksek, Hindistan ve ABD'de orta, Rusya ve Çin'de düşüktür. Bu değişkenlik genetik, davranışsal ve çevresel faktörlere bağlanmıştır. DM prevalansı ayrıca ele alınan ülkenin farklı etnik gruplarında da değişkenlik gösterir (14,15,16).

2.1.3. Diabetes Mellitusun Tanısı

Dünya Sağlık Örgütü ve National Diabetes Data Grup (NDDG) DM'nin tanı kriterlerini bazı verileri temel alarak belirlemiştir. Açlık glukoz değerleri spektrumu ve oral glukoz tolerans testine yanıtlar normal bireyler arasında değişkenlikler gösterir. Diyabet tanısı toplumdaki normal glisemi değerlerinden sapmaya göre değil diyabete özgün komplikasyonların prevalansının artmaya başladığı hiperglisemi değerleri ele alınarak düzenlenmiştir (13).

Diabetes Mellitusun Tanı Kriterleri:

- Diyabet semptomları (poliüri, polidipsi, polifaji, kilo kaybı.) ile birlikte günün herhangi bir anındaki plazma glukoz değerinin ≥ 200 mg/dl olması
- Açlık plazma glukoz değerinin ≥ 126 mg/dl olması
- Oral glukoz tolerans testi (OGTT) sırasında 2. saatteki plazma glukoz değerinin

≥ 200 mg/dL (75 gr) olması

Kriterlerinden en az birinin bulunması tanıyı koydurur. Plazma açlık glukozu (FPG) ve postprandial glukoz değerleri birbirleriyle yüksek oranda ilişkilidir fakat farklı metabolik kontroller altında oldukları ve biri normalken diğerinin anormal olabileceği bilinmelidir.

Plazma açlık glukoz değeri 100 mg/dL üzerinde ise OGTT planlamak faydalıdır çünkü:

- Tarama testlerinde diyabet tanısı konmamış hastaların %30'una 2 saatlik tokluk plazma glukozu değerleriyle diyabet tanısı konmuştur.
- Kişiler açlık ve tokluk değerlerine göre farklı sınıflara girdiğinde bunlarda daha anormal olan değer dikkate alınır.
- Bozulmuş açlık glukoz (IFG) değerleri 110- 125 mg/dl olan hastaların %20'si diyabetik postprandial 2.saat değerlerine sahiptir.
- İki saatlik kan glukozu değerleri mortalite, kalp damar hastalığı ve retinopati açısından açlık kan glukozu değerlerine göre daha iyi öngörü sağlar.

Glukoz toleransı açlık plazma glukoz (FPG) değerlerine göre 3 kategoriye ayrılır.

1. FPG <100 mg/dL normaldir.
2. FPG ≥ 100 mg/dL yada <126 iken bozulmuş açlık glukozu (IFG)
3. FPG ≥ 126 mg/dL iken DM tanısı konur.

IFG değeri IGT (bozulmuş glukoz toleransı) değeriyle kıyaslanabilir ve bu 75 gr lık oral glukoz yüklemesi sırasında 2. saatteki kan şekeri değeridir (140- 200 mg/dL). IFG ve IGT tanısı alan kişiler 5 yıl sonrasında %40 Tip 2 DM geliştirme riski ve kardiovasküler hastalık riski taşırlar. Gözden geçirilen bu kriterler asemptomatik kişilerde DM tanısı için FPG değerlerinin güvenilir olduğunu gösterir. Oral glukoz tolerans testi rutin uygulamada önerilmez. Diyabet tanısında idrarda glukoz tayininin, kanda HbA1c ölçümünün pek yeri yoktur.

Tarama testi sonrası kesin tanı koymadan önce test tekrarı yapılmalıdır. Açlık plazma glukoz değeri normale döndüğü hallerde DM tanısı değiştirilir (11,13,16).

2.1.4. Tip 2 Diabetes Mellitus

Toplumda en sık görülen DM formudur. Monozigotik ikizlerdeki konkordansı %70- 90 olup, anne ve babası diyabetli olan bireylerdeki görülme riski %40 civarındadır. Poligenik ve multifaktöryel özellik gösterir. Tip 2 DM insülin rezistansı, yetersiz insülin sekresyonu ve aşırı hepatik glukoz yapımı ile karakterizedir. Hastalığın erken evresinde pankreas β hücrelerinden insülin sekresyonunu artırır böylece insülin rezistansına rağmen glukoz toleransı normal kalır. Ardından vücudun insülin rezistansını yenmek için gerekli hiperinsülinemik durumu sağlayamaması ile postprandial hiperglisemi gelişir. Sonunda insülin sekresyonunun iyice azalması ve karaciğerde glukoz sekresyonunun artması açlık kan glukozunu yükseltir. Tip 2 DM ve obezite birlikteliği sık görülür. Obezite insülin direncini artırarak hiperglisemiyi ağırlaştırmasına rağmen obezite olmadan da Tip 2 DM gelişebilir. İnsülin direnci, kilo verme, egzersiz ve farmakoterapiyle azaltılabilir. Tip 2 DM yıllarca asemptomatik kalabilir. Bu sessiz dönemde hastaların makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyon riski artmıştır. Obezite, fiziksel aktivite azlığı, aile öyküsü, ırk, hipertansiyon, kardiovasküler hastalık öyküsü, hiperlipidemi daha önce bozulmuş açlık glukozu yada bozulmuş glukoz toleransı görülmesi Tip 2 DM gelişmesinde önemli risk faktörleridir (11,12,13).

Tip 2 DM patogeneğinde insülin rezistansının gelişimi anahtar faktördür. İlimli ve orta derecede alkol tüketimi insülin duyarlılığının artması ile beraberdir. Birtakım sağlam kanıtlara göre ılımlı alkol tüketiminin diyabet riskini azalttığı fakat ağır alkol tüketiminin diyabet riskinde artışa yol açabileceği görülmüştür. Alkol kullanımının retinopati, nefropati, nöropati gibi diyabet komplikasyonlarına etkisi belirsiz kalmıştır (17).

Bugüne kadar yapılmış çeşitli araştırmalardan elde edilen sonuçlara göre, diabetes mellitusta yükselen kan glukozuna bağlı olarak, serum proteinlerinin yapımında artma gözlenmektedir. Glikoprotein ve glikolipidlerin yapısında yer alan siyalik asidin bu hastaların serumunda arttığı bilinmektedir (18). Bununla beraber bazı çalışmalarda diyabetik hastalarda nöraminidaz aktivitesinin de arttığı gösterilmiştir (6).

2.1.5. Diabetes Mellitus'un Kronik Komplikasyonları

Diabetes Mellitusun kronik komplikasyonları vasküler (mikrovasküler ve makrovasküler) ve nonvasküler komplikasyonlar olarak 2 gruba ayrılır. Bu komplikasyonlar hastalığın ikinci dekatında belirginleşir. Tip 2 DM uzun bir asemptomatik dönem olduğu için tanı anında komplikasyonlarla karşılaşılabilir. Kronik hiperglisemi mikrovasküler komplikasyonların sebebidir. Makrovasküler komplikasyonlarla kronik komplikasyonlar arasındaki neden sonuç ilişkisi tam olarak kurulamamıştır fakat koroner damar hastalığı ve mortalite tip 2 DM hastalarda 2- 4 kat artmıştır. Bu olaylar FPG, postprandial glukoz ve HbA1c değerleri ile korelasyon gösterir. Dislipidemi ve hipertansiyonda makrovasküler komplikasyonlarda önemli bir rol oynar (13).

Kronik Komplikasyonlar:

I.Mikrovasküler

- Retinopati
- Nöropati
- Nefropati

II.Makrovasküler

- Koroner arter hastalığı
- Periferik damar hastalığı
- Serebrovasküler hastalık
- Gastroparezi
- Diare
- Üropati
- Seksüel disfonksiyon
- Katarakt
- Glukoma

2.2. Alkol Kullanımı ve Metabolizması

2.2.1. Alkol Kullanımı

Alkol tüketimi yüzyıllar boyunca insanların ilgi odağı ve sorunu olmuştur. Kişilerin gelirlerinin ve refah düzeylerinin artması alkole ulaşmayı kolaylaştırmakta ve arttırmaktadır. Öte yandan üzüntüler ve stres de alkol kullanımı arttırmaktadır. Bu daha sonra yüksek doz alkol alımını ve alkol bağımlılığını ortaya çıkarmaktadır. Bunun sonucunda alkole bağlı karaciğer, pankreas ve gastrointestinal traktüs hastalıkları gelişmektedir. Bunlar içinde en önemli ve popüler olanı alkole bağlı karaciğer hastalıklarıdır. Alkol kullanımının karaciğer hastalıklarına yol açtığı yüzyıllardır bilinmektedir. Bugün için alkol kullanımı ile yağlı karaciğer (karaciğer yağlanması), alkolik hepatit ve siroz gibi karaciğer hastalıkları arasındaki ilişki iyice araştırılmıştır. Yağlı karaciğer; alkol (etanol) kullanımının bırakılması ile geriye dönebilen selim bir durumdur. Ancak hastada alkolik hepatit gelişimi ise tedavi gerektiren daha ciddi bir sorundur, gerekli tedavi yapılamazsa siroza kadar ilerleyebilir. Siroz gelişimi ise; son dönem karaciğer hastalığıdır, tedavi görmeyenlerde kısa sürede hastada portal hipertansiyon ve komplikasyonları, karaciğer yetmezliği gelişebilir ve sonunda ölüme yol açar. Alkol'ün karaciğer hastalıklarına yol açmasının altında yatan asıl neden, alkolün başlıca karaciğerde metabolize olmasıdır. Midenin ihmal edilebilir küçük katkısını göz ardı edersek, alkol metabolizmasında asıl sorumlu olan organ karaciğerdir Alkol'ün %90'dan fazlası karaciğerde metabolize olur (19). Alkol'ün kronik karaciğer hastalığına yol açan önemli nedenlerden biri olduğu bilinmektedir. Ancak aşırı alkol tüketen kişilerin hepsinde siroz gelişmez. Alkoliklerin sadece % 0-20'sinde siroz geliştiği görülmektedir. Niçin alkol alanların önemli bir kısmında alkolik karaciğer hastalığı gelişmezken, sadece bir kısım hastada, belki de daha az alkol aldıkları halde karaciğer sirozuna kadar varan alkolik karaciğer hasarı gelişmektedir? Bu durumdan, alkol metabolizmasında rol alan enzimlerdeki genetik değişiklikler sorumlu tutulmaktadır(20).

Alkol tüketiminin belirteçleri üzerine yapılan çoğu çalışma alkolün primer etkileriyle onun KC hastalığı üzerine olan sekonder etkilerini ayırmada, mekanizmayı açıklamada olduğu gibi yetersizdir. Serumda artan total siyalik asit (TSA) düzeyi KC in durumundan bağımsızdır ve bu bize spesifite ve sensitivite sunar. Alkol bağımlılarının serumunda TSA artışının mekanizması; golgi'de siyalil transferaz enzim aktivitesinin etanol indüksiyonu sonucu artışına ve plazma membranı ve sitozoldeki siyalidaz aktivitesinin artışına bağlıdır. TSA' nın non-spesifik olması onun alkol tüketiminin belirteci olarak klinik kullanımını kısıtlar (21,22).

2.2.2. Alkol Metabolizması

Karaciğerde alkol (etanol) metabolizmasından sorumlu olan başlıca 3 yolak vardır. Bunlar sırasıyla:

1. Hepatosit sitozolünde bulunan alkol dehidrogenaz yolağı
2. Hepatosit endoplazmik retikulumunda bulunan mikrozomal enzimler
3. Hepatosit peroksizomlarında bulunan katalaz yolaklarıdır.

Alkol Dehidrogenaz Yolağı

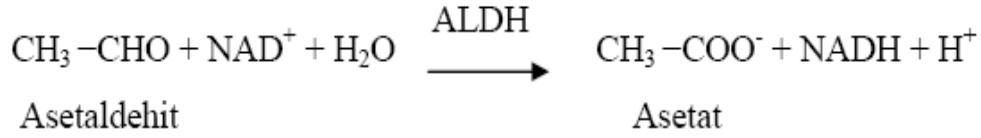
Stoplazmik bir enzim olan alkol dehidrogenaz (ADH), alkolün, karaciğer hepatositlerinde asetaldehite çevrilmesini katalize eder ve alkolün oksidasyonunda en etkin rolü oynar (23).(Şekil 2.1.)



Şekil 2.1. Etanolün ADH ile asetaldehite oksidasyonu

ADH aracılı oksidasyonda, NAD⁺, redükte formu olan NADH'a çevrilir. Bunun sonucunda sitozolün redoks potansiyeli belirgin şekilde değişir ve NADH /NAD⁺ oranındaki belirgin artış çok önemli metabolik sonuçlar doğurur. Laktat/Piruvat oranı artar ve bu durum laktik asidoza yol açar. Kandaki yüksek laktik asit düzeyi hiperürisidemiye neden olur. Alkol tarafından indüklenmiş ketoz ve artmış purin yıkımı da hiperürisemiye arttırabilir (24). Artan purin indirgenmesinin

diğer bir olası sonucu, ksantin oksidaz (XO) tarafından reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimidir (25, 26). Artmış NADH / NAD⁺ oranı lipogenezin artmasına ve hipoglisemiye neden olur. Sitrik asit siklusunun aktivitesi azalır. Yağ asidi oksidasyonunun azalmasına bağlı olarak trigliserid sentezi artar. Bu durumda karaciğer yağlanması ortaya çıkar. Etanol oksidasyonu sonucu oluşan asetaldehit de primer olarak mitokondrial bir enzim olan asetaldehit dehidrogenaz (ALDH) tarafından oksidasyona uğratarak asetat ile karbondioksit ve suya çevrilebildiği gibi, sitrik asit siklusuna girerek yağ asitleri gibi önemli biyokimyasal maddelere dönüşür.(Şekil 2.2.) Bu sistemde kofaktör olarak NAD⁺ kullanılır ve ortamda NADH miktarında artış görülür (25,26).

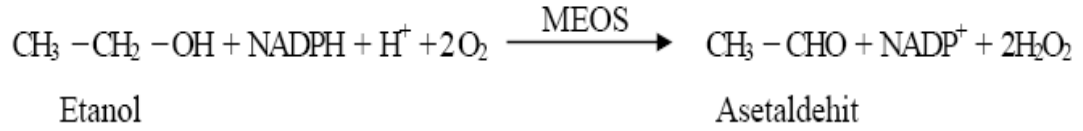


Şekil 2.2.Asetaldehidin asetata oksidasyonu

Asetaldehit, metabolik olarak son derece reaktif ve toksiktir. Proteinlere ve diğer makromoleküllere bağlanır ve bu bileşiklere karşı antikor oluşumuna neden olur. Dolayısıyla alkolik karaciğer hastalığı olanların serumlarında genellikle bu antikorlara rastlanır (25,27). Hücrelerdeki mikrotubuler sistem asetaldehit etkisiyle bozulur ve protein atılımı durur. Tutulan proteine eş miktarda su tutulur ve bundan dolayı karaciğer hücreleri şişer. Asetaldehit, glutatyonun 3 aminoasidinden biri olan L-sistein ile hemiasetal oluşturarak, glutatyon kaybına yol açar. Bunun yanısıra, aldehit oksidaz tarafından okside edilerek, demir varlığında serbest radikal oluşumuna neden olur. Yine, serbest radikallerin yol açtığı lipid peroksidasyon ürünleri olan, malondialdehit (MDA) ve hidroksinonenal (4-HNE) ile kompleksler oluşturarak sitokrom P 450 E2 sistemine bağlanır ve hücre yüzeyinde antijenik yapılar oluşturur (28, 29).

Mikrozomal Etanol Okside Edici Sistem (MEOS)

Alkol metabolizmasında rol alan diğerk bir enzim sistemi MEOS, etanolü mikrozomal sitokrom P450 2E1 enzimi tarafından oksidasyona uğrattır (23, 24). Oluşan ürün yine asetaldehittir (24).



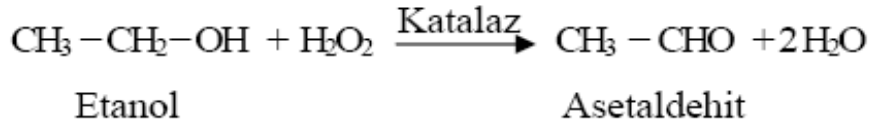
Şekil 2.3. Etanolün MEOS ile asetaldehide oksidasyonu

Mikrozomal enzimler, ADH yolağı kadar etkili olmasa da etanolün metabolizmasında önemli rol oynarlar. Reaksiyon sonucu bir reaktif oksijen türevi olan H₂O₂ oluşur (24). Bu molekül glutatyon ile nötrale edilmediğinde lipid peroksidasyonuna yol açar. Lipid peroksidasyonu sonucu hücre membranının kalsiyuma geçirgenliğı artar, hücre içinde kalsiyum birikimi olur ve bu olaylar sonucu yağlanmış karaciğerde inflamasyon ve fibroz başlar, sonuç siroza kadar gidebilir (23, 25).

MEOS, alkolün oksidasyonunda rolü çok az olup, ancak yüksek kan ve doku etanol düzeyinde devreye girer. Kronik alkol tüketimi enzimin upregulasyonuna sebep olur. Bu nedenle kronik alkol hastalarda etanol oksidasyonu hızlanmışır. Bu sistemde ortaya çıkan ROS'lar hepatosellüler hasara sebep olabile ve/veya provake edebilme yeteneğindedir (23). Hücrenel asetaldehit artışı sonucu bu yan ürünün albumin, kollajen ve lipoproteinlerce alkilasyonu hızlanır. Bu yeni kombinasyonlar, neoantijen olarak etki göstererek immun yanıtı yol açar ve sonuçta inflamatuvar mekanizmaları başlatır (30).

Katalaz Yolağı

Katalaz etanolü okside eden ancak fizyolojik koşullarda alkol metabolizmasında önemli rolü olmayan peroksizomal bir enzimdir. Hiç katalaz enzimine sahip olmayan kişilerin bile, etanol alımını takiben asemptomatik oldukları bilinmektedir. Fakat bazı araştırmacılar ise karaciğerdeki etanol metabolizmasında katalaz yolağının önemli bir orana sahip olduğunu kuvvetle desteklemektedirler (25). Etanolün katalaz ile asetaldehide oksidasyonu şekil 2.4.te gösterilmiştir.



Şekil 2.4. Etanolün katalaz ile asetaldehide oksidasyonu

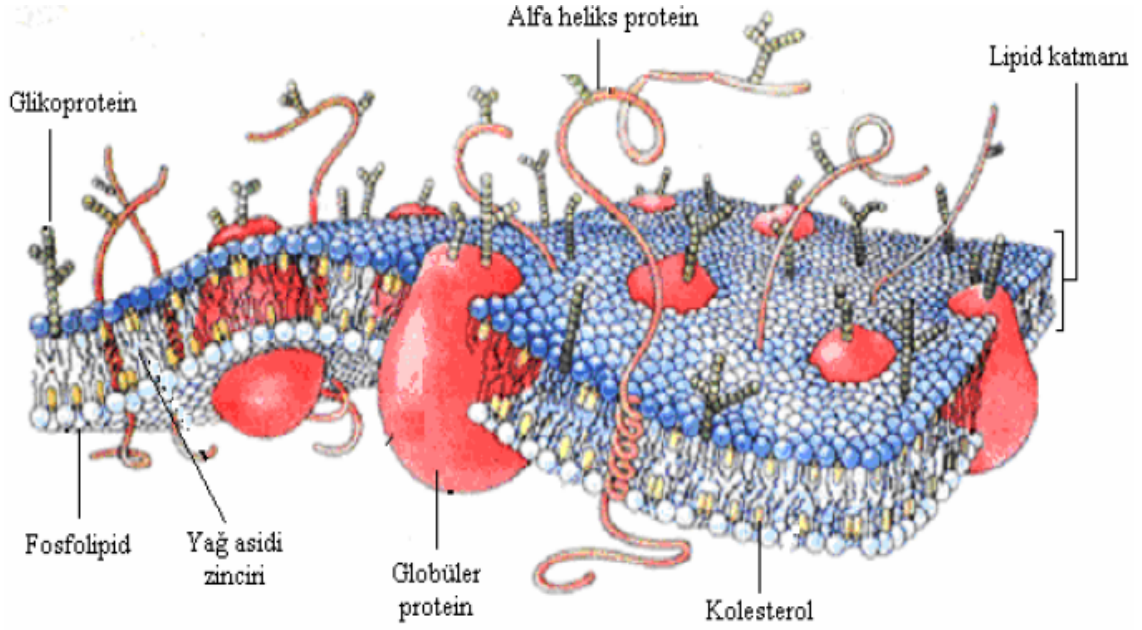
Alkol, pankreasta oksidatif ve non-oksidatif olarak metabolize edilir. Oksidatif olarak alkol dehidrogenaz (ADH) enzimi ile asetaldehite, non-oksidatif yol ile yağ asidi etil estere (FAEE) veya fosfotidil etanole metabolize edilir (31).

2.3. Eritrosit Membranı

2.3.1. Eritrosit Membranının Yapısı

Eritrosit membranı; protein, lipid ve karbonhidratlardan oluşmaktadır. Özellikle fosfolipid ve serbest kolesterolden oluşan lipidler membranın yaklaşık % 50' sini oluşturur (32). Fosfolipidler lipid katmanı içerisine asimetrik bir şekilde dağılmışlardır. Lipid katmanının dış kısmı sfingomyelin, glikolipid ve fosfatidilkolin içerirken, sitoplazmaya bakan iç kısmı ise fosfatidilinositol, fosfatidilserin ve fosfatidiletanolamin gibi lipidlerden oluşmaktadır. Hücre içi ve hücre dışı sıvılarla temas edecek şekilde çift tabakalı olarak dizilmiş olan bu lipid yapısı sayesinde hücre içeriği dış ortamdan korunabilmektedir. Kolesterol ise membranın esnekliğinin ve kararlılığının devam ettirilmesinde görev yapmaktadır (33). Eritrosit membranının yapısı şekil 2.5. te gösterilmektedir.

Bu lipid yapısı dışında eritrosit membranında 12 major ve yüzlerce minor protein mevcuttur. Proteinler membranın dış yüzeyine gevşek olarak yapışmış halde (periferik proteinler) ve lipid tabakanın içinde boylu boyunca gömülü (integral proteinler) haldedir. İntegral proteinler, özellikle eriyik haldeki maddelerin hücre içi ile dışı arasındaki iletimini sağlar. Bunlar içinde en önemlileri spektrin, aktin, ankirin, band-3, glikoforin-A ve glikoforin-B dir. Hücre membranı ayrıca içerden hücre iskeleti olarak adlandırılan ve proteinlerden oluşan ağ şeklinde bir yapı ile güçlendirilmiştir. Hücre iskelet proteinleri membran proteinlerinin % 50-60'lık kısmını oluşturmaktadır ve sodyum dodesil sülfat jel elektrofezi ile birbirinden ayırt edilebilirler (34).



Şekil 2.5. Eritrosit membranının yapısı

2.3.2 Eritrosit Membranının Fonksiyonları

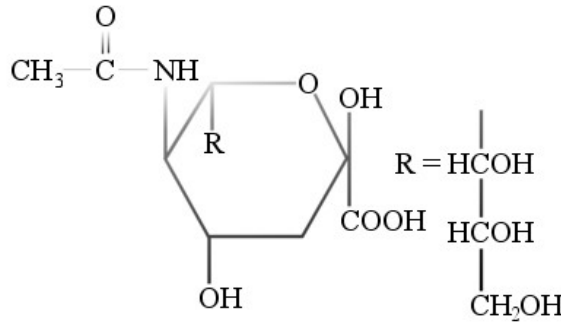
Eritrosit membranının kolay elde edilebilirliği, üzerinde en çok çalışma yapılan biyolojik membran olmasını sağlamıştır. Eritrosit membranının birçok görevi vardır. Klorür/bikarbonat değişimi sırasında pH'ın sabit düzeyde tutulması, organik fosfatlar ve indirgenler gibi yaşamsal önem taşıyan bileşiklerin korunması ve çeşitli metabolik atıkların organizma dışına atılması gibi birçok hayati önem taşıyan fonksiyonları yerine getirir (35). Eritrosit membranının dış yüzünün kaygan olması kırmızı kan hücrelerinin endotel hücrelerine yapışmasına engel olmaktadır (36).

Eritrosit membranı, hücreye esneklik ve dayanıklılık özelliği kazandırarak döngüsel stres esnasında hücrenin bütünlüğünün korunmasına olanak sağlar. Ayrıca hemoglobinin sentezi için hücre içine demir alınmasını sağlar (37). Eritrosit membranının ağırlıkça %10'unu karbonhidratlar oluşturur. Eritrosit membranında bulunan glikoprotein ve glikolipidlerin büyük bölümü ise siyalik asit (N-asetil nöraminik asit) olup tanınma, haberleşme ve adhezyon etkinliklerini düzenler. Bu görevlerin yanı sıra reseptör fonksiyonlarının düzenlenmesi, transport işlemleri, hücrenin büyümesi ve antijenik aktiviteyi kontrol etmek gibi yaşamsal görevler

yapar(38). Sialik asitler, eritrosit membranında glikoprotein ve glikolipidlerin uç kısımlarına bağlı olarak bulunurlar. Bu konumlarından dolayı sialik asitler, membran kararlılığının sürdürülmesinde önemli görevler yüklenirler (39). Sialik asitler kation değişimi, reseptör fonksiyonları, membran polaritesinin sürdürülmesi ve hücre içi etkileşimler gibi olaylarda rol alırlar (40).

2.4. Sialik Asit

Sialik asitler, nöraminik asitin N- ve O- açıl türevleri olup hem glikoproteinlerin hem gangliyozidlerin yapı taşlarıdır. Nöraminik asit, mannozamin ve pirüvattan türeyen dokuz karbonlu bir şekerdir (41). Sialik asitler yapısal olarak oldukça stabildir. Asit pH da ve yüksek ısıda kaynatılma ile yapısı bozulmaz. Ancak 1N HCl içinde 100 °C de 3 saat ısıtıldığında N-asetilnöraminik asidin yapısında bulunan azot atomlarının %25 inin amonyak şeklinde açığa çıktığı gösterilmiştir (45). N-asetil nöraminik asit her biri değişik bölgelerinden asetillenmiş SA ailesinin bir üyesidir. Bu bileşikler genellikle glikoprotein, glikolipid veya daha nadiren glikozaminoglikanların oligosakkarid yan zincirlerinin terminal karbonhidrat kalıntıları olarak bulunurlar (42). İnsan dokularında bulunan başlıca SA, N-asetilnöraminik asittir. (NeuAc) (41). 1936 yılında Blix adlı araştırmacı tarafından sığırtükrüğünden izole edilmiştir. Sialik asidin yapısı şekil 2.6 de gösterilmiştir.



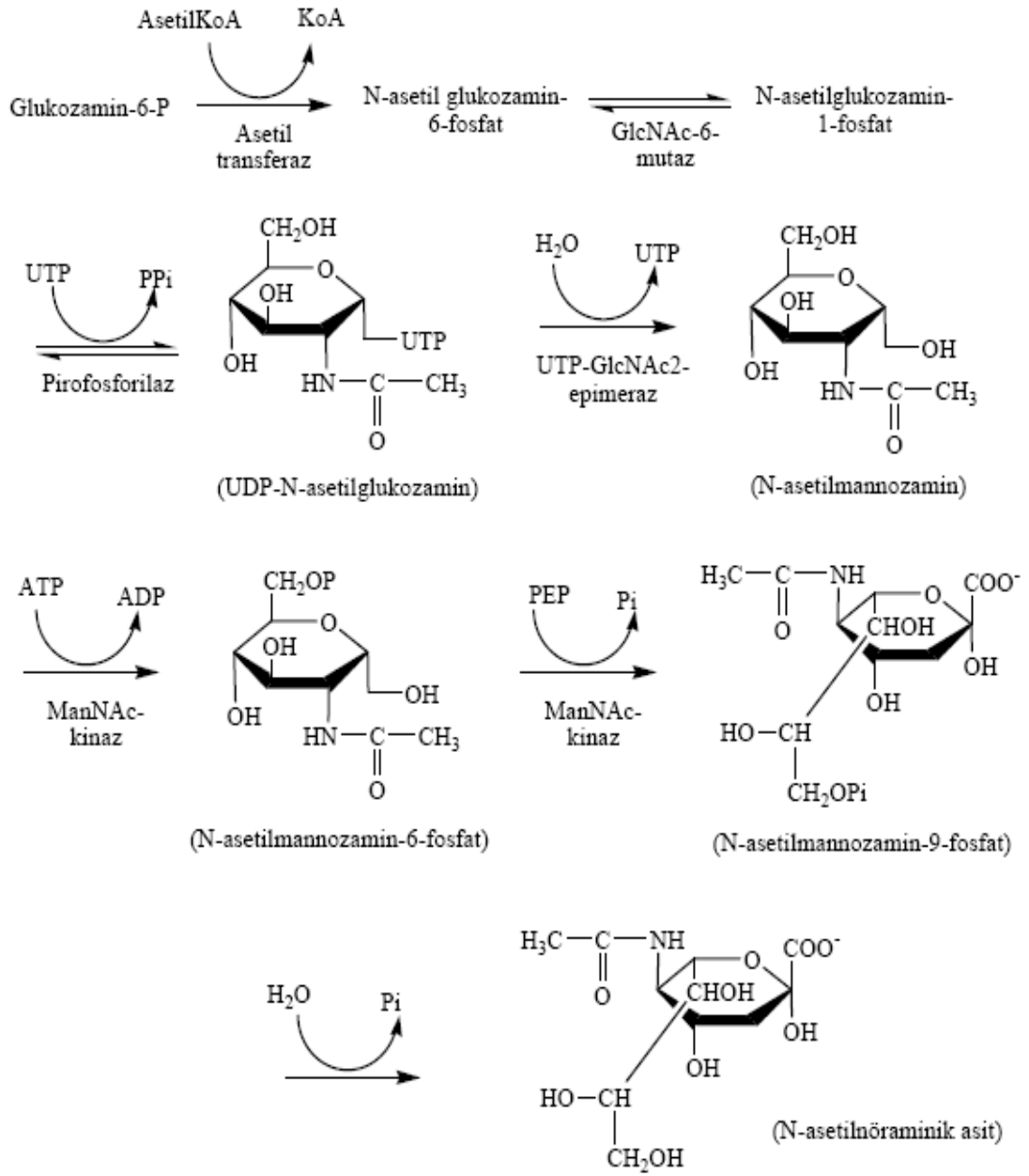
Şekil 2.6. Sialik asidin yapısı

Karbonhidratlar, karbonhidrat olmayan yapılarla glikozid bağıyla birleşerek kompleks karbonhidratları oluştururlar. Karbonhidrat olmayan kısma aglikon, tüm yapıya glikozid adı verilmektedir. Aglikon ile nöraminik asit, α (2→6) bağında N-glikozid bağı ile bağlanarak N-asetilnöraminik asiti oluşturur (41).

2.4.1. Siyalik Asit Metabolizması

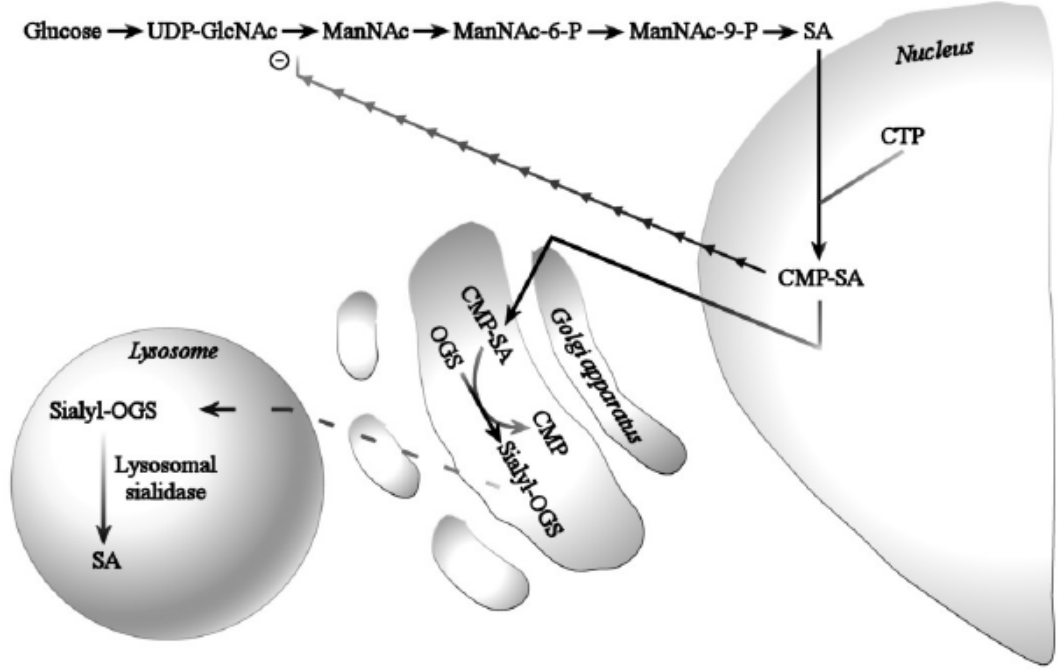
Amino şekerler, glikozaminoglikan, glikoprotein, glikolipid ve bazı oligosakkaritlerin önemli yapı taşlarıdır. Bağ dokusunda amino şeker sentez yolu çok aktiftir, öyle ki glukozun % 20'si bu yolda kullanılır. Fruktoz-6-fosfat monosakkaridi N-asetilglukozamin ve N-asetilnöraminik asitin ön maddesidir (42). Amino grubu vericisi olarak glutaminin kullanılmasıyla fruktoz-6-fosfattan glikozamin-6-fosfat oluşur. Bu reaksiyon fruktoz-6-P aminotransferaz enzimi tarafından katalizlenir (41). Amino şekerler genelde N-asetillenmiş biçimde bulunur. Asetil verici asetil-KoA'dır. SA'lerin sentezi sitozolde meydana gelir (Şekil 2.7.). Glikozamin-6-P üç basamaklı bir enzimatik reaksiyon sonucu UDP-N-asetil glikozamine çevrilir.

SA biyosentezi UDP-N-asetilglikozaminin epimerizasyonu ile devam eder. Oluşan N-asetilmannozamin, N-asetilmannozamin kinaz enzimi ile N-asetilmannozamin-6-fosfata çevrilir. Bu enzimatik reaksiyon basamaklarını katalizleyen UDP-N-asetilglikozamin epimeraz ve N-asetilmannozamin kinaz enzimlerine insanlarda ve kemirgenlerde rastlanmış ve karakterize edilmiştir. N-asetilmannozamin-6-fosfat, aldol kondensasyonu ile fosfoenol piruvat ile birleşir ve N-asetilnöraminik asit-9-fosfatı oluşturur. Bu üründen fosfatın ayrılmasıyla N-asetilnöraminik asit meydana gelir (43). N-asetilnöraminik asidin diğer tüm SA'lerin öncüsü olduğu bildirilmiştir (44).



Şekil 2.7. Sialik asidin sentezi

N-asetilnöraminik asit bir oligosakkaride eklenmeden önce sitozin trifosfat ile reaksiyona girerek aktif forma geçmelidir. Pirofosforilaz enzimi sitozin trifosfattan pirofosfatı uzaklaştırır ve kalan sitozin monofosfatı (CMP) SA'e bağlar. Bu aktivasyon reaksiyonları çekirdekte gerçekleşmektedir (42) (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. Sialik asitin çekirdek ve golgideki reaksiyonları

Glikoprotein sentezinde, CMP-SA kalıntılarının bir oligosakkarit zincirine eklenmesi golgide gerçekleşir. Bu eklenme olayından önce CMP-SA kompleksindeki SA kalıntıları siyalo-glikoproteinlere transfer edilir ve bu işlemi siyaliltransferaz enzimi katalizler (42).

SA biyosentezinde iki geri-bildirim inhibisyon mekanizması bilinmektedir. Bu mekanizmaların ilki UDP-N-asetilglikozaminin fruktoz-6-fosfatı glikozamin-6-fosfata dönüştüren aminotransferaz üzerine etkisidir. Diğeri ise UDP-N-asetilglikozamini N-asetilmannozamine epimerleştiren 2-epimeraz, CMP-SA tarafından inhibe edilir (43).

2.4.2.Doğada Bulunan Sialik Asitler

Genel olarak sialik asitler ; oligosakkaritlerin , homopolisakkaritlerin ve heteropolisakkaritlerin, glikolipidlerin , glikoproteinlerin fonksiyonel ve yapısal bir ünitesi olarak glikozidik bağ ile bağlı olarak doğada bulunurlar (45,46,47). Doğada bulunan sialik asitlerin bazıları tablo 2.2 de verilmiştir.

Tablo 2.2. Doğada bulunan siyalik asitler

Name	Abbreviation	R ⁴	R ⁵	R ⁷	R ⁸	R ⁹
<i>N</i> -acetylneuraminic acid	Neu5Ac	H	Acetyl	H	H	H
<i>N</i> -acetyl-4- <i>O</i> -acetylneuraminic acid	Neu4,5Ac ₂	Acetyl	Acetyl	H	H	H
<i>N</i> -acetyl-7- <i>O</i> -acetylneuraminic acid	Neu5,7Ac ₂	H	Acetyl	Acetyl	H	H
<i>N</i> -acetyl-8- <i>O</i> -acetylneuraminic acid	Neu5,8Ac ₂	H	Acetyl	H	Acetyl	H
<i>N</i> -acetyl-9- <i>O</i> -acetylneuraminic acid	Neu5,9Ac ₂	H	Acetyl	H	H	Acetyl
<i>N</i> -acetyl-4,9-di- <i>O</i> -acetylneuraminic acid	Neu4,5,9Ac ₃	Acetyl	Acetyl	H	H	Acetyl
<i>N</i> -acetyl-7,9-di- <i>O</i> -acetylneuraminic acid	Neu5,7,9Ac ₃	H	Acetyl	Acetyl	H	Acetyl
<i>N</i> -acetyl-8,9-di- <i>O</i> -acetylneuraminic acid	Neu5,8,9Ac ₃	H	Acetyl	H	Acetyl	Acetyl
<i>N</i> -acetyl-7,8,9-tri- <i>O</i> -acetylneuraminic acid	Neu5,7,8,9Ac ₄	H	Acetyl	Acetyl	Acetyl	Acetyl
<i>N</i> -acetyl-9- <i>O</i> -L-lactylneuraminic acid	Neu5Ac9Lt	H	Acetyl	H	H	L-Lactyl
<i>N</i> -acetyl-4- <i>O</i> -acetyl-9- <i>O</i> -lactylneuraminic acid	Neu4,5Ac ₂ 9Lt	Acetyl	Acetyl	H	H	Lactyl
<i>N</i> -acetyl-8- <i>O</i> -methylneuraminic acid	Neu5Ac8Me	H	Acetyl	H	Methyl	H
<i>N</i> -acetyl-8- <i>O</i> -sulphoneuraminic acid	Neu5Ac8S	H	Acetyl	H	Sulphate	H
<i>N</i> -acetyl-9- <i>O</i> -phosphoneuraminic acid	Neu5Ac9P	H	Acetyl	H	H	Phosphate
<i>N</i> -acetyl-2-deoxy-2,3-dehydroneuraminic acid	Neu5Ac2En	H	Acetyl	H	H	H
<i>N</i> -glycolylneuraminic acid	Neu5Gc	H	Glycolyl	H	H	H
<i>N</i> -glycolyl-4- <i>O</i> -acetylneuraminic acid	Neu4Ac5Gc	Acetyl	Glycolyl	H	H	H
<i>N</i> -glycolyl-7- <i>O</i> -acetylneuraminic acid	Neu7Ac5Gc	H	Glycolyl	Acetyl	H	H
<i>N</i> -glycolyl-9- <i>O</i> -acetylneuraminic acid	Neu9Ac5Gc	H	Glycolyl	H	H	Acetyl
<i>N</i> -glycolyl-7,9-di- <i>O</i> -acetylneuraminic acid	Neu7,9Ac ₂ Gc	H	Glycolyl	Acetyl	H	Acetyl
<i>N</i> -glycolyl-8,9-di- <i>O</i> -acetylneuraminic acid	Neu8,9Ac ₂ Gc	H	Glycolyl	H	Acetyl	Acetyl
<i>N</i> -glycolyl-7,8,9-tri- <i>O</i> -acetylneuraminic acid	Neu7,8,9Ac ₃ 5Gc	H	Glycolyl	Acetyl	Acetyl	Acetyl
<i>N</i> -glycolyl-8- <i>O</i> -methylneuraminic acid	Neu5Gc8Me	H	Glycolyl	H	Methyl	H
<i>N</i> -glycolyl-8- <i>O</i> -sulphoneuraminic acid	Neu5Gc8S	H	Glycolyl	H	Sulphate	H

Nöraminik asitin amino grubunda ya bir asetil, yada bir glikolil radikali bulunur (48). Vertebralıların çoğunda yaygın olarak bulunan siyalik asit formu N-glikolil nöraminik asittir (49,45). Oysa N-asetil ve N-glikolil nöraminik asitler memelilerin çoğunda birlikte bulunurlar. Bu iki türevin oranları buldukları türlere, dokulara ve sekresyonlara göre değişiklikler gösterirler (45).

İnsanda önceleri sadece N-asetilnöraminik asitin bulunduğu düşünülmekteydi. Ancak 1968 yılında N-glikolil nöraminik asitin, insan lenfosit hücrelerinde ve serumunda eser miktarda da olsa varlığının saptanmasından sonra bugün insan dokularında N-asetil nöraminik asit ve N-glikolil nöraminik asit olmak üzere en az iki tip siyalik asitin olduğu kabul edilmektedir (45).

Siyalik asit insan serumunda ve vücut sıvılarında serbest halde bulunmaz. Serumda % 85-90 oranında α ve β globülinlere bağlı haldedir. Bu formuna proteine bağlı siyalik asit (PSA) denir. Serumdaki siyalik asitin % 10-15'lik kısmı ise lipid moleküllerine bağlıdır ve lipide bağlı siyalik asit (LSA) adını alır. Proteine ve lipide

bağlı siyalik asit fraksiyonları total siyalik asidi oluştururlar (44,48,49,50).

Sağlıklı ve normal kişilerde serum siyalik asit düzeyleri değişiklik göstermez. Peptik ülser, romatizmal hastalıklar, hematolojik hastalıklar, enfeksiyonlar, Behçet hastalığı, diabetes mellitus gibi benign patolojilerde ve gebelik sırasında siyalik asit düzeylerinde artış görülür (47,51,52,53).

Ancak bu benign durumlardaki artış malign hastalıklardaki düzeyler kadar yüksek değildir. Hücre turnoverinin ve dejenerasyonunun fazla olduğu malign hastalıklarda özellikle LSA düzeyleri büyük artışlar gösterir (52). LSA değerlerindeki artışın yüksek olduğu maligniteler arasında akciğer, gastrointestinal sistem, jinekolojik ve hematolojik kanserler bulunur (47,52,54).

2.4.3. Siyalidaz (Nöraminidaz)

Nöraminidaz yada siyalidaz enzim; (E.C.3.2.1.18: açıl nöraminik glikohidrolaz) siyalokonjugatlardan siyalik asit kalıntılarının uzaklaştırılmasını katalizler. Nöraminidaz enzimi canlılarda yaygın olarak bulunan ve siyaloglikosakkaritlerin katabolizmasını düzenleyen önemli bir enzimdir. Siyalidazlar; glikoprotein, glikolipid, gangliosid ve polisakkaritlerin karbohidrat zinciri ucunda bulunan siyalik asitlerin glikozid bağı hidrolizini gerçekleştirirler (5). Siyalidazlar mikrobiyal ve mammalian siyalidazlar olarak 2'ye ayrılabilirler. Mammalian siyalidazların katalitik özelliklerine ve substrat spesifitelerine göre 4 tipi vardır. Bunlar ; lizozomal membran siyalidaz (LMS), sitozolik siyalidaz (CS), plazma membran siyalidaz (PMS), ve intralizozomal siyalidazdır. Lizozomal siyalidaz glikoprotein ve glikolipidlerin lizozomda desiyalizasyonunda katabolik rolü üstlenir. Sitozolik siyalidaz glikoproteinleri ve gangliozidlerin geniş alanda hidrolizinden sorumludur. Plazma membran siyalidaz ise hücre yüzeyinde lokalizedir ve gangliozidlerin desiyalizasyonundan sorumludur. İnalizozomal siyalidaz yalnızca sentetik ve oligosakkarit substratların hidrolizinden sorumludur ve gangliozidlerin desiyalizasyonunda fizyolojik role sahip değildir (57). Siyalidazların; virüs, protozoa, bakteri ve funguslardan insanlara kadar pek çok canlı sistemin yapısal fonksiyonlarında etkin rol oynadığı ve hücre yapısında yaygın bir dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Canlı sistemlerde siyalidaz aktivite düzeyindeki değişimler; enfeksiyonların, antijenlerin maskelenmesinin, bazı kanser

türlerinin, siyalidosis ve galatozidozis gibi bazı ölümcül hastalıkların göstergesi olabilmektedir (5). Kronik alkol tüketimi, diyabet, ve bazı hastalık durumlarında siyalidaz artışını gösteren çalışmalar vardır (6)

2.4.4. Siyalik Asidin Biyolojik Fonksiyonları

Hücre membranının önemli bileşenlerinden olan glikoprotein ve glikolipidlerin oligosakkarit zincirinin terminal sakkaridi siyalik asittir. Membranda bulunan bu yapılardaki siyalik asit hücrenin dış yüzeyinde negatif bir yük oluşturur. Bu negatif yük diğer hücreler için bir itici güç meydana getirerek agregasyonu önler. Bu itici güç ayrıca hücrelerin sertliğini sağlar (48,49).

Siyalik asitler glikoprotein yapıdaki folikül stimüle edici hormon, lüteinize edici hormon, insan karyonik gonadotropin, tiroidi stimüle edici hormon gibi hormonların yapısal ve fonksiyonel bütünlükleri için gereklidir. Bu glikoprotein hormonların yanısıra dolaşımda çeşitli amaçlar için bulunan glikolipid ve glikoproteinlerin dolaşımda kalma sürelerini yapılarındaki siyalik asit belirler. Desiyalize durumundaki protein ve lipidler karaciğer tarafından hızla dolaşımdan alınarak katabolize edilir (48).Yoğun alkol kullanımı dönemlerinde transferrin içindeki karbonhidrat içeriği (siyalik asit, galaktoz, N-asetilglukozamin) düşmektedir (55). Bu durum “carbohydrate deficient transferin (CDT)” olarak adlandırılmıştır. Eksikliğin kesin nedeni bilinmemektedir. Ancak alkol ve yıkım ürünlerinin, transferine karbonhidrat ekleyen (glikotransferaz) enzimlerin aktivitesini azalttığına ve karbonhidrat birikintilerini ortadan kaldıran enzimlerin (siyalidaz) aktivitelerini artırdığına inanılmaktadır (21,56).

Siyalik asit solunum, sindirim, ürogenital sistemler ve göz salgılarının viskozitesini artırır (49). Mide epitel hücreleri tarafından salgılanan müsin siyalik asitten zengindir. Müsin, mide parietal hücrelerinden salgılanan intrinsek faktörün hidrolizini engelleyerek korur (58).

Gebelik döneminde fötüsü anne antikorlarına karşı korumak amacıyla siyalik asit düzeylerinin arttığı bildirilmiştir (59). Hücre membranlarında bulunan antijenlerin maskelenmesiyle bu etki ortaya çıkmaktadır (45).

Hücre yüzeyinde bulunan siyalik asit yapılarının bakteriyel enzimlerle parçalanması proteolizisi kolaylaştırarak bakteriyel enfeksiyonun daha kolay

yayılmasını sağlar (49).

Yapılan çalışmalarda normal serum ve plazmadaki ortalama siyalik asit düzeyinin 2-3 mmol/L (600-900 mg/L) olduğu saptanmıştır (48). Ancak serumdaki siyalik asidin çoğu enzimler, hormonlar ve pıhtılaşma faktörleri gibi glikoproteinlere veya glikolipidlere bağlıdır. lipidlere bağlı siyalik asitin özellikle malignitelerin tanısında kullanılabileceğine dair çalışmalar vardır (48,60,61).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Gereç

Bu çalışmaya 29 Haziran 2006 gün ve 24 sayılı karar ile Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan yapılabilir bir çalışma olduğuna dair onay alınmıştır. Çalışma, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Endokrinoloji Polikliniğinde takip edilen yaşları 38-74 yaş arasında değişen tip 2 diyabeti olan 14 ü (14 erkek) alkol kullanan diyabetik, 42 si (25 kadın, 17 erkek) diyabetik hastalığı olan ancak alkol kullanmayan toplam 56 (25 kadın, 31 erkek) hasta üzerinde yapıldı. Hastalar alkol kullanım miktarı ve süresi, diyabet süresi, ailede diyabet varlığı, ilaç kullanımını açısından sorgulandı. Alkol alma kriteri en az 5-10 yıl haftada 3-4 kez günde 250 ml %40-50 lik alkollü içki (2-3 double rakı veya viski) olarak belirlendi. Kontrol grubu olarak diyabeti olmayan ve alkol kullanmayan 20 (4 kadın, 16 erkek) sağlıklı birey alındı. Tablo 3.1 de alkol kullanan ve alkol kullanmayan diyabet hastaların yaşları, diyabet süreleri ve BMI değerleri gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Gruplar arasındaki ortalama \pm standart hata (SH) değerleri

	Kontrol Grubu (n=20)	Tip 2 DM (n=42)	Alkol+Tip 2 DM (n=14)
Yaş (Yıl)	43,10 \pm 1,60	57,04 \pm 1,18	50,85 \pm 2,97
Diyabet Süresi(Yıl)	-	11,38 \pm 1,01	5,35 \pm 1,15
BMI (kg/m²)	25,82 \pm 0,69	28,75 \pm 0,81	29,02 \pm 1,09

Alkol kullanan diyabetik hasta grubundaki yaş ortalaması 50,85 \pm 2,97 yaş aralığı 38-73 idi. Alkol kullanmayan diyabetik grubun ise yaş ortalaması 57,04 \pm 1,17 yaş aralığı 40-73 idi. Sağlıklı kontrol grubunun yaş ortalaması 43,10 \pm 1,60 yaş aralığı 35-57 idi.

Alkol kullanan diyabetik gruptaki 8 hastanın diyabet süresi 5 yıldan az iken, 6 hastanın diyabet süresi 5 yıl ve üzerinde idi. Bu gruptaki hastaların 1 i sadece diyet

uygularken, 1 hasta tedavi kullanmıyor, 2 hasta insülin ve 10 hasta oral antidiyabetik ilaç kullanıyordu.

Diyabetik gruptaki 4 hastanın diyabet süresi 5 yıldan az iken, 38 hastanın diyabet süresi 5 yıl ve üzerinde idi. Bu gruptaki hastaların 17 si sadece insülin, 3 hasta insülin ve oral antidiyabetik, 22 hasta ise sadece oral antidiyabetik ilaç kullanıyordu.

Kan örnekleri 12 saatlik açlık periyodu sonrasında sabah saatlerinde alındı. Bu örneklerde glukoz, HbA1c, GGT ölçümleri yapıldı. Hastaların vücut kitle indeksi (VKİ) ağırlık (kg) / boy² (m) formülü ile hesaplandı. Hastalığa ait bilgiler düzenli takip dosyalarından edinildi.

Plazma TSA, LSA, siyalidaz aktivitesi çalışılmak üzere alınan kan örnekleri heparinli tüplere konuldu. 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve plazmaları ayrılarak -70 °C'de saklandı.

Eritrositler serum fizyolojik ile üç kez yıkanarak eritrosit süspansiyonu hazırlandı ve membran negatif yükü çalışılmak üzere -70 °C'de saklandı. TSA, LSA, siyalidaz aktivitesi ve eritrosit membran negatif yükü ölçümlerinde UV-1201 Shimadzu spektrofotometre (Shimadzu Corp., Japan) kullanıldı.

3.1.1. İstatistik

Verilerin istatistiksel analizi için SBSS 10.0 windows ve Sigma Stat programları kullanıldı. Normal dağılıma uygunluk gösteren verilere Tek Yönlü Varyans Analizi Tukey Testi uygulandı. Normal dağılıma uygunluk göstermeyen verilerde ise Tek Yönlü Varyans Analizi Dunn's metodu uygulandı. Her iki yöntemde de $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi. Verilerin grafiksel gösteriminde box-plot kullanıldı.

3.2. Yöntemler

3.2.1. Plazma TSA ve LSA Ölçümü

Plazma TSA ve LSA ölçümü resorsinolün siyalik asitle oluşturduğu rengin 580 nm de ölçülmesi prensibine dayanan Katopodis ve ark. (62,63) tanımladığı yöntemle göre ölçüldü. LSA ölçüm yöntemi için lipid ekstraksiyon işlemi uygulandı. 45µl plazma ve 150 µl su ağzı kapaklı tüplere konup, 10 saniye vortekslenildi ve hızla buza kondu. 3 ml soğuk (4°C) kloroform/metanol (2:1 v/v), 0,5 ml soğuk su eklenip 30 sn karıştırıldı ve oda ısısında 2500 rpm de 5 dk santrifüj edildi. Üst fazın 1 ml si başka bir kapaklı tüpe alındı üzerine 50 µl fosfotungstik asit solüsyonu (1 g/ml) eklenip vortekslenildi oda ısısında 5 dk bekletildi ve 2500 rpm de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatant , dekante edildi ve kalan pelletler 1 ml 37 °C suda tekrar çözüldü (1 dk vortekslenerek).

TSA değerlerinin ölçümü için 20 µl plazma ve 980 µl su kapaklı tüplere konuldu ve 1ml resorsinol reaktifi eklendi.(10 ml %2 stok resorsinol suda , 0,75 ml su, 0,25 ml 0,1 M CuSO₄ ve final hacim 100 ml HCl ile konsantre edilir). Tüpler kapatılıp vortekslenip 100 °C lik su banyosuna kondu. (15 dk). Daha sonra 10 dk buzda soğutulup 2 ml Bütilasetat / n-Butanol (85 / 15 v/v) reaksiyon karışımına eklendi. Tüpler vortekslenip 10 dk 2500 rpm de santrifüj edildi ve süpernatantın absorbansı 580 nm de spektrofotometrede ölçüldü.

Standart olarak NANA type VIII (Sigma katalog no: A9646) kullanılarak hesaplanan plazma TSA ve LSA değerleri mg/dl olarak ifade edildi.

3.2.2. Plazma Siyalidaz aktivitesinin belirlenmesi

Plazma siyalidaz aktivitesi substratı olan mucinden uygun ortam ve sıcaklıkta saldığı siyalik asidin 549 nm de absorbansının ölçülmesi prensibine dayanan Schauer ve ark. (64) metodunun minör modifikasyonu ile belirlendi. Numaralı tüplere 0,5 ml %1 mücin, 0,5 ml 0,1 M asetik asit, 0,1 ml plazma numunesi ve köre enzim yerine 0,1 ml su eklenip 30 dk 37 °C de inkübasyona bırakıldı. Her tübe belli aralıklarla 1 ml %5 lik fosfotungstik asit eklenip reaksiyon durduruldu ve 10 dk 2500 rpm de santrifüj edildi. Kapaklı tüplere 0,5 ml süpernatant, 0,1 ml 0,2 M sodyum metaperyodat eklenip oda sıcaklığında 20 dk bekletildi. 1 ml 0,755 M sodyum arsenit eklendi ve koyu renk kaybolana kadar vortekslendi. 3 ml % 0,6 tiyobarbutürik asit eklenip 15 dk boyunca kaynar su banyosunda bekletildi. 4,6 ml sikloheksan eklenip renk ortaya çıkana kadar vortekslendi. 15 dk 2500 rpm de santrifüj edilip renkli sikloheksan tabakası kaldırıldı ve 549 nm de spektrofotometrede absorbansları ölçüldü.

Standart olarak Neuraminidase type V (Sigma katalog no: N2876) enzim dilüsyonları kullanılarak hesaplanan plazma siyalidaz aktivitesi mU/ml olarak ifade edildi.

3.2.3. Eritrosit Membranı Negatif Yük Ölçümü

Eritrosit membranı negatif yükü Levin metodunun minör modifikasyonu ile (65) katyonik boya alcian blue 8 GX (Sigma katalog no: A 5268) kullanılarak ölçüldü (11). Heparinli venöz kandan plazma ayrıldı. Geriye kalan eritrositler serum fizyolojik ile 3 kez yıkandı. Daha sonra eritrosit süspansiyonu fosfat buffer saline içeren alcian blue ile final hacim 250 mg/l olacak şekilde resüspanse edildi. 30 dk 37 °C de inkübasyona kondu ve santrifüj edildi. Üstte kalan süpernatandaki alcian blue konsantrasyonu 650 nm de spektrofotometrede ölçüldü. Eritrosit membran negatif yükü 10^6 eritrositin bağladığı alcian blue nanogram olarak ifade edildi.

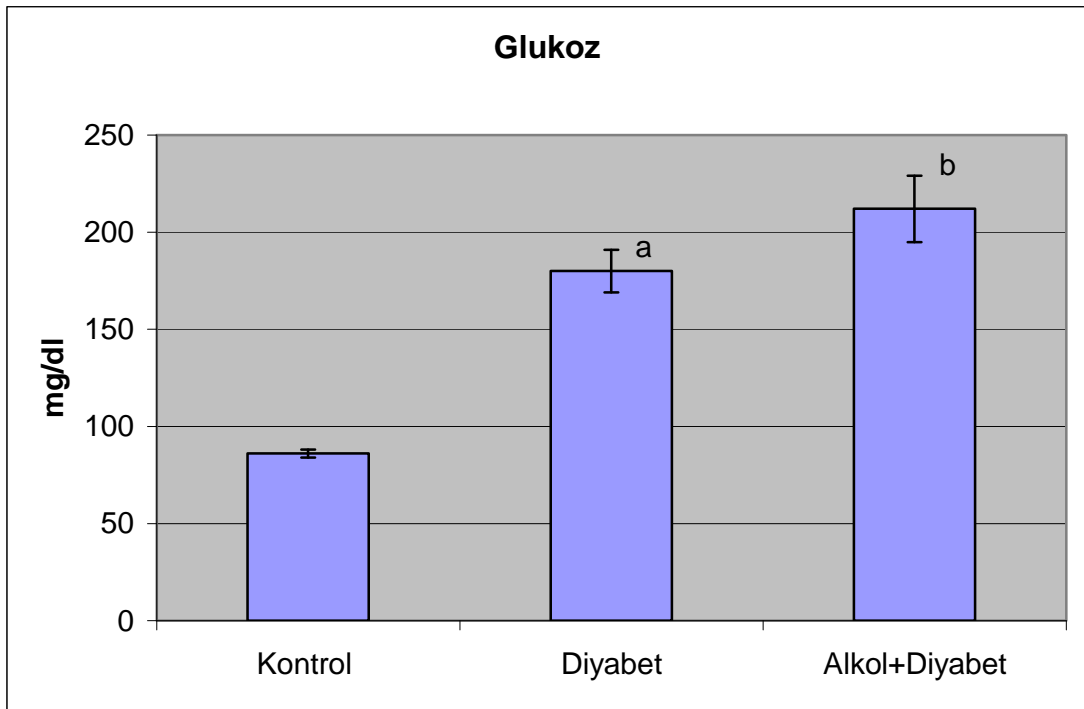
3.2.4. Glukoz, GGT ve HbA1c Ölçümü

Glukoz ve GGT ölçümü Roche Diagnostic Modular analizörde, HbA1c ölçümü Hithachi 911 otomatik analizör ile yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. Serum Glukoz Düzeyleri

Alkol kullanan diyabetik grup ($212,00 \pm 17,01$ mg/dl) ve alkol kullanmayan diyabetik grup serum glukoz düzeyleri ($180,78 \pm 11,29$ mg/dl), sağlıklı kontrol grubuna göre ($86,45 \pm 1,45$ mg/dl) anlamlı şekilde yüksek bulundu (sırasıyla $p < 0,05$, $p < 0,05$). Alkol kullanan diyabetik grup serum glukoz düzeyleri diyabetik gruba göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenemedi ($p > 0,05$).



Şekil 4.1. Serum glukoz düzeyleri

Tablo 4.1. Serum glukoz düzeyleri

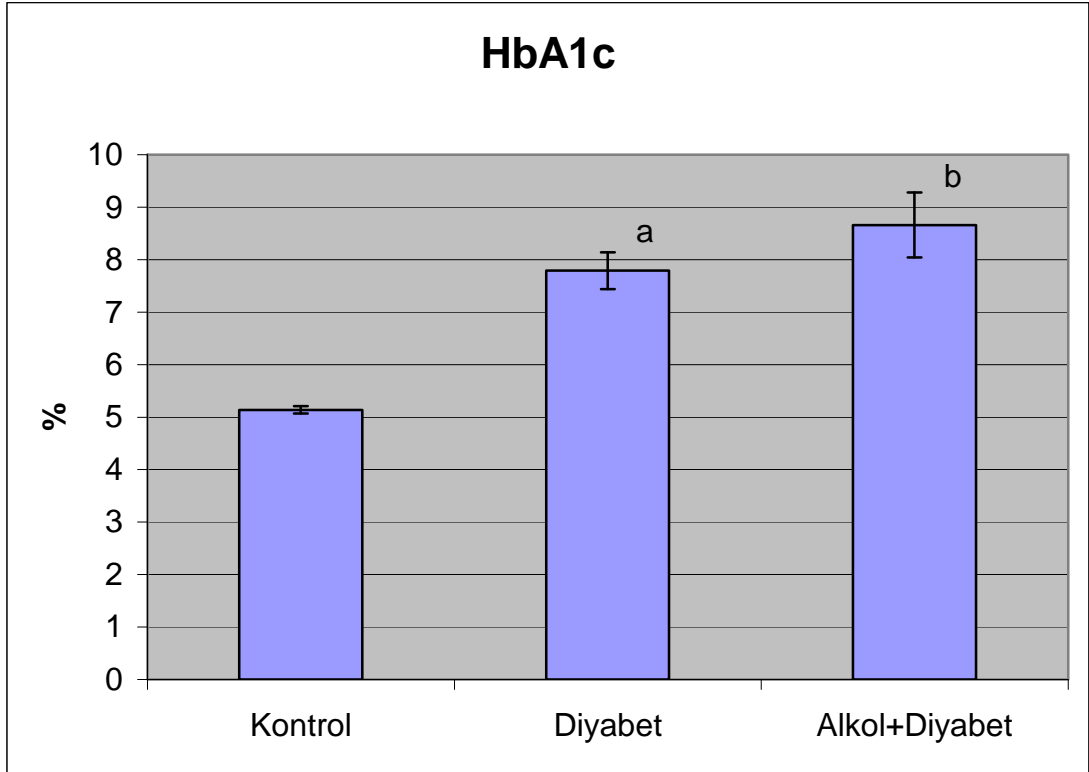
Gruplar	Kontrol (n=20)	Diyabet (n=42)	Alkol+Diyabet (n=14)
Ortalama ± SH	86,45 ± 1,45	180,78 ± 11,29 ^a	212,00 ± 17,01 ^b

a: Sağlıklı Kontrol grubuna göre fark $p < 0,05$

b: Sağlıklı Kontrol grubuna göre fark $p < 0,05$

4.2. HbA1c Düzeyleri

Alkol kullanan diyabetik grup ($8,66 \pm 0,62$) ve diyabetik grup HbA1c düzeyleri ($7,79 \pm 0,35$), sağlıklı kontrol grubuna göre ($5,14 \pm 0,07$) anlamlı şekilde yüksek bulundu (sırasıyla $p < 0,05$, $p < 0,05$). Alkol kullanan diyabetik grup HbA1c düzeyleri diyabetik gruba göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenemedi ($p > 0,05$).



Şekil 4.2. HbA1c düzeyleri

Tablo 4.2. HbA1c düzeyleri

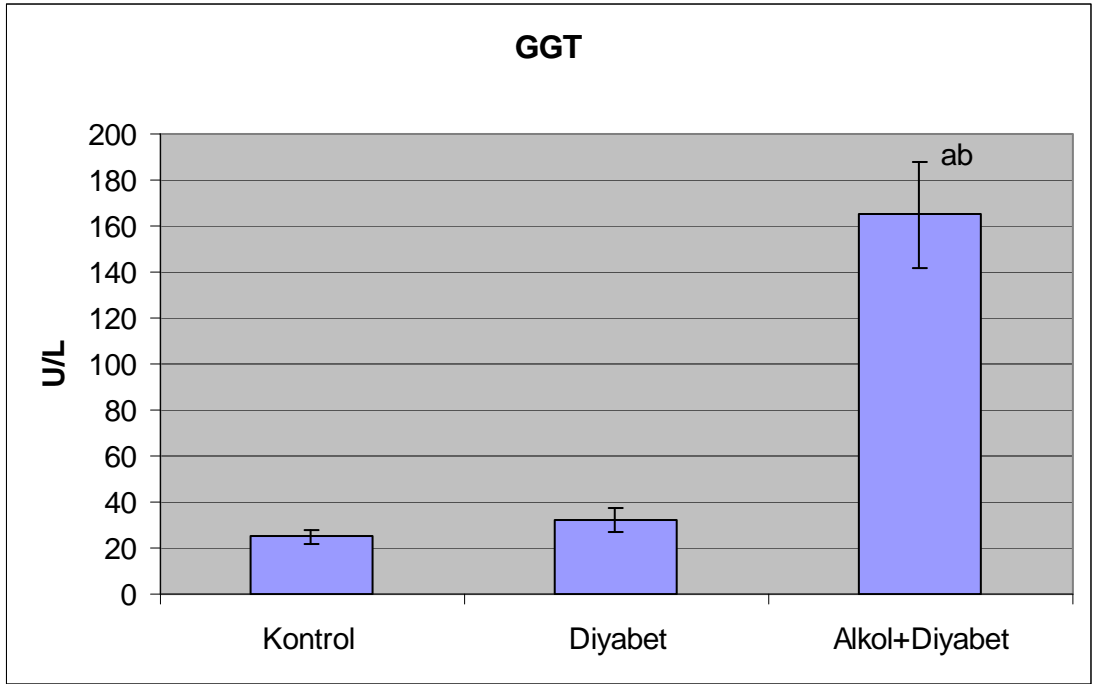
Gruplar	Kontrol (n=20)	Diyabet (n=42)	Alkol+Diyabet (n=14)
Ortalama ± SH	5,14±0,07	7,79±0,35 ^a	8,66±0,62 ^b

a: Sağlıklı Kontrol grubuna göre fark $p < 0,05$

b: Sağlıklı Kontrol grubuna göre fark $p < 0,05$

4.3. Serum GGT Aktiviteleri

Alkol kullanan diyabetik grup serum GGT aktiviteleri ($165,07 \pm 23,13$ U/L), sağlıklı kontrol grubuna göre ($25,35 \pm 3,02$ U/L) ve diyabetik gruba göre ($32,28 \pm 5,08$ U/L) anlamlı şekilde yüksek bulundu (sırasıyla $p < 0,05$, $p < 0,05$). Diyabetik grup serum GGT aktiviteleri sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenemedi ($p > 0,05$).



Şekil 4.3. Serum GGT aktiviteleri

Tablo 4.3. Serum GGT aktiviteleri

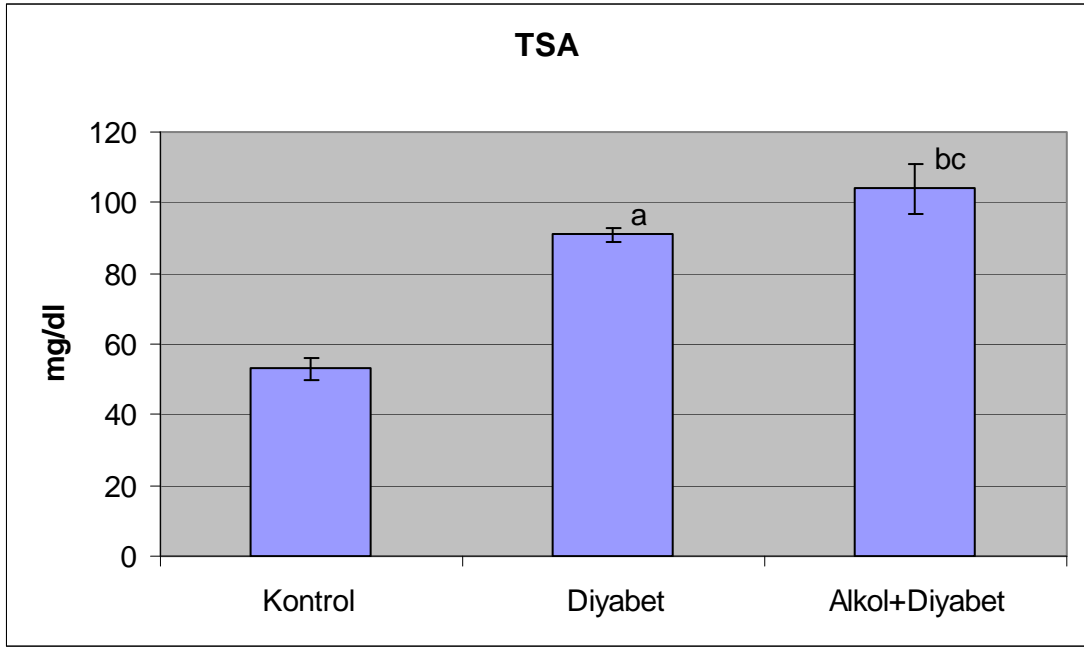
Gruplar	Kontrol (n=20)	Diyabet (n=42)	Alkol+Diyabet (n=14)
Ortalama ± SH	25,35 ± 3,02	32,28 ± 5,08	165,07 ± 23,13 ^{ab}

a: Sağlıklı Kontrol grubuna göre fark $p < 0,05$

b: Diyabetik gruba göre fark $p < 0,05$

4.4. Plazma TSA Düzeyleri

Alkol kullanan diyabetik grup plazma TSA düzeyleri ($103,90 \pm 2,26$ mg/dl), sağlıklı kontrol grubuna göre ($52,95 \pm 2,85$ mg/dl) ve diyabetik gruba göre ($91,39 \pm 2,01$ mg/dl) anlamlı şekilde yüksek bulundu (sırasıyla $p < 0.001$, $p < 0.01$). Diyabetik grup plazma TSA düzeyleri sağlıklı kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0.001$).



Şekil 4.4. Plazma TSA düzeyleri

Tablo 4.4. Plazma TSA düzeyleri

Gruplar	Kontrol (n=20)	Diyabet (n=42)	Alkol+Diyabet (n=14)
Ortalama ± SH	52,95±2,85	91,39±2,01 ^a	103,90±2,26 ^{bc}

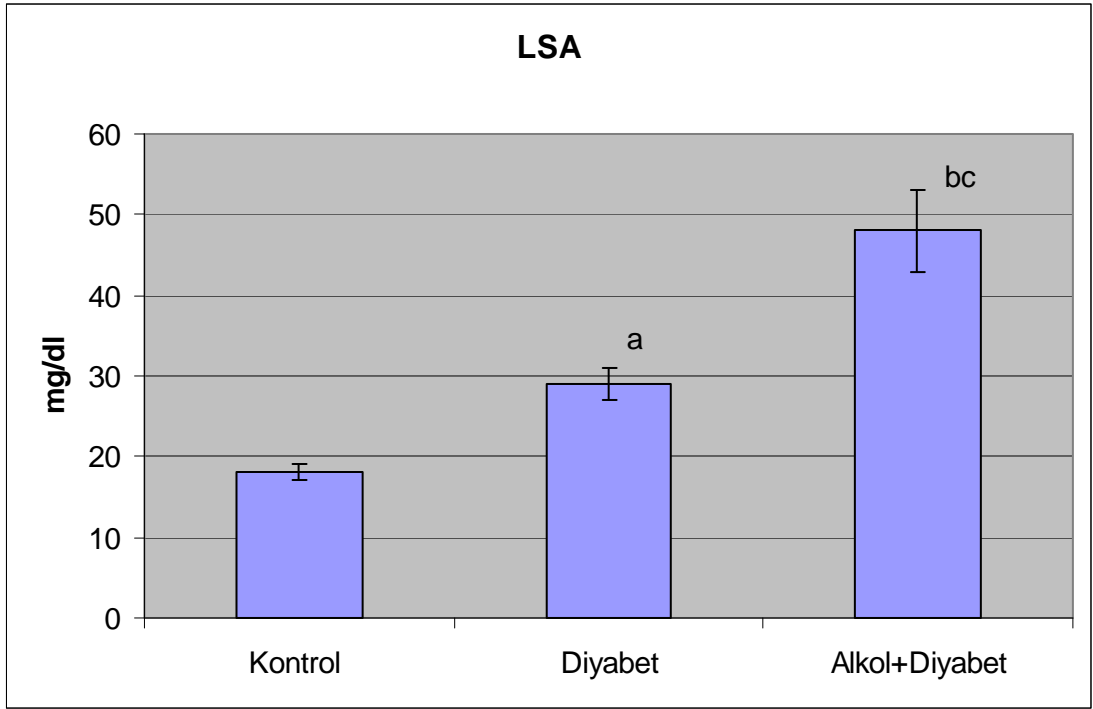
a: Sağlıklı Kontrol grubuna göre fark $p < 0.001$

b: Sağlıklı Kontrol grubuna göre fark $p < 0.001$

c: Diyabetik gruba göre fark $p < 0.01$

4.5. Plazma LSA Düzeyleri

Alkol kullanan diyabetik grup plazma LSA düzeyleri ($47,93 \pm 4,78$ mg/dl), sağlıklı kontrol grubuna göre ($17,98 \pm 1,01$ mg/dl) ve diyabetik gruba göre ($28,75 \pm 1,43$ mg/dl) anlamlı şekilde yüksek bulundu (sırasıyla $p < 0.05$, $p < 0.05$). Diyabetik grup plazma LSA düzeyleri sağlıklı kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p > 0.05$).



Şekil 4.5. Plazma LSA düzeyleri

Tablo 4.5. Plazma TSA düzeyleri

Gruplar	Kontrol (n=20)	Diyabet (n=42)	Alkol+Diyabet (n=14)
Ortalama \pm SH	$17,98 \pm 1,01$	$28,75 \pm 1,43^a$	$47,93 \pm 4,78^{bc}$

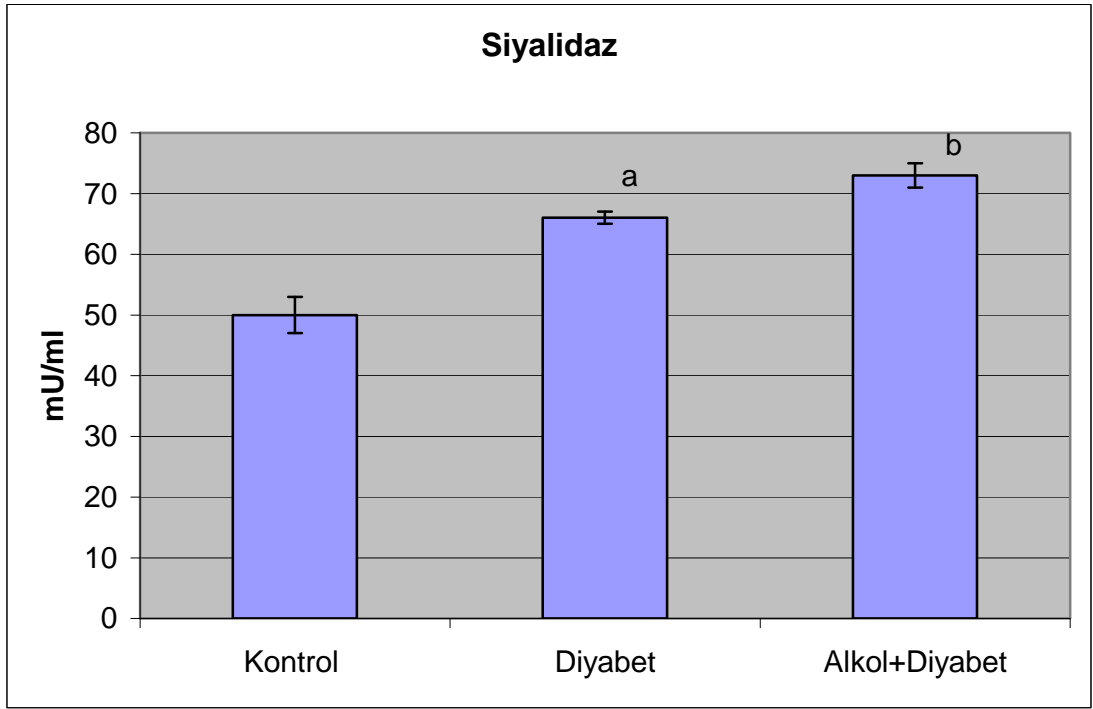
a: Sağlıklı Kontrol grubuna göre fark $p < 0.05$

b: Sağlıklı Kontrol grubuna göre fark $p < 0.05$

c: Diyabetik gruba göre fark $p < 0.05$

4.6. Plazma Siyalidaz Aktiviteleri

Alkol kullanan diyabetik ($72,84 \pm 2,27$ mU/ml) ve diyabetik grup ($66,07 \pm 1,02$ mU/ml) plazma siyalidaz aktiviteleri, sağlıklı kontrol grubuna göre ($50,11 \pm 3,26$ mU/ml) anlamlı şekilde yüksek bulundu (sırasıyla $p < 0,05$, $p < 0,05$). Alkol kullanan diyabetik grup plazma siyalidaz aktiviteleri diyabetik gruba göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenemedi ($p > 0,05$).



Şekil 4.6. Plazma siyalidaz aktiviteleri

Tablo 4.6. Plazma siyalidaz aktiviteleri

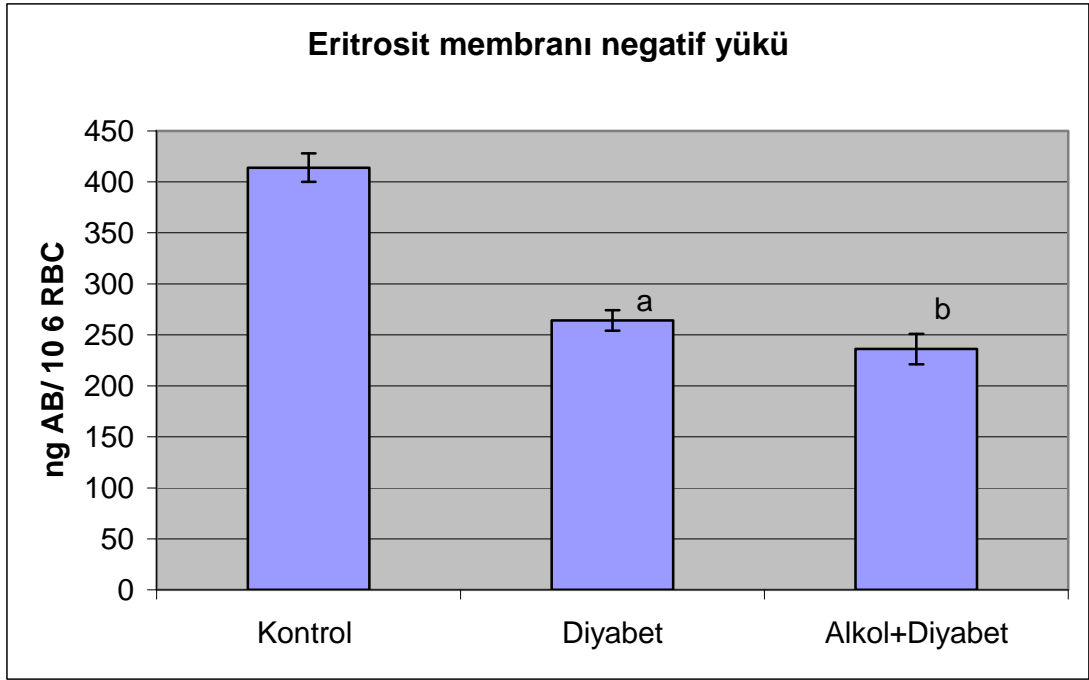
Gruplar	Kontrol (n=20)	Diyabet (n=42)	Alkol+Diyabet (n=14)
Ortalama ± SH	50,11 ± 3,26	66,07 ± 1,02 ^a	72,84 ± 2,27 ^b

a: Sağlıklı Kontrol grubuna göre fark $p < 0,05$

b: Sağlıklı Kontrol grubuna göre fark $p < 0,05$

4.7. Eritrosit Membranı Negatif Yük Düzeyleri

Alkol kullanan diyabetik ($236,93 \pm 15,57$ ng AB/ 10^6 RBC) ve diyabetik grup ($264,81 \pm 9,65$ ng AB/ 10^6 RBC) eritrosit membranı negatif yük düzeyleri, sağlıklı kontrol grubuna göre ($414,37 \pm 13,98$ ng AB/ 10^6 RBC) anlamlı şekilde düşük bulundu. (sırasıyla $p < 0.001$, $p < 0.001$). Alkol kullanan diyabetik eritrosit membranı negatif yük düzeyleri diyabetik gruba göre düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenemedi ($p > 0.05$).



Şekil 4.7. Eritrosit membranı negatif yük düzeyleri

Tablo 4.7. Eritrosit membranı negatif yük düzeyleri

Gruplar	Kontrol (n=20)	Diyabet (n=42)	Alkol+Diyabet (n=14)
Ortalama ± SH	414,37±13,98	264,81 ±9,65 ^a	236,93 ± 15,57 ^b

a: Sağlıklı Kontrol grubuna göre fark $p < 0.001$

b: Sağlıklı Kontrol grubuna göre fark $p < 0.001$

5.TARTIŞMA

Diabetes Mellitus (DM) karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarında bozuklukla karakterize kronik sistemik bir hastalıktır. Mikrovasküler ve metabolik değişikliklerle tüm vücutta çeşitli patolojilere neden olur. Bu metabolik değişiklikler insülin azlığı veya direncinden dolayı dokular üzerindeki yetersiz insülin etkisinden kaynaklanmaktadır. Bazı komplikasyonların önemi ve sıklığından dolayı diabete, metabolik anormallikler, mikrovasküler hastalık (retinopati ve nefropati), büyük damar hastalığı (erken ateroskleroz) ve nöropatiden (periferik ve otonomik) oluşan bir sendrom olarak bakılabilir (66,67).

Alkolün kronik olarak aşırı tüketimi metabolizma ve bir çok organda zararlı etkiler meydana getirir. Alkol kullanımının yaygın olduğu toplumlarda alkol suistimalinin değerlendirilmesi oldukça önemlidir ve bazı belirteçlerin (CDT-carbohydrate deficient transferin, GGT vb.) bu amaçla kullanılması gereklidir (105). GGT serum düzeyi halen önemli bir belirteç olarak kullanılmaktadır (104,106,107,108). GGT membrana bağlı glikoprotein yapıda bir enzim olup karaciğerde en yoğun olarak safra kanalikülleri ve periportal alandaki duktal epitelde bulunmaktadır (109). Nilssen ve arkadaşları (107) alkol alımı ile GGT arasında kuvvetli bir ilişki belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da alkol kullanan diyabetik hasta serum GGT düzeyleri, diyabetik ve kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda alkol alma kriterini en az 5-10 yıl haftada 3-4 kez her bir gün yaklaşık 250 ml %40-50 lik alkollü içki (2-3 double rakı veya viski) olarak belirledik. Bu günlük olarak yaklaşık 70-80 gr etanol tüketimine karşılık gelmektedir ki bu ağır içicilik sınıfına girmektedir (104,110,111). Çalışmamızda açlık kan glukoza, diyabetik hasta grubunda ve alkol kullanan diyabetik hasta grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksekti (sırasıyla $p<0.05$, $p<0.05$). Alkol kullanan diyabetik hastaların serum glukoz düzeyleri diyabetik gruba göre yüksek olmasına rağmen anlamlı derecede farklılık yoktu ($p>0.05$). Yine çalışmamızda HbA1c düzeyleri, diyabetik hasta grubunda ve alkol kullanan diyabetik hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksekti (sırasıyla $p<0.05$, $p<0.05$). Alkol kullanan diyabetik hasta HbA1c düzeyleri alkol kullanmayan diyabetik hasta grubuna göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Alkolün zararlı etkilerinin tersine bazı çalışmalar ılımlı alkol alımının DM dahil çoğu hastalık durumunda faydalı olduğunu ve tip 2 diyabetlilerde insülin sensitivitesini arttırdığını göstermiştir (69,70). Diyabet ve alkol kullanımı ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bir çalışmada ılımlı alkol tüketiminin tip 2 diyabet riskini azalttığı yine farklı bir çalışmada ise tip 2 diyabetik hastalarda akut alkol tüketiminin, insülin sekresyonunu değiştirmeksizin insülinin etkilerini düzelttiği gösterilmiştir (17,110). Paramahamsa ve ark.(68) yaptığı çalışmada diyabetik hastaların eritrosit membranı kolesterol/fosfolipid oranı kontrol grubuna göre %70 daha düşük bulmuşlardır. Fakat alkolik diyabetiklerde eritrosit membranı kolesterol/fosfolipid oranını ise kontrol grubuna göre %71 daha yüksek bulmuşlardır. Tanasescu ve ark.(71) tip 2 diyabetik erkeklerde orta derecede alkol tüketiminin daha düşük bir kardiyovasküler hastalık riski ile birlikteliğini bulmuşlardır.

Siyalik asit (SA), nöraminik asitten N-asetilizasyon yoluyla türeyen bir bileşik olup, canlıda biyolojik fonksiyonlarda önemli bir role sahiptir. Siyalik asit glikoprotein ve glikolipidlerin oligosakkarid zincirlerinin indirgenmemiş ucundaki terminal karbonhidrat kalıntısıdır. İnsan dokularında şu ana kadar en önemli olan formu ise N-asetilnöraminik asit (NANA) dır. Diğer siyalik asitler pek çok farklı komponentler içermektedirler. Siyalik asitler hücre membranlarında önemli görevleri olan glikoprotein ve glikolipidlerin oligosakkarit zincirlerinin son bölgelerindeki karbonhidrat zincirleridir. N-terminal pozisyonu üzerinde SA içeren bu oligosakkarit zincirler hücre yüzeyinde bulunur Böylelikle gliko birleşiklerinin konfigürasyonuna ve hücre yüzeyinde önemli rolleri vardır. Örneğin, hücre-hücre haberleşmesinde ve kendine ait olan ve olmayanın ayırımında tanıma görevi, membran proteolizinden kaçınmak ve hormonlar tarafından reseptör aktivasyonunun sağlanması için gerekli arabulucu olmak. SA fizyolojik pH'ta tamamen iyonlaşabilen ve pKa değeri 2.6 olan nispeten kuvvetli bir asit olup, bu özellik moleküle elektronegatif bir yük kazandırır. Bu negatif yük diğer hücreler için bir itici güç meydana getirerek agregasyonu önler (73). Siyalidaz enzimi ise glikoprotein, glikolipid, gangliosid ve polisakkaritlerin karbohidrat zinciri ucunda bulunan siyalik asitlerin glikozid bağı hidrolizini gerçekleştirir ve siyalik asit metabolizmasında önemli bir yere sahiptir (5). Siyalik asit insan serumunda ve vücut sıvılarında serbest halde bulunmaz. Serumda % 85-90 oranında α ve β globülinlere bağlı haldedir. Bu

formuna proteine bağlı siyalik asit (PSA) denir. Serumdaki siyalik asitin % 10-15'lik kısmı ise lipid moleküllerine bağlıdır ve lipide bağlı siyalik asit (LSA) adını alır. Proteine ve lipide bağlı siyalik asit fraksiyonları total siyalik asidi oluştururlar (44,48,49,50). Hücre turnoverinin ve dejenerasyonunun fazla olduğu malign hastalıklarda özellikle LSA düzeyleri büyük artışlar gösterir (52). LSA değerlerindeki artışın yüksek olduğu maligniteler arasında akciğer, gastrointestinal sistem, jinekolojik ve hematolojik kanserler bulunur (47,52,54).

Yapılan birçok çalışmada tip 2 diabetes mellituslu hastalarda serum siyalik asit düzeylerinin arttığı saptanmıştır. Sillanaukee ve ark (74) diabette, inflamatuvar durumlarda, tümörlerde ve kardiyovasküler hastalıklarda serum TSA ve LSA seviyelerinin yükseldiğini göstermişlerdir. Ekin ve ark (7) tip 2 diyabetik hastalardaki TSA ve LSA düzeylerinin normal kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Erdil ve ark.(18) diyabetik hastalardaki TSA düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğunu ve diyabetik retinopatili hastalardaki TSA düzeylerinin ise diyabetik ve kontrol grubuna göre ise daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Merat ve ark (6) diyabetik, diyabetik retinopatili ve diyabetik ve KVS hastalığı bulunanlarda siyalik asit ve nöraminidaz aktivitelerini kontrol grubuna göre daha yüksek bulmuştur. Venerando ve ark.(75) tip 2 diyabetli hastalarda kontrol grubuna göre eritrosit membranı asidik siyalidaz aktivitesinde artış, nötral siyalidaz aktivitesinde azalış ve asidik/nötral siyalidaz oranında anlamlı derecede artış tespit etmişlerdir.

Son zamanlarda yapılan çalışmalar alkoliklerde de serum siyalik asit konsantrasyonunun yükseldiğini göstermiştir (76,77,78,79). İdiz ve ark (4) alkol bağımlı bireylerde GGT ve serum siyalik asit seviyelerini kontrol grubuna göre daha yüksek bulmuşlardır. Ponnio ve ark. (80) serum ve tükürük siyalik asit seviyelerini alkoliklerde kontrol grubuna göre daha yüksek bulmuştur. Kanbak ve ark.(81) etanol verilen ratlarda siyalik asit ve malondialdehit (MDA) düzeylerini kontrol grubuna göre daha fazla yükseldiğini bulmuşlardır. Alkolün plazma membranlarındaki ve sitozoldeki siyalidaz aktivitesini arttırdığı da gösterilmiştir (21,82). Garige ve ark. (57) rat karaciğerinde kronik etanol tüketiminin sitozolik ve plazma membran siyalidaz genlerini upregule ettiğini göstermişlerdir. Bir çalışmada ise kronik etanol

alımının rat lökosit eritrosit ve beyin sinaptozomlarında gangliozid siyalidaz aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir (83).

Çalışmamızda tip 2 diyabetik olup alkol kullanmayan, tip 2 diyabetik olup alkol kullanan hastalarda ve kontrol grubu olarak seçtiğimiz alkol kullanmayan ve diyabetik olmayan kişilerde plazma total siyalik asit, plazma lipid bağlı siyalik asit, plazma siyalidaz aktivitesi ve eritrosit membranı negatif yükünü ölçtük. Çalışmamızda plazma TSA düzeyleri, diyabetik hasta grubunda ve alkol kullanan diyabetik hasta grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksekti (sırasıyla $p<0.001$, $p<0.001$). Aynı zamanda alkol kullanan diyabetik hastaların plazma TSA düzeyleri alkol kullanmayan diyabetik hastalara göre önemli derecede yükselmişti ($p<0.01$). Plazma LSA düzeyleri, alkol kullanan diyabetik hastalarda ve alkol kullanmayan diyabetik hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksekti (sırasıyla $p<0.05$, $p<0.05$). Alkol kullanan diyabetik hastaların plazma LSA düzeyleri alkol kullanmayan diyabetik hastalara göre önemli derecede yükselmişti ($p<0.05$). Çalışmamızda alkol kullanan diyabetik hastalardaki ve alkol kullanmayan diyabetik hastalardaki plazma siyalidaz aktiviteleri, sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksekti (sırasıyla $p<0.05$, $p<0.05$). Alkol kullanan diyabetik grup plazma siyalidaz aktiviteleri ise diyabetik gruba göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).

Önceki çalışmalarda diyabetteki siyalik asit yüksekliğinin diyabetik hastalarda birçok akut faz reaktanının artmış olması ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir. Çoğu akut faz reaktanı siyalik asit içermektedir. Serumdaki siyalik asidin önemli bir bölümü fibrinojen, haptogloblin, $\alpha 1$ antitripsin, seruloplazmin, transferrin gibi glikoprotein yapıda olan akut faz reaktanlarının terminal oligosakkarit zincirlerinden türemiştir (86,87,88,89). Diyabetteki TSA artışına başka bir neden olarak da, diyabetlilerde siyalik asidin ön maddesi olan fruktoz-6-fosfatın artışı gösterilmiştir (18). Bir çalışma ise dolaşımdaki siyalik asit artışını diyabette oluşan vasküler endotelial hasar sonucu plateletlerin vasküler endotelyuma adheransının artması ile platelet plazma membranındaki siyalize glikoproteinlerin yapısındaki siyalik asidin dolaşıma dökülmesine bağlamıştır ve artan siyalik asit seviyelerinin yükselmesinin esas sebebinin vasküler hasarın patofizyolojisinin sonucu olduğunu öne sürmüştür (85). Nayak ve ark.(84) çalışmalarında diyabetteki

siyalik asit seviyelerinin yükselmesini, aşırı mikrovasküler hasarlı tip 2 diyabetlilerde, vasküler hasar sonucu yüksek konsantrasyonda siyalik asit taşıyan vasküler endotelyaldan dolaşıma siyalik asit karışmasına bağlamışlardır. Benzer şekilde bir çalışmada da vasküler hücrelerdeki siyalik asit içeren glikoproteinlerdeki kaybın sonucunda olabileceği belirtilmiştir (90). Diyabetteki serum siyalik asit seviyelerinin yükselmesinde ileri sürülen bir diğer neden, diyabetik hastalardaki eritrosit membran anormallikleri sonucunda membrandan siyalik asit salınmasıdır (91). Venerando ve ark.(75) göre diyabetteki siyalik asidin artması eritrosit siyalidazının 2 formu (asidik ve nötral) arasındaki oranın değişmesine bağlıdır. Bu oran eritrositin yaşam süresi açısından önemlidir ve eritrosit ömrünün diyabetiklerde sağlıklı kontrollere göre farklı olmasının bir sebebi olabileceği ileri sürülmüştür. Diyabetik durum eritrosit membranındaki siyalik asit-siyalidaz sistemindeki fonksiyonel değişiklikleri indükler. Diyabette oluşan membran bozuklukları sonucu değişen enzim aktivitesi, eritrosit yüzeyindeki siyalik asit içeriğini azaltır. Bu da eritrositlerin yaşam süresindeki kısalma ile ilişkilidir ki bu siyalidazın eritrosit yaşlanma proseslerindeki önemini ortaya koyar. Bizim sonuçlarımız diyabette TSA, LSA ve siyalidaz aktivitesinin artışı gösteren çalışmalarla uyumludur.

Alkol kullanan bireylerde serum TSA seviyelerinin artışı önceki çalışmalarda, sitozol ve plazma membranlarındaki siyalidaz aktivitelerinin artmasına ve etanolün indüklemesiyle golgi ve sinaptozomlardaki siyaliltransferazların aktivitesinin azalmasına bağlanmıştır (92,93,94). Siyaliltransferaz ve glikoziltransferazlar golgi aparatında glikolipid ve glikoproteinlerin karbonhidrat grupları üzerinde bulunan indirgenmemiş terminal pozisyonlara siyalik asit transferini katalize ederler (95). Azalmış siyalizasyon alkol tüketiminin karakteristik özelliklerinden birtanesidir ve bu carbonhydrate deficiency transferrin (CDT), siyalik asit deficient gangliozidler ve serbest siyalik asit oluşumuna yol açar. Bizim bulduğumuz plazma TSA yüksekliği önceki çalışmalarla uyumludur. Çalışmamızdaki alkol kullanan diyabetik hastalardaki plazma siyalidaz aktivitelerinin kontrol grubuna yüksek bulunması da bu öneriyi desteklemektedir. Alkol tüketiminde siyalidaz aktivitesinin artmasını daha önceki bir çalışmada post-transkripsiyonel olayların modülasyonunun veya transkripsiyon oranlarındaki değişikliklerin sonucu mRNA seviyelerindeki değişimlere bağlanmıştır. Yine aynı

çalışmada kronik etanol kullanımından sonra serbest siyalik asit ve asiyalokonjugatların artışı plazma membranındaki siyalidaz aktivitesinin artışına ve bu artışı da enzimin relatif biyosentez oranının artmasına bağlamıştır. Siyalidazların fonksiyonel önemi, alkolün indüklediği up-regülasyonun alkoliklerde CDT ve diğer asiyalokonjugatların yaygın olarak görülmesi ve bunun kişinin klinik durumunu yansıtabilmesidir (57).

Çalışmamız diyabetik hastalardaki eritrositlerin alcian blue bağlamasının sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede düştüğünü göstermiştir ve bu bulgumuz daha önceki çalışmalarla uyumludur (96,97,98). Çalışmamızda alkol kullanan diyabet hastalarındaki eritrosit membranı negatif yükü alkol kullanmayan diyabet hastalarından düşük bulunmuştur fakat istatistiksel anlamlılık bulunmamıştır. Alcian blue asidik glikoproteinlere bağlanan amfoterik kompleks bir moleküldür ve hücre yüzeyindeki anyonik moleküllerin büyük bir kısmını yansıtır. Alcian blue'nun bağlanması hücre yüzeyindeki negatif yükün miktarını gösterir ve bağlanan alcian blue miktarıyla doğru orantılıdır. Bir çalışmada, diyabetteki eritrosit yükünün kaybının en olası yansıması, glomerüler polianyonların kaybına eşlik eden yüksek molekül ağırlıklı plazma proteinlerinin glomerüllerden atılımının artması olabileceği bildirilmiştir (96). Estivi ve ark.(99) mikroalbuminürik hastalarda albumin atılım oranı ile eritrosit negatif yükü arasında negatif korelasyon bulmuşlardır ve diyabetik nefropatinin erken evrelerinde elektriksel yüklerin rolü olabileceğini göstermişlerdir. Yavuz ve ark.(97) serum siyalik asit seviyeleri ile eritrosit membranı negatif yükü arasında negatif korelasyon, albuminüri arasında ise pozitif korelasyon bildirmişlerdir. Bir çalışma eritrosit membranındaki negatif yük azalmasının, hücre membranlarındaki siyalik asit içeriğindeki düşmeye bağlı olabileceğini belirtmiştir (100).

Çalışma bulgularımız, diyabetik hastalardaki aşırı alkol tüketiminin, membran yapısında alkol kullanmayan diyabetik hastalara göre daha fazla hasar oluşturabileceğini göstermektedir. Membran yapısındaki bozulma, membran fonksiyonlarında etkileyebilir. Alkol kullanan diyabetiklerin membran hasarında gözlenen bu artış aynı zamanda nefropati, retinopati ve nöropati gibi diyabetik komplikasyonların gelişimini kolaylaştırabilir ve bu komplikasyonların oluşma süresini kısaltabilir.

6. SONUÇ

Diyabet insülin hormon sekresyonunun ve/veya insülin etkisinin mutlak yada göreceli azlığı sonucu karbonhidrat protein ve yağ metabolizmasında bozukluklara yol açan kronik hiperglisemik bir grup metabolizma hastalığıdır.

Alkol tüketimi yüzyıllar boyunca insanların ilgi odağı ve sorunu olmuştur. Kişilerin gelirlerinin ve refah düzeylerinin artması alkole ulaşmayı kolaylaştırmakta diğer yandan üzüntüler ve stress de alkol kullanımını arttırmaktadır. Bu sebepler daha sonra yüksek doz alkol alımını ve alkol bağımlılığını ortaya çıkarmaktadır. Bunun sonucunda alkole bağlı karaciğer, pankreas ve gastrointestinal traktüs hastalıkları gelişmektedir.

Bu çalışma tip 2 diyabeti olup alkol kullanan ve tip 2 diyabeti olup alkol kullanmayan toplam 56 hasta üzerinde yapıldı. Alkol kullanımının diyabet hastalarındaki membran yapı ve fonksiyonları üzerine etkileri incelendi. Bu amaçla plazma total siyalik asit (TSA), plazma lipid bağlı siyalik asit (LSA), plazma siyalidaz aktivitesi ve eritrosit membranı negatif yükünü ölçüldü. Alkol kullanan diyabet hastalarında plazma TSA,LSA ve siyalidaz aktiviteleri alkol kullanmayan diyabet ve kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu. Eritrosit membranı negatif yükü ise alkol kullanan ve kullanmayan diyabet hastalarında kontrol grubuna göre düşük bulundu. Alkol kullananlar ve kullanmayanlar arasında anlamlı derecede farklılık yoktu.

Sonuç olarak bulgularımız diyabetik hastalarda alkol kullanımının, membran yapı ve fonksiyonlarını olumsuz etkilediği ve diyabette, membranlarda oluşan hasarı arttırdığı yönündedir. Bu konuda daha ileri çalışmaların faydalı olabileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Nayak SB, Bhaktha G. Relationship between Sialic acid and metabolic variables in Indian type 2 diabetic patients. *Lipids Health Dis.* 2005;4:15.
2. Lindberg G, Iso H, Rastam L, Lundblad A. Serum sialic acid and its correlates in community samples from Akita, Japan, and Minneapolis, USA. *Int Epidemiol* 1997;26:58–63.
3. Romppanen J. Serum Sialic Acid in Clinical Diagnostics. *Kuopio Univ Med sci.* 2003;309:16-17.
4. Idiz N, Guvendik G, Bosgelmez İİ, Soylemezoglu T, Dogan YB, Ilhan I. Serum sialic acid and g-glutamyltransferase levels in alcohol-dependent individuals. *For Sci Int* 2004;146:67–70.
5. Kayalı HA, Tarhan L. Siyalidaz aktivite ölçüm yöntemlerinin değerlendirilmesi Birinci ulusal glikobiyoloji kongresi kongre kitabı 2003:s.78.
6. Merat A, Arabsolghar R, Zamani J, Roozitalab M.H. Serum Levels of Sialic Acid and Neuraminidase Activity in Cardiovascular, Diabetic and Diabetic Retinopathy Patients, *Int Journal Med Sci* 2003;28:123-126.
7. Ekin S, Meral İ, Gündüz H, Mert N. Comparative Study of Total Protein, and Total and Lipid-Associated Serum Sialic Acid Levels in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus. *J Clin Lab Anal* 2003;17:124–126.
8. Sillanaukee P, Pönniö M, Seppä K. Sialic acid: new potential marker of alcohol abuse. *Alcohol Clin Exp Res* 1999; 23: 1039-1043.
9. Pönniö M, Alho H, Heinälä P, Nikkari ST, Sillanaukee P. Serum and saliva levels of sialic acid are elevated in alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res* 1999; 23: 1060-1064.
10. Yenigün M, Altuntaş Y. Her yönüyle Diabetes Mellitus. İstanbul: Nobel tıp kitabevi;2001.s.124-129.
11. Altuntaş Y. Diabetes mellitus'un tanımı, tanısı ve sınıflaması. İn: Yenigün M, Altuntaş Y, editörler. Her yönüyle diabetes mellitus. 2inci baskı. İstanbul: Nobel tıp kitabevi;2001.s.51- 62.
12. Bennett PH, Krowler WC. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and glucose homeostasis. İn: Kahn CR, Weir GC, King GL, Jacobson

- AM, Moses AC, Smith RJ, editors. Joslin's diabetes mellitus.14th ed. Boston: Lippincott Williams&Wilkins;2005.p.331-340.
13. Powers AC. Diabetes Mellitus. İn: Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL, editors. Harrison's principles of internal medicine. 16th ed. USA: McGraw Hill; 2005.p.2152- 2180.
 14. Satman İ. Diabetes mellitus'un epidemiyolojisi. İn: Yenigün M, Altuntaş Y, editörler. Her yönüyle diabetes mellitus. 2inci baskı. İstanbul: Nobel tıp kitabevi; 2001.p.69- 84.
 15. Warram JH, Krolewski WC. Epidemiology of diabetes mellitus. İn: Kahn CR, Weir GC, King GL, Jacobson AM, Moses AC, Smith RJ, editors. Joslin's diabetes mellitus. 14th ed. Boston: Lippincott Williams&Wilkins;2005.p.341-354.
 16. Shaw J, Zimmet P. Epidemiology of type 2 diabetes.an increasing problem, also in dialysis units. İn: Mogensen CE editor. Diabetic nephropathy in type 2 diabetes. London: Science Pres;2002.p.21-30.
 17. Avogaro A., Watanebe MR., Arche DA. Acute Alcohol Consumption Improves Insulin Action Without Affecting Insulin Secretion in Type 2 Diabetic Subjects. Diabetes Care 2004;27:1369–1374.
 18. Erdil A, Tüzün A, Yöner A, Erbil MK. İnsüline Bağımlı Olmayan Diabetli Hastalarda serum Siyalik Asit Düzeyleri Ve Retinopatiyle İlişkisi. T Clin J Med Sci 2001;21:349-354.
 19. Loew M, Boeing H, Stürmer T. Relation among alcohol dehydrogenase 2 polymorphism, alcohol consumption, and levels of gamma-glutamyltransferase. Alcohol 2003; 29: 131-135.
 20. İlder T, Tekin F. Alkol Metabolizması.Güncel Gastroenteroloji dergisi 2005;9:58-62.
 21. Xin Y, Lasker JM, Lieber CS. Serum carbohydrate-deficient transferrin: mechanism of increase after chronic alcohol intake. Hepatology 1995; 22: 1462-1468.
 22. Hale EA, Raza SK, Ciecierski RG, Ghosh P. Deleterious actions of chronic ethanol treatment on the glycosylation of rat brain clusterin. Brain Res 1998; 785: 158-166.

23. Dolar E. Klinik Karaciğer Hastalıkları. Nobel ve Güneş Tıp Kitabevi;2002.s.133-136.
24. Montgomery R. Biochemistry A case-oriented Approach 6th edition: Mosby-Year book;1996.p.203-204.
25. You M., Crabb DW. Recent advances in alcoholic liver disease II. Minireview: molecular mechanisms of alcoholic fatty liver. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.2004; 287(1):1-6.
26. Janssen YMW, Houten BV, Borm PJA, Mossman BT. Biology of disease, cell and tissue responses to oxidative damage. Lab. Invest 1993; 69: 261-274.
27. Hoerner M, Behrens UJ, Worner T, Lieber CS. Humoral immune response to acetaldehyde adducts in alcoholic patients. Res Commun Chem Pathol Pharmacol. 1986; 54(1):3-12.
28. Tuma DJ. Role of malondialdehyde-acetaldehyde adducts in liver injury. Free Radic Biol Med 2002; 32(4):303-308.
29. Albano E. Free radical mechanisms in immune reactions associated with alcoholic liver disease. Free Radic Biol Med 2002;32(2):110-114.
30. Lumeng L, Crabb DW. Genetic aspects and risk factors in alcoholism and alcoholic liver disease. Gastroenterology 1994;107(2):572-578.
31. Werner J, Saghir M, Fernandez D, Castillo C, Warshaw AL, Laposata M. Linkage of oxidative and nonoxidative ethanol metabolism in the pancreas and toxicity of nonoxidative ethanol metabolites for pancreatic acinar cells. Surgery. 2001;129(6):736-744.
32. Yenerel MN. Hereditör eritrosit membran anomalileri. Türkiye Klinikleri Hematoloji; 2004.s.125-130.
33. Sadava DE. Cell Biology. Organelle structure and function. Jones and Bartlett Publishers, London;1993.p.698-701.
34. Discher E, Carl P. New insights into red cell network structure, elasticity, and spectrin unfolding a current review. Cell Mol Biol Lett 2001;6(3):593-606.
35. Patrick G, Gallagher MD. Update on the clinical spectrum and genetics of red blood cell membrane disorders. Curr Hematol Rep. 2004;3:85-91.

36. Sikorski AF, Lorenz BH, Jezierski A, Dluzewski AR. Interaction of membrane skeletal proteins with membrane lipid domain. *Acta Biochim Pol.* 2000;47(3):565-78.
37. Yalın S, Aksoy K. Red cell membrane protein abnormalities of a family with hereditary spherocytosis in Adana. *T Klin J Med Sci* 1997; 28:295-297.
38. Malgorzata M, Erenciska Z, Erenciska M. Role of sialic acid in synaptosomal transport of amino acid transmitters. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1987;84:1709-1712.
39. Brinkman CM, Sjoberg ER, Juneja LR, Crocker PR, Varki N, Varki A. Loss of N-glycolylneuraminic acid in human evolution. *The J Bio Chem* 2000;275(12):8633-8640.
40. Stibler H, Sydow O. The sialic acid and galactose concentrations in erythrocyte membranes in patients with myotonic dystrophy, limb-girdle and facioscapulohumeral dystrophy. *J Neurol Sci* 1983; 59(3):389-399.
41. Murray RK, Granner DK, Mayers RA, Rodwell VW. Fizyolojik öneme sahip lipidler. Dikmen N, Özgünen T. Harper'ın Biyokimyası, 24.baskı İstanbul: Barış Kitabevi;1994.s.111-118.
42. Champe PC, Harvey RA. Glikozaminoglikanlar. A. Tokullugil M.İrican, E. Ulukaya. Lippincott's illustrated reviews serisinden: Biyokimya. 2.baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi;1994.s.147-156.
43. Schwarzkopf M, Knobloch KP, Rohde E, Hinderlich S, Wiechens N, Lucka L, Horak I, Reutter W, Horstkorte R. Sialylation is essential for early development in mice. *Proc Natl Acad Sci.* 2002;99(8):5267-5270.
44. Schauer R. Chemistry, metabolism and biological functions of sialic acids. *Adv Carbohydr Chem Biochem* 1982;40:131-134.
45. Teshima S, Tamai K, Hayashi Y, Emi S. New enzymatic determination of sialic acid in serum. *Clin.Chem.* 1988;34(11):2291-2294.
46. Levinsky H, Gaffer U, Levi J, Allauf D. Neuraminidase Like Activity in Sera of Uremic Anemic Patients, *Nephron* 1984; 37:35-38.
47. Kinsella VA, Berns GJ, Kennedy RA. Modified Thiobarbituric Acid for the Determination of N-Acetyl Neurominic Acid. *Biochem. Sac. Trans.* 1991; 19(1):56-63.

48. Warren L. Sialic Acid in Human Semen and in the Male Genital Tract, *J. elin. Invest.* 1959;38:755-761.
49. Sayek I, Abbasoğlu O. Peptik Ülser, Sayek, İ. Temel Cerrahi, Güneş Kitabevi, Ankara:1991.s.689-704.
50. Simşek B, Gürman I, Ethem U. Serum Lipid-bound Sialic Acid Levels in Maling Disaese of Childhood, *Biyokimya Dergisi* 1993;2:43-57.
51. Shamberg RJ. Evaluation of Water Soluble Sialic Acid Levels as Tumor Markers. *Anti Cancer Res.*1986;6:717-20.
52. Özben T. Elevated Serum and Urin Sialic Acid Levels in Renal didaese.*Ann. Clin. Biochem.*1991;28: 44-48.
53. Coombes RC, Powles TC, Gazet JC. A biochemical approach to the staging of human breast cancer. *Cancer* 1977;40: 937-944.
54. Mayes PA. Carbohydrates. Harper's Review of Biochemistry, California:1981.p.141-150.
55. Stibler H, Borg S. Carbohydrate composition of serum transferrin in alcoholic patients. *Alcohol Clin Exp Res*1986; 10: 61-64.
56. Ghosh P, Okoh C, Liu QH, Lakshman MR. Effects of chronic ethanol on enzymes regulating sialylation and desialylation of transferin in rats. *Alcohol Clin Exp Res* 1993; 17: 576-579.
57. Garige M, Azuine MA, Lakshman MR. Chronic ethanol consumption upregulates the cytosolic and plasma membrane sialidase genes, but down regulates lysosomal membrane sialidase gene in rat liver. *Metabolism.* 2006;55(6):803-810.
58. Water RJ, Lewry E, Pennok EA. Measurement of Sialic Acid in Serum and Urine, Clinical Aplication and Limitations. *Ann. Clin. Biochem.*1992;29(6):625-637.
59. Mc Ilvein H, Bachelard HS. *Biochemistry and the Central nervous System* 4 Ed. Chuchill Livigstone;1971.p.448-557.
60. Nishimura R, Endo Y, Tanabe K, The Biochemical Properties of Urinary Human Chorionic Gonadotrophin from the Patients with Throphoblastic Disease. *J. Endocrinol. Inves.* 1981;4 :349-358.

61. Gavella M, Vaskrenija L, Crnek S. Total and ganglioside-bound sialic acid of lymphocytes from NIDDM patients. *Acta Diabetol Lat.* 1990;27:357-364.
62. Katopodis N, Hirshaut Y, Geller NL et al. Lipid-associated sialic acid test for the detection of human cancer. *Cancer Res.* 1982;42: 5270–5275.
63. Katopodis N, Stock CC. Improved method to determine lipid-bound sialic acid in plasma or serum. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol.* 1980;30: 171–180.
64. Jung K, Pergande M, Klotzek S. Sialidase from different sources compared for electrophoretically separating serum alkaline phosphatase fractions from liver and bone. *Clin Chem.* 1989;35(9):1955-1957.
65. Gambaro G, Baggio B, Cicerello E, Mastrosimone S, Marzaro G, Borsatti A, Crepaldi G. Abnormal erythrocyte charge in diabetes mellitus. Link with microalbuminuria. *Diabetes* 1988;37:745-748.
66. Myers AR. Endokrin ve Metabolik Hastalıklar. NMS İç Hastalıkları, 3. Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi ;1998.s.449-492.
67. Robins C. Endokrin Sistem Hastalıkları. Temel Patoloji. 3. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi ;1995.s.643-680.
68. Paramahansa M, Aparna S, Varadacharyulu N. Alcohol-induced alternations in blood and erythrocyte membrane in diabetics. *Alcohol Alcohol.* 2002 ;37(1):49-51.
69. van de Wiel A. Alcohol and insulin sensitivity. *Neth J Med.* 1998;52(3):91-94.
70. Eagles JC, Martin U. Non-pharmacological modification of cardiac risk factors part 3 Smoking cessation and alcohol consumption. *J Clin Pharm Ther.* 1998;23(1):1-9.
71. Tanasescu M, Hu FB, Willett WC, Stampfer MJ, Rimm EB. Alcohol Consumption and Risk of Coronary Heart Disease Among Men With Type 2 Diabetes Mellitus. *J Am Coll Cardiol.* 2001;38(7):1836-1842.
72. Kanbak G, Akyüz F, İnal M. Preventive effect of betaine on ethanol-induced membrane lipid composition and membrane ATPases *Arc Toxicol* 2001;75:59-61.
73. Uslu E, Belce E, Seymen P, Kökoğlu E. Kolorektal kanserde metastazın serum total siyalik asit düzeyleri üzerine etkisi. *Cerrahpaşa J Med .* 2000;31: 231-234.

74. Sillanaukee P, Ponnio M, Jaaskelainen IP. Occurrence of sialic acids in healthy humans and different disorders. *Eur J Clin Invest.* 1999 ;29(5):413-425.
75. Venerando B, Fiorilli A, Croci G, Tringali C, Goi G, Mazzanti L, Curatola G, Segalini G, Massacesi L, Lombardo A, Tettamanti G. Acidic and neutral sialidase in the erythrocytes of patients with type 2 diabetes: an answer to comments by Richard et al. *Blood.* 2003 1;101(5):2071.
76. Sillanaukee P, Ponnio M, Seppa K. Sialic acid: new potential marker of alcohol abuse. *Alcohol Clin Exp Res.* 1999;23(6):1039-1043.
77. Romppanen J, Punnonen K, Anttila P, Jakobsson T, Blake J, Niemela O. Serum sialic acid as a marker of alcohol consumption: effect of liver disease and heavy drinking. *Alcohol Clin Exp Res.* 2002 ;26(8):1234-1238.
78. Cylwik B, Chrostek L, Szmitekowski M. Sialic acid as a new marker of excessive alcohol consumption. *Pol Merkuriusz Lek.* 2004;16(96):581-584.
79. Ponnio M, Sillanaukee P, Franck J. Serum sialic acid levels are increased during relapse to alcohol drinking: a pilot study. *Alcohol Clin Exp Res.* 2002;26(9):1365-1367.
80. Ponnio M, Alho H, Heinala P, Nikkari ST, Sillanaukee P. Serum and saliva levels of sialic acid are elevated in alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res.* 1999;23(6):1060-1064.
81. Kanbak G, Özdemir F, Çalışkan F, Şahin F, İnal M. Betaine prevents loss of sialic acid residues and peroxidative injury of erythrocyte membrane in ethanol-given rats. *Cell Biochem Funct* 2007;25:103–108.
82. Hale EA, Raza SK, Ciecierski RG, Ghosh P. Deleterious actions of chronic ethanol treatment on the glycosylation of rat brain clusterin. *Brain Res* 1998;785:158-166.
83. Marmillot P, Rao MN, Liu QH, Lakshman MR. Chronic ethanol increases ganglioside sialidase activity in rat leukocytes, erythrocytes, and brain synaptosomes. *Alcohol Clin Exp Res.* 1999 ;23(2):376-380.
84. Nayak BS, Roberts L. Relationship between inflammatory markers, metabolic and anthropometric variables in the Caribbean type 2 diabetic patients with and without microvascular complications. *J Inflamm* 2006;22:3-17.

85. Abdella N, Akanji AO, Mojiminiyi OA, Al Assoussi A, Moussa M. Relation of serum total sialic acid concentrations with diabetic complications and cardiovascular risk factors in Kuwaiti Type2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract.* 2000;50(1):65-72.
86. McMillan DE. Increased levels of acute-phase serum proteins in diabetes. *Metabolism.* 1989;38(11):1042-1046.
87. Lindberg G, Eklund GA, Gullberg B, Rastam L. Serum Sialic Acid Concentration and Cardiovascular Mortality. *Br Med J* 1991; 302:143-146.
88. Crooke MA, Tutt P, Pickup JC. Elevated Serum Sialic Acid Concentration in NIDDM and Its Relationship to Blood Pressure and Retinopathy. *Diabetes Care* 1993;16:57-60.
89. Kario K, Matsuo T. Relation Between Sialic Acid Concentrations and the Haemostatic System in the Elderly. *Br Med J* 1993; 306:1650-1651.
90. Crook MA, Earle K, Morocutti A, Yip J, Viberti G, Pickup JC. Serum sialic acid, a risk factor for cardiovascular disease, is increased in IDDM patients with microalbuminuria and clinical proteinuria. *Diabetes Care* 1994;17:305–310.
91. Izumida Y, Seiyama A, Maeda N: Erythrocyte aggregation bridging by macromolecules and electrostatic repulsion by sialic acid. *Biochem et Biophys Acta* 1991;1067: 221-226.
92. Guasch R, Renau-Piqueras J, Guerri C. Chronic ethanol consumption induces accumulation of proteins in the liver Golgi apparatus and decreases galactosyltransferase activity. *Alcohol Clin Exp Res.* 1992;16(5):942-948.
93. Malagolini N, Dall'Olio F, Serafini-Cessi F, Cessi C. Effect of acute and chronic ethanol administration on rat liver alpha 2,6-sialyltransferase activity responsible for sialylation of serum transferrin. *Alcohol Clin Exp Res.* 1989;13(5):649-653.
94. Stibler H, Borg S. Glycoprotein glycosyltransferase activities in serum in alcohol-abusing patients and healthy controls. *Scand J Clin Lab Invest.* 1991;51(1):43-51.
95. Sjoberg ER, Kitagawa H, Glushka J, van Halbeek H, Paulson JC. Molecular cloning of a developmentally regulated N-acetylgalactosamine alpha2,6-sialyltransferase specific for sialylated glycoconjugates. *J Biol Chem.* 1996 ;271(13):7450-7459.

96. Bernard A, Amor AO, Goemare-Vanneste J, Antoine JL, Lauweys I, Vandeleene B, Lambert A: Urinary proteins and red blood cell membrane negative charges in diabetes mellitus. *Clin Chim Acta* 1990;190:249-262.
97. Yavuz D, Ersöz Ö, Küçükaya B, Budak Y, Ahiskali R, Ekicioğlu G, Emerk K, Akalın S: The effect of losartan and captopril on glomerular basement membrane anionic charge in a diabetic rat model. *J Hyper* 1999;17:1217-1223.
98. Budak Y, Demirci H, Akdogan M, Yavuz D. Erythrocyte membrane anionic charge in type 2 diabetic patients with retinopathy. *BMC Ophthalmol.*2004;8:4-14
99. Estivi P, Cavallo-Perin P, Pagano G. Electrical anionic charges on red blood cells are reduced in insulin-dependent diabetic patients. *J Diabet Complications.* 1989;3(1):45-48.
100. Ramjee G, Adhikari M, Coovadia HM, Randeree IG. Anionic charge abnormalities of red blood cells and proteinuria in glomerulonephritides. *J Trop Pediatr.*1997;43(4):204-207.
101. Mirsal H, Kalyoncu ÖA, Pektaş Ö. Alkol kullanımının biyokimyasal belirleyicileri ve klinik uygulamaları. *Bağımlılık Dergisi* 2002; 3(3): 165-172.
102. Anton RF, Lieber C, Tabakoff B. Carbohydrate-deficient transferrin and gamma-glutamyltransferase for the detection and monitoring of alcohol use: results from a multisite study. *Alcohol Clin Exp Res* 2002;26:1215–1222.
103. Conigrave KM, Davies P, Haber P, Whitfield JB. Traditional markers of excessive alcohol use. *Addiction* 2003;98:31–43.
104. Hietala J, Puukka K, Koivisto H, Anttila P, Niemelä O. Serum gammaglutamyl transferase in alcoholics, moderate drinkers and abstainers: effect on GT reference intervals at population level. *Alcohol Alcohol* 2005;40:511–514.
105. Montalto NJ, Bean P. Use of contemporary biomarkers in the detection of chronic alcohol use. *Med Sci Monit.*2003;9(12):285-290.
106. Daepfen JB, Anex F, Leutwyler J, Secretan F, Gammeter R, Besson J, Darioli R, Chossis I. Role of high normal gamma-glutamyltransferase level in identifying heavy alcohol use in young men. *Alcohol* 2004;32(2):157-161.

107. Matsuka Y, Wang DH, Sukanuma N, Imai K, Ikeda S, Taketa K, Kira S. Differential responses of serum gamma-glutamyltransferase to alcohol intake in Japanese males. *Acta Med Okayama*. 2003;57(4):171-178.
108. Nilssen O, Forde OH. Seven-year longitudinal population study of change in gammaglutamyltransferase: the Tromso Study. *Am J Epidemiol*. 1994;139(8):787-792.
109. Stolz A, Kaplowitz N. Biochemical tests for liver disease. In Zakim D, Boyer T (eds): *Hepatology: A Textbook of Liver Disease*. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders Co;1990.p.637-667.
110. Koppes LL, Dekker JM, Hendriks HF, Bouter LM, Heine RJ. Moderate alcohol consumption lowers the risk of type 2 diabetes: a meta-analysis of prospective observational studies. *Diabetes Care*. 2005;28(3):719-725.
111. Büyükbaş S, İnal A. İlmli Alkol Alan Erkeklerde Laktat Dehidrogenaz İzoenzim Değişiklikleri. *Van Tıp Dergisi* 2006;13 (3):85-89.