

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

**TİP-1 DİABETES MELLİTUS'LU HASTALARDA SERUM S100B**  
**PROTEİN DÜZEYİ VE TOTAL OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN**  
**KAPASİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**  
**Dr. Emine Semra KÜÇÜK**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Doç. Dr. Ali ATAŞ**

**ŞANLIURFA**  
**2015**

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

**TİP-1 DİABETES MELLİTUS'LU HASTALARDA SERUM S100B  
PROTEİN DÜZEYİ VE TOTAL OKSİDAN VE ANTIOKSİDAN  
KAPASİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**  
**Dr. Emine Semra KÜÇÜK**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Doç. Dr. Ali ATAŞ**

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinatörlüğü tarafından  
20.08.2014/14097 tarih ve protokol numara ile desteklenmiştir.

**ŞANLIURFA**  
**2015**

## TEŞEKKÜR

İhtisasım süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, hoşgörü ve yardımlarını esirgemeyen başta Doç. Dr. Ali ATAŞ olmak üzere değerli hocalarım;

Doç. Dr. Alpay ÇAKMAK, Doç. Dr. Mustafa ÇALIK, Doç. Dr. Bülent KOCA, Doç. Dr. Kabil SHERMATOV, Yrd. Doç. Dr. Mahmut ABUHANDAN, Yrd. Doç. Dr. Mahmut DEMİR 'e saygı ve şükranlarımı sunarım.

Bana ihtisasımı ve hekimliği sevdiren üzerimde sonsuz emeği olan değerli hocam Prof. Dr. Dost ZEYREK' e saygı ve şükranlarımı sunarım.

İhtisasım süresince aynı çalışma ortamını paylaştığım ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, çok sevgili asistan arkadaşlarıma ve tüm çalışma ekibime teşekkürlerimi sunarım.

Yaşamım boyunca karşılıksız sevgi ve desteğini hep yanımda hissettiğim, bugünlere gelmemin sebebi aileme, varlığıyla hayatımı daha anlamlı kılan hayat arkadaşım; Dr. Engin ÖZTÜRK'e sevgilerimi ve şükranlarımı sunarım.

**Dr. Emine Semra KÜÇÜK**

## İÇİNDEKİLER

## SAYFA NO

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
ŞEKİLLER DİZİNİ	V
TABLO DİZİNİ	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR	VII
ÖZET	IX
ABSTRACT	XI
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2. 1. Tip 1 Diabetes Mellitus	3
2. 1. 1. Tarihçe	3
2. 1. 2. Tanım	3
2. 1. 3. Epidemiyoloji	4
2. 1. 4. Etyopatogenez	5
2. 1. 5. Patofizyoloji	7
2. 1. 6. Tip 1 Diabetes Mellitus'un Gelişim Evreleri	8
2. 1. 7. Tip 1 Diabetes Mellitus'ta Klinik Belirtiler ve Bulgular	9
2. 1. 8. Tanı	9
2. 1. 9. Glukozillenmiş Hemoglobin (HbA1c)	11
2. 1. 10. Tedavi	12
2.1.10.1. İnsülin Tedavisi	12
2.1.10.2. Diyet Tedavisi	13
2.1.10.3. Egzersiz	13
2. 1. 11 Diyabetli Hastanın Metabolik Kontrolü	13
2. 1. 12. Tip 1 Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları	13
2. 1. 12. 1. Tip 1 Diabetes Mellitus'un Akut Komplikasyonları	15
2. 1. 12. 1. 1. Diyabetik Ketoasidoz(DKA)	15
2. 1. 12. 1. 2. Beyin Ödemi	16
2. 1. 12. 1. 3. Serebral Tromboz	16
2. 1. 12. 1. 4. Hipoglisemi	16

2. 1. 12. 1. 5. İnfeksiyona Eğilim	17
2. 1. 12. 1. 6. İnsülin Allerjisi	17
2. 1. 12. 2. Tip 1 Diabetes Mellitus'da Subakut Komplikasyonlar	18
2. 1. 12. 2. 1. Lipodistrofi	18
2. 1. 12. 2. 2. Büyüme Geriliği	18
2. 1. 12. 2. 3. Pubertal Gelişim ve Menstruasyon Bozukluğu	18
2. 1. 12. 2. 4. Hiperlipidemi	18
2. 1. 12. 3. Tip 1 Diabetes Mellitus'da Kronik Komplikasyonlar	19
2. 1. 12. 3. 1. Diyabetik Nefropati	19
2. 1. 12. 3. 2. Diyabetik Retinopati	20
2. 1. 12. 3. 3. Diyabetik Nöropati	21
2. 1. 13. Tip 1 Diabetes Mellitus'un Merkezi Sinir Sistemi Üzerine Etkileri	21
2. 1. 14. Tip 1 Diabetes Mellitus'lu Çocuklarda Kognitif Fonksiyonlar	21
2. 2. S-100 Proteinleri	23
2. 2. 1. S-100 Proteinlerinin İntrasellüler Aktiviteler	25
2. 2. 2. S-100 Proteinlerinin Ekstrasellüler Aktiviteleri	26
2. 3. Oksidatif Stres ve Total Antioksidan Sistem	30
2. 3. 1. Serbest Oksijen Radikalleri	31
2. 3. 1. 1. Superoksit Radikal	31
2. 3. 1. 2. Hidrojen Peroksit	32
2. 3. 1. 3. Hidroksil Radikali	32
2. 3. 1. 4. Singlet Oksijen	32
2. 3. 2. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri	33
2. 3. 2. 1. Membranların Lipid Peroksidasyonu	33
2. 3. 2. 2. Proteinlerin Oksidatif Modifikasyonu	34
2. 3. 2. 3. Karbonhidratlara Etkileri	35
2. 3. 2. 4. Total Oksidan Durum (TOS)	35
2. 3. 3. Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Savunma Mekanizmaları	35
2. 3. 3. 1. Antioksidan Sistemler	35
2. 3. 3. 1. 1. Enzimatik Antioksidanlar	37
2. 3. 3. 1. 1. 1. Superoksit Dismutaz (SOD)	37
2. 3. 3. 1. 1. 2. Katalaz (CAT)	37
2. 3. 3. 1. 1. 3. Glutasyon Peroksidaz (GPX)	37
2. 3. 3. 1. 1. 4. Glutasyon-S-Transferazlar (GST)	38

2. 3. 3. 1. 1. 5. Glutasyon Reduktaz (GR)	38
2. 3. 3. 1. 1. 6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz	38
2. 2. 3. 1. 2. Nonenzimatik Antioksidan Savunma Sistemleri	38
2. 3. 3. 1. 2. 1. Glutasyon (GSH)	38
2. 3. 3. 1. 2. 2. Vitamin C (Askorbik Asit)	39
2. 3. 3. 1. 2. 3. Vitamin E (Tokoferol)	39
2. 3. 3. 1. 2. 4. Vitamin A (Beta Karoten)	39
2. 3. 3. 1. 2. 5. Seruloplazmin	39
2. 3. 3. 2. Total Antioksidan Sistem (TAS)	40
2. 3. 4. Oksidatif Stres	40
3. MATERYAL VE METOT	41
3. 1. Hasta Grubu ve Çalışma Protokolü	41
3. 2. Kan Örnekleri	41
3. 3. S100B Protein Düzeyi Ölçümü	42
3. 4. Total Antioksidan Seviye	42
3. 5. Total Oksidan Seviye	42
3. 6. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)	42
3. 7. Yapılan İstatistiksel Analizler	43
4. BULGULAR	44
5. TARTIŞMA	49
6. SONUÇ	53
KAYNAKLAR	54

<b>Şekil-1:</b> Serebral ve ekstraserebral S100B salınımı ve üriner atılımı	24
<b>Şekil-2:</b> S100 proteinlerinin sekonder yapısı. Kalsiyum bağlama bölgeleri (L1-L2) ve tersiyer yapıda katlanacak olan heliksler	25
<b>Şekil-3:</b> S100B proteinin ekstraselüller alanda etkileri	26
<b>Şekil-4:</b> S100B'nin ekstraselüller alandaki konsatrasyona bağlı olarak nöronlardaki etki mekanizmasının şematik görünümü	27
<b>Şekil-5:</b> Serbest radikallerin hasar oluşturma mekanizmaları	33
<b>Şekil-6:</b> Hasta- Kontrol grubunun TOS değerleri	46
<b>Şekil-7:</b> Hasta- Kontrol grubunun TAS değerleri	46
<b>Şekil-8:</b> Hasta- Kontrol grubunun OSİ değerleri	47
<b>Şekil-9:</b> Hasta- Kontrol grubunun S100B değerleri	47

<b>Tablo-1:</b> Otoimmün Olayın Başlamasında Rol Oynayan Mekanizmalar	6
<b>Tablo-2:</b> Yabancı Antijen ile Pankreatik Antijenlerin Benzerliğine Örnekler	6
<b>Tablo-3:</b> Diabetes Mellitusda Tanı Kriterleri	10
<b>Tablo-4:</b> Bozulmuş Açlık Glisemisi ve Glukoz Tolerans Bozukluğu Tanı Kriterleri	10
<b>Tablo-5:</b> Yaşa Göre Hedeflenen HbA1c	11
<b>Tablo-6:</b> HbA1c değerlerine göre metabolik kontrol sınıflandırılması	12
<b>Tablo-7:</b> Tip 1 Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları	14
<b>Tablo-8:</b> Beyine özgü proteinlerin biyokimyasal özellikleri ve hücre içi fonksiyonları	23
<b>Tablo-9:</b> Beyine özgü proteinlerin biyokimyasal özellikleri ve hücre içi fonksiyonları	28
<b>Tablo-10:</b> Hasta grubu ile kontrol grubunun sosyodemografik verileri	44
<b>Tablo-11:</b> Hasta grubunun maruziyet, glukoz, fruktozamin, HbA1c verileri(ortalama, standart deviasyon, minimum-maximum değerleri)	45
<b>Tablo-12:</b> Hasta ve kontrol grubunda TOS, TAS, OSİ, S100B verileri	45



## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>AAH</b>	: Albumin Atılım Hızı
<b>ABD</b>	: Amerika Birleşik Devletleri
<b>BOS</b>	: Beyin Omurilik Sıvısı
<b>DKA</b>	: Diyabetik Ketoasidoz
<b>DM</b>	: Diabetes Mellitus
<b>GABA</b>	: Gamma Aminobütirik Asit
<b>GAD</b>	: Glutamik Asit Dekarboksilaz
<b>GFR</b>	: Glomerüler Filtrasyon Hızı
<b>GLUT</b>	: Glucose Transporter
<b>HbA1c</b>	: Glikozile Hemoglobin
<b>HDL</b>	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
<b>HLA</b>	: İnsan Lökosit Antijeni
<b>IA-2</b>	: Islet Antigen – 2 Autoantibodies
<b>IAA</b>	: Insulin Autoantibodies
<b>ICA</b>	: Islet Cell Antibodies
<b>LDL</b>	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
<b>SOR</b>	: Serbest Oksijen Radikali
<b>TAS</b>	: Total Antioksidan Seviye
<b>TOS</b>	: Total Oksidan Status
<b>OSİ</b>	: Oksidatif Stres İndeksi
<b>NK</b>	: Doğal katil hücreler
<b>VLDL</b>	: Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein
<b>İUGR</b>	: İntrauterin Gelişme Geriliği
<b>AH</b>	: Alzheimer Hastalığı
<b>O<sub>2</sub></b>	: Superoksit Radikali
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen Peroksit
<b>HO-</b>	: Hidroksil Radikali
<b>SOD</b>	: Superoksit Dismutaz
<b>GPx</b>	: Glutasyon Peroksidaz
<b>MDA</b>	: Malondialdehyde

<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>GST</b>	: Glutatyon Transferans
<b>ECLIA</b>	: Elektrokemiluminesans immunoassay
<b>AU</b>	: Arbutrary Units
<b>MHC</b>	: Major Histocompatibility Complex

## ÖZET

### Tip 1 Diabetes Mellitus Tanısı ile İzlenmekte Olan Çocuklarda Serum S100B Düzeyi

**Dr. Emine Semra KÜÇÜK**

**Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi**

**Amaç:** Çalışmamızda Tip 1 Diyabetes Mellitus tanısı alan çocuklarda S100B protein, total oksidatif stres ve total antioksidan sistem düzeyleri kendi arasında ve kontrol grubu ile karşılaştırılarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışma grubuna Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi çocuk endokrinoloji polikliniğine başvurmuş, ergenlik dönemine girmemiş, en az 1 yıl önce tanı almış 30 hasta, kontrol grubuna ise genel çocuk polikliniğine sağlıklı çocuk muayenesi için getirilen 30 sağlam çocuk dahil edildi. Araştırma için seçilen hastalardan serum S100B proteini düzeyi ile total oksidan ve antioksidan kapasitelerinin incelenmesi için 3 cc kadar venöz kan örnekleri alındı. Venöz kan örnekleri 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra şekilli elemanlar tüp ile birlikte atıldı, üstteki serum örnekleri -20<sup>0</sup>C de saklandı. Elektrokemiluminesans immunoassay (ECLIA) yöntemi ile serum S100B düzeyi ölçüldü. Oto-analizörde kolorimetrik olarak Erel metoduyla total antioksidan seviye (TAS) ve serum total oksidan status (TOS) ölçüldü. Sonuçlar SPSS istatistik programı, Student T testi ile incelenip, literatürle karşılaştırılıp yorumlandı.

**Bulgular:** S100B değerleri diyabetli grupta 118,01±27,85 µg/L; kontrol grubunda 113,48±25,85 µg/L idi. Her ne kadar diyabetli grupta S100B düzeyi daha yüksek olmasına rağmen, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (P>0,641). Diyabetli grupta TOS değeri 18,00±4,46 µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Equivalent/L, TAS 0,72±0,17 mmol Trolox Equivalent/L, OSİ 2,61±0,87 Arbitrary Units; kontrol grubunda TOS değeri 16,67±42,54 µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Equivalent/L, TAS 0,96±0,24 mmol Trolox Equivalent/L, OSİ 1,93±0,95 Arbitrary Units idi. Hem S100B hem de TOS değeri diyabetli grupta kontrol grubundan daha fazla olmasına

rağmen istatistiksel olarak sırası ile anlamlı değildi ( $P>0,641$ ;  $P=0,55$ ). TAS değeri diyabetli grupta, kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük düzeydeydi ( $P<0,0001$ ). OSİ değeri ise diyabetli grupta kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksek düzeydeydi ( $P<0,0001$ ). S100B ile HbA1c arasında anlamlı negatif korelasyon vardı ( $r= -0,372$ ;  $P=0,043$ ).

**Sonuç:** Tip 1 Diabetes Mellitus'lu hastalarda, hastalığın gelişme sürecinde ve hastalık sırasında uzun süreli yüksek kan glukoz konsantrasyonlarına maruz kalmaları oksidatif stresin artmasına ve bu artışa bağlı gelişen nörotransmitterde değişikliklere yol açabilmektedir. Çalışmamızda oksidatif stres belirteçlerinden OSİ anlamlı olarak yüksek, TAS anlamlı olarak düşük saptanmıştır. Fakat nöronal hasar belirteci olan S100B düzeyi anlamlı yüksek tespit edilememiştir. Bu durum, çalışmaya alınan hastaların HbA1c düzeyi ortalamaları alındığında orta kontrollü olması ile ilişkilendirilebilir. Hastaların metabolik kontrolünün iyi olması nöronal hasar belirteci olan S100B düzeyinin anlamlı yüksek çıkmamasında etken olabileceğini düşünmekteyiz. S100B ile HbA1c arasında anlamlı negatif korelasyon saptanmış olması bu sonucumuzu desteklemektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Tip 1 Diabetes Mellitus, Çocuklar, Nörokognitif fonksiyonlar, HbA1c Düzeyi, Oksidatif stres.

## ABSTRACT

### Serum S100B Levels İn Children Diagnosed Tip 1 Diabetes Mellitus

Emine Semra KÜÇÜK, MD

Specialty Thesis, Department of Child Healt and Diseases

**Purpose:** In our study, children diagnosed with Type 1 Diabetes Mellitus in S100B protein, total levels of oxidative stress and total antioxidant system aimed to evaluate their own in comparison with the control group.

**Materials and methods:** University of Harran in the study group was admitted to the Faculty of Medicine endocrinology clinic, was entering adolescence, 30 patients were diagnosed at least 1 year before, while the control group brought to healthy children examined in the general pediatric outpatient clinic were included 30 healthy children. Serum S100B protein levels in selected patients with 3 cc of venous blood samples for the study of the total oxidant and antioxidant capacity for the research study. Venous blood samples were then centrifuged at 3500 rpm for 10 minutes was discarded along with tube-shaped elements, the above serum samples are stored at  $-20^{\circ}\text{C}$ . Elektrokemiluminesans immunoassay (ECLIA) method with serum S100B levels were measured. Erelı total antioxidant level with the colorimetric method in auto-analyzer (TAS) and serum total oxidant status (TOS) were measured. Results SPSS program, examined with the Student T test were compared with literature reviews.

**Evidences:** S100B levels in the diabetic group  $118,01\pm 27,85$   $\mu\text{g/L}$ ; in the control group  $113,48\pm 25,85$   $\mu\text{g/L}$ . Although higher S100B levels although the diabetic group, the difference was not statistically significant ( $P>0,641$ ). TOS value of in the diabetic group  $18,00\pm 4,46$   $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equivalent/L, TAS  $0,72\pm 0,17$  mmol Trolox Equivalent/L, OSİ of  $2,61\pm 0,87$

Arbitrary Units; TOS values in the control group,  $16,67 \pm 42,54 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equivalent/L and TAS  $0,96 \pm 0,24$  mmol Trolox Equivalent/L, OSI was  $1,93 \pm 0,95$  Arbitrary Units. Although both S100B both TOS value more than the control group in the diabetic group was not significant statistically as well ( $P > 0,641$ ;  $P = 0,55$ ). TAS value diabetic group had significantly lower levels than the control group ( $P < 0,0001$ ). One value is the higher level was significantly higher than the control group in the diabetic group ( $P < 0,0001$ ). There was a significant negative correlation between HbA1c and S100B ( $r = -0,372$ ;  $P = 0,043$ ).

**Result:** Patients with Type 1 Diabetes Mellitus, during the development process of the disease and long-term high blood glucose concentrations increased exposure to oxidative stress and can lead to changes in neurotransmitters, which developed due to this increase. One of the markers of oxidative stress were significantly higher in our study, TAS were significantly lower. However, the significantly higher level of neuronal damage marker S100B could not be identified. When the average HbA1c levels of patients enrolled in this study it may be associated with moderate control. We think that patients are well controlled may be a significant factor in the emergence of a high level of neuronal damage marker S100B. We have found a significant negative correlation between HbA1c and S100B supported our conclusion.

**Keywords:** Type 1 Diabetes Mellitus, Children, Neurocognitive functions, HbA1c level, Oxidative stress.

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diabetes Mellitus (DM); kronik seyirli, multifaktoryel bir etiopatogeneze sahip, tam veya göreceli insülin eksikliği veya insülin direnci ile karakterize, temel bulgusu hiperglisemi olan ve ayrıca yağ ve protein metabolizmalarında da belirgin değişiklikler ile seyreden, heterojen bir klinik tablo sergileyen, karbonhidrat metabolizmasının primer hastalığıdır (1,2). Diabetes Mellitus endokrin hastalıkların en yaygın olanıdır ve görülme sıklığı %1-2 arasındadır (3).

S100, omurgalılarda bulunan kalsiyum-modüle proteinlerden, EF-el tipi, multijenik bir ailedir. S100B, S100 ailesinin bir üyesidir. S100B, 21 kDA moleküler ağırlığa sahip, 2 beta ünitesinden oluşan homodimer bir asidik proteindir. S100B'nin sinirsel gelişim, farklılaşım ve nöron onarımında önemli bir faktör olduğu ve nöron hasarından sonraki ekstraselüler konsantrasyonundaki artışlardan kaynaklanan ek hücre hasarlarının da nörodejeneratif oluşum patofizyolojisinde rol aldığı öne sürülmektedir. S100B, beyin hasarında beyin omurilik sıvısına (BOS) ve daha sonra kana rahatlıkla geçmektedir (4, 5, 6, 7).

Tip 1 diyabetli çocuklarda sabit glisemik kontrol sağlanmadığından hiperglisemi ve hipoglisemi dönemlerine tekrarlı maruz kalma sık görülür (8). Bu nedenle metabolik bozuklukların gelişmekte olan beyine potansiyel etkileri söz konusu olmaktadır (9). Tip 1 diyabetli çocuklarda nöropsikolojik çalışmalar beyinde olumsuz etkilenme olduğunu belirtmişlerdir (10). Erken yaşta tanı alma, hipogliseminin sık olarak görülmesi ve kötü glisemik kontrol, diyabette görülen nörokognitif bozuklukları olumsuz olarak etkilemektedir (11).

Birçok çalışmada S100B proteini beyin hasarlarında kolay ölçülebilen ve erken prognostik değere sahip bir biyolojik belirleyici olarak belirtilmektedir (12). Yapılan çalışmalarda Tip 1 diyabetli çocuklarda glial ve nöronal hasarın belirteci olan S100B'nin arttığı belirtilmiştir (13).

Mitokondriler oksijen radikallerinin başlıca üretim yeridir. Mitokondriler karbonhidrat, lipit ve proteinler gibi hücrel makromoleküllerin oksidasyonu ile organ disfonksiyonuna neden olabilirler. Oksidatif stres, serbest radikallerin aşırı üretimden veya antioksidan savunma sistemlerinin yetmezliğinden kaynaklanabilir (14, 15).

Total antioksidan seviye (TAS) organizmada mevcut antioksidanların bütünü hakkında bilgi vermektedir (14). Moleküllerin oksidatif hasarı sonucunda ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri (SOR) nörodejeneratif bozukluklar, diabetes mellitus, graves, kalp damar hastalıkları ve farklı kanser tiplerini içeren birçok hastalığın patogenezinde rol oynar (15).

Yapılan çalışmalarda Tip 1 diyabetli çocuklarda hiperglisemiye bağlı serbest radikallerin ve buna bağlı oksidatif stresin arttığı saptanmıştır (16-19). Aynı zamanda diyabetli ve DKA'lı çocuklarda antioksidan kapasitenin değiştiğine dair yayınlar vardır (18, 20-22).

Çalışmamızda Tip 1 diyabetes mellitus tanısı alan çocuklarda S100B protein, total oksidatif stres ve total antioksidan sistem düzeyleri kendi arasında ve kontrol grubu ile karşılaştırılarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.



## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2. 1. Diabetes Mellitus**

#### **2. 1. 1. Diabetes Mellitus'un Tarihçesi**

Bilinen en eski hastalıklardan olan Diabetes Mellitus, 20. yüzyılın en büyük halk sağlığı problemlerinden olup 21. yüzyılda da sorun olmaya adaydır.

İlk olarak Kapadokyalı Arateus, çok idrar yapan ve kilo kaybeden insanları sifonlu fiçıya benzeterak hastalığa “diabetes” adını vermiş ve klinik bulgular ile tanı koymuşken, 7. yüzyılda Mısırlı, Hintli ve Çinlilerce idrarın şekerli olduğu tadılmış ve “Lemadhumeha” ballı idrar tanımlaması yapılmıştır. 11. yüzyılda İbn-i Sina, kaynatılan idrardaki tortuda bal tadını belirlemiştir. Daha sonraları laboratuvar yöntemleri önem kazanmıştır. 16. yüzyılda “Thomas Willis” idrarda şeker tayinini yapmış ve 19. yüzyılda fizyolog “Claude Bernard” kan şekeri ölçümü gerçekleştirmiştir.

1800`lü yıllarda “fehling” idrarda glukozu kantitatif olarak tayin metodunu geliştirmiş ve aseton tayini yapılmaya başlanmıştır. 1900`lü yıllarda ise hastalığın etyopatogenezi ile ilgili pek çok bilgi edinilmiştir. İnsülin 1921 yılında Kanada Toronto Üniversitesi`nde cerrah Frederick G Banting, asistanı Charles H Best, biyokimyacı James B Collip ve fizyolog JJR Macleod`un ortak çalışması ile bulundu (23-24).

1926 yılında Frank bugünkü oral antidiabetiklerin atası Synthalini buldu. 1942`de Laubatie, sülfonamidlerin hipoglisemik etkisini bulduktan sonra sülfonilüre türevleri tıp dünyasına girdi. 1946-1950 yıllarında çeşitli uzun etkili insülinler bulundu. 1973`de Nova ve Leo firmaları antikor oluşturmeyan ileri derecede saf insülini geliştirmişlerdir, bu günümüzde kullanılan DNA teknolojisi ile yapılmış olan insülinlere öncülük etmiştir (23-24).

#### **2. 1. 2. Diabetes Mellitus'un Tanımı**

Diabetes Mellitus (DM); insülin sekresyonu, insülin etkisi veya her ikisinde ki defektlerden kaynaklanan, yağ, protein ve karbonhidrat metabolizması bozukluğuyla birlikte

olan, kronik hiperglisemi ile karakterize, multipl etyolojili kronik bir metabolik hastalık olarak tanımlanır (25). Tüm dünyada en sık görülen endokrin hastalıktır (26, 27).

Toplumda görülen diyabet vakalarının çoğunu Tip 1 ve Tip 2 diyabet vakaları oluşturur. Çocukluk çağında ise Tip 1 diyabet hala en sık görülen diyabet türüdür (28).

Tip 1 diyabetin genetik yatkınlık zemininde çevresel tetikleyici faktörlerle başlayan kronik otoimmün bir hastalık olduğu bilinmesine rağmen patogenezi hala tam olarak netleştirilememiştir (29).

### **2. 1. 3. Epidemiyoloji**

Diabetes Mellitus, günümüzün en önemli sağlık problemlerinden biridir. Tüm dünyada çok sayıda insanı etkilemektedir. Tip 1 DM, çocukluk çağında ortaya çıkan kronik hastalıklar arasında en sık görülenlerden biridir. Tüm dünyada her yıl 50.000 yeni vakaya Tip 1 DM tanısı konulmaktadır. Beyaz ırkta 20 yaş altındaki çocuk ve gençlerde yıllık Tip 1 DM insidansı binde 1-3 civarındadır. Tip 1 diyabetin epidemiyolojisi ile ilgili çalışmalar her yıl artmakla birlikte, dünya nüfusunun sadece %5'ine ait veriler bulunmaktadır. Pek çok çalışma kuzey yarım kürede, özellikle Avrupa ve Kuzey Amerika'da yapılmıştır. Hastalık bazı etnik gruplar dışında her kıtada, hemen tüm toplumlarda görülmektedir. Bununla beraber Tip 1 DM insidansı ve riski toplumdan topluma büyük farklılıklar göstermektedir (13, 30, 32-35).

Tüm diyabetik hastaların %5-10'unu Tip 1 DM oluşturur. Prevalansı toplumlara göre değişmekle birlikte yaklaşık %0.25-1 civarındadır. Her yıl yaklaşık yüzbin kişide 7-17 kişide Tip 1 diyabet gelişmektedir. Dünya sağlık örgütünün verilerine göre Tip 1 DM Asya, Okyanusya, Güney Amerika, Japonya'da düşük; Avrupa' da en yüksek insidansa sahiptir. Finlandiya en yüksek insidans (34.9/100.000 hasta/yıl); Pakistan, Kore ve Meksika'da (0,6-1/100.000) en düşük insidans belirtilmiştir (36, 37).

Beyaz ırk insidansı, siyah ırka göre yüksektir. Çeşitli coğrafyalarda değişmekle birlikte beyaz ırk insidansı ortalama 3.7-20/100.000 hasta/yıl olarak bildirilmektedir. (47, 48). 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 seyrektr (36, 37).

## 2. 1. 4. Etyopatogenez

Genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi ile gelişen otoimmün bir hastalık olan Tip 1 DM, pankreasta gelişen inflamasyon sonucu ilerleyici beta hücre harabiyeti ve total insülin yetersizliği ile karakterizedir (38). Hastalığın etyopatogenezinde rol oynayan bu faktörler; genetik, otoimmünite ve çevresel nedenler olmak üzere üç grupta toplanır (39).

**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 (40-42). HLA-DQ  $\beta$  zincirinin 57. pozisyonundaki aspartik asitin homozigot yokluğu (non asp/non asp), Tip 1 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 (43).

**Otoimmünite:** Beta hücrelerine yönelik otoimmün saldırı süreci,  $\beta$  hücrelerinin kendi antijenleri, antijen tanıma süresi veya T ve B hücreleri arasındaki etkileşimle ilgili görülmektedir. Antikorlarla oluşan  $\beta$  hücre hasarı, üç farklı etki mekanizması ile oluşur. İlk mekanizmada; antikorlar,  $\beta$  hücre yüzeyindeki antijenlerle birleşip, antikora bağlı sitotoksitate oluşturur. İkinci mekanizmada ise; doğal katil (Natural Killer – NK) hücreler, antikorun Fc reseptörüne tutunarak  $\beta$  hücre hasarını başlatır. Son mekanizmada ise; komplemanın klasik yoldan aktivasyonu,  $\beta$  hücre yıkımı oluşturmakta ya da kompleman, dolaşımdaki solubl antikorlarla immün kompleksler oluşturarak otoimmün olaylar başlatmaktadır (Tablo 1).

**Tablo 1. Otoimmün Olayın Başlamasında Rol Oynayan Mekanizmalar**

<b><u>Antijen</u></b>	Daha önce uzaklaştırılmış kendi antijenlerine maruz kalma Kendi antijenlerinde gelişen değişiklikler Moleküler benzerlik
<b><u>Antijen Sunumu</u></b>	Klas-I veya Klas-II antijen ekspresyonunda artış Antijenin MHC'ye bağlanmasında değişiklikler Antijen sunucu hücrelere ait anormallikler
<b><u>Regülasyon</u></b>	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 2).

**Tablo 2. Yabancı Antijen ile Pankreatik Antijenlerin Benzerliğine Örnekler**

<b><u>Pankreatik Antijen</u></b>	<b><u>Yabancı Antijen</u></b>
GAD	Koksaki virüsü
ICA 69	PC-2 proteini
38 K	Sığır serum albuminin proteini
	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 1 DM'li bireylerde 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 (34, 44, 46-48).

### 2. 1. 5. Patofizyoloji

Tip 1 diyabette oluşan metabolik değişiklikler, temelde insülin eksik olmasına veya insülin yokluğuna bağlıdır. İnsülin karşıtı hormonların aktivasyonlarının artması; metabolik değişikliklerin ortaya çıkması ve ağırlaşmasına neden olur. Renal eşik aşıldığında (180 mg/dL; 10 mmol/L) hiperglisemi sonucu osmotik diürez (glikozüri) gelişir.

İnsülin karşıtı hormonların plazma düzeylerinin artmasının ardından hipergliseminin hakim olduğu metabolik bozulmalar; hiperozmolarite, osmotik diürece yol açar. Sıvı kaybı ile birlikte elektrolit imbalansı ve asidoz gelişir. Gelişen hipovolemi ile birlikte glomerüler filtrasyon hızının düşmesi, glukoz ve elektrolit ekskresyonunun azalmasına neden olur bu da, organizmanın glukoz yükünün artmasına sebep olarak, hiperozmolarite ve hücrel dehidratasyonun artmasına yol açar. Başta hiperozmolarite olmak üzere hücrel dehidratasyon ve asidozdan santral sinir sistemi etkilenir. Bilinç değişiklikleri ve koma gelişebilir (49,50).

Yağ metabolizmasında oluşan katabolik süreç sonucu, lipoliz hızlanır, dolaşımdaki total lipit, kolesterol, serbest yağ asitleri artar. Dolaşımdaki yağ asitleri; glukagon/insulin oranının artmasıyla başlatılan metabolik olaylarla karaciğerde mitokondri içine taşınarak keton cisimlerine dönüşür ve ketoasidoz tablosunun oluşmasını sağlar. Keton cisimlerinin (asetoasetik asit ve betahidroksibütirik asit) üretiminin artması, periferik kullanımının azalması ve hipovolemi sonucunda böbrekler yoluyla ekskresyonunun azalmasıyla, keton artışı görülür.

Diyabetik ketoasidozda, sistemik asidoza katkısı olan diğer faktör laktik asidin fazla sentezlenmesidir. DKA'da hipovolemi ve 2,3 difosfogliserat düzeyinin düşük olması, doku perfüzyon ve oksijenasyonunu bozmaktadır, laktik asidin birikimi ve böbrek fonksiyonunun bozulmasına yol açar. Asidoz, dolaşım bozukluğuna yol açar ve miyokarda zarar verir (15, 51-53).

## 2. 1. 6. Tip 1 Diyabetin Gelişim Evreleri

Tip 1 diyabet gelişimi 3 evrede özetlenebilir.

**1-Prediyabet evresi:** Bu evrede hiçbir metabolik bozukluk mevcut olmayıp genetik yatkınlık, HLA-DR, HLA-DQ antijenleri ve potansiyel diyabet genlerinin pozitifliği söz konusudur. Bu evre tetiği çeken çevresel faktörlerin (viral enfeksiyonlar, kimyasal ajanlar, bazı gıda maddeleri ve ilaçlar) araya girmesi ile başlar.

**2-Aktif otoimmünite ve erken diyabet evresi:** Bu evrede de bariz metabolik bir bozukluk yoktur. Bu evre ikiye ayrılır.

İlki yeterli insülin sekresyonunun olduğu evre olup otoimmüniteye ait immunolojik belirleyicilerin (ICA, İAA, GAD) pozitifliği ile gösterilebilir.

İkinci evre ise insülin sekresyonunun azaldığı evredir. Bu evrede glukoz toleransı hala bozulmamıştır.

**3-Glukoz intoleransı ve aşikar diyabet evresi:** İnsülin sekresyonu progresif olarak bu evrede azalmaya başlar. Bu evre de 3'e ayrılır.

**a-Glukoz tolerans bozukluğu:** Adacık hücre kitlesinin kaybı yaklaşık % 50-80, pankreas insülin içeriği % 20-50 arasındadır. Açlık kan şekeri normal olduğu halde glukoz yüklemesinde tolerans bozulmuştur. Klinik bulgu yoktur.

**b-Klinik diyabet:** Adacık hücre kitlesinde kaybın % 80 ve üzerinde olduğu dönemdir. Poliüri, polidipsi, polifaji veya araya giren bir stresle (travma, enfeksiyon, operasyon, psikolojik stres) ketoasidoz görülebilir. Bu evrede C-peptit pozitif bulunur ve remisyon beklenir.

**c-İleri klinik diyabet:** Adacık hücre kitlesindeki kaybın % 100 olduğu dönemdir. Pankreas insülin içeriği yoktur ve C-peptit bulunmaz. İnsülin ihtiyacı artar, klinik seyir ağırlaşır, remisyon beklenmez.

## 2. 1. 7. 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 fazlalaşması 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 (13, 30, 53, 56).

## 2. 1. 8. Tanı

Tip 1 diyabetin tanısı, klasik semptomlar ve biyokimyasal parametrelerle konulur. Hiperglisemi ile birlikte glukozüri ve ketonüri sıklıkla görülmektedir. Kan glukoz düzeyi 200 mgr/dl'nin üzerinde seyreder.

Erişkinlerde diyabet tanısı için sıklıkla oral glukoz tolerans testi yapılırken çocuklarda nadiren ihtiyaç duyulmaktadır. OGTT, açlık kan şekeri bariz olarak artmamış, ancak normalin üst sınırında bulunan asemptomatik çocuklarda gerekli olmaktadır.

Bozulmuş açlık glisemisi bazal durumda karbonhidrat metabolizmasında bozukluğun ölçülmesidir. Glukoz tolerans bozukluğu ise standardize glukoz yüklemesi sonrası karbonhidrat intoleransının gösterilmesidir.

Bozulmuş açlık glisemisi ve/veya glukoz tolerans bozukluğu olan hastalar prediyabet olarak değerlendirilir. Bu hastalarda diyabet gelişim riski yüksektir. Bunların arasında yılda %1,5 ile %7,3 oranında yeni diyabet vakası ortaya çıkmaktadır (41, 92). Diyabet, bozulmuş açlık glisemisi ve glukoz tolerans bozukluğu tanı kriterleri Tablo 3 ve Tablo 4'de verilmiştir.

**Tablo 3. Diabetes Mellitusda Tanı Kriterleri (57)**

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

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

Oral glukoz tarama testinde yüklemeden 2 saat sonra plazma glukoz konsantrasyonunun  $\geq 11,1$  mmol/L (200 mg/dl) olması(Bu test WHO tarafından tanımlanan kriterlere göre yapılmalıdır.Suda erimiş olan , 75 gr veya maksimumu 75 gr olmak üzere vücut ağırlığına göre 1,75 g/kg kuru glukoz içerikli glukoz yüklemesi yapılmalıdır.

\*Karşılık değer venöz tam kan için  $> 10$  mmol/L. Kapiller tam kan için  $\geq 11$  mmol /L

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

**Tablo 4. Bozulmuş Açlık Glisemisi ve Glukoz Tolerans Bozukluğu Tanı Kriterleri (57)**

\*Açlık plazma glukoz düzeyine göre kavramlar

\* Açlık plazma glukozu  $< 5,6$  mmol/L (100 mg/dl)=Normal açlık glukozu

\* Açlık plazma glukozu  $5,6-6,9$  mmol/L (100-125 mg/dl)= Bozulmuş açlık glukozu

\* Açlık plazma glukozu  $\geq 7$  mmol/L (126 mg/dl)=Diyabet tanısı (Tanı mutlaka diagnostik kriterlerle doğrulanmalıdır.)

\*OGTT yapıldığında kategorilere karşılık gelen kavramlar

\*Yüklemeden 2 saat sonra glukoz  $< 7,8$  mmol/L (140 mg/dl) =Normal glukoz toleransı

\*Yüklemeden 2 saat sonra glukoz  $7,8-11,1$  mmol/L (140-199 mg/dl) =Glukoz tolerans bozukluğu

\*Yüklemeden 2 saat sonra glukoz  $>11,1$  mmol/L (200 mg/dl) =Diyabetes Mellitus



Tip 1 diyabetli hastalarda, henüz hiperglisemi ile seyreden klinik dönem gelişmeden, beta hücreindeki otoimmün yıkımın göstergesi olan otoantikörlerin saptanması [adacık antikoru (Islet Cell Antibodies; ICA), islet antijen antikoru(IA-2), insülin otoantikoru (İnsülin Antibodies; IAA), Glutamik Asit Dekarboksilaz Antikoru (GAD)] ile prelinik dönemde tanı koyulabilir (56).

### 2. 1. 9. Glukozillenmiş Hemoglobin (HbA1c)

Tanı kriterleri içerisinde yer almayan ancak plazma glikozunun kontrolünü yansıtan glikozile hemoglobin (HbA1c), kan şekerine karşı bir takım avantajlar sunar. Kişinin aç kalmasına veya OGTT için iki saat beklemesine gerekmez. Hem açlık hem de tokluk glikozunu, üç aylık süredeki kan glikoz kontrolünü yansıttığı için her ikisine karşı bir avantajı olabilir. Fakat HbA1c diyabet tanısı koymak için yeterli değildir. 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). HbA1c ölçümlerinde normal değer, %4–6 arasındaki değerdir. ADA, çocuklarda ve adölesanlarda diyabetin takibinde normal değerleri yaş dönemlerine göre ayırmıştır (Tablo 5).

**Tablo 5. Yaşa Göre Hedeflenen HbA1C Değerleri (61)**

Yaş	HbA1c(%)
< 6	≤ 8,5
6-12	≤ 8,0
13-18	< 7,5

**Tablo 6. HbA1c değerlerine göre metabolik kontrol sınıflandırılması (62)**

<b>Metabolik kontrol sınıflandırılması</b>	<b>HbA1c Değerleri</b>
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. 10. Tip 1 Diabetes Mellitus'un Tedavisi**

Tip 1 DM tedavisi; uzman hekim, diyet uzmanı, diyabet hemşiresi ve psikoloğun katıldığı bir ekip tarafından yönetilmelidir. Diyabet ekibini oluşturan kişilere acil durumlarda telefonla ulaşılabilinmelidir. Diyabetli çocuk, ailesi ve öğretmeni hastalık hakkında bilgilendirilmelidir. Hastalığın tedavisinin ilk basamağı hasta ve ailenin sürekli eğitimidir (62, 63, 64).

Tedavideki genel amaç, metabolik dengeyi sağlayarak kısa dönem (hipoglisemi, diyabetik ketoasidoz) ve uzun dönemde görülen komplikasyonları (retinopati, nefropati, nöropati vs.) en aza indirmek, normal büyüme ve gelişmesini sağlamak, böylece hastanın sağlıklı bir hayat sürerek yaşam kalitesini artırmak olmalıdır (64).

#### **2. 1. 10. 1. İnsülin Tedavisi**

İnsülin, pankreasın langershans adacıklarındaki beta hücrelerinden salgılanan, polipeptid yapıda bir hormondur. En önemli fonksiyonu glukozun hücre içine girişini sağlayarak kan glukoz düzeyini düşürmektir (65, 66). İnsülin Tip 1 diyabette tedavinin temel öğesidir. Tip 1 DM'lu hastalar yaşamlarını devam ettirebilmeleri için eksojen insülin tedavisine devamlı olarak ihtiyaç duymaktadır. İnsülinin diyabet tedavisinde kullanılmaya başlanması ile diyabet, ölümcül hastalıklar grubundan çıkarak, kronik seyirli hastalıklar arasında yer almıştır (67, 68).

## **2. 1. 10. 2. Diyet Tedavisi**

Diyabette diyet ile çocuğun yaşı, cinsi, ağırlığı, beslenme alışkanlıkları ve aktivitesine uygun bir beslenme ile en uygun büyüme ve gelişmeyi sağlamak, ideal vücut ağırlığını korumak, obeziteden kaçınmak, hipo-hiperglisemi ve kronik komplikasyonları önlemek ve çocuğun yaşam kalitesini yükselmesi amaçlanmaktadır (69, 70). Diyabetli hastalarda kan şekerlerinin hedef aralıkta seyretmesi açısından fibrin içeriği yüksek gıdaları tüketmeleri ve bu amaçla hayvansal kaynaklı yağların yerine daha çok bitkisel yağların kullanımı önerilir (71, 72).

## **2. 1. 10. 3. Egzersiz**

Tip 1 DM' lu çocuklarda egzersiz; HbA1c'yi %1 oranında düşürerek, glisemik kontrolü sağladığı gibi, aşırı kilo alımından koruduğu, plazma kolesterolünde %10–15 oranında düşme ve HDL kolesterolünde artış sağlayarak, geç kardiyovasküler hastalıkların gelişmesini önleyici bir faktör olarak rol oynamaktadır. Çok ciddi bir komplikasyon olmadıkça çocuğun egzersiz yapması engellenmemelidir (73, 74, 75).

## **2. 1. 11. Diyabetli Hastanın Metabolik Kontrolü**

DM'lu hastanın metabolik kontrolünün sağlanmasında bireysel izlem önemlidir. Bireysel izlem; diyabetli bireyin glisemi, glukozüri, kanda/ idrarda keton ölçümleri yaparak diyabet bakımının sorumluluğunu almasıdır. Hastanın kendisi tarafından sık aralarla ve doğru bir şekilde yapılan ölçümler, glisemik kontrolün değerlendirilmesi için en iyi yoldur (76, 77).

DM bireyin bireysel izlemde kullanacağı yöntemler; kan glukozu ölçümü, glukozüri ölçümü, keton ölçümü, glukozillenmiş hemoglobin ölçümüdür (HbA1c).

## **2. 1. 12. Tip 1 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 1 Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları**

---

**Akut Komplikasyonlar**

- Diyabetik Ketoasidoz
- Hipoglisemi
- Beyin Ödemi
- İnsülin Alllerjisi
- İnfeksiyonlara Eğilim
- Serebral Tromboz

**Subakut Komplikasyonlar**

- Lipodistrofi
- Büyüme geriliği
- Hiperlipidemi
- Pubertal ve menstrüel bozukluk
- Osteopeni, kısıtlı eklem hareketi
- Emosyonel bozukluk

**Kronik Komplikasyonlar**

1. Mikrovasküler komplikasyonlar

- Retinopati
- Nefropati
- Nöropati

2. Makrovasküler komplikasyonlar

- Kardiyomyopati
  - Merkezi Sinir Sistemi (MSS) nöropatisi
-

## 2. 1. 12. 1. Tip 1 Diabetes Mellitus'un Akut Komplikasyonları

### 2. 1. 12. 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 (78).

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 (79).

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 periferal kullanımı 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 (78).

#### **2. 1. 12. 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 ozmotik 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 (80, 81).

#### **2. 1. 12. 1. 3. Serebral Tromboz**

Ağır dehidratasyon ve asidoza bağlı perfüzyon bozukluğu, hemokonsantrasyon ve koagülasyon bozuklukları beyinde tromboz ve hemorajik infarktlara neden olabilir (82).

#### **2. 1. 12. 1. 4. Hipoglisemi**

Diabetes Mellitus'un en sık görülen akut komplikasyonu olan hipoglisemi, nörolojik fonksiyon bozukluklarının (nöroglikopeni) ortaya çıktığı kan şekeri düzeyidir. Hafif hipoglisemilerde çarpıntı, terleme, açlık ve halsizlik hissi gibi adrenerjik 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. Nöroglikopeni 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 (83-85). 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, konvülsiyona 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 (84-86).

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, adolesanın alkol alması hipoglisemiye neden olabilir (87-88).

#### **2. 1. 12. 1. 5. İnfeksiyona Eğilim**

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

#### **2. 1. 12. 1. 6. İnsülin Allerjisi**

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

## **2. 1. 12. 2. Tip 1 Diyabetes Mellitus Hastalarında Subakut Komplikasyonlar**

### **2. 1. 12. 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 (75).

### **2. 1. 12. 2. 2. Büyüme Geriliği**

İnsülinle büyüme homonunun büyümede sinerjistik etkisi ve büyüme hormonunun birçok basamakta etkisinin insüline bağımlı olması nedeniyle Tip 1 DM'nin büyüme ve puberteyi hafif derecede olumsuz etkilediği düşünülmektedir (79).

### **2. 1. 12. 2. 3. Pubertal Gelişim ve Menstruasyon Bozukluğu**

Puberteden önce Tip 1 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 (45, 46).

### **2. 1. 12. 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 (90, 91). Diyabetik kişilerde iyi



metabolik kontrol, kan basıncı kontrolü, düzenli egzersiz ve dislipidemi tedavisi ile makrovasküler hastalık gelişimi önlenebilir (92).

### **2. 1. 12. 3. Tip 1 Diabetes Mellitus'un Kronik Komplikasyonları**

Tip 1 diyabetin kronik komplikasyonları, anjiopati temeline dayanır. Bu komplikasyonlar, adölesan dönemde artmaktadır.

#### **2. 1. 12. 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 (93, 94). Klinikte Tip 1 DM hastalarındaki ilk renal fonksiyonel değişiklikler glomeruler filtrasyon hızındaki (GFR) artış ve üriner albumin atılımındaki artıştır. Tip 1 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 (95, 96).

Diabetes Mellitus başlangıcından yaklaşık 15 yıl sonra proteinürinin saptanmasıyla klinik diyabetik nefropati dönemi başlar, belirgin proteinüri (>300-500 mg/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 (97-100).

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 (85).

Janner ve arkadaşlarının 16 çocuk ve adölesan Tip 1 DM'li hastada 8 yıl süreyle izleyerek yaptığı çalışmada persistan mikroalbuminüri sıklığını %20 olarak bulmuşlardır (102).

Mathiensen ve arkadaşları 15 yaşına kadar mikroalbuminüri olmaz derken, Dahliquist ve arkadaşları daha genç yaşlarda (11-13 yaş) mikroalbuminüri'nin ortaya çıkabileceğini göstermişlerdir (103, 104).

Danne ve arkadaşlarının yayınlarında ise Tip 1 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 (99).

### **2. 1. 12. 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 (106, 107). 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 1 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 (108-110).

Göz muayenesi prepubertal çocuklarda Tip 1 DM tanısından 5 yıl sonra veya pubertenin hemen başlangıcında, adölesanlarda tanı sırasında yapılmalıdır ve her yıl tekrarlanmalıdır (111).

### **2. 1. 12. 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 otoimmünitenin rolü olduğu düşünülmekle birlikte henüz veriler yeterli düzeyde değildir (112).

### **2. 1. 13. 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 etkileyebileceği söylenebilmektedir (113, 114).

### **2. 1. 14. Tip 1 Diabetes Mellitus'lu Çocuklarda Kognitif Fonksiyonlar**

Tip 1 DM'li çocuklarda kognitif fonksiyonlar ve okul başarısı üzerine etkisi çok sayıda çalışmada araştırılmakla birlikte hala tartışma konusu olmaya devam etmektedir. Bu konuda yapılan çalışma sonuçları birbirleriyle farklılık göstermektedir (114, 115). Tip 1

DM'li çocuklarda sabit glisemik kontrolü sağlamak güç olduğu gibi çocukluk ve adolösan dönemlerinin farklı evrelerinde glisemik kontrolü sürdürmek de güçtür (116, 117).

Bu nedenle ciddi düzeyde hiperglisemi ve hipoglisemi dönemlerine tekrarlı maruz kalma sıktır (118). Dolayısıyla, metabolik bozuklukların gelişmekte olan beyine potansiyel etkileri söz konusu olmaktadır. Bu etkilerin düzeyi örneklem sayısının az olması ve örneklem seçimi gibi metodolojik yetersizliklerden dolayı çalışmalar arasında önemli ölçüde değişiklik göstermektedir (119, 120). Çalışmaların birbiriyle tutarsız sonuçlarına rağmen tutarlı olarak en çok etkilendiği gösterilen kognitif fonksiyonlar; zeka (genel yetenek), dikkat, bilgi işlem hızı, bellek ve yönetici işlevlerdir (121-123). Kesitleme çalışmalarda bahsedilen kognitif alanlardaki performanslarda azalmanın çok hafif olduğu belirtilmesine karşın, boylamasına çalışmalar kognitif gelişmenin gecikebildiği ve böyle gecikmelere özellikle erkek çocuklarının daha yatkın olduklarını göstermişlerdir (124-127).

Cinsiyet dışında başka faktörler de DM'li çocukları kognitif fonksiyonlarda azalma konusunda yüksek risk altında tutmaktadır. Yapılan araştırmalarda DM başlangıç yaşı (5-7 yaşın altında) en sık belirtilen risk faktörüdür (120, 125). Kognitif fonksiyonlarda tip 1 diyabet başlangıç yaşı, 7 yaş öncesi ve sonrasında olanlar arasındaki farklılıklar yetişkin dönemde de devam etmektedir (126). Ciddi hipoglisemik dönemlerin oluşu, özellikle küçük çocuklarda beyin gelişimi için yüksek enerji ihtiyacının olmasından dolayı diğer önemli bir risk faktörünü oluşturabilmektedir (127, 128). Bu bağlamda, yoğun insülin tedavisi alan çocukların yetişkinlere göre görsel uzaysal bellek ve şekil tanıma görevinde daha kötü performans göstermesi hipoglisemi dönemlerinin olumsuz etkilerine atfedilmektedir (129).

Ayrıca, kronik hipergliseminin de bir diğer risk faktörü olarak öğrenme ve bellek üzerine olumsuz etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Kronik hiperglisemi, gelişmekte olan beyinde miyelin oluşumunu ve nörotransmitter sistemini bozabilmektedir (130, 131). Diyabetes Mellitus'ta kognitif fonksiyonlarda daha düşük performansın görülmesinin akademik başarıya etkisi vaka kontrol çalışmalarında araştırılmış ve etkilenme bulunmamıştır (132). Buna karşılık, son zamanlarda yapılan geniş popülasyonlu bir çalışmada Tip 1 DM'li çocuklarda daha düşük okul performansının olduğu gösterilmiştir (133, 134).

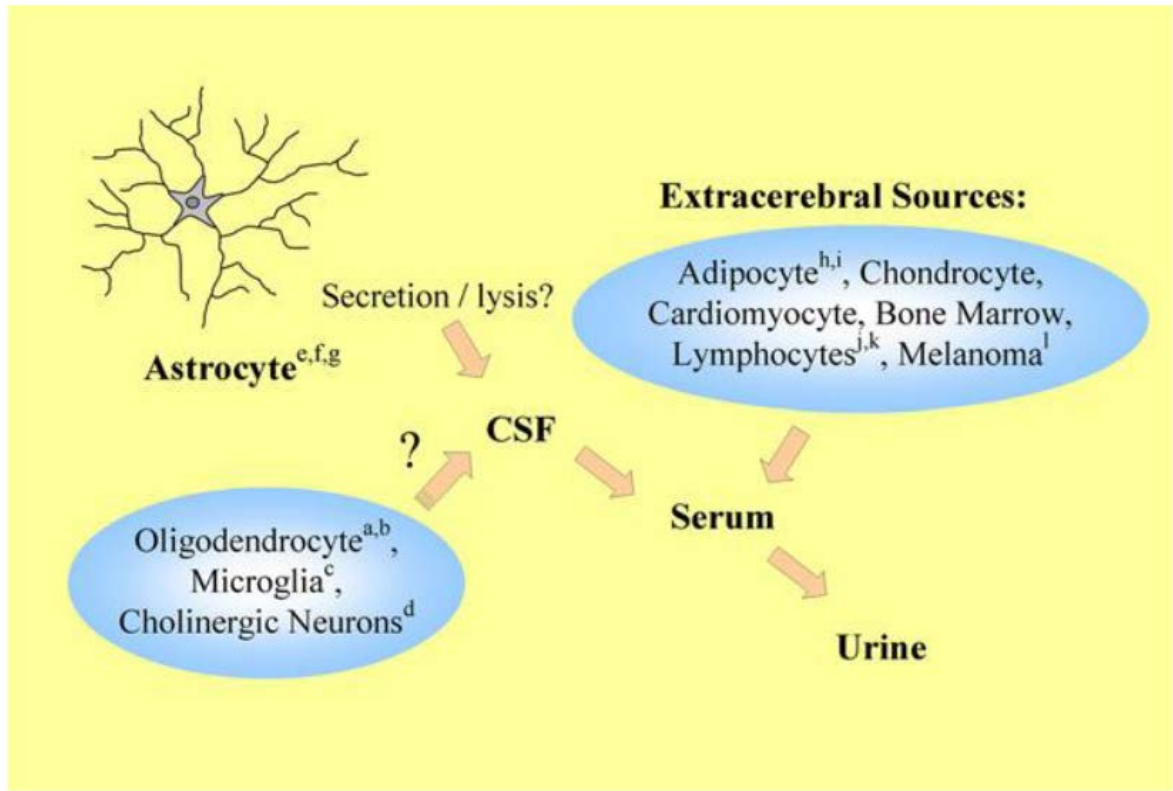
## 2. 2. S-100 Proteinleri

Beyine özgü proteinler ilk olarak 1965 yılında Moore ve McGregor tarafından tanımlanmıştır. Kromatografik ve elektroforetik ayrılma özelliklerine göre bu proteinleri 14-3-2 ve 14-3-3 olarak adlandırılıp; amonyum sülfatta % 100 çözünür olan proteini S100 olarak isimlendirmişlerdir (13). Bu proteinler genellikle küçük ve asidik yapıdadır, geniş protein ailelerine sahiptir ve beyin dokusunun yanı sıra diğer dokularda da bulunur (Tablo-10).

**Tablo 8. Beyine özgü proteinlerin biyokimyasal özellikleri ve hücre içi fonksiyonları (13)**

Protein	Mr(kDA)	P1	Lokalizasyonu	Fonksiyonu
14-3-3	30-40	4-5	Nöron	Nöronların büyüme ve farklılaşmasının düzenlenmesi Enzim aktivitesi Protein-protein etkileşimi Translasyon sonrası değişikliklerin düzenlenmesi
14-3-2(NSE)	40-50	5	Nöron , eritrosit	Sinir sisteminin hücrel farklılaşması
S100B	10,4	4,5	Astrosit Schwann Melanosit Plesanta hücreleri	Hücreler arası iletişim Hücre büyümesi Hücre içine sinyal iletilmesi
GAP43	40-50	4,7	Mikroglia	Nöron gelişimi Sinaptik yapılanma Hasar sonrası hücrel yeni oluşum
GFAP	50	4,6	Astrosit	Başlıca glial ara filament myelizasyonu

S100B proteini hücre içi bir glikoproteindir. Total beyin proteinlerinin % 0,2' sini oluşturmaktadır. Kalsiyum bağlayıcı olarak bilinir ve asidik yapıdadır ancak çinko ve bakır bağlayıcı özellikleri de vardır. S100 proteini genel olarak sinyal transdüksiyonu, hücre farklılaşması, hücre motilite regülasyonu ve transkripsiyonu gibi birçok hücre aktivitesinde rol oynamaktadır (4). Bu ailenin bulunan ilk üyesi S100B ve S100A1 karışımı şeklinde tanımlanmıştır. Beyinde glial ve schwann hücrelerinde, beyaz ve kahverengi yağ dokusunda, kas ve iskelet sisteminde, plasentada yüksek konsantrasyonda bulunur. S100 proteini dejenere olmuş astrositler tarafından salgınır (5). S100B proteininin yarı ömrü 1 saattir ve böbreklerden atılır (Şekil 1).



Şekil 1. Serebral ve ekstraserebral S100B salınımı ve üriner atılımı (24)

S100B proteininin düşük düzeyde nöroprotektif yüksek dozda ise nörotoksik etkisi vardır (135, 136). Protein S100B'nin konsantrasyonuna bağlı olarak yararlı (reaktif sinaptogenezi indüklenme) ve zararlı (nöronal hücre ölümü indüklenme) etkileri vardır. Yapılan çalışmalarda nanomolar düzeyindeki S100B proteinin nöroprotektif etkili olduğu ancak

mikromolar konsantrasyonunda ise proinflamatuar sitokin salınımında artışa yol açarak apoptozu tetiklediği gösterilmiştir (6, 137).

Aynı zamanda yapılan dizi analizleri sonucu S100B ve S100A1'in EF-el tipi olan kalsiyum bağlayıcı proteinler olduğu gösterilmiştir (136, 137). S100 proteinleri hücrelerde dimerler şeklinde bulunurlar. İki kalsiyum bağlama bölgelerine sahiptirler. Kalsiyum bu bölgelere farklı afinitelerle bağlanır (C terminal bölgeye daha yüksek afinite ile bağlanırken N terminal bölgenin afinitesi daha azdır). (Şekil 2) (4).



**Şekil 2. S100 Proteinlerinin sekonder yapısı. Kalsiyum bağlama bölgeleri (L1-L2) ve tersiyer yapıda katlanacak olan heliksler (4).**

Genel olarak S100 üyeleri, düşük moleküler ağırlıklı proteinlerdir (yaklaşık 9-21 KDa) (138, 139). S100A proteini insanlarda 13 gen üzerinden kodlanır (S100 A1-A13). Bu kodlanan diziler birinci kromozom üzerinde yer alır (4). S100B ise 21'inci kromozomun 22,3 lokusu üzerinden kodlanır. Bu yüzden down sendromunda protein S100B ekspresyonu artar (140).

### **2. 2. 1. S-100 Proteinlerinin İntrasellüler Aktiviteleri**

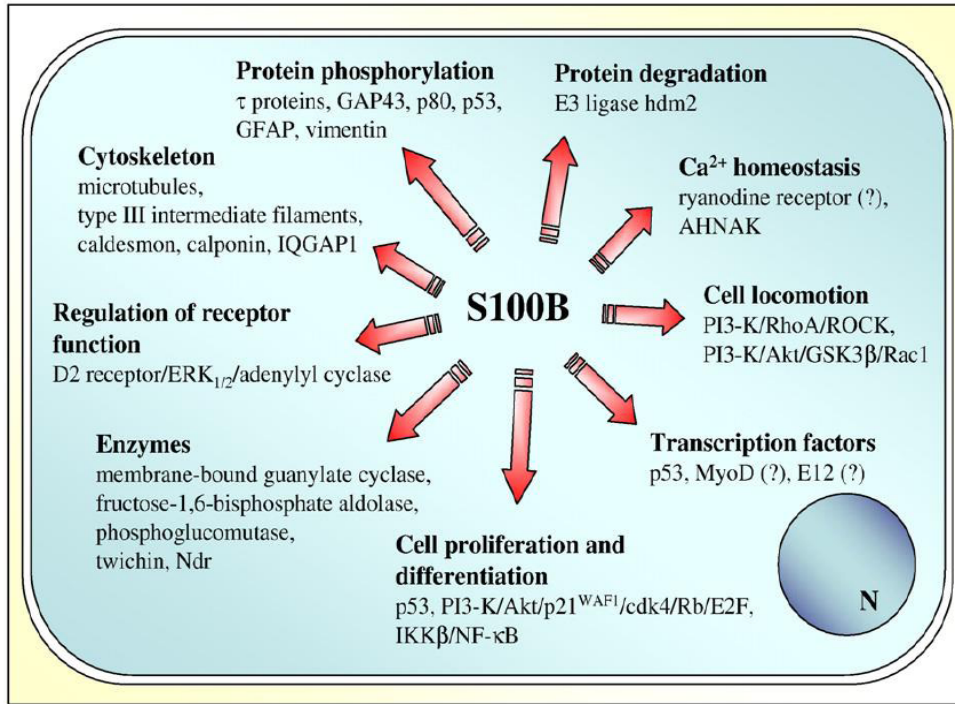
Matür dokuda, S100 proteinleri her zaman yoktur. Az miktarda hücrede spesifik olarak herhangi bir S100 ailesinden protein bulunabilir. Bu ailenin üyeleri birbiriyle ilişkisizdir. Spesifik bir hücre tipine ihtiyaç duyar (4). Hücre içi fonksiyonları; enzim aktivitelerinde değişiklik, hücre dönüşüm reaksiyonları olayları, fosforilasyon, çeşitli iskelet hücre elementlerinin polimerizasyonunun düzenlenmesidir (5, 6). Genelde S100 proteinleri protein fosforilasyonunu, kinaz substratlarına etki ederek inhibe etmektedirler (5, 141, 142).

Protein S100B bir tümör supressor protein olan P53 fosforilasyonunu inhibe eder (6). S100 proteinleri ayrıca bazı enzim aktivitelerini düzenleyerek (fosfoglukomutaz, fruktoz 1,6 bifosfataz) enerji metabolizmasında rol almaktadır (143). S100 proteinleri mikrotubuller, intrasellüler flamanlar, tropomiyozin ve myozin gibi hücre iskeleti elemanlarını düzenler (4, 144). S100 proteinleri, tümör supressör gen olan P53 ile etkileşime girerek hücre büyümesini önler ve apoptozis üzerine etkilerde bulunur (6). Ayrıca hücre büyümesinin inhibisyonunda etkileri vardır (145).

### 2. 2. 2. S-100 Proteinlerinin Ekstraselüler Aktiviteleri

Protein S100B primer olarak astrositler tarafından üretilir ve glia (nöroepitelyal destek hücreleri), nöronlar, mikroglia üzerinde otokrin ve parakrin etkilere sahiptir (146). Glial hücrelerden silier nörotropik faktör, IL-1- $\alpha$  ve IL-1- $\beta$ , insan endotelial büyüme faktörü gibi faktörlerin sekresyonuna benzer bir mekanizmayla salındığı düşünülür (Şekil 3) (147).

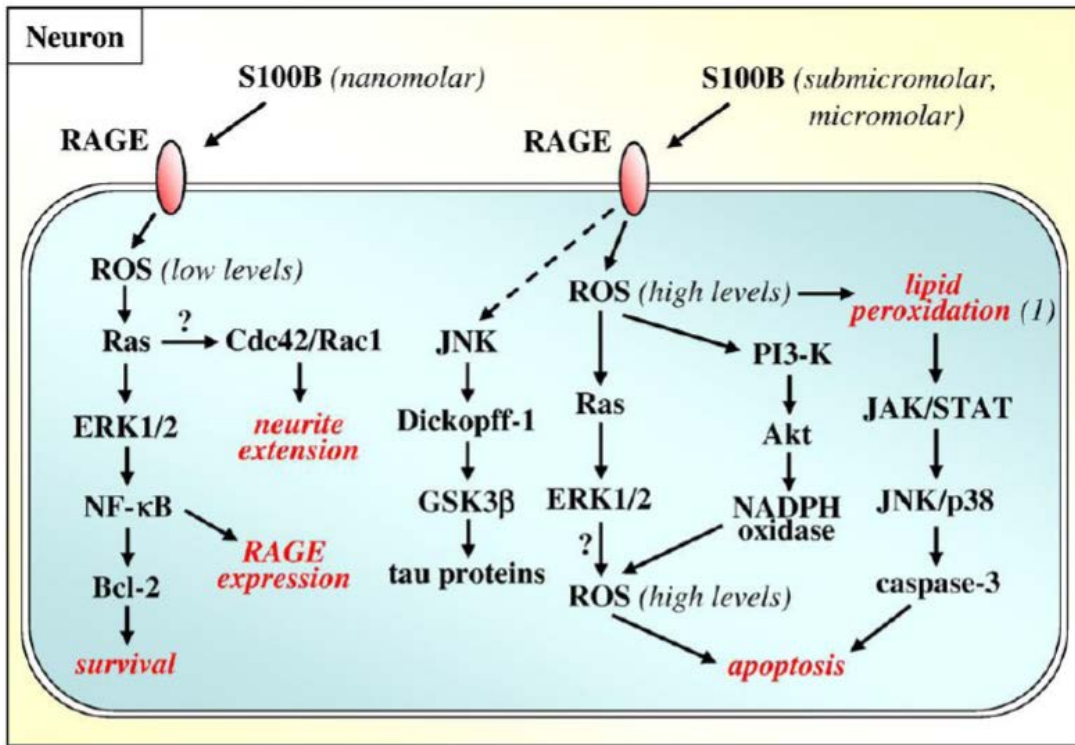
Protein S100B beyin hücresinde enerji metabolizmasının düzenlenmesinde görev alır. Protein S100B beyin hasarında BOS ve daha sonra kana rahatlıkla geçebilir. Protein S100B seviyesinin ölçümü serebral iskemisi olan hastaların tayini için iyi bir göstergedir (148, 149).



Şekil 3. S100B proteinin ekstraselüller alanda etkileri (147)



S100B hasar sonrası, yeni doğmuş sıçanlarda motor nöron dejenerasyonunu önler (150, 151). İn vivo şartlarda protein S100B verilmesini takiben rejenerasyon stimüle olur (152). Protein S100B, öğrenme ve hafızanın modülasyonunda da görev alır (153). Bütün bu bulgular protein S100B'nin nörotrofik bir faktör gibi salgılandığını gösterir. Bu da gelişim ve sinir yenilenmesi esnasında önemlidir (154).



Şekil 4. S100B'nin ekstraselüller alandaki konsantrasyona bağlı olarak nöronlardaki etki mekanizmasının şematik görünümü (148)

S100B'nin nöronlardaki parakrin etkilerinin yanı sıra nanomolar düzeyleri glial proliferasyonu stimüle eder. Astrositlerde yapılan in vitro çalışmalarda ise otokrin etkiler gösterir (155). Ekstraselüler protein S100B'nin mikromolar konsantrasyonları tam tersine yıkıcı etkiler gösterir. Down sendromu veya Alzheimerli hastaların (AH) beyinlerinde, epileptik hastaların temporal loplarda protein S100B'nin artmış düzeyleri gözlenir (140, 156). Protein S100B'nin kromozom 21q22.3'de bulunması, Down sendromunda protein S100B'nin yüksek düzeylerde bulunması ve  $\beta$ -amiloidin S100B'nin mRNA'sını ve S100B

protein sentezini astrosit kültürlerinde stimüle etmesi nedeniyle protein S100B'nin AH ve down sendromu ilişkili beyin hasarlarının patogeneğinde rol aldığını düşündürmektedir (157).

**Tablo 9. Beyine özgü proteinlerin biyokimyasal özellikleri ve hücre içi fonksiyonları (8)**

<b>S100 Proteini</b>	<b>Etki</b>
S100B	Astrosit proliferasyonunun stimülasyonu Astrosit apoptozisi Nöronal apoptozis Nöronlardan IL-6 sekresyonunun stimülasyonu Astrositlerden NO sekresyonunun stimülasyonu Mikroglialardan NO sekresyonunun stimülasyonu
S100A1	Nöron için yaşam uzatıcı etki
S100A2	Eozinofil için kemotaktik etki
S100A7	T lenfositler için kemotaktik etki
S100A8	Antimikrobial etkiler Makrofaj aktivasyonunun inhibisyonu Lenfositler tarafından immunglobulin sentezinin inhibisyonu Monositler tarafından CD 11 ekspresyonunun artırılması Lökositler için güçlü kemotaktik ajan
S100A10	Koagülasyonda ekstrinsik yolun inhibisyonu
S100A12	Endotelial ve inflamatuvar hücreler için proinflamatuvar etki

S100B proteini in vitro şartlarda nörotoksik etkisini apoptozu uyararak yapar. Son çalışmalar ışığında, S100B proteininin mikromolar konsantrasyonları RAGE (İleri reseptör glikasyon ürünü) ile etkileşime girerek reaktif oksijen radikallerinin artmasına yol açtığı bunun da sitokrom-C salınımını gerçekleştirip cas-pas kaskatını aktifleyerek apoptotik nöronal ölümü gerçekleştirdiği izlenmiştir (158). Bir başka çalışmada ise, S100B proteini L tipi kalsiyum kanallarının geçirgenliğini arttırarak ve bir dizi apoptoz genini (c-fos, c-jun, bax, bcl-x, p15 ve p 25) up-regüle ederek ederek apoptozu indüklediği gösterilmiştir (159). S100B proteininin mikromolar konsantrasyonları mikroglia hücre kültürlerinde nitrik oksit sekresyonu stimülasyonunda lipit A ve interferon gama ile beraber çalışır. Bu da bize S100B proteininin mikroglialarla aktive olan nörodejenerasyon ve inflamatuvar beyin hastalıklarındaki nöropatolojik değişikliklerle ilişkili olduğunu göstermektedir (146).

S100B proteininin hedef hücrelerdeki etkileri için RAGE'nin gerekliliği bilinmektedir. Nanomolar değerlerde ve beyin hasarının en erken safhasında S100B proteini trofik etkiliyken, S100B protein konsantrasyonlarının artması, beyin hücreleri için toksiktir (160). BOS'da nörodejeneratif hastalık, beyin tümörü, serebral travma ve serebrovasküler hastalıklar varlığında da S100B proteini artar. S100B proteininin hayvan modellerinde travmatik veya fokal iskemik olaylar sonucu BOS'da hızlı bir artış gösterdiği belirtilmiştir (8). Kanda ölçümü en yaygın kullanım şeklidir. Travmatik beyin hasarında da artmasının yanı sıra hipoksik iskemik ensefelopatide henüz radyoloji ve klinik bulgular oluşmadan önce artmaktadır (8, 148, 161). Ayrıca S100B proteininin anormal serebral hemodinamik patern ile korelasyonu vardır. Fetus amnion mayi ve idrarında da ölçülmüştür (162).

S100B proteininin amnion mayiinde ölçümü özellikle riskli gebelikler için kullanılabilir ve böylece olası riskler açısından gerekli önlemler alınabilir (163). Aynı amaç için son trimesterde kord kanında ölçümü kullanılabilir. S100B protein düzeyi İUBG'de ve sonradan intraventriküler hemoraji geliştiği saptanan yenidoğanlarda anlamlı yüksek bulunmuştur. İnaventriküler hemoraji için spesifitesi % 99,3, sensitivitesi % 100 olarak bildirilmiştir. Dolayısıyla daha doğum olayı gerçekleşmeden anne serumunda ölçümü ile klinik ve radyolojik bulgular yokken intraventriküler kanamayı gösteren güvenilir bir parametre olduğu ifade edilmiştir (164). Buna yönelik önlemlerin alınmasına olanak sağlaması açısından da çok önemlidir. S100B protein düzeyi İUBG (İntra Uterin Büyüme Geriliği) olan yenidoğanların idrar örneklerinde çalışılmış ve kontrol grubuna göre anlamlı yüksek çıkmıştır (165).

Bundan dolayı S100B proteinin yenidoğan döneminde klinik açıdan bulgu vermeyen ancak ileriki yaşam süreçlerinde nörolojik sekel açısından riskli olan bebekleri göstermesi bakımından da güvenilir bir parametre olduğu belirtilmektedir (165). Fenilketonüride yüksek düzeyde saptanmış olması farklı metabolitlerin beyin dokusuna olan toksik etkilerini araştırmak için de kullanılabilmesi görüşünü desteklemektedir (166). AH tanısı alan hastalardan alınan beyin dokusu artmış S100B mRNA ve proteini düzeyi içermektedir (140). Buna ilaveten, AH'de IL-1 aşırı eksprese eden mikroglia kadar aşırı protein S100B eksprese eden astrositler ile nörofibriler yumaklar arasında ilişki mevcuttur (156). Gestasyonun 17. Haftasıyla 68 yaşına kadar farklı yaşlardaki down sendromlu hastalarda protein S100B pozitif astrosit sayısında 1,7 kat bir artış mevcuttur (140).

Bir aylık ile 18 ay arasındaki down sendromlu hastaların serebellumunda S100B mRNA düzeyinde 10 kat artış gösterilmiştir (164). Yakın zamanda yapılan psikiyatrik araştırmalardan elde edilen bilgiler ışığında nörodejenerasyonun major psikiyatrik bozuklukların gelişmesinde patojenik faktör olabileceği ifade edilmiştir (167).

Major depresyonlu hastaların serumunda, depresyonun “en biyolojik” formu olarak değerlendirilen melankolik alt tipinde protein S100B düzeyleri artarken non-melankolik depresif kişilerde normal serum protein S100B düzeyleri gözlenmiştir (168). Sağlıklı kişilerle karşılaştırıldığında hafif veya orta depresif hastaların BOS'ında protein S100B miktarları artmıştır (169).

### **2. 3. Oksidatif Stres ve Total Antioksidan Sistem**

Serbest radikaller; radikal olmayan bir atom veya molekülden bir elektron çıkması veya ilavesi sonucu elektron çiftinin dengesinin bozulmasıyla oluşan, dış yörüngesinde eşleşmemiş elektron taşıyan, organik ve inorganik moleküller ile reaksiyona girebilme yeteneğine sahip, yüksek oranda reaktif kısa ömürlü bileşiklerdir (170-171).

Normal metabolizma sırasında ya da patolojik intraselüler ve ekstraselüler olaylarla ortaya çıkan serbest radikallerin etkileri oksidatif stres olarak isimlendirilir. Bu radikaller ortamdaki uzaklaştırılmadığı takdirde, enzim ve proteinleri inaktive ederek veya serbest radikalin kendisi primer olarak hücre hasarına veya ölümüne sebep olabilir (171).

Sonuçta serbest radikaller erken yaşlanma, kanser, otoimmün hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalığın gelişiminde suçlanmaktadır (172-174).

### 2. 3. 1. Serbest Oksijen Radikalleri

Oksijen birçok metabolik aktivite için gereklidir. Aerobik canlıların enerji metabolizmasındaki rolü nedeniyle hayati öneme sahip oksijen, yer aldığı biyokimyasal tepkimelerde gerçekleşen enzim inhibisyonları ve oluşan oksijen radikalleri ile toksik etki yapabilir (175, 176). Oksijen radikalleri, biyolojik sistemlerde meydana gelen serbest radikallerin en önemlisidir. Serbest oksijen radikalleri, normal hücre metabolizmasında oksijen içeren birçok biyokimyasal indirgenme reaksiyonları sonucunda oluşabilir (177). Vücutta üretilen radikaller her zaman zararlı olarak görülmemelidir. Oksijenin biyokimyasal tepkimelerde kullanılması için reaktif formlara çevrilmesi zorunludur.

En Önemli Serbest Oksijen Radikalleri Şunlardır (178);

1. Superoksit Radikali ( $O_2^-$ )
2. Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ )
3. Hidroksil Radikali ( $HO\cdot$ )
4. Singlet Oksijen ( $O_2^{\uparrow\downarrow}$ )

#### 2. 3. 1. 1. Superoksit Radikali

Moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi ile kararsız bir yapı olan  $O_2^-$  radikali oluşmaktadır.  $H_2O_2$  kaynağı olup, canlılarda olduğu ilk gösterilen serbest radikal türevidir. Hücre dışı ortamda endotel hücreler, lenfositler, trombositler, fibroblastlar ve diğer hücreler tarafından normal hücrel reaksiyonlar sonrası ortaya çıkan zayıf bir oksidan olan  $O_2^-$  'nin kendi başına önemli hücre hasarlarına yol açması mümkün görülmemektedir (222).

Ancak superoksit radikalleri oksitleyici ve metal iyonları redükleyici etkileri ile oksidatif strese yol açabilen bir dizi reaksiyonları başlatabilir. Aktive edilen fagositik lökositlerden bol miktarda superoksit üretilerek, fagozom içine ve buldukları ortama verilebilir. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatabilir (172, 177-179).

### **2. 3. 1. 2. Hidrojen Peroksit**

$O_2^-$ 'ye bir elektron eklenirse veya oksijenin direkt olarak indirgenmesiyle hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) oluşur. Metal iyonlarının varlığında hidroksil radikallerinin oluşumuna neden olmasından dolayı radikal olmamakla birlikte reaktif oksijen kategorisine sokulur (171, 180). Hidrojen peroksit membranlardan kolaylıkla geçip hücreler üzerinde bazı fizyolojik rollere sahiptir. Hidrojen peroksit özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek, yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturabilir. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipit peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilmektedir (171, 178, 179).

### **2. 3. 1. 3. Hidroksil Radikali**

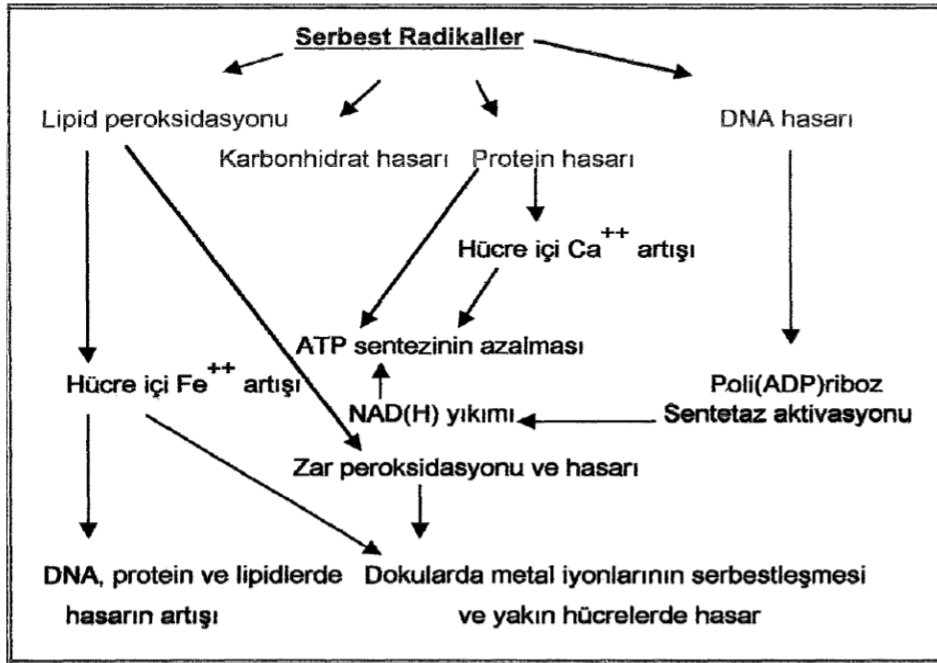
En tehlikeli reaktif oksijen radikalidir. Fagositoz ve çeşitli enzimatik katalizlerde üretilir ve normal biyolojik fonksiyonlarda da kullanılır (171, 177, 178).  $H_2O_2$ 'nin U.V. ışığına maruz kalması ile de hidroksil radikali oluşabilmektedir. Hidroksil radikali en reaktif radikal olarak bilinmekte ve her moleküle hücum ederek hasar meydana getirebilmektedir. DNA'nın purin ve pirimidin bazları ile etkileşebilmektedir (176). Özellikle araşidonik asitler gibi doymamış yağ asit yan zincirlerinden hidrojen atomunu çıkartmakta ve sonuçta su oluşumunu sağlamaktadır. Hidroksil radikali ile oluşan en iyi tanımlanmış biyolojik hasar, "lipit peroksidasyonu" olarak bilinen serbest radikal zincir reaksiyonudur (177, 178).

### **2. 3. 1. 4. Singlet Oksijen**

Oksijenin uyarılmış şekline "singlet oksijen" denir. Reaktivitesi çok yüksek bir oksijen türüdür. Doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksil radikalini oluşturur ve hidroksil radikali kadar etkin bir şekilde lipit peroksidasyonunu başlatabilir. Özellikle karbon-karbon çift bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır. Bu bileşiklerin başında bilirubin, tokoferoller, fenoller, karotenler, DNA, kolesterol NADPH, triptofan, metionin, sistein ve histidin gibi bileşikler gelmektedir. Bilirubin karotenler, histidin, metionin ve bazı kimyasal bileşikler singlet oksijeni temizleyerek ona bağlı tepkimeleri inhibe edebilir (177).

### 2. 3. 2. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri

Serbest radikaller hücrel lipit, protein ve DNA'da çeşitli derecelerde hasara neden olabilir. Oksijen endoplazmik retikulumda, mitokondride, plazma membranında peroksizomlarda ve sitozollerde oksidatif enzimler tarafından superoksit anyonuna dönüştürülmektedir. Oluşan superoksit anyonları, SOD enzimi ile hidrojen peroksit'e dönüştürülür. Oluşan superoksit anyonları,  $\text{Cu}^{+2}/\text{Fe}^{+2}$  ile katalize olan Fenton reaksiyonu yoluyla hidroksil radikalleri oluşur. Burada ayrıca superoksit anyonları,  $\text{Fe}^{+3}$ 'ün  $\text{Fe}^{+2}$ 'ye indirgenmesini katalize eder ve Fenton reaksiyonu sayesinde hidroksil oluşumuna katkıda bulunurlar (Şekil 5) (175).



Şekil 5. Serbest radikallerin hasar oluşturma mekanizmaları (176)

#### 2. 3. 2. 1. Membranların Lipid Peroksidasyonu

Serbest oksijen radikalleri, hücre ve organel zarlarında lipit peroksidasyonuna neden olabilir. Hücre zarlarında bulunan poliansature yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyona uğrayabilmektedirler (177). Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür (179). Hidroksil radikali, fosfolipaz A<sub>2</sub>'yi stimule ederek araşidonik asit salınımına yol açar. Araşidonik

asitten de bir hidrojen atomu çıkararak lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir. Başlangıçta serbest radikaller, bir lipid karbon merkezli radikalden üretilmiş olan karbon zincirinden, hidrojen atomunu açığa çıkarmaktadır. Sonuçta karbon merkezli radikal oluşur. Bu lipid radikal, moleküler oksijen ile reaksiyona girer, linoleik asit peroksil radikali oluşmasını sağlar ve oksidasyon zincirini başlatır. Üretilen peroksil radikali elektronları ve diğer duyarlı yağ asitlerini alarak lipid radikal ve lipid hidroperoksitleri oluşturur (171). Bunun yanında superoksit lipid peroksidasyonunu bitirici etki de gösterebilir. Membran Fosfolipitlerinin peroksidasyonu permeabilitede ve membran akışkanlığında değişikliklere yol açmaktadır. Permeabilite özelliklerinin değişmesi anormal  $Ca^{+2}$  girişine yol açarak hücre fonksiyonlarının bozulmasına ve oksidasyonla fosforilasyonun ayrılmasına yol açabilir. Sinir lifleri etrafındaki miyelin kılıfı peroksidasyonu (demyelinizasyon) nörolojik hastalıklara neden olabilmektedir. Peroksil radikali, poliansature yağ asidi moleküllerini okside edebilmekte, radikallerin ve aldehitlerin ortaya çıkmasına neden olan hidroperoksitlerin meydana gelmesini sağlayabilmektedir. Aldehitler ise bu maddelerin yıkılması sırasında oluşmakta ve uzun ömürlü olduklarından hücre hasarının yayılmasına neden olabilmektedirler. Bu aldehitler arasında en iyi bilinenleri malondialdehit (MDA) ve 4 hidroksi alkenal'dir (181). Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu MDA oluşumu ile sonuçlanır. MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir, ancak lipid peroksidasyonunun derecesi ile korelasyon gösterir. Peroksidasyonla oluşan MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyonuna neden olur. Bunun sonucunda da deformasyon iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özellikleri değişmektedir (177, 182).

### **2. 3. 2. 2. Proteinlerin Oksidatif Modifikasyonu**

Proteinler, serbest radikal hasarına duyarlı moleküllerdir. Serbest radikallerin etkisi ile bu moleküllerin sulfhidril gruplarında hasar meydana gelebilmektedir. Protein moleküllerinin yapısı değişmekte ve oksidasyon reaksiyonları sonucu büyük agregatlar haline dönüşebilmektedir (183).



### **2. 3. 2. 3. Karbonhidratlara Etkileri**

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksid, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelmektedir (121). Enflamatuar eklem hastalıklarında sinovial sıvıya geçen lökositlerden ekstrasellüler sıvıya salınan  $H_2O_2$  ve  $O_2^-$  buradaki mukopolisakkarit olan hyaluronik asidi parçalamaktadır (121, 177).

### **2. 3. 2. 4. Total Oksidan Durum (TOS)**

Reaktif oksijen türleri (ROS) metabolik ve fizyolojik süreçlerde üretilip ve aynı zamanda dış ortamdan alınıp, zararlı oksidatif reaksiyonları nedeniyle enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan mekanizmalar aracılığıyla ortadan kaldırılan moleküllerdir. Bazı koşullar altında, oksidanlardaki artış ve antioksidandaki azalma önlenemez ve oksidatif antioksidan denge oksidatif duruma doğru kayar ve birçok hastalığın etyopatogenezinde rolü olan oksidatif stres gelişir (186). En önemli endojen oksidan moleküller elektron taşıma zincirindeki ksantinoksidaz, monoaminoksidaz ve glikolat aracılığıyla oluşur. Erişkinde dinlenme halinde 3,5 mL  $O_2/kg/dk$  ROS üretilir. Egzersiz esnasında ise  $O_2$  alınımı artmasına bağlı bu miktar 10 kat artmaktadır (187). İnflamasyonda myeloperoksidaz ve NADPH oksidaz aktivitesi oksidan yükü arttırır. U.V. ışınları ve sigara eksojen oksidanlara örnek olabilir. Sigara içimi esnasında her bir içe çekilen duman birimi 10-15 kata kadar fazla oksidan maddeler içermektedir. Hidroksil radikal ( $OH^-$ ) ve sonraki radikaller hücre için en zararlı ROS biyomoleküllerden olup, onlar ağırlıklı olarak oksidatif hasardan sorumludur.

### **2. 3. 3. Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Savunma Mekanizmaları**

#### **2. 3. 3. 1. Antioksidan Sistemler**

Vücutta reaktif oksijen türlerinin düzeylerini kontrol altında tutmak ve oluşturabilecekleri hasarları engellemek için birçok savunma mekanizmaları bulunur (187).

Serbest radikalleri metabolize eden, serbest radikal oluşumunu önleyen veya serbest radikallerin temizlenmesini arttıran bu maddelere “antioksidan” maddeler denilir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ya da reaktif oksijen türlerini toplayarak lipit peroksidasyonunu inhibe ederler. Aerobik hücrelerde pek çok antioksidan sistem bulunmaktadır. Bu antioksidanlar endojen ve ekzojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır (177, 187).

Endojen antioksidanlar, enzim olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenir. Enzim olan antioksidanlar superoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT), glutatyon transferaz (GST), glutatyon reduktaz ve mitokondrial oksidaz sistemidir. Enzim olmayanlar ise, bilirubin albumin, ürik asit, alfa tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir. Bunlar oksijen radikallerine karşı ilk savunma sistemini oluştururlar. Ekzojen antioksidan olarak da allopurinol, folik asit, vitamin B12, vitamin B2, vitamin B5, C vitamini, E vitamini, flavinoidler, asetilsistein, mannitol, adenozin kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar ve demir şelatörleri sayılabilir (172, 177, 187).

Antioksidanlar ayrıca primer, sekonder ve tersiyer olarak da sınıflandırılır. Yeni serbest radikal formasyonunu önleyen antioksidanlar primer antioksidanlar olarak isimlendirilir. Örnek olarak SOD, GPx, metal bağlayan proteinler, ferritin, seruloplazmin, demir, hemopeksin ve haptoglobulin gösterilebilir. Bazıları ise metal iyonları ile reaksiyona girebilecek olan peroksitleri yok ederek serbest radikallerin oluşumunu önlemektedirler. Sekonder antioksidanlar, zincir kırıcı reaksiyon ile serbest radikalleri uzaklaştırmaktadırlar. Bilirubin, E vitamini, C vitamini, beta karoten, ürik asit ve albumin gibi maddeler bu sınıfta yer alırlar. Lipit peroksidasyon zincirini kıran bir antioksidan olan alfa tokoferol hücre zarında bulunur (188). Askorbik asit suda erimekte ve radikal toplayıcı olarak rol almakta, E vitamininin etkisini arttırmaktadır. Ürik asit ksantin oksidazı inhibe ederek serbest radikal oluşumunu azaltır. Tersiyer antioksidanlar, serbest radikaller tarafından hasar gören biyomolekülleri onarmaktadırlar. DNA’yı onaran enzimler de bu grupta yer alır (189).

### 2. 3. 3. 1. 1. Enzimatik Antioksidanlar

#### 2. 3. 3. 1. 1. 1. Superoksit Dismutaz (SOD)

SOD, substrat olarak serbest oksijen radikallerini kullanan ve superoksiti hidrojen peroksite çeviren bir metalloenzimdir. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki superoksit düzeyleri kontrol altında tutulur. Lösemi, iskemi, hepatit, musküler distrofi, respiratuar distres sendromu böbrek yetmezliği, Fankoni anemisi, akciğer enfeksiyonları ve motor nöron hastalıkları gibi serbest radikal açığa çıkaran olaylarda ve hastalıklarda koruyucu rol oynadığı düşünülür. Aynı zamanda SOD, lipid peroksidasyonunu da inhibe eder (177).

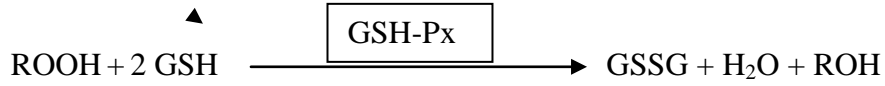
#### 2. 3. 3. 1. 1. 2. Katalaz (CAT)

Katalaz peroksizomlarda bulunan bir enzimdir. Hidrojen peroksiti su ve oksijene ayırmaktadır. Katalaz hücreyi kendi respiratuar patlamasına karşı koruyucu olarak hizmet etmektedir (187).

#### 2. 3. 3. 1. 1. 3. Glutasyon Peroksidaz (GPx)

GPx, pek çok hücrede sitozollerde bulunan bir enzimdir. Sitozol ve mitokondrilerde SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksit ve yağ asidi hidroperoksitlerini ortadan kaldırmaktadır. Kapasitesi sınırlıdır. Düşük hidrojen peroksit konsantrasyonunda çalışır (177). Glutasyon peroksidaz fagositik hücrelerde önemli fonksiyonlara sahiptir. Diğer antioksidanlarla birlikte GPx, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu, fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de GPx oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GPx aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açmaktadır (177). Yapılan çalışmalarda kord kanı glutasyon peroksidaz ve total antioksidan düşüklüğü olan bebeklerde DNA hasarının yüksek olduğu gösterilmiş ve doğumda oksijen radikallerinin oluşumunun arttığı belirtilmiştir (190).





#### 2. 3. 3. 1. 1. 4. Glutatyon-S-Transferazlar (GST)

Organizmaya giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda görev alırlar (177).



#### 2. 3. 3. 1. 1. 5. Glutatyon Redüktaz (GR)

Glutatyon peroksidaz tarafından hidrojen peroksit ve diğer lipit peroksitlerin yükseltgenmesi sırasında glutatyon, okside glutatyona dönüşmektedir. Oksidasyona uğramış bu yapıyı tekrar kullanmak için redükte glutatyona dönüştüren enzim glutatyon redüktazdır (176).



#### 2. 3. 3. 1. 1. 6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz superoksit radikalini suya çevirerek etki göstermektedir.

#### 2. 2. 3. 1. 2. Nonenzimatik Antioksidan Savunma Sistemleri

##### 2. 3. 3. 1. 2. 1. Glutatyon (GSH)

Önemli bir intraselüler antioksidandır ve ekstraselüler mesafede çok düşük konsantrasyonlarda bulunur. GSH'ya antioksidan özelliğini sisteinin tiyol grubu kazandırır. Glutasyon, OH<sup>-</sup> gibi reaktif oksijen türevlerinin temizleyicisidir. Serbest radikal ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korumaktadır (191).

### **2. 3. 3. 1. 2. 2. Vitamin C (Askorbik Asit)**

Çok güçlü bir indirgeyici ajan olan C vitamini superoksit ve hidoksil radikalleri ile kolayca reaksiyona girerek onları temizler, antiproteazların oksidan maddeler ile inaktive olmasını engeller. C vitamininin antioksidan etkisinin yanında pro-oksidan etkisi de söz konusudur (192).

### **2. 3. 3. 1. 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, lipit peroksidasyonunu inhibe eder (193).

### **2. 3. 3. 1. 2. 4. Vitamin A (Beta Karoten)**

A vitaminin metabolik bir ön maddesi olan ve yağda çözünen bir antioksidan olan beta karoten son derece güçlü singlet oksijen temizleyicisidir. Serbest radikaller biyolojik hedeflerle interaksiyona girmeden önce direkt olarak onları yakalayabilir ve aynı zamanda zincir kıran bir antioksidan olarak etki ederek de peroksit radikalleri oluşumunu engeller (190).

### **2. 3. 3. 1. 2. 5. Seruloplazmin**

Plazma antioksidan aktivitesinin önemli bir kısmı, bakır içeren ve taşıyan akut faz proteini seruloplazminden kaynaklanmaktadır. Seruloplazmin oksijen radikal ara ürünleri

alınmaksızın ferooksidaz aktivitesi göstererek demiri okside eder. Böylece Fenton reaksiyonunu ve serbest radikal oluşumunu inhibe eder (175).

### **2. 3. 3. 2. Total Antioksidan Sistem (TAS)**

Normal fizyolojik koşullarda organizma, endojen veya ekzojen nedenlerle oluşan serbest radikaller ve bunlara bağlı oluşan oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan defans sistemine sahiptir. Vücudun oluşan oksidan durumlara karşı redoks ayarını sürdürebilmesinde kan çok önemlidir. Çünkü kan antioksidanların vücudun tüm bölümlerine taşınmasını ve dağıtımını gerçekleştirir (187). Total antioksidan kapasiteye en büyük katkı plazmadaki antioksidan moleküllerden gelmektedir. Plazmada bilirubin, serbest demiri toplayan transferin ve seruloplazmin, ürik asit, E vitamini, C vitamini yanında serbest radikalleri tutan zincir kırıcı antioksidanlarda bulunur. Albumin, ürik asit, askorbik asit insan plazmasındaki total antioksidan kapasitenin %85'inden fazlasını oluşturmaktadır (194). Plazmada antioksidanlar bir etkileşim içinde bulunurlar. Genel olarak bu maddeler sinerjistik olarak çalışmaktadırlar. Bu etkileşimden dolayı, bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla bir etki oluşmaktadır (195).

### **2. 3. 4. Oksidatif Stres**

Organizmada normal şartlarda da oluşan serbest radikal üretimi, değişik savunma mekanizmaları ile ortadan kaldırılmaktadır. Bu nedenle patolojik bir durum oluşmaz. Oksidan stres, serbest radikal oluşum hızı ve serbest radikal miktarı savunma mekanizmalarının gücünü aştığı zaman 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 etkilenmez. 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 açar (196).

### **3. MATERYAL VE METOT**

#### **3. 1. Hasta Grubu ve Çalışma Protokolü**

Çalışma grubuna; Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi çocuk endokrinoloji polikliniğine başvurmuş, ergenlik dönemine girmemiş, en az 1 yıl önce tanı almış 30 hasta, kontrol grubuna ise genel çocuk polikliniğine sağlıklı çocuk muayenesi için getirilen 30 sağlam çocuk dahil edildi. Çalışmaya alınan tüm çocuklardan detaylı anamnez alındıktan sonra fizik muayeneleri yapıldı. Araştırma için seçilen hastalardan serum S100B proteini düzeyi incelemesi için 3 cc venöz kan örnekleri alındı. Venöz kan örnekleri 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra şekilli elemanlar tüp ile birlikte atıldı, üstteki serum örnekleri -20<sup>0</sup>C de saklandı. Elektrokemiluminesans immunoassay (ECLIA) yöntemi ile serum S100B proteini düzeyi ölçüldü. Oto-analizörde kolorimetrik olarak Erel metoduyla total antioksidan seviye (TAS) ve serum total oksidan status (TOS) ölçüldü. Sonuçlar SPSS istatistik programı kullanılarak, Student T testi ile incelenip, literatürle karşılaştırıldı. Her hastanın yaşı, boyu, kilosu, kan glukoz düzeyi, Tip 1 diyabet ile maruziyet süresi, HbA1c düzeyi, kan fruktozamin düzeyi belirlendi. Kontrol grubuna alınan 30 sağlam çocuğun da yaşı, boyu, kilosu belirlendi. Çalışma için Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun onayı alındı. Çalışmaya alınan çocukların ailelerine çalışma hakkında bilgi verildikten sonra gönüllü onay formu imzalatıldı.

#### **3. 2. Kan Örnekleri**

Çalışmanın başında hasta grubundaki 30 çocuktan kan glukoz düzeyi, HbA1c ve fruktozamin düzeyi belirlenmesi için otomatik kan sayımı cihazı (Abbot Celldyn 3500 III, USA) ile kan sayımları yapıldı. Araştırma için seçilen hastalardan 3 cc venöz kan örnekleri alındı. Venöz kan örnekleri 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra şekilli elemanlar tüp ile birlikte atıldı, üstteki serum örnekleri -20<sup>0</sup>C de saklandı.

### **3. 3. S100B Protein Düzeyi Ölçümü**

S100B protein düzeylerinin ölçümünde S100B protein kitleri (Roche®, Almanya) kullanıldı. Bu kitin ölçüm aralığı 0,005–0,105 µg/L arasındaydı. Analizler Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim dalı laboratuvarında otoanalizatör cihazında (E-170 Roche®, Almanya) ECLIA (Elektrokemiluminisans immunoassay) yöntemi ile yapıldı.

### **3. 4. Total Antioksidan Seviye**

Örneklerin total antioksidan seviye (TAS) düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm yöntemi örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikal antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanır. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanılır. Sonuçlar mmol Trolox Equivalent/L olarak ifade edildi (182).

### **3. 5. Total Oksidan Status**

Örneklerin toplam oksidan status (TOS) düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyonuna kümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanıldı. Sonuçlar µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Equivalent/L olarak ifade edildi (197).

### **3. 6. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)**

Oksidatif stresin bir göstergesi olarak gösterilen Oksidatif Stres İndeksi (OSİ), Toplam Oksidan Status (TOS) düzeylerinin, Toplam Antioksidan Seviye (TAS) düzeylerine oranının yüzde derecesi olarak ifade edilir. Örneklerin Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplanırken TAS düzeyleri 10 ile çarpılarak TOS düzeyleri ile birimler eşitlenir (197). Sonuçlar Arbitrary Units (AU) olarak ifade edildi.



### 3. 7. Yapılan İstatistiksel Analizler

Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS 18.0 programı (SPSS for Windows, 18.0 SPSS Inc, USA) kullanıldı. One-sample Kolmogorov–Smirnov test ile parametrelerin dağılımlarına bakıldı, normal dağılıma uyum gösterdiği için hasta ve kontrol grubu arasındaki parametrelerin karşılaştırılmasında Student T testi kullanıldı. Hasta ve kontrol grubunun cinsiyet oranlarının karşılaştırılmasında ise nonparametrik test olan Ki-Kare testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verildi. İstatistiksel olarak korelasyon değerlendirmelerinde Pearson Korelasyon testi kullanıldı. P değerleri  $P>0,05$  anlamsız,  $P<0,05$  değeri anlamlı,  $P<0,01$  çok anlamlı,  $P<0,001$  ileri düzeyde anlamlı kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Çalışmamızda hasta grupta yer alan olguların 17'si (%56,7) erkek, 13'ü (%43,3) kadındı. Benzer şekilde kontrol grubunda yer alan olgularında 17'si (%56,7) erkek, 13'ü (%43,3) kadındı (P=1,00). Hasta grubumuzun yaş ortalaması 7,93±1,55, kontrol grubunda 7,70±1,31 olarak bulundu (P=0,53). Kilo ortalaması hasta grubunda 25,2±5,09, kontrol grubunda 24,1±7,96 olarak bulundu (P=0,51). Boy ortalaması hasta grubunda 124,83±9,59, kontrol grubunda 120,63±10,25 olarak bulundu (P=0,107). BMI hasta grubunda 16,05±1,69, kontrol grubunda 16,17±3,18 olarak bulundu (P=0,85). (Tablo 10)

**Tablo 10. Hasta grubu ile kontrol grubunun sosyodemografik verileri**

	<b>Hasta</b> (Ortalama ±SS)	<b>Kontrol</b> (Ortalama ±SS)	<b>p</b>
Yaş (yıl)	7,93 ±1,55	7,70 ±1,31	0,53
Ağırlık (kg)	25,2 ±5,09	24,1 ±7,96	0,51
Boy (cm)	124,83 ±9,59	120,63 ±10,25	0,107
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	16,05 ±1,69	16,17 ±3,18	0,85
Cinsiyet(E/K)	17/13	17/13	1,00

Çalışmaya alınan hasta grubumuzdaki 30 hastanın Tip 1 diyabete maruz kalma süresi ortalama 2,86±1,47 yıl, glukoz düzeyi ortalama 245,98±118,88, fruktozamin düzeyi ortalama 310,23±97,29, HbA1c düzeyi ortalama 10,01±1,93 olarak bulundu. (Tablo 11)

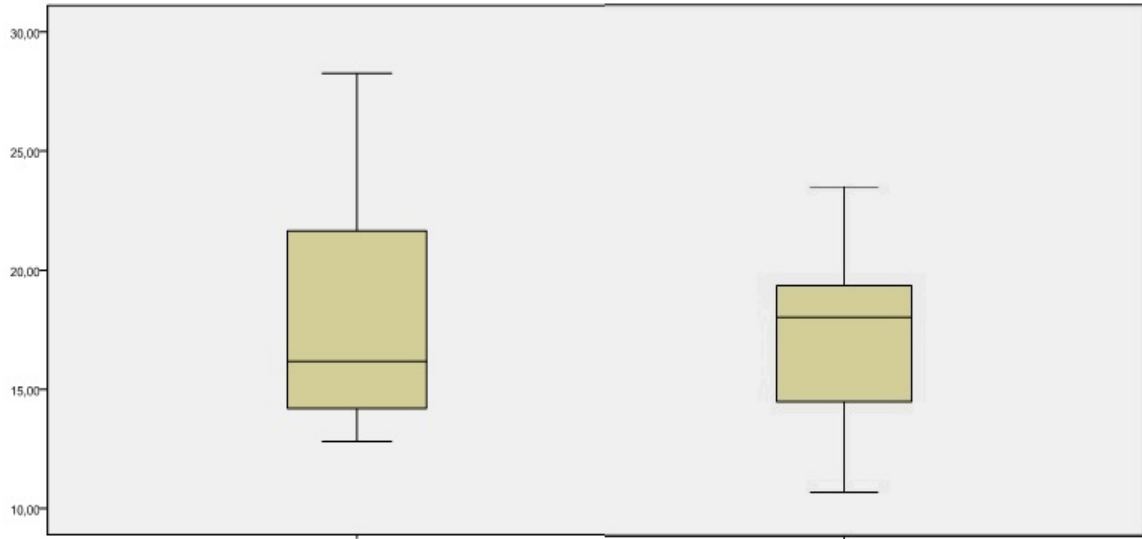
**Tablo 11. Hasta grubunun Maruziyet(Tip 1 DM tanı alma süresi-yıl), Glukoz(mg/dL), Fruktozamin(umol/L), HbA1c verileri**

	<b>Maruziyet</b>	<b>Glukoz</b>	<b>Fruktozamin</b>	<b>HbA1c</b>
Ortalama±SS	2,86±1,47	245,9±118,8	310,23±97,29	10,01±1,93
En Düşük Değer	1,00	72,0	158,0	6,15
En Yüksek Değer	6,00	476,0	515,0	13,7

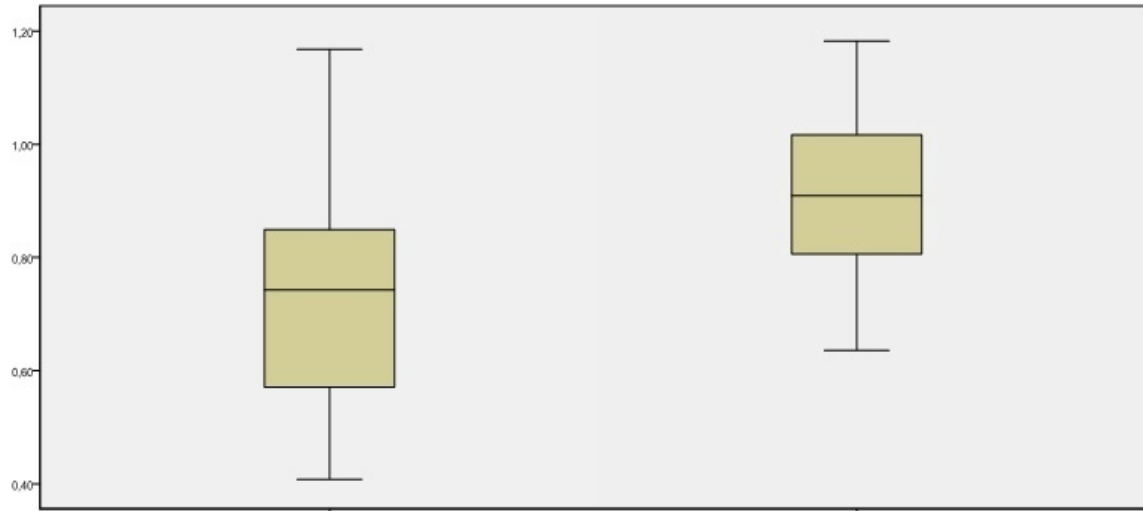
**Tablo 12. Hasta ve kontrol grubu TOS, TAS, OSİ, S100B verileri**

	<b>Hasta</b> (Ortalama±SS)	<b>Kontrol</b> (Ortalama±SS)	<b>p</b>
S100B (µg/L)	118,01±27,85	6,13±2,09	>0,641
TOS (µmol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Eq/L)	18,00±4,46	16,67 ±42,54	0,55
TAS(mmol Trolox Eq/L)	0,72 ±0,17	0,96 ±0,24	<0,0001
OSİ (Arbitrary Units)	1,93 ±0,95	1,93 ±0,95	<0,0001

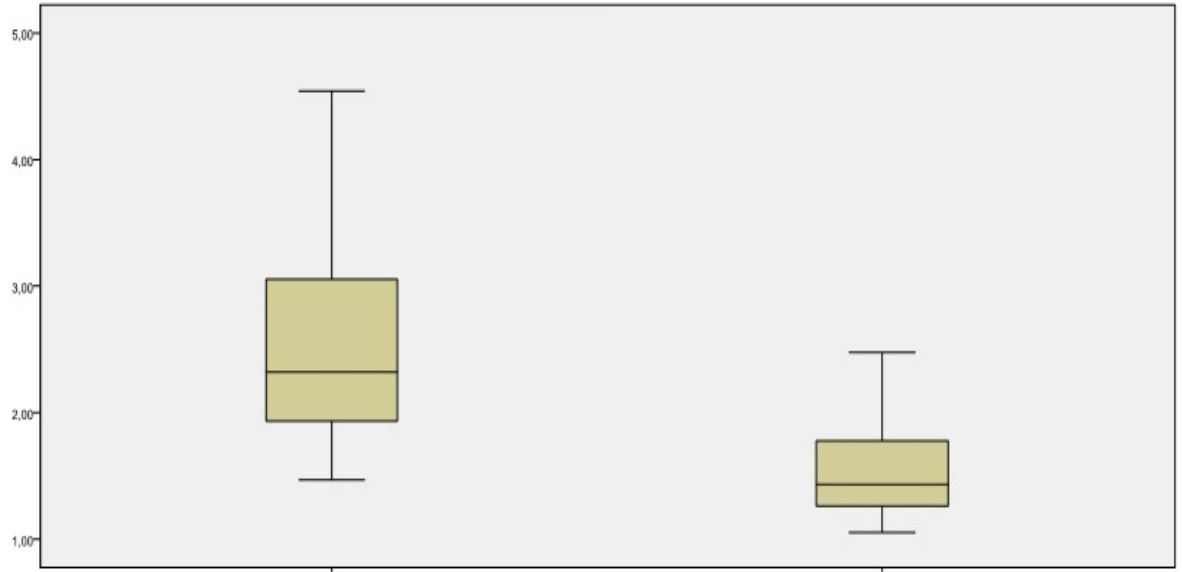
TOS değerleri açısından hasta-kontrol grubu karşılaştırıldığında iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (P=0,55). TAS değerleri açısından hasta-kontrol grubu karşılaştırıldığında iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (P<0,0001). OSİ değerleri açısından hasta-kontrol grubu karşılaştırıldığında iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (P<0,0001). S100B değerleri açısından hasta-kontrol grubu karşılaştırıldığında iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (P>0,641).



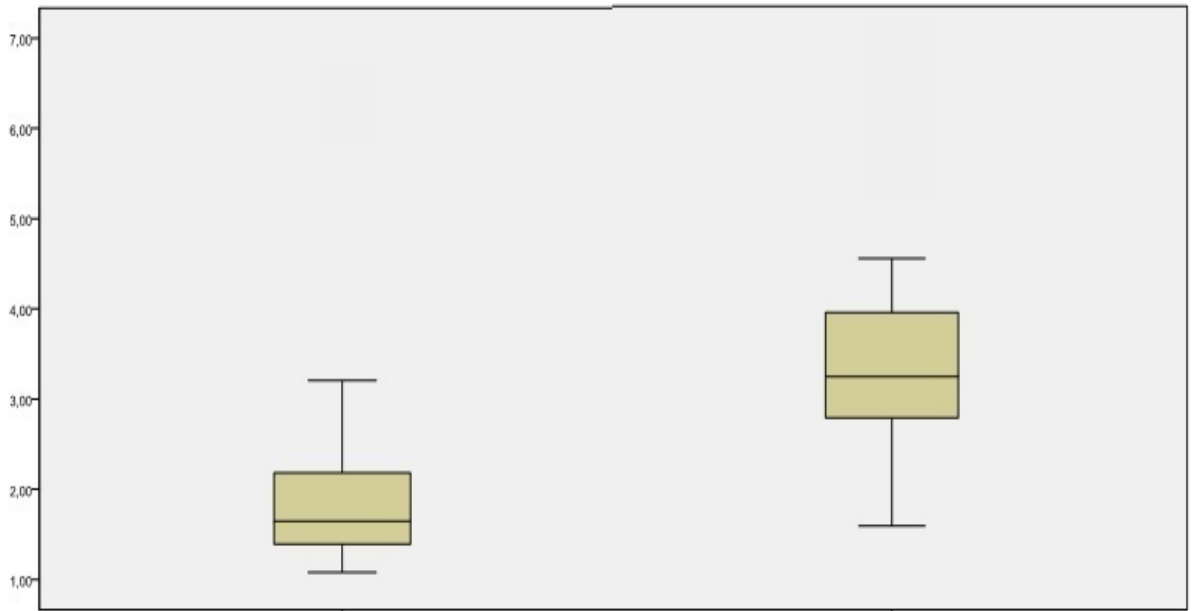
**Şekil 6. Hasta- Kontrol grubunun TOS değerleri ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equivalent/L)**



**Şekil 7. Hasta- Kontrol grubunun TAS değerleri (mmol Trolox Equivalent/L)**



**Şekil 8. Hasta- Kontrol grubunun OSİ değerleri (Arbitrary Units)**



**Şekil 9. Hasta- Kontrol grubu S100B değerleri (µg/L)**

Çalışmamızda S100B ve TOS, TAS değerleri arasında korelasyon saptanmadı. S100B ile OSİ arasında düşük pozitif, S100B ile fruktozamin, maruziyet arasında ise düşük negatif korelasyon; S100B ile HbA1c arasında ise anlamlı negatif korelasyon saptandı ( $r = -0,372$ ) ( $P=0,043$ ). S100B ile yaş arasında düşük pozitif korelasyon saptandı. TOS ile OSİ arasında yüksek pozitif korelasyon saptandı. HbA1c ile fruktozamin arasında yüksek pozitif korelasyon saptandı. Çalışmamızda maruziyet ile S100B arasında anlamlı negatif korelasyon saptanmıştır ( $r = -0,12$ ) ( $P=0,043$ ).

## 5. TARTIŞMA

Tip 1 DM'li hastalarda, hastalığın gelişme sürecinde ve hastalık sırasında kan glukozunun yüksek seyretmesi oksidatif stresin artmasına ve buna bağlı gelişen nörotransmitterlerde değişikliğe yol açabilmektedir. Tip 1 DM'e giden süreçte çocuklarda sabit glisemik kontrol sağlanmadığından hiperglisemi ve hipoglisemi dönemlerine tekrarlı maruz kalma sık görülür. Bu nedenle metabolik bozuklukların gelişmekte olan beyine potansiyel etkileri söz konusu olmaktadır. Serebral glukoz ve insülin düzeylerinin sıklıkla anormal olmasından dolayı santral sinir sistemi etkilenmektedir (198). Hiperglisemi kan beyin bariyerinin işlevini ve serebral kan akımını akut olarak bozmaktadır. Buna karşın, kronik hiperglisemi serebrovasküler hastalık ve nöropati ile ilişkilendirilmektedir (198). Merkezi sinir sisteminin osmotik değişikliklerine glukoz düzeylerindeki dalgalanmaların oluşturduğu etki açık değildir. Yapılan çalışmalarda yüksek glukoz seviyelerine maruz kalınması sonucu oksidatif stresin geliştiği bildirilmiştir (13, 218, 219). Oksidatif stres basit bir şekilde, vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak ifade edilmektedir. Yapılan bir çalışmada yüksek glukoz maruz kalındığında nöronal doku hasarı gözlenmiş ve bu oksidatif hasarla sonuçlanan serbest radikal üretimine bağlanmıştır (199). Çalışmamızda oksidatif stres balirteçlerinden OSİ anlamlı olarak yüksek, TOS anlamlı olarak düşük saptanmıştır. Bu durum diyabetli hastalarda nonenzimatik glikasyon, enerji metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan metabolik stres, sorbitol yol aktivitesi, hipoksi ve iskemi-reperfüzyon sonucu oluşan doku hasarının serbest radikal üretimini artırması ve antioksidan savunma sistemini değiştirmesi ile ilişkilendirilebilir.

S-100B proteini esas olarak merkezi sinir sisteminde bulunan astrosit adı verilen hücreler tarafından üretilir. Nöronlar üzerinde parakrin ve otokrin etki gösteren kalsiyum bağlayıcı peptittir. Nanomolar konsantrasyonlarda nöronun fazla gelişimini uyarırken ekstraselüler mikromolar konsantrasyonlarda ise, proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu uyarır ve apoptozisi indükler. Nörodejeneratif, inflamatuvar ve psikiyatrik hastalıklarda S100B proteininin seviyesi artar. Ayrıca beyin hasarında da beyin omurilik sıvısına (BOS) ve daha sonra kana geçerek seviyesi artmaktadır. Yapılan çalışmalarda, travmatik beyin hasarı (201, 203), inme (203), subaraknoid kanama (207), şizofreni (208) ve bakteriyel menenjitli hastalar

(55, 204, 205) ile hipoksik-iskemik ensefalopati ve ventrikül içi kanaması olan prematür bebeklerin (206) serum S100B değerlerinin kontrol gruplarına göre yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca Dana B. Zimmer ve ark. (11) Tip 1 diyabetli hastalarda S100B düzeyini inceleyen çalışmasında; diyabetin S100B üretmeyen dokularda (iskelet kası, kalp, karaciğer ve pankreasta) S100B artışına neden olmadığı ama S100B üreten dokularda (beyin, beyaz yağ dokusu, testislerde) S100B düzeyinde artışa neden olduğu belirtilmiştir. Baydaş G. ve arkadaşlarının (13) yaptığı deneysel rat çalışmasında, diyabetik hale getirilen ratlar ile normal ratlar karşılaştırılmış; diyabet oluşturulan grupta glial ve nöronal hasarın belirteci olan S100B'nin ortalama değerleri, kontrol grubundaki normal ratların S100B ortalama değerlerine göre anlamlı artış göstermiştir. Literatürde Diabetes Mellitus'lu hastalarda S100B ilişkisini inceleyen çalışmalar çok azdır ve farklı sonuçlar içermektedir. E. A. McIntyre ve arkadaşlarının (12) yaptığı olgu sunumunda serebral ödem gelişen DKA vakasında S100B konsantrasyonunun arttığı belirtilmiş ve DKA yönetiminde S100B'nin yararlı bir belirteç olduğuna işaret edilmiştir. Roberts JS ve arkadaşlarının (209) yaptığı çalışmada ise serebral ödem gelişen DKA vakalarında S100B'nin artmadığı belirtilmiştir. Kaya C. ve arkadaşlarının (31) yaptığı çalışmada DKA tedavi öncesi ve sonrası S100B düzeyleri hasta grubu ve kontrol grubunda karşılaştırılmış S100B düzeylerinin kontrol grubuna göre arttığı saptanmıştır. Bu durum hiperglisemiye bağlı hücre dışı GABA'nın düşerek genel nöron inhibisyonunu azaltıp nöronal hasarı artırması (200) ve diyabete bağlı glutamat salınımı ve NMDA reseptör aktivitesinin artması ile ilişkili olabilir (210). Artan glutamata bağlı özellikle bir kalsiyum akımı oluşmakta bu da reaktif oksijen türlerini arttırıp transmembran iyon dengesizliğine yol açmaktadır. Buna bağlı olarak serbest radikaller nöron ve glial hücreler içerisinde proteinlerde yapısal ve fonksiyonel değişikliklerle sonuçlanan bir makromolekül akımını aktiflenir. Glial hücreler bu oksidatif harekete yanıt olarak S100B üretirler. Ayrıca Tip 1 diyabette görülen kronik hiperglisemiye bağlı nörotransmitter sistem ile birlikte gelişmekte olan beyinde myelin oluşumunu bozulabilmektedir (133, 134). Buna bağlı olarak Tip 1 diyabet hastalarında S100B düzeylerinde artış görülebilir. Fakat bizim çalışmamızda nöronal hasar belirteci olan S100B düzeyi anlamlı yükseklik tespit edilememiştir. Bu durumun çalışmaya alınan hastaların HbA1c düzeyi ortalamaları alındığında orta kontrollü olması ile ilişkilendirilebilir. Hastaların metabolik kontrolünün iyi olması nöronal hasar belirteci olan S100B düzeyinin anlamlı yüksek çıkmamasında etken olabileceğini düşünmekteyiz. S100B ile HbA1c arasında anlamlı negatif korelasyon saptanmış olması bu sonucumuzu desteklemektedir.



Serbest radikaller biyolojik sistemlerde sürekli olarak üretilmektedir (211). Son yıllarda yapılan çalışmalar, artmış serbest oksijen radikallerinin birçok hastalığın patogenezinde rol aldığını göstermektedir (212-214). Oluşan serbest radikaller hücre harabiyetini artırmaktadır (215). Serbest radikaller ve lipid peroksidasyon gibi oksidanların zararlı etkilerini önlemek için vücutta bazı savunma mekanizmaları geliştirilmiştir (215, 216). Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbohidratlar gibi tüm önemli bileşenlere etki ederler ve yapılarının bozulmasına neden olurlar (217). Hiperglisemi esnasında oksidatif hasarla sonuçlanan serbest oksijen radikallerinde de bir artış meydana gelir. Bu radikaller hücre membranının lipoperoksidasyonu ve okside proteinlerin DNA hasarı yapmasıyla nöronal hücre ölümüne katkıda da bulunurlar (184). Yüksek glukoz seviyelerine maruz kalınması sonucu oksidatif stres gelişmekte ve hiperglisemi esnasında oksidatif hasarla sonuçlanan serbest oksijen radikallerinde de bir artış meydana gelmektedir (13, 218, 219). Dave GS ve arkadaşlarının (18) yaptığı çalışmada, Tip 1 ve Tip 2 diyabetli hastalarda hücresel düzeyde oksidatif stresin, kontrol grubuna göre arttığı bulunmuştur. Başka bir çalışmada ise William H. Hoffman ve arkadaşları (16) Tip 1 DM'a bağlı oksidatif stresin oluştuğu ve oluşan oksidatif strese bağlı tekrarlayan DKA ataklarının ve fetal beyin ödeminin geliştiğini belirtmişlerdir. Vantygheem MC ve arkadaşlarının (17) yaptığı çalışmada ise oksidatif stresin DKA gelişimine neden olduğu belirtilmiş ve DKA'da prooksidan MDA (malondialdehyde) düzeyinin arttığı bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada intra uterin glukoz artışı ve ona bağlı ürünlerin artışının embriyotoksik olduğu ve oksidatif stresi arttırdığı, oksidatif stres artışının ise apoptozisi arttırdığı ve teratojen etkiye sebep olduğu bildirilmiştir (218). Oksidatif strese en duyarlı yapılardan biri olduğu da bilinen beta hücrelerinde gözlenen hasarın, hipergliseminin toksik etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (199). Brownlee ve arkadaşları (19) hiperglisemi sırasında süperoksit yapımının, diyabetik komplikasyonların patogenezinde önemli bir role sahip olduğunu saptamıştır. Oksidanları inaktif hale getiren maddelere antioksidanlar denir. Normal sağlıklı kişilerde serbest radikaller/antioksidanlar denge halindedir. Diyabette ise bu denge serbest radikaller lehine bozulmuştur (20, 105). Yapılan çalışmalarda diyabette antioksidan enzimlerin arttığı veya azaldığı şeklinde raporlar vardır. Ancak diyabette kesin olarak antioksidan sistemlerde bozukluk vardır (20, 55). Tip 1 ve Tip 2 diyabetli hastalarda GPx, katalaz ve GSH gibi antioksidanların değerlendirildiği bir çalışmada, diyabetli grupta

antioksidanlar kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur (18). Faure P. ve arkadaşlarının (21) yaptığı çalışmada diyabetik ketoasidozlu hastalarda ölçülen antioksidanlar yine kontrol gruplarına göre düşük bulunmuştur. Bununla birlikte diyabette antioksidan olan SOD düzeylerinin arttığı, değişmediği veya azaldığı şeklinde birbiriyle çelişen çalışmalarda mevcuttur (20, 22, 45, 55). Tip 2 diyabetli hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada ise diyabetli hastalarda antioksidan enzim olan katalaz aktivitesinde artma olduğu saptanmıştır (20). Ancak yapılan başka çalışmalarda antioksidan enzimlerden serum katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon reduktaz düzeyinin azalmış olduğu vurgulanmaktadır (20, 22, 55). Total antioksidan kapasitenin ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler verir. Bu yüzden kanın antioksidan durumunu saptamada, bireysel antioksidanlardan çok bunların toplam antioksidan değerini veren toplam antioksidan kapasite ölçümü yaygınlaşmaktadır (58, 172). Çalışmamızda Tip 1 Diabetes Mellitus'lu hastalarda TOS kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmayıp anlamlı sonuç elde edilemedi. TAS ve OSİ kontrol grubuna göre daha yüksek bulunarak anlamlı sonuç elde edildi. Bu durum diyabet hastalarında nonenzimatik glikasyon, enerji metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan metabolik stres, sorbitol yol aktivitesi, hipoksi ve iskemi-reperfüzyon sonucu oluşan doku hasarının serbest radikal üretimini arttırması ve antioksidan savunma sistemini değiştirmesi ile ilişkilendirilebilir.

Sonuç olarak; Tip 1 Diabetes Mellitus'lu hastalarda, hastalığın gelişme sürecinde ve hastalık sırasında uzun süreli yüksek kan glukoz konsantrasyonlarına maruz kalmaları oksidatif stresin artmasına ve bu artışa bağlı gelişen nörotransmitterde değişikliklere yol açabilmektedir. Çalışmamızda oksidatif stres belirteçlerinden OSİ anlamlı olarak yüksek, TAS anlamlı düşük saptanmıştır. Fakat nöronal hasar belirteci olan S100B düzeyi anlamlı yükseklik tespit edilememiştir. Bu durumun çalışmaya alınan hastaların HbA1c düzeyi ortalamaları alındığında orta kontrollü olması ile ilişkilendirilebilir. Hastaların metabolik kontrolünün iyi olması nöronal hasar belirteci olan S100B düzeyinin anlamlı yüksek çıkmamasında etken olabileceğini düşünmekteyiz. S100B ile HbA1c arasında anlamlı negatif korelasyon saptanmış olması bu sonucumuzu desteklemektedir.

## 6. SONUÇ

Bu çalışma Tip 1 Diabetes Mellitus hastalarında S100B, TAS, TOS ve OSİ ilişkisi değerlendirilmiştir. Çalışmamızda Tip 1 Diabetes Mellitus'lu hastalarda S100B kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmayıp ve anlamlı sonuç elde edilemedi. TOS kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmayıp ve anlamlı sonuç elde edilemedi. TAS ve OSİ kontrol grubuna göre daha yüksek bulunarak anlamlı sonuç elde edildi. Ayrıca çalışmamızda S100B ve TOS, TAS değerleri arasında korelasyon saptanmadı. S100B ile OSİ arasında düşük pozitif, S100B ile fruktozamin arasında düşük negatif, S100B ile maruziyet arasında düşük negatif, S100B ile HbA1c arasında ise anlamlı negatif korelasyon saptandı. S100B ile yaş arasında düşük pozitif korelasyon saptandı. TOS ile OSİ arasında yüksek pozitif korelasyon saptandı. HbA1c ile fruktozamin arasında ise yüksek pozitif korelasyon saptandı. Çalışmamızda oksidatif stres belirteçlerinden OSİ anlamı olarak yüksek saptanmıştır. Fakat yüksek çıkmasını beklediğimiz nöronal hasar belirteci olan S100B düzeyi ve oksidatif belirteçlerden biri olan TOS düzeyi anlamsız saptanmıştır.

Sonuç olarak; Tip 1 Diabetes Mellitus'lu hastalarda, hastalığın gelişme sürecinde ve hastalık sırasında uzun süreli yüksek kan glukoz konsantrasyonlarına maruz kalmaları oksidatif stresin artmasına ve bu artışa bağlı gelişen nörotransmitterde değişikliklere, doku hasarı sonucu serbest radikal üretiminde artışa neden olup antioksidan savunma sisteminde değişikliklere yol açabilmektedir. Çalışmamızda nöronal hasar belirteci olan S100B düzeyi anlamlı yükseklik tespit edilememiştir. Bu durumun çalışmaya alınan hastaların HbA1c düzeyi ortalamaları alındığında orta kontrollü olması ile ilişkilendirilebilir. Hastaların metabolik kontrolünün iyi olması nöronal hasar belirteci olan S100B düzeyinin anlamlı yüksek çıkmamasında etken olabileceğini düşünmekteyiz. S100B ile HbA1c arasında anlamlı negatif korelasyon saptanmış olması bu sonucumuzu desteklemektedir.

## KAYNAKLAR

1. Ake Lernmark. Type 1 Diabetes. *Clinical Chemistry*. 1999; 45: 8 (B) 1331–8.
2. Fiallo-Scharer R, Eisenbarth G. S. Pathophysiology of Insulin-Dependent Diabetes. In: Pescovitz O. H, Eugster E. A. *Pediatric Endocrinology*. 1 edition. Philadelphia (USA): Lippincott Williams and Wilkins. 2004; 403-26.
3. American Diabetes Association: Diagnosis and Classification of DM. *Diab. Care*. 2004; 27: 5-10.
4. R. Donato. Functional roles of S100B proteins, calcium binding proteins of the EF-hand type. *Biochim Biophys Acta*. 1999; 1450: 191– 231.
5. Wilder PT, Rustandi RR, Drohat AC, Weber DJ. S100B (betabeta) inhibits the protein kinase C-dependent phosphorylation of a peptide derived from p53 in a Ca<sup>2+</sup>-dependent manner. *Protein Sci*. 1998 Mar; 7(3): 794-8.
6. Scotto C, Deloulme JC, Rousseau D, Chambaz E, Baudier J. Calcium and S100B regulation of p53-dependent cell growth arrest and apoptosis. *Mol Cell Biol*. 1998 Jul; 18(7): 4272-81.
7. Rothoerl RD, Woertgen C, Holzschuh M, Metz C, Brawanski A, J Trauma. S-100 serum levels after minor and major head injury. 1998 Oct; 45(4): 765-7.
8. Rothermundt M, Peters M, Prehn JH, Arolt V. S100B in Brain Damage and neurodegeneration. *Microsc Res Tech*. 2003; 60: 614–32.
9. Donato R. Intracellular and extracellular roles of S100B proteins. *Microsc Res Tech*. 2003; 60: 540–51.
10. Heinzmann WC, Fritz G, Schafer BW, Schoter WB. S100B Proteins: Structure, Functions and Pathology. *Front Biosci*. 2002; 7: 1356–68.
11. Zimmer DB, Chessher J, Wilson GL, Zimmer WE. S100A1 and S100B expression and target proteins in type 1 diabetes. *Endocrinology*. 1997 Dec; 138(12): 5176-83.
12. EA McIntyre, HD Ebrehe, S. Perros. Cerebral oedema complicating. *Diabetes UK. Diabetic Medicine*. 2000; 17: 807-9.
13. Baydas G, Nedzvetskii VS, Tuzcu M, Yasar A, Kirichenko SV. Increase of glial fibrillary acidic protein and S-100B in hippocampus and cortex of diabetic rats: effects of vitamin E. *Eur J Pharmacol*. 2003; 462: 67–71.

14. Andreoli SP III. Pancreatic involvement in the hemolytic uremic syndrome New York: Marcel Dekker, Inc. 1992; 131-41.
15. Becker DJ. Pediatric Endocrinology. 4th Ed., New York: Marcel Decker inc, 2005: 276-85.
16. Hoffman WH, Siedlak SL, Wang Y, Castellani RJ, Smith MA. Oxidative damage is present in the fatal brain edema of diabetic ketoacidosis. Brain Res. 2011 Jan 19;1369:194-202.
17. Vantuyghem MC, Balduyck M, Zerimech F, Martin A, Douillard C, Bans S. Et al. Oxidative markers in diabetic ketoacidosis. J Endocrinol Invest. 2000 Dec; 23(11): 732-6.
18. Dave GS, Kalia K. Hyperglycemia induced oxidative stres 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.
19. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. Nature. 2001; 414:813-20.
20. Memisogullari R, Taysi S, Bakan E, Capoglu I: Antioxidant Status and Lipid Peroxidation in Type II Diabetes Mellitus. Cell Biochem Func. 2003; 21: 291-6.
21. Faure P, Corticelli P, Richard MJ, Arnaud J, Coudray C, Halimi S, et al. Lipid peroxidation and trace element status in diabetic ketotic patients: influence of insulin therapy. Clin Chem. 1993 May; 39(5): 789-93.
22. Abou-Seif MA, Youssef A. Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients. Clinica Chimica Acta. 2004; 346: 161–70.
23. Sodeman WA, Sodeman's Pathologic Physiology mechanisms of disease. Çevirenler: V.Cesur, N. Kemal. 1. Baskı, Hekimler Birliđi Vak. Türkiye linikleri yayınevi. Ankara 1992; 2
24. Erdoğan G: Diabetes mellitusun tedavisi Bilimsel tıp yayınevi. Ankara 1997; 1
25. Okutur K. Tip I Diabetes Mellitus Hastalarda vücut demir depolar ile metabolik kontrol, insülin rezistans ve mikroalbuminüri arasındaki ilişki. Uzmanlık Tezi 2006; 14-42.
26. Garber A. J: Diabetes Mellitus internal medicine, editor: Stein JH, Mosby Year Book, St Lois, Missouri. 1994; 1391-92.
27. Kölođllu S. Endokrinoloji, Temel ve Klinik, Medical Network, Kölođlu S. Diabetes Mellitus, Ankara, 1996; 1: 367-86.
28. Silink M. Childhood Diabetes: A Global Perspective. Horm Res 2002; 57: 1-5.

29. Gianani R, Eisenbarth GS. The stages of type 1 diabetes: *Immunol Rev.* 2005; 204: 232-49.
30. Becker DJ. *Pediatric Endocrinology*. 3th Ed., New York: Marcel Decker inc, 1996; 583-98.
31. Kaya C, Ataş A, Aksoy N, Evaluation of S-100B, Antioxidant and Oxidative Capacity Before and After the Treatment in Children with Diabetic Ketoacidosis. *ESPE Abstracts 2014*; 82
32. Arslanian S, Drash AL. Insulin dependent diabetes mellitus in the child and adolescent. *Cur Ther Endocrinology Metabolism*. 1994; 5(1): 380-4.
33. Warram JH, Rich SS, Krolewski AS. *Epidemiology and Genetics of Diabetes Mellitus*. 13th Ed., Baltimore, 1994; 201-15.
34. Bilginturan N. Tip I Diabet etyopatogenezi 3. Ulusal Pediatrik Endokrinoloji Kongresi Adana-Türkiye, 1998; 24-32.
35. 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.
36. 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.
37. Eisenbarth GS. *Type 1 Diabetes Mellitus*. 14th Ed., USA: Joslin Diabetes Center, 2005: 399-424.
38. McCrimmon RJ, Ryan CM, Frier BM. Diabetes and cognitive dysfunction. *Lancet* 2012; (9833): 2291-9.
39. Becker DJ. *Pediatric Endocrinology*. 4th Ed., New York: Marcel Decker inc, 2005: 276-85.
40. Sperling MA, Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB. *Nelson Textbook of Pediatrics*. 17th Ed., Philadelphia: WB Saunders Company, 2004; 1947-72.
41. Makita Z, Wassara H, Rayfield E. Hemoglobin AGE: a circulation marker of advanced glycosylation. *Science* 1992; 258(5082): 651-3.

42. 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.
43. 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.
44. Warram JH, Rich SS, Krolevski AS. *Epidemiology and Genetics of Diabetes Mellitus.* 13th Ed., Baltimore, 1994; 201-15.
45. Aydın A, Orhan H, Sayal A, Ozata M, Sahin G, Isimer A. Oxidative stress and nitric oxide related parameters in type II diabetes mellitus: effects of glycemetic control. *Clinical Biochemistry.* 2001; 34: 65–70.
46. Teziç T. Ulusal Diyabet Programı Çocuk ve adölesan çağı diyabet grubu. Çocukluk ve adölesan çağı tip I diyabet mellit. 1997; 1-89.
47. 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.
48. Dahlquist G. Etiological aspects of insulin-dependent diabetes mellitus: an epidemiological perspective. *Autoimmunity.* 1993; 15(1): 61-5.
49. Bhatia V, Wolsdorf J. Severe hypoglycemia in young with IDDM: Frequency and causative factors. *Pediatric.* 1991; 88: 1187-93.
50. Genuth SM: Diabetic ketoacidosis and hyperglycemic hyperosmolar coma. *Current Therapy Endocrinol Metab.* 1994; 5: 400-1.
51. Teziç T. Ulusal Diyabet Programı Çocuk ve adölesan çağı diyabet grubu. Çocukluk ve adölesan çağı tip 1 diyabet mellit, 1997; 1-89.
52. Becker DJ. Complications of insulin dependent diabetes mellitus in childhood and adolescence. *Pediatric Endocrinology.* 3th Ed, New York and Basel: Lifshitz F(ed) Marcel Decker inc, 1996: 583-98.

53. Güler Ö, Teker Z. Tip 1 diyabetli hastalarda ve diyabetik olmayan kardeşlerinde serum leptin düzeyinin kan glukozu, HbA1c, C-peptid, ve diğer parametrelerle ilişkisi. Ç.Ü.T.F. Uzmanlık tezi, Adana, 2001; 21-26.
54. 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.
55. Komosin´ska-Vassev K, Olczyk K, Olczyk P, Winsz-Szczotka K. Effects of metabolic control and vascular complications on indices of oxidative stress in type 2 diabetic patients. Diabetes Research and Clinical Practice 2005; 68: 207–16
56. Foster DW, McGarry JD. The metabolic derangements and treatment of diabetic ketoacidosis. N Eng J Med 1983; 309(3): 159-69.
57. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2006-2007. Pediatric Diabetes, 2006; 7:343-51.
58. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. J. Clinical Biochemistry. 2005; 47: 119-29.
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, Geneva. 2. 1999; 21-38.
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; 38-60.
61. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes, Diabetes Care. 2007; 30: 4–41.
62. Saka HN. Diabetes mellitus. In: Günöz H, Öcal G, Yordam N (Eds), Pediatrik Endokrinoloji (1th edition) Pediatrik Endokrinoloji ve Oksoloji Derneği Yayınları, Ankara; 2003; 415–57.
63. Douek IF, Gillespie KM, Bingley PJ, Gale EA. Diabetes in the parents of children with Type I diabetes. Diabetologia 2002; 45: 495-501.



64. Hanas R, Donaghue K, Klingensmith G, Swift PG. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2006–2007. *Pediatric Diabetes* 2006; 7: 341–2.
65. Cooke D.W, Plotnick L.P. Management of Type 1 Diabetes Mellitus. In: Pescovitz O.H, Eugster E. A, editors. *Pediatric Endocrinology*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2004; 427–49.
66. American Diabetes Association: Insulin Administration. *Diabetes Care*, 2004; 27 (Suppl.1):106–7.
67. Yetkin İ. İnsülin Tedavi İlkeleri. *Türk Diyabet Yıllığı 2002–2003*. Türk Diyabet Cemiyeti Yayını, İstanbul, 2003. 25-51.
68. İmamoğlu Ş. İnsülin Tedavisinde Genel Prensipler. *Türkiye Klinikleri Endokrinoloji Dergisi* 2003; 1 (3): 180–97.
69. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 1999; 22 (01): 5 -19.
70. Silverstein J. et al. Care of Children and Adolescents with Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*, 2005; 28 (1): 186–212.
71. Onkamo P, Vaananen S, Karvonen M, Tuomilehto J. Worldwide increase in incidence of Type I diabetes-the analysis of the data on published incidence trends. *Diabetologia*. 1999; 42: 1395–403.
72. Sperling MA. Diabetes Mellitus. In. *Pediatric Endocrinology*. 2nd ed. (ed Sperling MA). Saunders. Elsevier Science. Philadelphia, 2002; 323–66.
73. Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB. *Nelson Textbook of Pediatrics* 16. edition Philadelphia. 2000; 6 (25): 1767 – 92.
74. Slama G. Type 1 Diabetes: An Overview. In *Textbook of Diabetes* 1 (eds. JC Pickup and G Williams) 3rd edition, Blackwell Publishing, 2003; 3 (1): 3-17.
75. De Block, DeLeeuw IH, Vertommen JJF, Roman RPA, DuCaju MVL et al. thyroid, gastric, adrenal and coeliac autoimmunity and HLA-DQ types in type 1 diabetes, 2001; 126: 236-41.

76. Kavaklı A, Pek H, Bahçecik N. Çocuk Hastalıkları Hemşireliği, Yüce Reklâm Yayın/ Dağıtım A.Ş. İstanbul, 1998; 2: 102–19.
77. Olgun N, Gedik S. Diyabet Tedavisinde Evde Glisemi ve Glikozüri Takibi. Aktüel Tıp Diyabet Forumu, 2003; 8 (2): 25–9.
78. Microvascular and acute complications in IDDM patients: the EURODIAB IDDM Complications Study. *Diabetologia*. 1994; 37 (1): 95-103.
79. Bereket A. İnsüline Bağımlı Diabetes Mellitus'ta Büyüme ve Puberte. III. Ulusal Pediatrik Endokrinoloji Kongresi. Adana-Türkiye, 21-24 Ekim 1998; 62-91.
80. Bello FA, Sotos JF. Cerebral oedema in diabetic ketoacidosis in children. *Lancet* 1990; 336(8706): 64-58.
81. 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.
82. Genuth SM: Diabetic ketoacidosis and hyperglycemic hyperosmolar coma. *Cur Ther Endocrinol Metab*. 1997; 6: 438-47.
83. Neyzi O, Ertuğrul T. *Pediyatri*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 1993: 623–50.
84. 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.
85. 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.
86. 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.
87. Dahlquist G. Environmental factors and type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2001; 24(1): 180-2.
88. Neyzi O, Ertuğrul T. *Pediyatri*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2010; 623–50.

89. Gilgor RS, Lazarus GS. Skin manifestations of diabetes mellitus. Medical Examination Publishing. 1983; 879-93.
90. 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.
91. Greenfield M, Kolterman O, Olefsky J, Reaven GM. Mechanism of hypertriglyceridemia in diabetic patients with fasting hyperglycemia. Diabetologia. 1980; 18(6): 441-6.
92. Saka HN. Pediatrik Endokrinoloji. Ankara: Pediatrik Endokrinoloji ve Oksoloji Derneği Yayınları, 2003; 415-57.
93. 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.
94. 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.
95. Clark CM, Lee AD. Prevention and treatment of the complications of diabetes mellitus. New Eng J Med. 1995; 15(6): 1210-6.
96. 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.
97. Andersan S, Brenner B. Pathogenesis of diabetic glomerulopathy: hemodynamic considerations. Diabetes Metab Rev. 1988; 4(2): 163-77.
98. Chiarelli F, Verrotti A, Morgesel G: Glomerular hyperfiltration increases the risk of developing microalbuminuria in diabetic children. Pediatr Nephrol. 1995; 9(2): 154-8.
99. Danne I, Kordonouri O, Hövener G, Weber B. Diabetic angiopathy in children. Diabet Med. 1997; 14(12): 1012-25.
100. Karavanaki K, Davies AC, Morgan MH, Baum JD. Autonomic function in a cohort of children with diabetes. J Pediatr Endocrinol Metab. 1997; 10(6): 599-602.

101. 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.
102. 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.
103. 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.
104. 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): 482-7.
105. 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.
106. Veldhuis JD. *Williams Textbook of Endocrinology.* 9 th Ed., Philadelphia: W.B. Saunders, 1998; 973-1059.
107. 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.
108. 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.
109. Cockburn DM. Diabetic retinopathy: classification, description and optometric management. *Clin Exp Optom.* 1999; 82(2-3): 59-73.

110. 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.
111. Falck A, Laatikainen L. Diabetic cataract in children. *Acta Ophthalmol Scand*. 1998; 76(5): 238-40.
112. 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.
113. 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.
114. McCall A, Figlewicz D. How does diabetes mellitus produce brain dysfunction? *Diabetes Spectrum*. 1997; 10(1): 25–31.
115. Ryan CM. Memory and metabolic control in children, *Diabetes Care*. 1999; 22(8): 1239–41.
116. Northam EA, Rankins D, Cameron FJ. Therapy insight: the impact of type 1 diabetes on brain development and function. *Nat Clin Pract Neurol*. 2006; 2(2): 78–86.
117. Unger RH, Foster DW, Wilson JD, Kronenberg HM, Larsen PR. *Williams Textbook of Endocrinology*. 16th Ed., Philadelphia: WB Saunders Company, 1998; 973-1059.
118. Becker DJ, Ryan CM. Hypoglycemia: a complication of diabetes therapy in children. *Trends Endocrinol Metab*. 2000; 11(5): 198–202.
119. Bryden KS, Peveler RC, Stein A, Neil A, Mayou RA, Dunger DB. Clinical and psychological course of Diabetes from adolescence to young adulthood: a longitudinal cohort study. *Diabetes Care*. 2001; 24(9): 1536-40.
120. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the developmental progression of long term complications in insulin dependent diabetes mellitus. *N Eng J Med*. 1993; 329(14): 977-86.

121. Desrocher M, Rovet J. Neurocognitive correlates of type 1 diabetes mellitus in childhood. *Child Neuropsychol.* 2004; 10(1): 36-52.
122. Corbitt JR. Cognitive organization for words and colors as related to reading ability level: A developmental approach. *Dissertation Abstracts International.* 1977; 38: 450-1.
123. Lin A, Northam EA, Rankins D, Werther GA, Cameron FJ. Neuropsychological profiles of young people with type 1 diabetes 12 years after disease onset. *Pediatr Diabetes.* 2010; 11(4): 235-7.
124. Braun D, Konrad D, Lang-Muritano M, Schoenle E. Improved glycemic control and lower frequency of severe hypoglycemia with insulin detemir; long-term experience in 105 children and adolescents with type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes.* 2008; 9(4): 382-7.
125. Fox MA, Chen RS, Holmes CS. Gender differences in memory and learning in children with insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) over a 4-year follow-up interval. *J Pediatr Psychol.* 2003; 28(8): 569-78.
126. Ryan CM. Why is cognitive dysfunction associated with the development of diabetes early in life? the diathesis hypothesis. *Pediatr Diabetes.* 2006; 7(5): 289-97.
127. Ferguson SC, Blane A, Wardlaw J, Frier BM, Perros P, Mc Crimmon RJ, Deary IJ. Influence of an early-onset age of type 1 diabetes on cerebral structure and cognitive function. *Diabetes Care.* 2005; 28(6): 1431-7.
128. 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(4): 883-900.
129. Hershey T, Lillie R, Sadler M, White NH. Severe hypoglycemia and long-term spatial memory in children with type 1 diabetes mellitus: a retrospective study. *J Int Neuropsychol Soc.* 2003; 9(5): 740-50.
130. Hershey T, Bhargava N, Sadler M, White NH, Craft S. Conventional versus intensive diabetes therapy in children with type 1 diabetes: effects on memory and motor speed. *Diabetes Care.* 1999; 22(8): 1318-24.

131. Northam E, Anderson P, Werther G, Warne G, Andrewes D. Predictors of change in the neuropsychological profiles of children with type 1 diabetes 2 years after disease onset. *Diabetes Care*. 1999; 22(9): 1438-44.
132. Rovet J, Alvarez M. Attentional functioning in children and adolescents with IDDM. *Diabetes Care*. 1997; 20(5): 803-10.
133. McCarthy AM, Lindgren S, Mengeling MA, Tsalikian E, Engvall JC. Effects of diabetes on learning in children. *Pediatrics*. 2002; 109(1): 9-19.
134. Dahlquist G, Kallen B. School performance in children with type 1 diabetes-a population-based register study. *Diabetologia*. 2007; 50(5): 957-64.
135. Sandler SJ, Figaji AA. Clinical applications of biomarkers in pediatric traumatic brain injury. *Child nervs syst*. 2010; 26: 205-13.
136. Mikonen. Seizure: S100B levels in febril seizures. *European Journal of Epilepsy* Volume 21 Issue 2, Pages 2012; 144-6.
137. Rocha AB, Schneider RF, Grivicich I et al. Role of serum S100B as a predictive marker of fatal outcome following isolated severe head injury or multitrauma in males. *Clin Chem Lab Med*. 2006; 44: 1234-42.
138. S.C. Lee, I.G. Kim, L.N. Marekov et al. The structure of human trichoyalin. Potential multiple roles as a functional EF-hand like calcium-binding protein, a cornified cell envelope precursor, and an intermediate filament-associated (crosslinking) protein, *J. Biol. Chem*. 1993; 268: 1264-9.
139. R.B. Presland, J.A. Bassuk, J.R. Kimball et al. Characterization of two distinct calcium-binding sites in the amino-terminus of human profilaggrin. *J. Invest. Dermatol*. 1995; 104: 218-23.
140. L.C. Stanley, C. Ling, L. White et al. Brain interleukin 1 and S100 immunoreactivity are elevated in Down's syndrome and Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci*. 1999; 86: 7611-9.
141. N. Pozdnyakov, A. Margulis. Identification of effector binding sites of S100B studies with guanylate cyclase and p80, a retinal phosphoprotein. *Biochemistry*. 1998; 37: 1070-8.

142. K.A. Albert, W.C.-S. Wu, A.C. Nairn et al. Inhibition by calmodulin of calcium/phospholipid-dependent protein phosphorylation. *Proc Natl Acad Sci.* 1994; 81: 3622–5.
143. D.B. Zimmer, L.J. Van Eldik. Identification of a molecular target for the calciummodulated protein S100: fructose- 1,6-bisphosphate aldolase. *J Biol Chem.* 1996; 261: 1142–8.
144. G. Sorci, A.L. Agneletti, R. Donato. Effects of S100A1 and S100B on microtubule stability. An in vitro study using triton-cytoskeletons from astrocyte and myoblast cell lines. *Neuroscience.* 2000; 99: 773–83.
145. R.R. Rustandi, D.M. Baldisseri, D.J. Weber. Structure of the negative regulatory domain of p53 bound to S100B. *Nat Struct Biol.* 2000; 7: 570–4.
146. Adami C, Sorci G, Blasi E et al. S100B Expression in and effects on microglia. *Glia.* 2001; 33: 131–42.
147. Berger SW, Van Eldik LJ. S100B Stimulated calcium fluxes in glial and neuronal cell. *Biol Chem.* 1992; 267: 9689–94.
148. Gazzolo D, Marinoni E, Di Iorio R et al. Urinary S100B protein measurements: A tool for the early identification of hypoxic ischemic encephalopathy in asphyxiated full term infants. *Crit care med.* 2004; 32: 131–6.
149. Routsis C, Stamataki E, Nanas S et al. Increased levels of serum S100B protein in critically ill patients without brain injury. *Shock.* 2006; 26: 20–4.
150. S.W. Barger, L.J. Van Eldik, M.P. Mattson. S100 protects hippocampal neurons from damage induced by glucose deprivation. *Brain Res.* 1995; 677: 167–70.
151. Y. Iwasaki, T. Shiojima, M. Kinoshita. S100 prevents the death of motor neurons in newborn rats after sciatic nerve section. *J Neurol Sci.* 1997; 151: 7–12.
152. K.G. Haglid, Q. Yang, A. Hamberger et al. S100B stimulates neurite outgrowth in the rat sciatic nerve grafted with acellular muscle transplants. *Brain Res.* 1997; 753: 196–201.



153. B.S. O'Dowd, W.Q. Zhao, K.T. Ng et al. Chicks injected with antisera to either S100A or S100B protein develop amnesia for a passive avoidance task. *Neurobiol.* 1997; 67: 197–206.
154. R. Ciccarelli, P. Di Iorio, V. Bruno et al. Activation of A1 adenosine or mGlu3 metabotropic glutamate receptors enhances the release of Nerve Growth Factor and S100B protein from cultured astrocytes. *Glia.* 1999; 27: 275–81.
155. R.H. Selinfreund, S.W. Barger, W.J. Pledger et al. Neurotrophic protein S100 stimulates glial cell proliferation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996; 88: 3554–8.
156. J.G. Sheng, R.E. Mrak, S.W.T. Griffin. Glial-neuronal interactions in Alzheimer disease: progressive association of IL-1 microglia and S100 astrocytes with neurofibrillary tangle stage. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1997; 56: 285–90.
157. L.A. Pen, C.W. Brecher, D.R. Marshak. Amyloid regulates gene expression of glial trophic substance S100 in C6 glioma and primary astrocyte cultures. *Mol Brain Res.* 1995; 34: 118–26.
158. H.J. Huttunen, J. Kuja-Panula, G. Sorci et al. Coregulation of neurite outgrowth and cell survival by amphotericin and S100 proteins through RAGE activation. *J Biol Chem.* 2000; 275: 40096–105.
159. S. Fulle, T. Pietrangelo, M. A. Mariggio et al. Calcium and fos involvement in brain-derived Ca<sup>2+</sup> binding protein (S100)-dependent apoptosis in rat pheochromocytoma cells. *Exp Physiol.* 2009; 85: 243–53.
160. R. Donato. S100B multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles. *Int J Bio Chem Cell Biol.* 2001; 33: 637–68.
161. Nagdyman N, Komen W, Ko HK et al. Early biochemical indicators of hypoxic-ischemic encephalopathy after birth asphyxia. *Pediatr Res.* 2001; 49: 502–6.
162. Michetti F, Gazzolo D. S100B protein in biological fluids: a tool for perinatal medicine. *Clin Chem.* 2002; 48: 2097–104.

163. Tskitishvili E, Komoto Y, Tema-Asano K et al. S100B protein expression in the amnion and amniotic fluid in pregnancies complicated by pre-eclampsia. *Mol Hum Reprod.* 2006; 12: 755–61.
164. Marks A, O’Hanlon D, Lei M et al. Accumulation of S100B mRNA and protein in cerebellum during infancy in Down syndrome and control subjects. *Mol Brain Res.* 1996; 36: 343–8.
165. Florio P, Marinoni E, Di Iorio R et al. Urinary S100B protein concentrations are increased in intrauterine growth-retarded newborns. *Pediatrics.* 2006; 118: 747–54.
166. Schulpis KH, Kariyannis C, Papassotiriou I. Serum levels of neural protein S-100B in phenylketonuria. *Clin Biochem.* 2004; 37: 76–9.
167. Wiesmann M, Wandinger KP, Eckhoff D et al. Elevated plasma levels of S-100B protein in schizophrenic patients. *Biol Psychiatry.* 1999; 45: 1508–11.
168. Rothermundt M, Wiesmann M, Missler U et al. S-100B is increased in melancholic but not in non-melancholic major depression. *J Affect Disord.* 2001; 66: 89–93.
169. Grabe HJ, Ahrens N, Rose HJ et al. Neurotrophic factor S100 beta in major depression. *Neuropsychobiology.* 2001; 44: 88–90.
170. Staroverov VN, Davidson ER. Distribution of effectively unpaired electrons. *Chem Phys Lett.* 2000; 330: 161-8.
171. Baykal Y, Gök F, Demir, serbest radikaller ve oksidatif hasar. *Sendrom.* 2002; 14: 94- 100.
172. Minnet C. Çocukluk Çağında B12 vitamin eksikliğinin oksidan antioksidan sistem ve DNA hasarı ile ilişkisi. Uzmanlık tezi, Şanlıurfa, 2006; 50-69.
173. Bayir H, Kagan VE, Tyurina YY et al. Assesment of antioxidant reserves and oxidative stres in cerebrospinal fluid after severe traumatic brain injury in infants and children. *Pediatric Research.* 2002; 51: 571-8.
174. Cirak B, İnci S, Palaoğlu S et al. Lipit peroxidation in cerebral tumors. *Clinica Chimica Acta.* 2003; 327; 103-7.

175. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T, Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon dergisi. 1997; 4: 92-5.
176. Jensen SJ, Oxidative stres and free radicals. Journal of Molecular Structure. 2003; 666: 387-92.
177. Akkuş I. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya; Mimoza yayınları. 1995; 11: 42-5.
178. Kılınç K, Kılınç A, Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. Hacettepe Tıp Dergisi. 2002; 33: 110-8.
179. Yamamoto Y. Role of active oxygen species ant antioxidants in photoaging. Journal of Dermatological Science. 2001; 27: 1-4.
180. Stadtman ER. Metal ion catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanism and biological consequences. Free Radic Biol Med. 1998; 9: 315-25.
181. Yiğit A, Yurdakök M, yenidoğanlarda serbest radikallere bağlı hastalıklar. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi. 1997; 39: 749-65.
182. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. Clin Biochem. 2004; 37: 112–9.
183. McCord JM: Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. Clin Biochem. 1993; 26: 351–7.
184. Hawkins CL, Davies MJ. Generation and propagation of radical reactions on proteins. Biochim Biophys Acta. 2001; 1504: 196– 219.
185. Bowry VW, Mohr D, Cleary J et al. Prevention of tocopherol-mediated peroxidation in ubiquinol-10-free human low density lipoprotein. J Biol Chem. 1995; 270: 5796-863.
186. Diabetes Mellitus and Oxidative Stres (Review article) Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry - Turk J Biochem] 2006; 31 (2); 51–6.
187. Scandalios JG. The rise of ROS. TRENDS in Biochemical Sciences. 2002; 27: 483-6.

188. Stahl W, Sies H. Antioxidant defense: vitamins E and C and carotenoids. *Diabetes*. 1997; 46: 14–18.
189. Serbest oksijen radikalleri-1: Vücuttaki antioksidan sistemler Türk aile hekimliği dergisi. 1999; 3 (1-2): 5-11.
190. Zhao J, Liu XJ, Ma JW et al. DNA damage in healthy term neonate. *Early Hum Dev*. 2004; 77: 89-98.
191. Fang Y-Z, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition*. 2002; 18: 872-9.
192. Burton G, Traber M. Antioxidants action of carotenoids. *J. Nutr*. 1999; 119: 109-11.
193. Makarov VG, Makarova M, Selezneva AI. Studying the mechanism of antioxidant effect of vitamins and flavonoids. *Vopr Pitan*. 2005; 74: 10-3.
194. Romay C, Pascual C, 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.
195. Frank L, Sosenko IR. Failure of premature rabbits to increase antioxidant enzymes during hyperoxic exposure: increased susceptibility to pulmonary oxygen toxicity compared with term rabbits. *Pediatr Res*. 1991; 29: 292-6.
196. 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.
197. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*. 2005; 38: 1103–11.
198. McCall A, Figlewicz D. How does diabetes mellitus produce brain dysfunction? *Diabetes Spectrum*. 1997; 10: 25–31.
199. Baynes JW, Thorpe SR Role of oxidative stress in diabetic complications: A new perspective on an old paradigm. *Diabetes*. 1999; 48(1): 1-9.

200. Ettinger A, Laumark AB, Ostrott RM, Brundell J, Bamgartner WA, Razumovsky AY. A new optical immunoassay for detection of S100B protein in whole blood. *Ann Thoracic Surgeons*. 1999; 68(5)
201. Ingebrigtsen T, Romner B, Marup-Jensen S, Dons M, Lundqvist C, Bellner J et al. The clinical value of serum S-100 protein measurements in minor head injury: a Scandinavian multicentre study. *Brain Inj*. 2000; 14(12): 1047-55.
202. Herrmann M, Vos P, Wunderlich MT, de Bruijn CH, Lamers KJ. Release of glial tissue-specific proteins after acute stroke: A comparative analysis of serum concentrations of protein S-100B and glial fibrillary acidic protein. *Stroke*. 2000; 31(11): 2670-7.
203. Foerch C, Singer OC, Neumann-Haefelin T, du Mesnil de Rochemont R, Steinmetz H, Sitzer M. Evaluation of serum S100B as a surrogate marker for long-term outcome and infarct volume in acute middle cerebral artery infarction. *Arch Neurol*. 2005; 62(7): 1130-4.
204. Duke T, Curtis N, Fuller DG. The management of bacterial meningitis in children. *Expert Opin Pharmacother*. 2003; 4(8): 1227-40.
205. Murayama T, Takahashi A, Asano T, Kato K. Elevated levels of the alpha subunit of GTP-binding protein Go in cerebrospinal fluid of patients with neurological disorders. *J Mol Neurosci*. 1989; 1(1): 27-32.
206. Gazzolo D, Vinesi P, Bartocci M, Geloso MC, Bonacci W, Serra G. et al. Elevated S100 blood level as an early indicator of intraventricular hemorrhage in preterm infants. Correlation with cerebral Doppler velocimetry. *J Neurol Sci*. 1999; 170(1): 32-5.
207. Sanchez-Peña P, Pereira AR, Sourour NA, Biondi A, Lejean L, Colonne C et al. S100B as an additional prognostic marker in subarachnoid aneurysmal hemorrhage. *Crit Care Med*. 2008; 36(8): 2267-73.
208. Rothermundt M, Falkai P, Ponath G, Abel S, Bürkle H, Diedrich M. et al. Glial cell dysfunction in schizophrenia indicated by increased S100B in the CSF. *Mol Psychiatry*. 2004; 9(10): 897-9.

209. Roberts JS, Vavilala MS, Schenkman KA, Shaw D, Martin LD, Lam AM. Cerebral hyperemia and impaired cerebral autoregulation associated with diabetic ketoacidosis in critically ill children. *Crit Care Med.* 2006 34(8): 2217-23.
210. Gupta M, Singh J, Sood S, Arora B. Mechanism of antinociceptive effect of nimodipine in experimental diabetic neuropathic pain. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 2003; 25: 49–52.
211. Horvath I, Donnelly LE, Kiss A. Combined use of exhaled hydrogen peroxide and nitric oxide in monitoring asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998; 158: 1042-6.
212. Engin A, Altan N, Isik E. Erythrocyte glutathione levels in lithium-induced hypothyroidism. *Drugs R D.* 2005; 6(1): 35-40.
213. Yardim-Akaydin S, Sepici A, Ozkan Y, Simsek B, Sepici V. Evaluation of allantoin levels as a new marker of oxidative stress in Behçet's disease. *Scand J Rheumatol.* 2006; 35(1): 61-4.
214. Sies H, de Groot H. Role of reactive oxygen species in cell toxicity. *Toxicol Lett.* 1992; 64: 547-51.
215. Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic Biol Med.* 1990; 9(6): 515-40.
216. Halliwell B. Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. *Biochem Pharmacol.* 1995; 49(10): 1341-8.
217. Babior BM. Phagocytes and oxidative stress. *Am J Med.* 2000 Jul; 109(1): 33-44.
218. Garcia-Patterson A, Erdozain L, Ginovart G. In human gestational diabetes mellitus congenital malformations are related to pre-pregnancy body mass index and to severity of diabetes. *Diabetologia.* 2004; 47: 509-14.
219. Kaneko K, Nakamura A, Yoshida K, Kametani F, Higuchi K, Ikeda S. Glial fibrillary acidic protein is greatly modified by oxidative stress in aceruloplasminemia brain. *Free Radic Res.* 2002; 36: 303–6.