

**T.C.**  
**ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**  
**ENDOKRİNOLOJİ BİLİM DALI**

**FİSETİN VE ALFA LİPOİK ASİDİN AĞRILI DİYABETİK NÖROPATİ ÜZERİNE**  
**ETKİLERİNİN İNCELENMESİ: FARE MODELİNDE İN VİVO DAVRANIŞSAL**  
**ÇALIŞMA**

**YAN DAL UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Elif KILIÇ KAN**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. Ramis ÇOLAK**

**SAMSUN - 2013**

## TEŐEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sürecinde benden yardım ve desteklerini esirgemeyen ve engin deneyimlerinden faydalandığım sayın hocalarım Prof. Dr. Ramis Çolak, Prof.Dr. Hulusi Atmaca ve Doç. Dr. Ayşegül Atmaca'ya, tezimin hazırlanması esnasında yardım ve desteklerini esirgemeyen Karadeniz Teknik Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Ahmet AYAR ve araştırma görevlileri Dr. Ayşegül Kurt, Dr. Öznur Gedikli'ye, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalında birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum çalışma arkadaşlarıma, desteğini esirgemeyen sevgili eşim Emrah Kan'a, bana sonsuz emekleri geçen çok kıymetli anneme ve babama teşekkürlerimi sunarım.

<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>Sayfa No</b>
Tablo ve Şekil Listesi	V
Kısaltmalar	VI
Özet	VIII
Abstract	IX
1- GİRİŞ ve AMAÇ	1
2-GENEL BİLGİLER	3
2.1 Diabetes Mellitus	3
2.1.1 Tanım	3
2.1.2 Epidemiyoloji	3
2.1.3 Tanı	3
2.1.4 Sınıflama	5
2.1.4.1 Tip 1 Diabetes Mellitus	8
2.1.4.2 Tip 2 Diabetes Mellitus	11
2.1.5 Diyabetes Mellitusun Komplikasyonları	11
2.2 Diyabetik Nöropati	12
2.2.1 Tanım	12
2.2.2 Diyabetik Nöropati Etiyopatogenezi	12
2.2.2.1 Metabolik Faktörler	13
2.2.2.1.1 Artmış Glikolizasyon Son Ürünleri	13
2.2.2.1.2 Sorbitol	13
2.2.2.1.3 Heksozamin	14
2.2.2.1.4 Protein kinaz C	14
2.2.2.1.5 Poli polimeraz	14
2.2.2.2 Oksidatif Stres	14
2.2.2.3 Vasküler Hipotezler	16
2.2.2.4 İmmünolojik Mekanizmalar	16
2.2.3 Diyabetik Nöropatinin Sınıflandırılması	16
2.2.3.1 Distal Simetrik Polinöropati	17
2.2.3.1.1 Küçük Lif Nöropatisi	18
2.2.3.1.2 Büyük Lif Nöropatisi	18

2.2.3.2 Otonom Nöropatiler	18
2.2.3.3 Poliradikülopati	20
2.2.3.3.1 Diyabetik Amniyotrofi	20
2.2.3.3.2 Torasik Poliradikülopati	20
2.2.3.3.3 Diyabetik Nöropatik Kaşeksi	21
2.2.3.4 Mononöropatiler	21
2.2.3.4.1 Kranial Mononöropatiler	21
2.2.3.4.2 Periferel Mononöropati	21
2.2.3.4.3 Mononöritis Multipleks	21
2.2.3.5 Akut Polinöropatiler	21
2.2.3.5.1 Akut Ağrılı Polinöropati	21
2.2.4 Diyabetik Nöropatide Klinik	22
2.2.4.1 Semptom ve Bulgular	22
2.2.5 Diyabetik Nöropatide Tanı ve Ayırıcı Tanı	22
2.2.5.1 Birleşik Krallık Tarama Testi	22
2.2.5.2 Michigan Nöropati Tarama Testi	24
2.2.5.3 Elektrodiagnostik Ölçümler	25
2.2.6 Diyabetik Nöropatide Tedavi	25
2.2.6.1 Hipergliseminin Kontrolü	26
2.2.6.2 Farmakolojik Tedaviler	26
2.2.6.2.1 Patogeneze Yönelik İlaçlar	26
2.2.6.2.1.1 Aldoos Redüktaz İnhibitörleri	26
2.2.6.2.1.2 Myoinositol	26
2.2.6.2.1.3 Gamalinoleik Asid	27
2.2.6.2.1.4 AGE İnhibitörleri (Aminoguanidin)	27
2.2.6.2.1.5 Protein Kinaz C İnhibitörleri	27
2.2.6.2.1.6 Nörotrofik Tedavi	27
2.2.6.2.1.7 Vasodilatatör İlaçlar	28
2.2.6.2.1.8 Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)	28
2.2.6.2.1.9 İmmünsüpresif Tedavi	28
2.2.6.2.1.10 Alfa Lipoik Asid	28

2.3 Ağrı	29
2.4 Ağrılı Periferik Diyabetik Nöropati Tedavisi	30
2.4.1 Farmakolojik Yaklaşımlar	30
2.4.1.1 Antikonvulzanlar	31
2.4.1.1.1 Pregabalin	31
2.4.1.1.2 Gabapentin	31
2.4.1.1.3 Diğer Antikonvulzanlar	31
2.4.1.2 Trisklik Antidepresanlar	32
2.4.1.3 Serotonin Nörepinefrin Geri Alım İnhibitörleri	32
2.4.1.4 Opioidler	32
2.4.1.5 Kapsaisin Krem	33
2.4.2 Nonfarmakolojik Yaklaşımlar	33
2.5 Fisetin	33
2.6 Diyabetik Ratlarda Ağrılı Nöropati	34
2.6.1 Deneysel Ağrı Modelleri	34
3-MATERYAL-METOD	33
3.1 Deney Hayvanları	36
3.2 Diyabet İndüksiyonu	36
3.3 Gruplar	36
3.4 Termal Plantar Analjezimetre Testi	39
3.5 İstatistiksel Metod	39
4- BULGULAR	41
4.1 Farelerin Ağırlık Ölçümleri	41
4.2 Kan Glukoz Ölçümleri	42
4.3 Ağrı Eşiği (Latans) Değerleri	44
5-TARTIŞMA	48
6-KAYNAKLAR	52

<b>Tablo ve Şekil Listesi:</b>	<b>Sayfa No</b>
Tablo I. Diabetes Mellitusun Tanı Kriterleri	5
Tablo II. Diabetes Mellitusun Sınıflaması	6
Tablo III. Tip 1 Diabetes Mellitusta Semptom ve Bulgular	10
Tablo IV. Ağrılı Diyabetik Nöropatide Kullanılan Farmakolojik Ajanlar	30
Tablo V. Farelerin Ağırlık Ölçümleri	41
Tablo VI. Farelerin Kan Glukoz Ölçümleri	43
Tablo VII. Diyabet Oluşturulan Grupların Streptozosin Öncesi ve Sonrası 8. Hafta Ağrı Eşikleri Ölçümleri	45
Tablo VIII. 8 Hafta Sonrası İlaç Öncesi ve Sonrası Ağrı Eşikleri Ölçümleri	46
Şekil 1. Grupların 1. ve 8. Haftadaki Kan Glukoz Değişimleri	44
Şekil 2. Grupların çalışma başlangıcında ve 8 hafta sonunda ilaç öncesi ve sonrasındaki ağrı eşikleri değerleri	47

## **KISALTMALAR**

**DM:** Diabetes Mellitus

**APG:** Açlık Plazma Glukozu

**OGTT:** Oral Glukoz Tolerans Testi

**ADA:** Amerikan Diyabet Birliği

**ALA:** Alfa Lipoik Asid

**IDF:** Uluslar arası Diyabet Federasyonu

**EASD:** Avrupa Diyabet Çalışma Birliği

**HPLC:** Yüksek Performanslı Likid Kromatografisi

**TEMED:** Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği

**AGEs:** İleri Glikolizasyon Son Ürünleri

**RAGE:** AGE reseptörü

**NADPH:** Nikotinamid difosfataz

**NO:** Nitrik Oksid

**EMG:** Elektromiyografi

**ENG:** Elektronörografi

**PNP:** Periferik Nöropati

**GLA:** Gamalinoleik Asid

**VEGF:** Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

**IVIg:** İntravenöz İmmünglobülin

**IAPS:** Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği

**GABA:** Gama Amino Butirik Asid

**TENS:** Transkütanöz Elektriksel Sinir Uyarısı

**PENS:** Perkütanöz Elektriksel Sinir Uyarısı

**LILT:** Düşük İntensiteli Lazer Tedavisi

**STZ:** Streptozosin

**ROS:** Reaktif Oksijen Radikalleri

**TBARS:** Tiobarbitürik Asid Ürünleri



## ÖZET

Bu çalışmada fare modelinde in vivo davranışsal çalışma ile fisetin ve alfa lipoik asidin ağrılı diyabetik nöropati üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmaya 48 adet BALB-C cinsi fare alınarak, herbir grupta 8 fare olacak şekilde 6 grup oluşturulmuştur. Grup 1: Kontrol grubu, Grup 2: Fisetin 3mg/kg, Grup 2: Fisetin 10 mg/kg, Grup 4: Alfa lipoik asid 50 mg/kg, Grup 5: Alfa lipoik asid 100 mg/kg ve Grup 6: Kombinasyon (Fisetin 5 mg/kg+Alfa lipoik asid 10 mg/kg) olarak belirlendi. Kontrol grubu hariç diğer 5 gruba yüksek doz streptozosin protokolü uygulanarak diyabet oluşumu sağlandı. Diyabetik nöropati oluşumu için deney süresi 8 hafta olarak belirlendi. Sekiz hafta sonunda plantar analjezimetre ile farelerin ağrı eşikleri değerlendirildi. Kontrol grubuna Fisetin çözeltisi olan DMSO, diyabet oluşturulan gruplara ise Fisetin ve Alfa lipoik asid belirlenen dozlarda intraperitoneal uygulanarak 10, 30, 60 ve 90. dakikalarda ağrı eşiği ölçümleri tekrarlandı.

Fisetin 3 mg/kg ve Fisetin 10 mg/kg uygulanan gruplarda ağrı eşiklerinde uygulama sonrası istatistiksel anlamlı değişiklik izlenmedi ( $p=0,24$ ,  $p=0,67$ ). ALA 50 mg/kg ve ALA 100 mg/kg uygulanan gruplarda ağrı eşiklerinde 90 dakika sonunda istatistiksel olarak anlamlı kısalma saptandı ( $p= 0.05$ ),  $p=0,001$ ). Kombinasyon grubunda ise ağrı eşikleri bazale göre kısaltmakla birlikte istatistiksel anlamlılık elde edilmedi ( $p=0,13$ ).

Sonuç olarak, Alfa lipoik asidin fare modelinde oluşturulan hipoaljeziyi düzeltmekte etkin olduğu ancak diyabetik nöropatide patogenezi hedefleyen ve tedavide etkili olabileceği düşünülen fisetinin hipoaljeziyi düzeltmediği bulunmuştur. Başka çalışmalarla fisetinin ve patogenezi hedefleyen farklı moleküllerin özellikle hipoaljezinin oluşmadığı erken evre diyabetik nöropatide etkinliğinin araştırılması uygun olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Diyabetik nöropati, Fisetin, Alfa lipoik asid, Plantar analjezimetre

## **ABSTRACT**

In this study we aimed to determine the effects of fisetin and alpha lipoic acid (ALA) on painful diabetic neuropathy in a experimental mice model in vivo.

The study was consisted of 48 BALB-C type mice, and they were divided into 6 groups, each group consisted of 8 mice. Group 1: Control group, Group 2: Fisetin 3mg/kg, Group 3: Fisetin 10 mg/kg, Group 4: Alpha lipoic acid 50 mg/kg, Group 5: Alpha lipoic acid 100 mg/kg, Group 6: Combination group ( Fisetin 5 mg/kg and Alpha lipoic acid 10 mg/kg).

Diabet was induced to all treatment groups except control group. The period for the occurrence of neuropathy was determined as 8 weeks. The pain thresholds of the mice were evaluated by plantar analgesimeter at the end of the study. After applying intraperitoneally DMSO which is a solvent of fisetin to the control group and predetermined doses of fisetin and alpha lipoic acid to the diabetic groups, the pain threshold measurements were repeated on 10, 30, 60 and 90 minutes. Pain threshold results did not show a statistically significant in group 2 and 3 ( $p=0.24$ ,  $p=0.67$ ). However in group 4 and 5, pain threshold measurements were statistically significantly shortened at the end of 90 minutes. In the combination group although pain threshold shortened when compared with baseline levels, it did not show a significant difference ( $p=0.13$ ).

As a result ALA was found to be effective whereas fisetin was found to be ineffective to ameliorate the hypoalgesia in this experimental diabetic model.

Further investigations are needed to consider the efficiency of fisetin and other molecules which targets the pathogenesis especially in the early phases of the diabetic neuropathy in which hipoalgesia has not occurred.

**Key words:** Diabetic neuropathy, Fisetin, Alpha lipoic acid, Plantar analgesiameter

## 1.GİRİŞ ve AMAÇ

Diyabetik nöropati, yüksek morbidite ve mortalite ile seyreden ve diyabetik hastaların yaşam kalitesini azaltan önemli bir komplikasyondur. Prevalansı, çalışmanın toplum veya hastane kaynaklı olması ve nöropatiyi tespit için kullanılan yöntemlerdeki farklılıklara bağlı olarak %10-90 arasında değişmektedir (1).

Diyabetik nöropatinin patogenezi tam olarak anlaşılmış değildir ve etkin ideal bir tedavisi halen yoktur. Günümüzde diyabetik nöropati için temel olarak semptomatik tedavi uygulanmaktadır. Burada kullanılan ilaçlar ağrıyı hafifletmekle birlikte asıl tedavi hedefi olan hastalık seyri üzerinde etkisi yoktur. Bununla birlikte nöropati tedavisinde spesifik mekanizmaları hedef alan tedavi yöntemlerinin daha etkin olduğu düşünülmektedir.

Ağrılı nöropati modeli olarak kemirgenlerin kullanımı hem sinir sisteminin elektriksel ve nörokimyasal aktivitelerinin hem de duysal uyarana davranış cevaplarının değerlendirilebilmelerine olanak tanır. Streptozosin ile diyabetik nöropati oluşturulması fare ve sıçanlarda yaygın olarak gerçekleştirilmektedir. Kuyruk veya pençenin sıcağa maruz bırakılmasıyla hayvanın ekstremitelerini çekme süresi, hiperaljezi ve hipoaljeziyi belirleme yöntemi olarak değerlendirilir. Ağrı eşiği yanıtları, diyabetik nöropatik ağrı hakkında dolaylı bilgi elde edilmesine katkı sağlamaktadır.

Oksidatif stres, diyabetik komplikasyonların patogenezinde merkezi bir rol oynamaktadır. Diyabetik nöropatide serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stres, endonöral hipoksiye ve sinir disfonksiyonuna yol açmaktadır. Patogeneizde suçlanan bir başka mekanizma da protein glikozilleşmesi olup, diyabette artan protein glikolizasyonunun diyabet komplikasyonlarının esas sebepleri arasında olduğu bilinmektedir (2).

Alfa lipoik asid (ALA), güçlü bir radikal süpürücü ve endojen antioksidatif korunma sisteminin bir parçasıdır. Yapılan çalışmalarla ALA'nın nöral kan akımını artırdığı ve oksidatif stresin en önemli belirleyicilerinden olan azalmış glutatyon seviyelerini iyileştirdiği gösterilmiştir (3). Bir flavonoid türevidir olan fisetin de iskemi ve oksidatif stres gibi toksik uyarılardan sinir hücre kültürlerini korumaktadır. Fisetin, direkt antioksidan kapasitesinin yanı sıra major intraselüler antioksidan olan glutatyon (GSH) seviyesini de artırmaktadır (4). Bu çalışmada, fisetinin antioksidan ve nöroprotektif etkileri düşünüldüğünde tek başına veya

alfa lipoik asid ile birlikte kullanımının davranışsal ağrı modelinde diyabetik nöropati üzerine etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1 Diabetes Mellitus**

#### **2.1.1 Tanım**

Diabetes Mellitus (DM), kronik hiperglisemi ile karakterize metabolik hastalıkların heterojen bir grubudur. Kronik hiperglisemi, insülin sekresyonunda, insülin etkisinde veya her ikisindeki bozukluklar sonucunda karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki bozukluğa bağlı gelişir (5). Diyabet, ömür boyu süren akut ve kronik komplikasyonları olan, yaşam süresini olumsuz etkileyen ve multidisipliner yaklaşılması gereken kronik bir hastalıktır.

#### **2.1.2 Epidemiyoloji**

Diabetes mellitus, tüm dünyada artarak global bir sorun haline gelmiştir. Dünyadaki diyabetli hasta sayısı 1980 yılında 30 milyon iken, günümüzde bu sayı 371 milyona ulaşmıştır (6). Türkiye’de erişkin toplumda diyabet prevalansı 1997 yılında TURDEP-I çalışmasında %7,2 iken 2010 yılında 540 merkezde yapılan TURDEP-II çalışmasında %13,7’ye ulaştığı görülmüştür (7). Türkiyede diyabet sıklığı 12 yılda %90 artış göstererek Dünya Sağlık Örgütü’nün 2030 yılı hedeflerini aşmıştır. Diabetes mellitusun tanınması, tedavi programlarının belirlenmesi, erken dönemde tanı konulabilmesi ve bu konuda toplumsal sağlık politikalarının oluşturulabilmesi için hastalığın epidemiyolojik özelliklerinin bilinmesi şarttır.

#### **2.1.3 Tanı**

Diyabet tanısı dört yöntemle konulabilir. Bunlar; açlık plazma glukozu (APG), 75 gram oral glukoz tolerans testi (OGTT) sonrası 2. saat plazma glukozu, diyabet semptomları ile birlikte rastgele plazma glukozu ve HbA1C’dir (Tablo 1) Bu yöntemler içerisinde APG’nin daha kolay uygulanabilmesi ve ucuz olması klinik pratikte kullanımını artırmaktadır. Amerikan Diyabet Birliği’ne (ADA) göre diyabet tanısı, açlık kan şekerinin venöz plazmada ardışık en az iki ölçümde 126 mg/dl veya üzerinde olması ile konur (8). Ayrıca günün herhangi bir saatinde açlık ve tokluk durumuna bakılmaksızın venöz plazmada ölçülen kan şekerinin 200 mg/dl’nin üzerinde olması ve buna polidipsi, poliüri, polifaji, kilo kaybı gibi diyabet semptomlarının eşlik etmesi de tanı koymak için yeterlidir. Bir test ile DM tanısı konduktan sonra tanı ayrı bir gün ikinci bir test ile doğrulanmalıdır. Tercih edilen aynı testin tekrarlanmasıdır. Bir testin tanı kriterlerinin üstünde, diğerinin altında olması durumunda test

3-6 ay sonra tekrarlanmalıdır (9). Ancak belirgin DM kliniği varlığında rastgele plazma glukozu ile tanı konmuşsa ikinci bir test ile doğrulamaya gerek yoktur.

Açlık plazma glukozu 100-125 mg/dl ise (bozulmuş açlık glukozu-BAG), 2 saatlik 75 g OGTT sonrası 2. saat plazma glukozu 140-199 mg/dl (bozulmuş glukoz toleransı- BGT) prediyabet olarak adlandırılır. Dünya sağlık örgütü ve Uluslararası Diyabet Federasyonunun (IDF) 2006 yılı raporunda APG 100-110 mg/dl arasında bulunan kişilerin çok azında diyabet olabileceğinden bu kişilere yapılması gereken OGTT'nin maliyeti gözönüne alındığında APG için üst sınırın 110 mg'dl olması gerektiği belirtilmiştir. Buna karşılık ADA ve Avrupa Diyabet Çalışma Birliği (EASD) 2007 yılında yayınladıkları konsensus raporunda 2003 yılındaki revizyona uygun olarak APG üst sınırının 100 mg/dl olması gerektiğini savunmuşlardır.

Uzun yıllardır DM tanısı APG ve 2 saatlik 75 g OGTT ile konurken 2009 yılında ADA, IDF ve EASD, HbA1C'nin tanıda kullanılmasını önermişlerdir (10). HbA1c'nin açlık gerektirmemesi, preanalitik stabilitesinin fazla olması ve akut hastalık ve stres durumlarından etkilenmemesi APG ve OGTT'ye olan üstünlükleridir. Ancak daha pahalı olup plazma glukoz ölçümü kadar yaygın kullanılmamaktadır. Kan kaybı, hemoliz, gebelik, hemoglobinopatiler ve anemilerden etkilenip etnik kökene göre normal referans aralıkları farklılıklar gösterebilmektedir. Ayrıca glisemik değişkenliği belirgin olan hastalarda ortalama glisemiği yansıttığından HbA1C değerleri normal bulunabilmektedir. HbA1C ölçüm yönteminin, 'Ulusal Glikohemoglobin Standardizasyon Programı' (NGSP: National Glycohemoglobin Standardization Program) tarafından sertifikalandırılması ve diyabet kontrol ve komplikasyon çalışmasında (DCCT) kullanılan ve altın standart olarak kabul edilen yüksek performanslı lipid kromatografi (HPLC) yöntemine göre kalibre edilmesi şart koşulmaktadır. Bu kriterlere uyulması koşulu ile HbA1C için tanı eşiği %6,5 olarak belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda HbA1C düzeyi arttıkça DM gelişme riskinin de arttığı gösterilmiştir (11). Bu nedenle HbA1C, %5,7-6,4 arasındaki değerler prediyabet olarak kabul edilmiştir (9).

Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneğinin (TEMED) 2013'de yenilenen 'Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzunda' ülkemizde HbA1c'nin standardizasyon çalışmalarına hız verilmesi gerektiği ve yeterlilik belgesi alan laboratuvarlarda ölçülmek koşulu ile HbA1c testi diyabet tanısında kullanılabilir olabileceği belirtilmiştir.

**Tablo I.** Diabetes mellitusun tanı kriterleri

Açlık plazma glukozu $\geq 126$ mg/dl (açlık için en az 8 saat kalori alınmamalıdır)
veya
75 gram oral glukoz tolerans testinin 2. saatinde plazma glukozu $\geq 200$ mg/dl
veya
Hipergliseminin klasik semptomları + rastgele plazma glukozu $\geq 200$ mg/dl
veya
HbA1C $\geq$ %6,5 (DCCT verilerine göre standardize edilmeli)

#### 2.1.4 Sınıflama

Diabetes mellitus dört sınıfa ayrılır (Tablo II).

1. Tip 1 DM: Beta hücre hasarına bağlı mutlak insülin eksikliği gelişir.
2. Tip 2 DM: İnsülin direnci zemininde ilerleyici pankreas beta hücre hasarı ve insülin salınım defekti gelişir.
3. Gestasyonel DM: İlk kez gebelik esnasında tanı konulan diyabettir.
4. Diğer spesifik diyabet tipleri: Beta hücre veya insülin fonksiyonundaki genetik defektler , endokrinopatiler, egzokrin pankreas hastalıkları, ilaca bağlı DM bunlar arasında sayılabilir.

**Tablo II.** Diabetes mellitusun sınıflaması

1. Tip 1 DM A. Otoimmün B. İdiyopatik
2. Tip 2 DM
3. Gestasyonel DM
4. Diğer spesifik tipler <b>A. Beta-hücre fonksiyonlarının genetik defekti (monogenik diyabet formları)</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• 20. Kromozom , HNF-4a (MODY1)</li><li>• 7. Kromozom, Glukokinaz (MODY2)</li><li>• 12. Kromozom, HNF-1a (MODY3)</li><li>• 13. Kromozom, IPF-1 (MODY4)</li><li>• 17. Kromozom, HNF-1b (MODY5)</li><li>• 2. Kromozom, NeuroD1 (MODY6)</li><li>• 2. Kromozom, KLF11 (MODY7)</li><li>• 9. Kromozom, CEL (MODY8)</li><li>• 7. Kromozom, PAX4 (MODY9)</li><li>• 11. Kromozom, INS (MODY10)</li><li>• Mitokondriyal DNA</li><li>• 11. Kromozom, Neonatal DM (Kir6.2, ABCC8, KCNJ11 mutasyonu)</li><li>• Diğerleri</li></ul> <b>B. İnsülinin etkisindeki genetik defektler</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Leprechaunism</li><li>• Lipoatrofik diyabet</li><li>• Rabson-Mendenhall sendr.</li><li>• Tip A insülin direnci</li><li>• Diğerleri</li></ul> <b>C. Pankreasın ekzokrin doku hastalıkları</b>



- Fibrokalkulöz pankreatopati
- Hemokromatoz
- Kistik fibroz
- Neoplazi
- Pankreatit
- Travma/pankreatektomi
- Diğerleri

#### **D. Endokrinopatiler**

- Akromegali
- Aldosteronoma
- Cushing sendr.
- Feokromositoma,
- Glukagonoma
- Hipertiroidi
- Somatostatinoma

#### **E. İlaç veya kimyasal ajanlar**

- Atipik anti-psikotikler
- Anti-viral ilaçlar (HIV tedavisi)
- b-adrenerjik agonistler
- Diazoksid
- Fenitoin
- Glukokortikoidler
- a-İnterferon
- Nikotirik asit
- Pentamidin
- Proteaz inhibitörler
- Tiyazid grubu diüretikler
- Tiroid hormonu
- Vacor
- Diğerleri (post transplant diyabet)

## **F. İmmün aracılıklı nadir diyabet formları**

- Anti-insülin reseptör antikorları
- Stiff-man sendr.
- Diğerleri

## **G. Diyabetle ilişkili genetik sendromlar**

### **(Monogenik diyabet formları)**

- Alström sendr.
- Down sendr.
- Friedreich tipi ataksi
- Huntington korea
- Klinefelter sendr.
- Laurence-Moon-Biedl sendromu
- Myotonik distrofi
- Porfiria
- Prader Willi sendromu
- Turner sendromu
- Wolfram (DIDMOAD) sendromu
- Diğerleri

### **2.1.4.1 Tip 1 Diabetes Mellitus**

Tip 1 diabetes mellitus; genelde çocukluk yaş grubunda daha sık görülen, T-hücrelerinin aracılık ettiği insülin üreten pankreasın beta hücrelerinin kronik otoimmün veya otoimmün olmayan nedenlerle tahrip edilmesi sonucu gelişen, insülin eksikliği ve hiperglisemi ile karakterize kronik metabolik bir hastalıktır (12,13). Diabetes mellitusun etiyolojik sınıflamasına göre tip 1 DM, tip 1A (immün aracılı) ve tip 1B (idiyopatik) olarak iki gruba ayrılmıştır. Tip 1A, tip 1 DM'nin %90'ını, tip 1B ise %10'unu oluşturmaktadır (14). Her yaşta görülebilirse de genellikle çocukluk çağında ve gençlerde daha sık görülür. %75-80 oranında diyabet 30 yaştan önce ortaya çıkmaktadır. Tip 1 DM, uygun genetik bir

zeminde çevresel faktörlerinde etkisi ile pankreas beta hücrelerine yönelik başlayan otoimmün yıkım ve bunu takiben gelişen inflamatuvar olaylar sonucu insülitis gelişmesiyle ortaya çıkmaktadır (15,16). Tip 1 DM'nin gelişiminde genetik yatkınlıkla beraber çevresel faktörlerin de önemli olduğuna dair deliller mevcuttur. Tek yumurta ikizlerinde diyabetin birlikte görülme sıklığının %30-50 arasında değişmesi diyabet gelişmesinde genetik dışı faktörlerin de etkili olduğunu göstermiştir. Sorumlu tutulan çevresel etkenler; kimyasal ajanlar, virüsler ve gıda bileşikleridir (17,18).

Tip 1 diabetes mellitus, genel olarak değerlendirildiğinde klinik olarak beş evreye ayrılabilir (19).

Preklinik evre, genetik olarak yatkın bireylerde çevresel faktörlerin etkisi ile beta hücresine karşı otoimmün olayın tetiklendiği ve klinik semptomların ortaya çıkıncaya kadar geçtiği süreçtir. Beta hücrelerine yönelik dolaşımdaki antikorlar tip 1 DM'nin asemptomatik olduğu preklinik evrede saptanabilir (20). Erken klinik evre; Tip 1 DM'de hiperglisemi ve klinik semptomların başladığı ancak beta hücre rezervinin bir miktar korunduğu evredir. Tip 1 DM'de klinik başlangıç şekli hastanın yaşıyla ilişkilidir. Çocukluk döneminde gürültülü bir klinik varken, ileri yaşlarda çok yavaş bir şekilde ortaya çıkabilir. Erken klinik evreye ait kesin tanı kriterleri, kan şekeri yüksekliği ve idrarda glukozun varlığıdır.

Remisyon evresi; balayı dönemi olarak da bilinir. Otoimmün yıkımdan geriye kalan hücrelerin tedaviyi takiben kendilerini yenilemeleri ve araya giren insülin ihtiyacını artıran faktörlerin tedavi edilmesi ile endojen insülinin yeterli hale gelmesi söz konusudur. Ekzojen insülin ihtiyacının azaldığı ve hastanın endojen insülini ile glisemi regülasyonunun sağlandığı evredir. İki hafta gibi bir süreden bir kaç yıla kadar uzayabilir (21). Klinik evre; semptomların tam olarak yerleştiği ve beta hücre rezervinin çok azaldığı evredir. Bu evrede hiperglisemi ve osmotik diürece, insülin eksikliğine, enfeksiyonlara yatkınlığa ve kalori eksikliğine bağlı semptom ve bulgular gelişir (Tablo III)

**Tablo III.** Tip 1 diabetes mellitusta semptom ve bulgular

<b>1. Hiperglisemi ve osmotik diürece bağlı semptomlar ve bulgular</b>  Poliüri, noktüri  Susama hissi artışı, polidipsi  Görme bozukluğu  Dehidratasyon, halsizlik, yorgunluk, uyku hali
<b>2. İnsülin eksikliğinin semptom ve bulguları</b>  Hiperglisemi ve glikozüri  Aşırı yorgunluk  Kas erimesi  Kilo alamama veya kilo kaybı  Ketoasidozis
<b>3. Enfeksiyonlara yatkınlığa bağlı semptom ve bulgular</b>  Tekrarlayan cilt enfeksiyonları  Tekrarlayan genital enfeksiyonlar ve kaşıntı
<b>4. Kalori eksikliğine bağlı semptom ve bulgular.</b>  İştah artışı  Kilo kaybı

İleri klinik komplikasyonlu evre; kronik mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonların ortaya çıktığı evredir. Gün içerisinde hiperglisemi ve hipoglisemi atakları yaşanabilir ve hastaların yoğun insülin tedavisi alması gereken bir dönemdir.

#### **2.1.4.2 Tip 2 Diabetes Mellitus**

Tip 2 diabetes mellitus, tüm diyabetiklerin ortalama %85'ini oluşturmaktadır . Uzun sürebilen asemptomatik bir dönem çoğunlukla mevcuttur. Tip 2 DM patogenezinde beta hücre fonksiyon bozukluğu, insülin direnci ve hepatik glikoz üretimi artışı gibi üç ana metabolik bozukluk rol oynar (22). Primer defekt olarak insülin direnci ve /veya insülin eksikliği ön plandadır. Tip 2 DM'de poligenik bir genetik yatkınlık da bulunmaktadır. Tip 2 DM hastalarının %39'unda en az bir ebeveynde diyabet bulunmaktadır (23).

Monozigotik ikizlerde de etkilenmeyen ikizde diyabet gelişme riski yaklaşık %90'dır (17). İnsülin direnci, halen bilinmeyen genetik defektlerle birlikte, çevresel etmenlerin etkisi ile gelişir. Çevresel etmenlerden en önemlileri obezite ve fiziksel aktivite eksikliğidir. Obezite periferik dokularda insülin aracılı glukoz alımına direnç ve beta hücrelerin glukozla olan duyarlılığında azalmaya neden olur (24).

#### **2.1.5 Diabetes Mellitusun Komplikasyonları**

Diyabetin akut ve kronik komplikasyonları aşağıda sıralanmıştır.

##### **A) Akut (Metabolik) Komplikasyonlar:**

- Diyabetik ketoasidoz
- Hiperosmolor non-ketotik koma
- Laktik asidoz koması
- Hipoglisemi koması

##### **B) Kronik (Dejeneratif) Komplikasyonlar:**

###### **1) Makrovasküler komplikasyonlar:**

- Kardiyovasküler hastalıklar ( Hipertansiyon, Koroner kalp hastalığı)
- Serebrovasküler hastalıklar
- Periferik damar hastalığı

###### **2) Mikrovasküler Komplikasyonlar:**

- Diyabetik nefropati
- Diyabetik retinopati
- Diyabetik nöropati

### 3) Diğer Kronik Komplikasyonlar:

- Diyabetik ayak
- Erektile disfonksiyon ve diğer seksüel fonksiyon bozuklukları
- Gastrointestinal problemler
- Kemik ve mineral metabolizma bozuklukları
- Psikolojik problemler ve psikiyatrik bozukluklar

## 2.2 Diyabetik nöropati

### 2.2.1 Tanım

Diyabetik nöropati (DN), yüksek morbidite ve mortalite ile seyreden ve diyabetik hastaların yaşam kalitesini azaltan önemli bir komplikasyondur. Diyabetik nöropati, proksimal veya distal sinirleri ve duyu, motor veya otonom sinirleri farklı şekillerde etkileyerek heterojen bir klinik tablo oluşturur. Birçok çalışmada diyabetik nöropati prevalansının %28,5-50 arasında değiştiği gösterilmiştir (25). Yüksek diyabetik nöropati oranı alt ekstremitelerde enfeksiyonları, ülserasyonları ve amputasyonlarını içeren önemli morbiditeler ile sonuçlanmaktadır. Diyabetik ayak problemleri diğer diyabet komplikasyonlarına göre daha fazla hastane yatışını gerektirmektedir (26). Diyabetik nöropati, tek bir klinik durum olmaktan ziyade bir çok klinik ve subklinik belirtinin eşlik ettiği sendromlar bütünüdür.

### 2.2.2 Diyabetik nöropati etiyopatogenezi

Diyabetik nöropati patogeneğinde birçok mekanizma öne sürülmüştür. Bunlar; direkt sinir hasarı yapan metabolik süreçler, endonöral mikrovasküler hasar, otoimmün inflamasyon ve azalmış nörotrofik desteklerdir. Epidemiyolojik çalışmalar Tip 1 ve Tip 2 DM hastalarında hiperglisemi süresi ve ciddiyetinin diyabetik nöropati gelişiminde majör risk olduğunu göstermişlerdir (27).

### **2.2.2.1 Metabolik faktörler**

#### **2.2.2.1.1 Artmış glikolizasyon son ürünleri**

Plazma ve doku proteinlerinin glikolizasyonu, glikolizasyon son ürünlerinin (AGEs) oluşumuna neden olarak diyabetik mikrovasküler komplikasyonlarda önemli rol alırlar (28). Kronik hiperglisemi varlığında glukoz fazlalığı, dolaşımdaki aminoasitler ve doku proteinleri ile birleşir. Bu nonenzimatik süreç, başlangıçta reversible erken glikolizasyon ürünlerini oluştururken daha sonra irreversible ileri glikolizasyon son ürünleri oluşmaktadır (29). Serum AGEs konsantrasyonları diyabetik hastalarda artmaktadır. İleri glikolizasyon ürünleri, in vitro olarak kollajenle güçlü bir bağlanma aktivitesi göstermektedir. Bu bağlanma diyabetik mikrovasküler komplikasyonlarda önemli bir rol alabilir. İleri glikolizasyon ürünleri, hücre yüzeyindeki AGE reseptörlerine (RAGE) bağlanırlar. RAGE aktivasyonu proinflamatuvardır. AGEs'in diğer etkileri; vasküler geçirgenlikte artış, prokoagulan aktivite, adezyon molekül ekspresyonu ve monosit istilası olarak sayılabilir (30).

#### **2.2.2.1.2 Sorbitol**

Hücre içerisine giren glukoz, aldoz redüktaz enzimi ile sorbitole metabolize olmaktadır. Hiperglisemi nedeniyle bu yolun aşırı aktivasyonu sonucu glukoz, aldoz redüktaz enzimi tarafından sorbitol ve fruktoza dönüşür. Hücre içinde sorbitol birikimi myoinozitol ve taurinin azalmasına, bu da Na-K ATP'az aktivitesi azalmasına ve sinir ileti hızının düşmesine neden olur. Sorbitolün hücre içinde birikmesi neticesinde hücre metabolizması ile ilişkili nikotinamid difosfataz (NADPH) azalır, hücre osmolalitesi artar, intraselüler myoinositol azalır ve hücre oksidatif strese eğilimli olur (31). Glukoz transportu için insülin gerektirmeyen bazı dokularda (sinirler, lensler, böbrekler ve kan damarları) hiperglisemi intraselüler dokuda glukoz artışına neden olabilir. Bu dokularda artan sorbitol ve fruktoz iki istenmeyen etkiye sebep olur. Birincisi, biriken sorbitol ve fruktoz intraselüler osmolariteyi artırarak su akımına ve sonunda osmotik hücre hasarına neden olur. İkinci olarak sorbitol birikim, myoinozitol içeriğinde azalma ve Na/K adenosin trifosfataz (ATPaz) da bozulmaya neden olur. Bu mekanizma Schwann hücrelerindeki ve retinal kapillerlerin perisitlerindeki hasardan sorumlu olabilir, periferik nöropati ve mikroanevrizmalara neden olur. Oksidatif stresin diyabetik retinopati, nefropati ve nöropati ile ilişkisi net bilirse de klinik çalışmalarda denenilen bir çok antioksidanın (aldoz redüktaz inhibitörleri, vitamin C ve E gibi) terapötik etkinliği henüz kanıtlanamamıştır (32).

### **2.2.2.1.3 Heksozamin**

Heksozamin yolağında normal hücre fonksiyonları için gerekli transkripsiyon faktörlerini düzenleyen üridin difosfat–N-asetil glukozamin (UDPGlcNAc) üretilmektedir. Aşırı glukoz, heksozamin yolağında glikolitik araçlar ile yer değiştirir ve böylece heksozamin yolağına olan glukoz akışı hücre hasarlanması ve oksidatif stres artışı ile sonuçlanır (33).

### **2.2.2.1.4 Protein kinaz C**

Fazla glukoz, protein kinaz C'yi aktive eden diaçilgliserole dönüşmektedir. Protein kinaz C aktivasyonu; ekstraselüler matriks ve sitokinlerin üretimini artırarak vasküler hücre proliferasyonunu, permeabilitesini ve kontraktilitesini artırmaktadır (34). Böylece vazokonstriksiyon ve sinir iskemisi oluşur. Bu nörovasküler değişiklikler de diyabetik nöropatiye katkıda bulunmaktadır. Ayrıca diaçilgliserol-protein kinaz C aktivasyonunun diyabet ve insülin rezistansı döneminde retinal, renal ve kardiyovasküler dokularda birçok vasküler anormalliklerle ilişkili olduğu gösterilmiştir (35).

### **2.2.2.1.5 Poli (ADP-riboz) polimeraz**

Yüksek konsantrasyondaki glukozla cevaben nükleer enzim poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP) aktive olmaktadır. Bu enzim, nikotinamid adenin dinükleotidi (NAD<sup>+</sup>) nikotinamid ve adenin riboz kalıntılarına ayırarak DNA onarımına yardımcı olur. PARP'nin aşırı aktivasyonu artmış serbest radikal oluşumu, gen transkripsiyonunda zararlı değişiklikler, protein kinaz C aktivasyonu ve AGEs'lerde artış ile sonuçlanır (36).

### **2.2.2.2 Oksidatif stres**

Yukarıda bahsedildiği gibi hiperglisemi birçok farklı yolla etkileşerek nihai olarak oksidatif strese ve reaktif oksijen radikallerinin (ROS) birikimine neden olmaktadır. Serbest radikaller; bir serbest radikalın moleküler ya da atomik yörüngesinde bulunan ve genelde çok reaktif olan çiftleşmemiş elektron bulunduran bir kimyasal üründür (37). Serbest radikal reaksiyonları, bağışıklık sistemi hücrelerinden nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizması için gerekli olsa da, serbest radikallerin fazla üretimi doku hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır (38). Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidratlar gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler ve de yapılarının bozulmalarına neden olurlar. Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma



hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Diyabet ve diyabet komplikasyonlarının reaktif oksijen türleri ile olan ilişkisini gösteren çalışmalarda, nonenzimatik glikasyon, enerji metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan metabolik stres, sorbitol yol aktivitesi, hipoksi ve iskemi-reperfüzyon sonucu oluşan doku hasarının serbest radikal üretimini arttırdığı ve antioksidan savunma sistemini değiştirdiği vurgulanmaktadır (39,40). Serbest radikal oluşumunun hipergliseminin direkt sonucu olduğunu destekleyen çalışmaların yanı sıra endotel ve düz kas hücreleri yüksek konsantrasyonda glukoz içeren ortamda inkube edildiğinde de serbest radikal oluşumunun başladığını gösteren deneysel çalışmalar da bulunmaktadır (41,42). Hiperglisemi aracılı ROS üretimi üç mekanizma ile olmaktadır. Bunlardan ilki, glukozun otooksidasyonu ve süperoksit üretimidir. Bir geçiş elementinin varlığında glukoz, reaktif ketoaldehitlere ve süperoksit anyonuna çevrilir. Reaksiyonlar zinciri, süperoksit radikalinin hidrojen peroksit üzerinden son derece reaktif olan hidroksil radikali oluşturması ile sonuçlanır. Hücre içi glukoz oksidasyonu NADH'nın açığa çıkmasına yol açar. NADH solunum zincirinde oksidatif fosforilasyon yolu ile ATP üretimi için gerekli enerjiyi sağlamak üzere kullanılır. Solunum zincirindeki bu reaksiyon sırasında süperoksit radikali açığa çıkar. Yüksek glukoz konsantrasyonu varlığında bu yolla süperoksit radikal üretimi artar. Mitokondri solunum zinciri başlıca hücre içi ROS üretim kaynağıdır. Normal solunum zinciri olayları sırasında sürekli olarak süperoksit radikali oluştuğu düşünülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, diyabetteki patolojilerin birçoğunun artmış mitokondriyal ROS üretimi ile ilintili olduğunu göstermektedir (33,43). Hiperglisemi aracılı ROS üretiminde ikinci mekanizma proteinlerin glikasyonu ve AGE ürünlerinin oluşumudur. Proteinler yüksek glukoz konsantrasyonları ile karşılaştıklarında, glukoz bir enzimin aracılığına gereksinim duymadan proteine bağlanarak kontrolsüz glikasyon reaksiyonlarına neden olur. Glikasyona uğramış protein, moleküler oksijene bir elektron vererek serbest oksijen radikali oluşumuna neden olur. Bu enzimatik olmayan reaksiyon sonrasında AGE ürünleri oluşmaktadır (44). İleri glikolizasyon ürünleri, endotelin-1 aracılığıyla vazokonstriksiyonu arttırarak endotel hasarına yol açtığı gibi, kompleks biyokimyasal mekanizmalarla serbest radikal üretebilme kapasitesine de sahiptirler. Yine AGE'lerin toksik etkileri arasında; proteinlerin yapılarını ve fonksiyonlarını değiştirebilmeleri, kendi reseptörleri ile oksidatif stresi indükleyebilmeleri yer almaktadır (45). Reaktif oksijen radikal üretiminin üçüncü yolu ise poliol yolağıdır. Yüksek glukoz konsantrasyonu, poliol yolu ile sorbitol üretimine neden olur. Bu yoldaki aldoz redüktaz

enzim aktivitesi için NADPH kullanıldığından hücre içi NADPH tüketilir. Okside glutatyonun redükte forma çevrilebilmesi ve nitrik oksit (NO) sentezi için NADPH gereklidir. Bu nedenle sorbitol yolunun aktif olması ve sonuçta NADPH'nin yokluğu hücrenin antioksidan kapasitesinin sınırlanması anlamına gelmektedir (46). Redükte glutatyonun ve vazodilatasyonda görev yapan NO sentezinin azalması endonöronal kan akımının azalmasına dolayısıyla endonöronal hipoksi veya iskemiye yol açmaktadır. Bu olayın sonucunda nöronal hücre, schwann hücrelerde hasar meydana gelmektedir (47).

### **2.2.2.3 Vasküler hipotezler**

Vasküler kapiller endotel hücrelerinin şişmesi, damar duvarının kalınlaşması ve kapiller lümenin fibrin veya agregasyona uğraması ve plateletlerle oklüzyonu değişik çalışmalarda gösterilmiştir (48). Diyabetiklerde, fokal nöropatinin klinik bulgularının ani başlangıcı vasküler nedeni destekler. Nitrik oksit yapımında azalma, eikosanoid yapımında anormallikler ve oksidatif yolda artış, endonöral mikrovaskülarizasyonda vazokonstriksiyona ve sinir hipoksisine neden olur (49).

### **2.2.2.4 İmmünolojik mekanizmalar**

İnsüline bağımlı diyabetik hastalarda, sempatik gangliaya karşı otoantikolar gelişmektedir. Diyabetik hastaların sural sinir biopsisinde endonöral veya epinöral lenfositik infiltrasyon gösterilmiştir. Kronik inflamatuvar demiyelinizan polinöropati ile diyabetik nöropatinin birlikteliği de immün veya sitotoksik faktörleri düşündüren bulgulardır (50).

### **2.2.3 Diyabetik nöropatinin sınıflandırılması**

Diyabetik nöropati sinir sisteminin belli bölgelerini tek veya birlikte tutan bir grup klinik sendromdur. Diyabetik nöropatinin sınıflandırılması 1988 yılında San Antonio'da düzenlenen diyabet konferansında gerçekleştirilmiş ve aşağıda görüldüğü gibi sınıflandırılmıştır (51).

#### **A.Subklinik nöropati**

1. Anormal diagnostik testler
  - a. Sinir ileti hızında azalma
  - b. Uyarılmış kas veya sinir aksiyon potansiyelinin azalması
2. Anormal kantitatif duyu testi

- a. Vibrasyon-dokunma
  - b. Sıcak-soğuk testi
  - c. Diğer
3. Anormal otonomik fonksiyon testleri
- a. Sinüs aritmisi
  - b. Sodomotor fonksiyonda azalma
  - c. Pupiller latans artışı

## B.Klinik nöropati

### 1. Yaygın nöropati

- a. Distal simetrik sensorimotor polinöropati (İnce lif nöropatisi, Kalın lif nöropatisi, Karışık tip)

- b. Otonom nöropati

- anormal pupil fonksiyonu (myozis ve dilatasyon bozuklukları),
- lakrimal gland disfonksiyonları,
- kardiyovasküler bozukluklar (ortostatik hipotansiyon, istirahat taşikardisi, ağrısız miyokard infarktüsü, uzamış QT düzeyine bağlı ani ölüm)
- sudomotor fonksiyon bozukluğu,
- genitoüriner otonomik nöropati (mesane fonksiyon bozukluğu, seksüel fonksiyon bozukluğu),
- gastrointestinal otonomik nöropati (mide atonisi, safra kesesi atonisi, diyabetik ishal, hipogliseminin varlığından habersizlik, hipoglisemiye duyarsızlık)

### 2. Fokal nöropati

- a. Mononöropati (üst veya alt ekstremite)
- b. Mononöropati multipleks
- c. Poliradikülopati (L2, L3, L4 kökleri; diyabetik amyotrofi, T4-T12 kökleri; diyabetik torasik radikülopati, S1 (S2) kökleri, C5-C6 (C7,T1) kökleri)
- d. Kranial nöropati
- e. Pleksopati

#### 2.2.3.1 Distal simetrik polinöropati

Diyabetik nöropatinin en sık rastlanan klinik tipidir. Genellikle sinsiz başlar ama ani ortaya çıkabilir. Sensoryal veya motor, her iki lif tipini de tutan özellikte olmakla birlikte

ağırlıklı tutulum sensoryaldır. Sıklıkla alt ekstremitelerde simetrik duyu kaybı ile karakterizedir. Duyu aksonlarının kaybına paralel olarak progresif distal duyu kaybı ile birlikte ciddi vakalarda motor güçsüzlük ve motor aksonal kayıp gözlenmektedir. Klasik eldiven-çorap tarzı duyu kaybı bu nöropati için tipiktir. Hastalarda polinöropatiyi gösteren ve en sık karşılaşılan belirtiler bacaklarda, distallerde belirgin karıncalanma, soğukluk hissi, ağrı ve parestezilerdir. Bunlar geceleri daha fazla duyulur.

#### **2.2.3.1.1 Küçük lif nöropatisi (C fiber)**

Küçük lif tutulumunda daha çok alt ekstremitelerde ağrı ve paresteziler vardır. Semptomlar geceleri artar ve çoğunlukla ayaklarda olur. Ağrı şiddeti ve karakteri farklıdır. Ağrı yanıcı ve kesici olarak tanımlanır. Ağrılar o kadar dayanılmaz olabilir ki hastalarda intihar girişimi yaratabilir. Zedelenen bu sinirlerin tahribatı tam olduğunda bu parasteziler kaybolur. Derin tendon refleksi ve motor muayeneler normaldir. Etiyolojide nörovasküler dolaşımın bozulmasının yanı sıra belli nöral antijene sahip cilt sinir liflerinde azalma sözkonusudur. Hastalarda termal eşikte ve otonom testlerde gerileme, ayak ülseri riskinde artış, normal EMG, giderek hissizlik, otonom etkilenmeye bağlı terlemede azalma, kuru cilt ve vazomotor bozukluklar nedeniyle soğuk ayak vardır. Ayak ülseri ve gangren en önemli risktir (52).

#### **2.2.3.1.2 Büyük Lif Nöropatisi (A Delta Fiber)**

Hem duyu hem de motor sinirleri tutar. Küçük liflerin aksine bunlar miyelinli olup baş paraktan başlar ve ilk sinapsisleri medulla oblongatadadır. En önce tutulan liflerdir. Çünkü en uzun olanlardır. Myelinli lifler oldukları için elektromiyogramda subklinik anormallikler saptanır. Vibrasyon, pozisyon, dokunma ve basınç hissi kaybı ile birlikte ağrısız parestezi ile karakterizedirler (53). Kan akımında bozukluk yoktur ve ayaklar sıcaktır. Ayak kemiklerinde osteopeni vardır. Ataksi, düşme eğilimini ve fraktür riskini artırır. Derin tendon refleksleri azalır. Diyabetik periferik otonomik nöropati ile birlikte periferik vasküler hastalık, travmatik ayak ülserine yol açar. Çoğu hastada ince ve kalın lif nöropatisi birlikte gözlenir. Kalın lif tutuluşunda daha yüksek, ince lif tutuluşunda daha alçak düzeyde çorap tarzı bir nöropati sözkonusudur.

#### **2.2.3.2 Otonom nöropatiler**

Semptomların varlığına göre semptomatik veya asemptomatik olarak sınıflandırılmaktadır. Diyabetik otonom nöropati sıklıkla distal simetrik polinöropatiye eşlik

eder. Küçük myelinli ve myelinsiz sinir liflerinin diyabetteki tutulumu ile birlikte. Tüm organları etkileyebilir, sinsi başlayabilir. Görülme sıklığı hastanın yaşı ve diyabet yılı ile artar. Başlıca pupil, ter bezleri, genitoüriner sistem, gastrointestinal sistem, adrenal medullar sistem ve kardiyovasküler sistem etkilenebilir. Tanıdan sonraki ilk yılda bile ortaya çıkabilir.

Otonom sinir sisteminin değerlendirilmesinde klinik testler (postural kan basıncı ve nabız değişiklikleri, elektrokardiyografideki R-R interval ölçümleri, valsalva manevrası, izometrik egzersizle kan basıncı değişiklikleri, terleme testi, soğuk immersiyon testi, apneik fasial immersiyon testi, pupil innervasyonunun değerlendirilmesi) ile elektrofizyolojik testler (sempatik deri yanıtları, eksternal üretral sfinkter EMG'si, bulbokavernöz refleks, serebral uyarılmış potansiyeller, üroflowmetri yardımcıdır (54).

Postural hipotansiyon en sık bulgudur. Posture bağlı olarak ortaya çıkan baş dönmesi ve senkopla karakterlidir. Periferik ve santral sempatik denervasyon sonucu gelişir. Hem splanknik hem de periferik vasküler yataktaki vazokonstriksiyon yetersizliğini yansıtmaktadır. Ortostatik hipotansiyon, ayağa kalktıktan sonra 3 dakika içinde sistolik KB'nın 20 mmHg, diastolik kan basıncı 10 mmHg düşmesi ile tanınır. (55). Kardiyak sempatik sisteme ait ağrı lifleri tutulabileceğinden sessiz myokard enfarktüsü oluşabilir. Otonom nöropatinin en ağır komplikasyonu kardiyak sempatik innervasyondaki bozukluklara bağlı olarak gelişen Q-T mesafesi uzaması sonucu gelişen aritmi ve ani ölümlerdir.

Genitoüriner tutulumla atonik mesane, taşma inkontinansı, impotans, ejakülasyon yetersizliği, azalmış vajinal salgılama olur. Mesane hissi ve refleks mesane kontraksiyonunun afferent sinir uyarıları spinal korda sempatik, parasempatik ve somatik sinirlerle taşınır (56). En erken görülen, mesane otonomik disfonksiyonu algılama bozukluğu olup mesane kapasitesi ve retansiyonunda asemptomatik artış olmaktadır. Erigent sinirlerin parasempatik liflerindeki harabiyet, bu sinirlerin penis arterlerini dilate ederek penisin korpora kavernoza ve korpus spongiosumunun kanla angorjmanını sağlar, komplet ve irreversible impotansa neden olur. Libido genelde normaldir (57).

Gastrointestinal tutulumda; özofagus peristaltizm bozukluğu, gastrik hipomotilite, pilorospazm, kabızlık, diyare olur. Vagus nöropatisi mide boşalmasını geciktirir. Midenin asit salınımını bozar. Mide boşalmasındaki gecikme kan şekeri ayarlamasını zorlaştırır. Nöropatisi olan hastaların %90'nı konstipasyondan yakınıdır. Genelde intermitant olup diyare ile alternatif olarak ortaya çıkar. Günlük gayta miktarı 200 gr üzerindedir. Motilite bozukluğu mide ve ince

barsak stazına neden olur. Bu staz bakterilerin üremesini kolaylaştırır. İnce barsağın üst kısmındaki bakteriler safra tuzlarının konjugasyonunu ve miçel formasyonunu önleyerek steatore ve diyareye neden olur. Sıkı glisemik kontrol diyabetin gastrointestinal sistem bulgularını azaltabilir

### **2.2.3.3 Poliradikülopati**

Bu diyabetik nöropati tipi değişik presentasyonlarla olabileceğinden literatürde çoğunlukla diyabetik amniyotrofi ve diyabetik torasik poliradikülopati olmak üzere değişik terimlerle anılmaktadır. Ancak diyabetik nöropatinin bu formları muhtemelen poliradikülopatinin alt sınıflarıdır (58). Poliradikülopatinin birçok alt grubu farklı sendromlar olsa da ortak klinik özellikler de taşımaktadırlar. Etkilenen bireyler genellikle yaşlı olup periferik nöropatileri de bulunmaktadır.

#### **2.2.3.3.1 Diyabetik amniyotrofi (proksimal diyabetik nöropati, lumbal poliradikülopati)**

Diyabetik poliradikülopatinin en sık görülen tipidir. Sadece lumbosakral pleksopati olmayıp lumbosakral sinir kökleri ve periferik sinirleri de etkilemektedir. Akut veya subakut, gürültülü, sıklıkla asimetrik başlangıçla dikkati çeker. Genellikle bir alt ekstremitede, örneğin kalça ya da uylukta şiddetli ağrı ile başlar ve günler içerisinde kuvvetsizlik ve atrofi görülür. Bir çok olguda 8-12 ay içinde spontan kısmi veya tam düzelme gösterilmiştir. Başlangıçtan kısa bir süre sonra pelvifemoral kaslarda güçsüzlük ve atrofi ortaya çıkar. Patogenezi bakımından iskemik faktörlerin ağır bastığı söylenir. Bununla beraber metabolik faktörlerden de bahsedilir. Akut ağrıyı izleyen proksimal ve distal zaafiyet ile giden klinik tablo birçok kere kompresif santral radikülopati ile karışır (59).

#### **2.2.3.3.2 Torasik poliradikülopati**

Lumbal diyabetik poliradikülopatiden daha az görülmekle birlikte belirgin semptomlara neden olabilir. Etkilenen hastalar ayırıcı tanıya gitmek için çok pahalı ve ileri gastrointestinal incelemelerin yapıldığı şiddetli karın ağrısı ile başvurabilirler (60). Tek taraflı, asimetrik olarak sinir kökünün etkilendiği bir sensoriyel nöropatidir. Daha ziyade yaşlı ve uzun süreli diyabetiklerde görülür. Her iki cinsten eşit görülür. Genellikle periferik nöropatiyle ilişkilidir ve diyabetik kaşeksiye benzeyebilir. Tutulan kök bölgesindeki hiperestezi nedeniyle akut abdominal veya torasik ağrı ile karışabilir. Zonadaki erken ağrı veya neoplazi ağrılarında

benzer. İç organ kökenli ağrılar ve herpes zoster enfeksiyonu ayırıcı tanısı yapılmalıdır. Gece ağrı artabilir.

### **2.2.3.3.3 Diyabetik nöropatik kaşeksi**

Akut ağrılı polinöropatinin bir formudur. Sıklıkla orta yaş veya daha yaşlı oral antidiyabetik kullanan Tip 2 DM'si olan erkek hastalarda gözlenmektedir (61). Hasta hızla kilo kaybeder (20-25 kg), buna ağrılı polinöropatinin özellikleri eşlik eder. Çoğu hasta 12-24 ay içerisinde düzelerken bir kısmında rezidü nörolojik defisitler kalabilir.

### **2.2.3.4 Mononöropatiler**

#### **2.2.3.4.1 Kranial mononöropatiler**

Diyabet seyrinde sıklıkla 3. sinir felçleri gözlenir. Daha çok ileri yaşta glisemi kontrolü kötü olan hastalarda ortaya çıkar. Olguların yarısında aynı göz çevresinde ağrı mevcuttur. Aylar içerisinde spontan düzelmeler gözlenir. 6. kranial sinir tutulması da nadir değildir.

#### **2.2.3.4.2 Periferik mononöropati**

Diyabetik hastalarda en sık görülen mononöropati median sinir nöropatisidir (62). Bununla birlikte özellikle risk altındaki sinirler; fibula başında peroneal sinir, dirsekte ulnar sinir, bilekte median sinirdir. Kranial sinir tutuluşundan daha yavaş iyileşirler ama genellikle 6-8 haftada düzelebilirler.

#### **2.2.3.4.3 Mononöritis multiplex**

Aynı hastada multipl mononöropatilerin olmasına mononöritis multiplex veya asimetrik polinöropati denmektedir.

### **2.2.3.5 Akut polinöropatiler**

#### **2.2.3.5.1 Akut ağrılı polinöropati**

Nadir görülen bir polinöropati formudur. El ve ayaklarda çok şiddetli yanıcı-yakıcı ağrılı bir tablodur. Dokunmak bile çok şiddetli ağrılar oluşturabilmektedir. Bu tablo daha çok distal simetrik polinöropati tablosu üzerine eklenmiş distal ağrılı polinöropati olarak karşımıza çıkar. Burada yapılması gereken çok iyi bir glikoz kontrolü sağlamaktır.

## 2.2.4 Diyabetik nöropatide klinik

Diyabetik periferik polinöropati başlangıçta distal alt ekstremiteleri etkileyen primer olarak simetrik bir duyuusal polinöropatidir. Hastalığın ilerlemesi ile birlikte duyu kaybı proksimale ilerler ve ellerin tutulumu gözlenir. Böylece ‘eldiven-çorap’ tarzı duyu kaybı oluşmuş olur. Motor defisit ise daha ciddi vakalarda gelişmektedir.

### 2.2.4.1 Semptom ve bulgular

Diyabetik polinöropatinin en erken belirtileri hem büyük hem de küçük myelinize ve myelinize olmayan sinir liflerinin bütünlüğünün kademeli kaybını yansıtmaktadır. Böylece büyük sinir liflerinin kaybı ile vibrasyon duyusunda kayıp ve propriosepsiyon duyusunda değişiklik, küçük sinir liflerinin kaybı ile de ağrı, ısı ve hafif dokunmada bozulma olmaktadır (63).

Ayak bileği refleksinin azalması veya kaybı erken diyabette gözlenirken geniş refleks kayıpları ve motor kuvvetsizlik diyabetin ilerlemesi ile gözlenmektedir.

Semptomlar iki tiptir;

**1.Negatif semptomlar;** nöronal hipofonksiyon ile gelişir. Taktil ve diğer mekanoreseptör duyularda kayıp, duyuusal ataksi, termal ve ağrı duyuları kaybı, erkeklerde empotans, gastroparezi, sudomotor kayıp gibi otonomik bozukluklar ve atrofidir.

**2.Pozitif semptomlar;** olasılıkla nöronal hiperfonksiyon nedeniyledir. Karıncalanma, sıkıca bastırılma duyusu, parmak ve ayakların altında pamuk varmış hissi veya ağrıdır.

## 2.2.5 Diyabetik nöropatide tanı ve ayırıcı tanı

Geçmişte diyabetik polinöropatinin tanısı semptom ve bulguların subjektif değerlendirilmesine dayanmaktaydı. 1988’de diyabetologlar ve nörologlar, diyabetik nöropati tanı ve takibi için San Antonio Konsensus bildirisini yayınladılar (51). Mayo klinik de, benzer belirti skorlarını, kantitatif incelemeleri ve elektrofizyolojik ölçümleri kullanarak diyabetik nöropati için kriterler geliştirdi. Her iki gruba ait kriter de rutin klinik kullanım için pratik değildir. Basitleştirilmiş kriterleri içeren iki tarama testi geliştirilmiştir. Bunlar, Birlesik Krallık tarama testi ve Michigan nöropati tarama testidir. Diyabete özgü polinöropati yoktur. Diyabetik nöropati tanısı için öykü ve fizik muayene bulgularının ve hastanın klasik klinik



değerlendirmesinin yanısıra; morfolojik, ve elektrofizyolojik incelemeler, kantitatif sensoryal testlerin yapılması büyük önem taşır.

### 2.2.5.1 Birleşik Krallık tarama testi:

Basit belirti skoru ve fizik muayeneden oluşan iki parçalı tanısal testtir (64).

#### Belirti skoru:

1. Hastanın hissettiği nedir?
  - a) Ayakta yanma, acıma, uyuşma (2 puan)
  - b) Yorgunluk, kramp, ağrı (1 puan)
2. Belirtilerin lokalizasyonu neresi?
  - a) Ayaklar (2 puan)
  - b) Baldır (1 puan)
3. Belirtiler gece uyandırıyor mu?
  - a) Evet (1 puan)
4. Belirtiler ne zaman ortaya çıkıyor?
  - a) Gece kötüleşiyor (2 puan)
  - b) Gece ve gündüz var (1 puan)
  - c) Sadece gündüz var (puan yok)
5. Belirtiler nasıl geçiyor?
  - a) Yürüyerek (2 puan )
  - b) Ayakta dikilerek (1 puan)
  - c) Oturarak/ yatarak/ geçmiyorsa (puan yok)

#### Fizik muayene skoru:

1. Aşıl tendon refleksi
  - a) Yok (her ayak 2 puan)
  - b) Zor alınıyor (her ayak 1 puan)
2. Titreşim duyusu
  - a) Yok veya azalmış (her ayak 1puan)
3. İğne ile dokunma duyusu
  - a) Yok veya azalmış (her ayak 1puan)
4. Isı duyusu
  - a) Azalmış (her ayak 1 puan)

**Total semptom skor değerlendirmesi:**

0-2: Normal

3-4: Hafif nöropati

5-6: Orta derecede nöropati

7-9: Ciddi nöropati

**Fizik muayene skor değerlendirmesi:**

0-2: Normal

3-5: Hafif nöropati

6-8: Orta derecede nöropati

9-10: Ciddi nöropati

Semptom olmaksızın fizik muayene skoru  $\geq 6$  ise veya orta derecede semptom varlığında ( $\geq 5$ ) fizik muayene skoru  $\geq 3$  ise periferik nöropati vardır. Fizik muayene skoru  $\geq 8$  ise hastanın ayağı ülserasyon açısından yüksek risklidir.

**2.2.5.2 Michigan Nöropati Tarama Testi:**

Poliklinik hastalarında kullanılabilecek basit bir tarama testi olarak dizayn edilmiştir. Çok sayıdaki hastada diyabetik nöropati varlığını taramak için uygun bir sistemdir (65).

1. Ayak muayenesi

a) Kuru cilt (1 puan)

b) Nasır (1 puan)

c) Yarık (1 puan)

d) İnfeksiyon veya deformite (1 puan)

e) Ülser (ek 1 puan)

2. Titreşim duyusu

a) Azalmış (0.5 puan)

b) Yok (1 puan)

3. Aşil tendon refleksi

a) Yok (1 puan)

b) Zor alınıyor (0.5 puan)

Skor > 2 ise nöropati varlığını %95 özgüllük ve %80 duyarlılık ile gösterir.

### **2.2.5.3 Elektrodiagnostik ölçümler**

Diyabetik hastaların elektrofizyolojik incelemeleri çoğu zaman nonspesifik aksonal dejenerasyon ve beraberinde segmenter demiyelinizasyon bulguları içerir (66). Hiçbir elektrodiagnostik sonuç diyabet için spesifik değildir. Edinilmiş ve herediter birçok polinöropati tablosunda da elektrofizyolojik bulgular benzer özellikler göstermektedir. Saptanan polinöropati tablosunu açıklayacak başka bir hastalığın olmaması, klinik veya subklinik diyabet tablosunun varlığı nedeniyle diyabetik nöropati tanısı konur (67). Genellikle distal simetrik sensorimotor polinöropatide klinik tutulum alt ekstremitelerde belirgin olduğu için EMG ve ENG'ye ait bozukluklara bacak kas ve sinirlerinde rastlanır. Sinir lifi patolojisinde ağırlıklı olarak aksonal dejenerasyon söz konusudur. Motor sinir liflerinin tutuluşu daha geri planda ve seyrekler. Diyabetik nöropatide en sık ileti hızı ve konvansiyonel iğne elektromyografisi kullanılır. Elektromiyografi ile üst ve alt ekstremitelerde motor ve sensoryel sinir ileti hızları ölçülebilir. Diyabetik nöropatinin erken döneminde olguların yaklaşık % 30'unda denervasyon potansiyelleri pozitif olabilir. Hastalığın daha kronik gidişinde ise hafif ya da orta derecede motor ünite potansiyelleri sürelerinde artış gözlenebilir. İğne EMG'sinde intrensek ayak kaslarında, spontan difazik ve pozitif denervasyon aktivitesi ile motor ünitelerde sayısal azalma ve yer yer geniş süreli polifazik motor ünite değişmelerine rastlanır. Bu bulgu parsiyel denervasyon ve kollateral reinnervasyon için oldukça tipiktir.

### **2.2.6 Diyabetik nöropatide tedavi**

Diyabet tanısı ilk konduğunda PNP'nin önlenmesi için hemen ve sıkı bir tedaviye geçmek gerekir, çünkü diyabetik PNP ne kadar erken yakalanırsa o denli rejenerasyon şansı yüksektir.

Diyabetik simetrik distal nöropatinin belirli bir noktadan sonra geri döndürülemeyeceği bilinmelidir. Sinir hasarını engellemek veya düzeltmek için bu hastaların normal ya da normale yakın kan glikozu kontrollerinin sağlanması gerekmektedir. Ayrıca mikrovasküler iskemi için risk oluşturan sigara, alkolün bırakılması, tansiyon, kolesterol ve obezitenin kontrol altında tutulması gerekir.

### **2.2.6.1 Hipergliseminin kontrolü**

Kronik hiperglisemi, diyabetik nöropatinin gelişmesinde başlıca risk faktörü olarak bilinmektedir. Prediyabetik nöropatide glukoz tolerans bozukluğuna bağlı ağrılı nöropatisi olan hastalarda yaşam tarzını değiştirme amaçlı girişimlerin (diyet ve egzersiz), ağrılı belirtilerin genel olarak iyileşmesini, yemekten 2 saat sonraki glikoz düzeyinde anlamlı bir azalma olmasını ve proksimal intraepidermal sinir liflerinin yoğunluğunda, nöropatik ağrıyı azaltacak ve sural duysal amplitüdü değiştirecek bir değişiklik sağladığı gösterilmiştir (68). Diyabetik nöropatinin spektrumu içindeki bazı sendromlar, örneğin, üçüncü kranial sinir lezyonları, asimetrik proksimal alt ekstremitte motor nöropatisi ve akut ağrılı diyabetik nöropati hipergliseminin kontrolüne iyi yanıt verir.

### **2.2.6.2 Farmakolojik tedaviler**

Farmakolojik tedavinin temel ilkeleri; patogeneze uygunluk göstermek, semptomatik etki sağlamak, nöropati gidişini yavaşlatmak, durdurmak ve hatta geri döndürmek olmalıdır.

#### **2.2.6.2.1 Patogeneze yönelik ilaçlar**

##### **2.2.6.2.1.1 Aldoz redüktaz inhibitörleri**

Aldoz redüktaz inhibitörleri olan sorbinil tolrestat, alrestatin, ponalrestat, epalrestat ile yapılan hayvan deneylerinde sinir ileti hızlarının düzeldiği gösterilmiştir. Aynı zamanda epalrestatin uzun vadeli klinik etkilerini gösteren bir çalışmada ilacın bazı nöropatik belirtileri hafiflettiği öne sürülmüştür (69).

##### **2.2.6.2.1.2 Miyoinositol**

Potansiyel yararları sinir hasarını engelleyebilmeleridir. Bu yüzden en yararlı etki en erken evrede verilmeleri sayesinde olacaktır. Diyete myoinositol ilavesinin, sinir ileti değerlerini ve sinir Na-K ATPaz aktivitesini düzelttiği gösterilmekle birlikte insanlarda semptom, bulgu ve elektrofizyolojik parametrelerde düzelme bulunamamıştır.

### **2.2.6.2.1.3 Gama linoleik asid**

Gama linoleik asid (GLA), nöron membran fosfolipidlerinin önemli bir komponenti olup, sinir kan akımının korunmasında önemli rolleri vardır. Diyabette linoleik asidin gama linoleik aside dönüşümü bozulmuştur. Gama linoleik asid ve metabolitlerinin azalması normal sinir yapısı ve fonksiyonu ile mikrosirkülasyonda bozulmalara neden olabilmektedir (70). Yapılan deneysel diyabetik nöropati çalışmasında GLA'nın sinir ileti hızı, Na-K-ATPaz aktivitesinde olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir (71).

### **2.2.6.2.1.4 AGE inhibitörleri (Aminoguanidin)**

Dolaşımdaki AGE peptidleri, kollajenle kuvvetli bir şekilde çaprazlaşma oluşturarak diyabetik mikrovasküler komplikasyonlarda rol oynamaktadır. AGE inhibitörü olan aminoguanidinin eksperimental nöropatide endonöral mikrosirkülasyonu düzelterek etkili olabileceği gösterilmiştir (72).

### **2.2.6.2.1.5 Protein kinaz C inhibitörleri**

Ruboksistaurin oral olarak kullanılabilen bir protein kinaz C inhibitörü olup yapılan 1 yıllık randomize, plasebo kontrollü, çift kör çalışmada semptomları belirgin olmayan diyabetik nöropati sub grubunda duyuşal semptomları azaltarak ve sinir lif fonksiyonlarını iyileştirerek etkili olabileceği gösterilmiştir (73). Protein kinaz C inhibitörleri ile tedavide ortaya çıkan faydalı sonuçlar sadece protein kinaz C inhibisyonu ile ilgili olmayıp, DM'de artmış oksidatif stresi azaltarak da etkili olmaktadır.

### **2.2.6.2.1.6 Nörotrofik Tedavi**

Sinir büyüme faktörleri (nörotrofinler), sinir sisteminin gelişimini, farklılaşmasını ve devamlılığını sağlarlar. Yapılan çalışmalarda DM'de nörotrofin desteğinin bozulduğu ve bu durumun diyabetik nöropati patogeneğine katkıda bulunabileceği görüşünün ortaya çıkmasına neden olmuştur (74). Nörotrofik faktörlerin duyuşal nöronlarda hasara karşı nöroprotektif rollerinin olduğunun ortaya konmuş olması bu ajanların nöropatik ağrı durumunun tedavisinde etkin olma ihtimallerinin test edilmesi gereğini ortaya koymuştur. Nörotrofinlerin aktif kısımları izole edilememiştir ve dozları azaltılıp oral verilememektedir. Nörotrofik faktörlerle nöropatilerin önlenmesi tedavisini amaçlayan preklinik araştırmalar olumlu sonuçlar vermekle birlikte, bu güne kadar yapılan klinik çalışmalarda birbiri ile uyumsuz sonuçlar elde edilmiştir (75).

### **2.2.6.2.1.7 Vasodilatatör ilaçlar**

Birçok vasodilatör ilacın, sinir fonksiyonunu ve endonöral kapiller anormallikleri düzelttiği rapor edilmiştir. Bunlar, noradrenerjik antagonistler, kalsiyum kanal blokerleri, renin-anjiyotensin sistem inhibitörleri, çeşitli prostanoid analogları ve nitratlardır. Pentoksifilin kan akımı ve doku perfüzyonu üzerine birçok olumlu etkileri bulunmaktadır. Pentoksifilin kullanılan ratlarda sinir iletim hızında ve kan akımlarında düzelme olduğu deneysel olarak gösterilmiştir (76).

### **2.2.6.2.1.8 Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF)**

Deneysel çalışmalar iskemiye cevaben VEGF düzeylerinin arttığını ve nöronal bütünlüğün sağlanmasında ve Schwann hücrelerinin hipoksik ölümünün engellenmesinde anahtar rol oynadığını göstermişlerdir (77,78).

### **2.2.6.2.1.9 İmmünsüpresif tedavi**

Proksimal diyabetik nöropati veya amyotrofi saptanmış olguların patogenezinde inflamatuvar vaskülopatinin önemli olduğu düşünülmektedir. Diyabetik amniyotrofinin doğal seyrine uygun, geçerliliği kabul edilen tedavi yöntemleri, intravenöz immünglobülin (IVIG) veya kortikosteroid gibi immünomodülatör ajanlarla olan tedavilerdir (79). Kendiliğinden gerileme eğilimi olan bu nöropatilerde uygulanan immünomodülatör tedavilerin etkili olup olmadığı tartışılmakla birlikte, bu tedaviler birçok merkezde ağır seyirli ve yeterli düzelme göstermeyen olgular üzerinde denenmektedir. Kortikosteroid tedavisine iyi cevap alınmakta ve IVIG'e göre tedavi maliyeti az olmaktadır fakat, steroid uygulamalarında kan şekeri regülasyonu güçleşebilmektedir. Diyabetik hastalarda yüksek doz IVIG'in kısa sürede verilmesi akut böbrek yetmezliğine neden olabileceğinden yan etkiler açısından dikkatli olunmalıdır.

### **2.2.6.2.1.10 Alfa lipoik asid**

Oksidatif stres ve azalmış antioksidan kapasite diyabetik nöropati için major patogenetik komponentlerdir. Alfa lipoik asid (ALA), antioksidan olup serbest radikal temizleyicisi olarak görev yapmaktadır. Alfa lipoik asid hem suda hem yağda çözünebildiğinden genel antioksidan olarak adlandırılmaktadır. Genel olarak karaciğer, ıspanak ve bira mayası gibi besin maddelerinden sağlanmaktadır. Birçok prospektif plasebo kontrollü çalışmada ALA ile diyabetik nöropati arasındaki faydalı ilişki gösterilmiştir (80,81).

SYDNEY 1 çalışmasında 3 hafta süresince günlük ALA infüzyonunun ağrı, parestezi ve hissizliği azalttığı gösterilmiştir (82). SYDNEY 2 çalışmasında ise 5 hafta süre ile değişik dozlardaki (600,800,1200 mg) oral ALA kullanımı ile plasebo karşılaştırılmış (83). Alfa lipoik asid dozları ile nöropati total skoru arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiş. Klinik olarak anlamlı cevap kabul edilen nöropati semptomlarında  $\geq$  %50 azalma olması ALA kullanan grupta plaseboya göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. ALA için optimal doz 600 mg/gün olup bulantı, kusma ve baş dönmesi gibi yan etkilerden dolayı daha yüksek dozlar kullanılmamalıdır.

### 2.3 Ağrı

Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği (IAPS) tarafından yapılan tanımlamaya göre ağrı; vücudun belirli bir bölgesinden kaynaklanan, bir doku harabiyetine bağlı olan veya olmayan, insanın geçmişteki deneyimleriyle de ilgili hoş olmayan emosyonel ve sensoryal bir duygudur.

#### **Genelde ağrı 3 geniş kategoriye ayrılabilir.**

**1.Nosiseptif ağrı:** Ağrı reseptörlerinin aktivasyonuna bağlıdır. Somatik ve visseral ağrı olarak iki tipi vardır. Bu ikisi arasındaki temel farklılık somatik ağrının duyuşal lifler ile visseral ağrının ise sempatik lifler ile taşınmasıdır. Somatik ağrı, sızlama şeklinde, bıçak batar gibi, zonklama, basınç hissi gibi tarif edilir. İç organlardan kaynaklanan ağrı, obstrüksiyona bağlı ise kemirici ve kramp şeklinde, organ kapsülü ve mezenteri etkilemişse sızlama ve zonklama şeklindedir

**2. Nöropatik ve dizestezik ağrı:** Sinir sistemi hasarından oluşur ve anormal fizyolojik mekanizmalar ile yayılır. Nöropatik ağrı lezyon veya disfonksiyonun meydana geldiği yere bağlı olarak periferik veya santral olmak üzere iki sınıfa ayrılır. Periferik nöropatik ağrıya; metabolik hastalıklar neden olurken, santral nöropatik ağrıya spinal kord veya beyin hasarı neden olur. Nöropatik ağrı enfeksiyonlar (örneğin: herpetik nevralji, HIV nöropatisi) , ilaç tedavisi (sisplatin ve taksol indüklü nöropati) ve periferik sinir veya spinal kortta oluşan travmatik injürde görülebildiği gibi en sık sebebi diyabetik nöropatidir. Nöropatideki ağrı, nosiseptif veya dizestetiktir. Nosiseptör sonlanmaların sensitizasyonu, aktif aksonal dejenerasyon, A delta ve C liflerinin hasarı, rejenere aksonlardan oluşan ektoşik uyarılar, aksonal atrofi, periferik kan akımındaki değişiklikler, glisemik kontrol, dorsal kök ganglionundaki anormallikler dizestetik ağrının oluşumunda etkilidir.

**3.Psikojenik ağrı:** Afektif veya diğer psikiatrik hastalıklar sonucunda oluşur.

## 2.4 Ağrılı periferik diyabetik nöropati tedavisi

Diyabetik nöropatisi olan hastaların az bir kısmında ağrı semptomları olmaktadır. Tedaviye başlamadan önce ağrının nöropatiden kaynaklanıp kaynaklanmadığının gösterilmesi gerekmektedir. Tedavide farmakolojik ve nonfarmakolojik yaklaşımlar vardır.

### 2.4.1. Farmakolojik yaklaşımlar

Ağrılı diyabetik nöropatide farmakolojik ajanların kullanımı Tablo IV’de özetlenmiştir (84).

**Tablo IV.** Ağrılı diyabetik nöropatide kullanılan farmakolojik ajanlar

	<b>Önerilen İlaçlar ve Dozları</b>	<b>Önerilmeyen İlaçlar</b>
<b>Düzyey A</b>	Pregabalin, 300-600 mg/gün	Okskarbazepin
<b>Düzyey B</b>	Gabapentin, 900-3600 mg/gün	Lamotrijin
	Na valproat, 500-1200 mg/gün	Lakozamid
	Venlafaksin, 75-225 mg/gün	Klonidin
	Duloksetin, 60-120 mg/gün	Pentoksifilin
	Amitriptilin, 25-100 mg/gün	Meksiletin
	Dekstrometorfan, 400 mg/gün	Magnetik alan tedavisi
	Morfin sülfat, 120 mg/gün	Düşük intensite lazer
	Tramadol, 210 mg/g-n	Reiki
	Oksikodon, ort. 37 mg/gün, max. 120 mg/gün	
	Kapsaisin, %0.075 4 kez/gün	
	İzosorbid dinitrat sprej	
	TENS, 3—4 hafta	



## **2.4.1.1 Antikonvulzanlar**

### **2.4.1.1.1 Pregabalin**

$\gamma$ -amino bütirik asit (GABA), benzodiazepin reseptörleri üzerinde bilinen etkisi olmayan, yapısal olarak gabapentin ile ilişkili, alfa-2-delta ligandıdır (85). Glutamat, substans P ve kalsitonin gen ilişkili peptit gibi uyarıcı nörotransmitterlerin salınımının presinaptik inhibitörü olarak rol oynar. Ağrıda düzelme, tedavinin ilk haftası gibi erken dönemde ortaya çıkmakta ve devam etmektedir. Pregabalin sistemik dolaşımdan esas olarak renal yolla değişmemiş ilaç şeklinde atılır. Pregabalin tedavisinin önerilen başlangıç dozu, aç ya da tok karnına günde iki kez 75 mg'dır (150 mg/gün). Klinik çalışmalarda 150 ila 600 mg/gün dozunda pregabalin alan hastalarda etkinlik kanıtlanmıştır. Hastaların çoğunluğu için en uygun doz günde iki kez 150 mg'dır. Yan etkileri arasında; baş dönmesi, sersemlik hissi, koordinasyon bozukluğu, ataksi, diplopi, görmede bulanıklık, sedasyon ve konfüzyon sayılabilir (86).

### **2.4.1.1.2 Gabapentin**

Yapısal olarak GABA ile benzer olması nedeniyle ağrı, iletim ve modülasyonunda rol oynar. GABA ile kompetitif inhibisyona girerek etki gösterir. Beyinde GABA'yı artırır ve plazma serotonin düzeyini yükseltir. Ağrıyı azaltan etkisinin hangi mekanizma ile oluştuğu yeterince açığa çıkarılamamıştır. Ağrılı diyabetik nöropati üzerindeki etkinliği ile ilgili kanıtlar çelişkilidir. Randomize çift kör bir çalışmada gabapentinin plasebo ile karşılaştırıldığında ağrıyı azalttığı ve hayat kalitesini iyileştirdiği gösterilmiştir (87). Daha küçük randomize bir çalışmada ise plaseboya üstünlüğü gösterilememiştir (88). Monoterapide seçileceği gibi kombinasyon için de uygundur. Günlük ortalama dozu 3600 mg dozuna kadar çıkabilir. Yan etkileri somnolans, sersemlik hissi, gastrointestinal sistem yakınmaları, hafif periferik ödem, yürüyüş ve denge bozukluklarıdır.

### **2.4.1.1.3 Diğer antikonvulzanlar**

Valproik asidin 500-1200 mg/gün kullanılmasının diyabetik nöropatide ağrıyı azaltmada etkili olduğu gösterilmiştir (89). Ancak terotejenik etkisinden dolayı doğurgan çağıdaki kadınlarda nöropati tedavisinde tercih edilmemelidir. Karbamazepinin de nöropati

üzerine olumlu etkisi olmakla birlikte henüz randomize çalışmalarla diyabetik nöropati üzerindeki etkinliği değerlendirilmemiştir (90).

#### **2.4.1.2 Trisiklik antidepressanlar**

Sinapslarda norepinefrin ve serotonin geri alımını inhibe ederler. Hiperaleziye neden olan N-metil-D-aspartat reseptörünü antagonize ederler. Bu ilaçlar ağrının santral algılanmasını değiştirerek etkili olurlar. Depresyon tedavisinde verilen dozlardan daha düşük dozlarda ve daha kısa sürede (6 hafta içerisinde) diyabetik nöropatide etkili olmaktadır. Plasebo kontrollü, çift kör, randomize bir çalışmada amitriptilin ve desipraminin eşit etkinlikte ancak fluoksetin veya plaseboya üstün oldukları gösterilmiştir (91). Amitriptilin yatma zamanında 25 mg olarak başlanır ve giderek 100 mg'a kadar çıkılabilir. Postural hipotansiyon belirgin otonomik nöropatisi olan hastalarda problem oluşturabilir. Bu tür hastalarda, imipramin veya desipramin tercih edilebilir. Ancak desipraminin özellikle ağızda kuruluğu olmak üzere daha fazla yan etkisi bulunmaktadır. Hem amitriptilin hem de desipramin diyabetik ağrılı nöropatide pregabaline eklenerek kullanılabilir.

#### **2.4.1.3 Serotonin nörepinefrin geri alım inhibitörleri**

Duloksetin, çift etkili serotonin ve norepinefrin geri alım inhibitörüdür. Diyabetik ağrıda hızlı kontrol sağlar ve özellikle gece ağrıları gerilemede oldukça etkindir. En sık rapor edilen yan etkileri, bulantı, sersemlik, dikkat eksikliği ve konstipasyondur. Antikonvulzanlarla kombine olarak kullanılabilir. Amitriptilin ve duloksetin ile yapılan bir çalışmada tedavi öncesi değerlerle karşılaştırıldığında ağrıyı iyileştirmede her iki ajan da önemli ölçüde etkin bulunmuştur (92).

Venlafaksin, norepinefrin ve serotonin geri alımını engeller. 37.5-75 mg/gün ideal venlafaksin dozu olup, 3-7 günde artırılıp maksimum 225 mg/gün'e çıkılabilir. En sık yan etkileri bulantı ve uyku halidir.

#### **2.4.1.4 Opioidler**

Dekstrometorfan, oksokodon ve tramadol diyabetik nöropatide etkinliği küçük ölçekli çalışmalarla gösterilmiş ajanlardır. Opioidlerin kanser dışı ağrılarda uzun süreli kullanımları sonucu kötüye kullanım, bağımlılık ve aşırı doz kullanıldıkları gözlenmiştir (93). Uzun süreli etkinlikleri kanıtlanmadığından ve potansiyel yan etkilerinden dolayı diyabetik ağrılı nöropatilerde ilk tercih ilaç değildir.

### **2.4.1.5 Kapsaisin krem**

Bir çok acı biberden doğal olarak sağlanan kapsaisin lokal substans P eksikliğine neden olarak analjezi sağlamaktadır. Krem şeklinde topikal kullanıma uygundur. Kapsaisin, ağrı kontrolünde ılımlı ancak plasebodan istatistiksel olarak daha anlamlı ağrı kontrolü sağlamaktadır (94). Antidepresan veya antikonvulzanlara intoleransı olan hastalarda kapsaisin günde dört kez uygulanabilir. Yan etki olarak lokal yanma ve deri irritasyonu gözlenebilir ancak kronik kullanım ile genellikle tolere edilmektedir.

### **2.4.2 Nonfarmakolojik yaklaşımlar**

Akapunktur, transkutanöz elektriksel sinir uyarısı (TENS), spinal kord stimülasyonu, perkütanöz elektriksel sinir uyarısı (PENS), düşük intensiteli lazer tedavisi (LILT) farmakoterapiye cevapsız veya intoleranlı hastalarda kullanılabilen yöntemlerdir. Ancak bu tedaviler ile ilgili kanıtlar yetersiz olup TENS tedavisinin etkili olduğunu gösteren yayınlar bulunmaktadır (95).

### **2.5 Fisetin**

Fisetin (3,3',4',7-tetrahydroxyflavone), benzersiz bir flavanoid türevidir ve özellikle çilek, mango, elma, üzüm, soğan ve salatalık olmak üzere pek çok meyve ve sebze az miktarda bulunmaktadır (96). Fisetinin antikanser, anjiogenez inhibisyonu ve antiallerjik olmak üzere birçok farmakolojik özelliği tespit edilmiştir (97,98). Aynı zamanda hem glikojenolizisi hem de glukoneogenezi baskılayarak antidiyabetik potansiyeli olduğu in vitro gösterilmiştir (99). Fisetin iskemi ve oksidatif stres gibi toksik uyarılardan sinir hücre kültürlerini korumaktadır. Direkt antioksidan kapasitesinin yanı sıra major intraselüler antioksidan olan glutatyon (GSH) seviyesini de artırmaktadır. Diyabetik komplikasyonlardan makromoleküllerin reaktif dicarbonyl ve  $\alpha$ -oksoaldehid metilglyoxal (MG) ile glukasyona uğraması sorumludur. Glutatyon MG'nin uzaklaştırılmasında hız kısıtlayıcı enzim olan glyoxolase 1 için gerekli kofaktördür (100). Fisetin aynı zamanda GSH metabolizmasının upregülasyonundan sorumlu ve sinirlerin toksik strese korunmaları ile ilişkili olan transkripsiyon faktör Nrf2'yi harekete geçirmektedir. Bunun ötesinde fisetin lipid peroksidasyonunu inhibe etmede ve demir şelasyonunda oldukça etkilidir (101). Fisetin aynı zamanda yaşlanma ile seviyesi artan ve sinir hücre hasarlanması ile ilişkili peroksinitrit ilişkili glutatyon azalmasını da engellemektedir (102).

## 2.6 Diyabetik Ratlarda Ağrılı Nöropati

Ağrılı nöropati modeli olarak kemirgenlerin kullanımı hem sinir sisteminin elektriksel ve nörokimyasal aktivitelerinin hem de duysal uyarana davranış cevaplarının değerlendirilebilmelerine olanak tanır. Diyabetik rat ve farelerde erken dönemde sinir iletim yavaşlamaları olur. Kemirgenlerin ağrılı nöropatisinde, fizyolojik, nörokimyasal ve davranışsal değişikliklerin ana nedeni hiperglisemidir. Diyabetik ratlarda davranış çalışmaları hiperaljezi ve allodini testleri ile yapılır. Kuyruk veya pençenin sığa maruz bırakılmasıyla hayvanın ekstremitelerini çekme süresi, hiperaljezi ve hipoaljeziyi belirleme yöntemi olarak değerlendirilir

### 2.6.1 Deneysel Ağrı Modelleri

Elektriksel uyarıyla oluşturulan ağrı, ısıyla oluşturulan ağrı, kimyasal ajan uygulayarak oluşturulan ağrı, bu metodların bazılarıdır (103,104). Bunların büyük bir kısmı, klinik ağrı sendromlarının deneysel modelleri olarak kabul edilmekte ve bu özel alt tiplerin patofizyolojisini gün ışığına çıkarmak amacıyla kullanılmaktadırlar. Farklı veya benzer metodlarla oluşturulan deneysel ağrı modelleri şunlardır (105).

1. Hot plate testi (Sıcak plaka modeli)
2. Termal uyarana karşı kuyruk veya ayak çekme modeli
3. Mekaniksel duyarlılığı belirleme modeli (Von-Frey filament stimulasyonu)
4. Diş eti stimulasyonu modeli
5. Formalin, antijen, maya vb. ile ayak veya intra artikular enjeksiyon modeli
6. Tahriş edici bir maddenin intramusküler enjeksiyonu
7. Tahriş edici solusyonun intraperitoneal enjeksiyonu
8. Kemik içine osteolitik sarkoma hücrelerinin intramedullar enjeksiyonu
9. İçi oyuk organ distansiyonu
10. Deri kesilmesi
11. Periferik veya spinal sinir veya köklerinin ezilmesi veya sıkıştırılması

## 12. Periferel veya spinal sinir veya köklerinin kısmen veya tamamen transeksiyonu

Sonuç olarak; ağrılı diyabetik nöropati diabetes mellitusun sık bir komplikasyonu olup hastaların yaşam kalitelerini belirgin şekilde bozmaktadır. Ağrılı diyabetik nöropatinin periferel nosiseptif primer duyusal nöronların aşırı uyarılması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ancak patogenezdenden sorumlu selüler mekanizma kesinlik kazanmamıştır. Bu nedenle ağrılı diyabetik nöropati tedavisinde kullanılabilircek çok etkin bir ajan henüz bulunmamaktadır.

### **3.MATERYAL - METOD**

#### **3.1 Deney hayvanları**

Deneyisel çalışmada ortalama ağırlıkları 25 gram ( $25 \pm 5$  g) olan erişkin (en az 8 haftalık) BALB-C cinsi erkek fareler kullanıldı. Fareler, havalandırma sistemi bulunan bir ortamda özel olarak hazırlanmış ve her gün altları temizlenen kafeslerde beslendi. Buldukları ortamın sıcaklığı 22-25 °C arasında sabit tutuldu. Hayvanlar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda tutuldu. Yemler özel çelik kaplarda, su ise paslanmaz çelik bilyeli biberonlarda normal çeşme suyu olarak verildi. Deney hayvanları özel olarak hazırlanan pelletler halindeki fare yemleriyle beslendi. Farelerin deneysel uygulama yapılacak safhaya kadar bakımlarına bu şekilde devam edildi.

#### **3.2 Diyabet İndüksiyonu**

Çalışmanın bu kısmında kullanılacak 48 adet farede diyabet oluşturmak için yüksek doz streptozosin indüksiyon protokolü kullanıldı. 26 gauge'lık insülin enjektörüyle 150 mg/kg dozunda STZ (Streptozosin, Sigma, Deisenhofe, Almanya) intraperitoneal olarak 0,4 ml (0,1 M) sodyum-sitrat tamponunda (pH:4,5) çözdürülerek intraperitoneal enjeksiyonla tek doz olarak uygulandı. Streptozosin, N- (Methylnitrosocarbamoyl)- $\alpha$ -D-glucosamine yapısında olduğundan ışıktan korundu. Nötral pH'da hızla dekompoze olduğundan optimum stabilitesi için ortamın pH'sı 4-4.5 tutuldu. Bu nedenle STZ çözüldürülürken sitrat tamponu kullanıldı. Pankreas  $\beta$  hücrelerini hasarlayarak hem insüline bağımlı hem de insülininden bağımsız diyabet oluşturuldu. Streptozosin enjeksiyonundan sonra hipoglisemiyi engellemek için farelerin suyuna %10 sükröz çözeltisi ilave edildi. Bir hafta sonra kuyruk veninden kan alınarak, glukometre cihazındaki ölçümü sonucu açlık kan glikozu  $\geq 250$  mg/dl'yi geçen fareler, diyabetik olarak kabul edildi. Kan şekeri ölçümü Medisense Optium Xceed (Abbott, USA) ile yapıldı. Farelerin açlık kan glikoz düzeylerini saptamak için kan örnekleri, 8-10 saatlik açlık sonrasında sabah 9-10 arasında alındı. Deney hayvanının kuyruğundan alınan bir damla taze kan, ölçüm cihazının stripine emdirildi ve 'glikoz-oksidad peroksidaz' metodu ile ölçüldü.

#### **3.3 Gruplar**

Çalışmada her bir grupta 8 adet fare olacak şekilde toplam 6 grup oluşturuldu. Gruplar içerisindeki her hayvan değişik lokalizasyonlarda boyanarak numaralandırıldı. Her grup 1 haftalık adaptasyon perioduna alındı. 1. grup kontrol, 2,3,4,5 ve 6. gruplar çalışma grupları olmak üzere aşağıdaki şekilde belirlendi.

**1.Grup (n=8):** Kontrol grubu olup bu gruba sadece fisetin çözücüsü olarak kullanılan DMSO son ölçüm günü (yaklaşık 8. haftada) uygulandı.

- ✓ Bu gruba STZ enjekte edilmedi
- ✓ Grubun adaptasyondan sonra bazal vücut ağırlığı ve her hafta canlı ağırlık ölçümü tekrarlandı.
- ✓ Grubun adaptasyondan sonra bazal ağrı eşiği ölçüldü.
- ✓ Grubun adaptasyondan ve bazal ağrı eşiği ölçüldükten sonraki sabah açlık kan şekerleri ölçülerek her hafta açlık kan şekeri ölçümleri tekrarlandı.
- ✓ STZ ile diyabet ve nöropati tetiklenen gruplarda fisetin/ALAnjeksiyonu yapılacak zaman paralelinde (yaklaşık 8 hafta sonra) Fisetin volümü kadar DMSO enjekte edilerek son ağrı eşiği ölçümleri yapıldı.

**2.Grup (n=8):** Fisetin grubu 1 olup bu gruba Fisetin 3 mg/kg intraperitoneal olarak uygulandı.

- ✓ Grubun adaptasyondan sonra bazal vücut ağırlığı ve her hafta canlı ağırlık ölçümü tekrarlandı.
- ✓ Grubun adaptasyondan sonra bazal ağrı eşiği ölçüldü.
- ✓ Bazal ağrı eşiği ölçüldükten sonraki sabah açlık kan şekerleri ölçüldü.
- ✓ 150 mg/kg intraperitoneal STZ uygulanarak 3,5,7. günler ve sonrasında 8 hafta süresince haftalık açlık kan şekerleri ölçüldü.
- ✓ STZ ile diyabet tetiklendikten 8 hafta sonra ağrı eşikleri ölçülerek Fisetin 3 mg/kg intraperitoneal enjekte edildi. Enjeksiyon sonrası 10,30,60 ve 90. dakikalarda ağrı eşikleri ölçümü tekrarlandı.

**3.Grup (n=8):** Fisetin grubu 2 olup bu gruba Fisetin 10 mg/kg intraperitoneal olarak uygulandı.

- ✓ Grubun adaptasyondan sonra bazal vücut ağırlığı ve her hafta canlı ağırlık ölçümü tekrarlandı.
- ✓ Grubun adaptasyondan sonra bazal ağrı eşiği ölçüldü.
- ✓ Bazal ağrı eşiği ölçüldükten sonraki sabah açlık kan şekerleri ölçüldü.
- ✓ 150 mg/kg intraperitoneal STZ uygulanarak 3,5,7. günler ve sonrasında 8 hafta süresince haftalık açlık kan şekerleri ölçüldü.

- ✓ STZ ile diyabet tetiklendikten 8 hafta sonra ağrı eşikleri ölçülerek Fisetin 10 mg/kg intraperitoneal enjekte edildi. Enjeksiyon sonrası 10,30,60 ve 90. dakikalarda ağrı eşikleri ölçümü tekrarlandı.

**4.Grup (n=8):** Alfa lipoik asid grubu 1 olup bu gruba ALA 50 mg/kg intraperitoneal olarak uygulandı.

- ✓ Grubun adaptasyondan sonra bazal vücut ağırlığı ve her hafta canlı ağırlık ölçümü tekrarlandı.
- ✓ Grubun adaptasyondan sonra bazal ağrı eşiği ölçüldü.
- ✓ Bazal ağrı eşiği ölçüldükten sonraki sabah açlık kan şekerleri ölçüldü.
- ✓ 150 mg/kg intraperitoneal STZ uygulanarak 3,5,7. günler ve sonrasında 8 hafta süresince haftalık açlık kan şekerleri ölçüldü.
- ✓ STZ ile diyabet tetiklendikten 8 hafta sonra ağrı eşikleri ölçülerek ALA 50 mg/kg intraperitoneal enjekte edildi. Enjeksiyon sonrası 10,30,60 ve 90. dakikalarda ağrı eşikleri ölçümü tekrarlandı.

**5.Grup (n=8):** Alfa lipoik asid grubu 2 olup bu gruba ALA 100 mg/kg intraperitoneal olarak uygulandı.

- ✓ Grubun adaptasyondan sonra bazal vücut ağırlığı ve her hafta canlı ağırlık ölçümü tekrarlandı.
- ✓ Grubun adaptasyondan sonra bazal ağrı eşiği ölçüldü.
- ✓ Bazal ağrı eşiği ölçüldükten sonraki sabah açlık kan şekerleri ölçüldü.
- ✓ 150 mg/kg intraperitoneal STZ uygulanarak 3,5,7. günler ve sonrasında 8 hafta süresince haftalık açlık kan şekerleri ölçüldü.
- ✓ STZ ile diyabet tetiklendikten 8 hafta sonra ağrı eşikleri ölçülerek ALA 100 mg/kg intraperitoneal enjekte edildi. Enjeksiyon sonrası 10,30,60 ve 90. dakikalarda ağrı eşikleri ölçümü tekrarlandı.

**6.Grup (n=8):** Kombinasyon grubu olup bu gruba Fisetin 5 mg/kg+ALA 10 mg/kg intraperitoneal olarak uygulandı.

- ✓ Grubun adaptasyondan sonra bazal vücut ağırlığı ve her hafta canlı ağırlık ölçümü tekrarlandı.



- ✓ Grubun adaptasyondan sonra bazal ağrı eşiği ölçüldü.
- ✓ Bazal ağrı eşiği ölçüldükten sonraki sabah açlık kan şekerleri ölçüldü.
- ✓ 150 mg/kg intraperitoneal STZ uygulanarak 3,5,7. günler ve sonrasında 8 hafta süresince haftalık açlık kan şekerleri ölçüldü.
- ✓ STZ ile diyabet tetiklendikten 8 hafta sonra ağrı eşikleri ölçülerek Fisetin 5 mg/kg+ALA 10 mg/kg intraperitoneal enjekte edildi. Enjeksiyon sonrası 10,30,60 ve 90. dakikalarda ağrı eşikleri ölçümü tekrarlandı.

Fisetin (Sigma Chemical Co., F4043-500 mg) çözelti içerisinde %2 DMSO olacak şekilde saf zeytinyağı içinde 37 °C 'de bekletilerek çözünmesi beklenerek hazırlandı. 0,4 ml hacminde intraperitoneal olarak uygulandı.

Alfa lipoik asid (Sigma, T5625,5 gr) çözeltinin %5'i etanol geri kısmı serum fizyolojik olacak şekilde enjeksiyon volümü 0,4 ml olacak şekilde hazırlandı.

### **3.4 Termal plantar analjezimetre testi**

Termal pençe çekme testi akut termal hiperaljezinin dolaylı bir göstergesidir. Çalışmada fareler için uygun büyüklükteki Plantar Analjezimetre (MAY PWAM 0903 Plantar Test, Ankara, Türkiye) kullanılarak termal uyarıya bağlı pençe çekme süreleri (termal nosiseptif eşik) belirlendi. Farelerde arka pençeye odaklanan ışık kaynağının sağladığı ısı uyarısına karşı verilen pençe çekme yanıtının süresi değerlendirildi. Bunun için fareler pleksiglas (30x15x15 cm) kutular içerisinde önceden ısıtılmış sabit bir yüzey sıcaklığı (30±1 °C) olan cam zemin üzerine yerleştirildi. Cam yüzey altından kontrolü sağlanabilen ve hareket edebilen radyan ışık kaynağı farelerin arka pençe ortalarına odaklandırılıp, ışığın oluşturduğu ısı ile farelerin pençelerini çekmesi arasında geçen zaman ölçüldü. Isı yaklaşık 53 derece civarındaydı. Otomatik çalışır bir zaman ölçer sistem ile bu süre 0,1 sn hassasiyetle pençelerini çektikleri anda ışığın kendiliğinden kesilmesi suretiyle ölçüldü. Bu düzenekte ön denemeler gerçekleştirilerek normal (normoglisemik kontrol) farelerin radyan ısı uygulamasından pençelerini yaklaşık 10 sn sonra çekecekleri şiddete ayarlandı ve doku zedelenmesini önlemek için "cut-off" süresi 10 saniye olarak belirlendi. Testler sabah 09-12 saatleri arasında gerçekleştirildi ve test uygulanması esnasında ortamın sessizliğine özen gösterildi. Deney hayvanları deney odasına ölçümlerden en az 15 dakika önce alındı ve deneyler kolonilerin tutulduğu odadan farklı bir ortamda gerçekleştirildi. Ölçümler deney

protokollerine kör ve bütün ölçümler için aynı değerlendirici tarafından gerçekleştirildi. 6 grubun bazal ağrı eşikleri alındıktan 8 hafta sonra ağrı eşikleri tekrarlandı. Kontrol grubu dışındaki 5 grupta uygulanan fisetin ve alfa lipoik asid sonrasında ağrı üzerine etkilerini değerlendirmek üzere 10,30,60 ve 90. dakikalarda ağrı eşikleri ölçümü tekrarlandı.

### **3.5. İstatistiksel Metod**

İstatistiksel değerlendirme için SPSS 15 for Windows paket programı kullanıldı. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verildi. Tedavi öncesi ve sonrası gruplar arası karşılaştırma tek yönlü varyans analizini takiben Tukey's-b testi ile , aynı gruplarda farklı zaman noktalarındaki farklılıklar ise non parametrik testlerden Wilcoxon testi kullanılarak değerlendirildi. Tüm analizlerde  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi

## 4.BULGULAR

Çalışma ve kontrol gruplarını oluşturan farelerin % 90'ı çalışmayı tamamladı. Çalışmanın başında 1 kontrol grubu ve 5 streptozosin ile diyabetik nöropati oluşturulacak grup olmak üzere toplam 6 grup oluşturuldu. Grup 3 'te 1 tane, grup 4 'de 2 tane, grup 5'te 2 tane ve grup 6'da 1 tane olmak üzere toplam 6 fare ex oldu.

### 4.1 Farelerin ağırlık ölçümleri

Çalışma başında çalışmaya alınan farelerin ağırlık ölçümleri yapıldı. Diyabetik yapılan farelerin 8 hafta sonunda fisetin ve alfa lipoik asid verilmeden önce ağırlık ölçümleri tekrarlandı. (Tablo V)

**Tablo V . Farelerin Ağırlık Ölçümü**

	Sayı (n)	Ağırlık ortalaması (gr) ± SD	p
Grup 2			
Ölçüm (Diyabet öncesi)	8	23,6 ± 2,2	
Ölçüm (Diyabet sonrası)	8	19,2 ± 2,5	0,01
Grup 3			
Ölçüm (Diyabet öncesi)	7	25,1 ± 2,4	
Ölçüm (Diyabet sonrası)	7	20,3 ± 2,2	0,01
Grup 4			
Ölçüm (Diyabet öncesi)	6	31,4 ± 2,9	
Ölçüm (Diyabet sonrası)	6	26,4 ± 2,5	0,002
Grup 5			
Ölçüm (Diyabet öncesi)	6	31,3 ± 0,9	
Ölçüm (Diyabet sonrası)	6	28,0 ± 1,1	0,04
Grup 6			
Ölçüm (Diyabet öncesi)	7	30,8 ± 1,0	
Ölçüm (Diyabet sonrası)	7	27,1 ± 1,4	0,02

STZ sonrası diyabet oluşturulan 5 grupta 8 hafta sonunda istatistiksel anlamlı kilo kayıpları gözlemlendi. Diyabet oluşturulan farelerde hiperglisemik semptomlar olan çok su içme, çok idrar çıkarma gibi bulgular tespit edildi.

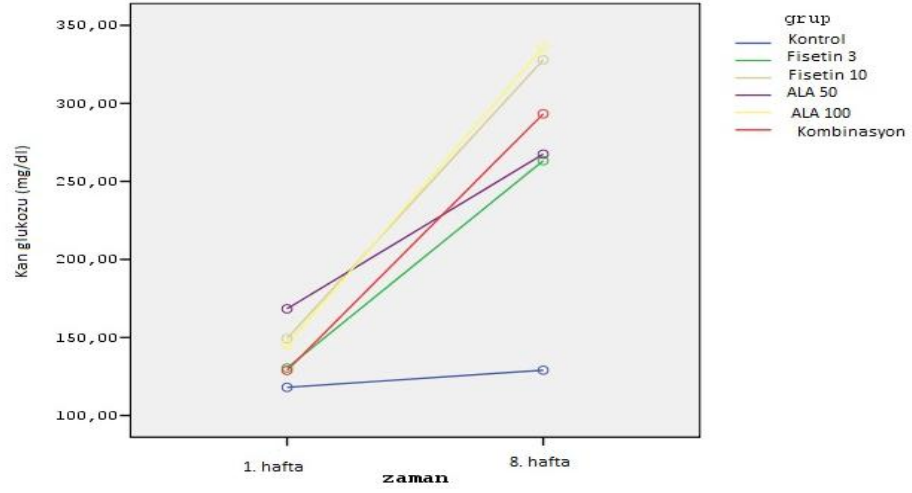
#### **4.2 Kan glukoz ölçümleri**

Kontrol grubunda bazalde, çalışma gruplarında ise STZ uygulamadan önce ve sonra kuyruk venlerinden bakılan kan glukoz düzeylerine bakıldı (Tablo VI). Kuyruk venlerinden bakılan açlık kan glukoz düzeyleri  $\geq 250$  mg/dl olan hayvanlar diyabetik kabul edildi.

**Tablo VI. Kan glukoz ölçümleri**

	<b>Kan glukoz ortalaması</b>	<b>Sayı</b>	<b>SD</b>	<b>p</b>
	<b>(mg/dl)</b>	<b>(n)</b>		
<b>Grup 1</b>				
Ölçüm (1. Hafta)	118	8	26,7	
Ölçüm (8. Hafta)	129	8	25,8	0,28
<b>Grup 2</b>				
Ölçüm (Diyabet öncesi)	130,3	8	33,7	
Ölçüm (Diyabet sonrası)	263,2	8	110,1	0,013
<b>Grup 3</b>				
Ölçüm (Diyabet öncesi)	149,2	7	18,5	
Ölçüm (Diyabet sonrası)	327,8	7	114,3	0,005
<b>Grup 4</b>				
Ölçüm (Diyabet öncesi)	168,3	6	39,2	
Ölçüm (Diyabet sonrası)	267,5	6	146,2	0,04
<b>Grup 5</b>				
Ölçüm (Diyabet öncesi)	145,3	6	20,3	
Ölçüm (Diyabet sonrası)	336	6	94,7	0,004
<b>Grup 6</b>				
Ölçüm (Diyabet öncesi)	128,8	7	8,8	
Ölçüm (Diyabet sonrası)	293,2	7	69,1	0,001

Diyabet oluşturulan 5 grupta da 8 hafta sonunda kuyruk veninden bakılan kan glukoz düzeyleri > 250 mg /dl olup streptozosin uygulanmadan önceki bazal glukoz düzeyleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ( $p < 0,05$ ) (Şekil 1).



Şekil 1. Grupların 1. ve 8. haftadaki kan glukoz değışimleri

#### 4.3 Ağrı Eşığı Değerleri (Latans)

Fareler diyabet yapılmadan önce gruplar halinde adaptasyon işlemine tabi tutuldu. Aklimetizasyon için her bölmeye 3 fare alındı. Adaptasyon işlemi ortalama 5 dakika sürdü. Adaptasyondan sonra farelerin latansına bakıldı. Diyabet oluşturulan grupların streptozosin uygulanmadan önceki bazal ve streptozosin uygulandıktan sonra nöropati oluşumu için gerekli olan 8 hafta sonrası ağrı eşik değerleri ölçümü yapıldı (Tablo VII).

**Tablo VII. Diyabet oluşturulan grupların streptozosin öncesi ve streptozosin sonrası 8. hafta ağrı eşikleri**

	<b>Bazal ağrı eşiği</b>	<b>8. hafta ağrı eşiği</b>	<b>p</b>
	<b>(saniye)</b>	<b>(saniye)</b>	
<b>Fisetin 3</b>	3,0 ±0,4	3,6±0,7	0,042
<b>Fisetin 10</b>	3,0±0,6	3,4±0,7	0,05
<b>ALA 50</b>	2,4±0,5	3,4±0,5	0,04
<b>ALA 100</b>	2,5±0,4	4,3±0,3	0,001
<b>Kombinasyon</b>	2,7±0,5	3,1± 0,5	0,046

Diyabet oluşturulan 5 grupta da diyabet oluşumundan 8 hafta sonra bakılan ağrı eşikleri diyabet oluşturulmadan ölçülen ağrı eşikleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı uzamış bulundu ( $p < 0,05$ ).

Diyabet oluşumundan 8 hafta sonra farelere herhangi bir enjeksiyon yapılmadan önceki ağrı eşiği değerleri belirlendi. Fisetin ve alfa lipoik asidin diyabetik nöropatide etkisini ölçmek için i.p. fisetin ve alfa lipoik asid yapılan farelere plantar analjezimetri testi uygulandı. 2 farklı doz fisetin, 2 farklı doz ALA ve Fisetin+ALA olacak şekilde i.p. uygulanan ilaçlar sonrasında 10..30.60. ve 90.dk test sonuçları kaydedildi. Kontrol grubu diyabetik nöropati tetiklenen gruplarda fisetin/ALAnenjeksiyonu yapılacak zaman paralelinde (yaklaşık 8 hafta sonra) Fisetin volümü kadar DMSO enjekte edilerek son ağrı eşiği ölçümleri yapıldı (Tablo VIII)

**Tablo VIII. Ağrı eşiği ölçümleri**

	<b>0.</b>	<b>10.</b>	<b>30.</b>	<b>60.</b>	<b>90.</b>
	<b>dakika</b>	<b>dakika</b>	<b>dakika</b>	<b>dakika</b>	<b>dakika</b>
<b>Kontrol</b>	3,6 ±0,7	3,5 ±0,7	3,1±0,8	3,2±0,7	3,1±0,8
<b>Fisetin 3</b>	3,6±0,7	3,5 ±0,6	3,4 ± 1,0	3,5±0,5	3,4±0,9
<b>Fisetin 10</b>	3,4 ±0,7	3,0±0,8	3,3 ±0,3	2,8±0,4	2,9±0,4
<b>ALA 50</b>	3,4±0,5	2,7±0,4	2,9±0,2	2,6±0,4	2,9±0,5
<b>ALA 100</b>	4,3±0,3	3,4±1,0	3,3±0,7	3,0±0,3	3,2±0,3
<b>Kombinasyon</b>	3,1± 0,5	2,5±0,3	2,4±0,3	2,5±0,2	2,6±0,5

Kontrol grubunda 0. dakika ölçülen ağrı eşiği 3,6 sn iken DMSO çözeltisi sonrası bakılan ağrı eşiklerinde istatistiksel olarak anlamsız artma ve azalmalar gözlemlendi (p= 0,24).

Fisetin 3 mg/kg intraperitoneal uygulanan grupta 0. dakika ağrı eşiği 3,6 sn olup, kontrol grubuna benzer şekilde uygulama sonrası dakikalarda ağrı eşiklerinde istatistiksel anlamlı değişiklik gözlenmedi (p= 0,67).

Fisetin 10 mg/kg intraperitoneal uygulanan grupta 0. dakika ağrı eşiği 3,4 sn iken ilaç sonrası özellikle 60. ve 90. dakikalarda ağrı eşiklerinde kısalma (sırasıyla 2,8 ve 2,9 sn) saptanmasına rağmen istatistiksel anlamlı değildi (p= 0,14).

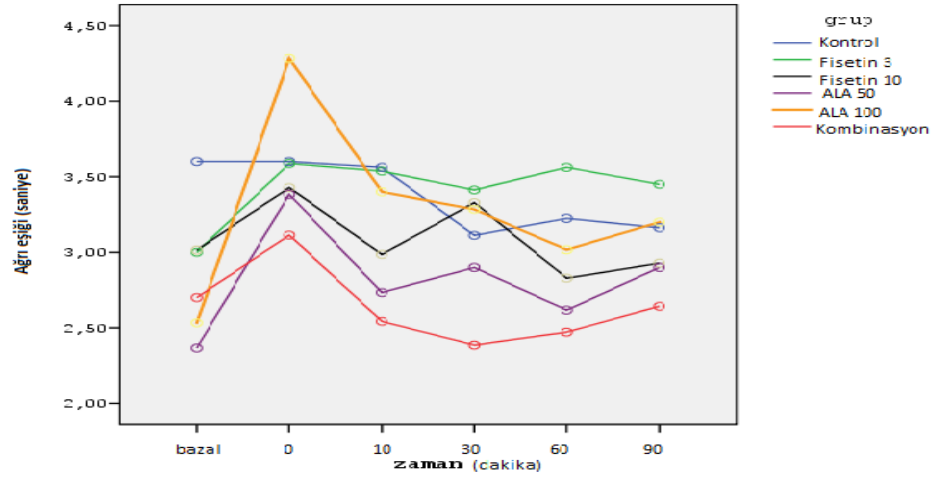
ALA 50 mg/kg uygulanan grupta 0. dakika ağrı eşiği 3,4 sn iken ilaç sonrası 10. dakikadan itibaren ağrı eşiklerinde kısalma saptanmış olup 90. dakikada 2,9 sn ile istatistiksel olarak anlamlı kısalma saptandı (p= 0.05).

ALA 100 mg/kg grubunda 0. dakika ağrı eşiği 4,3 sn iken 10. dakikada başlayıp 90. dakikaya kadar devam eden ağrı eşiklerinde kısalma saptandı. 90. dakikada ağrı eşiği 3,2 sn olup istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,001)



Kombinasyon (Fisetin 5 mg/kg+ALA mg/kg) grubunda 0. dakika ağrı eşiği 3,1 sn iken ilaç sonrası ağrı eşiklerinde 10. dakikadan itibaren kısalma olup 90. dakikada ağrı eşiği 2,6 sn olup istatistiksel olarak anlamsız bulundu ( $p=0,13$ )

Grupların ilaç uygulama öncesi ve sonrası dakikalardaki ağrı eşiği latansları Şekil 2’de gösterilmiştir.



Şekil 2. Grupların çalışma başlangıcında ve 8 hafta sonunda ilaç öncesi ve sonrasındaki ağrı eşikleri değerleri

## 5.TARTIŞMA

Diyabetik nöropati yüksek morbidite ve mortalite ile seyreden ve diyabetik hastaların yaşam kalitesini azaltan önemli bir komplikasyondur. Diabetes mellitusu olan hastalar, distal sensoryal motor nöropati, otonomik nöropati ve mononöropati olmak üzere bir çok tipte periferal nöropati ile komplike olabilmektedir. Sensoryal motor polinöropati en sık görülen tipi olup başta diyabetik ayak ülserleri olmak üzere hayat kalitesinin bozulmasına da neden olmaktadır. Diyabetik ayak ülserleri diyabetin en pahalı ve şiddetli komplikasyonları arasındadır. Epidemiyolojik verilere göre, diyabetik hastalarda her sene bir milyon civarında amputasyon yapılmaktadır. Bu amputasyonların %85'inin önlenebileceği tahmin edilmektedir (106). Nöropati, diyabetik vasküler hastalığa ek olarak, diyabetik ayak komplikasyonlarının gelişmesinde önemli bir nedendir. Dolayısıyla diyabetik nöropati gelişiminin önlenmesi ve tedavisi büyük önem arz etmektedir.

Ağrılı nöropati modeli olarak kemirgenlerin kullanımı hem sinir sisteminin elektriksel ve nörokimyasal aktivitelerinin hem de duysal uyarana davranış cevaplarının değerlendirilebilmelerine olanak tanır. Diyabetik ratlarda davranış çalışmaları hiperaljezi ve allodini testleri ile yapılır. Kuyruk veya pençenin sığağa maruz bırakılmasıyla hayvanın ekstremitelerini çekme süresi, hiperaljezi ve hipoaljeziyi belirleme yöntemi olarak değerlendirilir. Ağrı eşiği yanıtları, diyabetik nöropatik ağrı hakkında dolaylı bilgi elde edilmesine katkı sağlamaktadır. Streptozosin ile diyabet oluşturulan farelerde hiperaljezi gelişimi STZ enjeksiyonundan sonraki 8. günde başlar ve en az 4 hafta devam eder.(107). Streptozosin, diyabetik farelerde C liflerinin aksiyon potansiyelinde artış sağlayarak ağrı eşiği yanıtlarında bozulma oluşturur. Deneysel olarak oluşturulmuş diyabetik hayvan modellerinde ağrı eşiğindeki değişimleri ölçen birçok yayın bulunmaktadır. Kısa süreli diyabet oluşturulan deneylede termal ve mekanik hiperaljezi oluşurken, uzun süreli diyabet oluşturulanlarda termal ve mekanik hipoaljezi gözlenmektedir (108,109). Ratlarda sinir iletim hızlarındaki yavaşlama diyabet oluşumundan yaklaşık 6-9 hafta sonra oluşmaktadır (109,110). Deneysel çalışmalarda gözlenen süre bağımlı termal ağrı eşiğindeki değişiklikler insanlarda gözlenen diyabetik nöropati semptomlarını da yansıtmaktadır. İnsanlarda uzun süreli diyabet, periferal sinirlerde kayıp ve sinir iletim hızlarında artışa neden olmaktadır (111). Deneysel olarak hayvanlarda sinir iletim hızını ölçme yönteminden bir tanesi plantar analjezimetredir. Bu yöntem, hayvanın ısı uyarısına vermiş olduğu cevap süresi ölçülerek ağrı eşiğinin tespitine yönelik bir termal akut ağrı modelidir (112). Bu çalışmanın süresi 8 hafta olup plantar

analjezimetre ile değerlendirilen ağrı eşiklerinde diyabet oluşumundan 8 hafta sonra bakılan latanslarda diyabet öncesine göre istatistiksel anlamlı uzama ve böylece hipoaljezi tespit edildi.

Kemirgenlerin ağrılı nöropatisinde, fizyolojik, nörokimyasal ve davranışsal değişikliklerin ana nedeni hiperglisemidir. Diyabetik nöropati tedavisinde en etkin yöntem glisemi kontrolüdür. Diyabet kontrol ve komplikasyon (DCCT) çalışmasında Tip 1 diyabetiklerde nöropati gelişiminde glisemik kontrolün önemi tartışmasız bir şekilde gösterilmiştir. Sıkı glisemik kontrol ile 5 yıllık takipte nöropati gelişme riski yaklaşık %64 oranında azalmaktadır (113). Tip 2 diabetes mellitusla ilgili en büyük ve en uzun çalışma olan Birleşik Krallık Prospektif Diyabet çalışmasında (UKPDS) KŞ regülasyonun vibrasyon algılanmasını düzelttiği gösterilmiştir (114). Glisemi kontrolü nöropati riskini azaltmakla birlikte kesin bir tedavi yöntemi değildir. Bu yüzden alternatif bir çok farmokolojik ilaç piyasaya sürülmüş ve nöropati için çözüm aranmıştır. Diyabetik nöropatinin patogenezi tam olarak anlaşılmış değildir ve etkin ideal bir tedavisi halen yoktur. Günümüzde diyabetik nöropati için temel olarak semptomatik tedavi uygulanmaktadır. Burada kullanılan ilaçlar ağrıyı hafifletmekle birlikte asıl tedavi hedefi olan hastalık seyri üzerinde etkisi yoktur. Buna karşın ALA patogenetik yolları hedefleyen bir tedavi seçeneği sunar. Alfa lipoik asid, güçlü bir radikal süpürücü ve endojen antioksidatif korunma sisteminin bir parçasıdır. Oksidatif stres, diyabetik komplikasyonların patogenezinde merkezi bir rol oynamaktadır. Diyabetik nöropatide serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stres, endonöral hipoksiye ve sinir disfonksiyonuna yol açmaktadır. Streptozosin ile oluşturulmuş deneysel diyabetik nöropati modelinde ALA'nın nöral kan akımını artırdığı ve oksidatif stresin en önemli belirleyicilerinden olan azalmış glutatyon seviyelerini iyileştirdiği gösterilmiştir (3). Alfa lipoik asid ile yapılan ilk prospektif, plasebo kontrollü randomize çift kör çalışma olan ALADIN-1'de intravenöz kullanılan ALA'nın semptom skorunun azalttığı ve iyi tolere edildiği gösterilmiştir (115). Benzer şekilde SYDNEY-1 çalışmasında da üç hafta süresince haftanın 5 günü kullanılan ALA infüzyonunun sinir iletim hızı, nöropatik bozukluk skoru gibi diyabetik nöropati ile ilgili bozukluk ve defisitleri değerlendiren ölçeklerde klinik olarak anlamlı iyileşme sağladığı gösterilmiştir (82).

Bizim çalışmamızda da ALA 100 mg verilen grupta belirgin olmak üzere her iki ALA grubunda da ilaç verilmeden önceki ağrı eşiğine kıyasla ilaç sonrası tüm dakikalarda

istatistiksel anlamlı kısalma gözlemlendi. Bu sonuçlarla yüksek doz grubunda belirgin olmak üzere her iki grupta da ALA'nın hipoaljeziyi düzelttiği söylenebilir.

Hiperglisemi birçok farklı yolla etkileşerek nihai olarak oksidatif strese ve reaktif oksijen radikallerinin (ROS) birikimine neden olmaktadır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Diyabet ve komplikasyonlarının reaktif oksijen türleri ile olan ilişkisini gösteren çalışmalarda, doku hasarının serbest radikal üretimini arttırdığı ve antioksidan savunma sistemini değiştirdiği vurgulanmaktadır (39,40).

Bir flavonoid türevidir olan fisetin iskemi ve oksidatif stres gibi toksik uyarılardan sinir hücre kültürlerini korumaktadır. Yapılan çalışmalarla fisetin, anti kanser, anti anjiogenik, nöroprotektif ve antioksidasyon gibi çeşitli özelliklerinin olduğu gösterilmiştir (116,117,118). Fisetin, direkt antioksidan kapasitesinin yanı sıra major intraselüler antioksidan olan GSH seviyesini de artırmaktadır. Diyabetik komplikasyonlardan makromoleküllerin reaktif dicarbonyl ve  $\alpha$ -oxoaldehide methylglyoxal (MG) ile glukasyona uğraması sorumludur. Glutatyon, MG'nin uzaklaştırılmasında hız kısıtlayıcı enzim olan glyoxolase 1 için gerekli kofaktördür (100).

Fisetin, oksidatif stres varlığında da mitokondriyal fonksiyonların sürdürülmesini sağlamaktadır. Ayrıca mikroglial hücrelere karşı antiinflamatuvar aktivitesi olup, lipooksijenazı inhibe etmektedir (4). Akita cinsi diyabet oluşturulan farelerle yapılan bir çalışmada oral olarak verilen fisetin böbrek hasarlanmasını azalttığı ve fareleri anksiyete ile ilişkili davranışlardan koruduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada fisetin oksidatif stres belirteçleri olan tiobarbitürik asid ürünleri (TBARS) ve osteopontin seviyelerini azalttığı gösterilmiştir (100).

Diyabetik nöropati patogenezinde oksidatif stresin önemli bir yer tutması nedeni ile bu çalışmada antioksidatif etkileri bilinen fisetin diyabetik nöropati modelinde ağrı eşiği üzerine olan etkisi incelendi. Çalışma protokolü doğrultusunda oluşturulan diyabetik nöropatik farelere protokole belirtilen dozlarda i.p fisetin uygulandı. Fisetin 3 mg verilen grupta diyabetik nöropati oluştuktan sonra elde edilen ağrı eşiği latans değerlerinde 10,30,60 ve 90. dakikalarda anlamlı bir değişiklik saptanmadı. Fisetin 10 mg uygulana grupta ise özellikle 60 ve 90. dakikalarda ilaç öncesi ağrı eşiği latans değerlerine göre istatistiksel anlamlı olmasa da kısalma saptandı. Deneysel diyabetik nöropati oluşturulmuş bir çalışmada glutatyonun diyabetik nöropatiyi önleme ve tedavisindeki etkisi araştırılmış. Glutatyonun

diyabetik nöropatiyi önlemedeki rolünün parsiyel olduğu ve nöropati yerleştikten sonraki geç dönemlerde duyuşal sinir iletilerini düzeltmede etkisiz olduğu gösterilmiştir (119). Bizim çalışmamızda da fisetinin hipoaljezinin oluştuğu ve diyabetik nöropatinin yerleştiği geç dönemde uygulanması ağrı eşiği üzerine olan etkisizliğini açıklayabilir. Oshawa ve ark. yaptığı bir başka çalışmada ise hipoaljezi oluşturulan diyabetik nöropatik farelerde asetil-L-karnitin uygulamasının gerek hipoaljezi oluşmadan önce kronik uygulanmasında gerekse hipoaljezi oluşumunun gerçekleştiği 7. hafta sonrası uygulanmasında ağrı eşiklerini kısalttığı ve hipoaljeziyi istatistiksel olarak düzelttiği gösterilmiştir (110). Bu çalışmaya benzer şekilde diyabetik nöropatinin geç dönemini ifade eden hipoaljezi üzerine ALA'nın etkin bulunması patogeneizde açıklanmış veya açıklanmayı bekleyen birçok farklı mekanizmasının olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Sonuç olarak, nöropatik ağrı farklı nedenleri ve mekanizması olan heterojen bir durumdur. Şu an için diyabetik nöropatide farklı tedaviler kullanılmış fakat tedavide prototip bir ilaç ya da metot bulunamamıştır. Patogenetik mekanizmaların aydınlatılması sonucunda yeni tedavi protokolleri bulunacaktır. Deneysel diyabette gözlenen tedavi etkinliğinin insanlarda görülenden farklı olabileceği ve insanlarda diyabetin sinir sistemi üzerindeki etkisinin daha yaygın, daha kronik ve ciddi olduğu unutulmamalıdır.

Bunun için diyabetik nöropati patogenezini hedefleyen yeni farmakolojik ajanlara ve yeni tedavi metodlarına ihtiyaç vardır.

## 6. KAYNAKLAR

1. Shaw JE, Zimmet PZ. The epidemiology of diabetic neuropathy. *Diabetes Rev.* 1999;7:245-52
2. Goh SY, Cooper ME. Clinical review: The role of advanced glycation end products in progression and complications of diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:1143–52
3. Nagamatsu M, Nickander KK, Schmelzer JD, Raya A, Wittrock DA, Tritschler H, Low PA. Lipoic acid improves nerve blood flow, reduces oxidative stress, and improves distal nerve conduction in experimental diabetic neuropathy. *Diabetes Care.* 1995;18(8):1160-7
4. Maher P Modulation of multiple pathways involved in the maintenance of neuronal function by fisetin. In: Parker L, Sies H, Eggersdorfer M, Cardenas E, eds. *Micronutrients and Brain Health.* Boca Raton, FL: CRC Press. 189–206
5. Bennett PH, Knowler WC. Diabetes mellitus ve glikoz homeostazının tanımı, teşhisi ve sınıflandırılması. Kahn CR, Weir CG., King GL, Jacobson AM, Moses AC, Smith RJ.. Editörler, *Joslin's Diabetes Mellitus (çeviri)'de* 1. Baskı, İstanbul; İstanbul Medikal Yayıncılık Ltd. Şti. 2008; 331
6. Guariguata L. By the numbers: New estimates from the IDF Diabetes Atlas Update for 2012. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2012;98:524-5
7. Satman I, Omer B, Tutuncu Y, Kalaca S, Gedik S, Dinccag N, Karsidag K, Genc S, Telci A, Canbaz B, Turker F, Yilmaz T, Cakir B, Tuomilehto J; TURDEP-II Study Group. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *Eur J Epidemiol.* 2013;28(2):169-80.
8. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1997;20(7):1183-97
9. American Diabetes Association. Standarts of medical cares in diabetes. *Diabetes Care* 2011;34:11-61
10. International Expert Committee. International Expert Committee report on the role of the A1C assay in the diagnosis of diabetes. *Diabetes Care* 2009;32:1327-34
11. Selvin E, Steffes MW, Zhu H, Matsushita K, Wagenknecht L, Pankow J, Coresh J, Brancati FL. Glycated hemoglobin, diabetes, and cardiovascular risk in nondiabetic adults. *N Engl J Med.* 2010;362:800-11

12. Alemzadeh R, Wyatt DT. Diabetes Mellitus. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, eds. Nelson Textbook of Pediatrics. 17th ed. Pennsylvania: Elsevier Saunders; 2004;1947-72
13. Todd JA. Etiology of type 1 diabetes. *Immunity*. 2010;32(4):457-67
14. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 2011;34:62-69
15. Atkinson MA, Eisenbarth GS. Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. *Lancet*. 2001;358:221-9
16. In't Veld P. Insulinitis in human type 1 diabetes: The quest for an elusive lesion. *Islets*. 2011;3(4):131-8
17. Barnett AH, Eff C, Leslie RD, Pyke DA. Diabetes in identical twins. A study of 200 pairs. *Diabetologia*. 1981;20(2):87-93
18. Redondo MJ, Yu L, Hawa M, Mackenzie T, Pyke DA, Eisenbarth GS, Leslie RD. Heterogeneity of type I diabetes: analysis of monozygotic twins in Great Britain and the United States. *Diabetologia*. 2001;44(3):354-62
19. Bennet PH, Knowler WC. Definition, diagnosis, and Classification of Diabetes mellitus and glucose homeostasis. In: Kahn CR, Weir GC, King GL, et al, eds. *Joslin's Diabetes Mellitus*. 14th ed. USA; Joslin Diabetes Center, 14th ed. USA; Joslin Diabetec Center; 2005;.331-9
20. Satman İ, Gürol AO. Otoimmün diyabet patogenezi ve Tip 1 diyabetli hastada tedavi yaklaşımı. *Endokrinoloji Dergisi*. 2003;1(3):169-79
21. Günöz H. Çocuklarda Diabetes Mellitus. Hasanoğlu H, Düşünsel R, Bideci A. Editörler. *Temel pediatri*. 1. Baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri; 2010;1172-80
22. Weyer C, Bogardus C, Mott DM, Pratley RE. The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest*. 1999;104(6):787-94
23. Klein BE, Klein R, Moss SE, Cruickshanks KJ. Parental history of diabetes in a population-based study. *Diabetes Care*. 1996;19(8):827-30
24. Friedman JE, Dohm GL, Leggett-Frazier N, Elton CW, Tapscott EB, Pories WP, Caro JF. Restoration of insulin responsiveness in skeletal muscle of morbidly obese patients after weight loss. Effect on muscle glucose transport and glucose transporter GLUT4. *J Clin Invest*. 1992;89(2):701-5

25. Young MJ, Boulton AJ, MacLeod AF, Williams DR, Sonksen PH. A multicentre study of the prevalence of diabetic peripheral neuropathy in the United Kingdom hospital clinic population. *Diabetologia*. 1993;36(2):150-4
26. Edwards JL, Vincent AM, Cheng HT, Feldman EL. Diabetic neuropathy: mechanisms to management. *Pharmacol Ther*. 2008;120:1-34
27. Genuth S. Insights from the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study on the use of intensive glycemic treatment to reduce the risk of complications of type 1 diabetes. *Endocr Pract*. 2006;1:34-41
28. Sugimoto K, Yasujima M, Yagihashi S. Role of advanced glycation end products in diabetic neuropathy. *Curr Pharm Des*. 2008;14(10):953-61
29. Ahmed N, Thornalley PJ. Advanced glycation endproducts: what is their relevance to diabetic complications? *Diabetes Obes Metab*. 2007;9(3):233-45
30. Singh R, Barden A, Mori T, Beilin L. Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia*. 2001;44(2):129-46
31. Oates PJ. Aldose reductase, still a compelling target for diabetic neuropathy. *Curr Drug Targets*. 2008;9(1):14-36
32. Cowell RM, Russell JW. Nitrosative injury and antioxidant therapy in the management of diabetic neuropathy. *J Investig Med*. 2004;52(1):3-44
33. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. 2001;414:813-20
34. Koya D, King GL. Protein kinase C activation and the development of diabetic complications. *Diabetes*. 1998;47:859-66
35. Das Evcimen N, King GL. The role of protein kinase C activation and the vascular complications of diabetes. *Pharmacol Res*. 2007;55(6):498-10.
36. Pacher P, Obrosova IG, Mabley JG, Szabó C. Role of nitrosative stress and peroxynitrite in the pathogenesis of diabetic complications. Emerging new therapeutical strategies. *Curr Med Chem*. 2005;12(3):267-75
37. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1. Baskı, Konya, Mimoza Yayınları.1995;3-15
38. Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE. Free Radicals, antioxidants and human disease: Where are we now? *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 1992;119(6): 598-620



39. Baynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications: A new perspective on an old paradigm. *Diabetes*. 1999;48(1):1-9
40. Saxena AK, Srivastava P, Kale RK, Baquer NZ. Impaired antioxidant status in diabetic rat liver. Effect of vanadate. *Biochemical Pharmacology*. 1993;45(3):539-42
41. Giugliano I, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care*. 1996;19(3):257-67
42. Rösen P, Du X, Tschöpe D. Role of oxygen derived radicals for vascular dysfunction in the diabetic heart: prevention by  $\alpha$ -tocopherol?. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 1998;188:103-11
43. Green K, Brand MD, Murphy MP. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. *Diabetes*. 2004;53:110-18
44. Gillery P, Monboisse JC, Maquart FX, Borel JP. Glycation of proteins as a source of superoxide. *Diabetes*. 1998;14(1):1114-20
45. Eidland A, Sebekova K, Schinzel R. Advanced glycation end products and the progressive course of renal disease. *American Journal of Kidney Diseases*. 2001;38:100-6
46. Maritim AC, Sanders RA, Watkins III JB. Diabetes, oxidative stress and antioxidants: Review. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 2003;17(1): 24-38
47. Cameron NE, Cotter MA. Metabolic and vascular factors in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Diabetes*. 1997;46(2):31-7
48. Malik RA, Tesfaye S, Thompson SD, Veves A, Sharma AK, Boulton AJ, Ward JD. Endoneurial localization of microvascular damage in human diabetic neuropathy. *Diabetologia*. 1993;36:454-59
49. Archer AG, Roberts VC. Blood flow patterns in painful diabetic neuropathy. *Diabetologia*. 1984; 27:563-7
50. Younger DS, Bronfin L. Overview of Diabetic Neuropathy. *Seminars in Neurology* 1996;16:107–13
51. Consensus Panel: Report and Recommendations of the San Antonio Conference on Diabetic Neuropathy. *Diabetes* 1988;37:1000-4
52. Vinik AI, Erbas T, Park TS, Strassberry KB, Pittenger GL. Small fiber neuropathy and neurovascular dysfunction in diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diab*. 2001;109:451-73
53. Bansal V, Kalita J, Misra UK. Diabetic neuropathy. *Postgrad Med J*. 2006;82:95-100

54. Tesfaye S, Boulton AJ, Dyck PJ, Freeman R, Horowitz M, Kempler P, Lauria G, Malik RA, Spallone V, Vinik A, Bernardi L, Valensi P; Toronto Diabetic Neuropathy Expert Group. Diabetic neuropathies: update on definitions, diagnostic criteria, estimation of severity, and treatments. *Diabetes Care*. 2010;33(10):2285-93
55. Freeman R, Wieling W, Axelrod FB, Benditt DG, Benarroch E, Biaggioni I, Cheshire WP, Chelimsky T, Cortelli P, Gibbons CH, Goldstein DS, Hainsworth R, Hilz MJ, Jacob G, Kaufmann H, Jordan J, Lipsitz LA, Levine BD, Low PA, Mathias C, Raj SR, Robertson D, Sandroni P, Schatz I, Schondorff R, Stewart JM, van Dijk JG. Consensus statement on the definition of orthostatic hypotension, neurally mediated syncope and the postural tachycardia syndrome. *Clin Auton Res*. 2011;21:69–72
56. Blaivas JG: The neurophysiology of micturition: a clinical study of 550 patients. *J Urol* 1982;127:958–63
57. Vinik AI, Maser RE, Mitchell BD, Freeman R. Diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes Care*. 2003;26(5):1553-79
58. Bastron JA, Thomas JE. Diabetic polyradiculopathy: clinical and electromyographic findings in 105 patients. *Mayo Clin Proc*. 1981;56(12):725-32
59. Dyck PJ, Windebank AJ. Diabetic and nondiabetic lumbosacral radiculoplexus neuropathies: new insights into pathophysiology and treatment. *Muscle Nerve*. 2002;25(4):477-91
60. Kikta DG, Breuer AC, Wilbourn AJ. Thoracic root pain in diabetes: the spectrum of clinical and electromyographic findings. *Ann Neurol*. 1982;11(1):80-5
61. Neal JM. Diabetic neuropathic cachexia: a rare manifestation of diabetic neuropathy. *South Med J*. 2009;102(3):327-9
62. Dyck PJ, Kratz KM, Karnes JL, Litchy WJ, Klein R, Pach JM, Wilson DM, O'Brien PC, Melton LJ 3rd, Service FJ. The prevalence by staged severity of various types of diabetic neuropathy, retinopathy, and nephropathy in a population-based cohort: the Rochester Diabetic Neuropathy Study. *Neurology*. 1993;43(4):817-24
63. Vinik AI, Erbas T. Neuropathy. In: Ruderman N, editors. *Handbook of Exercise in Diabetes*. 2nd ed., Alexandria; American Diabetes Association. 2002;463-96
64. Young MJ, Boulton AJM, MacLeod AF, Williams DR, Sonksen PH. A multicentre study of the prevalence of diabetic peripheral neuropathy in the United Kingdom hospital clinic population. *Diabetologia* 1993;36:150-4

65. Feldman EL, Stevens MJ, Thomas PK, Brown MB, Canal N, Greene DA. A practical two-step quantitative clinical and electrophysiological assessment for the diagnosis and staging of diabetic neuropathy. *Diabetes Care*. 1994;17:1281-91
66. Dyck PJ, Thomas PK. *Pathology-Symmetrik Polyneuropathy, Peripheral Neuropathy*, third edition, W.B. Saunders Company, USA 1993:1230
67. Cumhuriyet Ertekin. *Diyabetik Nöropatiler, Santral ve Periferik EMG Anatomi-Fizyoloji-Klinik*, Türkiye 2006:211-28
68. Smith AG, Russell J, Feldman EL, Goldstein J, Peltier A, Smith S, Hamwi J, Pollari D, Bixby B, Howard J, Singleton JR. Lifestyle intervention for prediabetic neuropathy. *Diabetes Care*. 2006;29:1294-9
69. Hotta N, Akanuma Y, Kawamori R, Matsuoka K, Oka Y, Shichiri M, Toyota T, Nakashima M, Yoshimura I, Sakamoto N, Shigeta Y. Long-term clinical effects of epalrestat, an aldose reductase inhibitor, on diabetic peripheral neuropathy: the 3- year, multicentre, comparative Aldose-Reductase Inhibitor-Diabetes Complications Trial. *Diabetes Care*. 2006;29:1538-44
70. Horrobin DF. The use of gamma-linolenic acid in diabetic neuropathy. *Agents Actions Suppl*. 1992;37:120-44
71. Coste T, Pierlovisi M, Leonardi J, Dufayet D, Gerbi A, Lafont H, Vague P, Raccach D. Beneficial effects of gamma linolenic acid supplementation on nerve conduction velocity, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ATPase activity, and membrane fatty acid composition in sciatic nerve of diabetic rats. *J Nutr Biochem*. 1999 ;10(7):411-20
72. Cameron NE, Gibson TM, Nangle MR, Cotter MA. Inhibitors of advanced glycation end product formation and neurovascular dysfunction in experimental diabetes. *Ann N Y Acad Sci*. 2005;1043:784-92
73. Vinik AI, Bril V, Kempler P, Litchy WJ, Tesfaye S, Price KL, Bastyr EJ 3rd; MBBQ Study Group. Treatment of symptomatic diabetic peripheral neuropathy with the protein kinase C beta-inhibitor ruboxistaurin mesylate during a 1-year, randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial. *Clin Ther*. 2005;27(8):1164-80
74. Pittenger G, Vinik A. Nerve growth factor and diabetic neuropathy. *Exp Diabetes Res*. 2003;4(4):271-85
75. Zochodne DW. Neurotrophins and other Growth factors in Diabetic Neuropathy. *Seminers in Neurology*. 1996;16:153-59

76. Flint H, Cotter MA, Cameron NE. Pentoxifylline effects on nerve conduction velocity and blood flow in diabetic rats. *Int J Exp Diabetes Res.* 2000;1(1):49-58
77. Samii A, Unger J, Lange W. Vascular endothelial growth factor expression in peripheral nerves and dorsal root ganglia in diabetic neuropathy in rats. *Neurosci Lett.* 1999;262:159-62
78. Schratzberger P, Schratzberger G, Silver M, Curry C, Kearney M, Magner M, Alroy J, Adelman LS, Weinberg DH, Ropper AH, Isner JM. Favorable effect of VEGF gene transfer on ischemic peripheral neuropathy. *Nature Med.* 2000;6:405-13
79. Sander HW, Chakroverty S. Diabetic Amyotrophy: Current concepts. *Seminers in Neurology.* 1996;16:173-75
80. Ziegler D, Nowak H, Low PA. Treatment of symptomatic diabetic polyneuropathy with the antioxidant  $\alpha$ -lipoic acid: a meta-analysis. *Diabet Med.* 2004; 21:114-21
81. Tritschler HJ, Mehnert H, Ziegler D, Ruhnau KJ, Meissner HP, Finn JR, Reljanovic M, Lobisch M, Schütte K, Nehrdich D. Effects of 3-week oral treatment with the antioxidant thioctic acid ( $\alpha$ -lipoic acid) in symptomatic diabetic polyneuropathy. *Diabet Med.* 1999;16(12):1040-3
82. Ametov AS, Barinov A, Dyck PJ, Hermann R, Kozlova N, Litchy WJ, Low PA, Nehrdich D, Novosadova M, O'Brien PC, Reljanovic M, Samigullin R, Schuette K, Stokov I, Tritschler HJ, Wessel K, Yakhno N, Ziegler D; SYDNEY Trial Study Group. The sensory symptoms of diabetic polyneuropathy are improved with  $\alpha$ -lipoic acid: the SYDNEY trial. *Diabetes Care.* 2003;26(3):770-6
83. Ziegler D, Ametov A, Barinov A, Dyck PJ, Gurieva I, Low PA, Munzel U, Yakhno N, Raz I, Novosadova M, Maus J, Samigullin R. Oral treatment with  $\alpha$ -lipoic acid improves symptomatic diabetic polyneuropathy: the SYDNEY 2 trial. *Diabetes Care.* 2006;29(11):2365-70
84. Bril V, England J, Franklin GM, Backonja M, Cohen J, Del Toro D, Feldman E, Iverson DJ, Perkins B, Russell JW, Zochodne D, Evidence-based guideline: Treatment of painful diabetic neuropathy: report of the American Academy of Neurology, the American Association of Neuromuscular and Electrodiagnostic Medicine, and the American Academy of Physical Medicine and Rehabilitation. *Neurology.* 2011;76(20):1758-65
85. Bryans JS, Wustrow DJ. 3-substituted GABA analogs with central nervous system activity: a review. *Med Res Rev.* 1999;19(2):149-77

86. Zaccara G, Gangemi P, Perucca P, Specchio L. The adverse event profile of pregabalin: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Epilepsia*. 2011;52(4):826-36
87. Backonja M, Beydoun A, Edwards KR, Schwartz SL, Fonseca V, Hes M, LaMoreaux L, Garofalo E. Gabapentin for the symptomatic treatment of painful neuropathy in patients with diabetes mellitus: a randomized controlled trial. *JAMA*. 1998;280(21):1831-6
88. Gorson KC, Schott C, Herman R, Ropper AH, Rand WM. Gabapentin in the treatment of painful diabetic neuropathy: a placebo controlled, double blind, crossover trial. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1999;66(2):251-2.
89. Kochar DK, Rawat N, Agrawal RP, Vyas A, Beniwal R, Kochar SK, Garg P. Sodium valproate for painful diabetic neuropathy: a randomized double-blind placebo-controlled study. *QJM*. 2004;97(1):33-8
90. Chakrabarti AK, Samantaray SK. Diabetic peripheral neuropathy: nerve conduction studies before, during and after carbamazepine therapy. *Aust N Z J Med*. 1976;6(6):565-8
91. Max MB, Lynch SA, Muir J, Shoaf SE, Smoller B, Dubner R. Effects of desipramine, amitriptyline, and fluoxetine on pain in diabetic neuropathy. *N Engl J Med*. 1992;326(19):1250-6
92. Kaur H, Hota D, Bhansali A, Dutta P, Bansal D, Chakrabarti A. A comparative evaluation of amitriptyline and duloxetine in painful diabetic neuropathy: a randomized, double-blind, cross-over clinical trial. *Diabetes Care*. 2011;34(4):818-22
93. Chou R, Ballantyne JC, Fanciullo GJ, Fine PG, Miaskowski C. Research gaps on use of opioids for chronic noncancer pain: findings from a review of the evidence for an American Pain Society and American Academy of Pain Medicine clinical practice guideline. *J Pain*. 2009;10(2):147-59
94. Capsaicin Study Group. Effect of treatment with capsaicin on daily activities of patients with painful diabetic neuropathy. *Diabetes Care*. 1992;15(2):159-65
95. Dubinsky RM, Miyasaki J. Assessment: efficacy of transcutaneous electric nerve stimulation in the treatment of pain in neurologic disorders (an evidence-based review): report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2010;74(2):173-6
96. Arai Y, Watanabe S, Kimira M, Shimoi K, Mochizuki R, Kinae N. Dietary intakes of flavonols, flavones and isoflavones by Japanese women and the inverse correlation

- between quercetin intake and plasma LDL cholesterol concentration. *J. Nutr.* 2000;130:2243–50
97. Bhat TA, Nambiar D, Pal A, Agarwal R, Singh RP. Fisetin inhibits various attributes of angiogenesis in vitro and in vivo--implications for angioprevention. *Carcinogenesis.* 2012;33(2):385-93.
  98. Goh FY, Upton N, Guan S, Cheng C, Shanmugam MK, Sethi G, Leung BP, Wong WS. Fisetin, a bioactive flavonol, attenuates allergic airway inflammation through negative regulation of NF- $\kappa$ B. *Eur J Pharmacol.* 2012;15:109-16
  99. Prasath GS, Subramanian SP. Modulatory effects of fisetin, a bioflavonoid, on hyperglycemia by attenuating the key enzymes of carbohydrate metabolism in hepatic and renal tissues in streptozotocin-induced diabetic rats. *Eur J Pharmacol.* 2011;668(3):492-6
  100. Maher P, Dargusch R, Ehren JL, Okada S, Sharma K, Schubert D. Fisetin lowers methylglyoxal dependent protein glycation and limits the complications of diabetes. *PLoS One.* 2011;6(6):e21226
  101. van Acker SA, van den Berg DJ, Tromp MN, Griffioen DH, van Bennekom WP, van der Vijgh WJ, Bast A. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radic Biol Med.* 1996;20:331–42
  102. Burdo J, Schubert D, Maher P. Glutathione production is regulated via distinct pathways in stressed and non-stressed cortical cultures. *Brain Res.* 2008;1189:12–22
  103. Handwerker HO, Kobal G. Psychophysiology of experimentally induced pain. *Physiol Rev.* 1993;73:639-71.
  104. Gilchrist HD, Allard BL, Simone DA. Enhanced withdrawal responses to heat and mechanical stimuli following intraplantar injection of capsaicin in rats. *Pain.* 1996;67:179-88
  105. Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev.* 2001;53:597-52
  106. Apelqvist J, Bakker K, van Houtum WH, Schaper NC; International Working Group on the Diabetic Foot (IWGDF) Editorial Board. Practical guidelines on the management and prevention of the diabetic foot: based upon the International Consensus on the Diabetic Foot. Prepared by the International Working Group on the Diabetic Foot. *Diabetes Metab Res Rev.* 2008;24:181-7

107. Wuarin B, Zahnd GR, Kaufmann F, Burcklen L, Adler J. Hyperalgesia in spontaneous and experimental animal models of diabetic neuropathy. *Diabetologia*. 1987;30:653-58
108. Stevens M.J, Lattimer SA, Feldman EL, Helton E, Millington DS, Sima AAF, Greene DA. Acetyl-L-carnitine deficiency as a cause of altered nerve myoinositol content, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase activity and motor conduction velocity in the streptozotocine diabetic rat. *Metabolism*. 1996;45:865-72
109. Calcutt NA, Freshwater JD, Mizisin AP. Prevention of sensory disorders in diabetic Sprague-Dawley rats by aldose reductase inhibition or treatment with ciliary neurotrophic factor. *Diabetologia* 2004;47:718-24
110. Ohsawa M, Miyata S, Carlsson A, Kamei J. Preventive effect of acetyl-L-carnitine on the thermal hypoalgesia in streptozotocin-induced diabetic mice. *Eur J Pharmacol*. 2008;;588:213-6
111. Calcutt NA. Potential mechanisms of neuropathic pain in diabetes. *Int Rev Neurobiol*. 2004;50:205-28
112. Hargreaves K, Dubner R, Brown F, Flores C, Joris J. A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. *Pain*. 1988;32:77-88
113. DCCT Trial Research Group. The effect of intensive diabetes therapy on the development and progression of neuropathy. *Ann Intern Med*. 1995;2333:89-94
114. UKPDS 33. Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes. *Lancet* 1998;352:837-53
115. Ziegler D, Hanefeld M, Ruhnau KJ, Meissner HP, Lobisch M, Schütte K, Gries FA. Treatment of symptomatic diabetic peripheral neuropathy with the anti-oxidant alpha-lipoic acid. A 3-week multicentre randomized controlled trial (ALADIN Study). *Diabetologia*. 1995;38(12):1425-33
116. Sung B, Pandey MK, Aggarwal BB. Fisetin, an inhibitor of cyclindependent kinase 6, down-regulates nuclear factor-kappaB regulated cell proliferation, antiapoptotic and metastatic gene products through the suppression of TAK-1 and receptorinteracting protein-regulated Ikappa Balpha kinase activation. *Mol Pharmacol* 2007;71:1703-14
117. Fotsis T, Pepper MS, Montesano R, Aktas E, Breit S, Schweigerer L, Rasku S, Whala K, Adlercreutz H. Phytoestrogens and inhibition of angiogenesis. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*. 1998;12:649-66

118. Hanneken A, Lin FF, Johnson J, Maher P. Flavonoids protect human retinal pigment epithelial cells from oxidative-stress-induced death. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47:3164-77
119. Bravenboer B, Kappelle AC, Hamers FP, van Buren T, Erkelens DW, Gispen WH. Potential use of glutathione for the prevention and treatment of diabetic neuropathy in the streptozotocin-induced diabetic rat. *Diabetologia.* 1992;35:813-7