



**T.C.  
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**DİYABETİK AYAK TANILI HASTALARIN KANLARINDAKİ BAZI  
OKSİDAN VE ANTIOKSİDAN DÜZEYLERİ AMPUTASYON  
AÇISINDAN BİR RİSK FAKTÖRÜ MÜDÜR?**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DR. KAMİL İNCE**

**ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİANTEP**

**2022**



**T.C.  
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**DİYABETİK AYAK TANILI HASTALARIN KANLARINDAKİ BAZI OKSİDAN VE  
ANTIOKSİDAN DÜZEYLERİ AMPUTASYON AÇISINDAN BİR RİSK FAKTÖRÜ  
MÜDÜR?**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**Dr. KAMİL İNCE**

**ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI**

**PROF. DR. SAVAŞ GÜNER**

**GAZIANTEP**

**2022**

## TEZ ONAY SAYFASI

T.C.  
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZİN ADI  
DİYABETİK AYAK TANILI HASTALARIN KANLARINDAKİ BAZI OKSİDAN VE  
ANTIOKSİDAN DÜZEYLERİ AMPUTASYON AÇISINDAN BİR RİSK FAKTÖRÜ  
MÜDÜR?

Dr. Kamil İNCE

TARİH  
06/01/2022

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

Prof. Dr. Can DEMİREL  
Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. Savaş GÜNER  
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

Prof. Dr. Savaş GÜNER  
Tez Danışmanı

### TEZ JÜRİSİ:

1. Prof. Dr. Orhan BÜYÜKBEBECİ
2. Prof. Dr. Savaş GÜNER
3. Dr. Öğr. Üyesi Duran TOPAK (KSÜ Ortopedi ve Travmatoloji ABD.)

## I. ÖNSÖZ

Bu tezin hazırlanması sürecinde bilgi birikimi, tecrübesi ve hoşgörüsü ile yol gösteren ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen tez danışmanı hocam sayın Prof. Dr. Savaş GÜNER'e, ihtisasım sürecinde bana katkıları olan sayın hocalarıma ve hep yanımda olan asistan arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca tez çalışmaları sürecinde yardımcı olan başta Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU, Arş. Gör. Dr. Ayşegül BÜYÜKBEBECİ ve Biyokimya AD. asistan hekimlerine çok teşekkür ederim.

En önemli teşekkür ise; eğitim hayatımın en başından beri beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan canım aileme,

Gerek tez hazırlığı sürecinde, gerekse ihtisasım sürecinde ihmal etmek zorunda kalmama rağmen hep yanımda olan, desteklerini her zaman hissettiğim canım eşim ve biricik oğluma çok teşekkür ederim.

**Dr. Kamil İNCE**  
**Gaziantep 2022**

## II. ÖZET

**İNCE K., Diyabetik Ayak Tanılı Hastaların Kanlarındaki Bazı Oksidan Ve Antioksidan Düzeyleri Amputasyon Açısından Bir Risk Faktörü müdür?, Tıpta Uzmanlık Tezi, Ortopedi Ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Gaziantep, 2022.**

Diyabet; dünya genelinde görülme sıklığı her geçen gün artan ciddi komorbiditeler ve mortalite ile sonuçlanabilen hiperglisemi ile karakterize bir metabolizma bozukluğudur. Diyabetli hastalar için geliştirilen tedavi modaliteleri ile diyabetli hastaların ortalama yaşam süreleri artmaktadır. Bu durum diyabete bağlı komplikasyonların görülme sıklığını da arttırmaktadır. Bu komplikasyonların gelişiminin önlenmesi ve tedavisinin düzenlenmesinin önemi her geçen gün artmaktadır.

Diyabete bağlı gelişen komplikasyonlardan önemli birisi de diyabetik ayaktır. Diyabetik ayak; ayakta farklı seviyelerde diyabetik ayak yaralarından başlayarak sonucunda amputasyona kadar ilerleyebilen bir diyabet komplikasyonudur. Diyabetik ayak nontravmatik alt ekstremitte amputasyonlarının en sık nedenidir. Diyabetik ayak tanılı hastaların amputasyona gidişindeki risk faktörlerinin belirlenmesi ve amputasyona gidişin önlenmesi konusunda henüz tatmin edici tedavi yöntemleri geliştirilememiştir.

Bu çalışmada Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği ve Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Kliniğine başvurup diyabetik ayak tanısı alan hastalardan kan örnekleri alınmıştır. Hastalardan alınan kan örneklerinden önemli bir antioksidan olan tiyol-disülfid ve oksidan mekanizmanın önemli bir göstergesi olan 8-OHdG düzeyleri çalışılmıştır. Ortalama 9,6 (6-16) aylık takip sonucunda amputasyona giden hastalar bu parametreler açısından incelenmiştir. Tiyol-disülfid ve 8-OHdG düzeyleri ölçülerek oksidatif ve antioksidatif mekanizmanın amputasyon açısından risk faktörü olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca hastaların yaş, cinsiyet, Wagner seviyesi ile amputasyon arasında ilişki olup olmadığına bakılmıştır.

Yaptığımız çalışma sonucunda diyabetik ayak tanılı hastalarda amputasyona gidiş ile 8-OHdG düzeyleri ve tiyol-disülfid düzeyleri arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır. Amputasyona giden hastaların yaş ortalaması ve Wagner seviyesi gitmeyenlere göre daha yüksek bulunmuştur. Erkek cinsiyette kadınlara göre amputasyon daha fazla görülmüştür.

Sonuç olarak antioksidan kapasiteyi değerlendirmek için kullandığımız tiyol-disülfid ve oksidan durumu değerlendirmek için kullandığımız 8-OHdG değerleri amputasyon açısından risk faktörü olarak görülmemiştir. Diyabetik ayak tanılı hastalarda amputasyona gidişte oksidatif stres ve antioksidan kapasite arasında ilişki bulunamamıştır. Daha önce tanımlanmış olan nöropati, mikrovasküler bozukluk, kötü glisemik kontrol, yaş, ayak bakımı gibi faktörler amputasyona gidişte daha önemli görünmektedir. Amputasyona gidişi önlemek için bu faktörlerin tedavisi ve hastaların eğitim ve bilinçlendirilmesinin daha faydalı olacağı anlaşılmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Diyabetik ayak, Amputasyon, Oksidatif stres, Tiyol disülfid, 8-OHdG

### III. ABSTRACT

**İNCE K., Are Some Oxidant and Antioxidant Levels in the Blood of Diabetic Foot Patients a Risk Factor for Amputation, Specialty thesis in medicine, Department of Orthopedics and Traumatology, Gaziantep, 2022.** Diabetes; It is a metabolic disorder characterized by hyperglycemia, which can result in serious comorbidities and mortality, the incidence of which is increasing day by day worldwide. With the treatment modalities developed for patients with diabetes, the average life expectancy of patients with diabetes increases. This also increases the incidence of diabetes-related complications. The importance of preventing the development of these complications and regulating their treatment is increasing day by day.

One of the most important complications due to diabetes is the diabetic foot. Diabetic foot; It is a complication of diabetes that can progress from diabetic foot sores at different levels in the foot to amputation as a result. Diabetic foot is the most common cause of nontraumatic lower extremity amputations. Satisfactory treatment methods have not yet been developed to determine the risk factors for diabetic foot diagnosis patients going to amputation and to prevent amputation.

In this study, blood samples were taken from patients diagnosed with diabetic foot by applying to Gaziantep University Faculty of Medicine Orthopedics and Traumatology Clinic and Endocrinology and Metabolic Diseases Clinic. Thiol-disulfide, an important antioxidant, and 8-OHdG, an important indicator of oxidant mechanism, were studied from the blood samples taken from the patients. Patients who went to amputation as a result of an average of 9.6 (6-16) months of follow-up were examined in terms of these parameters. Thiol-disulfide and 8-OHdG levels are measured to determine whether oxidative and antioxidative mechanism is a risk factor for amputation. In addition, it was investigated whether there is a relationship between the age, gender, Wagner level of the patients and amputation.

As a result of our study, there was no significant relationship between amputation and 8-OHdG levels and thiyol-disulfide levels in diabetic foot diagnosis patients.

The mean age of the patients who went to amputation and the Wagner level were found to be higher than those who did not.

As a result, thiol-disulfide, which we used to evaluate antioxidant capacity, and 8-OHdG values, which we used to evaluate oxidant status, were not seen as risk factors for amputation. In patients with diabetic foot diagnosis, there was no correlation between oxidative stress and antioxidant capacity in the progression of amputation. Previously defined factors such as neuropathy, microvascular disorder, poor glycemic control, age, foot care seem to be more important in the progression of amputation. It is understood that it will be more beneficial to treat these factors, educate and raise awareness of patients in order to prevent amputation.

**Key Words:** Diabetic Foot, amputation, oxidative stress, thiol disulfide, 8-OHdG

## IV. İÇİNDEKİLER

I. ÖNSÖZ.....	i
II. ÖZET.....	ii
III. ABSTRACT.....	iv
IV. İÇİNDEKİLER.....	vi
V. KISALTMALAR.....	viii
VI. TABLOLAR.....	ix
VII. ŞEKİLLER.....	x
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Diabetes Mellitus.....	3
2.1.1. Tanım.....	3
2.1.2. Epidemiyoloji.....	3
2.1.3. Sınıflandırma.....	3
2.1.4. Tanı.....	4
2.1.5. Komplikasyonlar.....	4
2.2. Diyabetik Ayak.....	5
2.2.1. Tanım.....	5
2.2.2 Epidemiyoloji.....	5
2.2.3 Etiyoloji.....	5
2.2.3.1 Diyabetik Ayak Fizyopatolojisi.....	7
2.2.3.2 Diyabetik Ayak Enfeksiyonu.....	9
2.2.4. Sınıflandırma.....	9
2.2.5 Tedavi:.....	10
2.3. Diyabetik Ayak Amputasyonları.....	12
2.4. Diyabet ve Oksidatif Stres.....	16

2.4.1. Dinamik Tiyol/Disülfid Dengesi.....	18
2.4.2. 8-OHdG (8-hidroksi-2'-deoksiguanosine).....	20
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	23
3.1. Hasta Seçimi .....	23
3.2. Kullanılan Yöntem.....	24
3.2.1. Serum Tiyol-Disülfid Ölçümü .....	24
3.2.2. Serum 8-OHdG Ölçümü .....	24
3.3. İstatistiksel Değerlendirme .....	24
4.BULGULAR.....	26
5. TARTIŞMA .....	29
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	35
7. KAYNAKÇA.....	36

## V. KISALTMALAR

DM: Diabetes Mellitus

8-OHdG: 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

TGF- $\beta$ 1: Transforming Growth Factor -  $\beta$ 1

IGF-1: İnsulin-like growth factor -1

ROS: Reaktif Oksijen Türevleri

HRP: Horseradish Peroxidase

TMB: 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin

NaBH<sub>4</sub>: Sodyum Borohidrat

OH•: Hidroksil radikali

## VI. TABLOLAR

Tablo 2-1: Metabolizma sonucu oluşabilen radikaller.....	17
Tablo 4-1: Çalışmaya katılan grupların demografik özellikleri.....	26
Tablo 4-2: Çalışmaya katılan grupların klinik özellikleri.....	26
Tablo 4-3: Tiyol-Disülfid ve Native Thiol ( $\mu\text{mol/l}$ ) değerleri.....	27
Tablo 4-4: Yaşa bağlı amputasyon tablosu.....	28
Tablo 4-5: Wagner Sınıflamasına göre amputasyon tablosu.....	28
Tablo 4-6: Cinsiyete göre amputasyon tablosu.....	28



## VII. ŞEKİLLER

Şekil 2-1: Diyabetik Ayak Yarası Etiyoloji .....	6
Şekil 2-2: Ayak Amputasyon Seviyeleri .....	13
Şekil 2-3: Diz Altı Amputasyon Seviyesi.....	14
Şekil 2-4: Diz Dezartükilasyonu.....	15
Şekil 2-5: Diz Üstü Amputasyon Seviyeleri.....	15
Şekil 2-6: Oksidan eklenmesi sonucu total tiyol, native tiyol ve disülfid dengesi ...	19
Şekil 2-7: Tiyol disülfid gruplarının etkileşimi .....	19
Şekil 2-8: Guaninin C8-OH Radikalinden Oluşan Guanin Ürünleri .....	21

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Diabetes mellitus (DM); hiperglisemi ile karakterize bir karbonhidrat metabolizma bozukluğudur. İnsülin sekresyonunda bozulma, insüline periferik direnç veya ikisinin birlikte görülmesi sonucu insülinin etki gösterememesine bağlı hiperglisemi ile sonuçlanan kronik metabolik bir hastalıktır (1).

Diyabete yönelik geliştirilen tedavi modaliteleri ile diyabetli hastaların ortalama yaşam süresi artmaktadır. Bu durum diyabete bağlı gelişen komplikasyonların görülme sıklığını ve bu komplikasyonların tedavisinin önemini her geçen gün arttırmaktadır.

Diyabetin en sık görülen kronik komplikasyonlarından birisi de diyabetik ayaktır. Diyabetik ayak; diyabete bağlı gelişen nöropati ve vasküler bozukluklar sonucu ayakta ülser, enfeksiyon ve gangren tablolarının gelişmesidir (2). Diyabetik ayak non-travmatik alt ekstremitte amputasyonlarının en sık nedenidir. Alt ekstremitte amputasyonlarının %50-70' i diyabete bağlı oluşmaktadır (2). Diyabetik ayak tanısı alan hastaların ise %7-%40' ı amputasyon ile sonuçlanmaktadır (3, 4). Dünya genelinde her 30 saniyede bir, diyabete bağlı alt ekstremitte amputasyonu olduğu düşünülmektedir (5).

Diyabet tüm dünyada görülme sıklığı sürekli artan birçok morbidite ve mortalite ile sonuçlanabilen bir hastalıktır. 2019 yılında yapılan çalışmaya göre dünya genelinde diyabetli hasta sayısı yaklaşık 463 milyondur. Hasta sayısının 2045 yılında %51 artışla yaklaşık 700 milyon olması öngörülmektedir (6). Tüm diyabet hastalarının %15-20'sinde diyabetik ayak gelişme riski vardır (7). Bu hastaların yara bakımı, hastanede kalış süresi, rehabilitasyonu ve iş gücü kaybı olması nedeniyle ciddi bir maliyeti olmaktadır. Diyabet komplikasyonlarının sağlık maliyetleri, diyabetin doğrudan sağlık maliyetlerinden %50 daha fazladır. Diyabete bağlı ayak ülserlerinin önlenmesi ve dolayısıyla amputasyonların önlenmesi hem %50'ye yakın morbiditeyi hem de maliyeti azaltmaktadır (8).

Diyabet ve diyabetik ayak görölme sıklığı göz önünde bulundurulduğunda diyabete bağlı gelişen amputasyonların neden olduğu morbidite ve önlenmesinin önemi daha da artmaktadır. Ancak henüz diyabetik ayak amputasyonlarının önlenmesi, amputasyon kararı, amputasyon seviyesinin belirlenmesi konusunda kesin kriterler yoktur (9).

Artmış oksidatif stres ve azalmış antioksidan kapasitesinin diyabet ve komplikasyonlarının gelişiminde önemli bir yeri olduğu yapılan çalışmada gösterilmiştir (10-12). Oksidatif stres sonucu oksijen, hidrojen, nitrojen içeren reaktif moleküller oluşur. Bu reaktif moleküller nükleik asitler, proteinler, lipitler üzerinde hasar oluşturur. Diyabetik hastalarda artmış oksidatif stres sonucu DNA hasarının bir göstergesi olarak artmış 8-OHdG düzeyi görülür. Hatta artmış 8-OHdG düzeyinin diyabetik hastalarda tanı kriteri olarak kullanılması düşünülmüştür (13). Serbest radikallerin zararlı etkileri ise enzimatik ve nonenzimatik savunma mekanizmaları tarafından önlenir. Bu mekanizmalardan birisi de tiyol bileşikleridir. Tiyoller içerdikleri sülfidril (-SH) grupları sayesinde oksidatif stresin ve zararlı etkilerinin önlenmesinde önemli rol oynar (14, 15).

Bu çalışmada Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği ve Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Kliniğine başvurup diyabetik ayak tanısı alan hastalardan kan örnekleri alınmıştır. Hastalardan alınan kan örneklerinden önemli bir antioksidan olan tiyol-disülfid ve oksidan mekanizmanın bir göstergesi olan 8-OHdG düzeyleri çalışılmıştır. Ortalama 9,6 (6-16) aylık takipleri sonucunda amputasyona giden hastalar bu parametreler açısından incelenmiş ve tiyol-disülfid ve 8-OHdG düzeylerinin amputasyon açısından bir risk faktörü olup olmadığı araştırılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Diabetes Mellitus

#### 2.1.1. Tanım

Diabetes Mellitus (DM); insülinin tamamen yada göreceli eksikliği, insüline periferik direnç veya her ikisinin birden görülmesi sonucu hiperglisemi tablosu ile kendini gösteren karbonhidrat, protein, yağ metabolizma bozuklukları ile karakterize bir kronik metabolik hastalık grubudur (16).

#### 2.1.2. Epidemiyoloji

Diyabet, sıklığı ve neden olduğu sorunlar nedeniyle tüm dünyada önemi hergeçen gün artan önemli bir sağlık sorunudur. Özellikle gelişmiş ve gelişmekte olan toplumlarda yaşam tarzındaki hızlı değişim ile birlikte, özellikle de tip 2 diyabet sıklığı giderek artmaktadır. Dünya Diyabet Federasyonunun (İDF) 2019 yılında yayınladığı çalışmasına göre; 2019 yılı itibarıyla dünyadaki diyabetli hasta sayısı 463 milyondur. Bu sayının 2030 yılında 578 milyon, 2045 yılında %51 artışla 700 milyon olması öngörülmektedir (6). Bu artışın başlıca nedeni yeni yaşam tarzının getirdiği obezite ve fiziksel inaktivitenin artmasıdır. Hatta son yıllarda gençlerde ve çocuklarda bile tip 2 diyabet sıklığının arttığı görülmektedir.

Ülkemizde 1997-1998 yılında yapılan Türkiye Diyabet Epidemiyoloji (TURDEP-1) çalışması sonuçlarına göre bozulmuş glukoz toleransı sıklığı %6,7, tip 2 diyabet prevalansı ise % 7,2 bulunmuştur (17). 2010 TURDEP-2 çalışmasında ise tip 2 diyabet sıklığının ciddi derecede artarak %13,7'ye kadar ulaştığı görülmüştür (18).

#### 2.1.3. Sınıflandırma

**I- Tip 1 Diyabet:** Genellikle otoimmün olarak  $\beta$ -hücre yıkımı sonucu insülin yetmezliği vardır.

A) İmmün aracılı (%95)

B) İdyopatik (%5)

**II- Tip 2 Diyabet:** İnsülin direncine bağlı görece insülin yetmezliğinden başlayarak uzun süreli devam eden insülin direnci sonucu gelişen insülin salınım bozukluğuna kadar değişen bir aralıkta olabilir.

### III- Diğer Spesifik Tipler

- A)  $\beta$ -hücre fonksiyonunda görülen genetik defektler
- B) İnsülinin aktivitesinde görülen genetik defektler
- C) Endokrinopatiler
- D) Ekzokrin pankreas hastalıklar
- E) Kimyasal maddeler ve ilaçlar
- F) Enfeksiyonlar
- G- Gestasyonel diabetes mellitus

#### 2.1.4. Tanı

Aşağıdaki kriterlerin sadece birinin olması tanı için yeterlidir.

Açlık kan glukozu düzeyinin  $\geq 126$  mg/ dL olması (En az 8 saat açlık sonrası ölçmek gerekir).

Diyabet semptomlarına eşlik eden herhangi bir zamanda ölçülen kan şekerinin  $\geq 200$  mg/dL olması.

Yapılan 75 gr. Oral glukoz tolerans testinin (OGTT) 2. saatinde ölçülen kan şekerinin  $\geq 200$  mg/ dL olması.

HbA1c  $\geq$  % 6.5 olması (19).

#### 2.1.5. Komplikasyonlar

##### A. Akut komplikasyonlar

- Hipoglisemi
- Diyabetik Ketoasidoz
- Laktik Asidoz
- Hiperosmolar Non-Ketotik Koma

##### B. Kronik Komplikasyonlar

##### 1. Makrovasküler Komplikasyonlar

- a. Kardiyovasküler hastalık
- b. Periferik damar hastalığı
- c. Serebrovasküler hastalıklar

## 2.Mikrovasküler Komplikasyonlar

- a. Diyabetik nöropati
- b. Diyabetik retinopati
- c. Diyabetik nefropati

### 2.2. Diyabetik Ayak

#### 2.2.1. Tanım

Diyabetik ayak; uzun süreli hiperglisemiye bağlı gelişen periferik nöropati sonucu duyu kaybına bağlı travmalar ve periferik vasküler hastalık sonucu gelişen dolaşım bozukluğuna bağlı derin dokuların ülserasyonu, destrüksiyonu ve enfeksiyonudur (2).

Diyabetik ayak tanılı hastalarda yüzeysel ülserlerden enfekte derin ülserlere kadar değişen tablolar görülebilir. Hatta bu enfeksiyonlar ve derin ülserasyonlar amputasyonla sonuçlanabilir. Diyabetik hastalardaki amputasyonların %85'i ayakta bir ülserle başlar (20).

#### 2.2.2 Epidemiyoloji

Diyabet tanılı hastalarda diyabetik ayak sonucu ülser prevalansı %4,4, yıllık insidansı %2,2-6 oranındadır. Diyabetli bir hastanın hayatı boyunca diyabetik ayak ülseri insidansı % 34'e kadar ulaşabilmektedir. Diyabetik ayağa bağlı ülseri olan bir hastanın beş yıl içindeki morbidite riski 2.5 kat daha fazladır (19).

Nontravmatik alt ekstremite amputasyonlarının %50-70'ı diyabet sonucu görülmektedir (20). Diyabetik ayak enfeksiyonu yaklaşık %20 oranında değişik seviyelerde amputasyonla sonuçlanır.

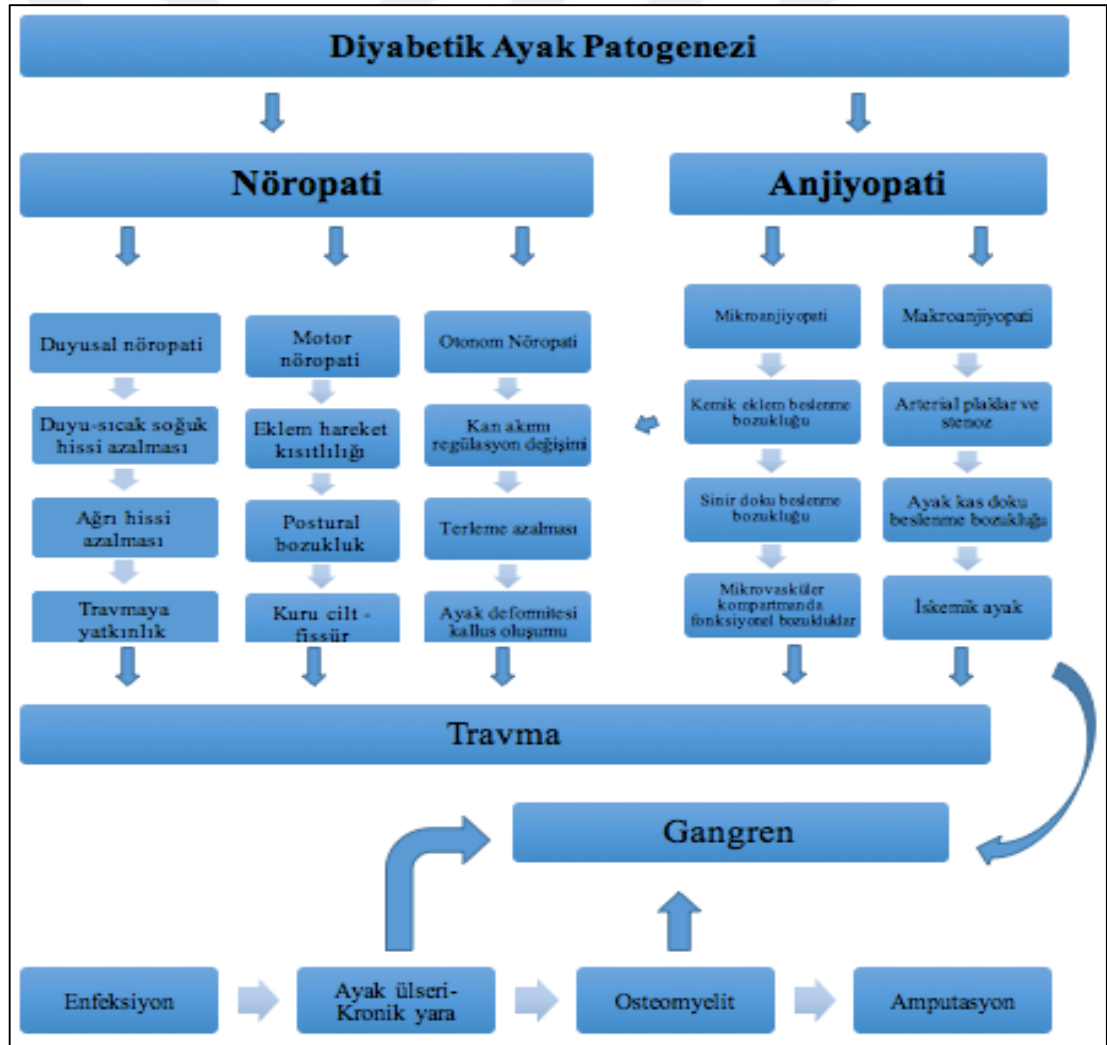
Diyabete bağlı amputasyon yapılan hastalarda 5 yıllık mortalite %70'e, renal replasman tedavisinde alıyorsa mortalite 2 yılda %70'e ulaşmaktadır (19).

#### 2.2.3 Etiyoloji

Diyabetik ayağa bağlı ülser oluşumu etyolojisi multifaktöryeldir. Diyabetik ayak gelişimi için önemli görülen risk faktörleri ise şunlardır;

- Periferik nöropati
- Geşmiş olan ayak deformitesi varlığı (Charcot eklemi gibi)
- Ayak ülseri öyküsü olması

- Periferik vasküler hastalıklar
- Kronik böbrek yetmezliği
- Amputasyon öyküsü olması
- Diyabetik retinopatiye onucu gelişmiş görme bozukluğu olması
- Metabolik kontrolün kötü olması (kan şekeri yüksekliği , LDL yüksekliği, kontrolsüz hipertansiyon gibi)
- Ayak bakımının kötü olması ( uygunsuz ayakkabı kullanımı, ayak hijyenin kötü olması)
- Alkol ve sigara kullanımı olması
- Yaşın ileri olması



Şekil 2-1: Diyabetik Ayak Yarası Etiyoloji (19)

Diyabetik ayak etyopatolojisinde en önemli iki etken periferik nöropati ve vasküler dolaşım bozukluğudur.

Periferik duyu nöropatiye bağlı diyabetik hastalarda ağrı duyusu kaybı, basınç dengesi kaybı, sıcaklık duyusunda azalma görülür. Bu durum hastaların minor ve major travmalara ve termal yaralanmalara yatkınlığını artırır (2).

Motor nöropatiye bağlı olarak da ayak intrinsek kasları ve bacak kasları etkilenir. Ayrıca alt ekstremitenin proprioseptif feedbackinde bozulmaya sebep olur. Bu durum postural instabilite ve bozulmuş koordinasyon sonucu ayak biyomekaniği ve anatomisinde bozulmaya neden olur (21). Bu bozukluk ayak basınç dağılımındaki değişim ve ayak eklem hareketlerindeki kayıp ile sonuçlanır. Ayak biyomekaniğindeki bozulma sonucu oluşan nasırlar ve duyu kaybına bağlı travmalara açık hale gelen ayakta ülser oluşum riski artar.

Nöropatiye bağlı özellikle orta ve arka ayak kemik ve eklemlerinde hasar oluşur. Ayak şiş, ödemli ve kırmızı bir görünüm alır. Bu tabloya Charcot ayağı veya nöro osteoartropati denir. Charcot ayağı gelişen hastada; kemik ve eklemlerde kırıklar, çıkıklar, ligament laksiteleri, kemik ve kırıkta erozyonları görülebilir. Kemik ve eklemlerde oluşan bu instabilite ülserlere, enfeksiyon ve amputasyona neden olabilir (22).

Vasküler dolaşım bozukluğu veya mikroangiopati primer olarak ülser oluşumuna neden olmaz. Mikrovasküler disfonksiyona bağlı esas olarak diyabetik ayağa bağlı ülserlerin iyileşmesi gecikir.

Diyabete özgü bir periferik arter lezyonu yoktur. Histolojik olarak ateroskleroz diyabetik olmayanlarla aynıdır. Ancak diyabetik hastalarda periferik arterlerde lezyon görülme insidansı sağlıklı insanlardan daha fazladır ve diyabetik hastalarda daha distal segmentlerde ateroskleroz görülür (23-26). Gelişen aterosklerozun tıkaçıcı etkisine bağlı diyabetik hastalarda da periferik dolaşım yetersizliği görülür.

### **2.2.3.1 Diyabetik Ayak Fizyopatolojisi**

**A. Metabolik ve Biyokimyasal Patogenez:** Diyabetik hastalardaki doku hasarı hiperglisemi tablosuna bağlı olarak dört yolla oluşmaktadır.

- **Poliol yolu:**

Glukoz aldoz redüktaz enziminin sorbitole indirgenir. Metabolizmada sorbitolün fruktoza dönüşümü oldukça yavaş gerçekleşir. Diyabetik hastalarda görülen hiperglisemiye bağlı olarak başta sinir dokusu olmak üzere, retinada ve böbreklerde sorbitol birikimi görülür. Birikmiş olan sorbitol hücre içerisindeki osmotik yükü artırır ve sonucunda geri dönüşümsüz olarak hücre hasarına neden olur.

- **Diçilgliserol – Protein kinaz C yolu:**

Protein kinaz –C hücre içerisindeki aktive edilen tek enzimdir. Protein kinaz –C aktive olursa aorta, retina, düz kas hücreleri ve renal glomerüllerde; hücre çoğalması, kontraksiyon ve hücreye kalsiyum girişinde artış görülür. Bu değişiklikler; damar ve lümen yapısında değişikliklere neden olur.

- **Nonenzimatik glikolizasyon:**

Aldolazların reaktif amino gruplarıyla kovalent bağlarla bağlanması nedeniyle artmış glikolizasyon görülür. Artmış olan bu glikolizasyon ise; albumin, kollojen, lipoprotein, fibrin, hemoglobin glikolizasyonu sonucunda diyabetin vasküler komplikasyonlarına neden olur.

- **Protein katabolizmasında artış:**

Açlıkta hiperglisemi görülmesi katabolik bir süreci gösterir. Protein yıkımı görülür ve glukoneogenez artar. Oluşan bu negatif protein dengesi iyileşme süreci üzerinde olumsuz etki gösterir.

Ayrıca diyabetik hastalarda yara iyileşmesinin; erken faz (hemostaz ve inflamasyon), orta faz (anjiogenezle birlikte keratinosit ve fibroblastların proliferasyonu migrasyonu) ve geç faz (remodeling ve reepitelizasyon) üç fazda bozulmuştur (27).

Diyabetik ayaklı bireylerde yara iyileşmesinin üç fazının bozulmasına ek olarak ülserde TGF- $\beta$ 1 düzenlenmesinde bozulma, matriks metalloproteinazlarında artma ve inhibisyonlarında azalma yara iyileşmesini engeller. Ülserden alınan biopsilerde görülen IGF-1 ve nitrik oksit sentaz aktivitesinde artış da yara iyileşmesini geciktirir (28, 29).

## **B.Yapısal ve biyomekanik patogenezi:**

Diyabetik hastalarda görülen motor nöropati nedeniyle zamanla ayak plantar yüzdeki kaslarda ve yağ yastıkçıklarında atrofi görülür. Ayrıca ekstansör ve fleksör kas grupları arasındaki dengesizliğe bağlı olarak pençe ayak ve çekiç parmak deformiteleri görülür. Böylece metatars başları belirginleşir ve ayak kavsi düzleşir. Bu durumda topuk, metatars başları ve ayak başparmağı üzerine vücut ağırlığı yüklenerek buralarda nasırlara neden olur. Bu nasırlar diyabetik ayak öncüsü olarak değerlendirilmektedir (30).

### **2.2.3.2 Diyabetik Ayak Enfeksiyonu**

Diyabetik ayak seyrini değiştiren en önemli parametrelerden biri de enfeksiyondur. Her ne nedenle olursa olsun diyabetik hastada ayakta gelişen ülser üzerine eklenen enfeksiyon tablosu basit selülit tablosundan abse ve osteomyelite kadar ilerleyebilir. Diyabetik ayak tanılı hastalarda iskemi ve enfeksiyon birlikteliği amputasyona ilerlemenin önemli sebepleridir. Diyabetik ayaktaki enfeksiyon amputasyonların %25-50 nedenidir (31, 32).

Diyabetik ayak enfeksiyonları genellikle polimikrobiyaldır. Ancak en çok izole edilen iki önemli etken vardır. Özellikle yüzeysel enfeksiyonlarda en önemli etken *Staphylococcus Aureus*'dur. Yaraların yaklaşık 2/3'ünde etken olduğu düşünülmektedir. Bir diğer sık görülen mikroorganizma ise aerobik streptokoklardır. *Corynebacterium* türleri, fakültatif gram negatif basiller (*Escherichia Coli*, *Proteus*, *Pseudomonas* ve *Klebsiella*) sık görülen mikroorganizmalarıdır (32). Son yıllarda ise metisilin rezistan *staphylococcus aureus* (MRSA) ve vankomisin rezistan enterokok (VRE) gibi antibiyotiğe dirençli türlerin görülme sıklığı artmaktadır. Bu antibiyotiğe dirençli türler hem tedaviyi zorlaştırmakta hemde hastanede kalış sürelerini arttırmaktadır (33).

### **2.2.4. Sınıflandırma**

Diyabetik ayak ülserleri için en yaygın kullanılan sınıflandırma Wagner tarafından 1970'lerde tanımlanan sınıflandırma sistemidir. Wagner sınıflandırma sistemi diyabetik ayak ülserinin derinliği ve doku hasarına göre 0 ile 5 arasında derecelendirilerek değerlendirir. Ayrıca tedaviye de yön vermesi açısından sık

kullanılan bir sınıflandırmadır (34). İlk 3 evrede nöropati ülser etyolojisinde önemli rol oynamaktadır, 4 ve 5. evrede ise periferik vasküler hastalık etiolojide önemlidir.

### **Wagner Sınıflandırma Sistemi**

**Evre 0:** Bu hastalar diyabetik ayak ülseri açısından yüksek riskli hasta grubudur. Hastanın ayağında ülser yoktur. Ancak ülser gelişimine neden olabilecek nöropati, vasküler hastalık, deformite olabilir. Bu hastalara ayak bakımı eğitimi verilmeli ve ülser gelişimi açısından yakından takip edilmelidir. Böylece bu hasta grubunda ülser gelişimi önlenir.

**Evre 1:** Derin doku yayılımı olmayan ve enfekte görünümde olmayan yüzeysel ülser vardır. Genellikle nöropatiye bağlı oluşur ve özellikle de ayağın plantar yüzünde oluşan yüksek basınç bölgelerinde (metatars başları, topuk, parmak uçları gibi ) görülür.

**Evre 2:** Daha derin yerleşimli tendon ve ligamentleri de ilgilendirebilen, enfekte görümlü ancak osteomyelit ve abse formasyonunun görülmediği bir ülser vardır. Bu hastalarda kızarıklık, lokal ısı artışı ve ödem görülebilir.

**Evre 3:** Osteomyelitin eşlik ettiği derin ülserler veya abse formasyonu görülür.

**Evre 4:** Ön ayak ve parmakları ilgilendiren lokalize gangren mevcuttur. Daha çok vasküler patolojiye bağlı gelişir. Nekrotik dokular üzerinde enfeksiyon gelişebilir

**Evre 5:** Ayakta amputasyon gerektirebilecek kadar yaygın ve ciddi gangrenöz bir tutulum vardır. İskemi bu tablonun gelişmesinde önemli bir yer tutar.

### **2.2.5 Tedavi:**

Diyabetik ayak tedavisinin ilk hedefi hastanın iyi metabolik kontrolü, hasta eğitimi, diyabetik ayak gelişimi için risk faktörlerinin önlenmesi ile ülser gelişiminin önlenmesidir.

Hastalara dikkat edilmesi gereken hususlar ve ayak bakımı konusunda iyi bir eğitim verilmesi ve yakın takiple rutin ayak muayenesi ile ülser oluşumu ve amputasyona gidiş önlenir.

Diyabetik ayak tedavisinde genel yaklaşımlar:

- Kan şekeri regülasyonunun iyi yapılması

- Hastaya diyabet ve diyabetik ayak eğitimi verilmesi
- Ayakta oluşabilecek travmaların ve termal hasarların önlenmesi
- Yara bakımı
- Uygun antibiyoterapi
- Hiperbarik oksijen tedavisi
- Rehabilitasyon
- Cerrahi tedavi ( debritleme, deri grefti, vasküler girişimler, amputasyon)

Diyabetik ayak yaraları Wagner sınıflandırmasına göre değerlendirilip evresine göre de tedavi yaklaşımı belirlenebilir.

**Evre 0:** Ayaklarında diyabete bağlı ülser olmayan ancak ülser gelişimi açısından yüksek riskli hasta grubudur. Bu hastalarda öncelikle iyi bir glisemik kontrol sağlanmalı ardından hastaya diyabet ve diyabetik ayak konusunda eğitim verilmelidir. Ayrıca bu hastalarda podografi ile ayak basınçları değerlendirilip uygun tabanlıklar yaptırılabilir.

**Evre 1:** Bu hastalarda enfeksiyonun eşlik etmediği yüzeysel ülserler vardır. Bu nedenle bu hastalara uygun yara bakımı ve pansuman yapılmalı, ülser belirgin bir irritasyona bağlı oluşuyorsa önlem alınmalı gerekirse istirahat önerilmelidir. Eşlik eden enfeksiyon bulgusu olursa antibiyoterapi başlanabilir. Ayrıca bu hastalara hiperbarik oksijen tedavisi önerilebilir.

**Evre 2:** Derin yerleşimli tendonları ve ligamanları ilgilendirebilen ancak osteomyelitin olmadığı enfekte yara mevcuttur. Bu hastalarda yara yerinden kültür alınıp debritleme yapılabilir. Öncelikle ampirik antibiyoterapi başlanıp tedavi kültürde üreyen mikroorganizmaya göre şekillendirilebilir. Bu hastalar hastaneye yatırılarak hem antibiyoterapisi hemde yara bakımı düzenlenmelidir. Ek olarak hastanın kan şekeri regülasyonu sağlanmalıdır.

**Evre 3:** Abse veya osteomyelitin eşlik ettiği derin yara mevcuttur. Hastada abse mevcutsa drene edilip, kültür alınıp uygun antibiyoterapi ve yara bakımı yapılır. Eğer hastanın görüntülemelerinde osteomyelit mevcutsa öncelikle uygun antibiyoterapi başlanır. Tedavi başarısız olursa kemiği de içine alan agresif debritleme yapılabilir.

**Evre 4 ve 5:** Evre 4 de ön ayak ve parmaklarda, evre 5 de ayakta yaygın gangren mevcuttur. Bu hastalarda uygun antibiyoterapi başlanıp demarkasyon hattına göre ve dolaşım durumuna göre amputasyon seviyesi belirlenip gangrene dokunun amputasyonu planlanmalıdır.

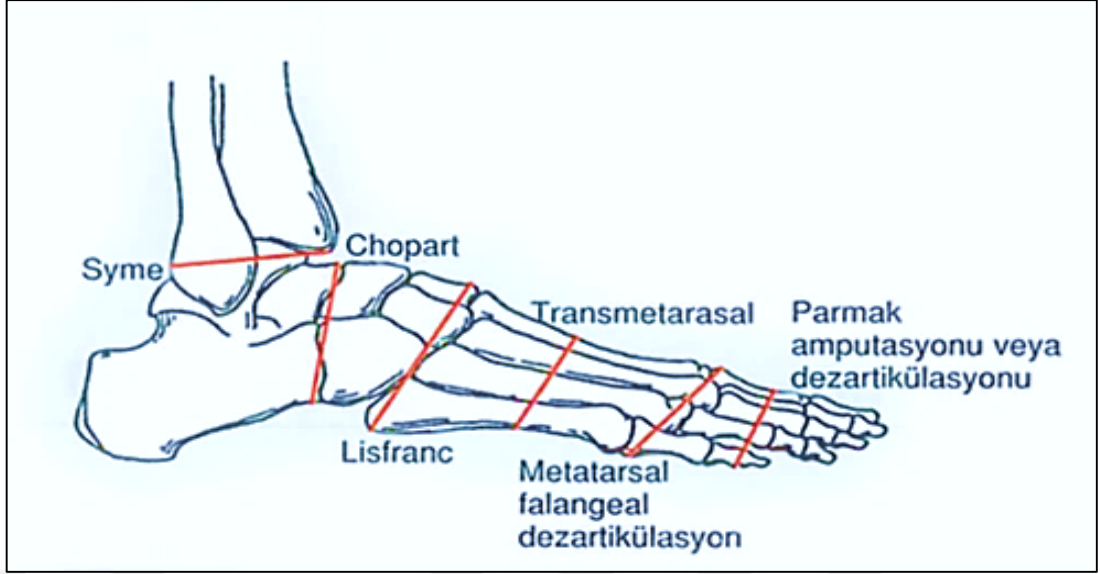
### 2.3. Diyabetik Ayak Amputasyonları

Amputasyon cerrahi müdahalelerin en eskilerindendir. Tarihsel olarak bakıldığında savaşların kötü bir sonucu olarak amputasyon cerrahi tekniklerinin gelişmesine neden olmuştur. Genel popülasyonda amputasyonların en sık nedeni periferik arter hastalığıdır. Genç popülasyonda ise amputasyonun en sık nedenleri travma ve tümörlerdir (35).

Amputasyonlar çoğu zaman elektif olarak uygulanır. Amputasyonlarda amaç tüm enfekte ve nekrotik dokuların, kalan ekstremitede maksimum fonksiyon gösterecek şekilde distalden, kanlanması iyi ve enfeksiyon bulguları olmayan dokulardan itibaren rezeke edilmesidir.

Diyabetik ayak ve ayak komplikasyonları dünya genelinde 40 ile 60 milyon diyabetliyi etkilemektedir. Diyabetli bir hastanın yaşamı boyunca %12-25 arasında değişen oranlarda diyabetik ayak ülseri gelişebilmektedir. Diyabetik ayak ülserleri görülen hastalar farklı çalışmalarda %20-40 arasında değişen oranlarda amputasyonla sonuçlanmaktadır (3, 4). Nontravmatik alt ekstremitede amputasyonlarının yaklaşık %50-70'i diyabete bağlı gelişmektedir (36). Diyabetik ayak ülserleri ve amputasyon çok ciddi morbidite nedenleridir. Ayrıca diyabete bağlı amputasyonlar morbiditenin yanı sıra mortaliteyi de arttırmaktadır. Diyabetik ayak ülseri olan bir hastanın 5 yıl içerisinde ölüm riski diyabetik ayak ülseri olmayan bir diyabetliden 2.5 kat daha fazladır (37). Diyabete bağlı amputasyon yapılan hastalarda ise 5 yıl içerisinde mortalite %70'i geçmektedir (38). Diyabetik ayağa bağlı komplikasyonlar diyabeti olan hastaların en sık hastaneye yatış ve en uzun süre hastanede kalma nedenidir (36).

Hastanın yaşı, komorbid hastalıkları, doppler usg ve anjiyografi sonuçları, enfeksiyon yayılımı ve demarkasyon hattı gibi kriterler değerlendirilerek amputasyon ve uygun seviyeye kararı verilir.



Şekil 2-2: Ayak Amputasyon Seviyeleri (Kaynak: Campbell's Operative Orthopaedics)

#### a. Parmak Amputasyonları

Parmaktaki nekroze ve enfekte dokuya göre amputasyon planlanır. Daha sonraki amputasyonların ön habercisidir. Tek bir parmağın amputasyonu duruş ve yürüyüş sırasında belirgin bir sıkıntı oluşturmaz

#### b. Metatarsofalangeal Eklem Dezartikülasyonu

Metatarsofalangeal eklem düzeyinden yapılan amputasyondur.

#### c. Ray Amputasyonları (Sıra Amputasyon)

Ayak parmakları ve metatarsların bir kısmını veya tümünü kapsayan amputasyonlardır.

#### d. Transmetatarsal Amputasyon

Nekroze cilt ve enfeksiyon durumuna göre metatarslar seviyesinden yapılan amputasyondur

#### e. Orta Ayak Amputasyonları

Lisfranc ve Chopart amputasyonlarını içerir. Lisfranc amputasyonunda tarsometatarsal eklem seviyesinden, Chopart amputasyonunda; talonavikular ve kalkanoküboid eklem seviyesinden dezartikülasyon yapılır. Sonrasında ekin deformitesi gelişebileceği için aşil tenotomisi de amputasyona eklenmelidir (35).

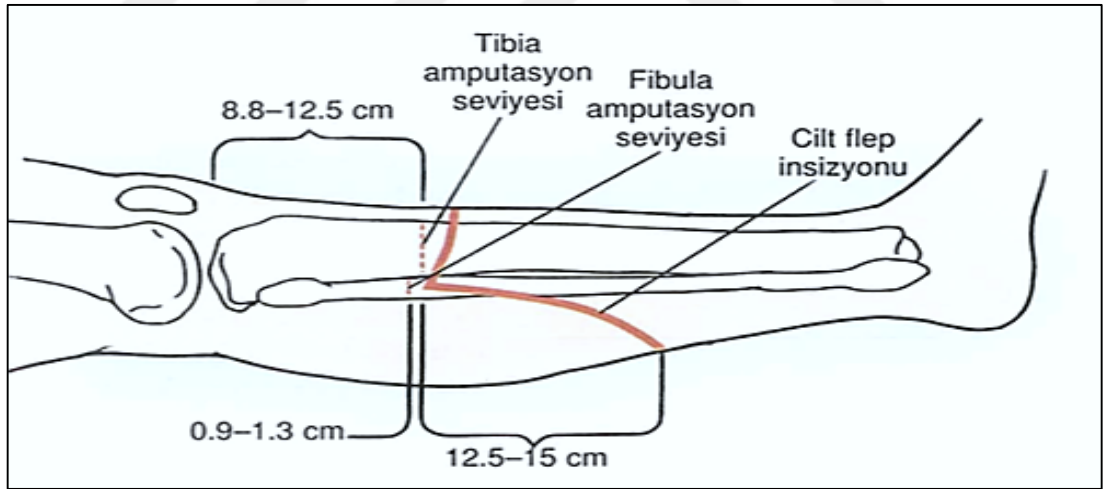
### f. Arka Ayak ve Ayak Bileği Amputasyonları

Syme ve Boyd amputasyonlarını içerir. Syme amputasyonunda; tibotalar eklem düzeyinden posterior topuk flebi korunarak, medial ve lateral malleollarında eklem düzeyinden kesildiği amputasyondur (35).

### g. Diz Altı Amputasyon

Alt ekstremitenin en sık görülen amputasyonudur. Alt ekstremiteye amputasyon uygulanan bir hastada diz eklemine korunması daha başarılı bir rehabilitasyona olanak sağlar. Diz altı amputasyon yapılan hastalarda; protez kullanımı için yeterli uzunlukta bir kaldıraç kolu oluşturacak ve aynı zamanda sağlıklı bir dolaşım, yara iyileşmesine olanak sağlayacak ve yük taşımaya elverişli uzunlukta bir güdük ucu olmalıdır. İskemik amputasyonlarda medial tibial eklem yüzünden yaklaşık 10-12,5 cm distalden amputasyon yapılmalıdır. Bacağın kesildiği seviyedeki bacak çapından 1cm daha uzun posterior cilt flebi bırakılmalıdır.

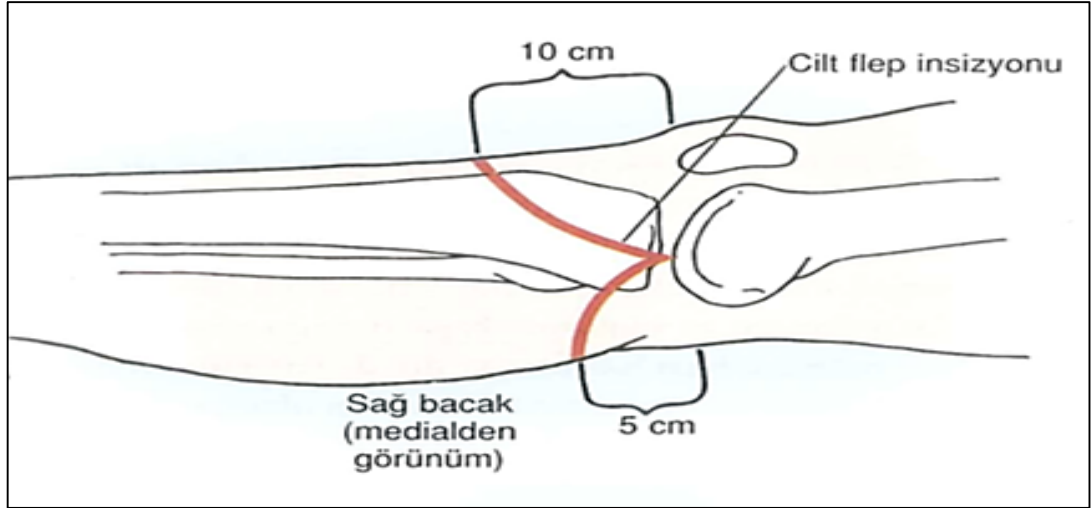
Fibula tibia dan yaklaşık 1 cm daha proksimalden kesilmelidir. Diz altı amputasyon sonrası gelişen protez kullanımı ile iyi bir rehabilitasyon sağlanabilir (35).



Şekil 2-3: Diz Altı Amputasyon Seviyesi (Kaynak: Campbell's Operative Orthopaedics)

### h. Diz Dezartikülasyonu

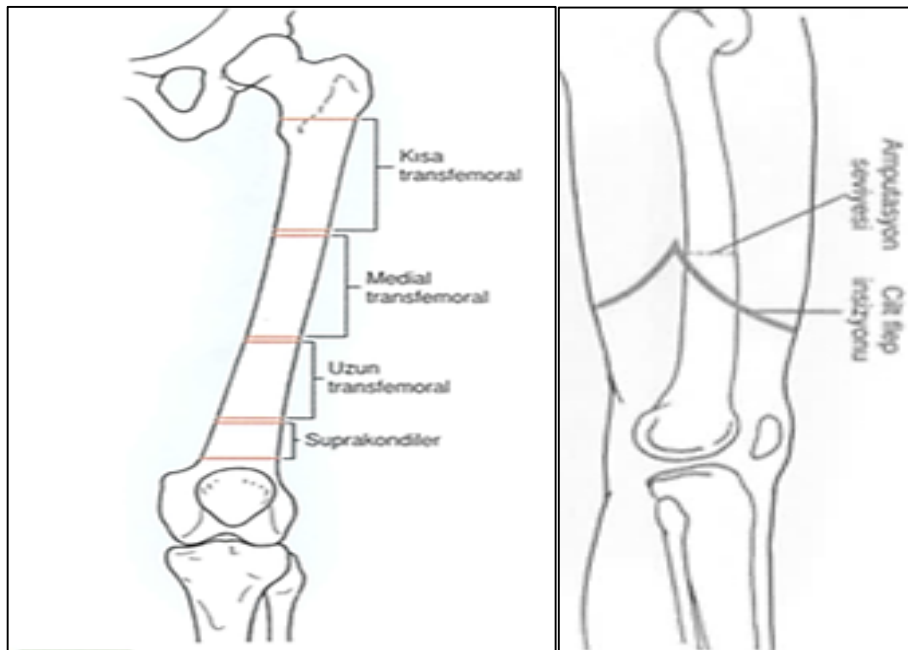
Diz seviyesinden patella korunarak yapılan dezartikülasyondur. Fonksiyonel sonuçları diz altı amputasyona göre daha kötü olmakla birlikte son yıllarda geliştirilen salınım fazı kontrolü sağlayan modern soket tasarımları ve protez diz mekanizmaları sayesinde daha iyi sonuçlar elde edilmektedir (35).



Şekil 2-4: Diz Dezartükilasyonu (Kaynak: Campbell's Operative Orthopaedics)

### I. Diz Üstü Amputasyon

Nekroz seviyesine göre femurun farklı seviyelerinden yapılabilen amputasyondur. Diz altı amputasyonlardan sonra ikinci sık yapılan amputasyondur. Bu amputasyonda diz eklemi korunamadığı için mümkün olduğu kadar uzun güdük ucu bırakılmalıdır. Böylece daha uzun ve kuvvetli bir kaldıraç elde edilerek daha iyi bir protez kontrolü sağlanır (35).



Şekil 2-5: Diz Üstü Amputasyon Seviyeleri (Kaynak: Campbell's Operative Orthopaedics)

#### 2.4. Diyabet ve Oksidatif Stres

Oksidatif stresin diyabet ve kronik komplikasyonlarının etiyolojisinde önemli bir yere sahip olduğu son yıllarda yapılan çalışmalarla her geçen gün daha iyi anlaşılmaktadır. Oksidatif stresin diyabetik ayak ülseri gelişimi de dahil diyabet ve komplikasyonlarındaki rolü olduğu yönünde kanıtlar artmaktadır (39).

Oksidatif stresin tanımı; "Redoks sinyal yollarında veya redoks kontrol mekanizmalarında bozulma ve/veya moleküler hasara yol açan, antioksidanlar ve oksidanlar arasında oksidanlar lehine bir dengesizlik " olarak yapılmaktadır (40, 41).

Atomların yörüngelerinde elektronları eşleşmiş çiftler halinde bulunurlar. Bu durum atomun ve moleküllerin kararlı halde olmalarını sağlar. Atomların dış yörüngelerinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron bulunması halinde aşırı reaktif özellik gösteren kararsız yapıdaki atom veya moleküllere dönüşürler. Bu atom ve moleküllere serbest radikal ismi verilir (42).

Organizmada en sık elektron transferi sonucu olmak üzere sürekli serbest radikaller oluşmaktadır (43). Serbest radikaller; endojen kaynaklı indirgenme-yükseltgenme (redoks) tepkimelerinde; mitokondrilerde solunum zincirinde, sitokrom P450 sistemi ile detoksifikasyon sırasında, aktif lökositlerde, iskemi-reperfüzyona bağlı hasarlarda, aşırı egzersiz, enfeksiyon, inflamasyon, kanser, yaşlanma, mental stres durumlarında ve normal metabolizma sırasında enzimatik veya non enzimatik olarak üretilirler (43-46). Ayrıca bu radikaller hava kirliliği, sigara dumanı, ultraviyole ışınları, nitrofurantoin gibi ilaç kullanımı gibi çevresel faktörlerin etkisiyle eksojen kaynaklı olarak da oluşabilirler (46). Oluşan bu endojen eksojen radikaller, radikal olmayan moleküller ile reaksiyona girdiği zaman serbest radikal zincir reaksiyonlarının başlatılması şeklinde yeni radikaller oluşturur (46, 47).

Metabolizma sonucu serbest oksijen, nitrojen radikalleri yada diğer serbest radikaller ve serbest olmayan radikaller oluşabilmektedir.

Tablo 2-1: Metabolizma sonucu oluşabilen radikaller

Serbest radikaller		
Reaktif Oksijen Türleri (ROS)	Reaktif Nitrojen Türleri (RNS)	Diğerleri
Süperoksit ( $O_2^{\cdot-}$ )	Nitrik oksit ( $NO^{\cdot}$ )	Karbon merkezli ( $CCl_3^{\cdot}$ )
Hidroksil ( $OH^{\cdot}$ )	Nitrojen dioksit ( $NO_2^{\cdot}$ )	Tiyil radikali ( $RS^{\cdot}$ )
Peroksil ( $ROO^{\cdot}$ )	Radikal olmayanlar	Atomik hidrojen ( $H^{\cdot}$ )
Alkoksil ( $RO^{\cdot}$ )		Atomik sodyum ( $Na^{\cdot}$ )
Hidroperoksil ( $HO_2^{\cdot}$ )		
Lipid peroksil ( $LOO^{\cdot}$ )		
Serbest olmayan radikaller		
Oksijen kaynaklı	Nitrojen kaynaklı	
Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )	Nitröz asit ( $HNO_2$ )	
Single oksijen ( $^1O_2$ )	Peroksinitrit ( $ONOO^{\cdot}$ )	
Ozon ( $O_3$ )	dinitrojen trioksit ( $N_2O_3$ )	
Lipid hidroperoksit ( $LOOH$ )	Nitril klorür ( $NO_2Cl$ )	
Hipokloröz asit ( $HOCl$ )	Nitröz oksit ( $N_2O$ )	
Hipobromik Asit ( $HOBr$ )	nitrosonyum katyonu ( $NO^+$ )	
Organik peroksit ( $ROOH$ )	Nitroksil anyonu ( $NO^{\cdot-}$ )	

Normal metabolizmada serbest radikallerin sinyal iletimi mekanizmalarını ve bağışıklık sistemi fonksiyonlarını modüle etme gibi birçok fizyolojik görevi bulunmaktadır. Ancak aşırı serbest radikal üretimi veya antioksidan savunma mekanizmalarının azalması ile karbonhidratlar, lipitler, proteinler ve nükleik asitler gibi birçok biyolojik molekül ile kolaylıkla reaksiyona girerek bu moleküllerde hasara neden olmaktadır (48, 49).

Serbest radikaller; DNA içeriğinde farklı mekanizmalar sonucu baz ve şekerlerde çeşitli kovalent modifikasyonlara, abazik bölgeler oluşumuna, DNA-protein çapraz bağ oluşumuna ve tek ve çift zincir kırıklarına sebep olarak DNA hasarına yol açarlar (50).

Serbest radikallerin DNA'da oluşturduğu bu hasarlar transkripsiyonun durması veya indüklenmesi, replikasyon hataları ve genomik dengesizlikle sonuçlanabilir (51).

Serbest radikallere lipitlerde duyarlı biyomoleküllerdir ve lipitlerin oksidasyonuna peroksidasyon ismi verilir. Lipit peroksidasyonu hücre membranında veya serbest bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikaller ile reaksiyonu sonucu peroksil, aldehid, hidroksil yağ asitleri oluşur ve membranda meydana gelen bu peroksidasyon hasarı geri dönüşümsüzdür (52, 53).

Proteinlerde ise serbest radikallerler etkileşim sonucu; polipeptit zincirinde parçalanmalar, amino asitlerin yan zincirlerinin oksidasyonu sonucu yan zincir hidrofilik özelliğinde değişiklikler, yan zincir veya iskeletinde parçalanmalar ile değişen yapı nedeniyle protein kümelenmeleri ve protein-protein veya protein-lipit çapraz bağlarının oluşmasına yol açar (54, 55). Proteinlerin oksidasyonu sonucu oluşan aşırı reaktif gruplar nedeniyle; membranda ve hücrel fonksiyonlarda, protein aracılı transfer sistemlerinde, proteinlerin rol oynadığı enzimatik reaksiyonlarda, reseptörlerin aktivitelerinde bozulmalar görülür (54).

Antioksidanlar ise serbest radikal zincir reaksiyonlarını kırarak, serbest radikallerin üretilmelerini engelleyerek veya üretilen serbest radikalleri ortadan kaldırarak; serbest radikallere bağlı zararlı etkilerin önlenmesinde rol alan ve bu sayede hücre ve dokuları oksidatif hasardan koruyan moleküllerdir (56, 57)

Oksidatif stres; artan reaktif oksijen türevleri (ROS) ve/veya antioksidan savunma mekanizmalarının azalması sonucu oluşur. Sağlıklı bir bireyde oksidan ve antioksidan mekanizmalar bir denge içerisinde çalışır. Oksidatif stres yönünde bozulan bu denge doku ve hücrelerde oksidatif hasara yol açar (58).

Diyabetik hastalardaki hiperglisemi tablosuna bağlı artmış glukoz düzeyi oksidatif stres oluşumunun en önemli nedeni olduğu düşünülmektedir. Glukozun otooksidasyonu, artmış glukozun polyol yolu ile sorbitol metabolizmasının artışı, artmış protein glukolizasyonu sonucu oksidatif strese artışa neden olur (59).

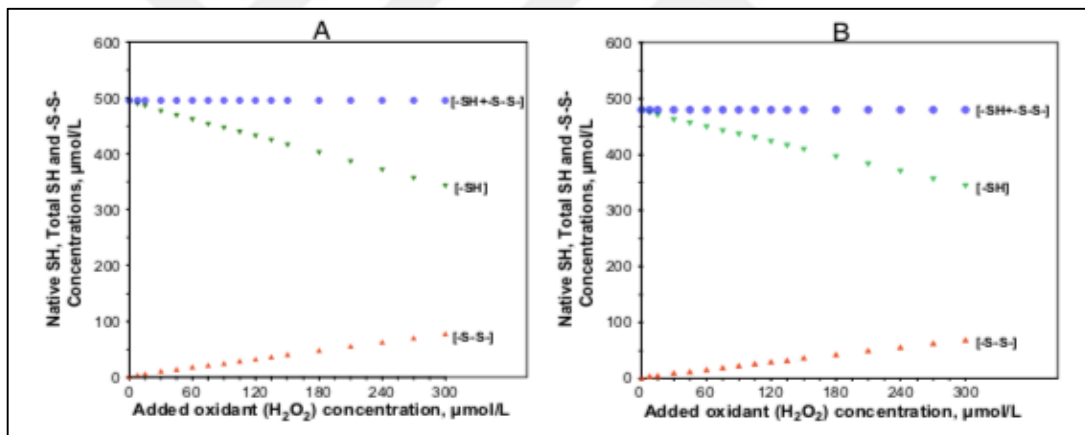
Diyabetik hastalarda artmış oksidatif strese bağlı artan reaktif oksijen türleri; lipit peroksidasyonunda artış, artmış DNA hasarı ve protein hasarına neden olmaktadır.

Artan oksidatif stres hücrelere saldırarak sağlıklı hücrelerin işlev ve yapılarını kaybetmelerine neden olmaktadır. Bu tablo diyabete bağlı hem mikrovasküler hemde makrovasküler komplikasyonlarla sonuçlanmaktadır.

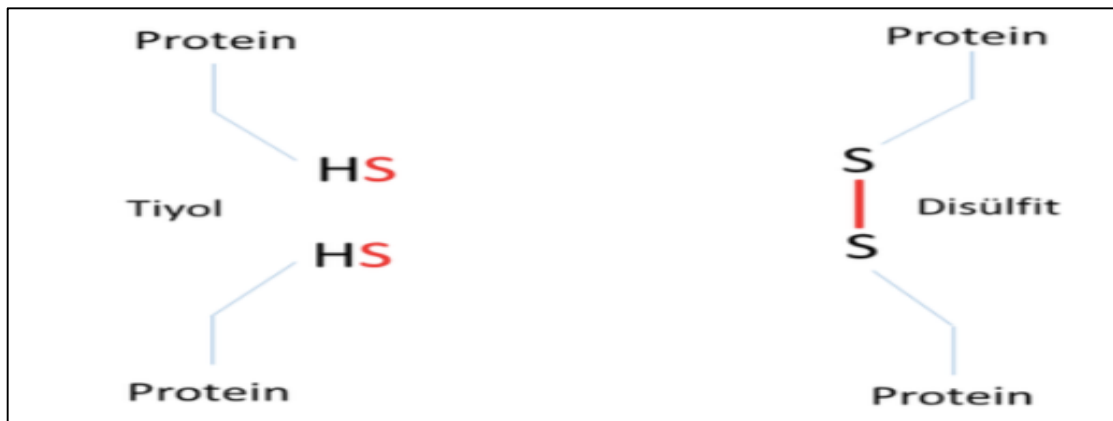
#### **2.4.1. Dinamik Tiyol/Disülfid Dengesi**

Tiyoller bir karbon atomuna bağlı sülfür ve hidrojen atomundan oluşan ve sülfidril grubu (-SH) içeren organik bir bileşiktir. Merkaptanlar olarak da bilinirler (60). Oksidatif strese bağlı gelişen oksidanların temizlenmesinde önemli rol oynar.

Plazmada bulunan tiyol havuzunun önemli bir kısmını albümin tiyoller ve protein tiyoller oluştururlar. Bunların dışındaki küçük bir kısmı da sistein, sisteinil glisin, glutatyon, homosistein ve  $\gamma$ -glutamilsistein gibi düşük molekül ağırlığa sahip tiyoller oluşturmaktadır (61). Tiyoller (RSH); oksidan artışı durumunda disülfid bağları üzerinden oksidanlar ile reaksiyona girerek disülfid bağlarını (RSSR) oluştururlar. Bu bağ disülfid köprüsü olarak isimlendirilir. Artan oksidatif stres ile birlikte, proteinlere bağlı ve düşük molekül ağırlıklı tiyollerin sülfidril grupları disülfid haline gelir. Oluşan disülfid bağları da oksidatif stres ortadan kalktığında tekrar tiyol gruplarına redükte olarak sülfidril haline gelir. Bu döngü ile antioksidan bir mekanizma olan tiyol/disülfid homeostezisi sağlanır (62, 63). Tiyol grupları antioksidan sistemin önemli bir parçasıdır; çünkü enzimatik ve non-enzimatik yol ile ortaya çıkan reaktif oksijen molekülleri ve diğer serbest radikalleri yok eder (64).



Şekil 2-6: Oksidan eklenmesi sonucu total tiyol, native tiyol ve disülfid dengesi (92)



Şekil 2-7: Tiyol disülfid gruplarının etkileşimi (65)

Dinamik tiyol/disülfid homeostezisinin; antioksidan korumada, apoptoziste, detoksifikasyonda, enzimatik reaksiyonların düzenlenmesinde ve hücrel sinyal mekanizmalarında önemli görevlerinin olduğu gösterilmiştir (66, 67). Artmış oksidatif stres durumunda tiyolün redükte hali olan native tiyol konsantrasyonu azalırken okside hali olan disülfid düzeyleri artmaktadır.

Diyabet ve komplikasyonlarının gelişiminde anormal tiyol/disülfid homeostezisinin olduğu gösterilmiştir (68, 69). Ayrıca kardiyovasküler hastalıklar, kanserler, kronik böbrek hastalığı, romatoid artrit, ankilozan spondilit, Parkinson, Alzheimer gibi birçok hastalıkta da anormal tiyol/disülfid homeostazisinin olduğu gösterilmiştir (70-73).

Diyabetik hastalarda tiyol/disülfid dengesinin redükte formlarını gösteren total tiyol, native tiyol ve native tiyol/total tiyol düzeyleri düşük bulunmuştur. Okside formları gösteren disülfid, disülfid/total tiyol, disülfid/native tiyol düzeyleri ise yüksek bulunmuştur. Bu durum diyabetik hastalardaki tiyol oksidasyonunu yani artmış oksidatif stresi göstermektedir (69).

#### **2.4.2. 8-OHdG (8-hidroksi-2'-deoksiguanosine)**

Oksidatif stres sonucu açığa çıkan reaktif oksijen türevleri (ROS), hücredeki tüm yapı ve molekülleri etkiler. Ancak primer hedefleri DNA'dır. Reaktif oksijen türevlerinin DNA üzerinde yaptığı oksidatif baz hasar ürünlerinden mutajenitesi en fazla olanı ve en sık karşılaşılanı ise 8-OHdG'dir (74).

Oksijen tüketimi fazla olan dokularda 8-OHdG düzeylerinin tüketimle doğru orantılı olarak artmış olduğu gösterilmiş olup birçok çalışmada ise oksidatif DNA hasarının tek başına göstergesi olarak kullanılmıştır (75, 76).

Serbest radikallerin reaksiyonlarına bağılı olarak DNA bazlarında oksidatif DNA hasar göstergesi olarak 20'den fazla ana ürün oluşmaktadır. OH• radikallerinin reaksiyonlarına bağılı olarak primidin ve pürin bazlarında değişiklikler meydana gelmektedir. Guanin DNA yapısındaki en düşük iyonizasyon özelliği olan bazdır. Bu nedenle serbest radikal etkilerine en hassas olan moleküldür. 8-OHdG; hidroksil radikalinin, guaninin 8.karbon atomunda yaptığı hasar sonucu oluşan modifiye bir baz formudur. Oksidatif stresin arttığı durumlarda oksidatif DNA hasarı artmakta ve

dolayısıyla 8-OHdG düzeyleri de artmaktadır. 8-OHdG oksidatif stresin bir biyogöstergesi olarak kullanılmaktadır (77, 78).

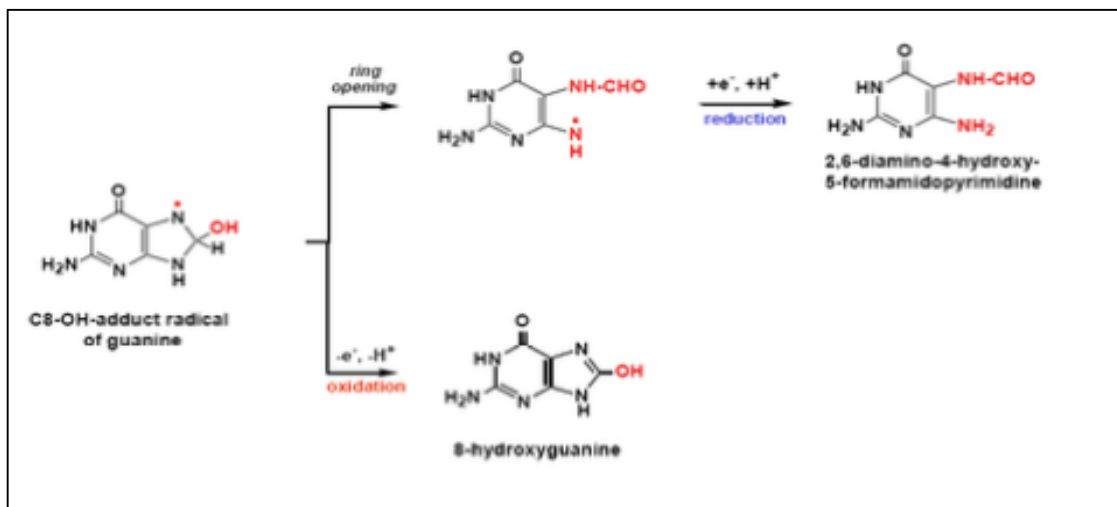
Oksidatif hasar sonucu DNA’da oluşan modifiye bazlar, mutajenik özellikleri nedeniyle hücreyi tehdit ederler. Metabolizma, kendini bu oksidatif hasara bağlı zararları azaltarak ya da oluşmuş olan hasarları tamir ederek korumaya çalışır.

Oksijen radikali üreten sigara dumanı,x-ışınları, okside olmuş doymamış yağ asitleri, gama ışını,ultraviyole ve Ni bileşikleri gibi maddelerin, deoxyguanozin’den 8-OHdG oluşumuna neden olduğu invitro olarak gösterilmiştir. 8-OHdG; metabolizmadaki normal seyirdeki oksidatif süreçler sırasında oluşan endojen ROS veya ekzojen kaynaklı ROS vasıtasıyla DNA’da oluşabilen bir mutajendir.

OH radikali guaninin 4, 5 ve 8. pozisyonlarında bulunan karbon atomları ile reaksiyona girererek DNA ürün radikalleri oluşturur. OH radikalinin C-8’e katılması sonucu oluşan (C8-OH) radikali daha sonra bir elektron ve bir proton kaybederek 8-OH guanine okside olur (79)(Şekil 7).

8-OH guanin’in deoksiriboz’a bağlanması sonucu ise bir nükleozit olan 8-OHdG oluşur. 8-OHdG’nin etkilediği guanin, DNA replikasyonu sırasında sitozine bağlanması gerekirken adenine bağlanarak G:C→T:A mutasyonuna neden olur. (80)

Normal metabolizmada DNA üzerinde oluşan 8-OHdG bileşikleri 8-oksoguanin glikozilazlar tarafından kesiler ve uzaklaştırılır. Ancak onarım yetersiz kalırsa veya üretimin fazla olursa hasar kalıcı hale gelir.



**Şekil 2-8:** Guaninin C8-OH Radikalinden Oluşan Guanin Ürünleri (79)

Diyabet hiperglisemi sonucu artmış oksidatif stres ile ilişkilidir. 8-OHdG ise artmış oksidatif stresin iyi bir göstergesidir. 8-OHdG düzeyi; diyabetik hastalarda diyabeti olmayan sağlıklı hastalara göre daha yüksek bulunmuştur. Diyabetik hastalar içerisindeki diyabetik ayak tanılı hastalarda ise, diyabeti olan hastalardan daha da yüksek bulunmuştur (81). 8-OHdG'nin diyabetik hastalarda tanı kriteri olarak bile kullanılması düşünülmüştür (13). Diyabetik ve diyabetik ayak tanılı hastalarda artmış 8-OHdG düzeyi ile bu hastalardaki oksidatif stres düzeyi koreledir.



### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Hasta Seçimi

Çalışmaya Ağustos 2019 ile Ağustos 2020 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Ortopedi ve Travmatoloji servisi ve Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı servisinde diyabetik ayak tanısıyla takip edilen hastalar dahil edildi. Bu bölümlere başvurup diyabetik ayak tanısı alan 40-65 yaş arası, ayaktaki yarası periferik arter hastalığı sonucu dolaşım bozukluğuna bağlı oluşmamış olan farklı düzeylerde diyabetik ayak yarası olan 76 hasta değerlendirildi.

Çalışma, Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na sunulmuş ve 13.03.2019 tarih ve 102 sayı numarasıyla onay alınmıştır. Çalışma projesi, Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından TF.UT.19.35 proje koduyla desteklenmiştir. Etik kurul onayı alındıktan sonra, tüm hastaların çalışma ile ilgili aydınlatılmış onamları alınmış ve çalışmaya dahil edilmişlerdir.

Çalışmaya dahil edilen diyabetik ayak tanılı 76 hastadan Tiyyol/disülfid ve 8-OHdG düzeylerinin ölçümü için venöz kan örnekleri alındı. Alınmış olan kan örnekleri 4000 devirde 10 dk santrifüj edilerek serum elde edildi. Ayrılan serum örnekleri çalışma yapılacak güne kadar -80°C de saklandı. Alınan örnekler Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya laboratuvarında çalışıldı.

Bu 76 hasta yaş, cinsiyet, Wagner sınıflaması, amputasyona gidip gitmediği, total tiyyol, native tiyyol, native tiyyol/total tiyyol, disülfid, disülfid/native tiyyol, disülfid/total tiyyol ve 8-OHdG düzeylerine göre değerlendirildi.

40 yaş altı ve 65 yaş üstü hastalar ve periferik arter hastalığı sonucu ayağında yarası olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

Diyabetik ayak tanısı alan 76 hasta ortalama 9,6 (6-16) ay takip edildi. 76 hastadan 28 hasta farklı seviyelerden alt ekstremite amputasyonu ile sonuçlandı. Alt ekstremite amputasyonu ile sonuçlanan ve amputasyona gitmeyen hastaların alınan kan örneklerinden çalışılan bir antioksidan olan tiyyol/disülfid düzeyleri ve oksidan bir parametre olan 8-OHdG düzeyleri açısından fark olup olmadığı, bu oksidan ve antioksidan parametrelerin amputasyona gidiş açısından risk faktörü olup olmadığı araştırıldı.

## 3.2. Kullanılan Yöntem

### 3.2.1. Serum Tiyol-Disülfid Ölçümü

Serum tiyol-disülfid dengesi ölçümü; Erel ve Neşelioğlu tarafından tanımlanmış olan tam otomatize metod ile yapıldı. Ölçümler Rel Assay Diagnostics marka tam otomatik nativ tiyol, total tiyol kitleri ile Beckman Coulter AU480 otoanalizöründe yapıldı. Bu teknik esas olarak dinamik disülfid bağlarının sodyum borohidrat ( $\text{NaBH}_4$ ) aracılığıyla fonksiyonel tiyol gruplarına indirgenmesine dayanır. İndirgenebilir disülfid bağları öncelikle sodyum borohidrat ( $\text{NaBH}_4$ ) kullanılarak serbest formda fonksiyonel tiyol gruplarına indirgenir.

Kullanılmamış sodyum borohidrat ( $\text{NaBH}_4$ ), formaldehit aracılığıyla tamamen tüketilir ve ortamdan uzaklaştırılır. Tüm tiyol grupları, indirgenmiş olanlar ve nativ tiyoller, 5,5'-ditiyobis-2-nitrobenzoik (DTNB) asit ile reaksiyona tabi tutularak ölçüm yapıldı. Dinamik disülfid miktarı, total tiyol ile nativ tiyol arasındaki fark ikiye bölünerek hesaplandı. Nativ ve total tiyol ölçümü yapıldıktan sonra disülfid miktarı, disülfid/total tiyol yüzde oranı ( $\text{SS}/\text{SH} + \text{SS}$ ), nativ tiyol/total tiyol oranı ( $\text{SH} / \text{SH} + \text{SS}$ ), disülfid/nativ tiyol yüzde oranları ( $\text{SS} / \text{SH}$ ) hesaplandı (82).

### 3.2.2. Serum 8-OHdG Ölçümü

Serum 8-OHdG seviyesi ticari bir ELISA kiti olan (Cayman Chemical, ABD) kullanılarak ölçüldü. Bu kit, sandviç ELISA yöntemini kullanmaktadır. Bu kite göre, antikörlerle önceden kaplanmış 96 oyuklu bir plaka kullanıldı. Biotin işaretli antikor, saptama antikörleri olarak kullanıldı. Yıkamanın ardından standartlar, numuneler ve biotin işaretli antikörler eklendi ve HRP-Streptavidin eklendi. Daha sonra TMB substratı, HRP enzimatik reaksiyonunu görüntülemek için kullanıldı. TMB, HRP ile katalize edilen mavi renkli bir ürün oluşturdu ve bu ürün asit çözeltisinin eklenmesiyle sarıya döndü. Elde edilen renk yoğunluğu ELISA okuyucu (Biotek ELx800, ABD) yardımıyla 450 nm'de ölçüldü ve konsantrasyonlar standart grafikler yardımıyla hesaplandı

## 3.3. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmadan elde edilen verilerin gruplara göre normal dağılım testi Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro Wilk testleri ile yapılmıştır. 8-OH DG, NATİVE THİOL ( $\mu\text{mol/l}$ ), NATİVE TİYOL/TOTAL TİYOL (%), DİSÜLFİD/TOTAL TİYOL

(%) değişkenlerinin gruplara göre normal dağılım gösterdiği, TOTAL THİOL ( $\mu\text{mol/l}$ ), DİSÜLFİD ( $\mu\text{mol/l}$ ), DİSÜLFİD/NATİVE TİYOL (%) değişkenlerinin gruplara göre normal dağılım göstermediği tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). Normallik dağılımı varsayımının test edilmesinden sonra sonuçlar ortalama ve  $\pm$  standart sapma (SD) veya medyan ve çeyreklikler (Q1-Q3) olarak sunulmuştur. Normal dağılım varsayımını sağlayan değişkenlerin karşılaştırılmasında t testi, normal dağılım varsayımının sağlamayan değişkenlerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Ayrıca değişkenler arasında korelasyon analizi için normal dağılan değişkenler için Pearson korelasyon analizi, normal dağılmayan değişkenler için Spearman korelasyon analizi yöntemleri kullanılmıştır. Analizler SPSS 22.0 programı yardımıyla gerçekleştirilmiştir.  $P<0,05$  anlamlılık seviyesi seçilmiştir.

#### 4. BULGULAR

Çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Ortopedi ve Travmatoloji servisi ve Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı servisinde diyabetik ayak tanısıyla takip edilen 76 hasta dahil edildi. Hastaların 51'i erkek (%67,1) ve 25'i kadındı (%32,9). Hastaların yaş ortalaması 58,54 dü. Hastaların ortalama takip süresi 9,6 (6-16) aydı.

Wagner sınıflamasına göre 30 (%39,5) hasta Wagner evre-1, 11 (%14,5) hasta Wagner evre-2, 11 (%14,5) hasta Wagner evre-3, 22 (%28,9) hasta Wagner evre-4, 2 hasta Wagner evre-5 (%2,6) olarak sınıflandırıldı.

76 hasta içerisinde 28 hasta amputasyonla sonuçlandı. (%36,8). Amputasyonla sonuçlanan hastalardan 21 hastada parmak amputasyonu (%27,6), 6 hastada diz altı amputasyon (%7,9), 1 hastada Lisfrank amputasyonu (%1,3) yapıldı.

**Tablo 4-1:** Çalışmaya katılan grupların demografik özellikleri

	N	Yüzde (%)	Minimum	Maximum	Ortalama±Standart Sapma
YAŞ	76		37	65	58,54±7,44
Cinsiyet	Kadın	25	32,9		
	Erkek	51	67,1		

**Tablo 4-2:** Çalışmaya katılan grupların klinik özellikleri

		Sayı	Yüzde (%)
Wagner Sınıflandırması	1	30	39,5
	2	11	14,5
	3	11	14,5
	4	22	28,9
	5	2	2,6
Amputasyon Durumu	Amputasyon	28	36,8
	Amputasyon Gitmedi	48	63,2

**Tablo 4-3:** Tiyol-Disülfid ve Native Tiyol ( $\mu\text{mol/l}$ ) değerleri

	<b>Amputasyon Durumu</b>	<b>Medyan</b>	<b>Q1</b>	<b>Q3</b>	<b>P</b>
Total Tiyol ( $\mu\text{mol/L}$ )	Amputasyon	413,48	354,21	497,42	0,332
	Amputasyon Gitmedi	365,00	315,42	511,70	
Disülfid ( $\mu\text{mol/L}$ )	Amputasyon	90,59	49,42	116,85	0,327
	Amputasyon Gitmedi	81,31	39,60	105,94	
Disülfid/Native Tiyol (%)	Amputasyon	31,76	17,10	53,32	0,291
	Amputasyon Gitmedi	29,60	18,44	45,32	
		<b>N</b>	<b>Ortalama<math>\pm</math> Standart Sapma</b>		<b>P</b>
8-OH DG (Ng/ml)	Amputasyon	28	68,46 $\pm$ 30,91		0,360
	Amputasyon Gitmedi	48	75,47 $\pm$ 33,61		
Native Tiyol ( $\mu\text{mol/L}$ )	Amputasyon	28	249,92 $\pm$ 76,57		0,687
	Amputasyon Gitmedi	48	257,66 $\pm$ 86,35		
Native Tiyol/Total Tiyol (%)	Amputasyon	28	59,53 $\pm$ 16,07		0,232
	Amputasyon Gitmedi	48	64,15 $\pm$ 16,13		
Disülfid/Total Tiyol (%)	Amputasyon	28	20,24 $\pm$ 8,03		0,232
	Amputasyon Gitmedi	48	17,92 $\pm$ 8,06		

p&lt;0,05

Diyabetik ayak tanılı hastalar içerisinde amputasyona giden ve amputasyonla sonuçlanmayan hastalar arasında bakılan oksidan parametre 8-OHdG ve antioksidan parametre native tiyol, total tiyol, disülfid, native tiyol/total tiyol, disülfid/native tiyol, disülfid/total tiyol parametreleri açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ( $p>0,05$ ). Diyabetik ayak tanılı hastalar içerisinde amputasyonla sonuçlanan hastalarda oksidan ve antioksidan düzeyleri açısından amputasyona gitmeyen gruba göre anlamlı fark yoktur.

**Tablo 4-4:** Yaşa bağlı amputasyon tablosu

	Amputasyon Durumu	N	Ortalama±Standart Sapma	p
Yaş	Amputasyon	28	60,964±5,474	0,029
	Amputasyon Gitmedi	48	57,125±8,099	

p&lt;0,05

Yaş değerleri amputasyona gitme durumuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık belirlenmiştir (p<0,05). Amputasyona giden grupta yaş ortalaması daha yüksek bulunmuştur.

**Tablo 4-5:** Wagner Sınıflamasına göre amputasyon tablosu

Wagner evresi	N	Amputasyon var	Amputasyon yok	p
Evre 1,2,3	52	7	45	0,001
Evre 4,5	24	21	3	
Toplam	76	28	48	

p&lt;0,05

Wagner sınıflaması evre 4,5 olan hastalar, Wagner sınıflaması evre 1,2,3 olan hastalarda göre daha çok amputasyon ile sonuçlanmıştır (p<0,05).

**Tablo 4-6:** Cinsiyete göre amputasyon tablosu

Cinsiyet	N	Amputasyon var	Amputasyon yok	p
Kadın	25	7	18	0,001
Erkek	51	21	30	
Toplam	76	28	48	

p&lt;0,05

Erkek hastalarda amputasyona gitme oranı kadın hastalardan daha fazla bulunmuştur. (p<0,05)

## 5. TARTIŞMA

Neden olduğu yüksek mortalite ve morbidite nedeniyle diyabetik ayak lezyonları, diyabetli hasta ve hastayı takip eden hekim açısından önemli bir sağlık sorunudur. Diyabeti olan hastaların yaklaşık olarak dörtte birinde farklı düzeylerde ayak problemleri görülmektedir. Ayrıca diyabetik ayak; hastanede en sık ve en uzun süre yatış nedenlerinden birisidir (83, 84). Alt ekstremitte amputasyon riski; diyabetli hastalarda diyabeti olmayanlara göre 15 kat daha fazladır (85).

Literatürde diyabeti olan hastalarda sağlıklı kontrollere göre oksidatif stresin daha fazla olduğu ve antioksidan kapasitesinin daha düşük olduğu yönünde çalışma olmakla birlikte diyabetik ayak tanılı hastalardaki oksidatif stresi değerlendiren sınırlı sayıda çalışma mevcuttur (10). Özellikle de diyabetik ayak tanılı hastaların amputasyona gidişinde oksidan ve antioksidanları değerlendiren bir çalışma görülememiştir.

Diyabetik hastalarda hiperglisemik koşullara bağlı olarak oksidan/antioksidan dengenin oksidanlar yönünde artış gösterdiği bilinmektedir (86). Oksidan düzeyindeki artış sonucunda da, oksidatif stresi indükleyerek doku hasarına neden olmaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda bu hasarların ara mekanizmalarla protein glukasyonuna ve proteinlerin inaktivasyonu ile gerçekleşen lipid peroksidasyonu sonucu retinopati, nefropati ve koroner kalp hastalığına neden olduğu belirtilmiştir (87). Diyabetik hastaların artmış glukoprotein düzeyi, bozulmuş glukoz otooksidasyonu ve anormal antioksidan dengeye sahip olduğu da bildirilmiştir (88).

Diyabetik alt ekstremitte amputasyonlarının yaşla ilişkisi konusunda farklı görüşler vardır (89, 90). Çalışmamızda amputasyon ile sonuçlananların yaş ortalaması amputasyon olmayanlara göre daha yüksekti ( $p<0,05$ ). Yaşın ilerlemesi ile birlikte görülen ek hastalıklar artmaktadır. Diyabet ve diğer hastalıkların komplikasyonlarının görülme sıklığı da yaşla beraber artmaktadır. Ayrıca ilerleyen yaş ile birlikte özbakım yetileri de gerileyeceği için, diyabetik ayak ülseri gelişme riski yaşlı hastalarda artmaktadır.

Ayrıca yaşla birlikte gelişen ülserin hem bakımı daha kötü olacak hem de mevcut komorbid hastalıkların komplikasyonlarına bağlı olarak iyileşmesi güçleşecektir.

Yapılan çalışmalarda Wagner sınıflamasına göre, ülserin evresi arttıkça klinik tablo ağırlaşmaktadır. Amputasyon ile Wagner evresi arasında ilişki varlığı birçok çalışmada gösterilmiştir (91, 92). Çalışmamızda amputasyon ile Wagner sınıflaması arasındaki ilişkiye de bakıldı. Her evrede yeterli sayıda hasta olmadığı için hastalar, Wagner evre 3 ve altında olanlar (evre,1.2.3) ve Wagner evre 4 ve üstü olanlar (evre 4 ve 5) olarak iki gruba ayrıldı. Wagner evre 4-5 olanlarda amputasyon riskinin belirgin olarak arttığı gözlemlendi ( $p<0.05$ ). Hastanın başvuru anındaki sınıflandırmasının Wagner evre 4-5 olması, evre 1-2-3 ülser olmasına göre amputasyon riskini oldukça arttırmaktadır. Hastanın ilk başvuru anındaki Wagner evresinin klinik seyir açısından önemli bir belirleyici faktör olduğu görüldü.

Çünkü diyabetik ayak ülseri olan hastalarda Wagner evresinin artması yara derinliğinin artması, daha içteki dokuların enfekte olması anlamına gelmektedir. Enfekte ve derin yara oranının artışı amputasyona gidişi artırmaktadır.

Cinsiyetin diyabetik ayak amputasyonunu üzerine etkisi konusunda yapılan birçok çalışmada erkek hastalarda amputasyon riskinin arttığı görülmüştür. Sin ve arkadaşlarının 33 makaleyi değerlendirerek yaptıkları bir metaanaliz çalışmasında erkek cinsiyetin amputasyon oranı yüksek bulunmuştur (93). Cinsiyet açısından kıyaslandığında amputasyon durumu erkek cinsiyet için ( $p<0.001$ ) bulunmuştur. Türk Diyabet Cemiyeti tarafından 2000 yılında 500 hastayla yapılan bir çalışmada erkek/kadın oranının 2,03 olduğu görülmüştür (94). Hill ve arkadaşları tarafından yapılan 150 diyabetik ayaklı hastanın dahil edildiği çalışmada ise cinsiyet oranı % 53,3 erkek ve % 46,7 kadın olarak saptanmıştır (95). Ancak neden erkek cinsiyette daha sık amputasyon görüldüğü ve amputasyon riski için erkek cinsiyetin predispozan bir faktör olduğu net olarak anlaşılamamıştır. Bu durumu açıklamak için erkek ve kadınlar arasında bulunan davranış farklılıkları sıklıkla kullanılmıştır. Erkekler kadınlarla kıyaslandığında sağlık hizmetlerini daha az kullanmaktadırlar ve kendi hastalıklarının farkına varmamaktadırlar (96). Ayrıca erkekler genellikle kadınlara göre daha fazla sosyal baskı ve fiziksel yük altında kaldıklarından, kendilerini sağlıklı ve güçlü olmak zorunda hissederler (97).

Birçok çalışmada östrojenin hormonal koruyucu etkisi olduğuna da değinilmiştir. Özellikle kardiyovasküler hastalıklar konusunda geçerli olan bu hormonal etki, cinsiyetler arasında immun yeterlilik açısından olan farka neden olmuş olabilir (97). Ancak bununla birlikte cinsiyetle amputasyon arasında ilişki olmadığını ileri süren çalışmalar da mevcuttur (98). Biz kendi çalışmamızda da erkek cinsiyette daha sık amputasyona gidiş gördük.

Birçok çalışmada diyabetik ayak ülserleri ile komorbid hastalıklar ilişkisi incelenmiştir. Kardiyovasküler hastalıklar, hipertansiyon, periferik arter hastalığı ve serebrovasküler hastalıklar diyabetik ayak ülseri olan hastalarda en sık görülen komorbid hastalıklardır (99). Periferik arter hastalığı, diyabetin makrovasküler komplikasyonlarından biridir. DM ve sigara periferik arter hastalığının en önemli risk faktörleridir. Yapılan çalışmalarda, periferik arter hastalığının alt ekstremité amputasyonu nedeni olduğu görülmüştür (99). Periferik arter hastalığı olması, diyabetik ayak ülseri oluşumunda, ülserin ilerlemesinde ve yara iyileşmesinin gecikmesinde etkili bir faktördür. Vasküler yetersizlik sonucu yaranın ilerlemesi ve yara iyileşmenin gecikmesi, sürecin amputasyon ile sonuçlanmasına neden olmaktadır. Adler ve arkadaşlarının tarafından yapılan bir çalışmada periferik arter hastalığının diyabetik ayak ülseri gelişimi için bir risk faktörü olduğu gösterilmiş ve periferik arter hastalığı varlığının alt ekstremité amputasyon riskini 3 kat arttırdığı gösterilmiştir (93). Ancak periferik arter hastalığı ile diyabetik ayak amputasyonu arasında anlamlı ilişki olmadığını önesüren çalışmalar da mevcuttur (100). Periferik arter hastalığı da tek başına amputasyon sebebi olabilmesi nedeniyle bizim çalışmamızda periferik arter hastalığı olan hastalar çalışma dışında bırakılmıştır.

Jeon ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada nöropati ile amputasyon arasında ilişki olduğu ve nöropatinin amputasyon için bir risk faktörü olduğu bulunmuştur (101). Nöropati sonucu gelişen duyu kaybına bağlı olarak, çarpmalar ve yaralanmaların hissedilmesini azaltmakta, terleme ve cildin nemlenmesinin bozulması da çatlaklara ve ülserler oluşmasına zemin hazırlamaktadır.

Diyabetik ayak öyküsünün amputasyon için risk faktörü olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (102). Diyabetik ayak öyküsü ve/veya amputasyon öyküsü olan hastalarda yeniden diyabetik ayak ülseri gelişmesi, ülser riskini arttıran

faktörlerin düzeltilmemiş olmasındandır. Bu faktörler hastaya bağlı olan ve olmayan olarak ikiye ayrılır. Hastaya bağlı faktörler; glisemik kontrolünün kötü olması kişinin öz bakımının kötü olması, eğitim ve sosyokültürel düzeyinin düşük olması, uygun olmayan ayakkabı/protez kullanımı, sigara veya alkol kullanımı gibi faktörlerdir. Hastaya bağlı olmayan faktörler ise; periferik arter hastalığı , nöropati, kronik böbrek yetmezliği, eklem hareket kısıtlılığı, ayak deformitesi varlığı, diyabetin süresi, ileri yaş ve kötü sosyal destek gibi faktörlerdir. İlk diyabetik ayak ülseri tespit edildiğinde bu faktörlerin sorgulanıp düzeltilmesi; hem tekrar ülser gelişimini, hem amputasyona gidişi azaltır (103).

Metabolizmanın doğal işlevleri sırasında serbest radikaller üretilir ve bu üretilen serbest radikaller hücre dengesinin düzenlenmesinde önemli olan fizyolojik olayların yönetiminde önemli bir rol oynamaktadırlar (104). Serbest oksijen radikallerinin aşırı üretilmesine karşın antioksidan kapasitenin azalması ve sonucunda oksidan-antioksidan dengesinin bozulması oksidatif stres olarak tanımlanabilir.

Tiyoller merkaptanlar olarak da adlandırılan -SH (sülfidril) grubu bulunduran organik bileşiklerdir. Hücrelerde oluşan oksidatif stresi önlemeye yarayan antioksidan sistemin önemli bir parçasıdır. Oksidanlar ile tiyoller disülfid zincirleri aracılığıyla oksidatif reaksiyona uğrayabilirler (105). Sülfür grubu (-SH) içeren sistein ve metiyonin gibi aminoasitlerin tiyol grupları serbest oksijen radikallerinin öncelikli hedefidir (106). Serbest radikaller -SH gruplarının da içerisinde olduğu antioksidanların plazma doku dengelerini korumalarına engel olur (107). Tiyoller, serbest radikaller ile bir araya geldiğinde -SH grupları üzerinden tersinir olarak -S-S- bağlarına dönüşür. Bu durum radikallerce yapılan protein oksidasyonunun ilk belirteçidir (108). Bu kaybolan -SH grupları proteinlerin fonksiyonel gruplarıdır (109). Oksidatif stres ile sistein kalıntıları üzerinden oksidasyon ile disülfid bağları oluşumu ile sonuçlanır. Oksidatif stres sonucu oluşan bu disülfid bağları da tersinir olarak tekrar tiyol gruplarına indirgenir. Böylece dinamik tiyol-disülfid homeostazı sağlanmış olur (110).

Ateş ve arkadaşlarının prediyabetik hastalarda tiyol-disülfid dengesini değerlendirdiği çalışmada prediyabetik hastalarda sağlıklı kontrollere göre native tiyol, total tiyol, native tiyol/total tiyol seviyeleri daha düşük bulunmuştur.

Disülfid, disülfid/total tiyol, disülfid/ native tiyol seviyeleri de yüksek bulunmuştur. Ancak bizim çalışmamızdaki diyabetik hastalar içerisindeki amputasyonla sonuçlanan grupta tiyol-disülfid değerleri açısından amputasyonla sonuçlanmayanlara göre anlamlı fark bulunamamıştır (69).

Serbest oksijen radikallerinin DNA üzerinde yaptığı oksidatif baz hasar ürünlerinden mutajenitesi en yüksek olan ve en sık karşılaşılanı 8-OHdG' dir (111). Serbest oksijen radikali üretiminde artış ile sonuçlanan tüm durumlar yani oksidatif stresin artışı, oksidatif DNA hasarlanmasına da neden olabilmektedir. 8-OHdG düzeyinin özellikle de oksijen kullanımının yüksek görüldüğü dokularda doğrusal olarak arttığı gösterilmiştir (75). Birçok çalışmada 8-OHdG tek başına oksidatif DNA hasarı göstergesi olarak kullanılmıştır (76). Özellikle de -OH radikalının DNA bazlarında neden olduğu reaksiyonların sonucunda oksidatif DNA hasarının göstergesi olarak 20'den fazla ürün oluşmaktadır. Bu radikallerinin reaksiyonları sonucu pirimidin ve pürin bazlarında değişiklikler görülmektedir. Bu bazlar içerisinde Guanin en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip bileşiktir. Bu sebeple de serbest oksijen radikallerinin başlıca hedefidir (112,113) 8-OHdG kardeş DNA sarmallarında nokta mutasyonlara neden olan guanin modifikasyonudur. Bu nedenle oksidatif DNA hasarının olduğu birçok hastalıkta belirteç olarak kullanılmıştır (114).

Normal bir metabolizmada, 8-OHdG ve diğer okside baz ürünlerinin oluşumu ile bu ürünlerin onarılma hızı neredeyse birbirine eşittir (115). İnsan DNA'sında oluşan hasarların onarım süresinin yarı ömrü yaklaşık 8-60 dakika olup pirimidin lezyonlarının tamir süresi ise daha kısadır. Artan yaşla birlikte bu yarılanma ömründe ve dolayısıyla tamir süresinde artış gözlenir. Bu durumun en muhtemel nedeni antioksidan enzim aktivitelerindeki azalma sonucu tamir mekanizmalarındaki yetersizliktir. 8-OHdG'nin de içinde olduğu bu okside baz ürünlerinin oluşumunu hızlandıran oksidatif stres nedenlerinin ağır bastığı yada antioksidan mekanizmaların yetersiz kaldığı bu durumlarda onarılamayacak kadar fazla okside baz oluşur ve bunlar bozulmuş DNA ürünlerine neden olarak hastalık sürecine katkıda bulunur (116).

Artan oksidatif stresle düzeyinde artış görülen 8-OHdG düzeyleri üzerine yapılan bir çalışmada 8-OHdG düzeylerinin diyabetik hastalarda sağlıklı kontrollere göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. Diyabetik ayak tanılı hastalarda ise hem sağlıklı kontrollerden hem de diyabetik gruptan 8-OHdG düzeyleri daha yüksek bulunmuştur. Ancak bizim çalışmamızda diyabetik ayak nedeniyle amputasyona giden hastalar arasında 8-OHdG düzeyleri açısından anlamlı farklılık bulunamamıştır (81).

Daha önceki çalışmalarda görüldüğü gibi diyabetik hastalarda artmış bir oksidatif stres durumu vardır. Ancak bu artmış oksidatif stres durumu ve azalmış antioksidan kapasite diyabetik ayağa bağlı amputasyon gelişimi açısından önemli bir risk faktörü olarak görülememektedir. Periferik arter hastalığı olan hastalar çalışma dışı bırakıldığı için diyabetik ayak gelişimi açısından önemli etyolojik faktörler olan nöropati, mikrovasküler komplikasyonlar, kötü glisemik kontrol, ileri yaş gibi diğer etkenlerin amputasyon açısından oksidatif strese göre daha dikkat edilmesi gereken etyolojik nedenler olduğunu düşünmekteyiz.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Diyabetik hastalarda sağlıklı kontrollere göre birçok çalışmada yüksek bulunan oksidatif stres ve daha düşük bulunan antioksidan kapasite diyabetik ayak tanılı hastalarda amputasyona gitme açısından farklılık göstermemektedir. Antioksidan kapasiteyi değerlendirmek için kullandığımız tiyol-disülfid ve oksidan durumu değerlendirmek için kullandığımız 8-OHdG değerleri amputasyon açısından risk faktörü olarak görülmemiştir.

Diyabetik ayak tanılı hastalarda amputasyona gidişte oksidatif stres ve antioksidan kapasite arasında ilişki bulunamamıştır.

Daha önce tanımlanmış olan nöropati, mikrovasküler bozukluk, kötü glisemik kontrol, yaş, ayak bakımı gibi faktörler amputasyona gidişte daha önemli görülmektedir. Amputasyona gidişi önlemek için bu faktörlerin tedavisi ve hastaların eğitim ve bilinçlendirilmesinin daha faydalı olacağı anlaşılmaktadır.

## 7. KAYNAKÇA

1. Uygur, Meliha Melin, and Yavuz DG. "Diyabet Tanısı ve Sınıflandırılması." *Turkiye Klinikleri J Nutr Diet-Special Topics* 3.3, 2017: 120-9.
2. Apelqvist J. Diagnostics and treatment of the diabetic foot. *Endocrine*. 2012;41:384-97.
3. Albrant, Daniel H. "APhA Drug Treatment Protocols: Management of Foot Ulcers in Patients with Diabetes: Rapidity of foot ulcer healing depends on many factors, including wound size, presence of necrotic tissue, infection, quality of diabetes care, degree of vascular compromise, and patient compliance." *Journal of the American Pharmaceutical Association (1996)* 40.4 (2000): 467-474.
4. Frykberg RG, Zgonis T, Armstrong DG, Driver VR, Giurini JM, Kravitz SR, et al. Diabetic Foot Disorders: A Clinical Practice Guideline (2006 Revision). *The Journal of Foot and Ankle Surgery*. 2006;45.
5. Amoah VMK, Anokye R, Acheampong E, Dadson HR, Osei M, Nadutey AJBrn. The experiences of people with diabetes-related lower limb amputation at the Komfo Anokye Teaching Hospital (KATH) in Ghana. 2018;11:1-5.
6. Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, Malanda B, Karuranga S, Unwin N, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas. 2019;157:107843.
7. Misuri A, Lucertini G, Nanni A, Viacava A, Belardi P. Predictive value of transcutaneous oximetry for selection of the amputation level. *The Journal of cardiovascular surgery*. 2000;41:83-7.
8. Apelqvist J, Larsson J. What is the most effective way to reduce incidence of amputation in the diabetic foot? *Diabetes/metabolism research and reviews*. 2000;16 Suppl 1:S75-83.
9. Akcay S, Harman E, Satoglu I, Kurtulmus A. Rates and Risk Factors of Diabetic Foot Reamputations. *Medicine Science International Medical Journal*. 2012:1.
10. Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB, 3rd. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *Journal of biochemical and molecular toxicology*. 2003;17:24-38.
11. Al-Aubaidy HA, Jelinek HF. Oxidative DNA damage and obesity in type 2 diabetes mellitus. *European journal of endocrinology*. 2011;164:899-904.

12. Gul A, Rahman MA. Antioxidant status in diabetic and non-diabetic senile patients, with cataract or cardiovascular complications. *Saudi medical journal*. 2008;29:179-84.
13. Lai C-Q, Tucker KL, Parnell LD, Adiconis X, García-Bailo B, Griffith J, et al. PPARGC1A variation associated with DNA damage, diabetes, and cardiovascular diseases: the Boston Puerto Rican Health Study. *Diabetes*. 2008;57:809-16.
14. Circu ML, Aw TY. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. *Free radical biology & medicine*. 2010;48:749-62.
15. Biswas S, Chida A, Rahman I. Biswas S, Chida AS, Rahman I. Redox modifications of protein-thiols: emerging roles in cell signaling. *Biochem Pharmacol* 71: 551-564. *Biochemical pharmacology*. 2006;71:551-64.
16. İliçin G BİK, Süleymanlar G, Ünal S. *Temel İç Hastalıkları Cilt 2*. Ankara: Güneş Kitabevi; 2003. p. 2279-330.
17. Satman I, Yılmaz T, Sengül A, Salman S, Salman F, Uygur S, et al. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). 2002;25:1551-6.
18. Satman I, Omer B, Tutuncu Y, Kalaca S, Gedik S, Dincçag N, et al. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. 2013;28:169-80.
19. Grubu UDK. *TURKDİAB Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi 2019*. 2020.
20. Apelqvist JJE. Diagnostics and treatment of the diabetic foot. 2012;41:384-97.
21. Boulton AJJ Dmr, reviews. The diabetic foot: grand overview, epidemiology and pathogenesis. 2008;24:S3-S6.
22. Trepman E, Nihal A, Pinzur MS. *Current topics review: Charcot neuroarthropathy of the foot and ankle*. SAGE Publications Sage CA: Los Angeles, CA; 2005.
23. Schaper N, Nabuurs-Franssen M, Huijberts MJD Dmr, reviews. Peripheral vascular disease and type 2 diabetes mellitus. 2000;16:S11-S5.
24. LoGerfo FW, Coffman JD JNEJoM. Vascular and microvascular disease of the foot in diabetes: implications for foot care. 1984;311:1615-9.
25. Jörneskog G, Brismar K, Fagrell BJD. Pronounced skin capillary ischemia in the feet of diabetic patients with bad metabolic control. 1998;41:410-5.
26. Schaper N, Huijberts M, Pickwell KJD Dmr, reviews. Neurovascular control and neurogenic inflammation in diabetes. 2008;24:S40-S4.
27. Eming SA, Martin P, Tomic-Canic MJ Stm. Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation. 2014;6:265sr6-sr6.

28. Morbach S, Lutale J, Viswanathan V, Möllenberg J, Ochs H, Rajashekar S, et al. Regional differences in risk factors and clinical presentation of diabetic foot lesions. 2004;21:91-5.
29. Lipsky BAJDmr, reviews. A report from the international consensus on diagnosing and treating the infected diabetic foot. 2004;20:S68-S77.
30. M. T. Diyabetik Ayak ve Tedavisi. Asya Tıp Yayinevi izmir2005:1-24.
31. Berendt A, Peters E, Bakker K, Embil J, Eneroth M, Hinchliffe R, et al. Diabetic foot osteomyelitis: a progress report on diagnosis and a systematic review of treatment. 2008;24:S145-S61.
32. Lipsky BAJKD. Diagnosing and Treating Diabetic Foot Infections/Diyabetik Ayak Enfeksiyonlarının Tanı ve Tedavisi. 2009;22:2.
33. Uçkay I, Aragón-Sánchez J, Lew D, Lipsky BAJJoID. Diabetic foot infections: what have we learned in the last 30 years? 2015;40:81-91.
34. Wagner Jr FWJF, ankle. The dysvascular foot: a system for diagnosis and treatment. 1981;2:64-122.
35. Campbell's Operative Orthopaedics -VS, 13th Edition Frederick Azar S. Terry Canale James Beaty IE, 2016.
36. TEMD DJT. Eğitim ve Çalışma Grubu: Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı Tedavi ve İzlem Kılavuzu. 2019;12:97-9.
37. Walsh J, Hoffstad O, Sullivan M, Margolis DJDM. Association of diabetic foot ulcer and death in a population-based cohort from the United Kingdom. 2016;33:1493-8.
38. Lavery LA, Hunt NA, Ndip A, Lavery DC, Van Houtum W, Boulton AJJDC. Impact of chronic kidney disease on survival after amputation in individuals with diabetes. 2010;33:2365-9.
39. Sies H. What is oxidative stress? Oxidative stress and vascular disease: Springer; 2000. p. 1-8.
40. Sies HOsoaa, Exp Physiol, 82, pp. 291-295.
41. Sies HOsacirbam, Redox Biol, 4180-, 183.
42. Liguori I, et al. 'Oxidative stress, aging, and diseases', Clin Interv Aging, 2018, 13757-772.
43. Halliwell BaG, J. M. 2015. Free radicals in biology and medicine, Oxford University Press, USA.
44. Genestra MOR, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants', Cell Signal, 19, pp. 1807-1819.

45. Lobo V, et al. 'Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human, health' PR,2010, 4, pp. 118-126.
46. Phaniendra A, Jestadi, D. B. and Periyasamy, L. 'Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases', Indian J Clin Biochem, 2015, 30.
47. Comporti MLpacditli, Lab Invest, 53, pp. 599-623.
48. Valko M, et al. 'Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease', Int J Biochem Cell Biol, 2007, 39.
49. Wu P, Nielsen, T. E. and Clausen, M. H. 'FDA-approved small-molecule kinase inhibitors', Trends in Pharmacological Sciences, 2015 ,36.
50. Evans MD, Dizdaroglu, M. and Cooke, M. S. 'Oxidative DNA damage and disease:, induction ras, Mutat Res, 2004, 567.
51. Owoade AO, Adetutu, A. and Olorunnisola, O. S. 'Free Radicals as Mediators of oxidative Damage and Disease', IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences, 2019, 14.
52. Gutteridge JMCL-PaAaBoT-D, Clinical Chemistry, 41, pp. 1819-1828.
53. Birben E, et al. () 'Oxidative stress and antioxidant defense', World Allergy Organ J, 2012, 5.
54. Davies MJPoap, Biochem J, 473, pp. 805-825.
55. Stadtman ERRoosia, Curr Med Chem, 11, pp. 1105- 1112.
56. Blokhina O, Virolainen, E. and Fagerstedt, K. V. 'Antioxidants, oxidative damage and, oxygen deprivation stress: a review' AB, 91 Spec No, 2003, pp. 179-194.
57. Tan BL, et al. () 'Antioxidant and Oxidative Stress: A Mutual Interplay in Age-Related Diseases', Front Pharmacol, 9, 2018, pp. 1162.
58. Trachootham D, Lu W, Ogasawara MA, Valle NR-D, Huang PJA, signaling r. Redox regulation of cell survival. 2008;10:1343-74.
59. Bonnefont-Rousselot D, Bastard J, Jaudon M, Delattre JJD, metabolism. Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. 2000;26:163-77.
60. Sen CK, Packer LJTAjocn. Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. 2000;72:653S-69S.
61. Turell L, Radi R, Alvarez BJFRB, Medicine. The thiol pool in human plasma: the central contribution of albumin to redox processes. 2013;65:244-53.
62. Cremers CM, Jakob UJJoBC. Oxidant sensing by reversible disulfide bond formation. 2013;288:26489-96.

63. Jones DP, Liang Y. Measuring the poise of thiol/disulfide couples in vivo. *Free radical biology & medicine*. 2009;47:1329-38.
64. Knapen MF, Zusterzeel PL, Peters WH, Steegers EAJEJoO, Gynecology, Biology R. Glutathione and glutathione-related enzymes in reproduction: a review. 1999;82:171-84.
65. Eryilmaz OG K-CH, Erel O, Erdogan S. Thiol/disulfide parameters as a novel oxidative marker in medical labor induction with oxytocin. *Horm Mol Biol Clin Invest*. 2017;29:61-65.
66. Biswas S, Chida AS, Rahman IJBp. Redox modifications of protein–thiols: emerging roles in cell signaling. 2006;71:551-64.
67. Yadav SK, Adhikary B, Chand S, Maity B, Bandyopadhyay SK, Chattopadhyay SJFrb, et al. Molecular mechanism of indomethacin-induced gastropathy. 2012;52:1175-87.
68. Matteucci E, Giampietro OJM. Thiol signalling network with an eye to diabetes. 2010;15:8890-903.
69. Ates I, Kaplan M, Inan B, Alısık M, Erel O, Yilmaz N, et al. How does thiol/disulfide homeostasis change in prediabetic patients? 2015;110:166-71.
70. Prabhu A, Sarcar B, Kahali S, Yuan Z, Johnson JJ, Adam K-P, et al. Cysteine catabolism: a novel metabolic pathway contributing to glioblastoma growth. 2014;74:787-96.
71. Tetik S, Ahmad S, Alturfan AA, Fresko I, Disbudak M, Sahin Y, et al. Determination of oxidant stress in plasma of rheumatoid arthritis and primary osteoarthritis patients. 2010.
72. Rodrigues SD, Batista GB, Ingberman M, Pecoits-Filho R, Nakao LSJBp. Plasma cysteine/cystine reduction potential correlates with plasma creatinine levels in chronic kidney disease. 2012;34:231-7.
73. Smeyne M, Smeyne RJJFRB, Medicine. Glutathione metabolism and Parkinson's disease. 2013;62:13-25.
74. Calderón-Garcidueñas L, Wen-Wang L, Zhang Y-J, Rodriguez-Alcaraz A, Osnaya N, Villarreal-Calderón A, et al. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, a major mutagenic oxidative DNA lesion, and DNA strand breaks in nasal respiratory epithelium of children exposed to urban pollution. 1999;107:469-74.
75. Helbock HJ BK, Shigenaga MK. DNA oxidation matters; The HPLC electrochemical detection assay of 8-oxo-deoxyguanosine and 8-oxo-guanine. *Proc Natl Acad Sci* 1998; 95: 288-93.

76. Kasai H. Analysis of a form of oxidative DNA damage -H-d-s, as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis. *Mutation Research* 1997; 387: 147-63.
77. Helbock HJ, Beckman KB, Shigenaga MK, Walter PB, Woodall AA, Yeo HC, et al. DNA oxidation matters: the HPLC–electrochemical detection assay of 8-oxo-deoxyguanosine and 8-oxo-guanine. 1998;95:288-93.
78. Kasai HJMRRiMR. Analysis of a form of oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis. 1997;387:147-63.
79. Yokuş B. Çakır DÜ. İnvivo Oksidatif DNA Hasarı Biyomarkeri; 8-Hydroxy-2'- deoxyguanosine. *T Klin Tıp Bilimleri* 2002; 22: 535-543.
80. Cheng KC CD, Kasai H, et al. 8- Hydroxyguanine an abundant form of oxidative DNA damage, causes G T and A C substitutions. *J Biol Chem* 267;166-172, 1992.
81. Bolajoko EB, Mossanda KS, Adeniyi F, Akinosun O, Fasanmade A, Morapane MJSAMJ. Antioxidant and oxidative stress status in type 2 diabetes and diabetic foot ulcer. 2008;98:614-7.
82. Erel O, Neselioglu SJCb. A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. 2014;47:326-32.
83. Lipsky BA. Diabetic Food infections. *International Journal of Dermatology* 1991;30 p.:560-2.
84. Reiber GE LB, Gibbons GW. The burden of diabetic foot ulcers. *Am J Surg.* 1998 Aug; 176: p.:5-10.
85. Grunfeld C. Diabetic foot ulcers: Etiology t, and preventation. *Advances in Internal Medicine* 1991;37: p.:103- 30.
86. Tabak O, Gelisgen, R., Erman, H., Erdenen, F., Muderrisoglu, C., Aral, H., Uzun, H., 2011. Oxidative lipid, protein, and DNA damage as oxidative stress markers in vascular complications of Diabetes Mellitus. *Clinical & Investigative Medicine*, 34 : 163-171.
87. Wollf S, 1993. Diabetes Mellitus and free radicals: Free radicals, transition metals and oxidative stress in the etiology of Diabetes Mellitus and complications. *British Medical Bulletin*, 49 : 642-652.
88. Niwa A, Tajiri, T., Higashino, H., 2011. Ipomoea batatas and Agarics blazei ameliorate diabetic disorders with therapeutic antioxidant potential in streptozotocininduced diabetic rats. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 48: 194-202.

89. Shin JY, Roh S-G, Lee N-H, Yang K-MJTijolew. Influence of epidemiologic and patient behavior–related predictors on amputation rates in diabetic patients: Systematic review and meta-analysis. 2017;16:14-22.
90. Nather A, Bee CS, Huak CY, Chew JL, Lin CB, Neo S, et al. Epidemiology of diabetic foot problems and predictive factors for limb loss. 2008;22:77-82.
91. Jiang Y, Ran X, Jia L, Yang C, Wang P, Ma J, et al. Epidemiology of type 2 diabetic foot problems and predictive factors for amputation in China. 2015;14:19-27.
92. Won SH, Chung CY, Park MS, Lee T, Sung KH, Lee SY, et al. Risk factors associated with amputation-free survival in patient with diabetic foot ulcers. 2014;55:1373-8.
93. Shin JY RS, Lee NH, Yang KM. Influence of Epidemiologic and Patient Behavior–Related Predictors on Amputation Rates in Diabetic Patients: Systematic Review and Meta-Analysis. *The International Journal of Lower, Extremity Wounds*, 2017, 14-22.
94. Altındaş M BIUKA, Pilancı Ö. Diyabetik Ayakta Cerrahi Tedavi: İzlem formuna Dayalı 500 Hastanın Analizi. *Türk Plast Rekonstr Est Cer Derg*. 2006; 14: 87–95.
95. Hill SL HG, Buse R et al. The effect of peripheral vascular disease with osteomyelitis in the diabetic foot. *Am J Surg*. 1999; 177: 282– 286.
96. Lacle A, Valero-Juan LF. Diabetes-related lower-extremity amputation incidence and risk factors: a prospective seven-year study in Costa Rica. *Rev Panam Salud Publica*. 2012;32:192-198
97. Tivesten A MD, Jutberger H. Low serum testosterone and high serum estradiol associate with lower extremity peripheral arterial disease in elderly men. *The MrOS Study in Sweden. J Am Coll Cardiol*. 2007;50: 1070-1076.
98. Jiang Y RX, Jia L, Yang C, Wang P, Ma J, Yin H. Epidemiology of, in tdfpapffa, China. *The international journal of lower extremity wounds*, 2015, 19-27.
99. Adler AI BE, Ahroni JH, Smith DG. Lower-extremity amputation in diabetes. The independent effects of peripheral vascular disease, sensory, neuropathy afuDe, 1999, 22, 1029-1035.
100. Mantovani AM FC, Palma MR, Ribeiro FE, Fernandes RA, Christofaro DG. (2017). Relationship between amputation and risk factors in individuals with diabetes mellitus: a study with Brazilian patients. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 47-50.
101. Jeon BJ CHJ, Kang JS, Tak MS, Park ES. (2017). Comparison of five, for socodfuapf, amputation. *International wound journal*, 537-545.

102. Adler AI, BE, Ahroni JH, Smith DG. (1999). Lower-extremity, amputation in diabetes. The independent effects of peripheral vascular disease, sensory neuropathy. *afuDc*, 22, 1029-1035.

103. Çetinkalp, Ş. "Diyabetes Mellitus ve İnfeksiyon İlişkisi." *Ulusoy S. Modern Tıp Seminerleri Diyabet ve Enfeksiyon. Ankara: Güneş Kitabevi* 33 (2006): 1-6.

104. CARAMORI G, PAPI A 2004. Oxidants and asthma Thorax; 59;170-173.

105. Cremers, Claudia M., and Ursula Jakob. "Oxidant sensing by reversible disulfide bond formation." *Journal of Biological Chemistry* 288.37 (2013): 26489-26496.

106. Köseoğlu H, Alışık, M., Başaran, M., Yürekli, Ö. T., Solakoğlu, T., Tahtacı, M., Ersoy, O. and Erel, Ö. Dynamic thiol/disulphide homeostasis in acute pancreatitis. *Turkish J. Gastroenterol.* 2018, 29:348–353.

107. MCCORD JM 1993. Human disease fr, and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem* 26:351–7.

108. DEAN RT FS, STOCKER R, DAVIES MJ 1997. Biochemistry and pathology of radical- mediated protein oxidation. *Biochem J*; 324:1-18.

109. ZIEGLER D 185. Role of reversible oxidation-reduction of enzyme thiols-disulfides in metabolic regulation. *Annu Rev Biochem* 54:305-29.

110. Erel OaN, S. A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. *Clin. Biochem.* 2014, 47:326–332.

111. Calderon GL W-wL, Zhang YJ. et al. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, a major mutagenic oxidative DNA lesion, and DNA strand breaks in nasal respiratory epithelium of children exposed to urban pollution. *Environ Health Perspect* 1999; 107: 469-74.

112. Emerce E. DNA onarım enzimi OGG1 SER326CYS polimorfizmi ile akciğer kanseri ilişkisinin Türk popülasyonunda araştırılması ve oksidatif hasarın biyogöstergesi 8-OHdG ölçümü. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2007.

113. Hirano T YR, Asami S, Iwamoto N, Kasai H. 8-Hydroxyguanine levels in nuclear DNA and its repair activity in rat organs associated with age. *The Journal of Gerontology* 1996; 51: 303-8.

114. Tanaka C.H FN, Sugimoto R, Urawa N, Horiike S, Kobayashi Y, Iwasa M, Ma N, Kawanishi S, Watanabe S, Kaito M and Takei Y. Hepatic oxidative DNA damage, is associated with increased risk for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis *British Journal of Cancer*, 2008, 98.

115. Cadet J dHC, Douki T, et al. Facts and artifacts in the measurement of oxidative base damage to DNA. *Free Radic Res* 1998; 29: 541-50.

116. Shigenaga MK, Ames BN. Assay for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine; A biomarker of in vivo oxidative DNA damage. *Free Radic Biol&Med* 1991; 10: 211-6.

