

**T.C.**  
**HARRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TIP 1 DİABETES MELLİTUSLU ÇOCUKLARDA DNA HASARI**  
**VE OKSİDATİF METABOLİZMANIN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**  
**Dr. İhsan YILDIRIM**

**DANIŞMANI**  
**Doç. Dr. Ali ATAŞ**

**ŞANLIURFA**

**2015**

**T.C.**  
**HARRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TIP 1 DİABETES MELLİTUSLU ÇOCUKLARDA DNA HASARI**  
**VE OKSİDATİF METABOLİZMANIN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**  
**Dr. İhsan YILDIRIM**

**DANIŞMANI**  
**Doç. Dr. Ali ATAŞ**

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinatörlüğü tarafından 14.06.2014 tarih ve 14099 protokol numarası ile desteklenmiştir.

**ŞANLIURFA**

**2015**

## TEŞEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesinde, çalışmaların planlanması ve yürütülmesi esnasında destek ve yardımlarını gördüğüm değerli tez hocam Doç. Dr. Ali ATAŞ 'a teşekkürlerimi sunarım.

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniğindeki uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde büyük emeği geçen, her konuda desteğini esirgemeyen, tecrübe ve deneyimlerinden çok şey kazandığım değerli hocalarım; Prof. Dr. C. Dost ZEYREK, Doç. Dr. Alpay ÇAKMAK, Doç. Dr. Kabil SHERMATOV, Yrd. Doç. Dr. Mahmut ABUHANDAN, Doç. Dr. Mustafa ÇALIK ve Doç. Dr. Bülent KOCA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarımındaki yardım ve desteklerinden dolayı Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki sevgili hocam Prof. Dr. Nurten AKSOY, Yrd. Doç. Dr. Emin ŞAVİK, Biyolog Abdullah TAŞKIN, ve laboratuvar çalışmaları esnasında yardımlarından dolayı Biyokimya A.D. çalışanlarına gönülden teşekkür ederim.

Asistanlık eğitimim süresince klinikteki çalışmalarım ve tezimde yardımlarını esirgemeyen ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, sıkıntılı ve güzel günleri paylaştığım değerli arkadaşlarım Çocuk Kliniği asistanlarına, hemşirelerine ve personeline ayrıca teşekkür ederim.

Eğitim süresince maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili aileme teşekkürlerimi sunarım.

Dr. İhsan YILDIRIM

## İÇİNDEKİLER

## SAYFA NO

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLO LİSTESİ	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ	VII
KISALTMALAR	VIII
ÖZET	XI
ABSTRACT	XIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tip 1 Diabetes	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. Diabetes Mellitus'un Tarihçesi	3
2.1.3. Diabetes Mellitus Sınıflandırılması	4
2.1.4. Tip 1 Diyabetes Mellitus (T1DM)	6
2.1.5. Tip 1 DM'nin Sınıflandırılması	6
2.1.6. Epidemiyoloji	6
2.1.7. Etyopatogenez	8
2.1.8. Patofizyoloji	12
2.1.9. Tip 1 Diabetes Mellitus'ta Klinik Belirti ve Bulgular	14
2.1.10. Tanı	14
2.1.11. Glukozillenmiş Hemoglobin (HbA1c)	15
2.1.12. Diyabet kontrolünde kullanılan diğer laboratuvar testleri	16
2.1.13. Tedavi	17
2.1.14 Tip I diabetes mellitus'un komplikasyonları	18
2.1.14.1. Tip 1 diabetes mellitus'un akut komplikasyonları	18

2.1.14.1.1. Diyabetik ketoasidoz (DKA)	20
2.1.14.1.2. Beyin ödemi	20
2.1.14.1.3. Serebral tromboz	20
2.1.14.1.4. Hipoglisemi	20
2.1.14.1.5. İnfeksiyona eğilim	21
2.1.14.1.6. İnsülin alerjisi	21
2.1.14.2. Tip I diabetes mellitus hastalarında subakut komplikasyonlar	21
2.1.14.2.1. Lipodistrofi	21
2.1.14.2.2. Büyüme geriliği	22
2.1.14.2.3. Pubertal gelişim ve menstruasyon bozukluğu	22
2.1.14.2.4. Hiperlipidemi	22
2.1.14.3. Tip 1 diabetes mellitus'un kronik komplikasyonları	22
2.1.14.3.1. Diyabetik nefropati	23
2.1.14.3.2. Diyabetik retinopati	24
2.1.14.3.3. Diyabetik nöropati	24
2.1.15. Tip 1 Diabetes Mellitus'un Merkezi Sinir Sistemi Üzerine Etkileri	24
2.2. DNA Hasarı	26
2.2.1. DNA'nın Yapısı ve Fonksiyonu	26
2.2.2. DNA Hasarı Oluşum Nedenleri	29
2.2.3. DNA Hasarı Tipleri	31
2.2.3.1. Deaminasyon	31
2.2.3.2. Depürinasyon	32
2.2.3.3. Alkilasyon	33
2.2.3.4. T-T ve T-C dimerleri oluşumu	34
2.2.3.5. Replikasyon Hataları	34
2.2.3.6. Çift İplik Kırıkları Oluşumu	35
2.2.3.7. Oksidatif Stresin Neden Olduğu DNA Hasarı	35

2.2.4. DNA Tamiri	37
2.3. Total Oksidan Seviye, Total Antioksidan Kapasite ve Oksidatif Stres İndeksi	38
2.3.1. Serbest Radikaller	39
2.3.1.1. Süperoksit Radikali ( $O_2^-$ )	40
2.3.1.2. Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ )	41
2.3.1.3. Hidroksil Radikali ( $HO^\cdot$ )	41
2.3.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri	42
2.3.2.1. Membran Lipidlerine Etkisi (Lipid Peroksidasyonu)	42
2.3.2.2. Proteinlere Etkisi	43
2.3.2.3. Nükleik asitlere Etkileri	43
2.3.2.4. Karbonhidratlara Etkileri	44
2.3.3. Antioksidan Mekanizmalar	44
2.3.3.1. Enzim Olan Antioksidanlar	45
2.3.3.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	45
2.3.3.1.2. Katalaz	45
2.3.3.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)	46
2.3.3.1.4. Glutatyon-S-Transferaz (GST)	47
2.3.3.1.5. Glutatyon Redüktaz (GR)	47
2.3.3.1.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz	47
2.3.3.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar	47
2.3.3.2.1. Glutatyon (GSH)	47
2.3.3.2.2. Vitamin C (Askorbik Asit)	48
2.3.3.2.3. Vitamin E (Tokoferol)	49
2.3.3.2.4. $\beta$ Karoten	49
2.3.3.2.5. Seruloplazmin	49
2.3.4. Total Antioksidan Kapasite	49
2.3.5. Oksidatif Stres	50

3. MATERYAL VE METOD	51
3.1. Yöntem	51
3.1.1. Toplam Antioksidan Status Düzeyinin Ölçümü	52
3.1.2. Toplam Oksidan Status Düzeyinin Ölçümü	53
3.1.3. Oksidatif Stres İndeksi Ölçümü (OSİ)	53
3.1.4. Mononükleer Lökositlerin Seperasyonu	53
3.1.5. Comet Assay Yöntemi ile DNA Hasar Tayini	54
3.1.5.1. Yöntemin Prensibi	54
3.1.5.2. Yönteminin Uygulanışı	54
3.1.5.2.1. Slaytların Hazırlanması	54
3.1.5.2.2. Lizis aşaması	54
3.1.5.2.3. Elektforez Tamponu	55
3.1.5.2.4. Elektforezde Yürütme	55
3.1.5.2.5. Nötralizasyon	55
3.1.5.2.6. Boyama	55
3.1.5.2.7. Analiz	55
3.2. Yapılan İstatistiksel Analizler	56
4. BULGULAR	57
4.1. Demografik Veriler	57
5. TARTIŞMA	63
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	72
KAYNAKLAR	73

**TABLO LİSTESİ****SAYFA NO**

<b>Tablo-1:</b> ADA (Amerikan Diyabet Birliği)'nin Diyabet Sınıflandırması	4
<b>Tablo-2:</b> Otoimmün Olayın Başlamasında Rol Oynayan Mekanizmalar	9
<b>Tablo-3:</b> Yabancı Antijen ile Pankreatik Antijenlerin Benzerliğine Örnekler	9
<b>Tablo-4:</b> Diabetes Mellitusta Tanı Kriterleri	14
<b>Tablo-5:</b> Yaşa Göre Hedeflenen HbA1C Değerleri	15
<b>Tablo-6:</b> HbA1c değerlerine göre metabolik kontrol sınıflandırılması	16
<b>Tablo-7:</b> Tip I DM Komplikasyonları	18
<b>Tablo-8:</b> Oksijen türevi bileşikler	40
<b>Tablo-9:</b> Hasta grubu ile kontrol grubunun sosyodemografik verileri	57
<b>Tablo-10:</b> Tip I DM hastaları ve kontrol grubunun DNA hasarı ve oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması	58
<b>Tablo-11:</b> Tip I diabetes mellitus hastalarının DNA hasarı, oksidan-antioksidan sistem HbA1c, hastalık maruziyet süresi ve fruktozamine ait korelasyon değerleri	60



<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	<b>SAYFA NO</b>
<b>Şekil-1:</b> DNA'nın çift sarmallı yapısı	27
<b>Şekil-2:</b> DNA'da replikasyon oluşumu	29
<b>Şekil-3:</b> Deaminasyon oluşumu	32
<b>Şekil-4:</b> Depürinasyon oluşumu	33
<b>Şekil-5:</b> Guanindeki kimyasal hasar bölgeleri (alkilasyon, oksidasyon, radyasyon)	34
<b>Şekil-6:</b> Çift İplik Kırıkları	35
<b>Şekil-7:</b> 8-hidroksiguanin ve FapyGuo'nun oluşum mekanizmaları	37
<b>Şekil-8:</b> DNA Hasarı sonucu oluşan süreç	37
<b>Şekil-9:</b> Serbest radikallerin hasar oluşturma mekanizmaları	42
<b>Şekil-10:</b> DNA hasarları sonucu meydana gelen hasarların elektroforez migrasyonu sonrası DNA'ların flüoresan mikroskop altındaki görüntüleri	56
<b>Şekil-11:</b> Tip 1 DM vakalarının ve kontrol grubunun DNA hasarı düzeyleri	58
<b>Şekil-12:</b> Tip 1 DM vakalarının ve kontrol grubunun TOS düzeyleri	59
<b>Şekil-13:</b> Tip 1 DM vakalarının ve kontrol grubunun TAS düzeyleri	59
<b>Şekil-14:</b> Tip 1 DM vakalarının maruziyet süresi ile DNA hasarı arasındaki korelasyon grafiği	61
<b>Şekil-15:</b> Tip 1 DM vakalarının HbA1c ve DNA hasarı arasındaki korelasyon grafiği	61
<b>Şekil-16:</b> Tip 1 DM vakalarının HbA1c ve OSİ arasındaki korelasyon grafiği	62
<b>Şekil-17:</b> Tip 1 DM vakalarının HbA1c ve TOS arasındaki korelasyon grafiği	62

## KISALTMALAR

<b>AAH</b>	: Albumin Atılım Hızı
<b>ABD</b>	: Amerika Birleşik Devletleri
<b>ABTS</b>	: 2,2'-azino-bis
<b>Ark</b>	: Arkadaşları
<b>AU</b>	: Arbitrary Unit
<b>BAL</b>	: Bronko Alveolar Lavaj
<b>BER</b>	: Baz Eksizyon Tamiri
<b>BMI</b>	: Vücut Kitle İndeksi
<b>C</b>	: Sitozin
<b>CMV</b>	: Sitomegalovirus
<b>DCCT</b>	: Diabetes Control and Complications Trial
<b>DKA</b>	: Diyabetik Ketoasidoz
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik Asit
<b>DM</b>	: Diabetes Mellitus
<b>EDTA</b>	: Etilen daimin tetra asetik asit
<b>ETS</b>	: Elektron transport sistemi
<b>G</b>	: Guanin

<b>GFR</b>	: Glomerüler Filtrasyon Hızı
<b>GLUT</b>	: Glucose Transporter
<b>GR</b>	: Glutasyon Redüktaz
<b>GSH</b>	: Glutasyon
<b>GSH-Px</b>	: Glutasyon Peroksidaz
<b>GST</b>	: Glutasyon S Transferaz
<b>HbA1c</b>	: Glikozile Hemoglobin
<b>HDL</b>	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
<b>HLA</b>	: İnsan Lökosit Antijeni
<b>HO</b>	: Hidroksil
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen Peroksit
<b>IA-2</b>	: Islet Antigen – 2 Autoantibodies
<b>IAA</b>	: Insulin Autoantibodies
<b>ICA</b>	: Islet Cell Antibodies
<b>MHC</b>	: Major Histocompatibility Complex
<b>mG</b>	: Metilguanin
<b>MDA</b>	: Malondialdehyde
<b>MODY</b>	: Maturity Onset Diabetes of the Young
<b>NER</b>	: Nucleotide Excision Repair (Nükleotid Çıkarma Onarımı)
<b>Ng</b>	: Nanogram
<b>NPH</b>	: Nötral Protamin Hagedorn
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	: Süperoksit Radikali

<b>OGTT</b>	: Oral Glukoz Tolerans Testi
<b>OS</b>	: Oksidatif Stres
<b>OSİ</b>	: Oksidatif Stres İndeksi
<b>SOD</b>	: Süperoksit Dismutaz
<b>SOR</b>	: Serbest oksijen Radikali
<b>T</b>	: Timin
<b>TAS</b>	: Total Antioksidan Seviy
<b>TBARS</b>	: Tiyobarbitürik asit reaktif maddeler
<b>TOS</b>	: Total Oksidan Seviye
<b>U</b>	: Urasil
<b>UV</b>	: Ultraviyole
<b>WHO</b>	: Dünya Sağlık Örgütü

## ÖZET

### Tip 1 Diabetes Mellituslu Çocuklarda DNA Hasarı Ve Oksidatif Metabolizmanın Değerlendirilmesi

Dr. İhsan YILDIRIM

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi

**Amaç:** Bu çalışma ile Tip 1 Diabetes mellituslu çocuklarda DNA hasarı, total antioksidan seviye (TAS), total oksidan seviye (TOS) ve oksidatif stres indeksinin (OSİ) birlikte çalışılması ve aralarındaki ilişkinin araştırılması amaçlandı.

**Yöntem:** Çalışmamıza en az bir yıldır izlemde olup, önceden tanımlanmış bir kronik hastalığı bulunmayan, 5-10 yaş aralığında tip 1 diabetes mellitus (DM) hastası 30 çocuk ile yaş, cinsiyet ve sosyokültürel olarak eşleştirilmiş 30 sağlıklı çocuk kontrol grubu olmak üzere toplam 60 çocuk alındı. Diyabet grubunun yaş ortalaması 7,93 ±1,55 yıl iken kontrol grubunun yaş ortalaması 7,70 ±1,31 yıl idi. DNA hasar tayini, Comet Assay (alkali mononükleer hücre elektroforezi) yöntemi ile taze heparinize kandan çalışıldı. Periferik venöz kandan TOS ve TAS Ö. Erel yöntemi ile çalışıldı ve OSİ değerleri hesaplandı. İstatiksel analiz SPSS 20,0 (SPSS, Chicago, IL, USA) istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. *p* değerinin <0,05 olması anlamlı olarak kabul edildi.

**Bulgular:** Çalışmamızda Tip 1 DM grubunu oluşturan hastalarda ve kontrol grubunda periferik kan lökositlerinin comet assay tekniği kullanılarak elektroforez migrasyon görüntüleri değerlendirildiğinde hasta grubunda DNA hasarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak belirgin artmış olduğu saptandı (*p*=0,001).

Her iki grupta oksidan-antioksidan sistem değerlendirildiğinde ise TOS ve OSİ düzeylerinin hasta grubunda arttığı, TAS düzeyinin ise azaldığı gözlenmiştir. Total Oksidan Seviye rakamsal olarak yüksek bulunurken bu fark istatistiksel olarak anlamlı

değildi. ( $p=0,16$ ) Buna karşılık TAS ve OSİ düzeylerinin hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bulundu ( $p < 0,001$ ); ( $p=0,006$ ).

**Sonuç:** Tip 1 Diabetes mellituslu hastalarda oksidatif stres ve DNA hasarının kontrol grubuna göre yüksek olduğunu saptadık. Tip 1 Diabetes mellituslu çocuklarda görülen oksidatif stres düzeyindeki artışla, DNA hasarı arasında bir ilişki olduğu görüldü.

**Anahtar Kelimeler:** Tip 1 Diabetes mellitus, DNA Hasarı, Oksidan- Antioksidan sistem.

## ABSTRACT

### Assessment Of Total Oxidative Metabolism and Dna Damage In Children With Type 1 Diabetes Mellitus

İhsan Yıldırım, Md

Specialty Thesis, Department of Pediatrics

**Objective:** At this study, it is aimed to reseach DNA damage, total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS) and oxidative stress index (OSI) in children with type 1 diabetes mellitus.

**Methods:** 30 patients with type 1 diabetes mellitus with mean age of  $7,93 \pm 1,55$  years and 30 healthy children with mean age of  $7,70 \pm 1,31$  were included in this study. Questionnaire about socio - demographic characteristics was administered to children and their families. The control group of the same age and socio - demographic conditions compatible with the patient group was selected from children. Determination of DNA damage was studied in fresh heparinized blood by the Comet Assay (mononuclear cell alkaline electrophoresis) method. Peripheral venous blood TOS and TAS were measured by Ö.Erel method and OSI values were calculated. Statistical analysis was performed using SPSS 20,0 (SPSS, Chicago, IL, USA) p value  $<0,05$  was considered to be significant.

**Results:** In the patients with Type 1 diabetes mellitus, DNA damage and OSI leves were significantly higher than the control group ( $p=0,001$ ,  $p=0,006$ ).

**Conclusion:** In conclusion, impaired antioxidant defense in leukocytes of patients with Type 1 DM may be one of the responsible mechanisms for increased DNA damage in those patients.

**Key Words:** Type 1 diabetes mellitus, DNA damage, oxidant - antioxidant system.

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Diyabetes mellitus insülin eksikliği, etkisizliği veya her ikisinin birlikte bulunması ile karakterize karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozukluğudur. Çocukluk ve adolesan dönemin en sık görülen endokrin ve metabolik hastalığıdır. Diyabet; pankreatik beta hücre harabiyetine bağlı insülin sekresyon eksikliği ile giden Tip 1 DM ve çeşitli dönemlerde beta hücre bozukluğu ile birlikte yağ dokusu, karaciğer (KC) ve iskelet kası düzeylerinde oluşan insülin direncinin bir sonucu olarak ortaya çıkan Tip 2 DM olmak üzere iki gruba ayrılır (1).

İnsülin eksikliğinin yanı sıra insüline karşı gelişen direnç, diabetes mellitus gelişiminde rol oynamakta ve karbohidrat, lipid ve protein metabolizmasını da etkilemektedir (2-3). Oksidatif stres ateroskleroz, karsinogenezis, astım, DM, KOAH, romatoid artrit ve psöriyazis gibi kronik inflamatuvar hastalıkların patogenezinde yer almaktadır (4). Diyabetes mellitus da artmış inflamasyona bağlı oksidatif stres mevcuttur. Oksidatif stres, artmış oksidana maruz kalma ya da azalmış antioksidan kapasite olarak tanımlanabilir (5).Serbest oksijen radikallerinin (SOR), doku hasarı ve değişik hastalıkların etyopatogenezindeki rolü son yıllarda tıpta giderek artan ilgi alanı oluşturmaktadır.

Oksidatif stres, diyabet ve diyabetin daha sonraki komplikasyonlarının patogenezinde önemli görev alır. Enzimatik olmayan glikozilasyon, otooksidatif glikozilasyon, sorbitol yolu aktivitesi, antioksidan savunma sistemindeki çeşitli değişiklikler, hipoksi gibi nedenler diyabette oksidatif stresi artıran mekanizmalardır. Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir. Bu tip maddeler, ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktiftirler. Diyabetik kişilerin plazma ve dokularında lipid peroksidasyon ürünlerinde artış meydana gelmektedir (5). Diyabette serbest radikal oluşumunun arttığı ve radikal bağlayıcı sistemlerde azalma olduğu ileri sürülerek, diyabetiklerin antioksidanlara daha çok ihtiyaç gösterebileceği savunulmuştur (6,7)

Diyabette, serbest radikallerin fazlaca yükselişi ve buna bağlı olarak antioksidan savunma sisteminin zayıflaması, yalnızca hücresel organellerin ve enzimlerin hasarına değil, lipid peroksidasyonunun artmasına ve insülin reseptörlerinin insüline karşı duyarlılıklarının azalmasına neden olmaktadır. DNA hedefli serbest radikal atakları, mutasyonlara ve hücre



ölümlerine yol açmaktadır. Hidroksil radikali daha çok bazlar ve deoksiribozla reaksiyona girerken, hidrojen peroksit membranlardan geçerek çekirdek DNA'sına ulaşır ve hücre disfonksiyonuna hatta ölümüne neden olabilmektedir (8,9,10). DM'da ilerlemiş glikozillenme ürünlerinin DNA'yı etkilemesiyle, kromozomal değişiklikler, DNA zincirinde kırılmalar, DNA'nın tamirinde, replikasyonunda ve transkripsiyonunda bozukluklar olabilir.

Tip 1 diabetes mellitus (DM) çocukluk yaş grubunda DNA hasarı ve bunun oksidatif stresle ilişkisini araştıran bir çalışma bildiğimiz kadarı ile bulunmamaktadır. Tip 1 diabetes mellitus (DM) erişkin yaş grubunda ve tip 2 diabetes mellitusta DNA hasarı ve bunun oksidatif stresle ilişkisini araştıran çalışmalar mevcuttur (11,12,13).

Bu bilgilerin ışığında planlanan bu araştırmanın amacı Tip 1 diabetes mellitus (DM) çocukluk yaş grubunda lökositlerde DNA hasarını ve oksidatif ve antioksidatif metabolizma ile ilişkisini ortaya koymaktır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Diyabetes Mellitus**

#### **2.1.1. Tanımı**

Diyabetes mellitus; insülin eksikliğinden, insülin etkisine cevabın bozulmasından veya her ikisinden kaynaklanan, hiperglisemi ile seyreden, zamanla mikro ve/veya makrovasküler komplikasyonların eşlik edebildiği kronik metabolik bir hastalıktır (14).Diyabetik hastaların çoğu etyopatogenetik açıdan iki büyük kategoride yer alır.Tip1 diyabet otoimmün (% 80–90) veya bilinmeyen (% 10- 20) bir nedenle, pankreas beta hücrelerindeki yıkım sonucu ortaya çıkar. Çoğunlukla serolojik göstergeler ve genetik belirteçler ile tanımlanır. Tip 2 diyabet ise, insülin sekresyonunda kısmi bozulma ve/veya hedef dokulardaki insülin direnci nedeniyle, insülin etkisindeki azalma sonucunda ortaya çıkar ve uzun süre semptom vermeden seyredebilir. Hiperglisemiye bağlı olarak gelişen semptomlar poliüri, polidipsi, kilo kaybı, bazen polifaji, görmede bulanıklık, çocuklarda büyüme geriliği ve enfeksiyonlara yatkınlık sayılabilir. Bunların dışında ketoasidoz veya non-ketotik hiperosmolar koma gibi akut, hayatı tehdit eden durumlar gelişebilir. Diyabetli hastalarda doku ve organlarda biyokimyasal, morfolojik ve fonksiyonel birçok değişiklik oluşmaktadır. Akut komplikasyonlar yaşamı tehdit edecek düzeyde olabilir. Kronik komplikasyonlar ise uzun vadede gelişen küçük ve büyük damar hastalıklarına bağlı oluşan organ disfonksiyonlarına neden olmaktadır. Koroner arter hastalığı (KAH), diyabetik nefropati ve diğer vasküler komplikasyonların ilerlemesi, erken evrede iyi glukoz regülasyonu ile engellenebilir (14,15).

#### **2.1.2 Diabetes Mellitus'un Tarihçesi**

Yunanca diabetes “sifon” anlamına gelmekte olup çok miktarda idrar çıkarımını tanımlamak için kullanılmıştır. Yunanca mellitus ise ‘bal’ anlamına gelmektedir (16). DM’ un ilk tarifine milattan 1500 yıl önce Mısır Ebers yazıtlarında rastlanmaktadır. M.Ö 150 yıllarında, Arataeus çok su içme, çok idrara çıkmayı vurgulayarak hastalığı erime hastalığı olarak tanımlamıştır (17).Türk İslam âlimi İbn- i Sina’ da şeker hastalığını bugünkü tanımına yakın bir

şekilde tanımlamıştır. Anatomist Thomas Willis, 1674 yılında, ilk kez diyabetik hastaların idrarlarının tatlı olduğunu tespit etmiştir. İngiliz Matthew Dobsoy, 1776 yılında 4 idrarla şeker atıldığını göstermiştir. 1777’ de Pool ve 1778’ de Cawley, kimyasal olarak idrarda şeker bulmuş ve bu şekerin glukoz olduğunu ispat etmiştir. Prague’den Lerch diyabetik komada idrarda aseton bulunduğunu ilk kez belirtmiştir.

Minkowski, 1889 yılında hayvan modelleri üzerinde yaptığı çalışmalarda pankreatektomi yapılan hayvanlarda diabetes mellitus geliştiğini göstermiştir. Best ve Banting, 1922 yılında pankreas ekstresi insülini izole etmişler ve hastalığın tedavisinde önemli bir çığır açmışlardır. 1946–1950 yıllarında çeşitli uzun etkili insülinler bulunmuştur. Nova ve Leo firmaları, 1973 yılında antikor oluşturmayan, ileri derecede saf insülini geliştirmişlerdir. Bu insülinler günümüzde kullanılan DNA teknolojisiyle yapılmış olan insülinlere öncülük etmiştir (18).

### 2.1.3 Diabetes Mellitus Sınıflandırması

İdeal diyabet sınıflamasının hem klinik tanımlayıcı kriterlere dayanan diyabet evrelerini hem de etyolojik gruplamayı içermesi önerilmektedir. Bu doğrultuda 2003 yılında Amerikan Diyabet Birliği (ADA) diabetes mellitusta tanı ve sınıflama kriterini düzenlemiştir. Diabetes Mellitusun sınıflaması beş klinik sınıfı içermektedir. Bunlar; Tip 1 DM, Tip 2 DM, diğer spesifik diyabet tipleri, gestasyonel diyabetes mellitus ve prediyabetir (Tablo 1).

#### **Tablo-1: ADA (Amerikan Diyabet Birliği)’nin Diyabet Sınıflandırması**

- 
- I. Tip 1 Diyabet (tam insülin eksikliğine yol açan beta hücre yıkımı)
- İmmün mekanizma aracılıklı
  - İdyopatik
- II. Tip 2 Diyabet (insülin direnci ve insülin yetersizliğinin çeşitli kombinasyonları)
- III. Diğer Spesifik Tipler
- A- MODY sendromları
- Kromozom 12, HNF-1  $\alpha$  (MODY-3)
  - Kromozom 7, glukokinaz (MODY-2)
  - Kromozom 20, HNF-4  $\alpha$  (MODY-1)
  - Kromozom 13, insülin promotör faktör(IPF)-1 (MODY 4)
  - Kromozom 17, HNF-1 $\beta$  (MODY-5)
  - Kromozom 2, NeuroD1 (MODY-6)
-

- 
- B- Mitokondrial DNA Mutasyonları  
-Wolfram sendromunun bir formu  
-Pearson sendromu  
-Kearns-Sayre  
-Diabetes Mellitus, Sağırılık
- C-Wolfram Sendromu-DİDMOAD (Diabetes insipidus, Diabetes Mellitus, optik atrofi,sağırılık)
- IV. İlaç ve Kimyasal
- A. Siklosporin- antirejeksiyon  
B. Glukokortikoidler  
C. L-asparajinaz  
D.  $\beta$ -adrenerjik blokerler  
E. Vacor- rodenticide  
F. Fenitoin  
G. Diğerleri
- V. Ekzokrin Pankreas Hastalıkları
- A. Kistik fibrozis ilişkili Diyabet  
B. Travma- pankreatektomi  
C. Pankreatitis- radyasyon  
D. Diğerleri
- VI. İnfeksiyonlar
- A. Konjenital Rubella  
B. Sitomegalovirus  
C. Hemolitik-Üremik Sendrom
- VII. Tip-2 Diyabetin Varyantları
- A. İnsülin etkisinin genetik defektleri
1. Rabson-Mendelhall sendromu
  2. Lipoatrofik Diyabet sendromları
  3. Tip A insulin direnci-akantozis
- B. İnsülin etkisinin edinilmiş defektleri
1. Endokrin tümörler
    - Feokromasitoma
    - Cushing
    - Diğerleri
  2. Anti-insülin reseptör antikorları
- VIII. Genetik sendromlar (İnsülin direnci/yetersizliği ve Diyabet ile ilişkili)
- A. Prader-Willi sendromu-15. Kromozom  
B. Down Sendromu-21. Kromozom  
C. Turner sendromu  
D. Klinifelter sendromu  
E. Diğerleri
  - Bardet-Biedel
  - Alström
  - Werner
- IX. Gestasyonel Diyabet  
X. Neonatal Diyabet
-

#### **2.1.4. Tip 1 Diabetes Mellitus (Tip 1 DM)**

Tip 1 diabetes mellitus, çocukluk çağında en sık görülen kronik hastalıklardan biridir. Pankreastaki insülin üreten beta hücrelerinin harabiyetine bağlı insülin eksikliği sonucu gelişir. Genellikle çocukluk çağında bulgu verir. Olguların dörtte biri ise erişkin dönemde tanı alır. Çocuklardaki obezite prevalansındaki artışa bağlı olarak artan tip 2 diyabet sıklığına rağmen, Tip 1 DM, hala çocukluk çağında en sık görülen diyabet tipidir. Amerika'da 19 yaş altı yeni diyabet tanılarının üçte ikisi Tip 1 DM'dir. (19).

#### **2.1.5. Tip 1 DM'nin Sınıflandırılması**

Tip 1 DM altta yatan etiyolojiye göre, tip 1A (immün aracılı) ve tip 1B (idiyopatik) olarak iki gruba ayrılmıştır. Tip 1A diyabette, Langerhans adacıklarında insülin üreten beta hücrelerinin çeşitli komponentlerine karşı otoantikörler bulunmaktadır. Tip 1B diyabet formunda ise beta hücre yıkımı olmakla beraber otoimmün yıkıma bağlı herhangi bir immünolojik delil yoktur. Tip 1A diyabet, Tip 1 DM' lilerin %90'ını, Tip 1B diyabet ise %10'unu oluşturmaktadır. Diğer yandan Tip 1 DM' nin bir alt grubu genellikle 40 yaşından sonra ortaya çıkan, yıllarca Tip 2 DM gibi seyreden, otoimmünitenin serolojik bulgularını gösteren ve sonunda insülin bağımlı olan formudur. Bu grup geç ortaya çıkan otoimmün diyabet ("*late-onset*" veya "*latent autoimmune diabetes in adults*", LADA) olarak tanımlanır. Tip 2 DM' li vakaların %10-25'nin bu gruba girdiği bildirilmektedir (19).

#### **2.1.6.Epidemiyoloji**

Tip I DM, tüm yaş gruplarında görülebilirken, esas olarak çocukluk çağının (1-18 yaş) hastalığıdır. Yaşamın ilk 6 ayında nadirdir. Başlangıç yaşı değişken olmakla birlikte, 5-7 yaşında (okul çocukluğu döneminin başlaması ve infeksiyöz ajanlarla temasın daha fazla olmasıyla) ve pubertal dönemde (10-14 yaş) (gonadal steroidlerin, büyüme hormonu ve emosyonel streslerin artmasıyla ilişkili) görülme sıklığı artar (20-22). Tip 1 DM'nin ortaya çıkışındaki mevsimsel

değişkenlik de uzun yıllardan beri bilinmektedir. Kış aylarında insidansında artış olmaktadır ve bu dönemde sık geçirilen viral infeksiyonların tetik çekici mekanizmada, direkt ve indirekt olarak rol oynayarak buna zemin hazırladığı düşünülmektedir (23-25).

Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization – WHO)’nün verilerine göre Tip 1 DM Asya, Okyanusya, Güney Amerika ve Japonya’da düşük, Avrupa’da en yüksek insidansa sahiptir. Finlandiya, en yüksek insidansa sahip ülkedir (34.9/100.000 hasta/yıl). Beyaz ırktaki insidansı yüksektir, çeşitli ülkelerde değişmekle birlikte ortalama 3.7-20/100.000 hasta/yıl olarak bildirilmektedir (26,27). Buna karşılık siyah ırkta (1,3-5,7/100.000) ve Asya ırklarında (İsrail’de 5,9/100.000, Rusya’da 4,5/100.000, Japonya’da 1,3-2,1/100.000) daha seyrek. En düşük insidans Pakistan, Kore ve Meksika’dan (0,6-1/100.000) bildirilmiştir.

Çocukluk çağı T1DM görülme yaşı, bimodal dağılım gösterir. İlk pik 4 ila 6 yaş arasında, ikinci pik ise erken ergenlik döneminde (10-14 yaş) görülür (Felner ve diğerleri, 2005). Çocukların yaklaşık yarısı 10 yaştan önce bulgu verir. Çocukluk çağı T1DM’nin toplam insidansında cinsiyet farkı yok gibi gözükmektedir. Ancak Avrupa’da ergenlik döneminde T1DM erkeklerde daha sık görülmektedir (E/K:2/3) (Harjutsalo ve diğerleri, 2008). Değişen trend: Dünya genelinde T1DM insidansı artmaktadır. Avrupa’da, Orta Doğu’da ve Avustralya’da yıllık %2-5’li bir artış bildirilmiştir (Karvonen ve diğerleri, 1999; Patterson ve diğerleri, 2009). Amerika Birleşik Devletleri’nde de T1DM’nin toplam insidansı artıyor gibi gözükmektedir (Dabelea ve diğerleri, 2007). Fakat dünya genelindeki bu artışın sebebi tam olarak bilinmemektedir. Tip 1 diyabet sıklığındaki en önemli artış en fazla küçük yaştaki çocuklarda görülmektedir. On yedi Avrupa ülkesinin verilerini kullanarak yayınlanmış bir raporda 0-4 yaş, 5-9 yaş ve 10-14 yaş arası çocuklarda Tip I DM sıklığında artış sırasıyla; %5,4, %4,3 ve %2,9 olarak rapor edilmiştir. Eğer artış bu hızla devam ederse <5 yaş çocuklarda sıklık bazı bölgelerde 2020 yılından önce iki katına çıkacaktır. Bununla birlikte T1DM, <15 yaş çocuklarda %70 oranında artış gösterecektir (Patterson ve diğerleri, 2009). Ancak dünyanın bazı bölgelerinde ergenlik döneminde Tip I DM insidansında daha fazla artış görüldüğünü belirten bazı raporlarda mevcuttur (Berhan ve diğerleri, 2011).

### 2.1.7. Etyopatogenez

Genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi ile gelişen otoimmün bir hastalık olan Tip I DM, pankreasta gelişen inflamasyon sonucu ilerleyici beta hücre harabiyeti ve total insülin yetersizliği ile karakterizedir (1). Hastalığın etyopatogenezinde rol oynayan bu faktörler; genetik, otoimmünite ve çevresel nedenler olmak üzere üç grupta toplanır(21)

**Genetik Faktörler:** Etyopatogenezinde birden fazla gen tanımlanmıştır. Hastalığa yatkınlık ve direnç, 6 numaralı kromozomun kısa kolu üzerindeki Major Histokompatibilite Kompleksi (Major Histocompatibility Complex - MHC)'nin polimorfik, İnsan Lökosit Antijeni (Human Leukocyte Antigen – HLA) olarak bilinen kısmı ile ilişkilidir. Diyabet gelişmesinde HLA klas-2 lokusu üzerinde bulunan DR ve DQ allellerinin rolü önemlidir. HLA- DR antijenlerinden HLA-DR3 veya HLA-DR4'ün tek başına bulunması, tip I DM gelişme riskini 2-3 kat, bu antijenlerin ikisinin aynı kişide bulunması, riski 7-10 kat artırmaktadır. Bunun yanında; normal kişilerin %30-35'inde DR3 veya DR4 varlığı saptanmakta, ancak bu antijenik yapıya sahip olanların %20-30'unda DM gelişmektedir. HLA-DR3 ve HLA-DR4 antijenlerinin birlikte pozitif olduğu kişilerde, hastalık daha ağır klinik seyir göstermektedir (17,28,29). HLA-DQ β zincirinin 57. pozisyonundaki aspartik asitin homozigot yokluğu (non Asp/non Asp), Tip I DM gelişimi için rölatif riski yaklaşık 100 kat artırır. Heterozigot yokluğu ise(non Asp/Asp), homozigotlara göre daha az olmakla birlikte DM gelişme riskini artırmaktadır. Diabetes Mellitus gelişimi açısından en riskli lokuslar:DQA1\*0301/DQB1\*0302, DR4, DQA1\*0501/DQB1\*0201 ve DR3 olarak belirlenmiştir. Ayrıca, araştırmalar Tip 1 DM için hayat boyu riskin, monozigot ikizlerde %70 dizigot ikizlerde ise %10-15 olduğunu göstermiştir (30).

**Otoimmünite:** Beta hücrelerine yönelik otoimmün saldırı süreci, β hücrelerinin kendi antijenleri, antijen tanıma süresi veya T ve B hücreleri arasındaki etkileşimle ilgili görülmektedir. Antikorlarla oluşan β hücre hasarı, üç farklı etki mekanizması ile oluşur.

İlk mekanizmada; antikorlar, β hücre yüzeyindeki antijenlerle birleşip, antikora bağlı sitotoksisite oluşturur. İkinci mekanizmada ise; Doğal Katil (Natural Killer – NK) hücreler, antikorun Fc reseptörüne tutunarak β hücre hasarını başlatır. Son mekanizmada ise; komplemanın klasik yoldan aktivasyonu, β hücre yıkımı oluşturmakta ya da kompleman, dolaşımdaki solubl antikorlarla immün kompleksler oluşturarak otoimmün olaylar başlatmaktadır (Tablo 2).

**Tablo-2:** Otoimmün Olayın Başlamasında Rol Oynayan Mekanizmalar

---

**Antijen**

---

- Daha önce uzaklaştırılmış kendi antijenlerine maruz kalma
- Kendi antijenlerinde gelişen değişiklikler
- Moleküler benzerlik

---

**Antijen Sunumu**

---

- Klas-I veya Klas-II antijen ekspresyonunda artış
- Antijenin MHC'ye bağlanmasında değişiklikler
- Antijen sunucu hücrelere ait anormallikler

---

**Regülasyon**

---

- Süpresör/Helper T hücre oranındaki değişiklikler
  - Süpresör antijenlere bağlı genel aktivasyon
- 

Oluşan hücre hasarına bağlı, adacık hücreleri insülin salgılayamaz, mutlak insülin eksikliği gelişir, C-peptid oranları çok düşer. Sağlam  $\beta$  hücre oranının %20'ye düşmesi ile klinik dönem başlar. Ekzojen insülin gereksinimi ortaya çıkar.

**Antijen ile İlgili Değişiklikler:** Otoimmün olaylarla ilgili bir mekanizma; kişinin kendi antijenleri ile aynı antijenik bölümleri taşıyan yabancı antijenin, moleküler benzerlik nedeniyle olayı başlatmasıdır (Tablo 3).

**Tablo-3:** Yabancı Antijen ile Pankreatik Antijenlerin Benzerliğine Örnekler

---

<b>Pankreatik Antijen</b>	<b>Yabancı Antijen</b>
ICA 69	Koksaki virüsü PC-2 proteini
GAD	Sığır serum albumininin proteini
38 K	CMV

---



**Antijen Sunumundaki Değişiklikler:** İmmün sisteme antijenin normalden farklı şekilde sunulması, otoimmün olayı başlatabilir. T hücrelerinin antijeni tanınması için, antijen sunan hücrelerin yüzeyindeki MHC moleküllerine ihtiyaç vardır. Bu nedenle MHC ekspresyonundaki anormallikler, MHC antijeninin bağlanması, sitokin oluşumu ve antijen sunan hücrelerdeki anormallikler, otoimmün olayı başlatır.

**İmmün Sistemin Regülasyonundaki Bozukluklar:** Çalışmalarda; Tip I DM'li bireylerde T hücre sayısı veya regülasyonundaki değişiklikler ile hastalığın ilişkisi üzerinde durulmaktadır. Hastalığın belirgin olmadığı riskli bireylerde, CD4, CD8, T hücre oranının azaldığı gösterilmiştir. Bu bulgular sekonder değişiklikler olabilir, ayrıca süpresyonun ortadan kalkmasının da olayı başlatabileceği düşünülmektedir (23,24,31-33).

**Otoimmün Etki Mekanizmaları:** Otoimmün olayın başlamasıyla humoral ve hücrel immün sistemin komponentleri rol alır. DM'li hastalar ve DM gelişme riski taşıyan yakınlarında saptanan pankreas dokusuna karşı otoantikolar, adacık antijenlerine bağlanarak doku yıkımını başlatır. Adacık hücre antikoları (Islet Cell Antibodies - ICA), normal kişilerin %0.2-4'inde pozitifken, DM'li hastaların DM olmayan yakınlarında %3-5, yeni tanı alan hastalarda %80-90 oranında pozitif bulunmuştur. Tanı sırasında  $\beta$  hücresinin kaybına bağlı ICA, serumda azalmaya başlar. Hastanın yaşı küçüldükçe ve antikor titresi yükseldikçe risk artmaktadır. Bu antikolar, prelinik dönemde tanıda yardımcı olabilir. Az bir kısım hastada, hücre yıkımı tamamlandıktan sonra da antikor titresinin yüksekliği devam etmektedir (33,34).

Klinik seyir ile ilişkili diğer antikolar; İnsülin Otoantikoları (Insulin Autoantibodies-IAA), Adacık Antijen-2 Otoantikoları (Islet Antigen – 2 Autoantibodies -IA-2) ve Anti Glutamik Asit Dekarboksilaz (GAD) antikoları olup,  $\beta$  hücresindeki otoimmün yıkımın göstergesidirler (35).

İnsüline karşı antikor gelişimini tayin etmek ve klinik dönem öncesinde tip I DM tanısı koymak için kullanılan IAA, yeni tanı alan hastalarda %30-40 oranında pozitifdir. DM için duyarlılık ve özgüllük açısından en önemli gösterge; ICA ve IAA'nın ikisinin birden pozitif olmasıdır ve hızlı klinik gidiş ile ilişkilidir (36).

Glutamik asit dekarboksilaz, beyinde inhibitör transmitter ve pankreas adacıklarında

parakrin sinyal ileticisi olan gamma aminobütirik asidi (GABA) sentez eden nöronal bir enzimdir. Pankreas adacıkları, embriyogenez sırasında nöronal krest'ten kaynaklanır.

Klinikte GAD, özellikle tip I DM'nin takibinde, hastanın aile bireylerinde prelinik dönemin belirlenebilmesi için yapılan araştırmalarda, tip I diyabete uygulanan immünoterapinin izlenmesinde ve etkinliğinin belirlenmesinde kullanılmaktadır (36-39).

Adacık Antijen – 2 otoantikörleri, protein tirozin fosfataz benzeri moleküllere karşı özellikle nöroendokrin kökenli (pankreas adacık, beyin) hücrelerde yapılır. Adacık Antijen – 2 antikoru, yeni tanı almış tip I DM hastalarının yaklaşık %60-80'inde ve normal bireylerin %2'inde pozitif bulunur. Adacık Antijen–2 otoantikörlerinin pozitifliği, hastalıktan yıllar sonra da saptanabilir (37).

Bu önemli antikörlerin dışında, DM hastalarının serumlarında başka antikörler de saptanmıştır. Bunlar karboksipeptidaz, adacık hücresi, insülin sekretuvar granül, beta hücresi glukoz taşıyıcı (Glucose Transporter – GLUT) protein ve adacık hücrelerindeki sulfatidlere karşı bulunan antikörlerdir(37-40).

**Çevresel Faktörler:** Genetik olarak tip I DM'ye yatkın pek çok bireyde hastalık gelişmeyebilir. Genetik olarak yatkın bir bireyde, beslenme alışkanlıkları ve diyet içerikleri, kimyasal maddeler ve toksik ajanlar, emosyonel ve fiziksel stres, infeksiyöz nedenler gibi çevresel faktörlerin etkisiyle otoimmün süreç başlamakta, buna bağlı olarak insülin eksikliği ile giden tip I DM gelişmektedir (41-42).

**İnfeksiyöz Ajanlar:** Tip I DM etyolojisinde infeksiyöz ajanların iki mekanizma ile rol oynadığı düşünölmektedir. Bunlardan birincisi, virüslerin, direkt olarak sitotoksik etkileri ile hücre harabiyetine neden olup, mutlak insülin eksikliğini ortaya çıkarması; diğeri ise ajanların, uzun yıllar içerisinde otoimmüniteyi tetikleyip, otoimmün saldırıyı başlatmak suretiyle yaptığı hasardır. İnfeksiyöz ajanlar içinde rubella, suçiçeği, koksaki, kabakulak, Ebstein Barr virüs (EBV) ve sitomegalovirüs (Cytomegalovirus – CMV) gibi virüsler önemli oranda rol oynar (43). Kabakulak virüsü, aşı sonrası ya da infeksiyon sırasında pankreasta  $\beta$  hücre hasarına neden olabilecek antikörler geliştirebilmektedir. Koksaki B3 ve B4 virüsleri insanlar için diyabetojeniktir, direkt sitotoksik etkiyle pankreas  $\beta$  hücrelerini hedef alıp hasar verebilir. Koksaki B4 viral antijeni olan P2-C, duyarlı bireylerde,  $\beta$  hücre antijeni glutamik asit dekarboksilaz ile çapraz reaksiyon vererek otoimmüniteyi de uyarılmaktadır. Ayrıca koksaki

virüsleri,  $\beta$  hücrelerinde interferon- $\alpha$  yapımını uyararak aktivasyonu başlatabilirler. CMV enfeksiyonu sonrası ölen kişilerde yapılan otopsilerde insülitis saptanmıştır (31,39,44-47).

**Beslenme Özellikleri:** Genetik yatkınlığı olan çocuklarda pankreas  $\beta$  hücre harabiyetine yol açan çevresel etkilere karşı anne sütünün koruyucu olduğu düşünülmektedir. İnek sütü ile erken beslenen bebeklerde adezyon molekülleri daha yüksek saptanmış olup, buna bağlı olarak tip I DM gelişme riskinin artabileceği ileri sürülmektedir (26,30,31). Süt çocukluğu döneminde verilen D vitamini desteğinin DM riskini azaltacağı belirtilmiştir (48-50). Diyetle C ve E vitaminleri gibi antioksidan maddelerin eksikliği sonucu oluşan serbest radikaller, adacık hücrelerini tahrip etmekte ve DM gelişimine zemin hazırlamaktadır. Tütsülenmiş et gibi nitrozaminden zengin besinlerin sık tüketilmesinin, içme sularında bulunan yüksek nitrat içeriğinin ve çinkodan fakir beslenmenin Tip 1 DM ile ilişkisi ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Eser elementlerin eksikliği ise glukoz toleransında bozulmaya ve DM komplikasyonlarının gelişmesine yol açmaktadır (51).

**Toksik ve Kimyasal Ajanlar:** Aloksan, pentamidin, streptozotosin, fare zehiri (vacor), klorozotosin, siproheptadin, siklosporin gibi kimyasal ajanların DNA parçalanması ve oksidatif hasara yol açarak  $\beta$  hücrelerinde hasar oluşturup DM gelişimine neden olduğu bilinmektedir (52-55).

**Emosyonel ve Fiziksel Stresler:** Yaşanan stres, immünolojik sistemde değişikliğe yol açarak steroid salgılanmasına yol açarak insülin ihtiyacını artırmakta ve DM'nin belirgin hale gelmesine neden olmaktadır (21,24,26).

### 2.1.8. Patofizyoloji

Tip I DM'de oluşan metabolik değişiklikler, temelde insülin eksikliği veya yokluğuna bağlıdır. İnsülin, hücrel glukoz alımını, glikolizi, glikojen sentezini, protein sentezini ve lipogenezi artırır. Epinefrin, kas ve yağ dokusunda glukozun hücre içine girişini inhibe eder glikojenolizi, glukoneogenezi uyarır. Lipolizi artırır. Glukagon, karaciğerde glikojenolizi, glukoneogenezi ve ketogenezi uyarır. Kortizol, glukoneogenezi uyarır, kas dokusunda glukoz kullanımını azaltır, proteolizisi stimüle eder. Büyüme hormonu, lipolizi uyarır ve kas dokusunda glukoz kullanımını azaltır, aminoasitlerin kullanımını sağlar, protein sentezinde insüline benzer etki gösterir. İnsülin eksikliğinde bu etki bozulur. İnsülin karşıtı hormonların aktivasyonlarının

artması, metabolik değişikliklerin ortaya çıkması ve ağırlaşmasına sebep olur.

Tip I DM'de asıl defektin insülin yetmezliği olmasına rağmen, insülin karşıtı hormonların plazma düzeylerinin artmasının ardından hipergliseminin hakim olduğu metabolik bozulmalar hiperozmolariteye ve ozmotik diürece yol açar. Sıvı kaybı ile birlikte elektrolit imbalansı ve asidoz oluşur. Gelişen hipovolemi ile birlikte glomerüler filtrasyon hızının düşmesi, glukoz ve elektrolit ekskresyonun azalmasına; bu da, organizmanın glukoz yükünün artmasına sebep olarak, hiperozmolariteye ve hücrel dehidratasyonun artmasına yol açar. Başta hiperozmolarite olmak üzere hücrel dehidratasyon ve asidozdan santral sinir sistemi etkilenir. Bilinç değişiklikleri ve koma görülebilir (41,57).

Yağ metabolizmasında oluşun katabolik süreç sonucu lipoliz hızlanır, dolaşımdaki total lipid, kolesterol, serbest yağ asitleri artar. Dolaşımdaki yağ asitleri; glukagon/insülin oranının artmasıyla başlatılan metabolik olaylarla karaciğerde mitokondri içine taşınarak keton cisimlerine dönüşür ve ketoasidoz tablosunun oluşmasına yol açar. Keton cisimlerinin (asetoasetik asit ve betahidroksibütirik asit) üretimini artması, periferik kullanımını azalması ve hipovolemi sonucunda, keton cisimlerinin böbrekler yoluyla ekskresyonu azalır, keton artışı görülür.

Sistemik asidozun primer sorumlusu; ozmotik diürezle elektrolit kaybına ek olarak asetoasetik asit ve betahidroksibütirik asit gibi keton cisimlerinin fazla üretilmesidir. Diyabetik ketoasidozda (DKA), sistemik asidoza katkısı olan diğer faktör laktik asidin fazla sentezidir. Diyabetik ketoasidozda hipovolemi ve 2,3 difosfogliserat düzeyinin düşük olması, doku perfüzyon ve oksijenasyonunu bozar, laktik asidin birikimine ve böbrek fonksiyonunun bozulmasına yol açar. Asidoz, dolaşım bozukluğuna yol açar ve miyokarda zarar verir.

Metabolik asidozda hücre dışına çıkan potasyum keton cisimleriyle birlikte idrar yoluyla kaybedilir. Hipopotasemiye bağlı mide dilatasyonu ve ileus gelişir. Zaman ilerledikçe oluşun hipovolemiyle birlikte böbrek perfüzyonu bozulur. Potasyum idrarla atılamayarak kanda yükselir. Ancak vücut total potasyum düzeyi düşüktür(21,22,32,35).

### 2.1.9. Tip 1 Diabetes Mellitus'ta Klinik Belirti ve Bulgular

Klasik DM öyküsü; poliüri, polidipsi, polifaji veya iştahsızlık ve ağırlık kaybıdır. Semptomların süresi değişken olmakla birlikte genelde bir aydan kısadır. Daha önce tuvalet terbiyesi kazanmış çocuğun gece işemesi ilk bulgu olabilir. Sık görülen erken bulgular yorgunluk, halsizlik, huzursuzluk, uykuya meyil, ekstremitte krampları, karın ağrısı, kilo kaybı ve spontan hipoglisemilerdir. Başlangıçta klinik hafif olup ve aile tarafından fark edilemeyebilir. Hastaların %25'i kadarı ise diyabetik ketoasidoz (DKA) tablosunda başvururlar. Ketoasidoz belirtileri bulantı, kusma, karın ağrısı, halsizlik, baş ağrısı, irritabilite, uyuklama, poliüri, polidipsi ve noktürinin fazlaşması yanında dehidratasyon, asidoz, uyku hali, şuur bulanıklığı ve komadır. İleri dönemde nefeste aseton kokusu, "kussmaul" solunumu oluşur. Hiperosmolaritenin derecesine bağlı olarak beyin ödemi ve koma gelişebilir. Laboratuvar bulgusu olarak glukozüri, ketonüri, hiperglisemi, ketonemi ve metabolik asidoz görülür. Lökositoz sıklıkla görülür. Nonspesifik serum amilazı yükselirken, lipaz genelde değişmez (20, 21, 57-58).

### 2.1.10. Tanı

Tip 1 diyabet birçok farklı diyabet tipinden sadece bir tanesidir. İlk aşama, diyabet tanısı koymaktır. İkinci aşama ise hastanın klinik bulgularına ve laboratuvar sonuçlarına bağlı olarak T1DM'yi diğer diyabet sebeplerinden ayırmaktır. (Tablo-4'de) yer alan kriterlerden en az bir tanesinin varlığı diyabet tanısı koydurur (American Diabetes Association, 2011)

---

#### Tablo-4: Diabetes Mellitusta Tanı Kriterleri

---

Diyabet semptomlarına ek olarak rastgele bakılan plazma glukoz konsantrasyonunun  $\geq 11,1$  mmol/L (200 mg/dl)\* olması.

Veya

Açlık plazma glukozu  $\geq 7,0$  mmol/L (126 mg/dl)\*\*.(Açlık, son 8 saat içerisinde hiçbir gıda alımının olmamasıdır.

Veya

Oral glukoz tolerans testinde yüklemmeden 2 saat sonra glukoz konsantrasyonunun  $\geq 11,1$  mmol/L (200 mg/dl)\* olması.(Bu test WHO tarafından tanımlanan kriterler göre yapılmalıdır. Suda erimiş olan, 75 gram veya maksimum 75 gram olmak üzere vücut ağırlığına göre 1,75g/kg kuru glukoz içerikli glukoz yüklemesi yapılmalıdır.)

---

\* Karşılık değer venöz tam kan için  $\geq 10$  mmol/L, kapiller tam kan için  $\geq 11,1$  mmol/L'dir.

\*\* Karşılık değer hem venöz hemde kapiller tam kan için  $\geq 6,3$  mmol/L'dir.

### 2.1.11. Glukozillenmiş Hemoglobin (HbA1c)

HbA1c enzimatik olmayan glikolizasyon yoluyla hemoglobin A'ya bağlı glukoz yüzdesinin ölçümüdür. Bir önceki ölçümden sonraki 10-12 haftalık periyod boyunca ortalama kan şekeri seviyesini gösterir. Gösterilmiş hiperglisemi ile birlikte HbA1c'nin %6,5'in üzerinde olması erişkinlerde diyabet tanı kriterleri arasında yer alır(American Diabetes Association, 2011). Yüzde 6,5'in üzerindeki HbA1c değerleri diyabet için tanısız iken 6,5'in altındaki değerler diyabet tanısını ekarte ettirmez. Glikolizlenmiş hemoglobinin çocuklardaki tanısız kullanımı ise erişkinlere göre daha az güvenilirdir(61). Almanya'dan yapılmış olan bir çalışmada yeni tanı almış semptomatik Tip 1 DM'li çocukların glikolize HbA1c değeri  $\geq 6,35$  iken geçici hiperglisemisi olan çocukların HbA1c değerleri %4,5 ila 6,1 arasında bulunmuştur (Ehehalt ve diğerleri, 2010).

HbA1c'nin ölçümündeki hassasiyet çok önemlidir. Çünkü HbA1c'deki % 1' lik yükselme ortalama kan şekeri düzeyinde %25–35 mg/dl' ye karşılık gelir (59,60). ISPAD 2011, diyabet tedavisinde HbA1c için hedef düzeyi  $<7,5$  mg/dl önermektedir (Tablo 5). (Tablo 6).

**Tablo-5:** Yaşa Göre Hedeflenen HbA1C Değerleri

Yaş	HbA1c (%)
<6	$\leq 8,5$
6–12	$\leq 8,0$
13–18	$<7,5$

**Tablo-6:** HbA1c değerlerine göre metabolik kontrol sınıflandırılması

Metabolik kontrol sınıflandırılması	HbA1c değerleri
İyi metabolik kontrol (optimal)	% 6,5-%7,5
Orta metabolik kontrol (suboptimal)	%7,5-%9,0
Kötü metabolik kontrol (non-optimal)	%9,0

### 2.1.12.Diyabet kontrolünde kullanılan diğer laboratuvar testleri

**Fruktozamin:** Son iki-üç haftalık ortalama kan glukoz düzeylerini yansıtır. Fruktozamin, glikozillenmiş plazma protein düzeylerini gösterdiğinden, serum protein konsantrasyonlarındaki değişikliklerden kolayca etkilenir. 3 gr/dL'den düşük albümin değerlerinde fruktozamine bakılmamalıdır. Tedavide yapılan bir değişikliğin, glisemik kontrol üzerine etkisinin daha kısa sürede gözlenmesi açısından önemlidir. Hemoglobinopatiler gibi (Hb S ve Hb C gibi) eritrosit ömrünün azaldığı durumlarda ve HbA1c ölçümlerinin doğru yapılamadığı hemolitik anemi gibi olgularda fruktozamin düzeylerine bakılması önerilmektedir.(62)

**C-peptid:** Proinsülinin, insüline dönüşümü sırasında açığa çıkar. Biyolojik olarak aktif değildir. Portal dolaşıma insülin ile eşit miktarlarda salgılanmakla beraber yarı ömrünün daha uzun olması nedeniyle açlık C-peptid düzeyleri insüline göre 5-10 kat daha fazladır.8 saatlik bir açlık sonrası ölçülür. Endojen insülin düzeylerini yansıtır.

Düşük C-peptid düzeyi Tip 1 DM için karakteristiktir. Tip 2 DM'de C-peptid düzeyleri yüksektir. İnsülin tedavisi gören diyabetik hastalarda vücut insülin deposunun göstergesidir. Dolaşımda bulunan insülin antikorlarının varlığı nedeniyle insülinin ölçülemediği durumlarda ya da insülin tedavisi gören hastalarda C-peptid düzeylerine bakılabilir(62).

### 2.1.13.Tedavi

Çocuklarda görülen diyabetin çoğu Tip 1 DM'dir. Tedavinin beş ana ilkesi: insülin tipi ve dozu, diyet, egzersiz, stres yönetimi, kan şekeri ve keton izlemidir. Etkili metabolik kontrol için bu ilkelerin tümü birlikte uygulanmalıdır. İnsülinin üç önemli işlevi vardır: glukozun hücre içine geçmesini sağlar, özellikle karaciğerde glukozun fizyolojik üretimini azaltır ve keton üretimini durdurur. Yeni tanı diyabette, daha fazla asidemi ve keton üretimi, daha fazla insülin gerektirir. Ağır ketonemi var, venöz pH düşük (<7.30) ve hasta dehidrate ise intravenöz insülin ve sıvı tedavisi verilmelidir. Çocuk yeterince hidrate ve kan pH'si normal ise direk subkütan insülin tedavisine başlanabilir. Tip 1 diyabetin uzun süreli kontrolünde, yemek dışında karaciğerin ürettiği glukoz için bazal insülin, yemeklerle birlikte bolus insülin tedavisi gereklidir. Hasta ve aile karbohidrat sayımını öğrendiğinde, bazal insülin yanında, her yemekle birlikte kan şekeri ve yemek içeriğine göre bolus insülin yapılmalıdır. Birçok aile, zamanla evde kan şekeri ölçümlerine dayalı olarak insülin dozlarındaki ayarlamaları kendileri yapabilirler. Bu ayarlamalarda insülinin başlangıç, pik ve toplam aktivitesini anlamak esastır. Kan şekeri hedefleri küçük çocuklarda sıklıkla 70-180 mg/dL (3.9-10 mmol/L) ve gençlerde 70-150 mg/dL'dir (3.9-8.3 mmol/L). İnsülinlerden doz ayarlaması, ailelerin daha bilgili hale gelmesini takiben karbonhidrat sayımına dayalı yapılabilir (63).

Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde uygulanan Diyabet Kontrolü ve Komplikasyonları Çalışması (Diabetes Control and Complications Trial–DCCT), bir yemek planına bağlılık, atıştırma gıdalardan kaçınma, hipoglisemiye sebep olacak yoğun tedaviden kaçınma ve yüksek kan şekeri düzeylerinin hızlı tedavisinin daha iyi bir glukoz kontrolü ve daha düşük HbA1c düzeyine katkıda bulunduğunu bildirmiştir. DCCT programı, alınan karbonhidrat miktarına ve öngörülen egzersiz miktarına göre; her enjeksiyonda verilecek hızlı etkili insülin ya da regüler insülin dozunun ayarlanmasını ve karbonhidrat sayımına dayalı diyet planını uygun bulmaktadır. İnsülin pompası ile uygulanan sürekli subkütan insülin tedavisi, özellikle sıkı kan şekeri takibi yapabilecek ve karbonhidrat sayımı yapmaya uyum gösterebilecek olgunluktaki gençlerde daha sık kullanılmaktadır. Yiyeceklerin karbonhidrat içeriğine bağlı olan insülinin bolus dozları, yenilen yemek öncesi hasta ya da yardımcı bir yetişkin tarafından, bazal insülin dozları da hekim tarafından düzenlenir. Bu tedavinin, kan şekeri kontrolünün düzenlenmesine ve



diyabet sonucu oluşabilen böbrek, kalp-damar ile retina komplikasyonları ve nörolojik komplikasyon riskinin azaltılmasına katkısı olduğu gösterilmiştir (64-65).

#### **2.1.14. Tip I Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları**

Çocukluk çağında görülen komplikasyonlar, iyi bir izlem ile önlenemeyen metabolik bozukluklardan oluşur. Mikrovasküler komplikasyonlar, tanıdan yaklaşık 10-20 yıl sonra ortaya çıkar. Kronik komplikasyonlar; anjiyopati esasına dayanır. Hastaların gelişme geriliği, gecikmiş seksüel maturasyon, eklem mobilitesinde kısıtlılık, psikolojik bozukluklar gibi komplikasyonlar yönünden de aralıklı izlenmesi gereklidir. Diabetes Mellitus seyrinde gelişen komplikasyonlar, ortaya çıkış zamanları esas alınarak akut, subakut, ve kronik komplikasyonlar olarak üç gruba ayrılabilir (Tablo 7).

**Tablo-7:** Tip I DM Komplikasyonları

<b>Akut Komplikasyonlar</b>	<b>Subakut Komplikasyonlar</b>	<b>Kronik Komplikasyonlar</b>
Diyabetik Ketoasidoz	Lipodistrofi	1.Mikrovasküler Komp.
Beyin Ödemi	Büyüme Geriliği	- Retinopati
Hipoglisemi	Hiperlipidemi	- Nefropati
İnsülin alerjisi	Pubertal bozukluk	- Nöropati
Enfeksiyonlara eğilim	Osteopeni,	2. Makrovasküler komp.
Serebral tromboz	Emosyonel bozukluk	SSS nöropatisi

##### **2.1.14.1 Tip 1 diabetes mellitus'un akut komplikasyonları**

###### **2.1.14.1.1. Diyabetik ketoasidoz (DKA)**

Diyabetik ketoasidoz, diyabetik çocukların hastaneye yatışının en sık nedeni olup,

çocukluk çağında DM'ye bağlı ölümlerin de başlıca nedenidir. Yapılan çalışmalarda bir yılda DKA nedeniyle hastaneye yatış sıklığı %8.6 bulunurken ölüm oranı %1-2 düzeyinde bulunmuştur (65).

DKA tanısı, klasik semptom ve bulguların yanında bir takım biyokimyasal kriterlere dayanarak konulur.

1) Venöz tam kan glukozu 300 mg/dl'yi aşar.

2) Ketonemi ve ketonüri görülür.

3) Kan pH'sı 7.30'un altında, bikarbonat 15 mEq/L'nin altında, baz açığı -7'nin üstünde ve PCO<sub>2</sub> 30 mm/Hg'nin altındadır (66).

Diyabetik ketoasidozun, hipoglisemi, üremi, metabolik asidozla giden gasrotroenterit, laktik asidoz, salisilat intoksikasyonu, ensefalit ve diğer intrakraniyal olaylar gibi asidoz ve koma yapan diğer nedenlerle ayırıcı tanısı yapılmalıdır. DKA çoğunlukla travma, infeksiyon, kusma ve psikolojik bozukluklar gibi akut bir stres sonrasında, insülin yetmezliğinin yanında karşıt düzenleyici hormonların aktivasyonu sonucu ortaya çıkan ağır dekompanse katabolik bir süreçtir.

İnsülin eksikliği sonucu kas ve yağ hücrelerine glukoz girişinin bozulmasına bağlı glukozun periferik kullanımını azalır. Hiperglisemi gelişir. Bu durumda hücrelere yakıt temini için stres hormonlarının etkisiyle glukojenoliz ve glikoneogenez uyarılır. Sonuçta karaciğerden kana glukoz mobilize edilir. Ancak bu da hücrelere giremeyeceğinden sadece hipergliseminin artması sağlanmış olur.

Lipolizin uyarılması sonucu yağ asidi ve gliserol üretimi %300'lere kadar artar. Normalde lipoliz sonucu açığa çıkan yağ asitleri gliserol-3-fosfat ile reesterifiye edilerek yeniden triaçil gliserole dönüşür. Gliserol-3-fosfat glukozdan sentezlenen bir substrattır. Diabetes Mellitus'ta glukozun hücre içine girememesi sonucu gliserol-3-fosfat sentezi yetersiz olduğundan serbest yağ asitleri artar. Bunların fazlası karaciğere taşınarak oksidasyona uğratılır ve asetil Co-A'ya dönüştürülür. Oluşan asetil CoA'larda mitokondrilerde kullanılmak üzere birleşerek, asetoasetat, beta hidroksibütirat ve aseton gibi keton cisimlerini oluştururlar. Sonuçta keton cisimcikleriyle birlikte oluşan asidoza laktik asidozun da katkısıyla hastada dekompanse derin metabolik asidoz oluşabilir.

Klinikte aseton kokusu ve hiperventilasyon karşımıza çıkar. Hiperglisemi, osmotik diürez, poliüri ve dehidratasyona, kusmayla birlikte elektrolit kaybına yol açabilir. Bilinç bozuklukları ve komaya kadar giden ağır klinik tablolar oluşturabilir (65).

#### **2.1.14.1 2. Beyin ödemi**

Semptomatik beyin ödemi DKA tedavisinin komplikasyonu olarak kabul edilir. Sıklığı %0.7-1 civarında olup, etyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Beyinde idiojenik ozmollerin artışı ile kan beyin arasındaki osmotik dengenin bozulması sorumlu tutulmaktadır. Bu nedenle DKA'nın hiperozmolar, hiponatremik bir dehidratasyon olduğu gerçeğine dayanarak osmolaritenin ani düşürülmemesi, sıvı-elektrolit tedavisinde hipotonik sıvı verilmemesi ve sıvının uzun sürede verilmesi, kan şekerinin yavaş düşürülmesi önerilir (68,69).

#### **2.1.14.1.3. Serebral tromboz**

Ağır dehidratasyon ve asidoza bağlı perfüzyon bozukluğu, hemokonsantrasyon ve koagülasyon bozuklukları beyinde tromboz ve hemorajik infarktlara neden olabilir (57).

#### **2.1.14.1.4. Hipoglisemi**

Diabetes Mellitus'un en sık görülen akut komplikasyonu olan hipoglisemi, nörolojik fonksiyon bozukluklarının (nöroglükopeni) ortaya çıktığı kan şekeri düzeyidir. Hafif hipoglisemilerde çarpıntı, terleme, açlık ve halsizlik hissi gibi adrenerejik semptomlar, ağır hipoglisemilerde ise bunlara ek olarak baş dönmesi, konfüzyon, konvülsiyon, koma gibi nörolojik bulgular görülür. Ağır egzersiz, yetersiz kalori alımı ya da fazla insülin alımı hipoglisemi sebeplerindedir. Nöroglükopeni otonomik aktivasyondan önce gelişebildiğinden hipoglisemi fark edilmeyebilir. Kötü kontrol, yüksek kan şekeri düzeyi, geçirilmiş hipoglisemi öyküsü ve uyku ile otonomik aktivasyon eşiği düşebilir.

Diabetes Mellitus'lu hastalarda, plazma glukozu sağlıklı kişiler için belirtilen hipoglisemi sınırlarına inmeden (<60 mg/dl) belirti verebilir. Metabolik kontrolün iyi olması, beyin glukoz alımında artışa, stres hormonları yanıtının azalmasına ve belirtisiz hipoglisemilere

neden olabilir. Bu yüzden iyi kontrollü hastalarda da özellikle gece asemptomatik hipoglisemilere dikkat edilmelidir (70-72).

Hastalarda hafif hipoglisemi geçici baş dönmesi ya da bilinç bulanıklığından periferik sinirlerde uyarı belirtilerine hatta geçici hemiplejiye kadar değişen tipik geri dönüşümlü nörolojik disfonksiyona neden olabilirken, konvülziyona neden olan ciddi uzamış hipoglisemi özellikle küçük çocuklarda kalıcı santral sinir sistemi bozukluğuna yol açabilir. Erken başlangıçlı Tip 1 DM tanısı almış olan çocuklarda ağır hipogliseminin kognitif fonksiyonlarına etkilerini değerlendiren Strudwick ve arkadaşları, entelektüel, spesifik hafıza güçlükleri açısından kontrol grubu ile aralarında belirgin bir fark bulamamışlardır(71-73).Dahlquist ve arkadaşları ise İsviçre’de 1977-2000 yılları arasında Tip 1 DM tanısı alan çocuklar ve Diyabetik olmayan çocukların notlarını karşılaştıran çalışmalarında 2 yaşından önce tanı alan diyabetik çocukların not ortalamasının diğerlerine göre belirgin olarak düşük olduğunu saptamışlardır. Düzensiz diyet alışkanlığı, fiziksel aktivitede değişiklik, insülin dozunda hatalar ve emiliminde değişiklikler gibi rutinin düzensizleşmesi, 6 yaşından küçük olması, HbA1c düşüklüğü, endojen insülinin tam eksikliği, önceden geçirilmiş hipoglisemi atakları, hipogliseminin farkında olmama, glukagon ve katekolamin ile ilgili bozukluklar, adölesanın alkol alması hipoglisemiye neden olabilir (74-75).

#### **2.1.14.1.5. İnfeksiyona eğilim**

Kronik hiperglisemi sonucunda hastaların immün sistemi baskılanmakta ve infeksiyonlara eğilimleri artmaktadır. İnfeksiyon sırasında insülin ihtiyacı artmaktadır.

#### **2.1.14.1.6. İnsülin alerjisi**

İnsülinlerin içinde bulunan yabancı maddelere, amino asit yapılarının farklı olmasına ve insülin içeriğindeki protamin, çinko gibi maddelere bağlı gelişen immunolojik bir reaksiyondur.

### **2.1.14.2. Tip I diabetes mellitus hastalarında subakut komplikasyonlar**

#### **2.1.14.2.1. Lipodistrofi**

İnsülin enjeksiyon sahalarında önce lipohipertrofi, daha sonra lipoatrofi şeklinde kendini gösteren, lokal immünolojik bir reaksiyondur. Önlemenin yolu alerjen özellikli insülin

kullanımından kaçınmanın yanında insülini bölgelere dönüşümlü olarak yapmaktır (77).

#### **2.1.14.2.2. Büyüme geriliği**

İnsülinle büyüme homonunun büyümede sinerjistik etkisi ve büyüme hormonunun birçok basamakta etkisinin insüline bağımlı olması nedeniyle tip I DM'nin büyüme ve puberteyi hafif derecede olumsuz etkilediği düşünülmektedir (67).

#### **2.1.14.2.3. Pubertal gelişim ve menstruasyon bozukluğu**

Puberteden önce tip I DM gelişen çocuklarda metabolik kontrol çok kötü olmadığı sürece, puberteye giriş ve pubertal gelişim olumsuz etkilenmemektedir. Puberteden sonra DM gelişen ve metabolik kontrolü iyi olmayan kızlarda ise sekonder amenore görülebilmektedir (40,41).

#### **2.1.14.2.4. Hiperlipidemi**

İnsülin eksikliği sonucu lipoliz ve plazmada serbest yağ asitleri artar. Lipoprotein lipaz enziminin aktivitesinin azalması sonucu çok düşük dansiteli lipoprotein (Very Low Density Lipoprotein - VLDL) ve şilomikronların plazmadan temizlenmesi zorlaşır. Kötü metabolik kontrollü hastalarda plazma düşük dansiteli lipoprotein (Low Density Lipoprotein - LDL) düzeyi artmakta, yüksek dansiteli lipoprotein (High Density Lipoprotein - HDL) düzeyi azalmaktadır.

Lipid metabolizması bozukluklarının mikro ve makrovasküler komplikasyonlarda rol alabileceği düşünülmektedir (40,46). Diyabetik kişilerde iyi metabolik kontrol, kan basıncı kontrolü, düzenli egzersiz ve dislipidemi tedavisi ile makrovasküler hastalık gelişimi önlenabilir (77).

#### **2.1.14.3. Tip 1 diabetes mellitus'un kronik komplikasyonları**

Tip I diyabetin kronik komplikasyonları, anjiopati temeline dayanır. Bu komplikasyonlar, adölesan dönemde artmaktadır.

### 2.1.14.3.1. Diyabetik nefropati

Çocukluk döneminde diabetes mellitus tanısı alan hastaların %50'sinde diyabetik nefropati gelişmektedir. Diyabetik nefropati gelişiminde HLA-DR4 bölgesi için tanımlanan majör gen etkisinin predispozan rol oynadığı düşünülmektedir (78,79).

Klinikte tip I DM hastalarındaki ilk renal fonksiyonel değişiklikler glomeruler filtrasyon hızındaki (Glomerular Filtration Rate – GFR) artış ve üriner albumin atılımındaki artıştır. Tip I DM başlangıcından 5-10 yıl sonra bazı hastalarda üriner albumin atılım hızında (AAH) artış olup mikroalbuminüri gelişir. Böbrek hasarına yol açan başlıca risk faktörleri genetik ve irksal etkiler, hipertansiyon, sigara, lipid düzeylerinde artış ve kötü glisemik kontroldür (80,81).

Diabetes Mellitus başlangıcından yaklaşık 15 yıl sonra proteinürinin saptanmasıyla klinik diyabetik nefropati dönemi başlar, belirgin proteinüri (>300-500mg/gün) gelişir.

Proteinürinin başlaması ile birlikte GFR genellikle normale döner ki bu, renal fonksiyonlarda ilerleyici bir bozulmanın başlangıcını gösterir. Proteinüri fazının başlangıcından GFR'nin normalin %50' sinin altına düşmesine kadar geçen süre renal yetmezlik periyodu olarak bilinir, yaklaşık 5 yıl sürer. Yaklaşık 3-4 yıl sonra son dönem böbrek hastalığı gelişir (82-85).

Üriner AAH'yi kötü metabolik kontrol, stres, sistemik veya üriner infeksiyon, ateş, egzersiz, konjestif kalp yetmezliği, hipertansiyon arttırırken, malnütrisyon, ACE inhibitörleri, nonsteroid anti-inflamatuvar ilaçlar azaltır. Birçok merkezde mikroalbuminüri taramasında zamanlı gece boyu idrar toplanması yöntemi uygulanmaktadır.

Berlin Retinopati Çalışma Grubu'nun 249 hasta üzerindeki çalışmasında ilk mikroalbuminüri saptanma yaşı ortalaması 13 olarak bulunmuştur (86). Janner ve arkadaşlarının 16 çocuk ve adölesan tip I DM'li hastada 8 yıl süreyle izleyerek yaptığı çalışmada persistan mikroalbuminüri sıklığını %20 olarak bulmuşlardır (87). Mathiensen ve arkadaşları 15 yaşına kadar mikroalbuminüri olmaz derken, Dahliquist ve arkadaşları daha genç yaşlarda (11-13 yaş) mikroalbuminüri 'nın ortaya çıkabileceğini göstermişlerdir (87-89). Danne ve arkadaşlarının yayınlarında ise tip I DM'li çocuk ve adölesanlarda 11 yaşından başlayarak mikroalbuminüri

taramasının 6-12 aylık aralarla yapılması önerilmektedir. Aynı yayında bir kez mikroalbuminüri saptanan hastaların altı ay arayla mikroalbuminüri ölçümlerinin tekrarı, kan basıncı takibi yapılması gerektiği bildirilmektedir (90).

#### **2.1.14.3.2. Diyabetik retinopati**

Diabetes Mellitus'un spesifik vasküler komplikasyonlarından biri olan retinopati prevalansı hastalık süresine bağlıdır. Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy (WESDR) 30 yaşın altında tanı almış tip I DM hastalarının %3.6'sında körlük geliştiğini, diyabetik retinopatiye bağlı gelişen körlüklerin %86'sının genç dönemde ortaya çıkan DM dolayısıyla oluştuğunu saptanmıştır (91-92). Retinopati insidansı hastalık süresiyle artar, 5-10 yıl sonra her yıl %0.3-0.4 oranında artış gösterir. Kernell'in DM süreleri 5.5-9.9 yıl arasındaki 780 tip I DM'li çocuk ve adölesan üzerindeki fundus fotoğrafı ile yaptığı incelemede %14.5 hastada retinopati saptanmış, Zhang L.Y. ve arkadaşlarının yayınında ise iyi metabolik kontrol ile ( $HbA1c < 6.87$ ) diyabetik retinopati sıklığını %10 olarak saptanmış, kötü metabolik kontrol ile ( $HbA1c > 9.49$ ) bu riskin %40'ın üstüne çıktığı belirtilmiştir (93-95). Göz muayenesi prepubertal çocuklarda tip I DM tanısından 5 yıl sonra veya pubertenin hemen başlangıcında, adölesanlarda tanı sırasında yapılmalıdır ve her yıl tekrarlanmalıdır (96).

#### **2.1.14.3.3. Diyabetik nöropati**

Erişkin DM hastalarının yaklaşık %50'sinde görülen diyabetik nöropati çocukluk ve adölesan döneminde nadir görülen bir komplikasyondur. Uzun hastalık süresi, kötü metabolik kontrol diyabetik nöropati gelişimi için risk faktörleridir. Diyabetik nöropatinin patogenezinde otoimmüitenin rolü olduğu düşünülmekle birlikte henüz veriler yeterli düzeyde değildir (97).

#### **2.1.15. Tip 1 Diabetes Mellitus'un Merkezi Sinir Sistemi Üzerine Etkileri**

Tip 1 DM iyi kontrol edilse bile serebral glukoz ve insülin düzeylerinin sıklıkla anormal olmasından dolayı merkezi sinir sistemi etkilenmektedir. Ciddi hipoglisemi durumunda aşırı düzeyde glutamatın sinaptik aralığa serbestleşmesi sonucunda hücre içi kalsiyum toksisitesi ile

eksitotoksik hücre hasarı seçici nöron ölümünün oluşmasında iki önemli mekanizmadır.

Hiperglisemi kan beyin bariyerinin işlevini ve serebral kan akımını akut olarak bozmaktadır. Buna karşın, kronik hiperglisemi serebrovasküler hastalık ve nöropati ile ilişkilendirilmektedir. Merkezi sinir sisteminin ozmotik değişikliklerine glukoz düzeylerindeki dalgalanmaların oluşturduğu etki açık değildir. Aynı zamanda DM'de, insülinin amin nörotransmitterlerin düzenlenmesine katılmasından dolayı nörotransmitter yolları da etkilenebilmektedir. Nörotransmitter düzenlenmesinde büyük rolü olan insülinin, bahsedilen bu nöromodülatuar ve nöroprotektif etkisinden yola çıkarak, tip 1 DM'deki insülin azlığı ya da yokluğunun kognitif fonksiyonları olumsuz yönde etkileyebildiği söylenebilmektedir (98-99).



## 2.2. DNA Hasarı

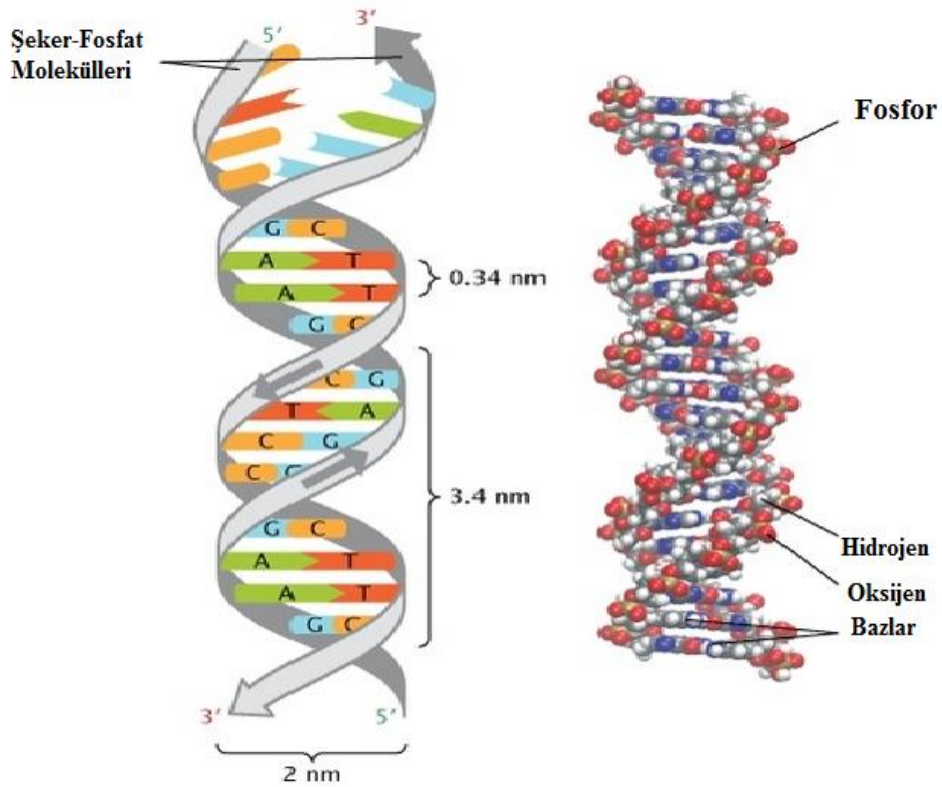
Canlının bütün genetik bilgilerini deoksiribonükleik asit (DNA) molekülü ihtiva eder. DNA'da meydana gelen olumsuz değişiklikler kendisinden sonra gelen nesillere aktarılan genetik bilgiyi de değiştirebilir. İçinde bulunduğumuz ortamda meydana gelen olumsuzluklar, canlılara ait DNA moleküllerinde hasara, oluşan hasar tamir edilemediği takdirde kontrollü hücre ölümüne veya kansere kadar giden hastalıklara neden olabilmektedir. DNA hasarını oluşturan nedenlerin en başında, çevresel şartlar, sürekli artan sanayi ve teknolojik atıklar, eksoz dumanı, sigara gibi faktörler gelmektedir. Çevresel faktörlerle birlikte alınan diyetel faktörlerin de DNA hasarı oluşumunda önemli rollerinin olduğu bilinmektedir. Diyetle alınan bazı gıdalar DNA hasar oluşumunu artırırken, bazı gıdaların DNA hasar oluşumunu önlediği bilinmektedir(100).

Canlının her bir hücresinde günde onbinlerce DNA molekülü hasara uğramakla birlikte oluşan hasar, DNA tamir mekanizmaları ile tamir edilmektedir. Normalde hasar ve tamir denge halindedir. Denge hasar lehine bozulduğunda tamir mekanizmaları yetersiz kalmakta, neticede hücre ölümü veya mutasyon, delesyon, insersiyon ve kanser oluşumu gibi DNA molekülünde kalıcı değişiklikler olabilmektedir. DNA hasarını önlemenin yolu bir taraftan DNA molekülünü hasara uğratan etkenlerden uzak dururken diğer taraftan DNA hasar oluşumunu önleyici tedbirler almaktır (101).

### 2.2.1. DNA'nın Yapısı ve Fonksiyonu

İlk defa A.F.Miescwer adlı bir araştırmacı 19. yüzyılın sonlarında hücre çekirdeğini incelerken DNA molekülünü fark etmiştir. J Watson, Cambridge Üniversitesinden Francis Crick ile giriştiği çalışmalar sonuç vermiş ve 1953 yılında Nature dergisinde 900 kelimededen oluşan makalelerinin yayınlanmasıyla bilim adına önemli bir karanlık bölüm aydınlanmıştır. Ancak bu keşif içinde İngiltere King's Kolejinde Kristalograf olarak çalışan Rosalinda Franklin'in de katkısı büyüktür. DNA'nın çift sarmal olduğunun bulunmasında Rosalinda Franklin'in X ışını resimleri kilit rol oynamıştır. James Watson 1956'da Harvard Üniversitesi'nde Moleküler Biyoloji ve Biyokimya Profesörlüğüne getirilmiş ve bugün halen hayattadır. 1962 yılında Dr.Crick'le DNA'nın 3 boyutlu yapısını keşfetmelerinden dolayı Nobel ödülüne layık bulunmuştur (102).

Kimyasal olarak DNA, nükleotit olarak adlandırılan basit birimlerden oluşan iki uzun polimerden oluşur (103). Bu polimerlerin omurgaları, ester bağları ile birbirine bağlanmış şeker ve fosfat gruplarından oluşur. Merdiven basamaklarının arasında gevşek hidrojen bağlarıyla birbirini çeken purin ve pirimidin denilen azotlu bazlar bulunur. Bu basamaklar merdivenin kenarındaki şeker moleküllerine bağlıdır. Her bir şeker grubuna baz olarak adlandırılan dört tip molekülden biri bağlıdır (Şekil 1).



**Şekil-1:** DNA'nın çift sarmallı yapısı

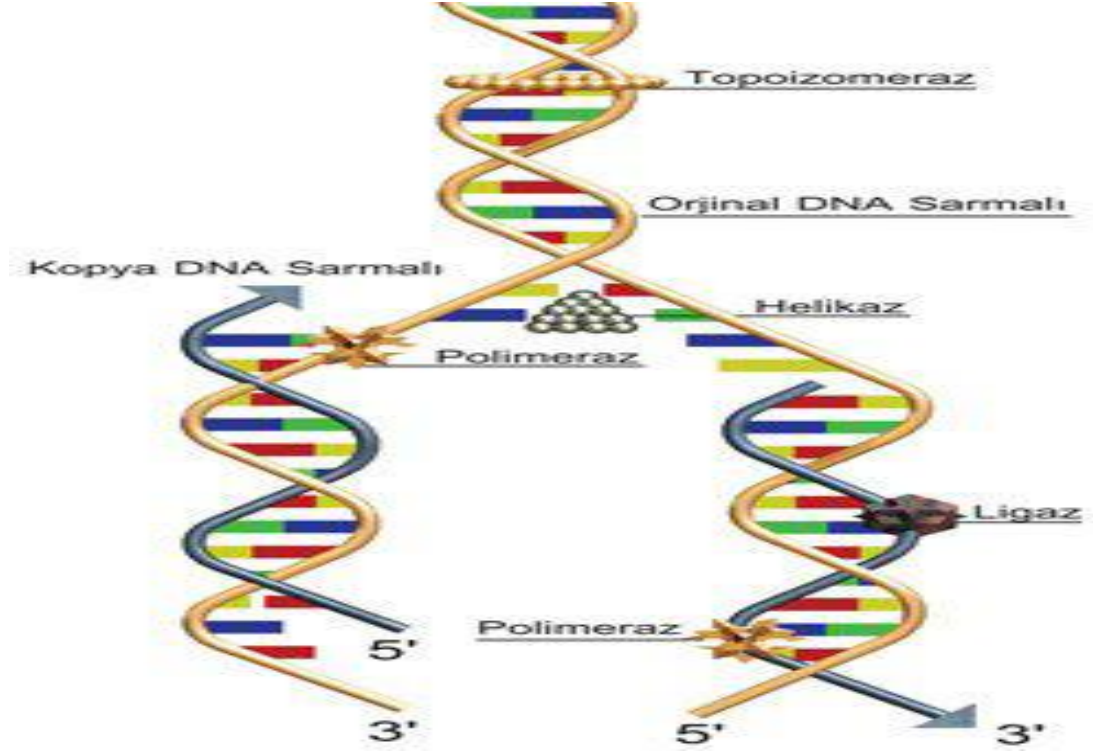
Bu birimlere, timin (T), adenin (A), sitozin (C) ve guanin (G) denir. Bunlar DNA molekülünün bir iplikçliğini oluşturur. İki iplikçik, yani merdivene benzer yapının iki kolu, karşılıklı gelen baz çiftleriyle birbirine bağlanır. Bu iki iplikçik birbirlerine ters yönde giderler. Her baz çifti tek bir şekilde eşleşebilir: Her zaman T ile A ve G ile C birleşir. Sarmaşık dalına benzer her molekül, bir DNA "ipliği"dir. Bu iplikler birbirlerine kimyasal olarak bağlanmış nükleotidlerden oluşur. Nükleotidler ise bir şeker, bir fosfat ve bir de dört çeşit azotlu bazlardan birisinden oluşur. İşte bu nükleotidlerin DNA üzerinde sıralanışı, DNA dizilimini belirler. Genetik şifre de bu dizilimde yer alır.

DNA, ökaryotlarda doğrusal kromozomlar, prokaryotlarda ise dairesel kromozomlar içinde bulunur. Kromozomlarda bulunan genler DNA yapısındadır. Her canlı bireyin ve soyunun hayat planı hücre hafızasını meydana getirir. DNA molekülleri şifrelerle kodlanmıştır. DNA'nın yapısına giren bazların (A,T,G,C) her biri şifre sembolü olarak kullanılır. Hayatın dili bu dört harfli alfabeye DNA moleküllerinde yazılmaktadır. DNA'nın ipliklerinde ard arda gelen üç nükleotit bazı bir mana (şifre) ifade eder. Dört farklı nükleotide arka arkaya 64 şifre kodlanabilir (AAA, AAS, AAG, AGS, vb.). Şifrelerin DNA'daki sıralanışlarının değişmesiyle binlerce mana ifade edilebilir. DNA'nın omurgası boyunca bu bazların oluşturduğu dizi, genetik bilgiyi kodlar. Protein sentezi sırasında bu bilgi, genetik kod aracılığıyla okununca proteinlerin amino asit dizisini belirler. Bu süreç sırasında DNA'daki bilgi, DNA'ya benzer yapıya sahip başka bir nükleik asit olan RNA'ya kopyalanır. Bu işleme transkripsiyon denir.

Bir hücredeki kromozomlar kümesine onun genomu denir. İnsan genomu 46 kromozom içinde yer alan yaklaşık 3 milyar baz çiftinden oluşur (104).

Protein ve diğer işlevsel RNA molekülleri kodlayan bilgi, gen adı verilen DNA parçalarının dizisinde yer alır. Genlerdeki genetik bilginin aktarılması baz eşleşmesi ile gerçekleşir. Örneğin, transkripsiyon sırasında bir DNA dizisinin ona komplementer bir RNA dizisi olarak kopyalanması, DNA ile doğru RNA nükleotitler arasındaki çekim ile mümkün olur. Protein çevrimi (translasyon) denen süreç sırasında bu RNA dizisine kaşılık gelen bir protein sentezlenirken, RNA nükleotitleri arasında gen ile baz eşleşmesi olur.

DNA hücre bölünmesinin hazırlıkları sırasında kendi kopyasını yapar. Kromozomların ikiye bölünmesi sırasında DNA molekülü kendisinin bir kopyasını yapar, buna replikasyon veya duplikasyon denir. Bu olay yavru kromozomda aynı kısımların bulunabilmesi için gereklidir. DNA'nın kendini eşlemesi esnasında, iki sarmal ipliği bir arada tutan hidrojen bağları adeta bir fermuar gibi açılır (Şekil 2).



**Şekil-2:** DNA'da replikasyon oluşumu

Açıkta kalan pürin ve pirimidin nükleotitlerin uçları, hücrede önceden sentezlenmiş nükleotitlerle tamamlanır. Böylece birbirinin aynı olan iki DNA meydana gelmiş olur. Hücre bölünmesinde her biri bir hücreye gider. Hücre mekanizması DNA ikili sarmalını birbirinden ayırıp her iki DNA ipliğini de yeni birer ipliği sentezlemek için şablon olarak kullanma yeteneğine sahiptir. Yeni üretilen iplikler öncekilerle hemen hemen tamamen aynıdır, ancak mutasyon adı verilen hatalar oluşabilir. Hücrenin bu özelliğini laboratuvar ortamında taklit eden işleme de polimeraz zincirleme tepkimesi (PCR) adı verilir (103).

### 2.2.2. DNA Hasarı Oluşum Nedenleri

Genetik materyalin moleküler bütünlüğünde ekzojen veya endojen faktörlerin etkisiyle meydana gelen tüm değişiklikler "DNA hasarı" olarak adlandırılır. Genom, DNA hasarına neden olan sayısız farklı etkene maruz kalır. Ekzojen kaynaklar içerisinde, güneşten gelen ultraviyole radyasyon, radon bozunumundan kaynaklanan iyonize radyasyon, mantar kaynaklı aflatoksin, yanmış tütün ve birçok kemoterapötik sayabiliriz. Endojen kaynaklara örnek olarak, oksidatif metabolizma, DNA'nın spontan değişimleri, immünolojik çeşitliliği oluşturan V(D)J rekombinasyon mekanizmasını (antijen tanıma bölgelerini kodlayan ekson V,D ve J şeklinde üç

segmentten oluşur ve bu segmentlerin birçoğu farklı kombinasyonlarla bir araya gelebilir) verebiliriz(109).

### **DNA Hasarına Neden Olan Etkenler;**

#### **1. Spontan veya kalıtsal oluşan gen mutasyonları**

#### **2. Çevresel faktörler**

- Ultraviyole Işık
- İyonize radyasyon
- Elektromanyetik dalgalar
- Kimyasal ajanlar: Aflotoksin, benzopren, kemoterapi ilaçları, alkilleyici ajanlar, vinilklorid, v.b
- Sigara, alkol kullanımı
- Hava kirliliği
- Kötü beslenme alışkanlığı

#### **3. Doğal hücrel metabolizmadan kaynaklanan faktörler**

- Mitokondriden enerji üretim esnasında oluşan Serbest Radikaller
- Enflamasyon
- Detoksifikasyon işlemleri

Hücre tüm bu DNA hasarlarına farklı metabolik yollar ile cevap verir. Ağır DNA hasarları hücrenin apoptozis yolunu aktive ederek hücreyi ölüme götürür. Hücre, DNA hasarlarını "DNA tamir mekanizmaları" ile tamir edebilir. DNA hasarı ikileşme sırasında tamir edilemezse mutasyona ve sonuç olarak genomik kararsızlığa, kanser ve yaşlanmaya neden olur. DNA tamir sisteminde 100'den fazla gen rol oynar ve bu genlerin kodladığı proteinler tamir mekanizmalarında görev alırlar. Her bir insan hücresinin DNA'sında günde yaklaşık olarak 500.000 adet kodlanmayan veya yanlış kodlamaya neden olabilen hasar meydana

gelmektedir(109).DNA Hasarı sonunda DNA'nın yapısı ve dahası diğer nesillere aktarılan genetik bilgi değişir. Küçük hasarlar çoğunlukla DNA onarım sistemleri tarafından onarılabilirken, orta derecedeki hasarların birikimi ise mutasyon ve kanser ile sonuçlanabilir.

Yüksek düzeydeki hasarlar ise apoptozisi uyararak "hücre ölümüne" yol açabilir ve böylelikle organizma kendini korumuş olur (110).

### **2.2.3. DNA Hasarı Tipleri**

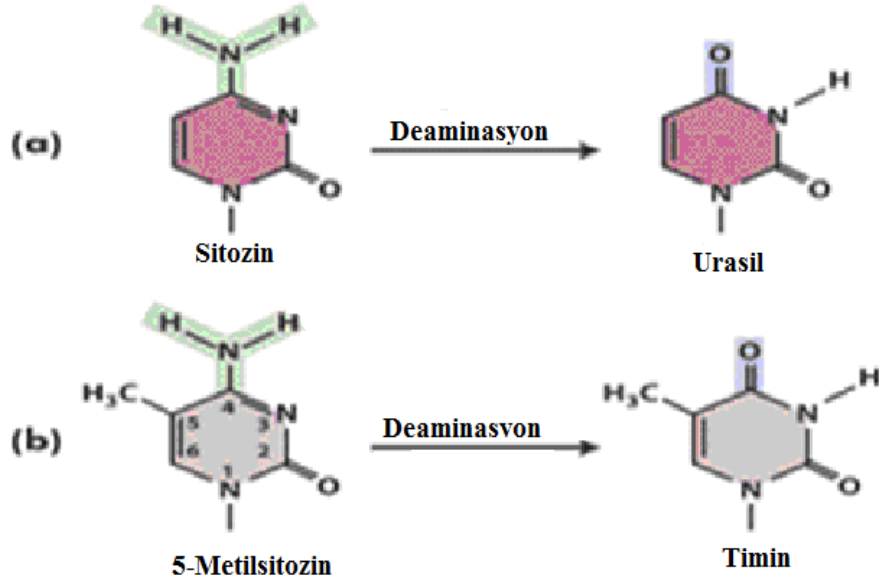
DNA çeşitli farklı mutagenler tarafından hasara uğrayabilir. Bunun sonucunda DNA dizisi değişebilir. Mutagenler arasında, yükseltgen (oksitleyici) etmenler, alkilleyici etmenler ve yüksek enerjili elektromanyetik ışınlar (morötesi ışık ve X ışınları gibi) sayılabilir. DNA'da meydana gelen hasarın tipi mutagenin tipine bağlıdır. Örneğin, mor ötesi ışık timin ikilileri (timin dimerleri) oluşturarak DNA'ya hasar verir (105). Buna karşın, serbest radikaller veya hidrojen peroksit gibi yükseltgen etmenler farklı türden hasar oluşturabilirler; baz değişimi (özellikle guanozin) ve iki iplikçikli kırılmalar gibi (106). Her bir insan hücresinde günde 500 baz yükseltgeyici zarar görür (107,108). Bu yükseltgeyici hasarlardan en zararlısı çift zincirli kırılmalardır. Çünkü bunların onarımı zordur. Bunlar DNA dizilerinde noktasal mutasyonlara, insersiyonlara ve delesyonlara ayrıca kromozomal translokasyonlara yol açabilir (109).

Başlıca DNA hasar tipleri;

1. Deaminasyon
2. Depurinasyon
3. Alkilasyon
4. T-T and T-C dimerleri oluşumu
5. Replikasyon hataları
6. Çift iplik kırıkları (DSB)
7. Oksidatif hasardır.

#### **2.2.3.1. Deaminasyon**

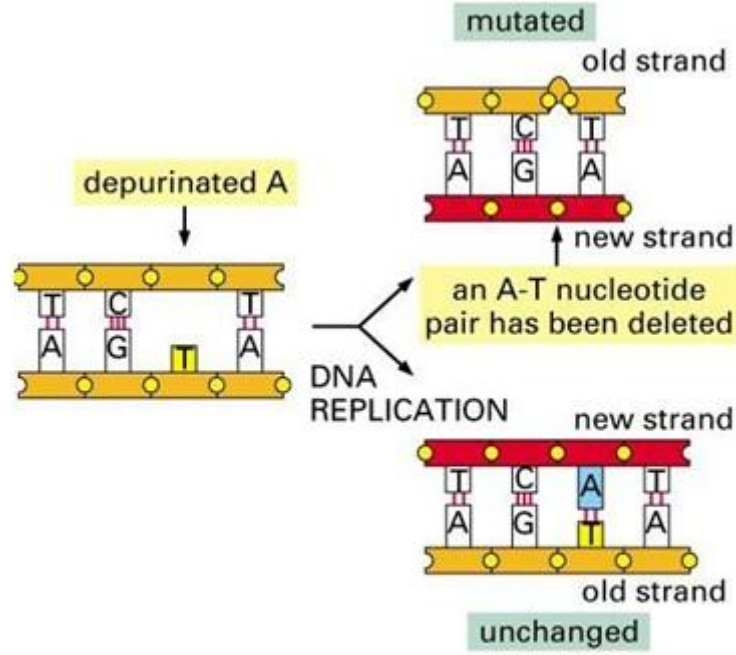
Deaminasyonda, Adenin (A) ve Sitozin (C)'deki bir amino grubu, keto grubuna dönüştürülmektedir. HNO<sub>2</sub> (nitroz asit) deaminasyon yoluyla Sitozin (C) => Urasil (U) ve Adenin (A) => hipoksantine dönüşmesine neden olur. Adenin deaminasyonu ile oluşan hipoksantin sitozinle yanlış eşleşir. (Şekil 3)



Şekil-3: Deaminasyon oluşumu

### 2.2.3.2. Depürinasyon

Memeli hücreleri spontan olarak 37 derecede 20 saatlik bir üreme periyodunda yaklaşık 10 000 purin'ini kaybeder. Aflatoksin depurinasyonu indükler (purin bazı kaybı) ancak depurinasyon spontan da olabilir. Depurine dizideki tamir eksikliği delesyonlara neden olabilir. Eğer bu mutasyonlar varsa replikasyon sırasında önemli DNA kayıplarına neden olur. Baz olmayan yerin karşısına baz eklenemez veya buraya bir baz eklenir fakat bu baz, mutant bir baz olur(109).

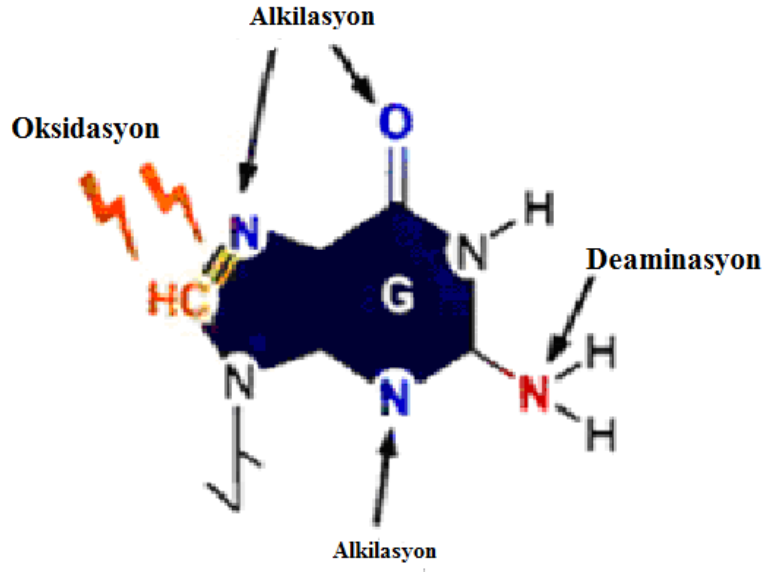


**Şekil-4:** Depürinasyon oluşumu

### 2.2.3.3. Alkilasyon

Alkilasyon, nükleotidlerdeki amino ve keto gruplarına metil (CH<sub>3</sub> - ) ya da etil (CH<sub>3</sub> - CH<sub>2</sub> ) gibi bir alkil grubu eklenmesi işlemidir. Nitrozaminler, etilmetilsülfonat ve N metil- N1 - nitrosoguanidin en önemli alkilleyici ajanlardır. En önemli alkilasyon bölgesi, guaninin 6. karbon atomundaki oksijendir (107). Alkilasyon sonucunda oluşan O6 -etilguanin (ya da O6-metilguanin), adeninin baz analogu gibi davranarak timinle eşleşir. Bunun sonucunda hasarlı DNA replike olduğunda G:C baz çifti yerine A:T baz çifti geçer. Birçok kimyasal mutajen bazlarda modifikasyonlara neden olur. Bu ajanlar genellikle küçük alkilerdir (örneğin metil grupları). Aynı zamanda birçok mutajen polisiklik bileşenlerden oluşur.





**Şekil-5:** Guanindeki kimyasal hasar bölgeleri (alkilasyon, oksidasyon, radyasyon)

#### 2.2.3.4. T-T ve T-C dimerleri oluşumu

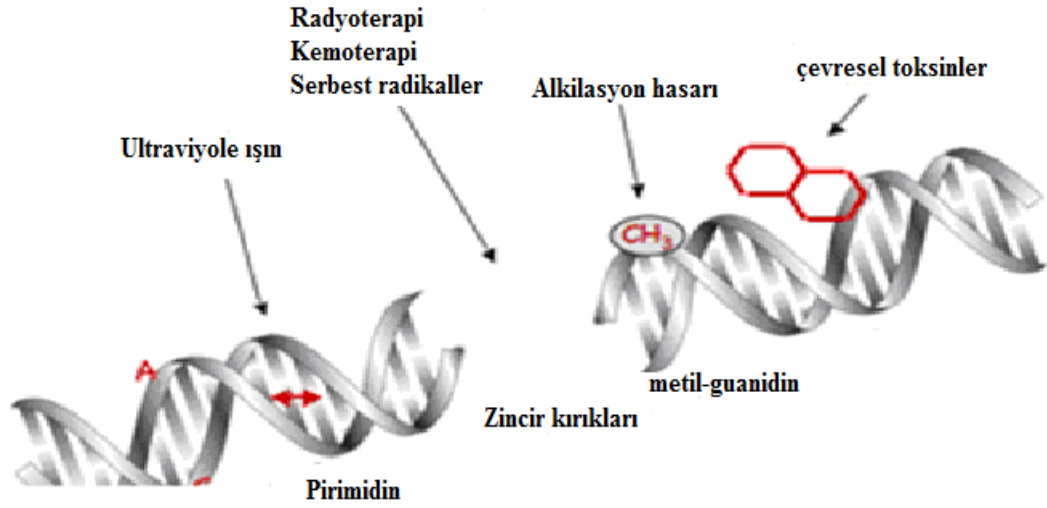
Nükleik asit bazlarının UV ışığı absorblaması sonucu sıklıkla yakın pirimidin bazlarının birer zincirleri arasındaki bağ oluşumu sonucu dimerler oluşur (siklobütan pirimidin dimerleri). DNA hasarı güneş yanığına ve melanin üretiminin artmasına neden olur ve tüm melanomaların %8 inden de sorumludur.

#### 2.2.3.5. Replikasyon Hataları

DNA replikasyonu esnasında yanlış nükleotlerin eklenmesiyle oluşan hatalardır. DNA polimerazın hata yapma (yanlış bazı ekleme) sıklığı spontan mutasyon oluşumunu etkiler. Polimerazın doğruluk oranını etkileyen en önemli faktör, hata okuma (proofreading) 3'-5' ekzonükleaz aktivitesidir. Bu aktivite, polimeraz tarafından yanlış eklenen bazların çıkarılmasına, böylece replikasyon esnasında mutasyon oluşumunu engellemeye yarar.

### 2.2.3.6. Çift İplik Kırıkları Oluşumu

İyonize radyasyon, transpozonlar, topoizomerazlar, endonükleazlar, kromozomlar üzerindeki mekanik stres, tek iplikli bölgede tek iplik kesimi ile (örneğin replikasyon ve transkripsiyon sırasında ) oluşurlar. DSB'ler bir hücrenin yaşamı boyunca sürekli olarak ortaya çıkan en tehlikeli DNA lezyonu türleridir. DSB'ler hem endojen hem de ekzojen unsurlardan kaynaklanabilir ve mutasyon oluşumuna, onkojenik dönüşüme ya da hücre ölümüne yol açabilecekleri için, genom için önemli bir tehlikedirler.(109)



Şekil-6: Çift İplik Kırıkları

### 2.2.3.7. Oksidatif Stresin Neden Olduğu DNA Hasarı

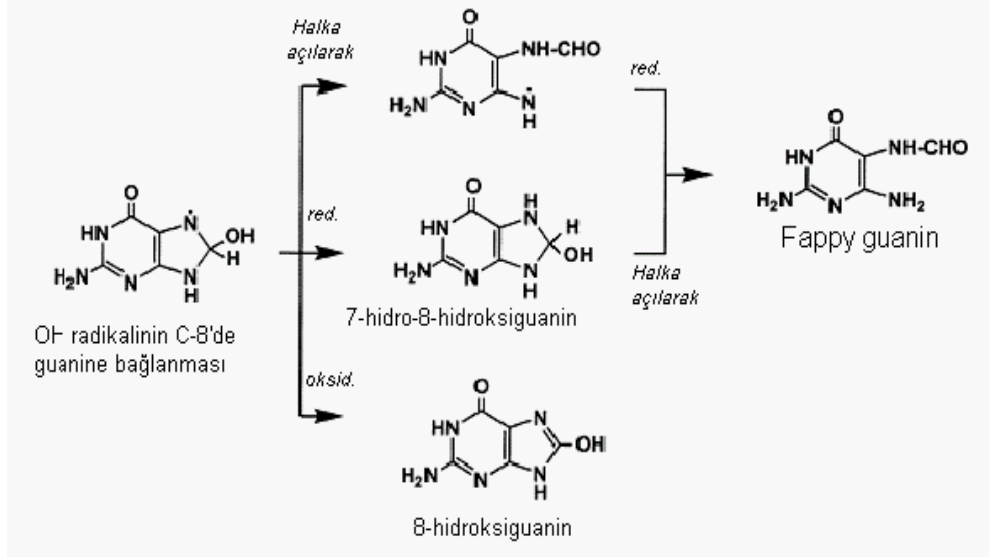
Endojen serbest radikallerin her bir hücrede, günde 200.000 kadar bazı hasara uğrattığı tahmin edilmektedir. Serbest radikaller, DNA atakları, mutasyonlara ve hücre ölümüne yol açmaktadır. Hidroksil radikali bazlarla ve deoksiribozlarla kolayca reaksiyona girer. Hidrojen peroksit ise membranlardan kolayca geçebileceğinden hücre çekirdeğindeki DNA'ya ulaşır ve

hücre disfonksiyonuna hatta ölümüne yol açar. Bu nedenle DNA kolay zarar görebilen bir moleküldür (110,111).

ROS (Reaktif Oksijen Türleri) ve RNS (Reaktif Nitrojen Türleri) ile DNA hasarlarının çok az bir kısmı doğal olarak meydana gelmektedir (112). DNA hasarlarının oluşumunda yer alan endojen reaksiyonlar; oksidasyon, metilasyon, depürinasyon ve deaminasyon reaksiyonlarıdır. Nitrik oksid veya nitrojen dioksit ( $\text{NO}_2$ ), peroksinitrit ( $\text{ONOO-}$ ), dinitrojen trioksit ( $\text{N}_2\text{O}_3$ ) ve nitrikasit ( $\text{HNO}_3$ ) gibi reaktif ürünleri, nitrozasyon ve deaminasyon reaksiyonları ile mutajenik aktivite gösterirler. Farklı ROS türleri farklı yollardan DNA hasarlarına neden olurlar. Örneğin  $\text{O}_2$  ve  $\text{H}_2\text{O}_2$  hiçbir zaman bazlarla reaksiyona girmezken OH radikali DNA'daki dört bazdan herhangi birine bağlanarak farklı reaktif ürünlerin oluşmasına yol açmaktadır. Singlet oksijen ise guanine spesifik bağlanarak hasar oluşturur (110,111).

Hidroksil radikali pürin bazları ile C4, C5 ve C8 pozisyonlarından reaksiyona girerek sırasıyla C4-OH-, C5-OH-, ve C8-OH- pürin radikallerini oluşturmaktadır (111). C4-OH- ve C5-OH-pürin radikalleri dehidrasyona uğrayarak okside pürin radikallerini oluştururlar. C8-OH pürin radikallerinin bir elektronlarının oksidasyonu ve bir elektronlarının redüksiyonu ile sırasıyla 8-hidroksipürinler (7,8-dihidroksi-8-oxopürinler) ve formamidopirimidinler oluşur (111). Şekil 9'da 8-hidroksiguanin (7,8 - dihidroksi - 8 - oxoguanin: 8 - OH - Gua) ve 2,6 - diamino - 4 - hidroksi -5 -formamidopirimidin (FapyGua) oluşum mekanizmaları görülmektedir. Her ikisi de hem oksijenli hem de oksijensiz ortamlarda meydana gelebilmektedir (110,111).

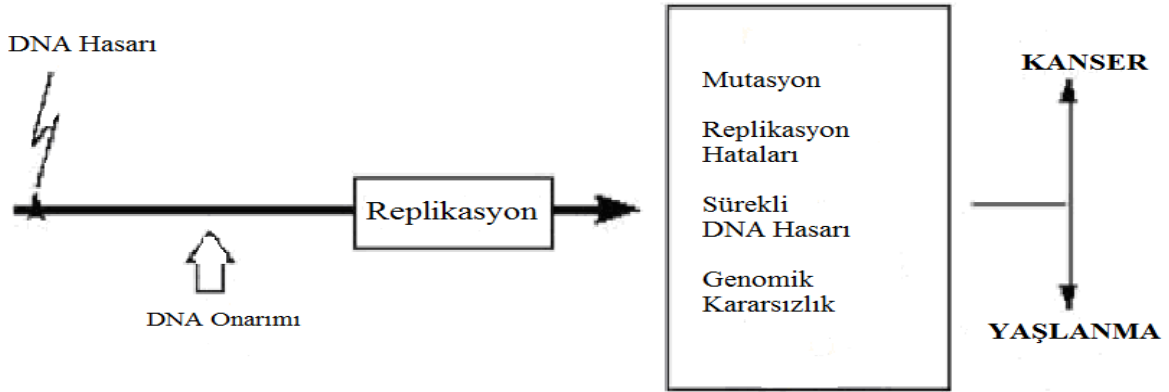
İndirgeyici ajanlar formamidopirimidinlerin oluşumunu arttırırken 8-OH-pirimidinlerin oluşması için oksijenli ortam uygun görülmektedir. 8-OH-guanin çok yaygın olarak meydana gelen bir baz hasar ürünü olduğundan oksidatif DNA hasarlarının ölçülmesinde hasar indeksi olarak kullanılmaktadır. Çoğu zaman 8 hidroksideoksiguanozin (8-OH-dGua) nükleoziti şeklinde ölçülmektedir (111).



Şekil-7: 8-hidroksiguanin ve FapyGuo'nun oluşum mekanizmaları

## 2.2.4. DNA Tamiri

DNA'da oluşan küçük hasarlar çoğu zaman DNA onarım sistemleri tarafından onarılır. Bu cevaplardan herhangi birinin işlev görmemesi, hücre düzeyinde genomik kararsızlıkla, organizma düzeyinde ise genetik hastalıklar, kanser veya yaşlanma ile sonuçlanır.



Şekil-8: DNA Hasarı sonucu oluşan süreç

DNA tamir sisteminde 100'den fazla gen rol oynar ve bu genlerin kodladığı proteinler tamir mekanizmalarında görev alırlar(111).

## **DNA Tamir Mekanizmaları;**

### **1. Direkt Tamir ya da Hasarın Geri Döndürülmesi (Reversal of Damage)**

- A- Fotoreaktivasyon
- B- O6-metilguanin tamiri
- C- Basit tek zincir kırıklarının ligasyonu

### **2. Eksizyon (kesip-çıkarma) Tamiri**

- A-Baz eksizyon tamiri (BER) (base excision repair)
- B- Nükleotid eksizyon tamiri (NER) (nucleotide excision repair)
- C- Mismatch (yanlış eşleşme) eksizyon tamiri (MER)

### **3. Replikasyon sonrası (post-replikasyon) tamiri**

### **4. SOS Tamiri**

### **5. Çift Zincir Kırıklarının Tamiri**

- A- Serbest Uçların Non-homolog Bağlanması ( NHEJ )
- B- Homolog Rekombinasyon ( HR )

## **2.3. Total Oksidan Seviye, Total Antioksidan Kapasite ve Oksidatif Stres İndeksi**

Reaktif oksijen türleri, metabolik ve fizyolojik süreçlerde üretilir ve organizmada zararlı oksidatif reaksiyonlar meydana gelmesine sebep olurlar. Bunlar enzimatik ve nonenzimatik antioksidan mekanizmalarla uzaklaştırılır. Bazı durumlarda oksidanlardaki artış ve antioksidanlarda azalma önlenemez. Oksidan/antioksidan denge, oksidatif taraf lehine kayar. Sonuç olarak, 100'den fazla hastalığa neden olan oksidatif stres meydana gelir (113). Oksidatif stresin rol oynadığı düşünülen süreçler (114-116):

- Sigara içimiyle ilişkili hastalıklar
- Nörodejeneratif süreçler
- Sistemik amiloidoz
- Romatoid artrit
- Respiratuar distres sendromu
- Kardiyovasküler hastalıklar
- Obezite

- Ateroskleroz
- Diyabetes mellitus
- Multipl skleroz
- Yaşlanma
- Gastrik ülser
- Katarakt

Aerob organizmalar hayatta kalabilmek için kendilerini oksijen toksisitesinden koruyan antioksidan savunma sistemlerine sahiptir. Bu organizmalar ayrıca oksijeni ( $O_2$ ), enerji üretiminde (aerob hücreler için gerekli olan ATP'nin %80'inin üretildiği mitokondrial elektron transport zincirinde;  $O_2$ , son elektron alıcısıdır) ve metabolik transformasyonlarda (oksidaz, hidroksilaz enzimleri örnek; sitokrom p450) kullanma yolları geliştirmiştir. Yani aeroblar, bir yandan kendilerini  $O_2$ 'nin zararlı etkilerinden korurken bir yandan da hayati fonksiyonlarında  $O_2$ 'den oldukça faydalanmaktadır. Ancak, aeroblar kendilerini sadece havadaki %21'lik  $O_2$ 'den koruyabilen antioksidan savunma mekanizmalarına sahip oldukları için, daha yüksek konsantrasyonlardaki  $O_2$  organizmaya zarar vermektedir (117).

### **2.3.1. Serbest Radikaller**

Serbest radikaller, en dış yörüngelerinde bir ya da daha fazla çiftleşmemiş elektron içeren reaktif moleküllerdir. Oksijen türevi radikaller, biyolojik sistemin en iyi bilinen serbest radikalleridir ve canlı hücrelerde, normal süreçte fizyolojik miktarlarda üretilirler. Aşırı oluştuklarında hücre ve dokuların hasarına neden olurlar. Yapılarındaki ortaklanmamış elektrolitlerden dolayı oldukça reaktiftirler ve tüm hücre bileşenleri ile kolayca etkileşebilme özelliği gösterirler (118,119).

Serbest radikaller 3 yolla meydana gelirler:

- 1- Kovalent bağlı radikal olmayan bir molekülün bağlarının koparılması ile iki ayrı radikal oluşumu ile,
- 2- Normal bir molekülün tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün bölünmesi ile,
- 3- Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile.

Organik veya inorganik moleküller, elektriksel olarak pozitif yüklü, negatif yüklü, nötral şekilde olabilirler. Oksijen atom numarası 8 olan, doğada dioksijen olarak bulunan kararsız bir elementtir. Bu kararsız konumu, enerji düzeylerinde bulunan elektronlarının yapısıyla ilişkilidir. Oksijen molekülündeki aynı yöne dönen iki elektrona sahip 2P son orbitali önemlidir. Bu orbitallerden herhangi birindeki elektron, bir orbitali bırakıp diğerine geçtiğinde veya farklı yönde döndüğünde “singlet oksijen” oluşur. Orbitallerden birine ters dönüşlü iki elektron veya ikisine ters dönüşlü iki elektron daha gelirse “oksijen radikali” elde edilir (118).

Oluşan radikal eşleşmemiş tek elektronu nedeniyle çok dengesizdir ve hızla ortamdan kaybolur. Bu yüzden bu radikaller tek elektronlarını bir başka moleküle verebilir (redüksiyon) ya da bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilirler (oksidasyon). Sonuçta non radikal yapıyı radikal bir şekle dönüştürebilirler.

**Tablo-8:** Oksijen türevi bileşikler

Radikaller	Radikal Olmayanlar
Hidroksil ( $\text{HO}^\cdot$ )	Hidrojen Peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )
Alkoksil ( $\text{RO}^\cdot$ )	Singlet Oksijen ( $\text{O}_2^{\uparrow\downarrow}$ )
Peroksil ( $\text{ROO}^\cdot$ )	Ozon ( $\text{O}_3$ )
Süperoksit ( $\text{O}_2^\cdot$ )	Hipoklorid ( $\text{HOCl}$ )
Nitrik oksit ( $\text{NO}^\cdot$ )	Lipidhidroperoksit ( $\text{LOOH}$ )
Azot dioksit ( $\text{NO}_2^\cdot$ )	Peroksinitrit ( $\text{ONOO}^\cdot$ )

### 2.3.1.1. Süperoksit Radikali ( $\text{O}_2^\cdot$ )

Canlılarda olduğu ilk gösterilen radikal olan süperoksit radikali hasarlandırıcı özelliği fazla olmayan bir serbest radikal türevi olup  $\text{H}_2\text{O}_2$  kaynağıdır. Oksitleyici ve metal iyonları redükleyici etkisi vardır. Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin %1-5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanmaktadır. Aktive edilen fagositik lökositlerden bol miktarda süperoksit üretilir. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatmaktadır (119,120). Daha sonra bu radikaller,

Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ ) e dönüşür.  $H_2O_2$ 'in kendisi serbest radikal olmasa da en reaktif serbest radikal türlerinden hidroksil radikaline ( $HO^\cdot$ ) otooksidasyon yolu ile dönüşebilir.

### 2.3.1.2. Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ )

Hidrojen peroksit, oksijenin enzimatik olarak iki elektronla indirgenmesi ya da süperoksitlerin enzimatik ve enzimatik olmayan dismutasyon tepkimeleri sonucunda oluşmaktadır. Dismutasyon spontan olarak veya süperoksit dismutaz enzimi aracılığıyla olabilir.  $H_2O_2$  membranlardan kolaylıkla geçip hücreler üzerinde bazı fizyolojik rollere sahip olabilir.  $H_2O_2$  özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek, yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturabilmektedir. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipit peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilmektedir (119,121)

### 2.3.1.3. Hidroksil Radikali ( $HO^\cdot$ )

Hidroksil radikali, biyolojik sistemlerde bulunan en güçlü serbest radikaldir. Dokular radyasyona maruz kaldıklarında, enerjinin çoğu hücre içindeki su tarafından emilir ve radyasyon oksijen ve hidrojen arasında kovalent bağa neden olur. Sonuçta iki radikal meydana gelir. Bu radikallerden biri hidrojen ( $H^\cdot$ ) ve diğeri ise hidroksil radikalidir ( $HO^\cdot$ ).

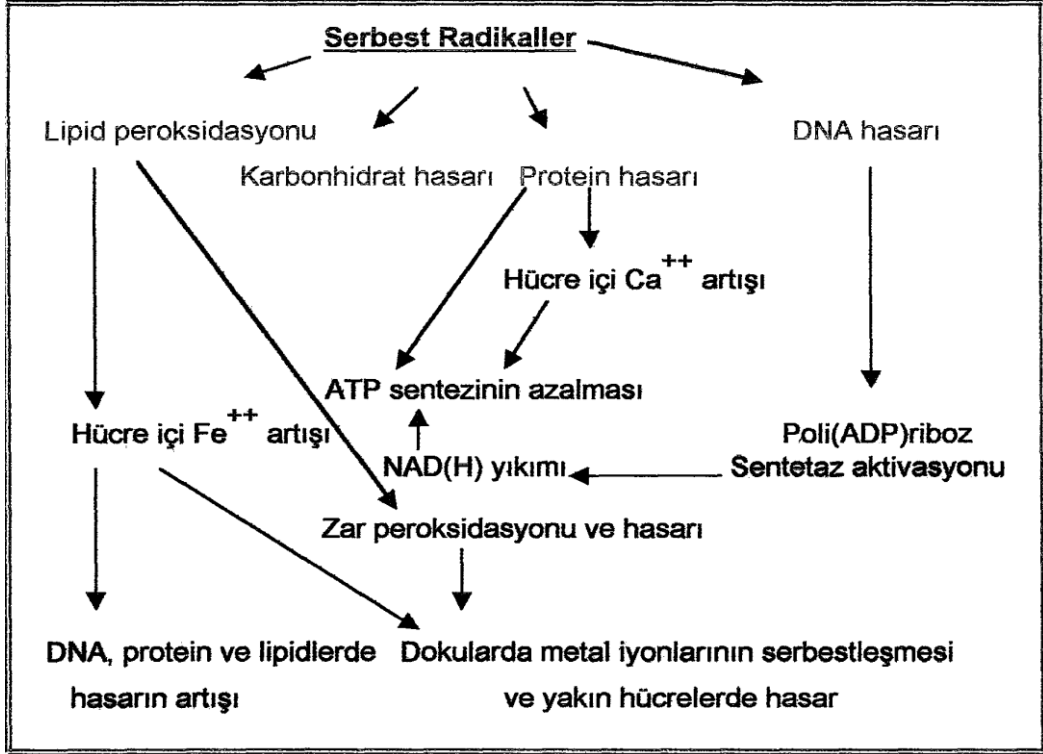


Yine  $OH^\cdot$ 'leri aromatik halkaya katılma özelliği gösterdiklerinden DNA ve RNA'da bulunan pürin ve pirimidin bazlarına katılarak radikal oluşumuna neden olurlar. Bir dizi reaksiyona katılabilen  $OH^\cdot$  radikalleri DNA'nın baz ve şekerlerinde ciddi hasarlar oluşturarak DNA iplik kırılmalarına neden olurlar. Hasar çok kapsamlı olursa hücrel koruyucu sistemler tarafından tamir edilemeyebilir ve bunun sonucunda çeşitli mutasyonlar ve hücre ölümleri meydana gelir (122).



### 2.3.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri

Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşenlerine etki ederler. Mitokondrideki aerobik solunumu ve kapiller geçirgenliği bozarak, bir yandan hücrenin potasyum kaybına neden olurken öte yandan trombosit agregasyonunu arttırmaları (Şekil 9.) (123).



Şekil-9: Serbest radikallerin hasar oluşturma mekanizmaları

#### 2.3.2.1. Membran Lipidlerine Etkisi (Lipid Peroksidasyonu)

Lipidler, serbest oksijen radikallerine karşı en hassas olan vücut bileşenleridir. Membrandaki kolesterol ve doymamış yağ asitleri, serbest radikaller tarafından kolayca perokside edilirler ki bu hasar geri dönüşümsüzdür. Hasar ile membran geçirgenliğinin değişmesi, anormal kalsiyum iyonu girişine yol açarak hücrel fonksiyonların bozulmasına ve oksidasyon ile fosforilasyonun ayrılmasına neden olur. Ayrıca ortamdaki demir ve bakır gibi metal iyonları, lipid peroksidasyonunun sitotoksik ürünlere dönüşümünü hızlandırır.

Lipid hiperoksidleri yıkımı ile biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur ki bu maddeler, hücre içine yayılarak, hasarın hücrenin diğer bölümlerine de yansımaya neden olurlar. Lipid peroksidasyonun sonunda MDA oluşur. Oluşan MDA, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi membran özelliklerini değiştirerek mutajenik, genotoksik ve karsinojenik etkilere yol açabilir (124).

### **2.3.2.2. Proteinlere Etkisi**

Serbest radikallerin proteinlere etkisi proteinlerin aminoasit içeriğine göre değişir. Protein molekülleri üzerindeki sülfhidril veya amino gruplarıyla serbest radikallerin etkileşmesi sonucu proteinlerde oluşan yapısal değişiklikler üçe ayrılır:

- 1- Aminoasitlerin modifikasyonu,
- 2- Proteinlerin fragmantasyonu,
- 3- Proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmalarıdır (125).

Proteinin temel yapısındaki değişme, antijenitesindeki değişmeye ve proteolize hassasiyete yol açabilir. Radikaller, membran proteinleri ile reaksiyona girebilirler ve enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarının bozulmasına neden olabilirler. Serbest radikallerin etkisiyle IgG ve albümin gibi fazla sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur. Böylece normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle okside olmuş hemoglobinin  $O_2$  veya  $H_2O_2$  ile reaksiyonu methemoglobin oluşumuna sebep olmaktadır (124).

### **2.3.2.3. Nükleik asitlere Etkileri**

Nükleik asitler, serbest radikallere bağlı değişikliklere duyarlıdır. Hidroksil radikallerin DNA ile tepkimesi sonucunda baz modifikasyonları, baz delesyonları, zincir kırılmaları gerçekleşebilmektedir.

Oksijen radikalleri, oksidatif yarıma ile DNA hasarına yol açabilmektedir. Özellikle pirimidinlerden olan timin en hassas yapıdır. DNA halatlarının kopması, DNA çift sarmalı ayrılması sonucu hücrede mutasyonlar ve ölüm gelişebilmektedir. 8-hydroxydeoxyguanosine (8-

OhdG), oksidatif DNA hasarının bir göstergesidir. Yenidoğan ve hipokside kalan bebeklerde oranın yüksek olduğu bildirilmektedir (126).

#### **2.3.2.4. Karbonhidratlara Etkileri**

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksid, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelmektedir. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu katarakt, diyabet ve sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıkların, inflamatuvar eklem hastalıklarının oluşumuna katkıda bulunabilirler (118).

#### **2.3.3. Antioksidan Mekanizmalar**

Yükseltenebilir bir substratla (protein, lipid, karbonhidrat ve nükleik asitler) karşılaştırıldığında daha düşük konsantrasyonlarda bulunduğu zaman o substratın oksidasyonunu belirgin biçimde geciktiren/önleyen maddeye antioksidan denir (127). İkinci bir tanıma göre diyetsel antioksidan normal fizyolojik fonksiyonların varlığında reaktif oksijen ve nitrojen türleri gibi reaktif türlerin yan etkilerini belirgin biçimde azaltan ve yiyeceklerde var olan maddeler olarak tanımlanır (128). Ancak bu tanım yeniden gözden geçirilmiş ve genişletilerek membran stabilitesini devam ettirme özelliğinin de antioksidanların fonksiyonlarından biri olduğu belirtilmiştir (129).

Antioksidan savunma mekanizmaları etkilerini aşağıdaki yollarla gösterebilirler:

- 1- Hasarlı hedef moleküllerin yerini alarak,
- 2- Reaktif oksijen türleri oluşumunu minimumda tutarak,
- 3- Hasarlı hedef molekülleri onararak,
- 4- Yüksek derecede reaktif türlerin oluşumunda görev alan metal iyonlarını bağlayarak,
- 5- Reaktif türleri enzim kullanarak yahut bizzat kendisinin yer aldığı reaksiyonlarla temizleyerek (130).

Aerobik hücrelerde pek çok antioksidan sistem bulunmaktadır. Bu antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır. Endojen antioksidanlar, enzim olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenmektedir. Enzim olan antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT),

glutatiyon-S- transferaz (GST), glutatiyon redüktaz ve mitokondrial oksidaz sistemidir. Enzim olmayanlar ise; bilirubin, albümin, ürik asit,  $\alpha$ -tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin, transferrin, ferritin ve glutatiyon gibi maddelerdir. Bunlar oksijen radikallerine karşı ilk savunma sistemini oluşturmaktadırlar (131,132).

Eksojen antioksidan olarak da allopurinol, folik asit, C vitamini, E vitamini, asetilsistein, mannitol, adenozin, kalsiyum kanal blokerleri, non steroid antiinflamatuvar ilaçlar ve demir şelatörleri sayılabilir (133).

### **2.3.3.1. Enzim Olan Antioksidanlar**

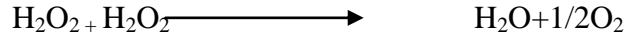
#### **2.3.3.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)**

SOD enziminin bakır-çinko, mangan ve demir içeren üç tip izoenzimi bulunur. Bakır ve çinko içeren Cu-Zn-SOD sitoplazmada, mangan içeren Mn-SOD mitokondride aktivite gösterir. Cu-Zn-SOD ve Mn-SOD aynı mekanizma üzerinden etki gösterirler ancak Mn-SOD pH 7'nin üzerinde aktivitesini kaybederken Cu-Zn-SOD'un aktivitesi pH 5.5-10 aralığında değişmez.

SOD, substrat olarak serbest oksijen radikallerini kullanan ve süperoksiti hidrojen peroksite çeviren bir metalloenzimdir. Bu reaksiyon "oksidatif strese karşı ilk savunma" olarak da adlandırılmaktadır. Çünkü süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki süperoksit düzeyleri kontrol altında tutulmaktadır. Lösemi, iskemi, hepatit, müsküler distrofi, respiratuvar distres sendromu, böbrek yetmezliği, Fankoni anemisi, akciğer enfeksiyonları ve motor nöron hastalıkları gibi serbest radikal açığa çıkaran olaylarda ve hastalıklarda koruyucu rol oynadığı düşünülmektedir. Aynı zamanda SOD, lipid peroksidasyonunu da inhibe etmektedir. SOD aktivitesi yüksek oksijen kullanan dokularda fazladır. SOD'nin ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür (134).

#### **2.3.3.1.2. Katalaz**

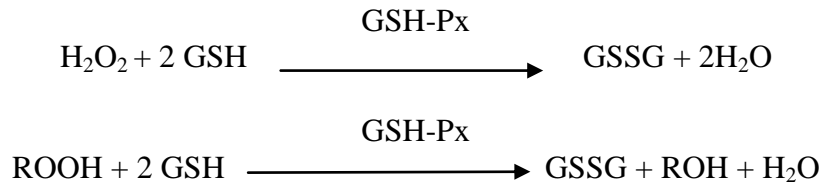
Katalaz enzimi hidrojen peroksitin su ve moleküler oksijene çevrildiği reaksiyonu katalizler. Enzim hücre içinde peroksizomlarda yerleşmiştir ve bir hemoproteindir. Dört tane hem grubu içerir. Katalaz'ın etkisi de SOD'a benzerdir.



Bu reaksiyon  $\text{H}_2\text{O}_2$  konsantrasyonları yükseldiğinde önem kazanırken düşük  $\text{H}_2\text{O}_2$  konsantrasyonlarında diğer peroksidazlar  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'lerin daha az reaktif olan alkollere ve suya parçalanmasını katalizler. Kanda, böbrek ve karaciğerde ayrıca mukoz membranlarda bulunur. Granulomatoz hücreleri solunumsal patlamaya karşı korur (129).

### 2.3.3.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

GSH-Px, pek çok hücrenin sitozollerinde bulunan bir enzimdir ve hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur. Sitozol ve mitokondrilerde SOD tarafından oluşturulan  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve yağ asidi hidroperoksitlerini ortadan kaldırmaktadır. Düşük  $\text{H}_2\text{O}_2$  konsantrasyonunda çalışmaktadır. Kofaktör olarak selenyum elementinin kullanır.



Hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin indirgenmesiyle oksitlenen glutasyon, glutasyon redüktaz enzimi ve başlıca pentoz fosfat yolundan sağlanan NADPH yardımıyla indirgenerek reaksiyonların devamını sağlar (134).

GSH-Px, fagositik hücrelerde önemli fonksiyonlara sahiptir. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu, fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de GSH-Px oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma,  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'in artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar. Yapılan çalışmalarda kord kanı GSH-Px ve total antioksidan düşüklüğü olan bebeklerde DNA hasarının yüksek olduğu gösterilmiş ve doğumda oksijen radikallerinin oluşumunun arttığı ifade edilmiştir (135).

#### 2.3.3.1.4. Glutatyon-S-Transferaz (GST)

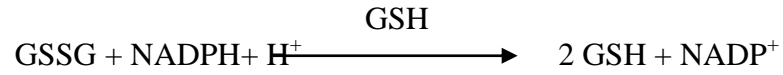
Lipid peroksitlerine karşı selenyumdan bağımsız glutatyon peroksidaz aktivitesi göstermektedir.



Antioksidan aktivitesine ek olarak başka biyokimyasal fonksiyonlara da sahip olup bilirubin, hem ve bazı kortikosteroidler gibi endojen maddelere geri dönüşsüz olarak bağlanarak bunların hücre içi transportunda da görev almaktadır (134).

#### 2.3.3.1.5. Glutatyon Redüktaz (GR)

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> indirgenmesi esnasında GSH oksitlenir. Glutatyon peroksidazın fonksiyonunun devamlılığı için okside glutatyon tekrar indirgenmelidir. Reaksiyon GSH redüktaz tarafından katalizlenir. Enzim NADPH bağımlı bir flavoproteindir (134).



#### 2.3.3.1.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

Süperoksit anyonunun suya dönüştüğü reaksiyonu katalizler. Bakır içerir. Mitokondrideki elektron taşıma zincirinin son basamağında yer alır.

### 2.3.3.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar

#### 2.3.3.2.1. Glutatyon (GSH)

Glutamat, sistein ve glisin aminoasitlerinden sentezlenen ve hücrede en fazla tiyol içeren bileşiktir. GSH sentezinde kullanılan sisteinin kaynağı N-asetilsisteindir. Glutaminin glutaminaz ile hidrolizi ve  $\alpha$ -ketoglutarat ile dallı zincirli aminoasitlerin transaminasyonu GSH sentezinde kullanılan glutamatın temel kaynaklarıdır. GSH'dan kaynaklanan glutatyon radikali (GS<sup>•</sup>) bir

prooksidandır. Ancak iki GS<sup>-</sup> birleşerek okside glutatyonu (GSSG) oluştururlar bu da GSH redüktaz tarafından GSH'ya indirgenir. Doğrudan veya dolaylı yollarla reaktif oksijen türlerini temizler. Hücrel oksidasyon-redüksiyon dengesinin düzenlenmesinde önemli rol oynayan tiyol proteinleriyle etkileşime girer (136).

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

C Vitamini pek çok biyolojik fonksiyon için gerekli suda çözünebilir bir mikronutrienttir. Birçok enzimin kofaktörü olarak görev yapar. Bunlar; kollajenin post-translasyonel hidroksilasyonu, karnitin biyosentezi, dopaminin norepinefrine dönmesi, peptid amidasyonu ve tirozin metabolizmasında görev alan enzimlerdir.

Anti-skorbutik fonksiyonu yanında C vitamini potent bir indirgeyici ajan ve biyolojik sistemlerde serbest radikal toplayıcısıdır (137). Biyolojik sıvılarda en çok bulunan ve suda çözünen bir antioksidandır. Süperoksit, hidroperoksit radikalleri ve singlet oksijen ile peroksinitrit, nitrojen dioksit ve nitroksit radikallerini toplayabilme özelliğine sahiptir. Paradoksik olarak C vitamini in vitro koşullarda bir prooksidan gibi davranabilir. C vitamininin demir ve bakır ile birlikteliği lipidlerin, proteinlerin ve DNA'nın oksidatif modifikasyonunu indüklemek için kullanılmaktadır (127). C vitamini oksidatif strese ferrik demiri ferroz demire indirgeyerek ve sonrasında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in hidroksil radikaline dönüşümünü sağlayarak neden olabilir. Ancak genel olarak bu C vitamini aracılı Fenton reaksiyonları insanda ferritin ve transferin gibi metal bağlayıcı proteinlerin etkin demir sekestrasyonu sayesinde kontrol edilir. Prooksidan etkinin in vivo koşullarda gerçekleşip gerçekleşmediği net değildir (127,138). İnsan plazmasının in vitro inkübasyonu yöntemiyle yapılan çalışmalar C vitamininin aktive redoks geçiş metalleri ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eklenmesi durumunda bile lipid peroksidasyonunu engellediğini göstermiştir (126).

Plazma askorbik asit havuzunda sigara kullanımıyla ilişkili düşüş ilk olarak 1930'larda tanımlanmıştır (127). Sonraki çalışmalarda da sigara içenlerde içmeyenlere göre plazma/serum/lökosit C vitamini konsantrasyonlarının yaklaşık olarak %40 daha düşük olma eğiliminde olduğu gözlenmiştir. Son çalışmalarda sigara içen erkek ve kadınlarda plazma, lökositler ve idrarda gözlenen düşük askorbik asit konsantrasyonlarının nötrofillerin aktivite ve sayılarında artışla ilişkili olduğu bunun da C vitaminin artmış kullanımı, düşük alımı veya azalmış biyoyararlılığıyla açıklanabileceği söylenmiştir (139).

#### **2.3.3.2.3. Vitamin E (Tokoferol)**

Alfa tokoferol yağda çözünen lipit zincirini kıran bir antioksidandır. Mitokondri ve endoplazmik retikulum gibi membrandan zengin hücre kısımlarında vitamin E konsantrasyonu artmıştır. Çok güçlü bir antioksidan olan alfa tokoferol hücre membran fosfolipitlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal ataklarına karşı korur, oluşan radikalleri temizler, lipid peroksidasyonunu inhibe eder. Askorbik asit E vitaminin etkisini artırır. E vitamini ve GSH-Px serbest radikal etkisine karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. E vitamini, sentezlerini engeller iken GSH-Px, oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırır (142).

#### **2.3.3.2.4. $\beta$ Karoten**

A vitaminin metabolik bir ön maddesi olan ve yağda çözünen bir antioksidan olan beta karoten son derece güçlü bir oksijen temizleyicisidir. Serbest radikalleri direkt olarak yakalayabilir ve aynı zamanda zincir kıran bir antioksidan olarak etki ederek de peroksit radikalleri oluşumunu engeller (143).

#### **2.3.3.2.5. Seruloplazmin**

Plazma antioksidan aktivitesinin önemli bir kısmı, bakır içeren ve taşıyan akut faz proteini seruloplazminden kaynaklanır. Demir ve bakır bağımlı lipid peroksidasyonu inhibe eder. Daha az önemli olmakla birlikte süperoksit radikali ile reaksiyona da girer.

#### **2.4.4. Total Antioksidan Kapasite**

Antioksidan savunma sistemleri, özgül etkiler dışında bir ortak etkiler ve ilişkiler ağı oluşturur. Örneğin; vitamin C ve glutatyon, vitamin E'nin rejenerasyonunu sağlayarak; ürik asit, vitamin C'nin otooksidasyonunu engelleyerek sinerjistik etki gösterirler. Böylece antioksidan durumu göstermede tek tek antioksidan ölçümü yanında değişik antioksidanları ortak etkilerinin ölçümüne yani "total antioksidan kapasite"nin bilinmesine ihtiyaç doğar. Sonuçta plazmanın



total antioksidan kapasitesinin her antioksidanın tek başına etkilerine ek olarak değişik antioksidanlar arasındaki ilişkilere bağlı olduğu söylenebilir (144).

#### **2.4.5. Oksidatif Stres**

Organizmada normal şartlarda da oluşan serbest radikal üretimi, değişik savunma mekanizmaları ile ortadan kaldırılır. Bu nedenle patolojik bir durum oluşmaz. Serbest radikal oluşum hızı ve serbest radikal miktarı savunma mekanizmalarının gücünü aştığı zaman oksidan stres ortaya çıkar. Sonuç olarak serbest radikallerinin hücre fonksiyonlarına net etkisi, radikal ürünleri ile koruyucu sistemler arasındaki dengeye bağlıdır.

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. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur. ‘Oksidatif stres’ olarak adlandırılan bu durum özetle: serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır (145).

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Yöntem

Bu çalışmaya, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalına 15.10.2014-15.03.2015 tarihleri arasında başvuran, ergenlik dönemine girmemiş, en az 1 yıl önce tip 1 diabetes mellitus tanısı almış 30 hasta, kontrol grubu olarak 30 sağlıklı çocuk alındı.

Kontrol grubu gelişim takibi için sağlık merkezlerine getirilen, öykü ve fizik muayene ile şikayet ve hastalık durumları bulunmayan, aynı yaştaki ve sosyokültürel durumları aynı hasta grubuyla uyumlu çocuklardan seçildi.

Çalışma için Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik kurulunun onayı alındı. Araştırmaya katılmayı kabul eden ailelere çocukların ve ailenin bazı sosyodemografik özelliklerini inceleyen anket uygulandı. Ankette aynı zamanda, çocuğun özgeçmişi, soygeçmişi, beslenme öyküsü, fizik muayenesi, laboratuvar ve diğer inceleme yöntemlerinin sonuçları da yer aldı. Hastalardan yakınmalarının ve akut enfeksiyon tablosunda olmadıkları ve herhangi bir ilaç kullanmadıkları dönemlerde kan alınarak çalışma yapıldı.

**Çalışmadan çıkarılma kriterleri:** Hastaları çalışmaya almama kriterleri; yaşları 10 yıl üzerinde ve 5 yaş altında olanlar, ergenlik dönemine girmiş hasta ve kontrol grubu çalışma dışı bırakıldı. Antiepileptik, steroid, antikoagülan ilaç kullananlar, tiroid fonksiyon bozukluğu olanlar, böbrek, karaciğer hastalığı olanlar, akut enfeksiyon geçirmiş olanlar çalışma dışı bırakıldı. Hastalar çalışmaya alınırken, balayı dönemini dışlamak için, en az bir yıldır tanılı olmaları şartı aranmıştı ve çalışmada en düşük günlük insülin ihtiyacı 0,8 U/kg/gün olarak saptandı, balayı döneminin dışlandığını destekledi.

**Kan örnekleri:** Kan örnekleri heparin ile yıkanmış tüplere alınan 3 cc'lik kan örnekleri mononükleer lökosit seperasyonu DNA hasarı çalışılmak üzere işleme konulurken biyokimyasal analiz ve oksidanlar için alınan kan örnekleri 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra şekilli elemanlar tüp ile birlikte atıldı. Üstteki serum örneklerin bir kısmı -80 °C'de saklandı.

-20 ile -80 °C arasında saklanan serum ise çalışma günü Erel yöntemi ile TOS ve TAS oto-analizörde (Abbott Aeroset, Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL, USA) kolorimetrik olarak ölçüldü.

Çalışma grubundan heparin ile yıkanmış tüplere alınan 3 cc'lik kan örnekleri mononükleer lökosit DNA hasarı çalışılmak üzere işleme konuldu. EDTA lı kan örneklerinde Harran Üniversitesi Araştırma Hastanesi Biyokimya laboratuvarındaki otomatik kan sayım cihazı ( celldyn 3700 ) ile tam kan sayımı ve retikülosit tayini yapıldı. Heparinli tüplere alınan kan örnekleri DNA analizlerinde kullanılacak mononükleer lökositlerin seperasyonu için kullanıldı. Bir ml histopaque –1077 üzerine bir ml taze heparinize kan yavaşça konup 2100 rpm ve 25°C'de 30 dakika santrifüj edildi . Orta tabakada biriken mononükleer lökositler pipet yardımıyla alınıp bir ml tuzlu fosfat tamponu (pH=7.4) ile karıştırıldıktan sonra 1600 rpm ve 25°C'de 10 dakika santrifüj edilerek iki kez yıkandı. Üstteki süpernatant atılıp pellet tuzlu fosfat tamponu (pH=7,4) ile  $10^6$  mononükleer lökosit / $\mu$ l olacak şekilde dilüe edildi. Bu yöntemde DNA migrasyonu vizüel olarak değerlendirildi. Oluşan hasarın derecesine göre DNA'lar beş kategoriye ayrıldı. Hiç hasar bulunmayan DNA'lar Class 0, maksimum hasar olan DNA'lar ise Class 4 olarak değerlendirildi. Değerlendirilen 50 hücreye ait DNA'lardaki hasar dereceleri tespit edilip çıkan sonuç 2 ile çarpılıp ve değerlendirme 100 üzerinden yapıldı. Dolayısıyla bu değerlendirmede en yüksek değer 400 olabilmıştır.

### **3.1.1. Toplam Antioksidan Status Düzeyinin Ölçümü**

Örneklerin total antioksidan status düzeyi, Ö. Erel tarafından geliştirilen Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülen tam otomatik bir yöntem olup, güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçen bir metoddur (146). Ölçüm yöntemi, örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS\* katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikali antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanır. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanılır. Sonuçlar mmol Trolox Eqiv/L olarak ifade edildi.

### 3.1.2. Toplam Oksidan Status Düzeyinin Ölçümü

Örneklerin total oksidan status düzeyi, Ö. Erel tarafından geliştirilen Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülen tam otomatik bir yöntem olup testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyonla kümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanılır (147). Kalibratör olarak Hidrojen Peroksit kullanılır. Sonuçlar  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eqiv./L}$  olarak ifade edilir.

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

### 3.1.3. Oksidatif Stres İndeksi Ölçümü (OSİ)

Örneklerin oksidatif stres indeksi (OSİ), örneklerin toplam oksidan status (TOS) düzeylerinin, örneklerin toplam antioksidan status (TAS) oranına yüzdesi olarak belirtilir (148). Hesaplamadan önce TAS testinin birimindeki mmol değeri TOS testindeki gibi mikromol birimine çevrilir. Sonuçlar Arbitrary Units olarak ifade edildi.

### 3.1.4. Mononükleer Lökositlerin Seperasyonu

Bir ml histopaque-1077 üzerine bir ml taze heparinize kan yavaşça konup 2100 rpm ve 25°C'de 30 dakika santrifüj edildi. Orta tabakada biriken mononükleer lökositler pipet yardımıyla alınıp bir ml tuzlu fosfat tamponu (pH=7.4) ile karıştırıldıktan sonra 1600 rpm ve 25°C'de 10 dakika santrifüj edildi. Üstteki süpernatant atılıp pellet tuzlu fosfat tamponu (pH=7,4) ile  $10^6$  mononükleer lökosit olacak şekilde dilüe edildi.

### **3.1.5. Comet Assay (alkali mononükleer hücre elektroforezi) yöntemi ile DNA Hasar Tayini**

#### **3.1.5.1. Yöntemin Prensibi**

Comet Assay yöntemi alkali pH'da farklı molekül ağırlıklarına ve farklı elektrik yüke sahip DNA moleküllerinin elektriksel alanda farklı göç etmeleri esasına dayanmaktadır. Tek hücreler agarozta yerleştirilir ve lizisten sonra zarar görmemiş DNA'lar taşınma sırasında comet (kuyruk) oluşturmazlar. Oysa DNA fragmente olmuşsa fragmentler (nükleik asitler) farklı moleküler ağırlıklara ve farklı elektrik yüklerine sahip olacaklarından elektriksel alanda farklı hızlarda hareket ederek kuyruk şeklinde bir görüntü oluştururlar (149-153).

#### **3.1.5.2. Yönteminin Uygulanışı**

##### **3.1.5.2.1. Slaytların Hazırlanması**

NMP agaroz jel % 1,0 'lik olarak hazırlandı ve 80<sup>°</sup>l jel kenarları buzlanmış lam üzerine damlatıldı ve üzeri lamel ile kapatılarak buzdolabında (2-4 °C) 5 dakika bekletildikten sonra lamelleri kaldırıldı. Hazırlanan lamlar nemli kutularda bekletildi. PBS (Fosfat buffered saline) ile mm<sup>3</sup>'te 10<sup>4</sup> hücre olacak şekilde dilüe edilmiş mononükleer hücrelerden 10 µl alınarak 80 µl %0,5'lik Low Melting Point (LMP) agaroz jel (37<sup>0</sup>C) ile karıştırılarak birinci tabaka üzerine tabakalandırıldı ve tekrar lamel ile kapatılarak buzdolabında donması için 5 dakika bekletildi. Üçüncü aşamada ise aynı konsantrasyonda LMP agaroz jel hazırlanarak ikinci tabakanın üzerine ince bir tabaka halinde tabakalandırılarak slayt hazırlanması tamamlandı (149-153).

##### **3.1.5.2.2. Lizis aşaması**

Agaroz jel kurduktan sonra slaytlar yaklaşık bir saat süre ile yüksek konsantrasyonda tuz ve deterjan içeren soğuk lizis solüsyonunda bekletildi. Lizis solüsyonunun içeriği 100 mM EDTA, 2,5 M Sodyum klorid, 10 mM Trizma base ve %1 oranında Triton X-100'den oluşmaktadır. Bu solüsyonun pH 'sı 10'a ayarlandı. Lizis tamponu ile hücre ve çekirdek zarı lizise uğrattıldı (149-153).

### **3.1.5.2.3. Elektroforez Tamponu**

Elektroforezde yürütmeden önce DNA zincirlerinin ayrılması için slaytlar alkali elektroforez tamponunda 20-30 dakika inkübasyona bırakıldı. Alkali çözeltisi 1mM EDTA ve 300 mM sodyum hidroksit içermektedir (pH <13) (137-141).

### **3.1.5.2.4. Elektroforezde Yürütme**

Alkali elektroforez tamponunda inkübasyon tamamlandıktan sonra DNA'lar bu tampon çözeltisi içerisinde 300 mA, 14 volt'luk elektriksel alanda ve 5-25 °C'de 30 dakika yürütüldü (149-153).

### **3.1.5.2.5. Nötralizasyon**

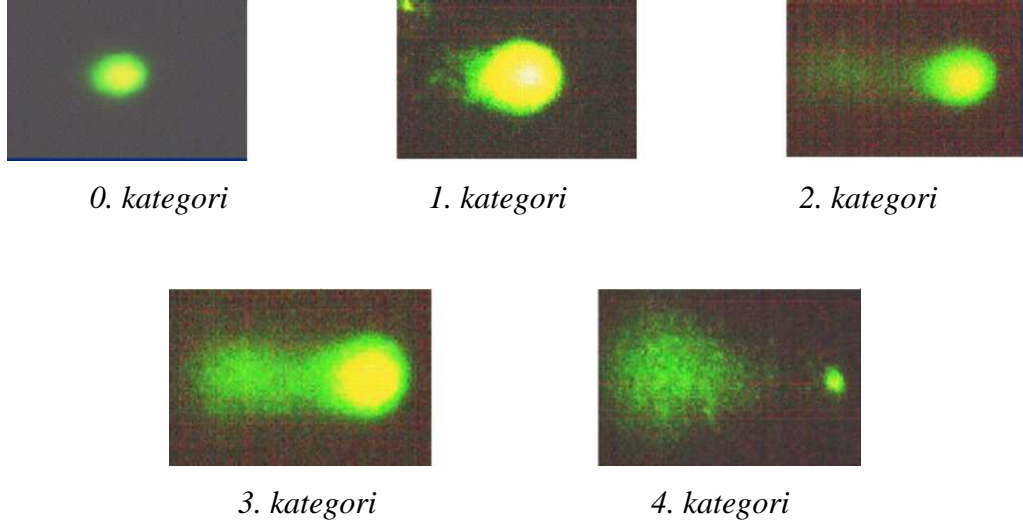
Elektroforezde yürütme işlemi tamamlandıktan sonra alkali tampon çözeltisini ortamdaki uzaklaştırmak için slaytlar 3 dk süre ile 3 kez nötralizasyon tamponu ile (0.4 M Tris-HCL, pH 7.5) yıkandı (149-153).

### **3.1.5.2.6. Boyama**

Nötralizasyon tamamlandıktan sonra boyama yapılarak cometler sayılır veya jel oda sıcaklığında kurutularak slaytlar nemli ortamda en fazla bir hafta depolanabilir. Boyama işlemi için floresan boya olan etidyum bromit boyası (5 µg/ml) kullanıldı. Her bir slayt için 80 µL boya slayt üzerine damlatıldıktan sonra lamel ile üzeri kapatılarak 20 büyütme floresan mikroskop ile (Eksitasyon DB: 546 nm, Emisyon DB: 580 nm) 50 adet DNA görüntüsü değerlendirildi.

### **3.1.5.2.7. Analiz**

Bu yöntemde DNA migrasyonunu vizüel olarak değerlendirildi. Oluşan hasarın derecesine göre DNA'lar beş kategoride değerlendirildi. Şekilde de görüldüğü gibi, hiç hasar bulunmayan DNA'lar 0, maksimum hasar olan DNA'lar 5 kategoride değerlendirildi.



**Şekil-10:** DNA hasarları sonucu meydana gelen hasarların elektroforez migrasyonu sonrası DNA'ların floresan mikroskop altındaki görüntüleri

Migrasyonun uzunluğu fragmentlerin miktarına, DNA zincir kırılmalarına ve alkali labil bölgelerin seviyelerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (149-153).

### 3.2. Yapılan İstatistiksel Analizler

**İstatistiksel analiz:** İstatistiksel analiz SPSS 20.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Verilerin analizinde ortalama, frekans ve standart sapma değeri belirlendi. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov–Smirnov testi ile analiz edildi. İki grup arasındaki farklılığı ortaya koymak için student t testi kullanıldı. Hasta ve kontrol grubunun cinsiyet oranlarının karşılaştırılmasında ise nonparametrik test olan Ki-Kare testi kullanıldı. Parametreler arası ilişkilerin incelenmesi Pearson ve Spearman korelasyon testleri kullanılarak yapıldı. İstatistiksel olarak  $p < 0.05$  anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Demografik Veriler

Çalışmamıza en az bir yıldır izlemde olup, önceden tanımlanmış bir kronik hastalığı bulunmayan, 5-10 yaş aralığında tip 1 diabetes mellituslu (DM) 30 çocuk ile yaş, cinsiyet ve sosyokültürel olarak eşleştirilmiş 30 sağlıklı çocuk kontrol grubu olmak üzere toplam 60 çocuk alındı. Kontrol grubunun yaş ortalaması  $7,70 \pm 1,31$  yıl iken, diyabet grubunda bu değer  $7,93 \pm 1,55$  yıl idi. Tip 1 DM grubu yaş ortalaması ile kontrol grubu yaş ortalaması arasında anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0,05$ ) (Tablo 9). Kontrol grubunu oluşturan 30 çocuğun 13'ü (%43,3) kız, 17'si (%56,7) erkek iken, tip 1 DM grubunu oluşturan 30 çocuğun 13'ü (%43,3) kız, 17'si (%56,7) erkek idi. Gruplar arasında cinsiyet açısından anlamlı fark yoktu ( $p > 0,05$ ) (Tablo 9).

**Tablo 9:** Hasta grubu ile kontrol grubunun sosyodemografik verileri

	<b>Hasta (n:30)</b>	<b>Kontrol (n:30)</b>	<i>p</i>
<b>Yaş (yıl)</b>	$7,93 \pm 1,55$	$7,70 \pm 1,31$	0,533
<b>Ağırlık (kg)</b>	$25,23 \pm 5,09$	$24,10 \pm 7,96$	0,514
<b>Boy (cm)</b>	$124,83 \pm 9,59$	$120,63 \pm 10,25$	0,107
<b>BMI (<math>\text{kg/m}^2</math>)</b>	$16,05 \pm 1,69$	$16,17 \pm 3,18$	0,856
<b>Cinsiyet(E/K)</b>	17/13	17/13	1,000

Çalışmamızda Tip 1 DM grubunu oluşturan hastalarda ve kontrol grubunda periferik kan lökositlerinin comet assay tekniği kullanılarak elektroforez migrasyon görüntüleri değerlendirildiğinde hasta grubunda DNA hasarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak belirgin artmış olduğu saptandı ( $p < 0,001$ ).



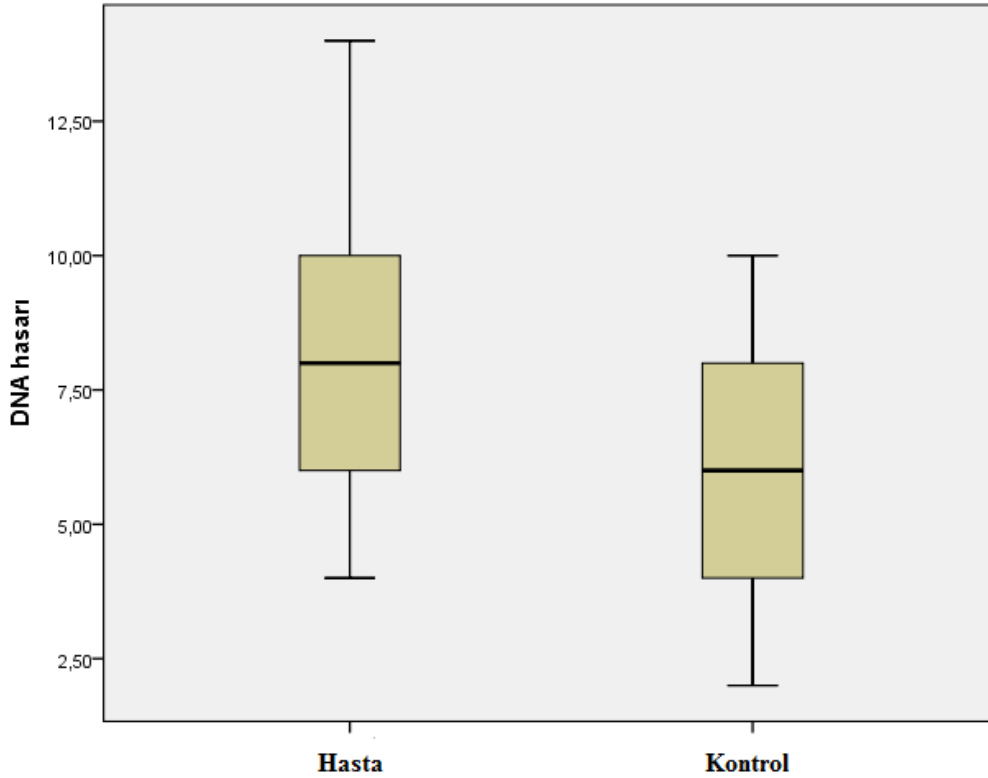
Her iki grupta oksidan-antioksidan sistem değerlendirildiğinde ise TOS ve OSİ düzeylerinin hasta grubunda arttığı, TAS düzeyinin ise azaldığı gözlenmiştir.

Yine Tablo 10 'da görüleceği üzere kontrol grubuna göre tip 1 DM 'li hasta grubunda Total Oksidan Seviye (TOS) rakamsal olarak yüksek bulunurken bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p:0,16$ ). Buna karşılık TAS ve OSİ düzeylerinin hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ( $p<0,001$ ); ( $p: 0,006$ ).

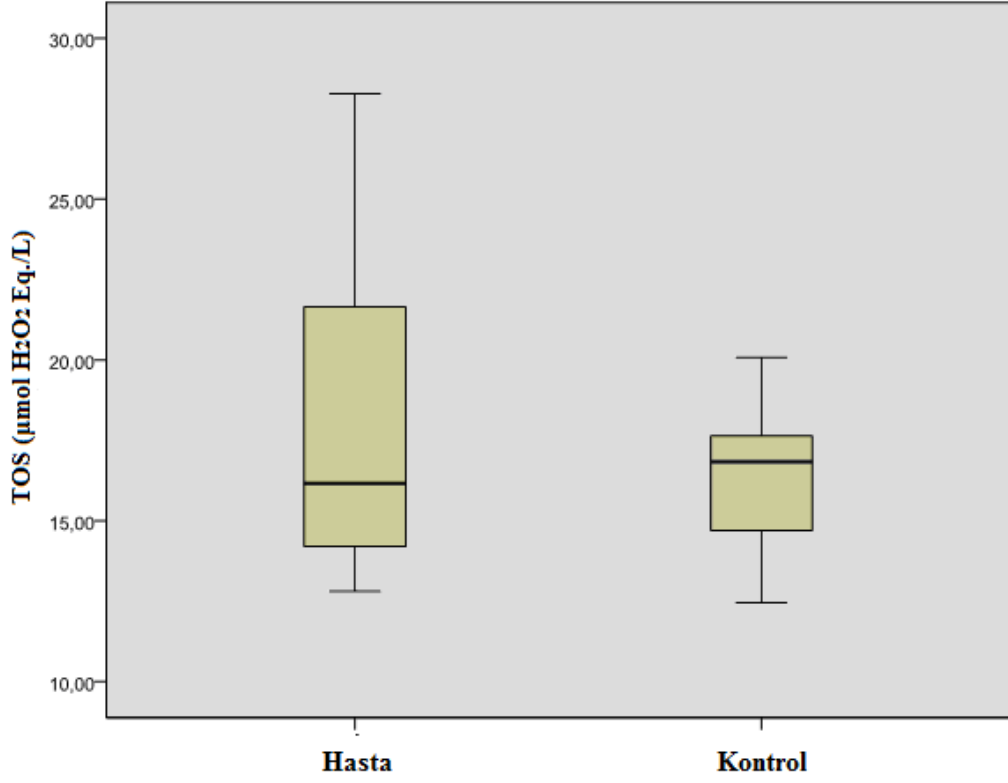
**Tablo 10:** Tip 1 DM hastaları ve kontrol grubunun DNA hasarı ve oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması

	Hasta grubu (n=30)	Kontrol grubu (n=30)	<i>p</i>
DNA hasarı(Arbitrary Unit)	8,20 ±2,64	6,13 ±2,09	0,001
TOS ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./L)	18,00±4,46	16,67 ±2,54	0,160
TAS (mmol Trolox Eqv./L)	0,72 ±0,17	0,96 ±0,24	<0,001
OSİ (Arbitrary Unit)	2,61 ±0,87	1,93 ±0,95	0,006

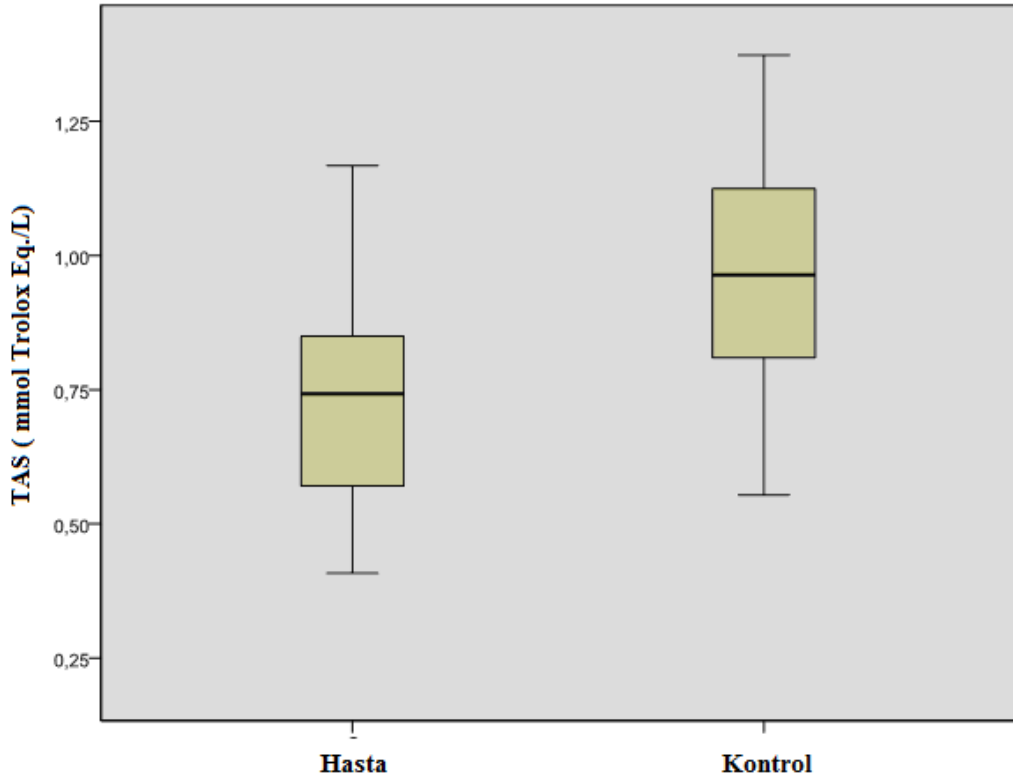
- Değerler ortalama±SS olarak verilmiştir.



**Şekil 11 :** Tip 1 DM vakalarının ve kontrol grubunun DNA hasarı düzeyleri



Şekil 12 : Tip 1 DM vakalarının ve kontrol grubunun TOS düzeyleri



Şekil 13 : Tip 1 DM vakalarının ve kontrol grubunun TAS düzeyleri

Tip 1 diabetes mellitus hastalarında, hastalık maruziyet süresi, HbA1c, fruktozamin, DNA hasarı, TAS, TOS, OSİ arasındaki korelasyon varlığı araştırıldı. Elde edilen sonuçlar Tablo 11'de, grafiksel görünüm Şekil 14-17'de görülmektedir.

**Tablo 11:** Tip 1 diabetes mellitus hastalarının DNA hasarı, oksidan-antioksidan sistem, HbA1c, hastalık maruziyet süresi ve fruktozamine ait korelasyon değerleri

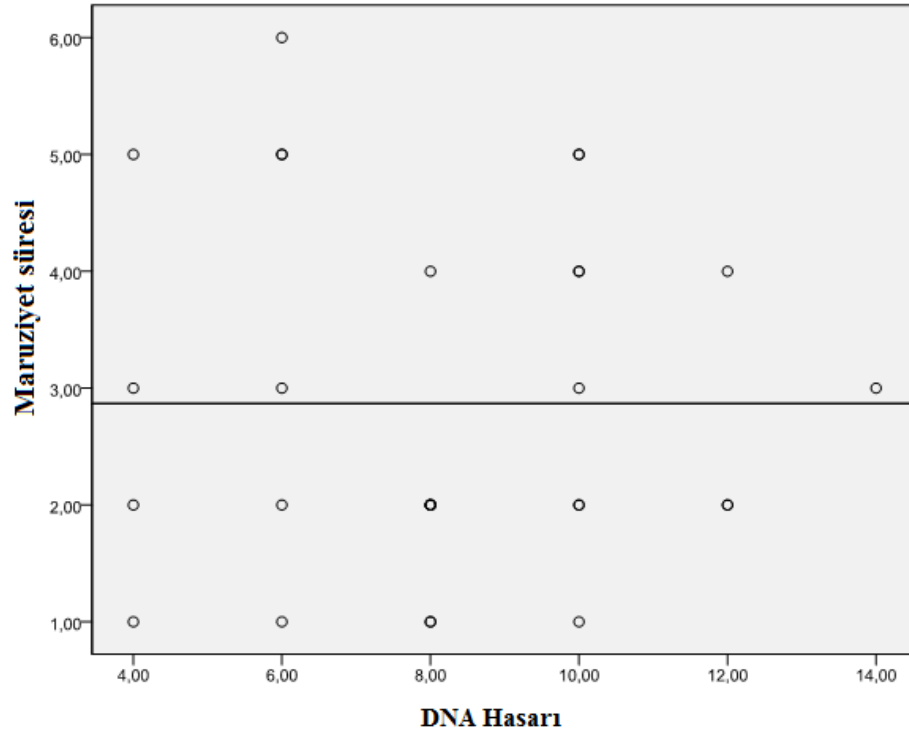
		DNA Hasarı	TOS	TAS	OSİ
<b>Maruziyet Süresi</b>	<i>r</i>	-0,028	-0,028	-0,151	0,122
	<i>p</i>	0,882	0,885	0,426	0,521
<b>HbA1c</b>	<i>r</i>	-0,241	0,262	0,116	0,129
	<i>p</i>	0,200	0,162	0,540	0,497
<b>Fruktozamin</b>	<i>r</i>	-0,338	0,055	0,128	0,019
	<i>p</i>	0,068	0,772	0,501	0,919
<b>TOS</b>	<i>r</i>	-0,105	----	0,66	<b>0,675</b>
	<i>p</i>	0,580	----	0,728	<b>0,000</b>
<b>TAS</b>	<i>r</i>	-0,121	0,66	----	<b>-0,647</b>
	<i>p</i>	0,524	0,728	----	<b>0,000</b>
<b>DNA Hasarı</b>	<i>r</i>	----	-0,105	-0,121	0,054
	<i>p</i>	----	0,580	0,524	0,777

TOS: Total Oksidan Seviye, TAS: Total Antioksidan Statü, OSİ: Oksidatif Stres İndeksi

Tip 1 diabetes mellitus hastalarında DNA Hasarı, TAS ve TOS arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı.

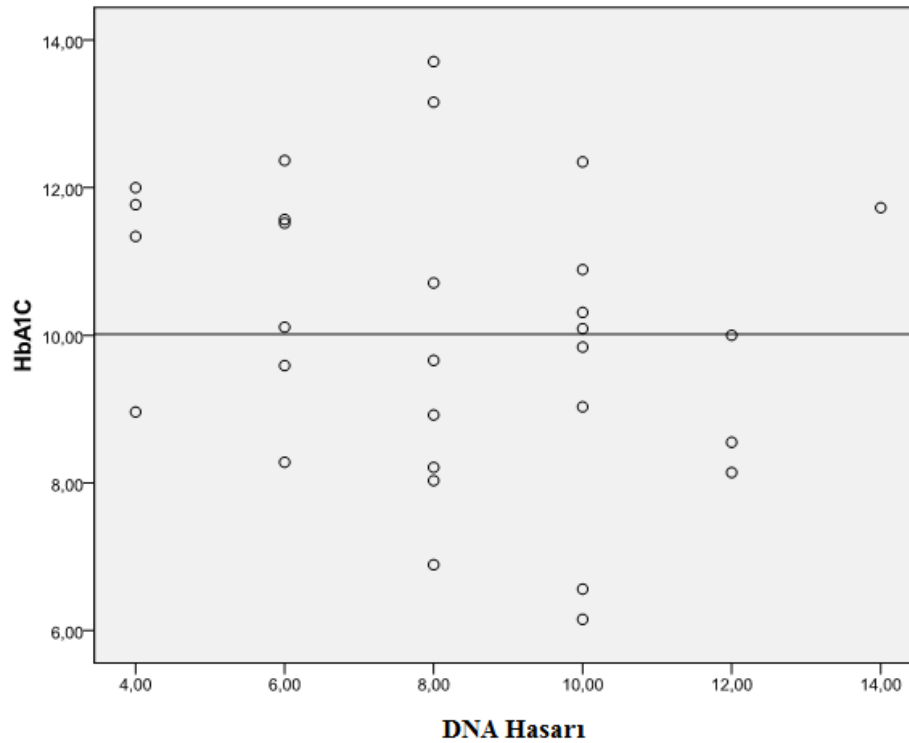
Tip 1 diabetes mellitus hastalarında maruziyet süresi ve DNA Hasarı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Tip 1 diabetes mellitus hastalarında maruziyet süresi, TAS ve TOS arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı..

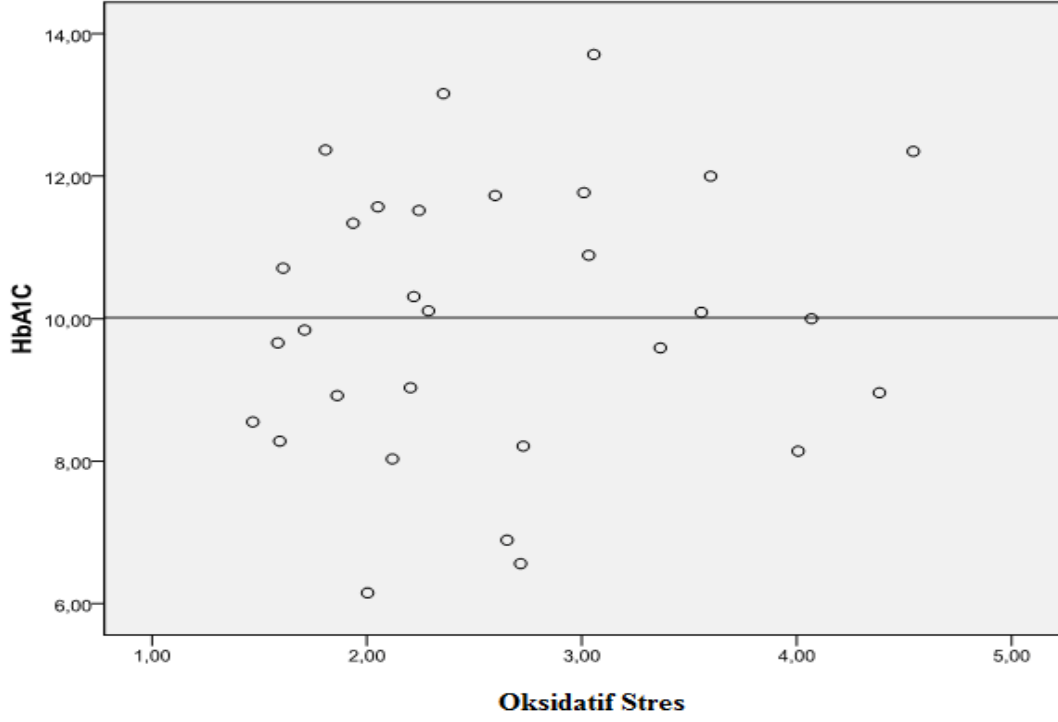


**Şekil 14:** Tip 1 DM vakalarının maruziyet süresi ile DNA hasarı arasındaki korelasyon grafiği

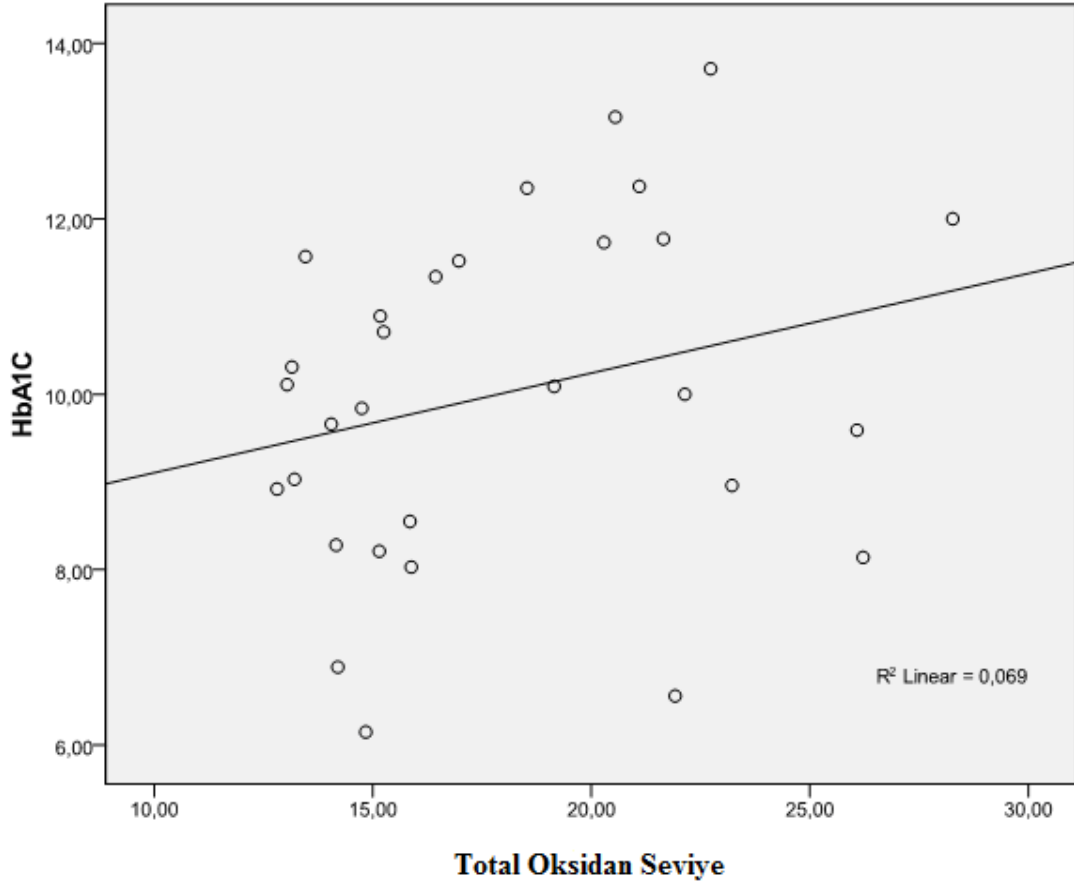
Tip 1 diabetes mellitus hastalarında DNA Hasarı, HbA1c ve fruktozamin arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı. Yine tip 1 diabetes mellitus (DM) hastalarında HbA1c, fruktozamin, TOS ve OSİ arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı.



**Şekil 15:** Tip 1 DM vakalarının HbA1c ve DNA hasarı arasındaki korelasyon grafiği



**Şekil 16:** Tip 1 DM vakalarının HbA1c ve OSİ arasındaki korelasyon grafiği



**Şekil 17:** Tip 1 DM vakalarının HbA1c ve TOS arasındaki korelasyon grafiği

## 5. TARTIŞMA

Diyabetes mellitus insülin eksikliği, etkisizliği veya her ikisinin birlikte bulunması ile karakterize karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozukluğudur. Çocukluk ve adolesan dönemin en sık görülen endokrin ve metabolik hastalığıdır.

Diyabet; pankreatik beta hücre harabiyetine bağlı insülin sekresyon eksikliği ile giden Tip 1 DM ve çeşitli dönemlerde beta hücre bozukluğu ile birlikte yağ dokusu, karaciğer (KC) ve iskelet kası düzeylerinde oluşan insülin direncinin bir sonucu olarak ortaya çıkan Tip 2 DM olmak üzere iki gruba ayrılır (1). Hastalık çağımızın en çok karşılaşılan, morbidite ve mortalitesi en yüksek olan hastalıklardan birisidir. Hastalıkta glikoz kullanımı bozulur. Kan şekeri düzeyinin artması, başta kan damarları ve sinirler olmak üzere çoğu vücut sistemlerinde ciddi biçimde hasara neden olur (154-156).

Diabetes mellitusda oksijen stresine karşı antioksidan koruyucu mekanizmada dengenin bozulduğu ve hücre hasarının arttığı bilinmektedir. Serbest oksijen radikallerinin, doku hasarı ve değişik hastalıkların etyopatogenezindeki rolü, son yıllarda tıpta giderek artan ilgi alanı oluşturmaktadır. Oksidatif stres, artmış oksidana maruz kalma ya da azalmış antioksidan kapasite olarak tanımlanabilir (157). Vücutta lipid, protein ya da DNA oksidasyonu gibi etkiler yapabilirler. Diabetes mellituslu hastaların diabetik olmayan popülasyona göre daha fazla oksidatif strese maruz kaldığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (159).

Oksidatif stres nedeniyle oluşan radikallerin zararlı etkileri antioksidan enzimler ile yok edilmektedir. Diabetes Mellitus'ta en önemli problem glukozun metabolize edilememesi sonucu kanda birikmesi, enerji üretiminde lipidlerin kullanılması ile zararlı serbest radikallerin artmasıdır. Bu hastalıkta, glukozun otooksidasyonu hızlanmakta ve okside olan glukoz, glukoz asitlerine dönüşürken bir taraftan da serbest radikalleri oluşturmaktadır (158, 160). Her iki durumda da, yani serbest oksijen radikallerinin oluşumunun artması ve/veya antioksidan sistemin kesintiye uğraması diyabetli hastalarda oksidatif stresin artmasına yol açmaktadır. Oksidatif stres hipotezinde reaktif oksijen türleri ve serbest radikallerin oluşum hızı ile antioksidan savunma kapasitesi arasındaki dengesizlik diyabetin kronik komplikasyonlarına neden olmaktadır. Bir

başka deyişle hiperglisemi oksidatif strese yol açmaktadır(161-162). Çok sayıda çalışmada hiperglisemi ve oksidatif stres arasındaki nedensel ilişki varsayımını desteklemektedir (219-225).

Total antioksidan kapasiteye en büyük katkı plazmadaki antioksidan moleküllerden gelmektedir. Plazmada serbest demiri toplayan transferrin ve seruloplazmin gibi proteinler yanında serbest radikalleri kapan zincir kırıcı antioksidanlar da bulunmaktadır. Albumin, ürik asit ve askorbik asit insan plazmasındaki total anti oksidan kapasitenin %85'inden fazlasını oluşturur. Plazmada antioksidanlar bir etkileşim içindedir. Diyabetin tedavisine yönelik yapılan araştırmaların diğer bir kısmı da hastalıkta bozulan oksidan/antioksidan dengenin düzeltilmesine yönelik çalışmalardır. Bu çalışmalar ya antioksidan savunma sistemini güçlendirmeye ya da oksidatif strese bağlı hasarı azaltmaya yöneliktir (164).

Diyabetik insanlarda ve deneysel diyabet çalışmalarında, hiperglisemi ile oluşan serbest radikallerin antioksidan seviyelerine etki etmediği, azalttığı ve/veya arttırdığı şeklinde farklı sonuçlar bulunmaktadır. Maxwell ve ark. (202) diyabetik kişilerde TAS ve vitamin C seviyesinde azalma olduğunu belirtmişlerdir. Total antioksidan kapasite'nin bakılan herhangi bir antioksidandan daha önemli bir parametre olduğunu vurgulayan Ceriolla ve ark. (203), diyabetik hastalarda TAS ve vitamin A seviyelerinin düşerken, vitamin E'nin arttığını, vitamin C'nin ise değişmediğini saptamışlardır. Tip 1 diyabetli ve diyabetik ketoasidozisli hastalarda yapılan çalışmalarda TAS düzeyinde azalma olduğu bildirilmiştir (204,205). Merzouk ve arkadaşları (206), diyabetli hastalarda  $\alpha$ -tokoferol ve vitamin A düzeylerinin düştüğünü, vitamin C düzeylerinin değişmediğini saptamışlardır. Bir başka çalışmada da diyabetiklerde tedavi sonrası antioksidan enzimlerden serum katalaz , superoksit dismutaz enzim aktivitelerinde ve vitamin A düzeyinde anlamlı bir artış görülürken, glutatyon peroksidaz enzim aktivitesinde, vitamin C ve likopen seviyelerinde değişiklik olmadığı saptanmıştır (207). Sundaram ve arkadaşları tip 2 diyabetli hastalarda teşhis konulmasının 2. yılında SOD, CAT, GP-x enzim aktivitelerinin ve glutatyon (GSH), vitamin (C, E) seviyelerinin önem gösterecek şekilde azaldığı, bu değişikliklerin hastalığın süresi ile ilişkili olduğu ve komplikasyonların gelişmesi ile birlikte farkın daha da arttığı belirtilmiştir (208). Başka bir çalışmada diyabetli kişilerde biyokimyasal değişimleri değerlendirmişler, MDA, SOD ve GSH gibi birçok parametreleri ölçmüşlerdir. SOD aktivitesinde azalma, MDA düzeyinde ve GSH miktarında ise çok azalma saptamış, oksidatif stresin Diabetes Mellitus da önemli olduğuna dikkat çekmişlerdir(210). Dave GS ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada Tip 1 ve Tip 2 diyabetli hasta grubunda antioksidan parametreleri

kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur (201). Soliman ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hipergliseminin oksidatif stresi artırdığına işaret ederek, şekillenen antioksidan tükenmesinin diyabetik komplikasyonların oluşumunda risk faktörü olarak değerlendirilmesine dikkat çekmiştir. Bu profilin diyabetik komplikasyonların başlangıç ve gelişmesinde önemli olduğu, ayrıca hastalarda plazma oksidan ve antioksidan sistem arasında bir imbalans, dengesizlik bulunduğu kanaatine varmıştır. Yine bu araştırma ile çalışma sonuçlarının paralellik gösterdiği diyabetlilerde lipit peroksidasyonun artıp, antioksidan sistemde azalma olduğu desteklenmektedir (209). Çalışmamızda Tip 1 DM ve kontrol grupları arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmada, Tip 1 DM grubunda TAS düzeyi anlamlı düşük bulundu. Diyabette görülen oksidatif stresi baskılayabilmek amacı ile; antioksidan enzim aktivitelerinin arttığı, azaldığı veya değişmediği bildirilmiştir (201-210). Bu farklılıklar; diyabetin süresinden, çalışılan enzim veya dokudan kaynaklanmaktadır. Ayrıca enzim aktivitesinde zamana bağlı geçici değişiklikler de etkileyici faktörler arasında sayılabilir. Oksidatif stres varlığında adaptif bir mekanizma ile; antioksidan savunma enzimlerinin aktivitelerinin arttığı bilinmektedir(145). Diğer yandan; enzimlerin serbest oksijen radikalleri ile inaktivasyonu sonucu aktivitelerinin azaldığı da bildirilmiştir.(208-210). Oksidan-antioksidan sistem değerlendirmesinde TOS, OSİ düzeylerinin kontrol grubuna göre arttığını, OSİ düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu. Bu bulgular diyabetik hastalarda oksidatif stres belirteçlerini daha yüksek bulan ve antioksidan savunmada azalma olduğunu saptayan çalışmaların verileri ile uyumluydu(201-210). Bizim çalışmamızda olduğu gibi, birçok çalışma göstermiştir ki diyabetik hastalarda TAS genelde oksidatif stresin artmış olmasından dolayı düşüktür.

Sonuç olarak; Tip I DM gibi glukoz toleransının bozulduğu durumlarda, serbest oksijen radikallerinin aşırı oluşumuna cevap olarak hücre içi antioksidan kapasitede önemli değişiklikler meydana gelebilir. Ancak, diyabetli hastalarda kan glukoz düzeylerinin iyi kontrol edilemediği uzun süreli hiperglisemi durumlarında, antioksidan enzim aktivitelerinin oldukça azalacağı, serbest oksijen radikallerinin tam olarak detoksifiye edilemeyeceği ve bunun sonucunda da eritrosit membranı ve diğer hücre sel yapılarında ciddi hasarlanmalar meydana gelebileceği kanaatindeyiz. Bu durumun aşırı ve kontrolsüz gelişimi ise vasküler ve diğer komplikasyonları da beraberinde getirebilir. Diabette oluşabilen oksidatif stres yeni terapötik yaklaşımlara yol açabilir. Anti-oksidanlar, büyük bir olasılıkla diabette bozulan oksidatif stresin ve glukoz metabolizmasının düzeltilmesinde önemli etkiler oluşturabilirler.



Kronik hastalıklarda inflamasyondaki oksidatif stresin DNA hasarına neden olduğu gösterilmiştir. Artmış riskin moleküler temelini iki yönlü olduğu düşünülmüştür: Çevredeki epiteliyal hücrelerde DNA hasarına yol açan reaktif oksijen radikallerinin inflamatuvar makrofajlar tarafından üretimi ve inflamatuvar hücreler tarafından salgılanan sitokinlerin aracılık ettiği gelişmiş proliferatif sinyaller mutasyonlar için riskteki hücrelerin sayısını artırır (172,173).

Oksidatif strese; organizmanın antioksidan savunma sistemini oluşturan enzimlerin adaptif cevap ile uyarıldıkları bilinmektedir (178-179). Aerobik organizmaların, mutasyonlardan korunabilmeleri ve yaşamlarını devam ettirebilmeleri için DNA onarım enzimlerinin doğru fonksiyon yapmaları mutlaka gereklidir. Düşük düzeylerde oksidatif DNA hasarı minimal hata riski ile etkin bir şekilde onarılabilir. Ancak, DNA onarım enzimleri ve DNA polimeraz'ın oksidatif stres altında hasarlanmaları doğru replikasyon ve transkripsiyon olasılığını azaltmaktadır. DNA'daki oksidatif hasar yaşam ile bağdaşmayan yüksek düzeylere ulaştığında hücre ölümü (apoptoz) veya genotoksik hasarlar gerçekleşmektedir (180-182).

DM'da ilerlemiş glikozillenme ürünlerinin DNA'yı etkilemesiyle, kromozomal değişiklikler, DNA zincirinde kırılmalar, DNA'nın tamirinde, replikasyonunda ve transkripsiyonunda bozukluklar olabilir. Diyabetik hiperglisemilerde olayların hızlanması erken hücre yaşlanması ve ölümünü meydana getirebilir (187). Dandona ve arkadaşları DM hastalarında oksidatif DNA hasarının ve oksidatif DNA hasar ürünlerinden 8-OHdG'in gerek Tip I gerekse Tip II DM hastalarında sağlıklı kontrol grubundan yüksek olduğunu bildirmektedir (188). Yine diyabet oluşturulan rat deney modellerinde oksidatif stres belirteci olarak değerlendirilen 8-OHdG düzeylerinde de artış gözlenmiştir (189). Dinçer ve arkadaşlarının Comet Analiz yöntemiyle Tip I DM hastalarında mononükleer lökosit DNA hasar düzeylerini araştırdıkları çalışmada, Tip I DM hastası kadın ve erkeklerde mononükleer lökosit DNA hasar düzeylerinin sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış olduğunu tespit etmişlerdir (190). Lima ve arkadaşlarının (211) diyabetik ve diyabetik olmayan dişi ratlara ait kan lökositlerindeki DNA hasarını tayin ettikleri çalışmalarında, kontrol grubuna kıyasla diyabet grubunun kuyruk momenti, kuyruk uzunluğu ve kuyruk yoğunluğu değerlerinin anlamlı bir şekilde yüksek olduğu görülmüştür. Kushwaha ve arkadaşları (212) streptozotosine bağlı diyabet oluşturulan ratlarda DNA hasarı ve apoptosize karşı enalaprilin koruyucu etkilerini araştırmışlar ve sadece streptozotosin uygulanan DM grubunun karaciğer, kalp ve böbrek dokularında kuyruk uzunluklarının kontrol grubuna göre çok daha fazla olduğunu comet yöntemi ile ortaya

koymuşlardır. Kushwaha ve arkadaşlarıda (213) ratlarda streptozotosin ile meydana getirilen deneysel diyabetteki germ hücre toksisitesi üzerine Telmisartanın iyileştirici etkisini araştırdıkları çalışmalarında diyabet grubu ratlara ait sperm örneklerinin kuyruk uzunluğu ve kuyruk momentlerinin kontrol grubuna kıyasla artış gösterdiğini belirtmişlerdir. Ayrıca deneysel hayvan çalışmaları dışında diyabetik hastalara ait DNA hasarının comet yöntemi ile aydınlatıldığı araştırmalarda hasarın artan hiperglisemiye paralel olarak yükseldiği bildirilmiştir (214-220).

Tezimizdeki Comet Analiz sonuçlarımız, hasta grubunda DNA hasarını  $8,20 \pm 2,64$  AU, kontrol grubunda DNA hasarı  $6,13 \pm 2,09$  AU olarak bulduk ve hasta grubunda DNA hasarı istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ( $p < 0,001$ ). Sonuç olarak Tip 1 Diabetes mellituslu hastalarda kronik hipergliseminin oksidatif stres belirteçlerinin artmasına ve dolayısı ile DNA hasarına neden olabileceği ifade edilebilir. Diyabetiklerde oksidatif stresi artırması ve DNA hasarının artışı, diyabetik hastalarda gelişen kronik komplikasyonların etyolojisinde rolü olabileceğini düşünmekteyiz.

Tip 1 diyabete bağlı komplikasyonların etyopatogenezinde kötü metabolik kontrole bağlı artmış glikozilasyon ve oksidatif stres ilişkisi iyi bilenen mekanizmalardır. Çalışmamızda glisemik kontrol belirteçleri olan HbA1c ve fruktozaminle; TAS, TOS, OSİ ve DNA hasarını karşılaştırdık. Tip 1 Diabetes Mellitus hastalarında HbA1c ve fruktozamin ile DNA hasarı, TAS, TOS ve OSİ arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptamadık. Bizim çalışmamızdan farklı olarak Dinçer ve arkadaşlarının Comet Analiz yöntemiyle Tip I DM hastalarında mononükleer lökosit DNA hasar düzeylerini araştırdıkları çalışmada, Tip I DM hastası kadın ve erkelerde mononükleer lökosit DNA hasar düzeyininin sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış olduğunu tespit etmişler ve DNA hasarı ile HbA1c düzeyleri arasında pozitif korelasyon bulunmuştur (190). Tip 2 diyabet hastalarında DNA hasarı belirteci olan 8-OHdG düzeyleri ve HbA1c değerleri bakımından karşılaştırılan çalışmada; HbA1c değerleri ile 8-OHdG düzeyleri arasında korelasyon bulunmuştur(201). Matteucci ve arkadaşlarının, tip 1 diyabette oksidatif stresin önemini vurgulayan çalışmalarında yüksek HbA1c düzeyine işaret ederek prooksidan MDA (malondialdehyde) düzeyinde artışa işaret etmişlerdir. Plazma MDA seviyesinin kan glukozu, kreatinin, fibrinojen ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir (227). İnsuline bağlı diyabetli hastalarda yapılan bir başka çalışmada idrarda 8-OHdG, plazmada MDA, GSP ve HbA1c değerleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuş olup; diyabetik grupta idrarda 8-OHdG

düzeyleri ile HbA1c düzeyleri arasında korelasyon saptanmıştır (228). Bizim çalışmamızda parametreler arasında korelasyon saptanmaması olgu sayısının az olmasına ve orta-kötü metabolik kontrole sahip hastalardan oluşmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir ancak oksidatif stresi etkileyen bilinmeyen başka mekanizmaların da rolü olabilir. Bu nedenle tip 1 diyabette oksidatif stres ve bunu etkileyen faktörleri araştıran geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak Tip 1 DM çocukluk yaş grubunda oksidatif stres ve DNA hasarının yüksek olduğunu saptadık. Tip 1 Diabetes mellituslu hastalarda kronik hipergliseminin oksidatif stres belirteçlerinin artmasına ve dolayısı ile DNA hasarına neden olabileceği ifade edilebilir. Diyabetiklerde oksidatif stresi artırması ve dolayısı ile DNA hasarının artışı, diyabetik hastalarda gelişen kronik komplikasyonların etyolojisinde rolü olabileceğini düşünmekteyiz. Fakat çalışmamız vaka kontrol çalışması olması nedeniyle hastaların kontrol edildiği sıradaki durumunu göstermektedir. Bu çocuklarda yapılacak olan uzun izlemli çalışmaların bulgularımızın, prognoz ve tedavide önemli olup olmayacağı konusunda daha fazla bilgi vereceğini düşünüyoruz.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamız sonucunda Tip 1 DM hastalarında total oksidan seviyenin arttığı, total antioksidan kapasitenin azaldığı ve dolayısıyla oksidatif stres indeksinin belirgin düzeyde arttığı saptandı.

Çalışmamız sonucunda Tip 1 DM hastalarında DNA hasarında artış saptandı.

Diyet, diyabet tedavisinin vazgeçilmez bir parçası olup, medikal tedavi ile birlikte yürütülmelidir. Diyetle tedavide diyabetik kişinin çok dikkatli olması gerekmektedir. Diyetle birlikte yeterli enzimatik olmayan antioksidanların (vitaminler) alınması, enzimatik savunma sistemlerine yardımcı olacak ve diyabetin komplikasyonlarının azaltılmasına yardımcı olabileceği kanaatindeyiz.

Kan şeker düzeylerinin normal sınırlara yakın tutulması, antioksidan kapasiteyi artıracığından diyabete bağlı olarak gelişen diyabetik nöropati, kardiyovasküler hastalıklar, retinopati, nefropati, nefrotik sendrom gibi uzun dönemli komplikasyonların zararlı etkilerini azaltabilir ve önleyebilir.

Diyabetin tedavisi için toplum olarak bilgi sahibi olmak, tedaviye bilinçli yaklaşmak, diyabetik kişilerin yaşam kalitelerini olumlu etkileyecek ve kişiye dolayısıyla ülkeye getirecek mali külfeti azaltacaktır.

Elde ettiğimiz sonuçların Tip 1 DM hastalarında oksidan- antioksidan sistem ve DNA hasarı ile ilgili yeni çalışmalara ışık tutacağı kanaatindeyiz.

## KAYNAKLAR

1. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* January 2011; 34: 62-9.
2. Hasselbaink DM, Glatz JFC, Luiken JJFP, Roemen THM, Vusse GJV. Ketone bodies disturb fatty acid handling in isolated cardiomyocytes derived from control and diabetic rats. *Biochem J* 2003; 371: 753-60.
3. Abou-Seif MA, Youssef AA. Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients. *Clin Chim Acta* 2004; 346: 161-70.
4. Horvath I, Donnelly LE, Kiss A et al. Raised levels of exhaled carbon monoxide are associated with an increased expression of heme oxygenase-1 in airway macrophages in asthma: a new marker of oxidative stress. *Thorax* 1998; 53: 668-72.
5. Akkuş, İ., Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza yayınları, Konya, 1995;
6. Cheesman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; 49: 481-93.
7. Langenstroer P, Pieper GM. Regulation of spontaneous EDRF release in diabetic rat aorta by oxygen free radical. *Am J Physiol* 1992; 263: 257-65.
8. Halliwell B., Dizdaroglu M., The measurement of oxidative damage to DNA by HPLC and GC/MS techniques. *Free Radical Res Commun*; 1992; 16: 75-87.
9. Aruoma O.I., Halliwell B., Dizdaroglu M., Iron Ion-Dependent Modification of Bases in DNA by the Superoxide Radical-Generating System Hypoxanthine/Xanthine Oxidase. *J. Biol. Chem.* 1989; 264, 13024-8.
10. Dizdaroglu M., Oxidative Damage to DNA in Mammalian Chromatin. *Mutat. Res.* 1992; 275, 331-42.
11. Pácal L, Varvařovská J, Ruřavý Z, Lacigová S, Stětina R, Racek J, Pomahačová R, Tanhäuserová V, Kaňková K. Parameters of oxidative stress, DNA damage and DNA

- repair in type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Arch Physiol Biochem.* 2011 Oct; 117(4): 222-30.
12. Maritim A, Sanders R & Watkins JB III. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* 2003; 17: 24–38.
  13. Hofer T, Karlsson HL & Moller L. DNA oxidative damage and strand breaks in young healthy individuals: a gender difference and the role of life style factors. *Free Radical Research* 2006; 40: 707–14.
  14. Sperling MA, Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB. *Nelson Textbook of Pediatrics.* 17th Ed., Philadelphia: WB Saunders Company, 2004; 1947-72.
  15. Craig ME, Hattersley A, Donaghue K; International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2006-2007. Definition, epidemiology and classification *Pediatric Diabetes*, 2006; 7(6): 343-51.
  16. Sodeman WA, Sodeman's Pathologic Physiology mechanisms of disease. Çevirenler: V.Cesur, N.Kemal.1.Baskı, Hekimler Birliği Vak. Türkiye Klinikleri yayınevi. Ankara 1992; Cilt 2:55
  17. Hatemi H: Diabetes mellitus tarihçesi. *Aktüel Tıp dergisi* 1996;7:497–9,
  18. Erdoğan G: Diabetes mellitusun tedavisi Bilimsel tıp yayınevi. Ankara 1997; 1. Baskı: 3
  19. Imagawa A, Hanafusa T, Miyagawa J, Matsuzawa Y. A novel subtype of type 1 diabetes mellitus characterize by a rapid onset and an absense of diabetes related antibodies. Osaka IDDM Study Group. *N Eng J Med* 2000; 342: 301-7.
  20. Becker DJ. *Pediatric Endocrinology.* 3th Ed., New York: Marcel Decker inc, 1996; 583-98.
  21. Becker DJ. *Pediatric Endocrinology.* 4th Ed., New York: Marcel Decker inc, 2005; 276-85.
  22. Arslanian S, Drash AL. Insulin dependent diabetes mellitus in the child and adolescent. *Cur Ther Endocrinology Metabolism* 1994; 5(1): 380-4.

23. Warram JH, Rich SS, Krolevski AS. *Epidemiology and Genetics of Diabetes Mellitus*. 13th Ed., Baltimore, 1994: 201-15.
24. Bilginturan N. Tip I Diabet etyopatogenezi. 3. Ulusal Pediatrik Endokrinoloji Kongresi. Adana-Türkiye, 1998; 24-32.
25. Lévy-Marchal C, Patterson C, Green A. Variation by age group and seasonality at diagnosis of childhood IDDM in Europe. *Diabetologia* 1995; 38(7): 523-30.
26. Srikanta S, Ganda OP, Jackson RA, Gleason RE, Kaldany A, Garovoy MR. Type 1 diabetes mellitus in monozygotic twins: chronic progressive beta cell dysfunction. *Ann Intern Med* 1983; 99(3): 320-6.
27. Eisenbarth GS. *Type 1 Diabetes Mellitus*. 14th Ed., USA: Joslin Diabetes Center, 2005: 399-424.
28. Makita Z, Wassara H, Rayfield E. Hemoglobin AGE: a circulation marker of advanced glycosylation. *Science* 1992; 258(5082): 651-3.
29. Khalil I, d'Auriol L; Gobet M, Morin L, Lepage V, Deschamps I, Park MS, Degos L, Galibert F, Hors J. A Combination of HLA-DQ beta Asp 57-negative and HLA-DQ alpha ARG 52 confers susceptibility to insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1990; 85(4): 1315-9.
30. Kyvik KO, Green A, Beck-niesan H. Concordance rates insulin dependent diabetes mellitus: a population based study of young Danish twins. *BMJ* 1995; 311(7010): 913-7.
31. Teziç T. Ulusal Diyabet Programı Çocuk ve adölesan çağı diyabet grubu. Çocukluk ve adölesan çağı tip I diyabet mellit, 1997; 1-89.
32. Tun RY, Peakman M, Alviggi L, Lo SS, Shattock M, Pyke DA, Johnson C, Hearton D, Botazzo GF, Vergani D, Leslie D. Importance of persistent cellular and humoral immune changes before diabetes develops: prospective study of identical twins. *BMJ* 1994; 308(6936): 1063-8.
33. Dahlquist G. Etiological aspects of insulin-dependent diabetes mellitus: an epidemiological perspective. *Autoimmunity* 1993; 15(1): 61-5.

34. Karjalainen JK. Islet cell antibody as predictive markers for IDDM in children with high background incidence of disease. *Diabetes* 1990; 39(9): 1144-50.
35. Palmer JP, Mc Cullah DK. Prediction and prevention of IDDM-1991. *Diabetes* 1991; 40(8): 943-7.
36. Castano L, Ziegler A, Ziegler R, Shoelsen S, Eisenbarth GS. Characterization of insulin autoantibodies in relatives of patients with Type 1 diabetes. *Diabetes* 1993; 42(8): 1202-9.
37. Borg H, Marcus C, Sjoblad S, Frenlund P and Sunkvist G. Islet cell antibody frequency differs from that of glutamic acid decarboxylase antibodies/IA2 antibodies after diagnosis of diabetes. *Acta Pediatr* 2000; 89(1): 46-51.
38. Daw K, Powers AC. Two distinct glutamic acid decarboxylase autoantibody specificities in IDDM target different epitopes. *Diabetes* 1995; 44(2): 216-20.
39. Ujihara N, Daw K, Gianani R, Boel E, Yu L, Powers AC. Identifications of glutamic acid decarboxylase autoantibody heterogeneity and epitope regions in type 1 diabetes. *Diabetes* 1994; 43(8): 968-75.
40. Limbert C, Schwingshandl J, Haas J, Roth R, Borkenstein M. Severe hypoglycemia in young with IDDM: Frequency and associative factors. *J Diabetes Complications* 1993; 7(4):216-20.
41. Atkinson MA, Maclaren NK. The pathogenesis of insulin dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 1994; 331(21): 1428-36.
42. Atkinson MA, Eisenbarth GS. Type 1 diabetes: New perspectives on disease pathogenesis and treatment. *Lancet* 2001; 358(9277): 221-9.
43. Pak CY, Eun HM, Mc Arthur RG, Yoon JW. Association of cytomegalovirus infection with autoimmune type 1 diabetes. *Lancet* 1988; 2(8601): 1-4.
44. Kjaere K, Hagen C, Sando SH, Eshoj O. Epidemiology of menarche and menstrual disturbance in an unselected group of women with IDDM compared to controls. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75(2): 524-9.



45. Saterno M, Argenziano A, Di Maio S, Gasparini N, Formicola S, De Filippo G, Tenore A. Pubertal growth, sexual maturation and final height in children with IDDM. Effects of age at onset and metabolic control. *Diabetes Care* 1997; 20(5): 721-4.
46. Greenfield M, Kolterman O, Olefsky J, Reaven GM. Mechanism of hypertriglyceridemia in diabetic patients with fasting hyperglycemia. *Diabetologia* 1980; 18(6): 441-6.
47. Zanone MM, Favaro E, Quadri R, Miceli I, Giaretta F, Romagnoli R, David E, Perin PC, Salizzoni M, Camussi G. Association of cytomegalovirus infections with recurrence of humoral and cellular autoimmunity to islet autoantigens and of type 1 diabetes in a pancreas transplanted patient. *Transpl Int* 2010; 23(3):333-7.
48. Roe TF, Costin G, Kaufman FR, Carlson ME. Blood glucose control and albuminuria in type-1 diabetes mellitus. *J Pediatr* 1991; 119(2): 178-82.
49. Kostraba JN. What can epidemiology tell USA about the role of infant diet in the etiology of IDDM? *Diabetes Care* 1994; 17(1): 87-91.
50. Paronen J, Vaarala O, Savilahti E, Saukkonen T, Akerblom HK. Soluble adhesion molecules and oral antigen feeding in infants. *Pediatr Res* 1996; 40(2): 276-9.
51. Moordian AD, Morley JE. Micronutrient status in diabetes mellitus *Am. J Clin Nutr* 1987; 45(5): 887-995.
52. Helmke K, Otten A, Williams W. Islet cell antibodies in children with mumps infection. *Lancet* 1980; 2(8187):211-2.
53. The Canadian-European Randomized Control Trial Group: Cyclosporin-induced remission of IDDM after early intervention. *Diabetes* 37:1574–1582,1988
54. Rossini AA, Appel MC, Williams RM, Like AA. Genetic influence of the streptozotocin induced insulinitis and hyperglycemia. *Diabetes* 1977; 26(10): 916-20.
55. Karann C, Levitt P, Young C, Nowlain RE, Frankel BJ, Fujiya H, Freedman ZR, Grodsky GM. Insulinopenic diabetes after rodenticide (vacor) ingestion: a unique model of acquired diabetes in man. *Diabetes*, 1986; 35(9): 1027-33.

56. Genuth SM: Diabetic ketoacidosis and hyperglycemic hyperosmolar coma. *Cur Ther Endocrinol Metab* 1997; 6: 438-47.
57. Güler Ö, Teker Z. Tip I diabetli hastalarda ve diabetik olmayan kardeşlerinde serum leptin düzeyinin kan glukozu, HbA1c, C-peptid ve diğer parametrelerle ilişkisi. Uzmanlık tezi, Ç.Ü.T.F., Adana, 2001.
58. Foster DW, McGarry JD. The metabolic derangements and treatment of diabetic ketoacidosis. *N Eng J Med* 1983; 309(3): 159-69.
59. WHO: Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. Report of a WHO Consultation. Part 1: Diagnosis and Classification. WHO/NCD/NCS/99, 2. 1999. Geneva.
60. Prepared by the Australasian Pediatric Endocrine Group for the Department of Health and Ageing Clinical practice guidelines Type 1 diabetes in children and adolescents 2005;
61. Cohen RM, Snieder H, Lindsell CJ, Beyan H, Hawa MI, Blinko S et al. Evidence for independent heritability of glycation gap (glycosilation gap) Fraction of HbA1c in nondiabetic twins. *Diabetes Care* 2006; 29: 1739-43.
62. Derr R, Garret E, Stacy GA, Saudek CD. Is HbA1c affected by glycemic instability? *Diabetes Care* 2003; 26: 2728-33.
63. Sarıalioğlu F, Varan A, Yazıcı N, Köksöy ÖT. *Pediatric Tanı ve Tedavi*. 20. Baskı. Ankara, Güneş Kitabevi, 2012: 985-8.
64. Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes, Interventions and Complications (DCCT/EDIC) Research Group: Modern-day clinical course of type 1 diabetes mellitus after 30 years' duration. *Arch Intern Med* 2009; 169(14):1307-16.
65. Scrimgeour L, Cobry E, McFann K, Burdick P, Weimer C, Slover R, Chase HP. Improved glycemic control after long-term insulin pump use in pediatric patients with type 1 diabetes. *Diabetes Technol Ther* 2007; 9(5): 421-8.
66. Microvascular and acute complications in IDDM patients: the EURODIAB IDDM Complications Study. *Diabetologia* 1994; 37 (1):95-103.

67. Bereket A. İnsüline Bağımlı Diabetes Mellitus'ta Büyüme ve Puberte. III.Ulusal Pediatrik Endokrinoloji Kongresi. Adana-Türkiye, 21-24 Ekim 1998;
68. Bello FA, Sotos JF. Cerebral oedema in diabetic ketoacidosis in children. *Lancet* 1990; 336(8706): 64-5.
69. Rogers B, Sills I, Cohen M, Seidel FG. Diabetic ketoacidosis. Neurologic collapse during treatment followed by severe developmental morbidity. *Clin Pediatr (Phila.)* 1990; 29(8): 451-6.
70. Neyzi O, Ertuğrul T. *Pediatrici*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 1993: 623–50.
71. Strudwick SK, Carne C, Gardiner J, Foster JK, Davis EA, Jones TW. Cognitive Functioning in Children with Early Onset Type 1 Diabetes and Severe Hypoglycemia. *J Pediatr* 2005; 147(5):680–5.
72. Dahlquist G, Mustonen L. Analysis of 20 years of prospective registration of childhood onset diabetes time trends and birth cohort effects. Childhood Diabetes Study Group. *Acta Paediatr* 2000; 89(10):1231-7.
73. Karavanaki K, Davies AC, Morgan MH, Baum JD. Autonomic function in a cohort of children with diabetes. *J Pediatr Endocrinol Metab* 1997;10(6):599-607.
74. Dahlquist G. Environmental factors and type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2001; 24(1):180-2.
75. Ryan C, Becker D. Hypoglycemia in children with type 1 diabetes mellitus: risk factors, cognitive function, and management. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1999; 28:883-900
76. Gilgor RS, Lazarus GS. Skin manifestations of diabetes mellitus. *Medical Examination Publishing* 1983: 879-93.
77. Saka HN. *Pediatric Endocrinoloji*. Ankara: *Pediatric Endocrinoloji ve Oksoloji Derneği Yayınları*, 2003: 415-57.
78. Wirta O, Pasternack A, Lasppala P. Glomerular filtration rate and kidney size after six years disease duration in non insulin dependent diabetic subjects. *Clin Nephrol* 1996; 45(1): 10-7.

79. Orchard TJ, Dorman JS, Maser RE, Becker DJ, Drash AL, Ellis D, LaPorte RE, Kuller LH. Prevalence of complications in IDDM by sex and duration Pittsburgh Epidemiology of diabetes complications study II: Diabetes 1990; 39(9):1116-24.
80. Clark CM, Lee AD. Prevention and treatment of the complications of diabetes mellitus. New Eng J Med 1995; 15(6):1210-16.
81. Ayodele OE, Alebiosu O, Salako BL. Diabetic nephropathy-a review of the natural history, burden, risk factors and treatment. J Natl Med Assoc 2004; 96(11):1445- 54.
82. Andersan S, Brenner B. Pathogenesis of diabetic glomerulopathy: hemodynamic considerations. Diabetes Metab Rev 1988; 4(2):163-77.
83. Chiarelli F, Verrotti A, Morgesel G: Glomerular hyperfiltration increases the risk of developing microalbuminuria in diabetic children. Pediatr Nephrol 1995; 9(2):154-8.
84. Danne I, Kordonouri O, Hövener G, Weber B. Diabetic angiopathy in children. Diabet Med 1997;14(12):1012-25.
85. Gall M-A, Hougaard P, Borch-Johnsen K, Parving H-H: Risk factors for development of incipient and overt diabetic nephropathy mellitus: prospective, observational study. BMJ 314:783–788, 1997
86. Couper JJ, Larbe CF, Byrne GC, Jones TW, Donaghue KC, Nairn J, Boyce D, Russell M, Stephens M, Raymond J, Bates DJ, McCaul K. Progression of borderline increases in albuminuria in adolescents with IDDM. Diabet Med 1997;14(9):766-71.
87. Janner M, Knill SE, Diem P, Zuppinger KA, Mullis PE. Persistent microalbuminuria in adolescents with type-1 diabetes mellitus is associated to early rather than late puberty, results of a prospective longitudinal study. Eur J Pediatr 1994;153(6):403-8.
88. Amin R, Turner C, van Aken S, Bahu TK, Watts A, Lindsell DR, Dalton RN, Dunger DB. The relationship between microalbuminuria and glomerular filtration rate in young type 1 diabetes subjects: The Oxford Regional Prospective Study. Kidney Int 2005;68(4):1740-9.

89. Mathiensen ER, Ronn B, Storm B, Foght H, Deckert T. The natural course of microalbuminuria in insulin dependent diabetes: a 10 year prospective study. *Diabet Med* 1995;12(6):482-87.
90. Parving H-H, Østerby R, Anderson PW, Hsueh WA: Diabetic nephropathy. In *The Kidney*. 5th ed. Brenner BM, Ed. Philadelphia, Saunders, 1996, p. 1864–1892
91. Veldhuis JD. *Williams Textbook of Endocrinology*. 9th Ed., Philadelphia: W.B. Saunders, 1998: 973-1059.
92. Lakhani E, Wright T, Abdolell M, Westall CA. Insufficient long-term glycemic control is associated with multifocal ERG defects in adolescents with type 1 diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51(10):5297-303.
93. Zhang L, Krzentowski G, Albert A and J. Lefebvre P. Risk of Developing Retinopathy in Diabetes Control and Complications Trial Type 1 Diabetic Patients With Good or Poor Metabolic Control. *Diabetes Care* 2001;24(7):1275-9.
94. Cockburn DM. Diabetic retinopathy: classification, description and optometric management. *Clin Exp Optom* 1999; 82(2-3): 59-73.
95. Heng LZ, Comyn O, Peto T, Tadros C, Ng E, Sivaprasad S, Hykin P. Diabetic retinopathy: pathogenesis, clinical grading, management and future developments. 1996;6(3):164-72.
96. Falck A, Laatikainen L. Diabetic cataract in children. *Acta Ophthalmol Scand* 1998;76(5):238-40.
97. Heesom AE, Millward A, Demaine AG. Susceptibility to diabetic neuropathy in patients with insulin dependent diabetes mellitus is associated with polymorphism at the 5' end of the aldose reductase gene. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998;64(2):213-6.
98. Boggetti E, Calori G, Meschi F, Macellaro P, Bonfanti R, Chiumello G. Microvascular complications in young type I diabetic patients: role of puberty. *J Pediatr Endocrinol Metab* 1997; 10(6):587-92.

99. McCall A, Figlewicz D. How does diabetes mellitus produce brain dysfunction? *Diabetes Spectrum* 1997;10(1):25–31.
100. Martin LJ. DNA Damage and Repair: Relevance to Mechanisms of Neurodegeneration. *J Neuropathol Exp Neurol* 2008; 67(5): 377-87.
101. Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Ünsal-Kaçmaz K, Linn S. Molecular mechanisms of Mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. *Annu Rev Biochem* 2004; 73: 39-85
102. Watson J.D. and Crick F.H.C. "A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid". *Nature* 1953; 171: 737–8.
103. Berg J., Tymoczko J. and Stryer L. *Biochemistry*. W. H. Freeman and Company 2002; ISBN 0-7167-4955-6.
104. Venter J, et al. "The sequence of the human genome". *Science* 2001; 297: 1304–51.
105. Douki T, Reynaud-Angelin A, Cadet J, Sage E "Bipyrimidine photoproducts rather than oxidative lesions are the main type of DNA damage involved in the genotoxic effect of solar UVA radiation". *Biochemistry* 2003; 42 (30): 9221–6.
106. Cadet J, Delatour T, Douki T, Gasparutto D, Pouget J, Ravanat J, Sauvaigo S "Hydroxyl radicals and DNA base damage". *Mutat Res* 1999; 424 (1–2): 9–21.
107. Shigenaga M, Gimeno C, Ames B "Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a biological marker of in vivo oxidative DNA damage". *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86 (24): 9697–701.
108. Cathcart R, Schwiers E, Saul R, Ames B "Thymine glycol and thymidine glycol in human and rat urine: a possible assay for oxidative DNA damage". *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81 (18): 5633–7.
109. Valerie K, Povirk L "Regulation and mechanisms of mammalian double-strand break repair". *Oncogene* 2003; 22 (37): 5792–812.

110. Van den Akker E, Lutgerink JT, Laqueur MVM, Joenje H. Retel J. *Mutat. Res.* 1994; 309: 45–52.
111. Steenken S. Purine bases, nucleosides, and nucleotides: aqueous solution redox chemistry and transformation reactions of their radical cations and e- and OH adducts. *J. Chem. Rev.* 1989; 89(24): 503–20.
112. Halliwell B, Dizdaroglu M. Free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *J. Free Radical Res.* 1992; 16: 75–87.
113. Yanik M, Erel O, Kati M. The relationship between potency of oxidative stress and severity of depression. *Acta Neuropsychiatr.* 2004;16: 200-3.
114. Berliner JA, Heinecke JW. The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. *Free Radic Biol Med.* 1996; 20: 707-27.
115. Omar BA, Mc Cord JM. Interstitial equilibration of superoxide dismutase correlates with its protective effect in the isolated rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol.* 1991; 23: 149-59.
116. Asami S, Manabe H, Miyake J, Tsurudome Y, Hirano T, Yamaguchi R, Itoh H, Kasai H. Cigarette Smoking induces an increase in oxidative damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in a central site of the human lung. *Carcinogenesis.* 1997; 18-1763-6.
117. Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutr.* 1996; 16: 33-50.
118. Kuppusamy UR, Dharmani M, Kanthimathi MS, Indran M. Antioxidant enzyme activities of human peripheral blood mononuclear cells exposed to trace elements. *Biol Trace Elem Res.* 2005;106: 29–40.
119. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* 1995; 41: 1819–28.
120. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.* 1993; 49: 479–80.

121. Meister A. Glutathione, ascorbate, and cellular protection. *Cancer Res.*1994; 54(7 Suppl):1969-75.
122. Southorn P, Powis G. Free radical in medicine I. Chemical nature and biological reactions. *J. Mayo Clin. Proc.* 1988; 63(3): 381–8.
123. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp dergisi.* 2002; 33(2): 110-8.
124. McCord JM: Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem.* 1993; 26: 351–7.
125. Ripine JE, Bast A, Lankharst. Lipids and The Oxidative Strees Study Group: Oxidative stres in chronic obstructive pulmonary disease. *J Respir Crit Care Med.* 1997; 156: 341–7.
126. Asad SF, Singh S, Ahmad A et al. Prooxidant and antioxidant activities of bilirubin and its metabolic precursor biliverdin: a structure-activity study. *Chem Biol Interact,* 2001; 137: 59- 74.
127. Halliwell B. Vitamin C: antioxidant or pro-oxidant in vivo? *Free Radic Res.* 1996;25: 439-54.
128. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids. A report of the panel on dietary antioxidants and related compounds, subcommitees on upper reference levels of nutrients and interpretation and uses of dietary reference intakes. Washington DC. National Academy Press. 2000; 1-506.
129. Chaudiere J, Ferrari-Iliou R. Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. *Food Chem Toxicol.*1999; 37: 949-62.
130. Gutteridge JMC, Halliwell B. *Antioxidants in nutrition, health and disease.* 1st ed. New York. Oxford University Press. 1994. Sayfa no
131. Buonocore G, Perrone S, Bracci R. Free radicals and brain damage in the newborn. *Biol Neonate.* 2001; 79: 180-6.



132. Buhimschi IA, Buhimshi CS, Pupkin M et al. Beneficial impact of term labor: nonenzymatic antioxidant reserve in the human fetus. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;189: 181-8.
133. Scandalios JG: The rise of ROS. *TRENDS in Biochemical Sciences.* 2002; 27: 483-6.
134. Akkuş I. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya; Mimoza yayınları, 1995; 42-5.
135. Zhao J, Liu XJ, Ma JW et al. DNA damage in healthy term neonate. *Early Hum Dev.* 2004; 77: 89-98.
136. Fang Y-Z, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition.* 2002; 18: 872-9.
137. Rose RC, Bode AM. Biology of free-radical-scavengers- an evaluation of ascorbat. *FASEB J.*1993; 7: 1135-42.
138. Carr A, Frei B. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? *FASEB J.* 1999; 13: 1007-24.
139. Suh J, Zhu BZ, Frei B. Ascorbate does not act as apro-oxidant toward lipids and proteins in human plasma exposed to redox-active transition metal ions and hydrogen peroxide. *Free Radic Biol Med.* 2003; 34: 1306-14.
140. Notrhop-Clewes CA, Thurnham DI. Monitoring micronutrients in cigarette smokers. *Clinica Chimica Acta.* 2007; 377: 14-38.
141. Chow CK. Vitamin C and cigarette smoke exposure. In: Packer L, Fuchs J, editors. *Vitamin C in health and disease.* New York: Marcel Dekker Inc. 1997; 413-24.
142. Makarov VG, Makarova M, Selezneva AI. Studying the mechanism of antioxidant effect of vitamins and flavonoids. *Vopr Pitan.* 2005; 74: 10-3.
143. Burton G, Traber M. Antioxidants action of carotenoids. *J. Nutr.* 1989; 119: 109-11.
144. Polidori MC, Stahl W, Eichler O, Niestroj I, Sies H: Profiles of antiosidants in human plasma. *Free Radic Biol Med.* 2001; 30(5): 456–62.

145. Serafini M, Del Rio D Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool Redox Report 2004; 9(3): 145-52.
146. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. Clinical Biochemistry, 2004; 277– 85.
147. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. Clin Biochem., 2005; 38(12): 1103-11.
148. Harma M, Harma M, Erel O. Oxidative stress in women with preeclampsia. Am J Obstet Gynecol, 2005; 192: 656-7.
149. Singh NP, Danner DB, Tice RR, Pearson JB, Brant LJ, Schneider EL. DNA damage and repair with age in individual human lymphocytes. J. Mutat Res.1990; 237(8): 123-30.
150. Ostling O, Johanson KJ. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. Biochem Biophys Res Commun 1984; 123(11): 291-8.
151. Jaruga P, Birincioglu M, Rodriguez H, Dizdaroglu M. Mass spectrometric assays for the tandem lesion 8,5-cyclo-2-deoxyguanosine in mammalian DNA. J. Biochemistry 2002; 41(1): 73-88.
152. Kocyigit A, Keles H, Selek S, Guzel S, Celik H, Erel O. Increased DNA damage and oxidative stress in patients with cutaneous leishmaniasis. J. Mutation Research 2005; 124 (5): 47-59.
153. Demirbag R, Yilmaz R, Gur M, Kocyigit A, Celik H, Guzel S, Selek S. Lymphocyte DNA damage in patients with acute coronary syndrome and its relationship with severity of acute coronary syndrome J. Mutation Research 2005; 135(4): 22-35.
154. Walter, R.M., Uriu-Hare, J.Y., Olin, K.L., Copper, zinc, manganese, magnesium status and complications of diabetes mellitus. Diabetes care, 1991; 14: 1050-6.

155. Seghrouchni, I., Draï, J., Bannier, E., Riviere, J., Calmard, P., Garcia, ve diğeri  
Oxidative stress parameters in type I, type II and insulin-treated type-2 diabetes mellitus;  
insulin treatment efficiency. *Clinica chimica acta*, 2002; 321(1-2): 89-96.
156. Phillips, M., Cataneo, R.N., Cheema, T., Greenberg, J., Increased breath biomarkers of  
oxidative stress in diabetes mellitus. *Clinica chimica acta*, 2004; 344: 189-94.
157. Horvath I, Donnelly LE, Kiss A et al. Combined use of exhaled hydrogen peroxide and  
nitric oxide in monitoring asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;158: 1042-6.
158. Vural H, Uzun K, Erel U. Antioxidant status and lipid peroxidation in asthma. *Solunum  
Hastalıkları* 1999; 10: 77-83.
159. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Konya: Mimoza Yayınları 1995;  
19: 85-99.
160. Alper, G. Diyabet. Onat T, Emerk, K, Sözmen E.Y., İnsan Biyokimyası Ankara, Palme  
Yayıncılık 2002;248-57.
161. Ostenson, C.G. The pathophysiology of type 2 diabetes mellitus: an overview. *Acta  
Physiologica Scandinavica*. 2001; 171: 241– 7.
162. Memisogullari, R., Taysi, S., Bakan, E., Capoglu, I., Antioxidant Status and Lipid  
Peroxidation in Type II Diabetes Mellitus. *Cellular Biochemical Functions* 2003; 21: 291-  
6.
163. Memişoğulları, R., Bakan, E., Levels of ceruloplasmin, transferrin, and lipid  
peroxidation in the serum of patients with Type 2 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes  
and Its Complications*. 2004; 18: 193–7.
164. Baydaş, G., Karataş, F., Gürsu, M.F., Bozkurt, A., İlhan, N., Yaşar, A., ve diğeri  
Antioxidant vitamin levels in term and preterm infants and their relation to maternal  
vitamin status. *Archives of medical research*, 2002; 33: 276-80.
165. Maritim, A.C., Sanders, R.A., Watkins, J.B., Diabetes, oxidative stress and antioxidants:  
review. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 2003; 17(1): 4-38.

- 166.** Woods, J.R., Plessinger, M.A., Miller, R.K. Vitamins C and E: missing links in preventing premature rupture of membranes. *American journal of obstetrics and gynecology*, 2001; 185: 5-10.
- 167.** Evans, J.L., Goldfine, I.D., Maddux, B.A., Grodsky, G.M., Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and cell dysfunction. *Diabetes*, 2003; 52: 1-8.
- 168.** Aragno, M., Tamagno, E., Gatto, V., Brignardello, E., Parola, S., Danni, O., ve diğeri, Dehydroepiandrosterone protects tissues of streptozotocin-treated rats against oxidative stress. *Free radical biology and medicine*, 1999; 26(11/12): 1467-74.
- 169.** Minnet C. Çocukluk çağında B12 vitamin eksikliğinin oksidan antioksidan sistem ve DNA hasarı ile ilişkisi. Uzmanlık tezi, 2006;
- 170.** Romay C, Pascual C and Lissi EA. The reaction between ABTS radical cation and antioxidants and its use to evaluate the antioxidant status of serum samples. *Braz J Med Biol Res*, 1996; 29: 175-83.
- 171.** Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *J. Clinical Biochemistry*, 2004; 37: 112-9.
- 172.** Kuyvenhoven JP, Meinders AE (1999) Oxidative stress and diabetes mellitus, Pathogenesis of long-term complications. *European Journal of Internal Medicine* 10(1), 9-19.
- 173.** Sanders SP, Zweier JL, Harrison SJ, Trush MA, Rembish SJ, Liu MC. Spontaneous oxygen radical production at sites of antigen challenge in allergic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 1725-33.
- 174.** Cadet J, Douki T, Gasparutto D, Ravanat J-L. Oxidative damage to DNA: Formation, measurement and biochemical features. *Mutat Res*, 2003; 531: 5-23.
- 175.** Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: Mechanisms, mutation, and disease. *Faseb J*, 2003; 17: 1195-214.

- 176.** Evans MD, Cooke MS. Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. *BioEssays*, 2004; 26: 533-42.
- 177.** Halliwell B. Oxygen and nitrogen are pro-carcinogens. Damage to DNA by reactive oxygen, chlorine and nitrogen species: Measurement, mechanism and the effects of nutrition. *Mutat Res*, 1999; 443: 37-52.
- 178.** McCoy R.N., Hill K E, Ayon M A, Stein J H, Burk R F. Oxidant stress following renal ischemia: Changes in the glutathione redox ratio. *Kidney Int* 1988; 33: 8127-8.
- 179.** Shacter E. Protein oxidative damage. *Methods Enzymol* 2000; 319: 428-36.
- 180.** Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd ed. Oxford University Press. Inc, London 1999;
- 181.** Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Letters* 1991; 281: 9-19.
- 182.** Winyard PG, Perrett D, Blake DR, Harris G, Chipman JK. Measurement of DNA oxidation products. *Anal Proceedings* 1990; 27: 224- 7.
- 183.** Li Y, Trush MA. Reactive O<sub>2</sub>-dependent DNA damage resulting from the oxidation of phenolic compounds by a copper-redox cycle mechanism. *Cancer Res* 1994; 54: 1895-6.
- 184.** J.Cole, T.R. Skopek, international commission for protection against environmental mutagens and carcinogens. Working paper no.3. Somatic mutant frequency, mutation rates and mutational spectra in the human population in vivo, *Mutant. Res.* 1994; 304: 33-105.
- 185.** Collins A.R., *The Comet Assay for DNA Damage and Repair Principles, Applications, and Limitations*. *Molecular Biotechnology* Volume 2004; (26): 249-61.
- 186.** Anderson D., Yu T.-W., Wright J., Ioannides C., An examination of DNA strand breakage in the comet assay and antioxidant capacity in diabetic patients *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, Volume 398, Number 1998; 1(28): 151-61.

187. Türkmen F., Akkuş İ., Büyükbaş S., ve ark. Diabetes Mellitus'da Biyokimyasal Değişiklikler ve Komplikasyonlar. Türkiye Klinikleri. 1990; 10(1): 1-10
188. Dandona P., Thuru K., Cook S., et al., Oxidative damage to DNA in diabetes mellitus. Lancet; 1996; 347: 444–5.
189. Ihara Y., Toyokuni S., Uchida K., et al., Hyperglycemia causes oxidative stress in pancreatic  $\beta$  cells of GK rats , a model of type 2 diabetes. Diabetes 1999; 48(4): 927-32.
190. Dinçer, Y., Akçay, T., İlkova, H., Alademir, Z. ve Ozbay, G., DNADamage and Antioxidant Defense in Peripheral Leukocytes of Patients with Type I Diabetes Mellitus. Mutat. Res., 2003; 527: 49-55.
191. Zaccardi F, Pitocco D, Ghirlanda G. Glycemic risk factors of diabetic vascular complications: the role of glycemic variability. Diabetes Metab Res Rev 2009; 25:199-207.
192. Bry L, Chen PC, Sacks DB. Effects of hemoglobin variants and chemically modified derivatives on assays for glycohemoglobin [review]. Clin Chem 2001;47:153–63
193. Zachrisson I, Wallensteen M, Dahlquist G. Determinants of blood glucose variability in adolescents with insulin dependent Diabetes Mellitus. Acta Paediatr 1995; 84: 70-4.
194. Sinclair, J. A. Free radical mechanisms and vascular complications of diabetes mellitus. Diabet. Rev. 2:7–10; 1993
195. DCTT Research group: The relationship of a glycemic exposure (HbA1c) to the risk of development and progression of retinopathy in the Diabetes Control and Complications Trial. Diabetes 1995; 44: 968-83.
196. Quagliaro L, Piconi L, Assaloni R, Martinelli L, Motz E, Ceriello A. Intermittent highm glucose enhances apoptosis related to oxidative stres in human umbilical vein endothelial cells; the role of protein kinase C and NAD(P)-H-oxidase activation.Diabetes 2003; 52: 2795-804.

- 197.** Risso A, Mercuri F, Qualiario L, Damante G, Ceriello A. Intermittent high glucose enhances apoptosis in human umbilical vein endothelial cells in culture. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 281: 924-30.
- 198.** Davi G, Chiarelli F, Santilli F, Pomilio M, Vigneri S, Falco A et al. Enhanced lipid peroxidation and platelet activation in the early phase of Type 1 Diabetes mellitus, role of interleukin-6 and disease duration. *Circulation* 2003; 107:3199-203.
- 199.** Flores L, Rodela S, Abian J, Claria J, Esmatjes E. F2 isoprostane is already increased at the onset of diabetes mellitus: effect of glycemic control. *Metabolism* 2004; 53: 1118-20.
- 200.** Dong QY, Cui Y, Chen L, Song J, Sun L Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine levels in diabetic retinopathy patients. *Eur J Ophthalmol.* 2008; 18(1): 94-8.
- 201.** Dave GS, Kalia K. Hyperglycemia induced oxidative stress in type-1 and type-2 diabetic patients with and without nephropathy. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand).* 2007 May 30; 53(5): 68-78.
- 202.** Maxwell SR, Thomason H, Sandler D, Leguen C, Baxter MA, Thorpe GH, Jones AF, Barnett AH. Antioxidant status in patients with uncomplicated insulin-dependent and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Eur J Clin Invest.* 1997 Jun;27(6):484-90.
- 203.** Ceriello A, Bortolotti N, Pirisi M, Crescentini A, Tonutti L, Motz E, Russo A, Giacomello R, Stel G, Taboga C. Total plasma antioxidant capacity predicts thrombosis-prone status in NIDDM patients. *Diabetes Care.* 1997 Oct;20(10):1589-93.
- 204.** Valabhji J, McColl AJ, Richmond W, Schachter M, Rubens MB, Elkeles RS. Total antioxidant status and coronary artery calcification in type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2001 Sep;24(9):1608-13.
- 205.** Vantuyghem MC, Balduyck M, Zerimech F, Martin A, Douillard C, Bans S, Degand PM, Lefebvre J. Oxidative markers in diabetic ketoacidosis. *J Endocrinol Invest.* 2000 Dec;23(11):732-6.

- 206.**Merzouk S, Hichami A, Madani S, Merzouk H, Berrouiguet AY, Prost J, Moutairou K, Chabane-Sari N, Khan NA. Antioxidant status and levels of different vitamins determined by high performance liquid chromatography in diabetic subjects with multiple complications. *Gen Physiol Biophys.* 2003 Mar;22(1):15-27.
- 207.**Halifeoğlu İ, Karataş F, Çolak R, Canatan H, Telo S Tip II diyabetik hastalarda tedavi öncesi ve tedavi sonrası oksidan ve antioksidan durum. *Fırat Tıp Derg,* 2005 10(3), 117-122.
- 208.**Sundaram RK, Bhaskar A, Vijayalingam S, Viswanathan M, Mohan R, Shanmugasundaram KR. Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus with and without complications. *Clin Sci (Lond).* 1996 Apr;90(4):255-60.
- 209.** Soliman GZ. Blood lipid peroxidation (superoxide dismutase, malondialdehyde, glutathione) levels in Egyptian type 2 diabetic patients. *Singapore Med J.* 2008 Feb;49(2):129-36.
- 210.** Abou-Seif MA, Youssef AA. Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients. *Clin Chim Acta.* 2004 Aug 16;346(2):161-70.
- 211.** Lima PH, Damasceno DC, Sinzato YK, de Souza Mda S, Salvadori DM, Calderon Ide M, Rudge MV. Levels of DNA damage in blood leukocyte samples from non-diabetic and diabetic female rats and their fetuses exposed to air or cigarette smoke. *Mutat Res.* 2008 May 31;653(1-2):44-9.
- 212.** Kushwaha S, Vikram A, Jena GB. Protective effects of enalapril in streptozotocin-induced diabetic rat: studies of DNA damage, apoptosis and expression of CCN2 in the heart, kidney and liver. *J Appl Toxicol.* 2012 Sep;32(9):662-72.
- 213.** Kushwaha S, Jena GB. Telmisartan ameliorates germ cell toxicity in the STZ-induced diabetic rat: studies on possible molecular mechanisms. *Mutat Res.* 2013 Jul 4;755(1):11-23.
- 214.** Hannon-Fletcher MP, O'Kane MJ, Moles KW, Weatherup C, Barnett CR, Barnett YA. Levels of peripheral blood cell DNA damage in insulin dependent diabetes mellitus human subjects. *Mutat Res.* 2000 Jun 30;460(1):53-60.



- 215.** Sardaş S, Yilmaz M, Oztok U, Cakir N, Karakaya AE. Assessment of DNA strand breakage by comet assay in diabetic patients and the role of antioxidant supplementation. *Mutat Res.* 2001 Feb 20;490(2):123-9.
- 216.** Pitozzi V, Giovannelli L, Bardini G, Rotella CM, Dolara P. Oxidative DNA damage in peripheral blood cells in type 2 diabetes mellitus: higher vulnerability of polymorphonuclear leukocytes. *Mutat Res.* 2003 Aug 28;529(1-2):129-33.
- 217.** Blasiak J, Arabski M, Krupa R, Wozniak K, Zadrozny M, Kasznicki J, Zurawska M, Drzewoski J. DNA damage and repair in type 2 diabetes mellitus. *Mutat Res.* 2004 Oct 4;554(1-2):297-304.
- 218.** Choi SW, Benzie IF, Lam CS, Chat SW, Lam J, Yiu CH, Kwan JJ, Tang YH, Yeung GS, Yeung VT, Woo GC, Hannigan BM, Strain JJ. Inter-relationships between DNA damage, ascorbic acid and glycaemic control in Type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med.* 2005 Oct;22(10):1347-53.
- 219.** Sliwinska A, Blasiak J, Kasznicki J, Drzewoski J. In vitro effect of gliclazide on DNA damage and repair in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM). *Chem Biol Interact.* 2008 Jun 17;173(3):159-65.
- 220.** Kasznicki J, Kosmowski M, Sliwinska A, Mrowicka M, Stanczyk M, Majsterek I, Drzewoski J. Evaluation of oxidative stress markers in pathogenesis of diabetic neuropathy. *Mol Biol Rep.* 2012 Sep;39(9):8669-78.
- 221.** Ceriello A, Falletti E, Motz E, Taboga C, Tonutti L, Ezzol Z et al. Hyperglycemia-induced circulating ICAM-1 increase in diabetes mellitus: the possible role of oxidative stress. *Horm Metab Res* 1998; 30(3):146-149.
- 222.** Cominacini L, Fratta PA, Garbin U, Campagnola M, Davoli A, Rigoni A et al. E-selectin plasma concentration is influenced by glycaemic control in NIDDM patients: possible role of oxidative stress. *Diabetologia* 1997; 40(5):584-589.
- 223.** Nappo F, Esposito K, Cioffi M, Giugliano G, Molinari AM, Paolisso G et al. Postprandial endothelial activation in healthy subjects and in type 2 diabetic patients: role of fat and carbohydrate meals. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39(7):1145-1150.
- 224.** Esposito K, Nappo F, Marfella R, Giugliano G, Giugliano F, Ciotola M et al. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress. *Circulation* 2002; 106(16):2067-2072.
- 225.** Marfella R, Quagliario L, Nappo F, Ceriello A, Giugliano D. Acute hyperglycemia induces an oxidative stress in healthy subjects. *J Clin Invest* 2001; 108(4):635-636.

- 226.** Williams SB, Goldfine AB, Timimi FK, Ting HH, Roddy MA, Simonson DC et al. Acute hyperglycemia attenuates endothelium-dependent vasodilation in humans in vivo. *Circulation* 1998; 97(17):1695-1701.
- 227.** Matteucci E, Giampietro O. Oxidative stress in families of type 1 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2000 Aug;23(8):1182-6.
- 228.** Goodarzi MT, Navidi AA, Rezaei M, Babahmadi-Rezaei H. Oxidative damage to DNA and lipids: correlation with protein glycation in patients with type 1 diabetes. *J Clin Lab Anal*. 2010;24(2):72-6..