

T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DİYABET HASTALARINDA  
PTERİDİNLERİN VE İLGİLİ YOLAKLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Ecz. Sinem Gürcü

Farmasötik Toksikoloji Programı

DOKTORA TEZİ

ANKARA

2018



T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DİYABET HASTALARINDA  
PTERİDİNLERİN VE İLGİLİ YOLAKLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Ecz. Sinem GÜRCÜ**

**Farmasötik Toksikoloji Programı**

**DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. Terken BAYDAR**

**İKİNCİ DANIŞMAN**

**Doç. Dr. Gözde GİRGİN**

**ANKARA**

**2018**

**DİYABET HASTALARINDA PTERİDİNLERİN VE İLGİLİ YOLAKLARIN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Ecz. Sinem GÜRCÜ**

**Danışman: Prof. Dr. Terken BAYDAR**

**İkinci Danışman: Doç. Dr. Güzde GİRGİN**

Bu tez çalışması 06/06/2018 tarihinde jürimiz tarafından "Farmasötik Toksikoloji Doktora Programı" nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Başkanı:**

*Prof. Dr. Gönül ŞAHİN*

*Doğu Akdeniz Üniversitesi*



**Üye:**

*Prof. Dr. Aylin GÜRBAY*

*Hacettepe Üniversitesi*



**Üye:**

*Doç. Dr. Hande SİPAHİ*

*Yeditepe Üniversitesi*



**Üye:**

*Doç. Dr. Sevtap AYDIN*

*Hacettepe Üniversitesi*



**Üye:**

*Doç. Dr. Şaziye Sezin PALABIYIK*

*Atatürk Üniversitesi*



Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

04 Temmuz 2018



*Prof. Dr. Diclehan ORHAN*

**Enstitü Müdürü**

## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

- **Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.**

(Bu seçenekle teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etmeniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirirse bile, teziniz arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir)

- ✓ **Tezimin/Raporumun 06.06.2048 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.**

(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir)

- **Tezimin/Raporumun ..... tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.**

- **Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi**

06/06/2018  
(İmza)  
Sinem GÜRCÜ

**ETİK BEYAN**

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Prof. Dr. Terken BAYDAR danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.



Ecz. Sinem GÜRCÜ

## TEŞEKKÜR

Değerli bilgi birikimini ve deneyimlerini benimle paylaşan, doktora öğrenimim boyunca her zaman destek olan çok değerli Prof. Dr. Terken Baydar'a,

Tez çalışmalarım süresince yardımını, bilgisini ve anlayışını esirgemeyen ortak danışmanım Sayın Doç. Dr. Gözde Girgin'e,

Lisans eğitimimden itibaren bilgisini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Gönül Şahin'e,

Tez İzleme Komitesi'nde yer alan Sayın Prof. Dr. Aylin Gürbay'a,

Yalnızca doktora eğitimimde ve deney çalışmalarında değil manevi olarak da bana içtenlikle destek olan çok sevgili arkadaşım Dr. Ecz. Bilge Kılıçarslan'a,

Yükseköğrenim hayatım boyunca destek olan tüm Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı üyelerine,

Tezimde hasta belirlenmesinde yardımcı olan Sayın Doç. Dr. Gökür Yorulmaz'a ve örneklerin alınmasında yardımcı olan Sayın Hem. Cevahir Dinç ve Sayın Hem. Sevgi Hatipoğlu'na,

Öğrenim sürecinde bana manevi olarak destek veren çok değerli çalışma arkadaşlarım Ecz. Özlem Kutsal ve Ecz. Alper Yılmaz'a,

Eskişehir Devlet Hastanesi'ndeki diğer çalışma arkadaşlarıma ve yöneticilerine,

Her daim yanımda olan, bana güç veren ve sevgilerini esirgemeyen değerli annem Zülbiye Bulut'a, ablam Sibel Gürcü'ye ve ailemin diğer üyelerine,

Benimle gerek tezimin gerek özel hayatımın her türlü heyecanını paylaşan değerli arkadaşlarım Sinem Aydurmuş, Esra Eyvaz, Hatice Eyvaz, Merve Kasap, Yeşim Kaya, Aysel Sezer ve Işıl Poyraz'a,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

**Gürçü, S., Diyabet Hastalarında Pteridinlerin ve İlgili Yolakların Değerlendirilmesi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Toksikoloji Programı Doktora Tezi, Ankara, 2018.** Pteridinler, normal fizyolojik olaylarda rol oynayan, biyolojik sıvı ve dokularda türevleri (tetrahidrobiyopterin, neopterin, biyopterin ve ksantopterin) saptanabilen heterosiklik bileşiklerdir. Diabetes mellitus (diyabet), kalıtsal ve/veya çevresel faktörlerin etkisi ile oluşan, kan glukoz düzeyinin aşırı yükselmesi ile karakterize, metabolik bir hastalıktır. Tip 1 diyabet, otoimmün mekanizmalara bağlı olarak insülinin pankreasta hiç üretilmediği ya da çok az üretildiği diyabet türüdür. Patolojisinde T-hücre aracılı otoimmün yanıt, pankreasın aracılığı ile monosit ve makrofajların indüklenmesine neden olur. İndüklenen monosit/makrofajlar, gunaozin trifosfat (GTP) siklohidroksilaz enzimi aracılığı ile GTP'den neopterin üretilmesini sağlar. Bunun yanı sıra interferon-gama (IFN- $\gamma$ ), kinürenin yolağındaki hız kısıtlayıcı basamağı katalizleyen enzimlerden biri olan indolamin-2,3-dioksijenaz (IDO) enzimini indükleyerek triptofan yıkımını arttırır. Bu tez çalışması kapsamında, diyabet hastalarında neopterin, biyopterin, triptofan ve kinürenin düzeyleri arasındaki ilişkinin araştırılması ve diyabet tanısında ve değerlendirilmesinde bu parametrelerin erken biyogösterge olarak kullanılabilirliğinin tartışılması amaçlanmıştır. Bu amaçla diyabet hastalarında (n=68) ve sağlıklı kontrol grubunda (n=30) neopterin, biyopterin, triptofan ve kinürenin düzeyleri ölçülmüştür. Diyabet hastalarında ölçülen serum ve idrar neopterin düzeyleri ile idrar biyopterin düzeyleri kontrol grubundan yüksek bulunmuş, ancak istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Bunun yanı sıra serum ve idrar neopterin konsantrasyonlarının hem birbirleri ile hem de kinürenin/triptofan oranı ile aralarında anlamlı bir ilişki olduğu bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

**Anahtar Kelimeler:** pteridin, neopterin, biyopterin, kinürenin, diyabet

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin TBB-2016-11762 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

## ABSTRACT

**Gurcu, S., Evaluation of Pteridins and Related Pathways in Diabetes, Hacettepe University Institute of Health Sciences Ph.D. Thesis in Pharmaceutical Toxicology, Ankara, 2018.** Pteridins are heterocyclic compounds that play a role in normal physiological events, and can be detected in biological fluids and tissues with their derivatives (tetrahydrobiopterin, neopterin, biopterin, and xanthopterin). Diabetes mellitus (diabetes) is a metabolic disease characterized by an excessive increase of glucose level in blood and caused by hereditary and/or environmental factors. Type 1 diabetes is a kind of diabetes, depending on the autoimmune mechanisms, in which insulin is not produced or produced very little in the pancreas. In pathology, T-cell mediated autoimmune response leads to the induction of monocytes and macrophages via pancreas. Induced monocytes/macrophages provide the production of neopterin from guanosine triphosphate (GTP) via GTP cyclohydroxylase enzyme. Besides, interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) induces tryptophan degradation by inducing indolamine-2,3-dioxygenase (IDO) enzyme, one of the rate-limiting step catalyzing enzymes in the kynurenine pathway, which has an important role in tryptophan metabolism. In this thesis, it was aimed to investigate the relationship between neopterin, biopterin, tryptophan and kynurenine levels in diabetes patients and discussing the use of these parameters as early biomarkers in the diagnosis and evaluation of diabetes. For this purpose, neopterin, biopterin, tryptophan and kynurenine levels were measured in diabetes patients (n=68) and healthy control group (n=30). Serum and urine neopterin levels and urine biopterin levels in diabetic patients were higher than the control group but not statistically different ( $p>0.05$ ). Also serum and urine neopterin concentrations were found to be significantly correlated with each other and the kynurenine/tryptophan ratio ( $p<0.05$ ).

**Keywords:** pteridin, neopterin, biopterin, kynurenine, diabetes

This thesis was supported by Hacettepe University Scientific Research Projects Coordination Unit with the project numbered TBB-2016-11762

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xiv
TABLolar	xvi
<b>1. GİRİŞ</b>	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	2
2.1. Pteridinler	2
2.2. Neopterin	3
2.2.1. Kimyasal Yapısı, Biyosentezi ve Fizyolojik Önemi	3
2.2.2. Neopterin Klinik Önemi	5
2.3. Biyopterin	7
2.4. Tetrahidrobiyopterin	7
2.5. Triptofan	9
2.6. Kinürenin	10
2.7. İndolamin-2,3-dioksijenaz Enzimi ve Kinürenin/Triptofan Oranı	11
2.8. Diyabet	14
2.8.1. Diyabet Semptomları ve Tanısı	16
2.8.2. Diyabet ve Oksidatif Stres	18
2.8.3. Diyabet Komplikasyonları	19
2.8.4. Diyabetin Sınıflandırılması	21
2.8.5. İnsülinler	27
2.8.6. Oral Antidiyabetik İlaçlar ve Sınıflandırılmaları	29

<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	34
3.1. Gereçler	34
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	34
3.1.2. Kullanılan Çözeltiler	35
3.1.3. Kullanılan Araç Gereçler	38
3.2. Çalışma Grupları	39
3.3. Örneklerin Toplanması ve Ön İşlemler	41
3.4. Örneklerinin Hazırlanması	41
3.4.1. İdrar Örneklerinin Hazırlanması	41
3.4.2. Serum Örneklerinin Hazırlanması	41
3.5. Yöntemler	42
3.5.1. İdrarda Neopterin, Biyopterin ve Kreatinin Düzeylerinin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK) Tekniği ile Belirlenmesi	42
3.5.2. Serumda Neopterin Düzeylerinin Belirlenmesi	42
3.5.3. Serumda Triptofan ve Kinürenin Düzeylerinin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK) Tekniği ile Belirlenmesi	43
3.5.4. İstatistiksel Değerlendirme	44
<b>4. BULGULAR</b>	45
4.1. Neopterin Düzeyleri	45
4.2. Kinürenin Yolağı Değişkenleri	51
<b>5. TARTIŞMA</b>	61
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	66
<b>7. KAYNAKLAR</b>	67
<b>8. EKLER</b>	
EK-1: Etik Kurul Onayı	
<b>9. ÖZGEÇMİŞ</b>	

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>5-HT</b>	5-Hidroksitriptamin
<b>ABD</b>	Amerika Birleşik Devletleri
<b>ADE</b>	Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
<b>AGİ</b>	Alfa Glukozidaz İnhibitörleri
<b>AIDS</b>	Edinilmiş İmmün Yetmezlik Sendromu
<b>APG</b>	Açlık Plazma Glukoz Düzeyi
<b>BGT</b>	Bozulmuş Glukoz Toleransı
<b>BH<sub>4</sub></b>	5,6,7,8-Tetrahidrobiyopterin
<b>BOS</b>	Beyin-Omurilik Sıvısı
<b>DCCT</b>	Diabetes Control and Complications Trial, Diyabet Kontrol ve Komplikasyon Testi
<b>DHPR</b>	Dihidropteridin Redüktaz
<b>DKA</b>	Diyabetik Ketoasidoz
<b>DM</b>	Diabetes Mellitus
<b>DNA</b>	Deoksiribo Nükleik Asit
<b>DPP4</b>	Dipeptidil Peptidaz 4
<b>ELISA</b>	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, Enzim Bağlı İmmünosorbent Analizi
<b>GCH</b>	Guanozin Siklohidrolaz
<b>GIP</b>	Gastrik İnhibitör Polipeptit
<b>GLP-1</b>	Glucagon Like Peptid-1
<b>GLUT-4</b>	Glukoz Taşıyıcı Tip 4
<b>GTP</b>	Guanozin Trifosfat
<b>GTP-CH-I</b>	Guanozintrifosfat-Siklohidrolsilaz-I
<b>HbA1c</b>	Glikozillenmiş hemoglobin
<b>HHD</b>	Hiperozmolar Hiperglisemik Durum
<b>HIOMT</b>	Hidroksi İndol O-Metil Transferaz
<b>HIV</b>	Human Immunodeficiency Virus, İnsan İmmünyetmezlik Virüsü

<b>HLA</b>	İnsan Lökosit Antijeni
<b>IDF</b>	Uluslararası Diyabet Federasyonu
<b>IDO</b>	İndolamin (2,3)-dioksijenaz
<b>IFN- <math>\gamma</math></b>	İnterferon-gama
<b>IL</b>	İnterlökin
<b>KA</b>	Kuinolinik Asit
<b>KAT</b>	Kinürenin Amino Transferaz
<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	Potasyum Dihidrojen Fosfat
<b>KİN</b>	Kinürenin
<b>KMO</b>	Kinürenin Monooksijenaz
<b>LA</b>	Laktik Asidoz
<b>LADA</b>	Latent Autoimmüne Diabetes In Adult, Latent Otoimmün Diyabet
<b>MI</b>	Miyokard İnfarktüsü
<b>NAD</b>	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
<b>NADPH</b>	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
<b>NAS</b>	N-asetilserotonin
<b>NAT</b>	N-asetiltransferaz
<b>NGSP</b>	National Glycohemoglobin Standardization Programme, Ulusal Glikohemoglobin Standardizasyon Programı
<b>NH<sub>2</sub>TP</b>	7,8-Dihidroneopterin Trifosfat
<b>NIH</b>	National Institutes of Health, Ulusal Sağlık Enstitüsü
<b>NOS</b>	Nitrik Oksit Sentaz
<b>OGGT</b>	Oral Glukoz Tolerans Testi
<b>PHE</b>	Fenilalanin
<b>PTPS</b>	6-Pürivoyil Tetrahidropterin Sentaz
<b>QPRT</b>	Kuinolinat Fosforibozil Transferaz
<b>SH</b>	Standart Hata
<b>SOD</b>	Süperoksit Dismutaz
<b>SPSS</b>	Statistical Package for the Social Sciences
<b>SS</b>	Standart Sapma

<b>SUR</b>	Sülfonilüre Redüktaz
<b>T5H</b>	Triptofan 5-hidroksilaz
<b>TEMĐ</b>	Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği
<b>TDO</b>	Triptofan (2,3)-dioksijenaz
<b>TH</b>	Tirozin Hidroksilaz
<b>TMB</b>	3,3',5,5'-Tetrametilbenzidin
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Tümör Nekroze Edici Faktör-alfa
<b>TPH</b>	Triptofan Hidroksilaz
<b>Trp</b>	Triptofan
<b>Try</b>	Tirozin
<b>TURDEP</b>	Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışması
<b>TÜİK</b>	Türkiye İstatistik Kurumu
<b>UV</b>	Ultraviyole
<b>VK</b>	Varyasyon Katsayısı
<b>WHO</b>	World Health Organization, Dünya Sağlık Örgütü
<b>YBSK</b>	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi

## ŞEKİLLER

Şekil		Sayfa
2.1.	Pteridin halkası (1), ksantopterin (2), izoksantopterin (3) ve lökopterin (4) moleküllerinin yapısı.	2
2.2.	Pteridin biyosentezi.	3
2.3.	Neopterin kimyasal yapısı.	3
2.4.	İmmün sistem aktivasyonu ile neopterin biyosentezi.	4
2.5.	Neopterin biyosentezi.	5
2.6.	Biyopterin kimyasal yapısı.	7
2.7.	Tetrahidrobiyopterin kimyasal yapısı.	8
2.8.	Triptofanın kimyasal yapısı.	9
2.9.	Triptofan yıkım yolları.	10
2.10.	Kinürenin kimyasal yapısı.	10
2.11.	Kinürenin yolağı.	11
2.12.	Triptofan etkisi.	14
2.13.	Diyabetik ayak ülseri.	21
2.14.	Tip 1 diyabetin patolojisi.	24
4.1.	Neopterin, biyopterin ve kreatinin standartlarına ait kromatogramlar.	45
4.2.	İdrar örneğine ait kromatogramlar.	46
4.3.	Çalışma gruplarının idrar neopterin düzeylerinin karşılaştırılması.	48
4.4.	Çalışma gruplarının serum neopterin düzeylerinin karşılaştırılması.	49
4.5.	Çalışma gruplarının idrar biyopterin düzeylerinin karşılaştırılması.	50
4.6.	Triptofan ve kinürenin standartlarına ait kromatogramlar.	51
4.7.	Serum örneğine ait kromatogramlar.	52
4.8.	Çalışma gruplarının serum triptofan düzeylerinin karşılaştırılması.	54
4.9.	Çalışma gruplarının serum kinürenin düzeylerinin karşılaştırılması.	55

<b>4.10.</b>	Çalışma gruplarının kinürenin/triptofan oranlarının karşılaştırılması.	56
<b>4.11.</b>	Kontrol grubunda ölçülen parametreler arasındaki ilişkiler.	58
<b>4.12.</b>	Diyabet hastalarında (n=64) ölçülen parametreler arasındaki ilişkiler.	59



**TABLULAR**

<b>Tablo</b>		<b>Sayfa</b>
<b>2.1.</b>	Serum neopterin düzeylerinin yüksek bulunduğu hastalıklar.	6
<b>2.2.</b>	Glisemik bozukluklar.	16
<b>2.3.</b>	Diyabette tanı kriterleri.	17
<b>2.4.</b>	İnsülin tipleri ve etki süreleri	28
<b>3.1.</b>	Kullanılan kimyasal maddeler.	34
<b>3.2.</b>	Kullanılan araç ve gereçler.	38
<b>3.3.</b>	Çalışma gruplarının demografik özellikleri.	40
<b>4.1.</b>	Çalışma gruplarının idrar ve serum neopterin düzeyleri.	47
<b>4.2.</b>	Çalışma gruplarının kinürenin yolağı verileri.	53
<b>4.3.</b>	Çalışma gruplarının kan glukoz değer verileri.	60

## 1. GİRİŞ

*Diabetes mellitus* (diyabet), mutlak insülin eksikliğinden veya insülin etkisindeki bozukluk sebebi ile oluşan kronik metabolik bir hastalıktır. Poliüri, polidipsi, polifaji veya iştahsızlık, halsizlik, ağız kuruluğu ve noktüri en bilinen belirtileridir. 4 tür diyabetten bahsedilmektedir: Tip 1 diyabet, çoğunlukla çocuk yaşlarda görülür. Patolojisinde, T-hücre aracılı otoimmün yanıtın, pankreasın  $\beta$ -hücrelerinin kaybına neden olması yer almaktadır. Tip 2 diyabet ise, insülin direnci ile başlayan ve insülin salgı bozukluğu ile ilerleyen türüdür. Diğer iki diyabet türü ise, gestasyonel diyabet ve çeşitli patolojilerin ve toksik ksenobiyotiklerin sebep olduğu diyabet türleridir (1). Diyabet, 21. yüzyılın en büyük küresel sağlık problemlerinden biridir. Uluslararası Diyabet Federasyonu Diyabet Atlası (International Diabetes Federation Diabetes Atlas, IDF-DA) 2015 verilerine göre, 415 milyon diyabetli yetişkine ek olarak, gelecekte diyabete yakalanma riski bulunan glikoz toleransı bozulmuş 318 milyon erişkin bulunmaktadır. 2015'te yayınlanan raporda, her 11 kişiden birinin diyabet hastası olduğu bildirilmiş ve 2040'ta her 10 kişiden birinin diyabet olacağı öngörülmüştür (2).

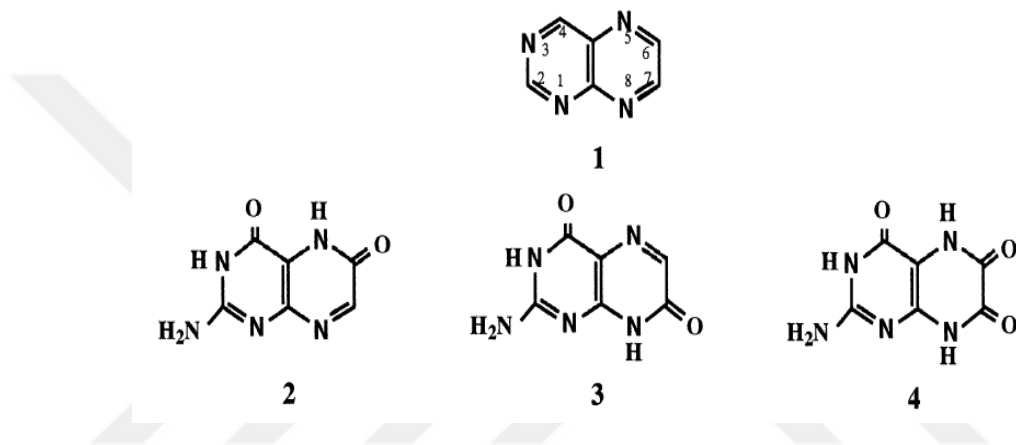
Pteridinler, biyolojik sıvılarda ve dokularda bulunan ve immün mekanizmalarla aktive olduğu bilinen bileşiklerdir. İnsan vücudunda konjuge olmayan pteridinler içerisinde en yüksek oranda neopterin ve biyopterin türevleri bulunur (3). Neopterin ve biyopterin gibi pteridinler, birçok fizyolojik yolda yer alır ve bu bileşiklerin kendileri veya türevleri biyolojik sıvı ve dokularda analitik olarak saptanabilir. Bunun yanı sıra, kinürenin yolağındaki hız kısıtlayıcı enzimlerden biri olan indolamin-2,3-dioksijenaz (IDO) enzimi aracılığı ile triptofan metabolizması indüklenir (4).

Sunulan bu tez çalışmasında, Tip 1 ve Tip 2 diyabette immünolojik ve inflamasyon biyomarkörü olarak günümüzde kabul edilen neopterin ve ilgili yollardaki değişkenler olan biyopterin, triptofan ve kinürenin düzeylerinin değerlendirilmesi amaçlanmış ve diyabet patolojisinde pteridinler ile kinürenin yolağındaki olası değişikliklerin araştırılması hedeflenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

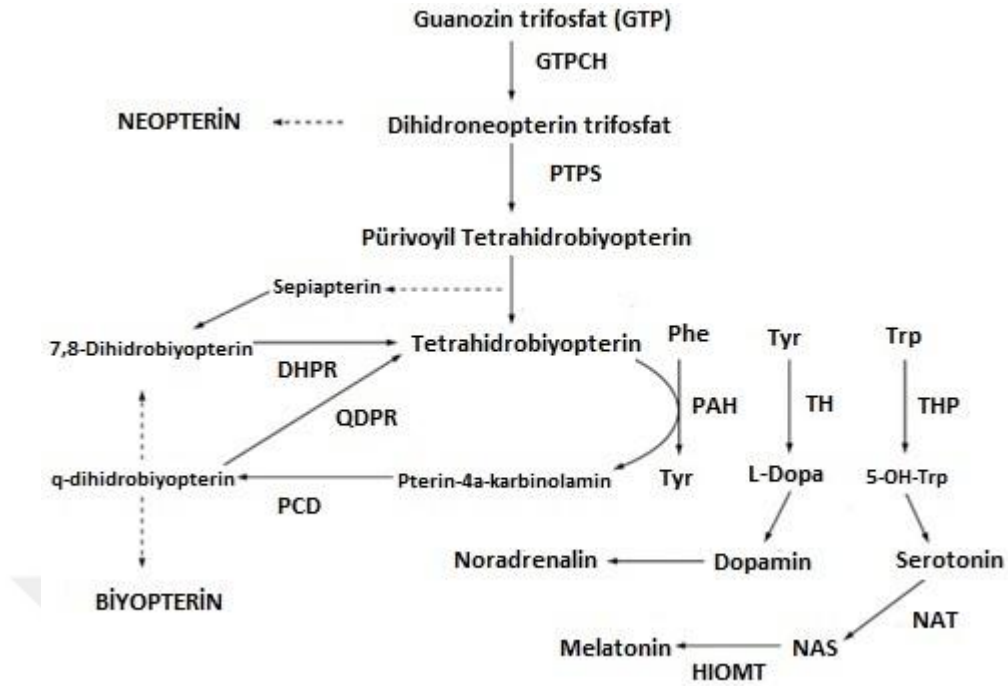
### 2.1. Pteridinler

Birçok biyokimyasal olayda görev alan pteridinler, yaklaşık 120 yıl önce, kelebeklerin kanatlarından izole edilmiştir (5, 6). Yıllardır süregelen çalışmalar ile yapıları aydınlanmış ve ana yapısının pirazin ve pirimidin halkasının birleşmesi ile oluşan pirazino [2,3-d] pirimidin halkası olduğu ve yapısal değişiklik gösteren yan bileşiklerden meydana geldiği saptanmıştır (5, 7, 8).



**Şekil 2.1.** Pteridin halkası (1), ksantopterin (2), izoksantopterin (3) ve lökopterin (4) moleküllerinin yapısı.

Pteridinler, konjuge pteridinler ve konjuge olmayan pteridinler olmak üzere ikiye ayrılırlar. Konjuge pteridinler, folik asit, riboflavin ve metanopterin gibi fonksiyonel grup taşıırken; metabolik olarak aktif olan konjuge olmayan pteridinler ise küçük substitüentler taşır. Bunun dışında pteridinler, pterinler ve lumazinler olmak üzere de sınıflandırılabilirler (3, 9).



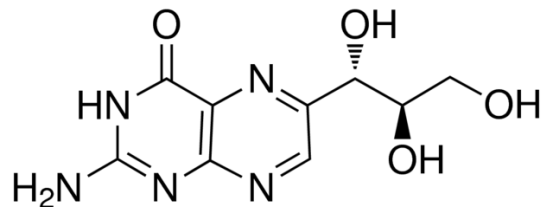
**Şekil 2.2.** Pteridin biyosentezi.

GTPCH: guanozin trifosfat siklohidrolaz, PTPS: 6-pürivoyil tetrahidropterin sentaz, DHPR: dihidropteridin redüktaz, QDPR: kuinolinat fosforibozil transferaz, PCD: pteridin 4-alfa-karbinolamin dehidrataz, Phe: fenilalanin, PAH: fenilalanin hidroksilaz, Try: tirozin, TH: tirozin hidroksilaz, Trp: triptofan, TPH: triptofan hidroksilaz, NAT: N-asetiltransferaz, NAS: N-asetilserotonin, HIOMT: hidroksi indol O-metil transferaz.

## 2.2. Neopterin

### 2.2.1. Kimyasal Yapısı, Biyosentezi ve Fizyolojik Önemi

Neopterin, 1963 yılında ilk defa arı larvalarında, işçi arılarda ve arı sütünde; bundan dört yıl sonra ise insan idrarında tanımlanmıştır (3). Neopterin, konjuge olmayan bir pteridindir. Tam kimyasal adı, 2-Amino-4-okso-6-(D-eritro-1, 2, 3, trihidroksipropil)-pteridin'dir. Molekül ağırlığı 253 Da'dır (10).

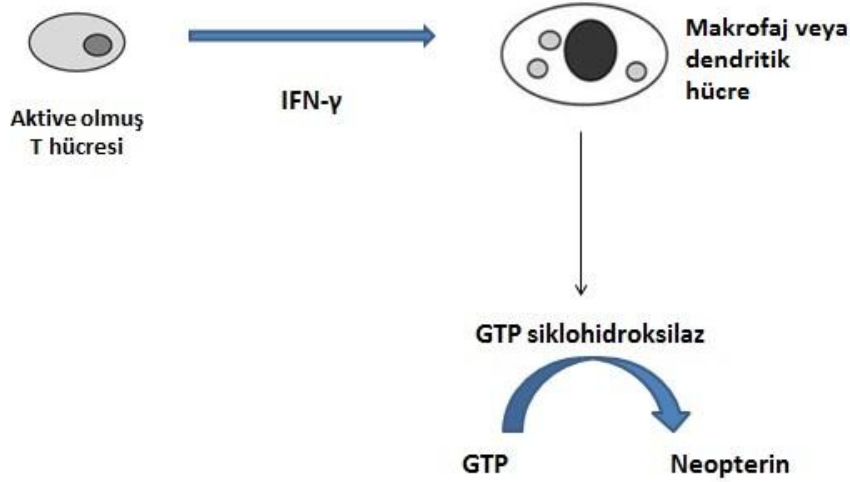


**Şekil 2.3.** Neopterinin kimyasal yapısı (11).

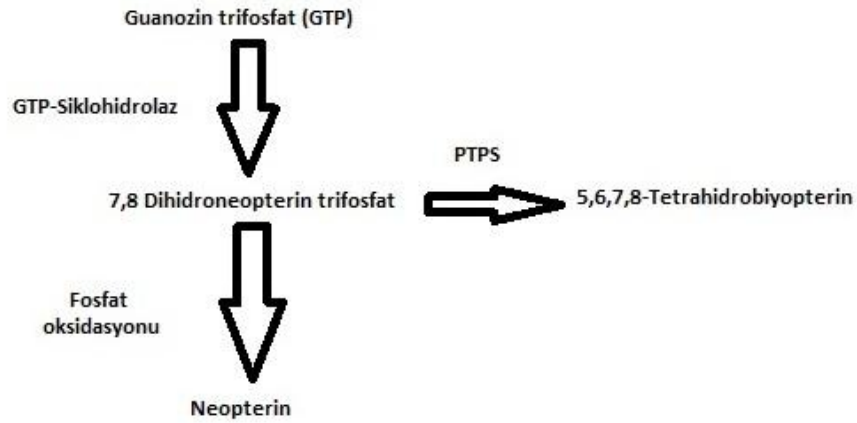
Neopterin, guanozin trifosfattan (GTP) guanozin trifosfat siklohidrolaz-I (GTP siklohidroksilaz-I) enziminin aracılığı ile aktive olan makrofajlarda sentezlenir (12). GTP siklohidroksilaz-I enziminin aktivitesi, T-hücreleri ve doğal öldürücü hücreler tarafından oluşturulan interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) ile artmaktadır (10, 12). Oluşum sürecinin ilk basamağında olan GTP siklohidrolaz-I enzimi, yolağın hız kısıtlayıcı basamağını oluşturur. 7,8-dihidroneopterintrifosfat ise ara üründür ve bu bileşik insan makrofajlarında neopterine, yani konjuge olmayan pteridine, diğer hücrelerde ise 5,6,7,8-tetrahidrobiyopterine (BH<sub>4</sub>), yani konjuge pteridine dönüşür (3, 10, 12, 13).

Neopterin, güneş ışığına maruz kaldığında bozulmakta olup uzun süreli saklamalar için  $-20^{\circ}\text{C}$ 'nin uygun olacağı belirtilmektedir (14).

Sağlıklı yetişkinlerin serum neopterin düzeyleri yaklaşık 2,6 – 8,7 nmol/L olarak bulunmaktadır (15). Sağlıklı bireylerde neopterinin ortalama itrahi ise 1,58  $\mu\text{mol}/1,2\text{ L/gün}$ 'dür. Neopterinin klerensi ise sağlıklı bireylerde, 225 ml/dk olarak hesaplanmıştır (16).



**Şekil 2.4.** İmmün sistem aktivasyonu ile neopterin biyosentezi.



**Şekil 2.5.** Neopterin biyosentezi.

### 2.2.2. Neopterinin Klinik Önemi

Artmış neopterin seviyeleri enfeksiyon hastalıkları başta olmak üzere, malign durumlar ve otoimmün hastalıklar ile ilişkilendirilmiştir (3, 17, 18).

İpekçi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada gestasyonel diyabetli hastalarda, sağlıklı gebe kadınlara göre daha yüksek serum neopterin düzeyleri ölçülmüştür (19). Buna eşdeğer olarak, Karaca ve arkadaşları da gestasyonel diyabetli hastalarda serum neopterin düzeylerinin sağlıklı gebe kadınlara göre yüksek olduğunu ve gestasyonel diyabetlilerin serum neopterin düzeylerinin gebelikten sonra önemli ölçüde azaldığı belirtilmiştir (20).

Kanser hastalarında, idrarda yüksek neopterin seviyeleri belirlenmiştir ve neopterin izleminin kanser takibinde iyi bir biyomarkör olacağı düşünülmektedir (21). Uomo ve arkadaşlarının 1996 yılında yaptığı araştırmada, ciddi akut pankreatit tablosunda hafif seyirli akut pankreatite nazaran yüksek serum neopterin düzeyleri tespit edilmiştir (22).

2016 yılında Azurmendi ve arkadaşlarının anevrizmal subaraknoid hemoraji hastaları ile yürüttükleri uzun dönemli çalışmada, neopterin patoloji sonrası potansiyel sonuç ve enfeksiyon belirteci olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada, hastaneye kabulünden hemen sonra neopterin konsantrasyonlarının ölçümü ile sağlanan objektif bilgi hastanın değerlendirilmesi için diğer klinik yöntemlerin performansını artırabileceği söylenmiştir (23).

Neopterin, ateroskleroz patolojisinde önemli bir makrofaj göstergesi olarak kabul edilir (24). Özellikle, neopterin düzeylerinin koroner ve periferel vasküler hastalıklarının neopterin düzeyleri ile ilişkili olduğu bulunmuştur (25). Kronik kalp ve koroner arter hastalığı dışında akut koroner sendromlu hastalarda da serumda yüksek neopterin seviyesi tespit edilmiştir. Tüm bunların yanında kronik periferel arter hastalığında da neopterin seviyesinin takibinin yararlı olacağı düşünülmektedir (24).

Yadav ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, kronik böbrek hastalığında serum neopterin düzeylerinin, sağlıklılara göre anlamlı bir şekilde artış gözlenmiş ve bu yüksekliğin, inflamasyon biyomarkörlerinin kandaki düzeylerinin artması ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (26).

Bir otoimmün santral sinir sistemi hastalığı olan multipl skleroz hastalığının atak döneminde serum neopterin düzeyleri belirgin şekilde artmış olarak bulunmuş ve bunun sonucunda objektif bir laboratuvar bulgusu olarak kullanılabilceği düşünülmektedir (27, 28).

Serum neopterin konsantrasyonlarının yüksek bulunduğu hastalıklar Tablo 2.1.'de gösterilmektedir.

**Tablo 2.1.** Yüksek serum neopterin düzeylerinin bulunduğu hastalıklar.

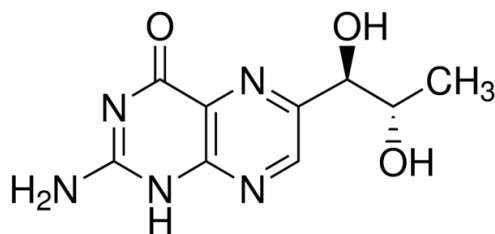
Hastalık	Kaynak	
Enfeksiyöz Durumlar	HIV enfeksiyonu	29
	Tüberküloz	16
	Serebral malarya	30
Otoimmün Hastalıklar	Behçet hastalığı	31
	Graves hastalığı	32
	Romatoid artrit	33
Nörolojik Hastalıklar	Alzheimer hastalığı	34
	Multipl skleroz	27

**Tablo 2.1.** Yüksek serum neopterin düzeylerinin bulunduğu hastalıklar (devam).

Hastalık	Kaynak	
Diğer	Depresyon	35
	Kanser	21
	Akut pankreatit	22
	Anevrizmal subaraknoid hemoraj	23
	Ateroskleroz	24

### 2.3. Biyopterin

Kapalı formülü  $C_9H_{11}N_5O_3$  olan biyopterin konjuge olmayan bir pteridin türevidir ve molekül ağırlığı 237,219 g/mol'dür (36). Tüm memeli biyolojik sıvı ve dokularda kendisi ve özellikle  $BH_4$  türevi bulunmaktadır (37). Karaciğer, kemik iliğ, böbrek, böbreküstü bezi, beyin ve lenfositlerde sentezlenebilirken, makrofajlarda sentezi gerçekleşmemektedir (9).

**Şekil 2.6.** Biyopterin kimyasal yapısı (38).

Biyopterin vücutta en yüksek oranda, indirgenmiş veya okside olmuş formu ile bulunmaktadır (39).

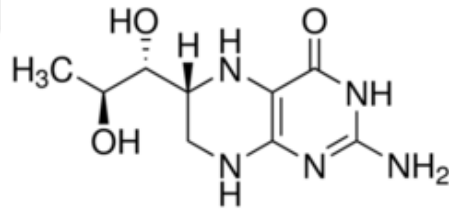
### 2.4. Tetrahydrobiyopterin

Tetrahydrobiyopterin ( $BH_4$ ), memelilerin bazı dokularında sentezlenir ve fenilalanin, tirozin ve triptofan sentez yollarında rol alır (40-42). Bu yollarında, fenilalanin hidroksilaz, tirozin 3-hidroksilaz ve triptofan 5-hidroksilaz enzimlerinin kofaktörüdür. Fenilalanin hidroksilleme sentezinde negatif allosterik rol oynar. Buna

ek olarak, nitrik oksit sentaz (NOS) enziminin de kofaktörüdür. Ancak bu sentez yolağında gereksinimi, fenilalanin sentez yolağındakinden daha azdır. BH<sub>4</sub>, karaciğerde gliseril eter monooksijenaz enziminin çalışmasında da gereklidir (43).

BH<sub>4</sub> molekülü kolaylıkla redoks tepkimesine girebildiği için, oksidatif stres temelli hastalıklarda veya patolojilerde hücrede konsantrasyonu azalabilmektedir (44). Ayrıca eksikliği oksidatif stresi de artırarak serotonin ve dopamin metabolizmasını bozduğu düşünülmektedir. BH<sub>4</sub>'ün süperoksit ve hidrojen peroksit radikalleri süpürücüsü olduğu ve bu sebeple antioksidan etkisinin olduğu belirtilmiştir (45, 46).

Tetrahidrobiopterinin hücresel büyüme faktörü olarak fonksiyonu, ilk defa *Crithidia fasciculata* türünde keşfedilmiştir. BH<sub>4</sub>'ün DNA sentezini uyardığı ve bazı fare eritrolösemi klonal hücre dizilerinde proliferasyona sebep olduğu bulunmuştur. Uyarıcı etkisinin yanında, nitrik oksit (NO) üreten nöronlarda BH<sub>4</sub>, koruma faktörü gibi davranır. Bazı otoriteler, oksijen bağıntılı hastalıklarda, tedavide BH<sub>4</sub> uygulanmasını önermektedir (43).



**Şekil 2.7.** Tetrahidrobiopterinin kimyasal yapısı (47).

Tetrahidrobiopterin eksikliği, atipik ve malign fenilketonüri hastalığı ile ilişkilendirilir. Fenilketonüri hastalığı, dopamin ve serotonin eksikliğine bağlı olarak gelişen nörolojik semptomlar gösterebilir. BH<sub>4</sub>'ün serebrospinal sıvıdaki düşük seviyeleri, fenotip olarak Parkinson hastalığı, otizm, depresyon ve Alzheimer hastalığı ile ilişkilendirilmiştir (43).

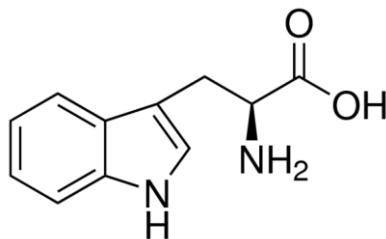
Tetrahidrobiopterin, *de novo* olarak adlandırılan, magnezyum, çinko ve NADPH bağımlı, guanozin trifosfat'ın prekürsör olduğu bir yolak aracılığı ile sentezlenir (43). Reaksiyonun ilk aşaması guanozin trifosfattan 7,8-dihidroneopterin trifosfat sentezidir ve bu basamağın enzimi guanozin-5-trifosfatsiklohidrolaz l'dir

(48). *De novo* yolağının ikinci aşamasında, 7,8-dihidroneopterin trifosfat 6-pürivil tetrahidropterin sentetaz enzimi ile 6-pürivil tetrahidropterin sentezlenir. Üçüncü aşamasında ise, 6-pürivil tetrahidropterinden, nikotinamid adenin dinükleotid fosfatın (NADP) yükseltgenmesi ile  $BH_4$  sentezlenir. Bu basamakta, sepiapterin redüktaz veya 6-pürivil-2'-okso-tetrahidropterin redüktaz enzimleri görev yapmaktadır (48).

## 2.5. Triptofan

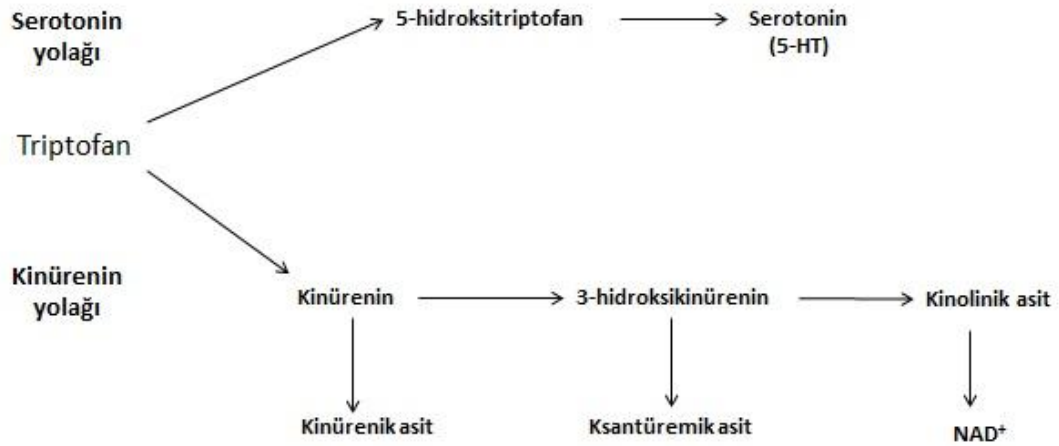
Triptofan, 1900'lü yılların başında, Hopkins ve Cole tarafından kazein proteininden izole edilerek keşfedilmiş, kısa bir süre sonra da Ellinger ve Flamand tarafından yapısı aydınlatılmıştır. Triptofan esansiyel, insan vücudunda sentezlenmeyen ve diyet ile alınan sekiz aminoasitten biridir. Bunun dışında, triptamin, melatonin, nikotinamid adenin dinükleotid/nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NAD/NADP) sentezlerinde rol oynar (49). Triptofanın %75 ile 85'i kanda albumine bağlanır. Serbest triptofan kan beyin bariyerini aşabilir (49).

Triptofan metabolizmasındaki değişiklikler, beyin, endokrin ve immün sistem üzerinde önemli rol oynamaktadır (50). Triptofan depleasyonu çalışmaları çoğunlukla depresyon üzerindedir ama bununla birlikte bilinç, uyku, görme bozuklukları, şizofreni, premenstrual sendrom ve panik bozukluk üzerinde etkisi olduğu bilinmektedir (49).



**Şekil 2.8.** Triptofanın kimyasal yapısı (51).

Triptofan vücutta protein sentezine dahil olur. Bunun dışında da triptofan 5-hidroksilaz enzimi aracılığı ile serotonine dönüşür ya da indolamin 2,3-dioksijenaz (IDO) enzimi ile kinürenine indirgenir (52-54).

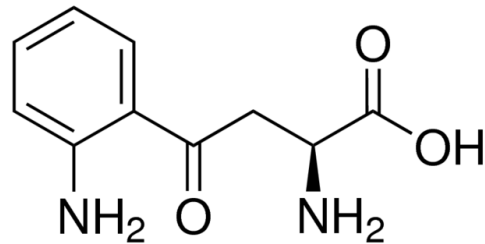


**Şekil 2.9.** Tryptofan yıkım yolakları.

Tryptofanın degradasyonu, bağışıklık sisteminin aktivasyonuna sebep olur. Tryptofan yetersizliği, özellikle kronik immüнопatolojisi olan hastalarda depresif bozuklukların gelişmesine temel oluşturur (55).

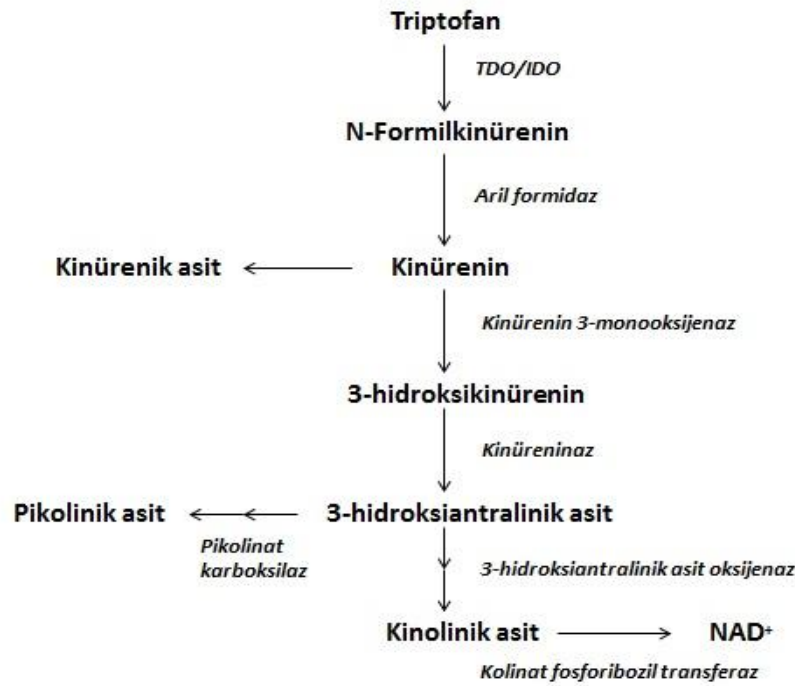
## 2.6. Kinürenin

Kinürenin, molekül ağırlığı 208,22 g/mol olan ve suda çözünen bir bileşiktir (36). Kimyasal yapısı Şekil 2.10'da gösterilmiştir.



**Şekil 2.10.** Kinürenin kimyasal yapısı (56).

T-hücreler ve lökositler ile aktive olan IFN- $\gamma$ 'nın indüklenmesi,IDO enzimi ile triptofan indol halkasının oksitlenerek açılması ve kinürenine dönüşmesi ile sonuçlanır (55, 57). Bu sebeple, triptofan aminoasidinin yıkım ürünü olan kinürenin konsantrasyonu, triptofan düzeyi ile ilişkilidir (52).



**Şekil 2.11.** Kinürenin yolağı.

Enfeksiyöz hastalıklar, nörolojik rahatsızlıklar, şizofreni, depresyon ve aksiyete gibi bozukluklar, multiple skleroz ve romatoid artrit gibi otoimmün hastalıklar, kolorektal kanser veya hematolojik neoplaziler gibi malignitelere kinürenin yolağı up-regülasyona uğrar (57).

### 2.7. İndolamin-2,3-dioksijenaz Enzimi ve Kinürenin/Triptofan Oranı

İndolamin-2,3-dioksijenaz (IDO), 403 aminoasitten oluşan 45 kDa'lık bir monomerik proteindir. İki büyük alfa helezonlu alanı bulunur ve kofaktör olarak *Hem b* grubu içerir. Hem grubundaki demirin yükseltgenmesi için, enzimin aktif bölgesine triptofan bağlanmakta ve bu şekilde elektron transferi sağlanmaktadır. Plasenta, akciğer, ince ve kalın bağırsak, kolon, dalak, karaciğer, böbrek ve beyin hücrelerinde bulunur ve sentezi IFN- $\gamma$  ile indüklenir (58, 59).

İndolamin-2,3-dioksijenaz enzimi, kinürenin yolağında triptofan katabolizmasının hız kısıtlayıcı adımını katalize eder (60). Bu katabolik reaksiyonda ilk basamak, IDO'nun substrata yani triptofana bağlanmasıdır. Oluşan kompleks

oksijene de bağlanarak IDO-O<sub>2</sub> üçlü kompleksini oluşturarak *N'*-formilkinürenine dönüşür (61).

Kinürenin oluşumunun gerçekleştiği triptofan metabolizmasının ilk ve hız kısıtlayıcı basamağı olan *N*-formilkinürenine oksidasyon, karaciğerde triptofan-2,3-dioksijenaz (TDO) enzimi yoluyla, mide, bağırsak, dalak, böbrek, beyin, plasenta, gibi karaciğer dışındaki dokularda ise IDO enzimi yoluyla gerçekleşir (62). IDO aracılığıyla gerçekleşen triptofan metabolizmasının immün sistemde rol oynadığı düşünülmektedir. IFN- $\gamma$ 'nın patojenlere karşı antiviral, antibakteriyel ve antiparazit etkinliği IDO aracılıklı triptofan tüketimi ile ilgilidir. Zararlı patojenlerin konakçıda yaşaması için gerekli olan triptofanın IDO tarafından tüketilmesi organizmanın enfeksiyonları baskılamaya yönelik immün aktivitesini ifade etmektedir. IDO, kinürenin yolağı aracılığıyla immün sistemin düzenlenmesine katkı sağlamaktadır ve diğer immün sistem ile ilgili biyomarkörler ile beraber değerlendirilir (63-69).

Neopterin sentezinde görevli olan GTP siklohidrolaz-I enzimi, IFN-  $\gamma$  ile stimüle edilmektedir. IFN- $\gamma$  stimülasyonu aynı zamanda IDO enzimini uyararak triptofanın, kinürenin yolağı aracılığıyla ile metabolize olmasını sağlamaktadır. Neopterin ve IDO enziminin eş zamanlı olarak değerlendirmesi IFN- $\gamma$  yoluyla immün sistem aktivasyonunu ifade etmektedir. IDO enziminin substratı olan triptofan ve kinürenin konsantrasyonlarının oranı, IDO aktivitesini verir. Dendritik hücreler, monositler, makrofajlar ve eozinofil gibi miyelooid kökenli hücreler, epitelyum hücreleri, fibroblastlar ve tümör hücre grupları, IFN- $\gamma$  tarafından indüklenir (59). Kansere, enfeksiyonlar ve otoimmün hastalıklar gibi birçok patolojide neopterin düzeylerindeki artışın kin/trp oranı ile doğru orantılı olduğu bildirilmiştir (70-72). Neopterin konsantrasyonu ve kinürenin/triptofan (Kyn/Trp) oranı arasında bulunan korelasyon, bu koşullar altında artmış endojen bir IFN- $\gamma$  üretiminin yapıldığını düşündürmektedir (62).

İnsan immünyetmezlik virüsü (human immunodeficiency virus, HIV) enfeksiyonuna sahip hastalarda, düşük triptofan ve triptofan degradasyonu ile ilişkilendirilmiş yüksek kinürenin konsantrasyonları belirlenmiştir. Kyn/Trp oranı ile

neopterin ve IFN- $\gamma$  arasında kuvvetli bir ilişki gözlenebilir. Antiretroviral tedavi ile triptofan degradasyonu ve kinürenin konsantrasyonları azalmaktadır (62).

Artmış kinürenine eşzamanlı düşük triptofan travma hastalarında,IDO aktivitesini gösterir. Düşük triptofan düzeyleri sepsis ve lenfopeni ile ilişkilendirilmiştir (73).

Multisistemik bir hastalık olan Lyme hastalığının sistemik tutulumu olan nöroborelyozda da triptofan degradasyonu gözlenmiştir (16).

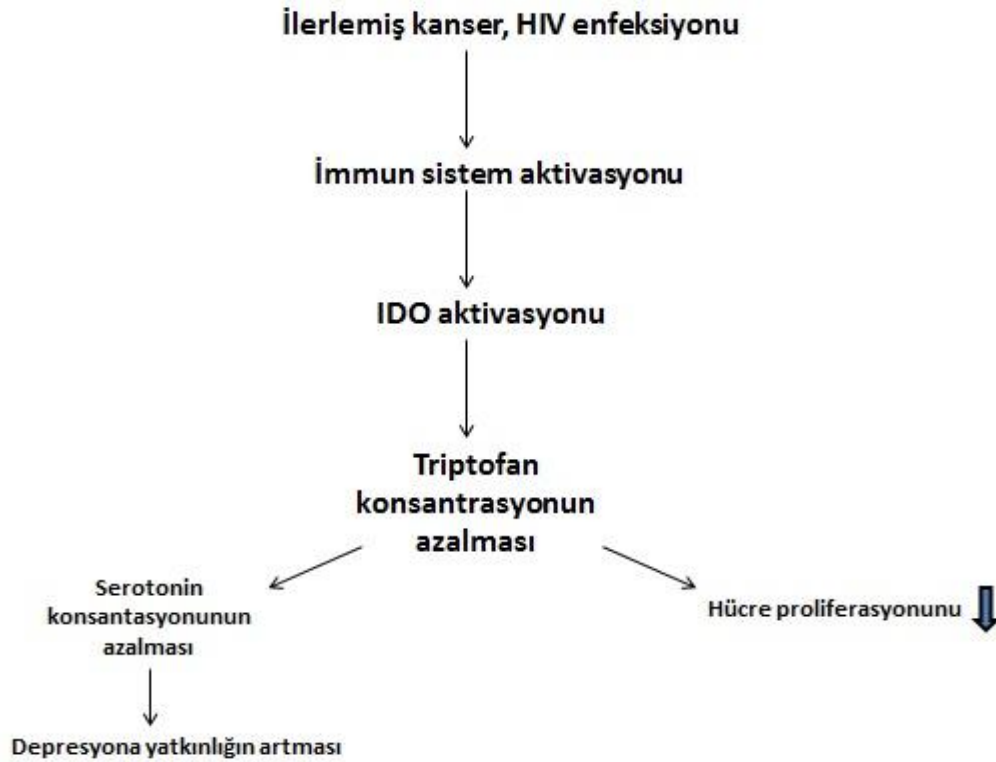
Solid tümörler ve hematolojik neoplazmi dahil olmak üzere, birçok malignite bulunan hastalıkta triptofan degradasyonu belirtilmiştir ve düşük triptofan konsantrasyonu ve yüksek Kyn/Trp oranı, hastalığın derecesi ile ilişkilendirilmiştir (62).

Kolorektal kanserli hastalarda, serum neopterin ve serum Kyn/Trp oranı arasındaki korelasyonlar ve artışın IFN-  $\gamma$  ile indüklenen bir IDO aktivitesi artış ile ilgili olduğu belirtilmiştir (74).

Alzheimer hastalığında da immün sistem yanıtı olarak IFN- $\gamma$  IDO aktivitesini indükleyerek triptofanın kinürenine yıkılmasına neden olur (34).

Gözün üvea kısmında görülen bir otoimmün hastalık olan üveit patolojisinde, triptofan degradasyonu ve artmış IDO aktivitesi gözlenmiştir (75).

İndolamin-2,3-dioksijenaz tarafından indüklenmiş düşük triptofan konsantrasyonları, serotonin azalmasına ve buna bağlı olarak disfonksiyonlara sebebiyet verdiği düşünülmektedir (55). Lapin, depresyon patogeneğinde serotonin eksikliğinin, triptofan yıkımının kinürenine kayması sebebi ile serotoninin konsantrasyonunun azalması olarak açıklamıştır. Lapin tarafından öne sürülen bu yolak, depresyonun önlenmesi ve tedavisi için yeni hedef olarak düşünülmektedir (76, 77).



Şekil 2.12. Triptofan etkisi.

## 2.8. Diyabet

Diyabetin klinik bulgularından ilk olarak Ebers papirüslerinde (M.Ö. 1550) bahsedilmiştir. “Diyabet” kelimesi, M.S. 2. yüzyılda Kapadokya’da yaşayan Aretaeus tarafından susuzluk, kilo kaybı ve idrarda artış belirtileri gözlenen bir hastalık olarak tanımlanmıştır (78).

Diyabet, Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı’nca pankreas insülin sekresyonunun mutlak veya rölatif yetersizliği veya insülin etkisizliği ya da insülin molekülündeki yapısal bozukluklar sonucu gelişen, hiperglisemi ve glukagon yüksekliği ile karakterize; karbonhidrat, protein ve lipid metabolizmalarının bozukluğu ile seyreden, akut metabolik ve kronik dejeneratif komplikasyonlara neden olan bir sendrom olarak tanımlanmaktadır (79). Sıklığı, sebep olduğu diğer patolojiler ve pahalı tedavisi sebebiyle önemi gün geçtikçe artan bir hastalık haline gelmektedir (79, 80).

2014 yılında, 4,9 milyon insanın diyabet nedeni ile hayatını kaybettiği bildirilmiştir. 2015 yılı itibari ile dünyadaki diyabetli birey sayısı 415 milyon iken bu sayının 2040 yılında % 55 oranında artarak 642 milyona ulaşacağı öngörülmektedir (2). Bu dramatik artışın başlıca sebepleri, nüfus artışı, yaşam süresinde uzama ve kentleşmenin getirdiği yaşam tarzı değişimi sonucu fiziksel aktivitenin azalması ve buna bağlı olarak gelişen obezitedir. Beslenme ve fiziksel inaktiviteye bağlı olarak son yıllarda çocuklarda ve gençlerde de Tip 2 diyabet prevalansı hızla artmaktadır (81).

Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışması (TURDEP) sonuçlarına göre Tip 2 diyabet prevalansı %7,2, bozulmuş glikoz toleransı (BGT) sıklığı ise %6,7 olarak bulunmuştur (82). 2013 yılında yayınlanan TURDEP-II çalışmasında ise 20 yaş üzeri 26.499 kişi incelenmiş ve Tip 2 diyabet sıklığının %13,7'ye ulaştığı belirtilmiştir (83).

Sağlık Bakanlığı, TURDEP verilerine dayanarak Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2007 yılı nüfus rakamlarına göre ülkemizde 2,85 milyonun üzerinde Tip 2 diyabetli ve 2,6 milyon BGT'linin yaşadığını rapor etmiştir. Bunun yanı sıra, TURDEP-I sonuçları ve Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization, DSÖ) tahminleri beraber değerlendirildiğinde Türkiye'de diyabet prevalansının artacağını düşünülmektedir (79).

Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre (81):

- 1980 yılında 108 milyon olan diyabetli sayısı, 2014 yılında 422 milyona yükselmiştir.
- 18 yaşından üzerindeki erişkinlerde diyabetin küresel yaygınlığı 1980 yılında % 4,7 iken 2014 yılında % 8,5'e yükselmiştir.
- Diyabet prevalansı, düşük ve orta gelirli ülkelerde daha hızlı yükselmektedir.
- Diyabet hastalığı körlüğe, böbrek yetmezliğine, kalp krizine, inme ve alt ekstremitelerde amputasyonuna yol açmaktadır.
- 2012 yılında, tahminen 1,5 milyon ölüm doğrudan diyabet ile 2,2 milyon ölüm ise dolaylı olarak yüksek kan şekeri ile ilişkilendirilmiştir.
- Dünya Sağlık Örgütü 2030 yılında diyabetin 7. önde gelen ölüm sebebi olacağını öngörülmektedir.

Ulusal Hastalık Yüğü çalışması 2004 verisine göre, Diyabet Türkiye’de ölüme sebebiyet veren ilk 10 hastalık arasında %2,2 ile 8. sırada yer almaktadır (84).

Diyabet vakalarının büyük çoğunluğu iki patoloji nedeni gösterir. Tip 1 diyabette ilk patoloji, mutlak insülin eksikliğidir. Daha yaygın olarak gözlenen diğer patolojide ise, insülin etkisine direnç veya yetersiz telafi edici insülin salgısı yanıtı gözlenir. Tip 2 diyabette ise, çeşitli hedef dokularda patolojik ve fonksiyonel değişiklikler olmasına rağmen klinik semptomları olmayan yeterli derecede bir hiperglisemi gözlenmeyebilir. Bu asemptomatik dönemde, açlık durumundaki plazma glikozunu veya bir oral glikoz yükü veya A<sub>1</sub>C ile metabolizmadaki anormallikler saptanabilir (85).

**Tablo 2.2.** Glisemik bozukluklar (85).

Diyabetin Tipi	Normal Glisemi	Hiperglisemi			
	Normal glikoz regülasyonu	Bozulmuş glikoz toleransı veya prediyabet	İnsülin gereksinmeyen	Diyabet Kontrol için insülin gerektiren	Kesin insülin gerektiren
Tip 1	✓	✓	✓	✓	✓
Tip 2	✓	✓	✓		
Diğer türler	✓	✓	✓		
Gestasyonel diyabet	✓	✓	✓		

### 2.8.1. Diyabet Semptomları ve Tanısı

Diyabetin, poliüri, polidipsi, polifaji veya iştahsızlık, halsizlik, çabuk yorulma, ağız kuruluğu ve noktüri gibi klasik semptomları bulunur. Bunun yanı sıra bulanık görme, açıklanamayan kilo kaybı, inatçı enfeksiyonlar, tekrarlayan mantar enfeksiyonları ve kaşıntı gibi daha az görülen semptomları da bulunur (1).

Dünya Sağlık Örgütü ve Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) tarafından 2006 yılında yayınlanan rapora göre tanı kriterleri belirlenmiştir. Diyabet tanısında, açlık plazma glikoz düzeyi (APG) ve oral glikoz tolerans testi (OGTT) kullanılmaktadır (86).

Glikozillenmiş hemoglobin A<sub>1c</sub> (HbA<sub>1c</sub>: A1C), standardizasyonundaki problemler sebebi yüzünden tanı testi olarak yer almamaktadır (1). Ancak, çalışmalar, A<sub>1c</sub> ile diyabet tanısı alan hastaların, APG veya OGTT ile tanı alan hastalara göre metabolik açıdan daha kötü durumda olduğunu göstermiştir. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği (TEMĐ), komplikasyonlara daha yatkın hastaların tanınmasında ve tedavi edilmesinde, ayrıca komplikasyonların önlenmesi veya geciktirilmesi açısından testin tanı amaçlı kullanılmasını Sağlık Bakanlığı'na önermektedir (1).

**Tablo 2.3.** Diyabette tanı kriterleri (1).

	Aşkar DM	İzole IFG**	İzole IGT	IFG+IGT	DM Riski Yüksek
APG (≥8 sa açlıkta)	≥126 mg/dl	100-125 mg/dl	<100 mg/dl	100-125 mg/dl	-
OGTT 2. sa PG (75 g glikoz)	≥200 mg/dl	<140 mg/dl	140-199 mg/dl	140-199 mg/dl	-
Rastgele PG	≥200 mg/dl + Diyabet semptomları	-	-	-	-
A1C***	≥%6,5 (≥48 mmol/mol)	-	-	-	%5,7-6,4 (39-46 mmol/mol)

(\*) Glisemi venöz plazmada glikoz oksidaz yöntemi ile 'mg/dl' olarak ölçülür. 'Aşkar DM' tanısı için dört tanı kriterinden herhangi birisi yeterli iken 'İzole IFG', 'İzole IGT' ve 'IFG+IGT' için her iki kriterin bulunması şarttır. (\*\*) 2006 yılı DSÖ/IDF Raporunda normal APG kesim noktasının 110 mg/dl ve IFG 110-125 mg/dl olarak korunması benimsenmiştir. (\*\*\*) Standardize metodlarla ölçülmelidir.

DM: diabetes mellitus, APG: açlık plazma glikozu, 2.sa PG: 2. saat plazma glikozu, OGTT: Oral glikoz tolerans testi, A1C: glikozillenmiş hemoglobin A, IFG: bozulmuş açlık glikozu (impaired fasting glucose), IGT: bozulmuş glikoz toleransı (impaired glucose tolerance), DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü, IDF: Uluslararası Diyabet Federasyonu.

Amerikan Diyabet Derneği'nin tanı kriterleri şöyledir (1, 87):

1. Diyabet semptomlarıyla beraber, günün herhangi bir saatinde ve son yenen yemekten sonra geçen zaman dikkate alınmaksızın plazma glikozunun  $\geq 200$  mg/dl ( $\geq 11,1$  mmol/L) olması. (Diyabet semptomları poliüri, polidipsi ve açıklanamayan kilo kaybıdır.)

2. Açlık plazma glikozunun  $\geq 126$  mg/dl ( $\geq 7,0$  mmol/L) olması. (Açlık; kalori almaksızın geçen en az 8 saat olarak tanımlanır.)

3. Oral glikoz tolerans testinde (OGTT) 2. saat plazma glikozunun  $\geq 200$  mg/dl ( $\geq 11,1$  mmol/L) olması. OGTT; DSÖ'nün tanımladığı, 3 günlük yeterli karbonhidrat (150 g/gün) alımından sonra, açlık durumunda suda çözünen 75 g glikoz ile yapılmalıdır.

4. HbA<sub>1c</sub> değerinin  $\geq 6,5$  olması [bu test Diabetes Control and Complications Trial (Diyabet Kontrol ve Komplikasyon Testi, DCCT) tahlili ile standardize edilmiş ve National Glycohemoglobin Standardization Program (Ulusal Glikohemoglobin Standardizasyon Programı, NGSP) onaylı metodu kullanan laboratuarlarda yapılmalıdır.]

### 2.8.2. Diyabet ve Oksidatif Stres

Birçok kronik hastalığın ve hücre ölümünün en karakterize özelliklerinden biri oksidatif stres ve bunun sonucu olarak oluşan doku hasarıdır. Reaktif oksijen türevlerinin artışı ve/veya antioksidan sistemlerinin yetersiz olması doku hasarının belirlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Reaktif oksijen türevlerinin üretimi çeşitli hücrel savunma mekanizmaları ile kontrol edilmektedir. Organizmadaki antioksidan mekanizmalar süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz gibi enzimler ile glutatyon ve E vitamini gibi enzimatik olmayan mekanizmalardır (88, 89). Diyabette oksidatif stres ve antioksidan mekanizmaların araştırıldığı bazı çalışmalarda, glukozun otooksidasyonu ve birçok dokuda meydana gelen glikolizlenme yoluyla reaktif oksijen türevlerinin oluştuğu bildirilmiştir (90–92). Diyabet hastalarında nitrik oksit (NO) gibi reaktif oksijen türevlerinin yükseldiği fakat antidiyabetik ilaçlarla tedavi sonrası antioksidan sistem göstergelerinden olan glutatyon ve katalaz düzeylerinin düştüğü ifade edilmektedir (93). Reaktif oksijen

türevlerinin, diyabetli hastalarda göz, böbrek ve sinir hasarı gibi mikrovasküler komplikasyonlar ve daha az ölçüde kardiyovasküler hastalık ile ilişkili olduğu ifade edilmektedir (94, 95).

### 2.8.3. Diyabet Komplikasyonları

Diyabetli hastalar sağlıklı insanlara kıyasla mortalite ve morbidite açısından daha yüksek risk taşımaktadır. Diyabet hastalığında komplikasyonlar akut veya kronik gelişebilir. Akut komplikasyonlar, mortalite nedeni olabilir. Diyabetin akut komplikasyonları şunlardır:

- Diyabetik ketoasidoz (DKA)
- Hiperozmolar hiperglisemik durum (HHD)
- Laktik asidoz (LA)
- Hipoglisemi

Diyabetik ketoasidoz çoğunlukla tip 1 diyabet vakalarında ortaya çıkar. Vakaların yaklaşık %20-25'i, yeni başlayan tip 1 diyabet habercisidir. Halsizlik, bulantı, kusma, karın ağrısı, taşikardi, hipotansiyon ve nefeste aseton kokusu belirtileri gözlenir. Diyabetik ketoasidoz tablosunda insülin eksikliği gözlenirken hiperozmolar hiperglisemik durumda ise dehidratasyon söz konusudur. Bu tabloda idrarda ve plazmada keton görülmez ve bu da DKA'dan ayırıcı tanı sağlar. Laktik asidoz tablosu genelde biguanid türevi oral antidiyabetik kullanan hastalarda gözlenir ve kanda laktatın arttığı bir komplikasyondur (1).

Titreme, soğuk terleme, taşikardi, anksiyete ve bulantı gibi adrenerjik; baş ağrısı, halsizlik gibi nöroglükopenik belirtiler gösteren tablo hipoglisemidir. Hipoglisemi tablosunda kan glikozu 70 mg/dl'nin altındadır (1, 96).

Diyabette gözlenen yüksek kan düzeyi, kronik olarak kalp ve damar hastalıkları, göz, sinir ve böbrekleri etkileyen ciddi hastalıklara yol açabilir (2, 80).

### Kardiyovasküler Hastalıklar

Kardiyovasküler hastalıklar, diyabetli hastalar için en yaygın ölüm ve sakat kalma sebebidir (2). Diyabetlilerin %60-75'i kardiyovasküler hastalıklardan

kaybedilmektedir (97). Diyabete eşlik eden kardiyovasküler hastalıklarda miyokard infarktüsü (MI), inme, periferik arter hastalığı ve kalp yetmezliği sayılabilir (2).

### **Diyabetik Retinopati**

Diyabetik nöropati, hiperglisemi sebebi ile kılcal damarların etkilendiği bir mikroangiopatidir (98). Diyabet başta retina olmak üzere iris ve lensi etkilemektedir. Retinal kapiler taban zarının kalınlaşması, retinal endotelyumdaki sıkı bağlantıların zayıflaması ve göz perfüzyonunu sağlayan damarlardaki kıvrım hücreleri olan perisitleri etkilemesi patogeneizde rol oynayan diğer faktörlerdir (78, 99). Diyabetik retinopati, körlüğe sebep olmaktadır. Diyabetik retinopatinin, 2010 yılında orta ve ciddi görme bozukluğunun %1,9'nun ve körlük vakalarının %2,6'sının sebebi olduğu bildirilmiştir (2).

### **Diyabetik Nefropati**

Nefropati böbrekteki küçük kan damarlarının hasarı üzerine gelişir ve proteinüriden böbrek yetmezliğine varan komplikasyona sebep olur (78, 100). Kan glikoz seviyesini normal düzeylere yaklaştırmak nefropati riskini azaltır (2). Diyabetli hastaların %10-20'si böbrek yetmezliği sebebi ile kaybedilmektedir (79). Tip 1 diyabet hastalarının %30-40'ında nefropati komplikasyonu gelişmektedir. Bu hastaların % 30'unu 30 yaş altındaki hastalar oluşturmaktadır (97).

### **Diyabetik Nöropati**

Uzun süreli hiperglisemi nöropatinin de sebebidir. Vücudun herhangi bir sinirinde gözlenebilir ancak en sık periferik nöropati görülür. Öncelikle ayaklarda olmak üzere uyuşma, yanma, karıncalanma, ağrı ve güçsüzlük en büyük belirtileridir. Ülserasyon ve sonrasında amputasyona sebep olduğu gibi erektil disfonksiyona da sebep olur (2, 101).

## Diyabetik Ayak Ülserleri

Diyabetlilerde, nöropatinin yanı sıra zayıf kan akımı sebebi ile kan damarları zarar görür. Bu da ülserasyon, enfeksiyon ve amputasyon riskini artırır (2). Diyabetli insanların amputasyon oranları, sağlıklı insanlara kıyasla 10-20 kat daha fazladır (66). Diyabet hastalarının her birinde yaşamı boyunca %12 – 15'inde diyabetik ayak ülseri gelişme riski bulunur (1).



**Şekil 2.13.** Diyabetik ayak ülseri (78).

### 2.8.4. Diyabetin Sınıflandırılması

Aşağıda belirtilen üç diyabet tipi (tip 1 diyabet, tip 2 diyabet ve GDM) primer; diğeri ise sekonder diyabet formudur (1).

- I. Tip 1 Diyabet (beta hücrelerinin yıkımı sebebi ile mutlak insülin eksikliği)
  - a. İmmün aracılıklı
  - b. İdiyopatik
- II. Tip 2 Diyabet
- III. Gestasyonel Diyabet (gebelikle ile ortaya çıkan ve geri dönüşlü diyabet)

#### IV. Diğer Spesifik Diyabet Tipleri

a.  $\beta$ -hücre fonksiyonunda genetik bozukluk

b. İnsülin etkisindeki genetik bozukluklar

1. Lipoatrofik diyabet
2. Rabson-Mendenhallsendromu
3. Tip A insülin direnci
4. Leprechaunizm
5. Diğerleri

c. Ekzokrin pankreas hastalıkları

1. Kistikfibroz
2. Neoplazi
3. Pankreatit
4. Travma/pankreatektomi
5. Fibrokalkülözpankreatopati
6. Hemokromatoz
7. Diğerleri

d. Endokrinopatiler

1. Cushing Sendromu
2. Feokromastoma
3. Glukagonoma
4. Hipertiroidi
5. Akromegali
6. Aldostreronoma
7. Somatostatinoma
8. Diğerleri

e. İlaç veya kimyasal ajanlar

1. Fenitoin
2. Diazoksid
3. Atipik anti-psikotikler
4. Nikotinic asit

5. Pentamidin
6. Tiyazid grubu diüretikler
7. Tiroid hormonu
8. Anti-viral ilaçlar
9.  $\beta$ -adrenerjik agonistler
10. Vacor
11. Diğerleri

f. Enfeksiyonlar

1. Sitomegalovirus
2. Konjenital rubella
3. Koksaki B
4. Diğerleri (adenovirüs, kabakulak)

g. İmmün aracılıklı nadir diyabet formları

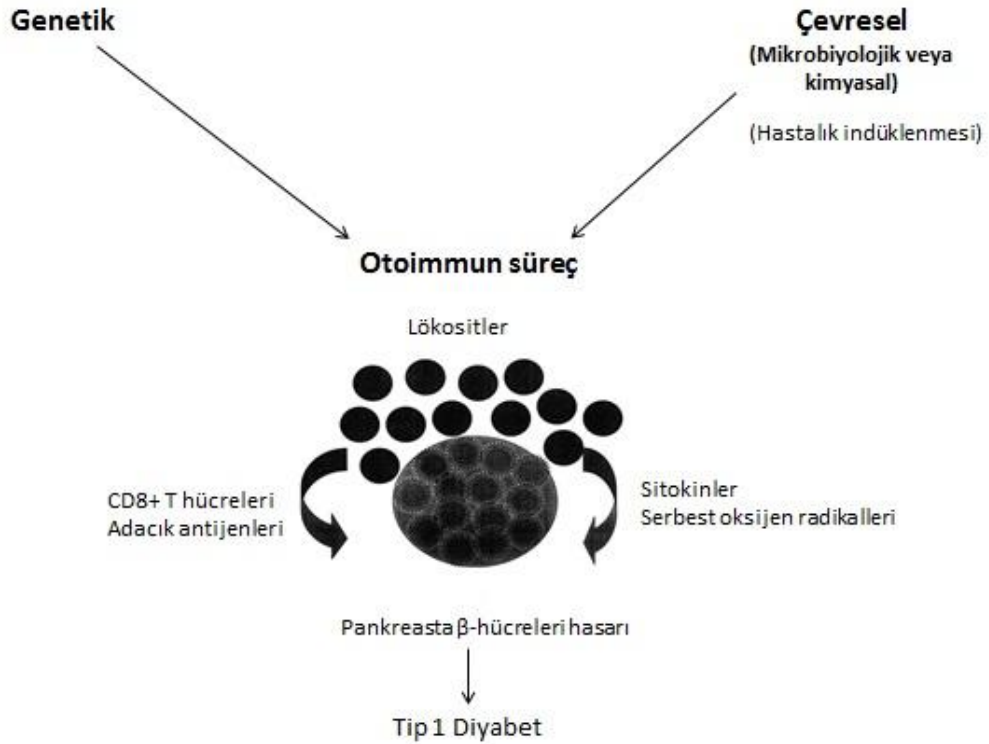
1. Anti – insülin reseptör antikorları
2. Stiff-man Sendromu
3. Diğerleri

h. Diyabet ile ilişkili genetik sendromlar

1. Down Sendromu
2. Huntington korea
3. Laurence-Moon-Biedl Sendromu
4. Porfiria
5. Turner Sendromu
6. Alström Sendromu
7. Friedreich tipi ataksi
8. Klinefelter Sendromu
9. Miyotonikdistrofi
10. Prader-Willi Sendromu
11. Wolfram Sendromu
12. Diğerleri

### Tip 1 Diyabet

Pankreas  $\beta$ -hücrelerinin çoğunlukla otoimmün hasarına bağlı olarak gelişen, mutlak insülin eksikliğinin olduğu diyabet tipidir. Hastaların %90'ında otoimmün (Tip 1A), %10'unda otoimmün olmayan (Tip 1B)  $\beta$ -hücre yıkımı söz konusudur (1, 103). Bu kronik süreç, diyabetin klinik olarak teşhis konulmasından önce hücresel ve hümmoral olarak çeşitli bileşenler ile saptanabilir. Bu süreç azalmış glikoz toleransı ve insülin sekresyonunu da içerir. Çoğunlukla çocuk ve adölesanlarda görülse de tüm yaş gruplarında ortaya çıkabilir. Tip 1 diyabete yatkınlık, özellikle kromozom 6p üzerindeki histokompatibilite lökosit antijeni (HLA) kompleksine bağlıdır, ayrıca buna diğer birçok gen katkıda bulunmaktadır. Genetik etkenlere ek olarak çevresel faktörlerle (muhtemelen bazı virüsler ve bakterilere/parazitlere maruz kalma) etkileşime girerek  $\beta$ -hücre tahribatıyla sonuçlanan immün aracılı süreci başlatır. Tip 1 diyabetin, yani immün aracılı diyabetin, etiolojisi tam olarak açıklanamamıştır. Birçok çevresel faktörün  $\beta$ -hücre otoimmünitesini başlatabileceği ve daha sonra yaygın patojenik yollarla ilerlediğini düşünülmektedir (104, 105).



**Şekil 2.14.** Tip 1 diyabetin patolojisi.

Diyabet hastalarının %5-10'u Tip 1 diyabettir. Dünya genelinde yaklaşık 497.100 çocuğun Tip 1 diyabet ile yaşadığı ve her yıl 15 yaş altı 79.100 çocukta ise Tip 1 diyabet geliştiği tahmin edilmektedir (2). Türkiye'de ise 15 yaş altı tip diyabetli insidansı 3,2/100000 çocuk/yıl olarak tahmin edilmektedir (79).

Tip 1 diyabet genellikle okul öncesi (6 yaş civarı), puberte (13 yaş civarı) ve geç adolesan dönemde (20 yaş civarı) üç pik olmak üzere 25 yaş öncesi gözlenir. Erişkin yaşta yani 25 yaş sonra gözlenen Tip 1 diyabet, erişkinde latent otoimmün diyabet (latent autoimmüne diabetes in adult, LADA) olarak isimlendirilir ve çocukluk çağında (<15 yaş) ortaya çıkan Tip 1 diyabet ile yakın oranda gözlenir. Ağız kuruluğu, polidipsi, açlık hissi, poliüri, kilo kaybı ve yorgunluk gibi hiperglisemi belirtileri aniden ortaya çıkar (1, 79).

Tip 1 diyabette  $\beta$ -hücre hasarının değişken olması sebebi ile hastalar erken çocukluk döneminde diyabetin akut ve hayatı tehdit eden komplikasyonlarından biri olan diyabetik ketoasidoz (DKA) ile ilk tanısını alabilir veya orta derecede bir hiperglisemi ile erken dönemde tanı almadan ileri yaşlarda tanı konabilir. Orta

derecede hiperglisemi; enfeksiyon, stres veya travma gibi bir olay sonrasında tetiklenerek ciddi hiperglisemi ve/veya DKA olarak ortaya çıkabilir (79, 106).

Tip 1 diyabetin tedavisi yalnızca insülin enjeksiyonudur. Bunun dışında, beslenmenin düzenlenmesi, fiziksel aktivite ve hastalık eğitimi de gereklidir (107).

### **Tip 1A Diyabet**

Genetik yatkınlığı bulunan kişilerde çevresel tetikleyici faktörlerin (virüsler, toksinler, stres) etkisiyle otoimmünite tetiklenmesi ile ilerleyici  $\beta$ -hücre hasarı başlar. Diyabet tablosu,  $\beta$ -hücre rezervi %80-90 oranında azaldığı zaman ortaya çıkar. Tip 1A diyabette başlangıçta kanda adacık otoantikörleri pozitif bulunur (1).

### **Tip 1B Diyabet**

Otoimmünite dışındaki bazı nedenlere bağlı mutlak insülin eksikliği sonucu gelişir. Tip 1A diyabetin aksine, kanda adacık otoantikörleri bulunmaz (1).

### **Tip 2 Diyabet**

Pankreas  $\beta$ -hücre fonksiyonlarının ilerleyici kaybı ve insülinin etkilerine direnç ile karakterize bir bozukluktur. Genetik ve/veya çevresel faktörler etkilidir. Fazla kilo ve az fiziksel aktivite risk faktörleridir (1, 2).

Poliüri, polidipsi ve polifajinin yanı sıra görme bozuklukları, el ve ayak gibi uzuv uyuşması belirtileri gösterebilir. Aile öyküsünün olması, bu tür diyabet riskini 2 ila 4 katına çıkarmaktadır.

Hastaların çoğu vücut kitle indeksi sınıflamasına göre aşırı kilolu veya obez sınıfindadır. Çoğunlukla 30 yaş sonrası ortaya çıkar (1, 108).

### **İnsülin Direnci**

Kas dokusu, karaciğer ve yağ dokusunda insüline cevap yetmezliği veya bozulmuş cevabı "insülin direnci" olarak tanımlanır. İnsülinin etki mekanizmasında insülin reseptörüne etki eden tirozin kinaz aktivitesi insülinin fonksiyon

gösterebilmesi için oldukça önemlidir. Reseptör düzeyinde insülin direncinde insülin reseptör antikoları, insülin reseptör sayısında azalma, tirozin kinaz aktivitesinde bozukluk rol oynar. Post-reseptör düzeyde insülin direnci ise hücre içine glikoz transportundan sorumlu olan GLUT-4'ün aktivasyonundaki fonksiyon kaybı ve glikozun hücre içi metabolizmasında rol oynayan enzim aktivitelerindeki bozukluktan kaynaklanır (109, 110).

### **Gestasyonel Diyabet**

Gebelikte gelişen, insülin direnci ve genetik yatkınlık fizyopatolojisine sahip diyabet türüdür (1) . Tedavisi cilt altı enjeksiyonu ile insülin enjeksiyonudur (1).

### **2.8.5. İnsülinler**

Klasik Tip 1 diyabet vakalarında vücudun normal bazal insülin sekresyonunu taklit etmesi ve ayrıca Tip 2 diyabette oral antidiyabetik ilaçlar ile hipergliseminin kontrol altına alınması için kullanılan ve günümüzde rekombinant DNA teknolojisi ile üretilen hormon preparatlarıdır. Glikozun hücre içine girişini sağlar ve glukojen depolanmasını artırır. İnsülin preparatları küresel olarak, 1 ml'de 100 IU (internasyonal ünite) olarak bulunur ve çoğunlukla cilt altı enjeksiyon yolu ile kullanılır (1).

İnsülin tedavisinin en sık görülen ve en önemli yan etkisi hipoglisemidir. Bazal-bolus uygulanan tip 1 diyabetlilerde daha sık gözlenir. Bunun dışında tedavi başlangıcında kaybedilmiş yağ ve kasın geri kazanımı, su ve tuz tutulumu sebebi ile kilo artışı gözlenir (1, 111).

Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) inhibitörleri alkol,  $\beta$ -blokörler, lityum karbonat, monoamin oksidaz inhibitörleri ve tetrasiklinler insülinin hipoglisemik etkisini artırır ve glisemiye düşürür. Asetazolamit, diltiazem, diüretikler, dobutamin, epinefrin, morfin sülfat, nikotin, oral kontraseptifler ve tiroid hormonları insülinin hipoglisemik etkisini azaltır (1, 111).

**Tablo 2.4.** İnsülin tipleri ve etki süreleri (1).

İnsülin Tipi	Jenerik Adı
<b>Prandiyal (bolus) insülinler</b>	
Kısa etkili (Human regülar)	Kristalize insan insülin
	Kristalize insan insülin U-500 <sup>(*)</sup>
Hızlı etkili (Prandiyal analog)	Glulisin insülin
	Aspart insülin
	Lispro insülin
	Lispro insülin U-200 <sup>(**)</sup>
<b>Bazal insülinler</b>	
Orta etkili (Bazal Human NPH)	NPH insan insülin
Uzun etkili <sup>(*)</sup> (Bazal analog)	Glargin insülin
	Biyobenzer glargin insülin
	Detemir insülin
Ultra uzun etkili (Bazal analog)	Degludec insülin <sup>(**)</sup>
	Degludec insülin U-200 <sup>(**)</sup>
	Glargin insülin U-300
<b>Hazır karışım bifazik insülinler</b>	
Hazır karışım human (Regüler + NHP)	%30 kristalize + %70 NPH insan insülin
Hazır karışım analog (Lispro + NPL)	%25 insülin lispro + %75 insülin lispro protamin
	%50 insülin lispro + %50 insülin lispro prolamin
Hazır karışım analog (Aspart + NPA)	%30 insülin aspart + %70 insülin aspart protamin
	%70 insülin aspart + %30 insülin aspart protamin
	%50 insülin aspart + %50 insülin aspart protamin
Hazır karışım analog (Aspart + Degludec) <sup>(**)</sup>	%30 insülin aspart + %70 insülin degludec

<sup>(\*)</sup> Uzun etkili (bazal) analog insülinlereşdeğer etkili değildir. Bazal insülin olarak glargin kullanıldığında insülin gereksinimi, detemir'e göre %25-35 daha azdır. Detemir insülin'in günden güne varyasyonu ve kilo aldırıcı etkisi glargin'e göre (0,5-1 kg) biraz daha azdır. Düşük dozlarda detemir (bazı vakalarda glargin) insülinin etki süresi kısalmır, bu nedenle özellikle tip 1 diyabetlerde, bazal insülin gereksinimi <0,35 IU/kg/gün ise ikincibir doz gerekebilir.

<sup>(\*\*)</sup> Ülkemizde yoktur.

### 2.8.6. Oral Antidiyabetik İlaçlar ve Sınıflandırılmaları

Bu ilaçlar, insüline bağımlı olmayan diyabet türünde ve yalnızca diyet ile kan glikozu kontrol edilemiyor ise kullanılırlar. Tek başlarına veya kombine olarak kullanılan ilaçlardır. Gebelikte kesinlikle kullanılmamalıdır (1, 112).

#### İnsülin Salgılatıcı (Sekretogog) İlaçlar

##### Sülfonilüre Grubu

Sülfonilüre grubu ilaçlar, pankreas  $\beta$ -hücrelerinden insülin salgılanmasını arttırarak etki gösterirler. Bu mekanizma,  $\beta$ -hücrelerinde insülin sentezinin artırılması değil, depolanmış insülinin saliverilmesinin artışıdır (111). Hipoglisemi, kilo artışı, allerji, deri döküntüleri ve hepatotoksisite gibi yan etkileri mevcuttur. Bunun yanı sıra, Tip 1 DM ve gebelikte kontrendikedir (1). Ör. glipizid (2,5 – 40 mg/gün), gliklazid (80 – 240 mg/gün), glibenklamid (1,25 – 20 mg/gün), glimepirid (1 – 8 mg/gün), glibornurid (12,5 – 75 mg/gün), glikuidon (15 – 120 mg/gün)

##### Glinid Grubu

Glinid grubu ilaçlar,  $\beta$ -hücrelerinde bulunan sülfonilüre reseptör (SUR) proteinine bağlanarak etki gösterir. Sülfonilüre grubu ilaçlardan farkı kısa etkili olmasıdır (111). Ör. repaglinid (0,5 – 16 mg/gün), nateglinid (60 – 360 mg/gün)

#### İnsülin Duyarlılaştırıcı (Sensitizer) İlaçlar

Bu grup ilaçlar, insülin etkinliğini periferik dokularda reseptör sonrası düzeyde artırır (111). Biguanidler ve tiazolidindionlar bu grupta bulunan ilaçlardır.

## Biguanidler

İki guanidin molekülünden oluşan biguanidinler, diyabet tedavisinde 30 seneyi aşkın kullanılan bir ilaç grubudur. Ortaçağ döneminde Avrupa'da guanidin içeren Fransız leylağı veya keçisedefinin diyabet tedavisinde kullanıldığı görülmüştür (113).

1957 senesinde metformin ve fenformin, Tip 2 diyabet tedavisinde kullanılmak üzere piyasaya sürülmüştür ancak fenformin 1970'lerde laktik asidoz sebebi ile tüm dünyada kullanımdan çekilmiştir. Şu an Türkiye'de ve dünyada kullanılan tek biguanidin molekülü metformindir (113).

İnce bağırsaktan absorbe edilir ve %60 biyoyararlanım gözlenir. Lipofilik membran elemanlarına bağlanır ve karaciğerde akümüle olması toksisite açısından önemlidir. Etki mekanizması, artmış olan karaciğer glikoz üretimini baskılaması, periferik dokularda glikoz tutulumunu ve insülin etkisini arttırması olarak belirlenmiştir. Bunun dışında, biguanidinler intestinal glikoz emilimini geciktirirler ve bu sayede hiperglisemiye engellerler. Hücre içinde anaerobik glikolizi uyararak laktat oluşumuna neden olmaktadır (113, 114).

Metforminin, pankreastaki  $\beta$ -hücreleri üzerinde doğrudan etkisi yoktur ancak periferik dokulara glikoz taşınması ile insülin etkisini güçlendirdiği düşünülmektedir. Bu sebeple, kanda insülinin yeterli düzeyde olması gerekmektedir (113-115).

Metformin, antikoagülanlar ile beraber kullanıldığında, antikoagülan etkiyi arttırır. Radyolojik görüntüleme için kullanılan iyoheksol, iyoversol ve iyopamidol ile beraber uygulamalarında renal etkilerinden dolayı dikkatle kullanılmalıdır (116).

Gastrointestinal iritasyon, ağızda metalik tat ve B12 vitamin eksikliği gözlenen yan etkilerindedir. Renal fonksiyon bozukluğu, karaciğer yetmezliği ve laktik asidoz öyküsü olan kişilerde kontrendikedir (1). Ör. metformin (500 – 3000 mg/gün)

### **Tiazolidindionlar**

Ödem, anemi, özellikle yoğun insülin tedavisi ile beraber uygulandığında konjestif kalp yetmezliği ve kilo artışı yan etkilerindedir. Alanin aminotransferaz yüksekliğinde, Tip 1 DM ve gebelikte kontrendikedir (1, 111). Ör. pioglitazon (15 – 45 mg/gün)

### **Alfa Glukozidaz İnhibitörleri (AGİ)**

Bağırsaktan glikoz absorpsiyonunu geciktirerek etki gösterirler. Şişkinlik, hazımsızlık ve diyare gibi gastrointestinal yan etkiler uzun süreli kullanımını zorlaştırır. İnflamatuvar bağırsak hastalığında kontrendikedir (1, 111). Ör. akarboz (25 – 300 mg/gün), miglitol (Türkiye’de müstahzar bulunmamaktadır.)

### **İnsülinomimetik İlaçlar**

Endojen insülin sekresyonunu artırarak etki gösteren oral antidiyabetik ilaç grubudur (1).

### **Amilin Analogları**

Amilin 37 aminoasitten oluşan ve beta hücreden sentezlenen bir polipeptiddir. Sentetik insan amilin analogu olan pramlintidin, mide boşalmasını ve dolayısıyla gıdaların emilimini yavaşlattığı gösterilmiştir (117). Ör. pramlintid (Türkiye’de müstahzarı bulunmamaktadır.)

### **İnkretinmimetikler**

Bu grup ilaçlar, endojeninkretin olan glukagon benzeri peptid-1 (glucagon like peptid-1, GLP-1)’i taklit ederek etki gösterirler (1, 111). Ör. eksenatid (günde iki kez 5 – 10 ug), liraglutid (günde bir kez 1,2 – 1,8 mg)

### **İnkretin Artırıcı İlaçlar (Dipeptidil Peptidaz 4 İnhibitörleri)**

Bu grup ilaçlar, dipeptidil peptidaz 4 (DPP4) enzimini inhibe ederek endojen inkretinler olan GLP-1 ve gastrik inhibitör polipeptit (GIP)'in yıkımının engellenmesi ile konsantrasyon artışı sayesinde etki gösterirler. DPP4 enzimi vücutta karaciğer, akciğer, böbrek, barsak ve lenf dokularında bulunur (118).

DPP4 inhibitörü ilaçlar, gıda ile alınan karbonhidratlara cevap olarak ince bağırsak K ve L hücrelerinden salgılanan inkretin hormonlarının, etkilerini güçlendirmek yolu ile etki gösteren yeni bir ilaç grubudur (119, 120). En iyi tanımlanan iki inkretin hormonu, gastrik inhibitör peptid (GIP) olarak da bilinen ve özellikle pankreatik hücre fonksiyonu üzerinde etkisi olan GLP-1 ve glikoz-bağımlı insülinotropik polipeptiddir (119). Ör. sitagliptin (50 – 200 mg/gün), vildagliptin (50 – 100 mg/gün), saksagliptin (2,5 – 5 mg/gün), linagliptin (Türkiye’de müstahzarı bulunmamaktadır.)

#### **Vildagliptin**

Vildagliptin, metformin, sülfonilüre grubundan bir üye veya tiazolidindion grubundan bir üye ile oral kullanılan yüksek selektiviteye sahip, geri dönüşlü DPP4 inhibitörü ilaçtır (118). Moleküler ağırlığı 303,41 g/moldür. Oral biyoyararlanımı %85'tir. Oral uygulamadan sonra hızlıca absorbe olur ve 1,5 saatte maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşır. Plazma proteinlerine düşük oranda (%9,3) bağlanır. Ayrıca, plazma ve kırmızı kan hücresine eşit oranda dağılır. Yapısında bulunan siyano grubunun hidrolize olması ile karboksilik asit metaboliti oluşturarak metabolize olur. Birincil itrah yolu idrardır (121, 122).

Vildagliptin, düşük akut toksisite gösterir. Sıçanlarda 26 haftaya kadar tekrarlanan doz toksisite çalışmalarında, sıçan alveollerinde köpüksü makrofaj kümelerinin biriktiği kaydedilmiştir. Bunun dışında, sıçanlarda genotoksisite ve üreme sistemi üzerinde toksisite gözlenmemiştir (123).

Hipoglisemik etkisi gözlenmemiş olup en sık gözlenen yan etkileri, hafif ve orta şiddette başağrısı, karın ağrısı, baş dönmesi, kan basıncında artıştır (124, 125).

İlaç etkileşimleri ile ilgili çalışmalar yetersiz olup klinikte en çok pioglitazon ile farmakokinetik olarak etkileşimi olduğu bildirilmiştir (115).

Genel olarak DPP4 inhibitörü ilaçların, sitokrom CYP450 enzimleri üzerinde etkisi yoktur. Bu ilaç grubunun önemli ilaç-ilaç etkileşimi söz konusu değildir ve bu durum bu grup ilaçların uygun farmakokinetik özellikleri ve plazma proteinlerine düşük oranda bağlanmasıyla açıklanmaktadır (119, 126- 128).



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereçler

##### 3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tez çalışmasında kullanılan kimyasal maddeler Tablo 3.1.'de gösterilmektedir.

**Tablo 3.1.** Kullanılan kimyasal maddeler.

Kimyasal Madde İsmi	Firma Adı
Albümin	Sigma-Aldrich
Asetonitril	Sigma-Aldrich
Biyopterin	Sigma-Aldrich
Kreatinin	Sigma-Aldrich
L-Kinürenin	Sigma-Aldrich
L-Triptofan	Sigma-Aldrich
Metanol	Merck
Neopterin	Sigma-Aldrich
Neopterin ELISA kiti	IBL
Perklorik asit	Riedel-de Haën
Potasyum dihidrojen fosfat	Merck
Sodyum hidroksit	Merck

### 3.1.2. Kullanılan Çözeltiler

#### YBSK Analizlerinde Kullanılan Çözeltiler

##### 10 µg/ml Neopterin Stok Çözeltisi

0,1 mg neopterin tartıldıktan sonra deiyonize su ile 10 ml'ye tamamlanmıştır.

##### 10 µg/ml Biyopterin Stok Çözeltisi

0,1 mg biyopterin tartıldıktan sonra deiyonize su ile 10 ml'ye tamamlanmıştır.

##### 10 µg/ml Kreatinin Stok Çözeltisi

0,1 mg kreatinin tartıldıktan sonra deiyonize su ile 10 ml'ye tamamlanmıştır.

##### L-Kinürenin Stok Çözeltisi

2,08 mg L-Kinürenin tartılıp deiyonize su ile 10 ml'ye tamamlanmıştır.

##### L-Triptofan Stok Çözeltisi

2,04 mg L-Triptofan tartılıp deiyonize su ile 10 ml'ye tamamlanmıştır.

##### Albümin Çözeltisi

70 g/L konsantrasyonunda albümin çözeltisi hazırlamak için 0,7 g albümin tartılıp 10 ml'ye deiyonize su ile tamamlanmıştır.

##### 1 N Sodyum Hidroksit (NaOH) Çözeltisi

1 g sodyum hidroksit (NaOH) tartıldıktan sonra deiyonize su ile 25 ml'ye tamamlanmıştır.

**Metanol İçeren 15 mM Potasyum Dihidrojen Fosfat Tamponu, pH: 7**

2,041 g potasyum dihidrojen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) tartılıp bir miktar deiyonize suda çözölerek %2,5 (h/h) oranında metanol içermesi için, 25 ml metanol eklenmiş ve hacmi deiyonize su ile 1000 ml'ye tamamlanmıştır. 1 N sodyum hidroksit kullanılarak çözeltinin pH değeri 7 olacak şekilde ayarlanmıştır.

**Asetonitril İçeren 15 mM Potasyum Dihidrojen Fosfat Tamponu, pH: 6,4**

2,041 g potasyum dihidrojen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) tartılıp bir miktar deiyonize suda çözölerek %7 (h/h) oranında asetonitril içermesi için, 70 ml asetonitril eklenmiş ve hacmi deiyonize su ile 1000 ml'ye tamamlanmıştır. 1 N sodyum hidroksit kullanılarak çözeltinin pH değeri 6,4 olacak şekilde ayarlanmıştır.

**ELISA Deneylerinde Kullanılan özeltiler****Enzim Konjugatı**

Neopterinin peroksidaz konjugatı, fosfat tamponu ve koruyucu madde içermektedir. Kullanıma hazır şekilde ELISA kitinin içerisinde bulunmaktadır.

**Analiz Tampon özeltisi**

Fosfat tampon çözeltisidir ve kullanıma hazır olarak ELISA kitinin içerisinde bulunmaktadır.

**Neopterin Antiserum özeltisi**

Antiserum, fosfat tamponu ve koruyucu madde içermektedir. Kullanıma hazır olarak ELISA kitinin içerisinde bulunmaktadır.

**Substrat özeltisi**

3,3',5,5'-Tetrametilbenzidin (TMB), fosfat tamponu ve koruyucu madde içermektedir. Kullanıma hazır olarak ELISA kitinin içerisinde bulunmaktadır.

**Reaksiyonu Durdurma Çözeltisi**

Kullanıma hazır halde ELISA kitinin içerisinde bulunan 1 M sülfürik asit çözeltisidir.

**Yıkama Çözeltisi**

Tween ve koruyucu madde içermektedir. Kullanılmadan önce deiyonize su ile 1:20 oranında seyreltilmiştir. Bunun için 25 ml yıkama çözeltisi deiyonize su ile 500 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

**Neopterin Standart Çözeltileri**

Toplam 6 adet standart çözeltisi kullanıma hazır olarak ELISA kitinin içerisinde bulunmaktadır. Bu çözeltiler 0, 1,35, 4, 12, 37 ve 111 nmol/L konsantrasyonlarında neopterin içermektedir.

**Kontrol Çözeltileri**

Toplam 2 tane kontrol çözeltisi kullanıma hazır olarak ELISA kitinin içerisinde bulunmaktadır. Kontrol çözeltilerinin konsantrasyonları sırasıyla 6,1 ve 25,3 nmol/L olup kitin doğruluğunu değerlendirmek için alt ve üst konsantrasyon limitleri belirlenmiştir (sırasıyla alt limitler 3,2 ve 13,2 nmol/L; üst limitler 7,4 ve 27,4 nmol/L).

### 3.1.3. Kullanılan Araç ve Gereçler

Tez çalışmasında kullanılan araç ve gereçler Tablo 3.2.'de gösterilmektedir.

**Tablo 3.2.** Kullanılan araç ve gereçler.

Cihaz Adı	Firma İsmi ve Modeli
Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi	HP Agilent 1100
Bilgisayar	HP
Floresans dedektörü	Agilent, G1321A
Kolon	ACE, C18 silikajel, 250 x 4,6 mm
Otomatik örnekleyici	Agilent, G 1313A
Ön kolon	Hichrom, C18 silikajel
Pompa	Agilent, G 1311A
UV dedektörü	Agilent, G1314A
Yazıcı	HP laser, 1310
Buzdolabı	Arçelik
Deiyonize distile su cihazı	Baunstead
Derin dondurucu	Arçelik
ELISA plak okuyucu	SpectraMax M2
Hassas terazi	Mettler Toledo, AT201
Manyetik karıştırıcı	Dottingen 7801
Mikrosantrifüj	Hettich, Mikro 22
Mobil faz süzme düzeneği	Neuberger

**Tablo 3.2.** Kullanılan araç ve gereçler (devam).

Cihaz Adı	Firma İsmi ve Modeli
Otomatik pipetler	Eppendorf Research, Biohit
pH metre	Cyberscan pH 500
Santrifüj	Heraeus
Terazi	Denver Instrument
Ultrasonik Banyo	Transsonic 460/H
Vorteks	Janke&Kunkel VF 2
Yatay çalkalayıcı	Edmond Bühler BH 2

### 3.2. Çalışma Grupları

Bu tez çalışması Eskişehir Devlet Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 14/05/2016 tarih ve 22205031-060.99/12 numaralı izni ile Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak yürütülmüştür. Çalışma grubu Eskişehir Devlet Hastanesi Endokrinoloji Polikliniği'ne başvuran hastalardan seçilmiştir. Hekimin onay verdiği, 18 yaş üstü, kadın ve erkek gönüllüler araştırmaya dahil edilmiştir. Katılımcılar araştırma konusunda bilgilendirilmişlerdir ve onam formlarını okuyarak imzalamışlardır. Katılımcılardan toplanan kan ve idrar örnekleri sabah aç karnına alınmıştır.

Organ nakli geçiren alıcılar veya donörler, son dönem böbrek hasarı olan ve hemodiyaliz uygulananlar, akut enfeksiyonu olan hastalar, kanser hastaları ve kemoterapi/radyoterapi tedavisi uygulananlar ile otoimmün hastalığı olanlar çalışma gruplarına dahil edilmemiştir. Tip 1 diyabet grubuna, iç hastalıkları veya endokrin hastalıkları uzman hekimleri tarafından tanı konmuş hastalar dahil edilmiştir. Tez araştırmasına dahil edilen gruplara endokrinoloji uzmanı hekim ile karar verilmiştir.

Grup 1: Hastanenin farklı birimlerinde çalışan ve diyabet dahil kronik bir hastalığı bulunmayan sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubudur (n=30).

Grup 2: Tip 1 diyabet hastalığı olan ve insülin tedavisi alan bireylerden oluşturulmuştur (n=34).

Grup 3: Tip 2 diyabet hastalığı olan ve ilaç kullanan hastalardan oluşturulmuştur (n=34). Bu katılımcılar biguanid grubu antidiyabetik olan metformin kullanan hastalar (n=16) ve metformin ile birlikte dipeptidil peptidaz-4 inhibitörü olan vildagliptin kullanan hastalardan (n=18) oluşmaktadır.

Tez kapsamında değerlendirilen grupların demografik özellikleri Tablo 3.3.'de sunulmuştur.

**Tablo 3.3.** Çalışma gruplarının demografik özellikleri.

Çalışma Grupları (n)	Cinsiyet (n)		Yaş (yıl)
	K	E	Ortalama $\pm$ SS (en düşük-en yüksek)
Kontrol (30)	20	10	37,0 $\pm$ 7,00 (24-51)
Tip 1 (34)	12	22	32,7 $\pm$ 12,59 (18-65)
Tip 2 (34)	18	16	51,4 $\pm$ 9,85 (35-83)
Metformin (16)	10	6	49,7 $\pm$ 7,92 (35-67)
Metformin+Vildagliptin (18)	8	10	52,8 $\pm$ 11,09 (37-83)
Toplam (98)	50	44	40,5 $\pm$ 13,24 (18-83)

E: erkek, K: kadın, n: örnek sayısı, SS: standart sapma.

### **3.3. Örneklerin Toplanması ve Ön İşlemler**

Örnekler sirkadyen ritim değişikliklerini bertaraf etmek amacıyla sabah 08.00-09.30 saatleri arasında ve aç karnına toplanmıştır. Antikoagülan içermeyen laboratuvar tüplerine yaklaşık 10 ml kan örneği alınmıştır. Toplanan kan örnekleri 3500 devir/dakikada 10 dakika santrifüjlenerek serum kısımlarının ayrımı sağlanmıştır. Serum kısımları eppendorf tüplere porsiyonlar halinde ayrılmıştır. İdrar örnekleri ise herhangi bir işlem görmeksizin porsiyonlara ayrılmıştır. Örnekler doğrudan ve soğuk zincir bozulmadan Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Araştırma Laboratuvarı'na getirilene kadar Eskişehir Devlet Hastanesi Eczane Servisinde -20°C derin dondurucuda ışık maruziyetinden korunarak depolanmıştır.

### **3.4. Örneklerinin Hazırlanması**

#### **3.4.1. İdrar Örneklerinin Hazırlanması**

İdrar örnekleri Eskişehir'den Ankara'ya soğuk zinciri kırılmadan, içerisinde buz aküleri olan sıcaklık yalıtımlı kaplarda, buz akülerine doğrudan temas etmeden getirilmiştir. Kapların içerisine konulan sıcaklık indikatörü yoluyla soğuk zincirin kırılmadığı gözlenmiştir. Analiz günü oda sıcaklığına getirilen örnekler 10000 devir/dakikada 5 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant deiyonize su ile 1:10 dilüe edilerek analize hazırlanmıştır.

#### **3.4.2. Serum Örneklerinin Hazırlanması**

Serum örnekleri Eskişehir'den Ankara'ya soğuk zinciri kırılmadan, içerisinde buz aküleri olan sıcaklık yalıtımlı kaplarda, buz akülerine doğrudan temas etmeden getirilmiştir. Kapların içerisine konulan sıcaklık indikatörü yoluyla soğuk zincirin kırılmadığı gözlenmiştir. Analiz günü oda sıcaklığına getirilen örnekler dilüe edilmeden analizde kullanılmıştır.

### 3.5. Yöntemler

#### 3.5.1. İdrarda Neopterin, Biyopterin ve Kreatinin Düzeylerinin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK) Tekniği ile Belirlenmesi

İdrar örneklerindeki neopterin, biyopterin ve kreatinin konsantrasyonları eşzamanlı olarak ölçülmüştür. İdrar örnekleri 10000 devir/dakika 5 dk. santrifüjlendikten sonra süpernatandan 100 µl alınıp üzere 900 µl deiyonize su eklenmiştir. Karışım vorteksledikten sonra YBSK'ye enjeksiyon yapılmak üzere enjeksiyon hacmi 25 µl ve akış hızı dakikada 1 ml olarak ayarlanmıştır.

%2,5 (h/h) metanol içeren 15 mM pH 7 potasyum dihidrojen fosfat tamponu hareketli faz olarak kullanılarak dakikada 1 ml akış hızı olacak şekilde çalışılmıştır. Neopterin ve biyopterin düzeyleri floresans dedektör kullanılarak 353 nm eksitasyon 438 nm emisyon dalga boyunda, kreatinin düzeyleri eş zamanlı olarak 235 nm'de ultraviyole dedektör ile ölçülmüştür.

#### Neopterin, Biyopterin ve Kreatinin Standart Kalibrasyon Doğrularının Hazırlanması

Neopterin ve biyopterin konsantrasyonları 3,3; 6,6; 10; 33; 66; 100; 333,3; 666,6 ve 1000'er ng/ml; kreatinin konsantrasyonları 3,3; 6,6; 10; 33; 66; 100; 333,3; 666,6 ve 1000'er µg/ml olan standart çözeltiler kullanılarak bunlara karşılık gelen pik yükseklikleri saptanmıştır. Pik yüksekliklerine göre hazırlanan kalibrasyon doğruları kullanılarak serum örneklerindeki neopterin, biyopterin ve kreatinin konsantrasyonları hesaplanmış ve molariteye çevirilmiştir. Neopterin ve biyopterin düzeyleri bireylerarası ve gün içi farklılıkları engellemek amacıyla kreatinine oranlanarak hesaplanmış ve µmol/mol kreatinin olarak ifade edilmiştir.

#### 3.5.2. Serumda Neopterin Düzeylerinin Belirlenmesi

Bu çalışmada serum neopterin konsantrasyonlarını belirlemek için ticari enzim bağlı immünosorbent analizi (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) kiti kullanılmış ve üretici talimatları uygulanmıştır. ELISA plağı kuyucuklarına 20 µl

standart çözeltiler, örnekler ve kontrol çözeltileri ilave edilmiştir. Üzerlerine 100 µl enzim konjugatı ve 50 µl neopterin antiserum çözeltisi eklenmiştir. Plağın üzeri alüminyum folyo ile kapatılarak ışık maruziyeti engellenerek 90 dk. boyunca yatay çalkalayıcıda 500 devir/dakika hızda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi bitince kuyucuklardaki içerik uzaklaştırılmış ve 300 µl yıkama çözeltisi ile 4 defa yıkanarak bağlanamayan antijenlerin uzaklaştırılması sağlanmıştır. 150 µl substrat çözeltisi eklenerek ve oda sıcaklığında tekrar yatay çalkalayıcıda 500 devir/dakika hız ile 10 dk. inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi bittikten sonra, her bir kuyucuğa 150 µl reaksiyon durdurma çözeltisi eklenmiş ve 450 nm'de optik dansite ölçümü yapılmıştır.

### **Sonuçların Hesaplanması**

SoftMax Pro 4.8 isimli ELISA programı kullanılarak neopterin standart çözeltilerinin konsantrasyonlarına karşılık gelen optik dansite değerleri bulunmuş ve kalibrasyon doğrusu çizilmiştir. Bu kalibrasyon doğrusunun denklemine göre serum örneklerindeki neopterin konsantrasyonları hesaplanmış ve her bir neopterin sonucu nmol/l olarak ifade edilmiştir.

### **3.5.3. Serumda Triptofan ve Kinürenin Düzeylerinin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK) Tekniği ile Belirlenmesi**

Serum örneklerindeki triptofan ve kinürenin konsantrasyonları eşzamanlı olarak ölçülmüştür. 100 µl örnek üzerine, 100 µl asetonitril içeren 15 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pH 6,4 tamponu ilavesinden sonra örnekteki proteinlerin çökmesi için 25 µl perklorik asit eklenmiştir. Karışım vorteksenerek 12000 devir/dakika hızda 10 dk. santrifüjlenmiştir. Süpernatandan 150 µl alınarak YBSK'ye enjeksiyon yapılmak üzere enjeksiyon hacmi 25 µl ve akış hızı dakikada 0,8 ml olarak ayarlanmıştır.

Triptofan düzeyleri floresans dedektör kullanılarak eksitasyon için 285 nm, emisyon 365 nm dalga boyunda, kinürenin düzeyleri ise ultraviyole dedektör kullanılarak 360 nm dalga boyunda eş zamanlı ölçülmüştür.

### **Triptofan ve Kinürenin Standart Kalibrasyon Doğrularının Hazırlanması**

Triptofan konsantrasyonları 10, 20, 50 ve 100  $\mu\text{mol/L}$ ; kinürenin konsantrasyonları 2, 4, 10 ve 20  $\mu\text{mol/L}$  olan standart çözeltiler kullanılarak bunlara karşılık gelen pik yükseklikleri saptanmıştır. Pik yüksekliklerine göre hazırlanan kalibrasyon doğruları kullanılarak serum örneklerindeki triptofan ve kinürenin konsantrasyonları hesaplanmıştır. Bu kalibrasyon doğrularının denklemine göre serum örneklerindeki bilinmeyen kinürenin ve triptofan konsantrasyonları hesaplanmıştır. IDO enzim aktivitesinin göstergesi olarak Kyn/Trp oranı alınmış ve  $\mu\text{mol/mmol}$  olarak ifade edilmiştir.

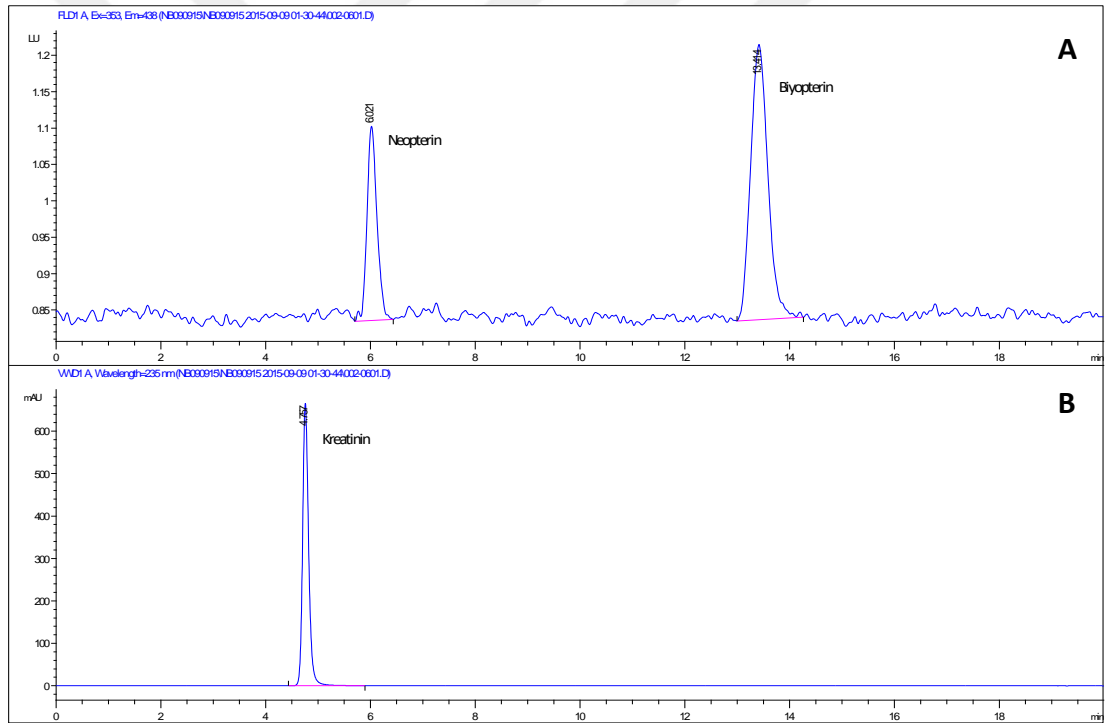
#### **3.5.4. İstatiksel Değerlendirme**

Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 11.5 istatistik programı kullanılarak verilerin istatiksel değerlendirilmesi yapılmıştır. Ölçülen değişkenlerin gruplararası karşılaştırılmalarında, değişkenlerin birbiriyle olan ilişkisi ve ölçülen parametrelere katılımcıların demografik özelliklerinin etkisi değerlendirilmiştir. Parametrelerin normal dağılım gösterip göstermediği belirlenerek gruplar arasındaki ortalamaları karşılaştırılmış ve parametreler arasındaki ilişkiler uygun testler yapılarak incelenmiştir. Elde edilen verilere ait tanımlayıcı istatistikler ve bağımlı değişkenler arasındaki ilişkilerin değerlendirilmesinde Spearman korelasyon analizi ve basit regresyon analizi uygulanmıştır. Gruplar arası farkların değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis analizi, bağımsız alt grupların değerlendirilmesinde ise Mann-Whitney *U* testi kullanılmıştır. Sonuçlar aritmetik ortalama, standart sapma ve standart hata olarak sunulmuştur. Yanılma düzeyi 0,05 olarak seçilmiştir.

## 4. BULGULAR

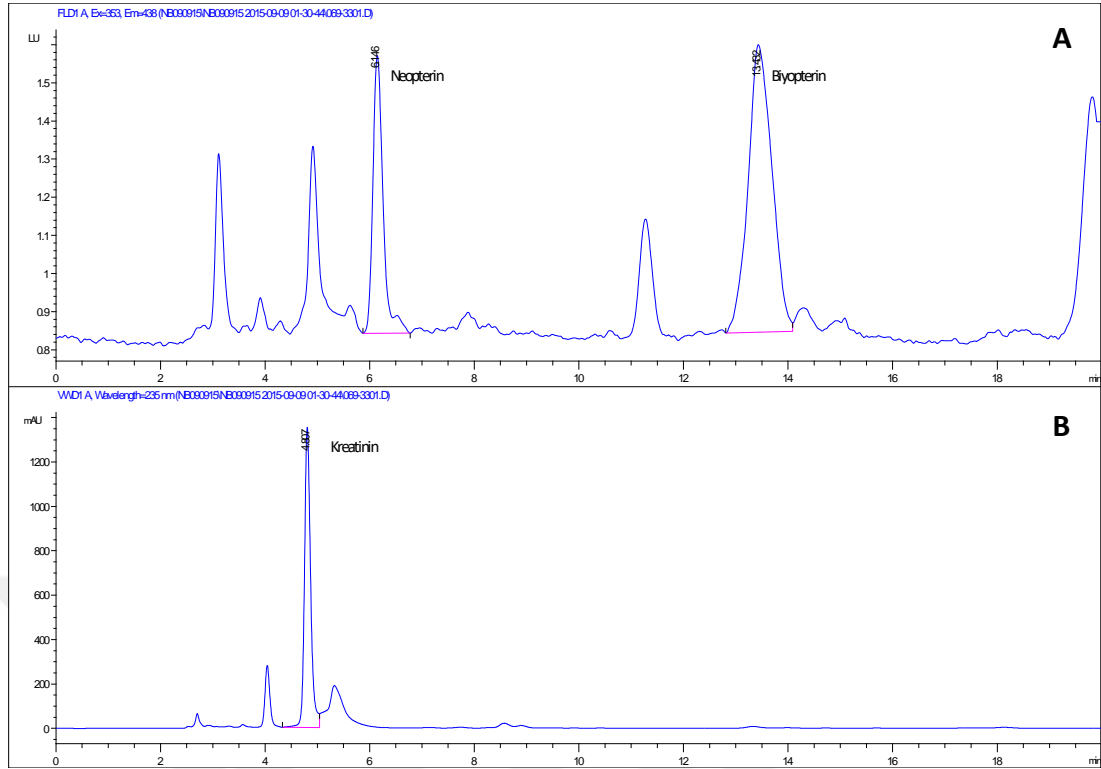
### 4.1. Neopterin Düzeyleri

İdrar neopterin, biyopterin ve kreatinin düzeylerinin belirlenmesi için, idrar örneklerinin kromatogramlarından elde edilen pik yükseklikleri, neopterin, biyopterin ve kreatinin standartlarından elde edilen kalibrasyon doğru denklemlerine uygulandı ve her bir örnekteki neopterin, biyopterin ve kreatinin düzeyi tespit edildi. Şekil 4.1. ve 4.2.'de sırasıyla neopterin, biyopterin ve kreatinin standartlarına ait örnek bir kromatogram ile rastgele seçilen bir idrar örneğine ait kromatogram gösterilmiştir.



**Şekil 4.1.** Neopterin, biyopterin ve kreatinin standartlarına ait kromatogramlar.

(A) Floresans dedektör (B) UV dedektör



**Şekil 4.2.** İdrar örneğine ait kromatogramlar.

(A) Floresans dedektör (B) UV dedektör

Katılımcılar kontrol grubu, diyabet hastaları ve kullandıkları ilaçlara göre alt diyabet gruplarına ayırılarak neopterin ve biyopterin düzeyleri istatistiksel olarak karşılaştırıldı (Tablo 4.1.). İdrar ve serum neopterin sonuçları ile biyopterin düzeyleri alt gruplara göre de değerlendirildi; bu karşılaştırmalar sırasıyla Şekil 4.3. - 4.5.'te sunulmuştur. Hasta gruplarının hem idrar hem serum neopterin düzeylerinin kontrol grubundan yüksek, fakat istatistiksel olarak farklı olmadığı bulundu (Tümü,  $p>0,05$ ). Kontrol ve hasta gruplarındaki idrar biyopterin düzeyleri istatistiksel olarak farklı bulunmadı (Tümü,  $p>0,05$ ).

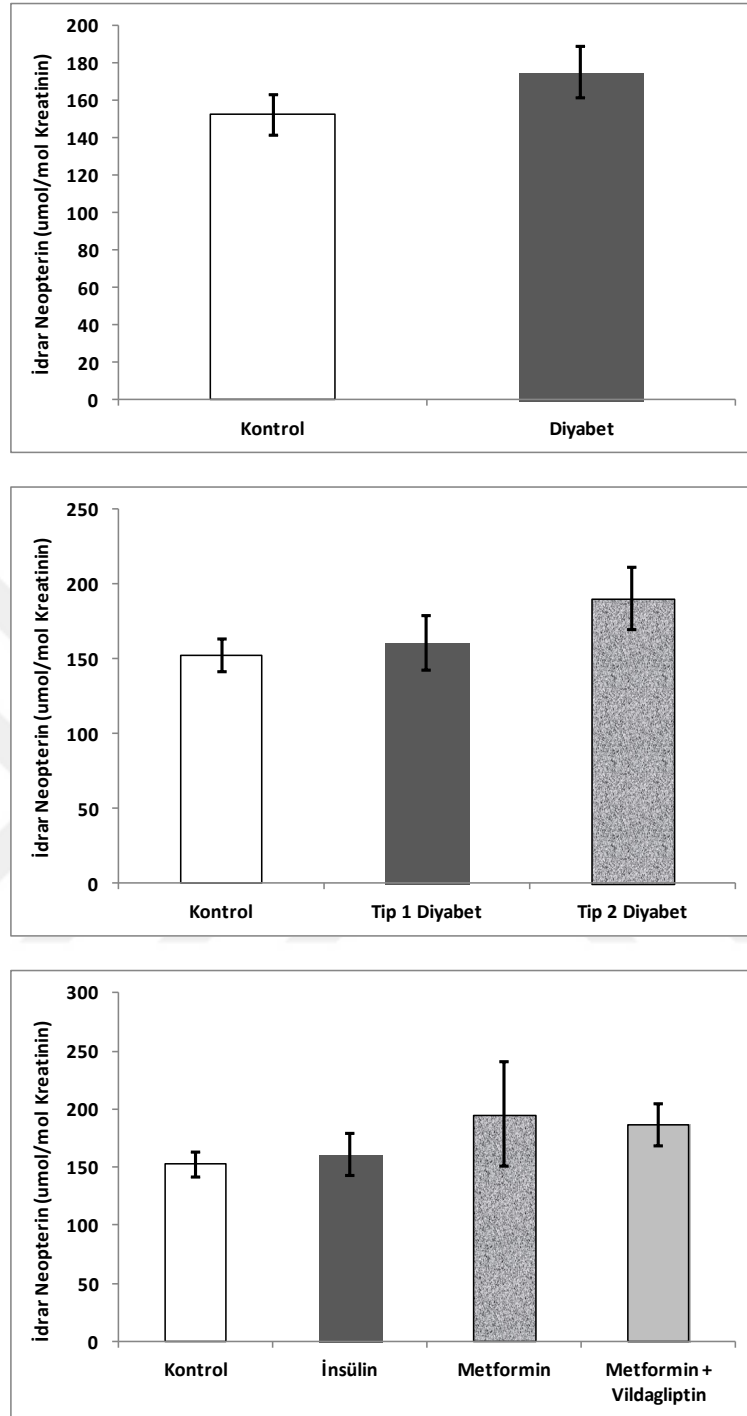
Tip 2 diyabet hastalarında ölçülen idrar neopterin ve biyopterin düzeyleri Tip 1 diyabet hastalarından yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak farklı bulunmadı ( $p>0,05$ ). Bunun yanı sıra, serum neopterin düzeyleri Tip 1 diyabet hastalarından istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ( $p<0,05$ ).

Metformin ve Vildagliptin ilaçlarını birlikte kullanan Tip 2 diyabet hastalarının idrar biyopterin düzeyleri Tip 1 diyabet hastalarından istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ( $p < 0,05$ ).

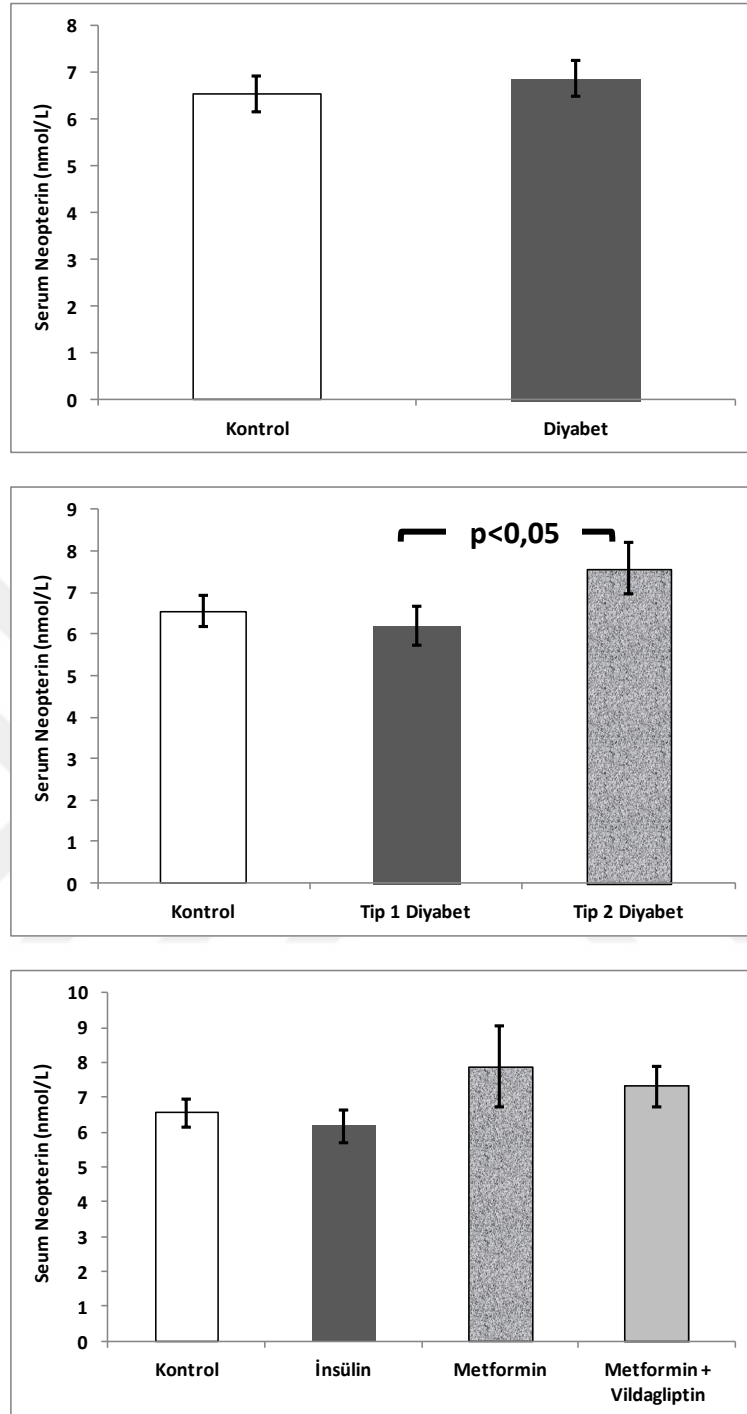
**Tablo 4.1.** Çalışma gruplarının idrar ve serum neopterin düzeyleri.

Grup	n	Ortalama $\pm$ SH		
		İdrar ( $\mu\text{mol/mol}$ Kreatinin)		Serum Neopterin (nmol/L)
		Neopterin	Biyopterin	
<b>Kontrol</b>	30	152,48 $\pm$ 10,81	94,91 $\pm$ 9,88	6,55 $\pm$ 0,39
<b>Diyabet</b>	68	175,04 $\pm$ 13,85	94,93 $\pm$ 9,68	6,87 $\pm$ 0,39
<b>Tip 1 (İnsülin)</b>	34	160,52 $\pm$ 18,29	78,86 $\pm$ 8,40	6,18 $\pm$ 0,47
<b>Tip 2</b>	34	190,55 $\pm$ 20,90	113,17 $\pm$ 17,46	7,58 $\pm$ 0,61*
<b>Metformin</b>	16	195,65 $\pm$ 44,77	97,96 $\pm$ 34,73	7,88 $\pm$ 1,16
<b>Metformin + Vildagliptin</b>	18	186,95 $\pm$ 18,13	123,91 $\pm$ 17,54*	7,32 $\pm$ 0,58

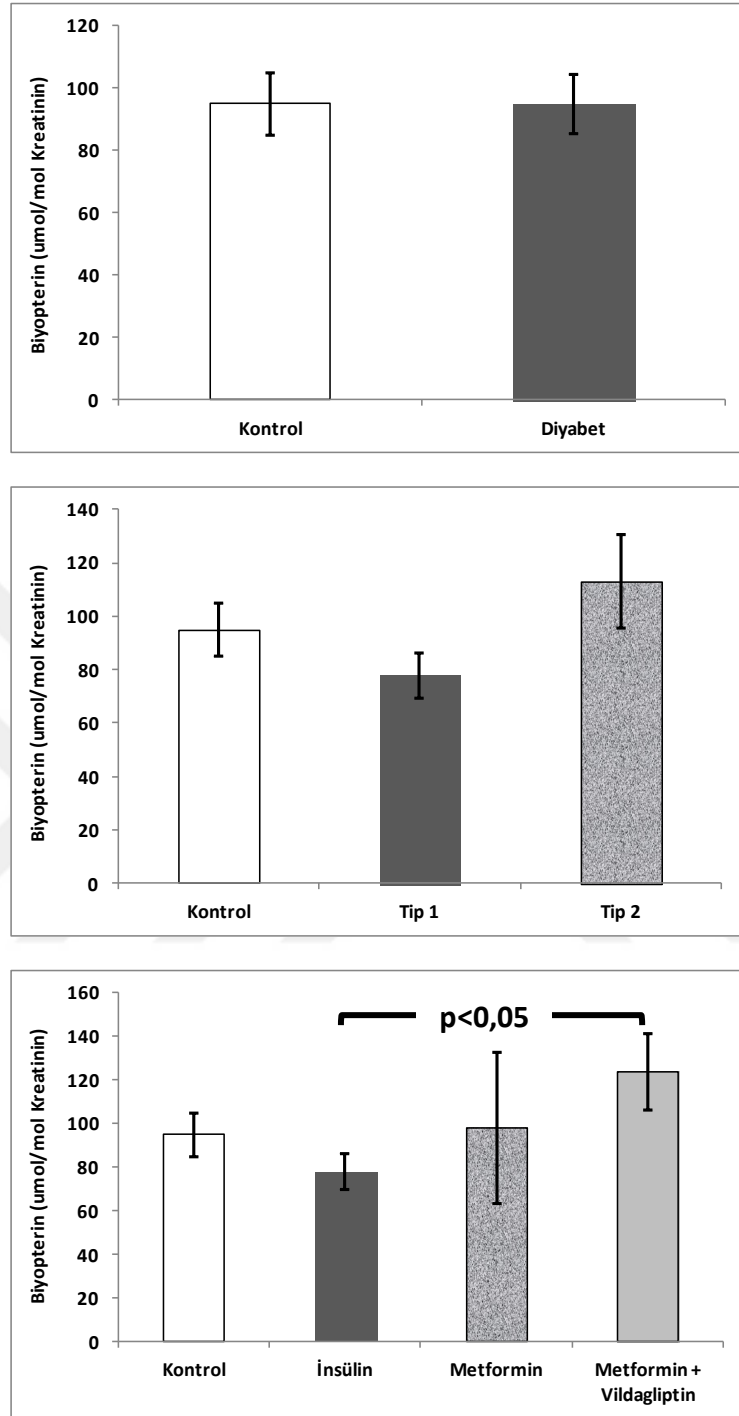
\*Tip 1 diyabet grubundan farklıdır,  $p < 0,05$ .



**Şekil 4.3.** Çalışma gruplarının idrar neopterin düzeylerinin karşılaştırılması.



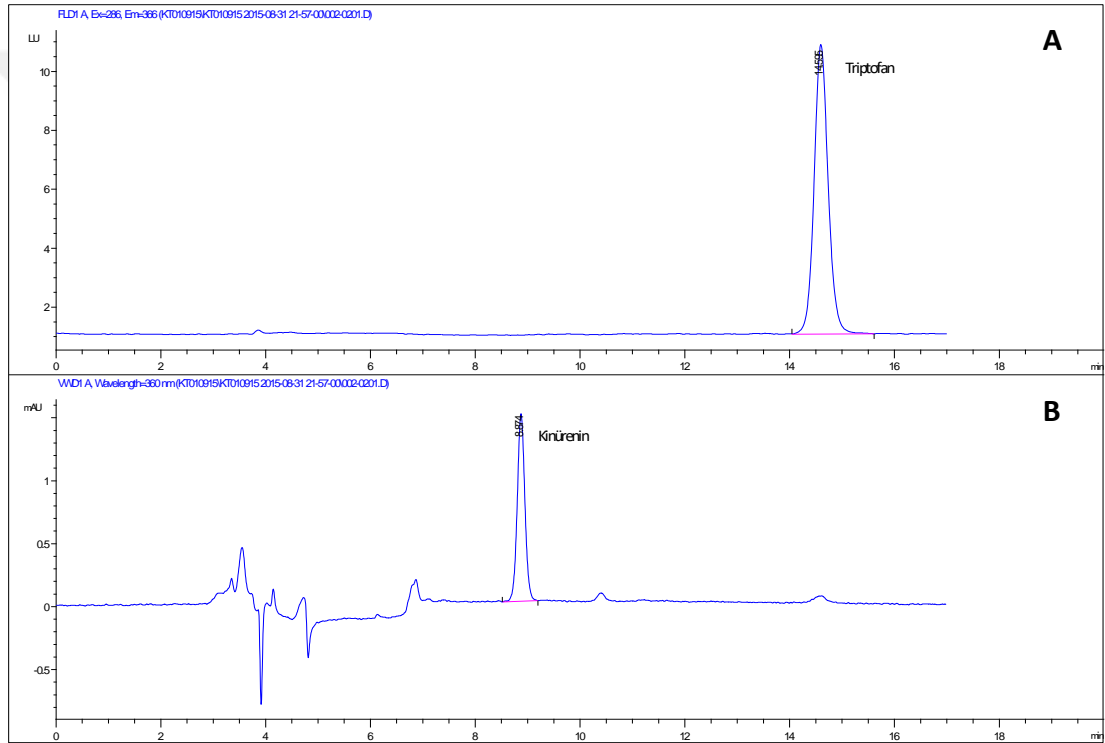
Şekil 4.4. Çalışma gruplarının serum neopterin düzeylerinin karşılaştırılması.



Şekil 4.5. Çalışma gruplarının idrar biyopterin düzeylerinin karşılaştırılması.

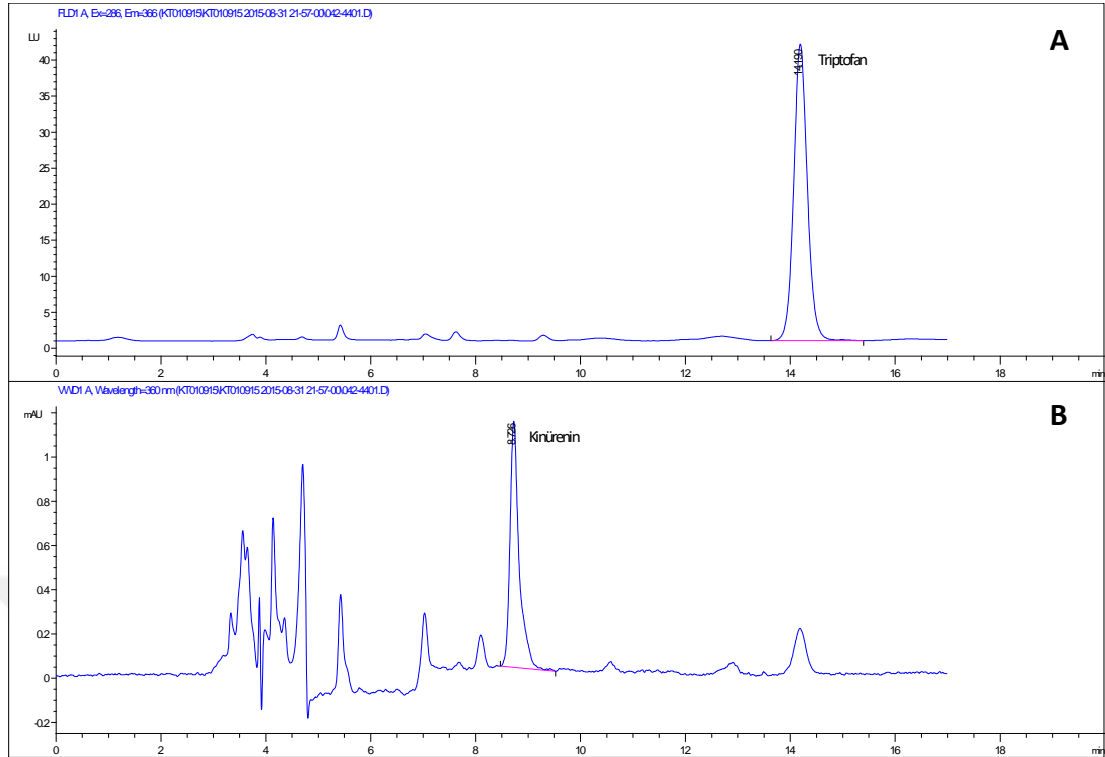
## 4.2. Kinürenin Yolağı Değişkenleri

Kinürenin yolağının hız kısıtlayıcı aşamasının substrat ve ürün düzeylerinin saptanması için, YBSK analizi yapılan serum örneklerinin kromatogramlarından elde edilen pik yükseklikleri, kinürenin ve triptofan standartlarından elde edilen kalibrasyon doğru denklemlerine uygulanarak, örneklerdeki triptofan ve kinürenin düzeyleri belirlendi. Şekil 4.6. ve 4.7.'de sırasıyla triptofan ve kinürenin standartlarına ait örnek bir kromatogram ile rastgele seçilen bir serum örneğine ait kromatogram gösterilmiştir.



**Şekil 4.6.** Triptofan ve kinürenin standartlarına ait kromatogramlar.

(A) Floresans dedektör (B) UV dedektör



**Şekil 4.7.** Serum örneğine ait kromatogramlar.

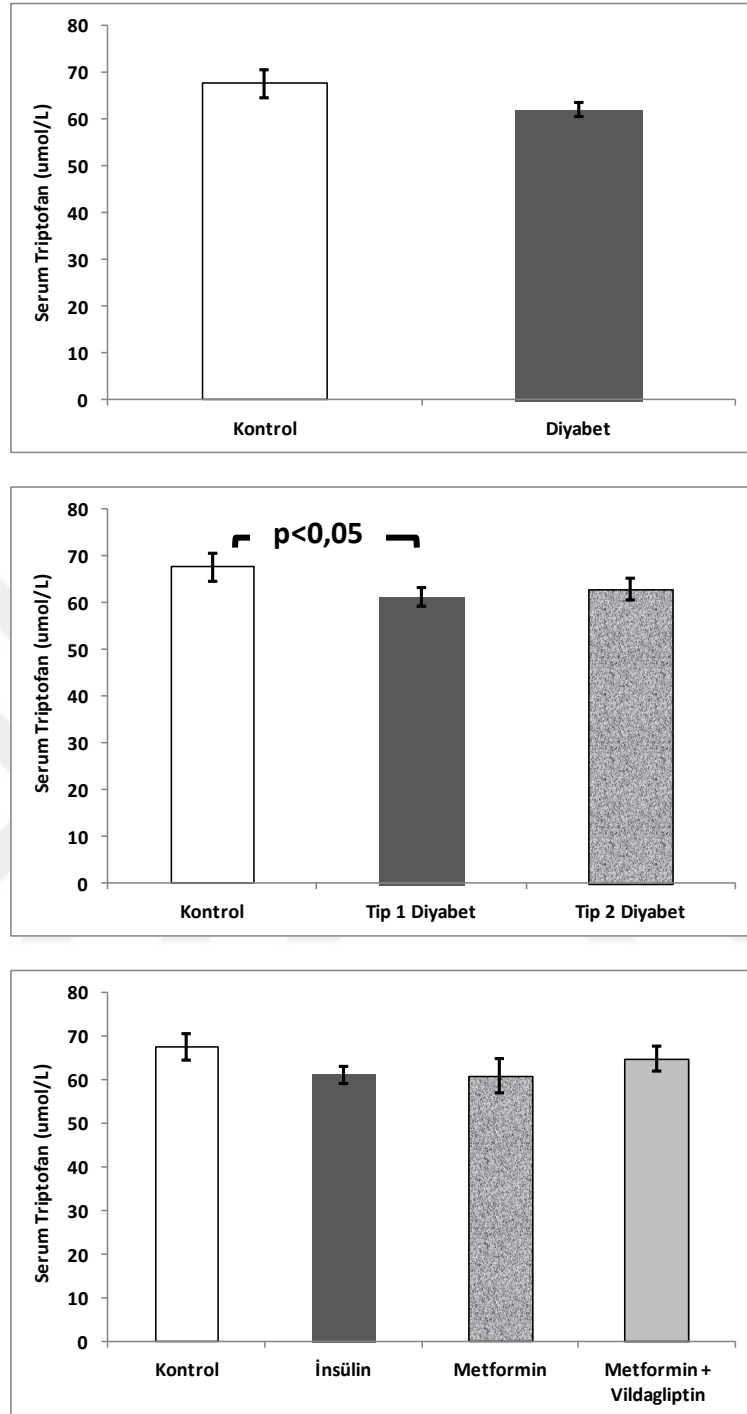
(A) Floresans dedektör (B) UV dedektör

Tablo 4.2.'de gösterildiği üzere, kontrol grubu ve diyabet grupları Trp, Trp yıkım ürünü Kyn ve Kyn/Trp oranları istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Kontrol grubuna göre insülin kullanan Tip 1 diyabet hastalarında Trp ve Kyn düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı farklı bulundu (sırasıyla,  $p=0,05$  ve  $p<0,05$ ). Ancak, diğer çalışma grupları arasında kinürenin yolağı değişkenlerinin istatistiksel olarak birbirlerinden farklı olmadığı saptandı ( $p>0,05$ ). Tip 2 diyabet hastalarında ölçülen Trp, Kyn ve Kyn/Trp oranı Tip 1 diyabet hastalarından yüksek bulunmasına rağmen istatistiksel olarak farklı bulunmadı ( $p>0,05$ ). Şekil 4.8.-4.10.'da grupların Kyn yolağı aracılıklı Trp metabolizmasını ifade eden değişkenleri sunulmuştur.

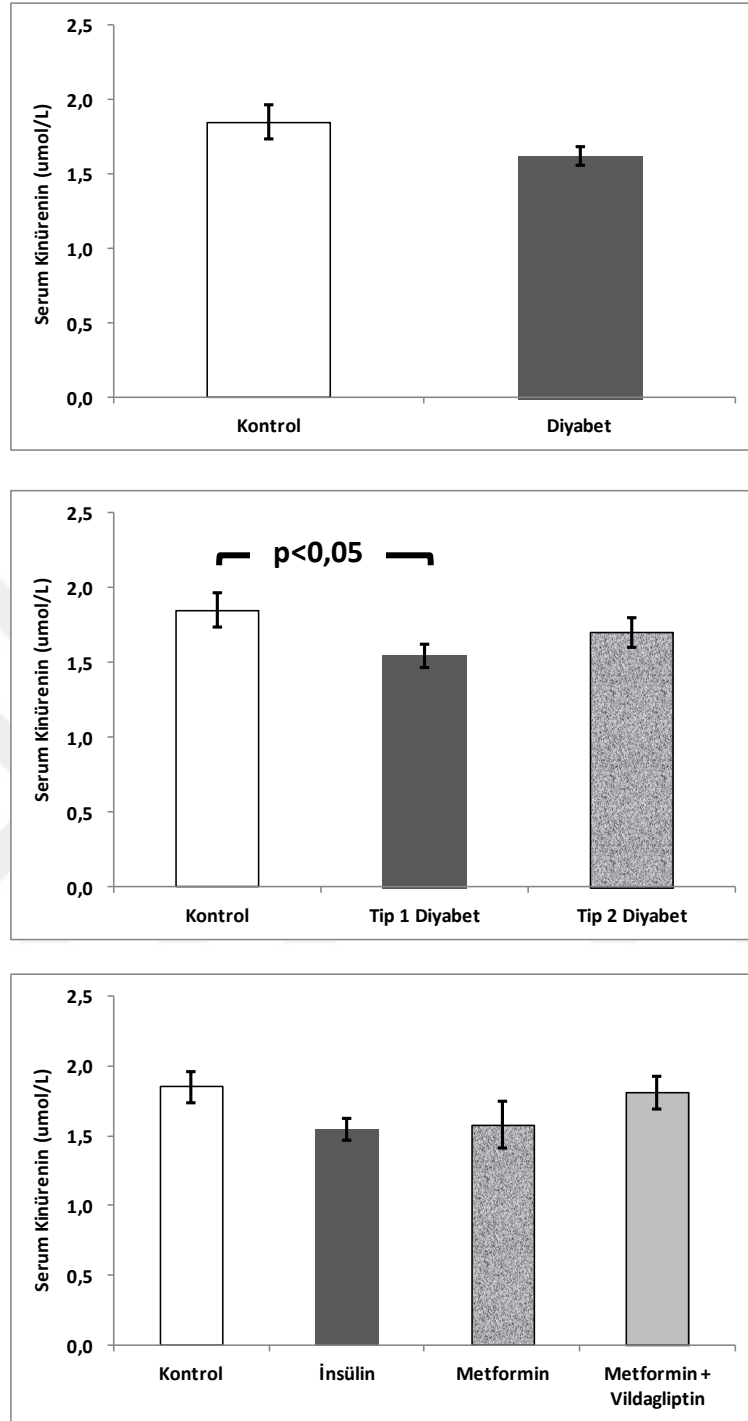
**Tablo 4.2.** Çalışma gruplarının kinürenin yolağı verileri.

		Kinürenin Yolağı Değişkenleri		
		(Ortalama $\pm$ SH)		
Grup	n	Trp ( $\mu\text{mol/L}$ )	Kyn ( $\mu\text{mol/L}$ )	Kyn/Trp ( $\mu\text{mol/mmol}$ )
<b>Kontrol</b>	30	67,62 $\pm$ 2,99	1,85 $\pm$ 0,12	27,17 $\pm$ 1,18
<b>Diyabet</b>	68	62,07 $\pm$ 1,53	1,63 $\pm$ 0,06	26,43 $\pm$ 0,96
<b>Tip 1 (İnsülin)</b>	34	61,19 $\pm$ 1,98*	1,55 $\pm$ 0,08 <sup>†</sup>	25,87 $\pm$ 1,47
<b>Tip 2</b>		62,97 $\pm$ 2,36	1,70 $\pm$ 0,10	26,99 $\pm$ 1,23
<b>Metformin</b>	16	60,90 $\pm$ 3,89	1,58 $\pm$ 0,16	25,55 $\pm$ 1,74
<b>Metformin + Vildagliptin</b>	18	64,81 $\pm$ 2,84	1,81 $\pm$ 0,12	28,27 $\pm$ 1,74

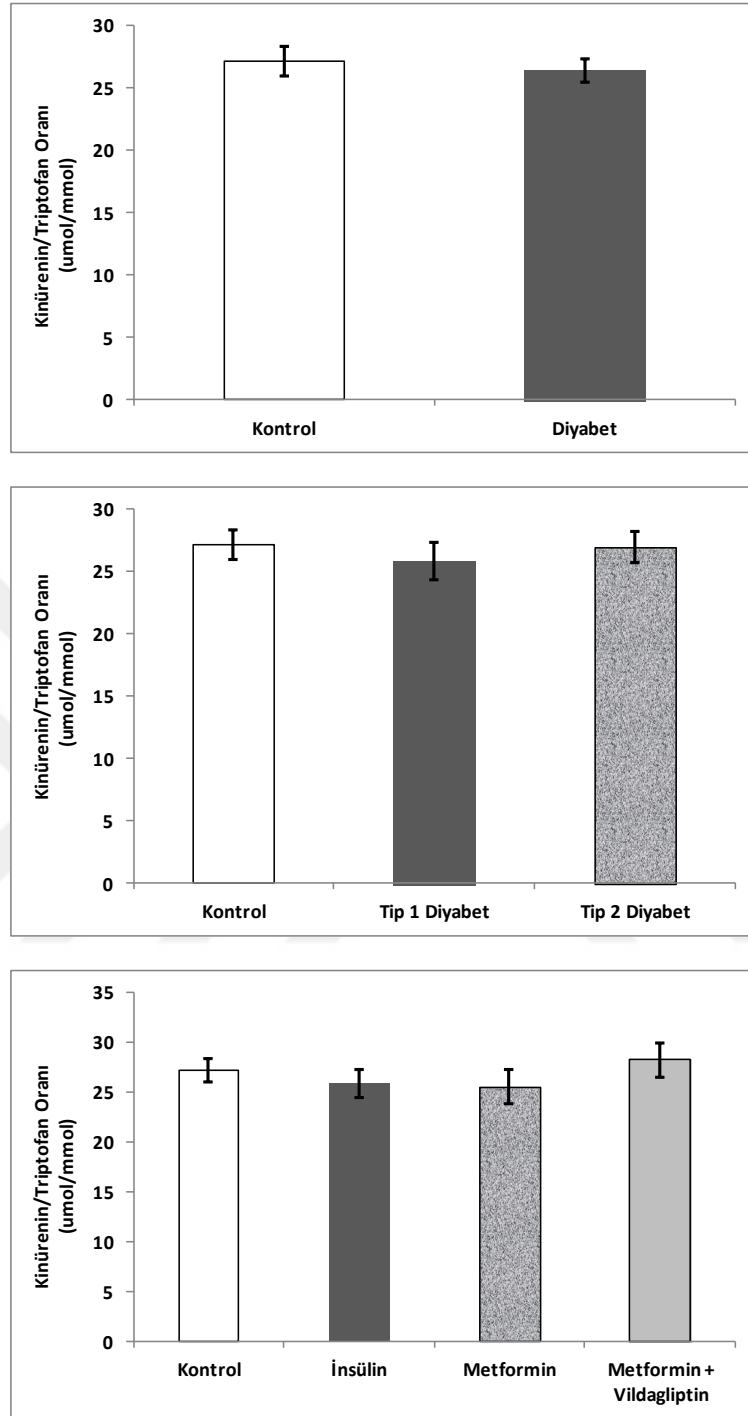
\*Kontrol grubundan farklıdır, p=0,05; <sup>†</sup>Kontrol grubundan farklıdır, p<0,05.



**Şekil 4.8.** Çalışma gruplarının serum triptofan düzeylerinin karşılaştırılması.



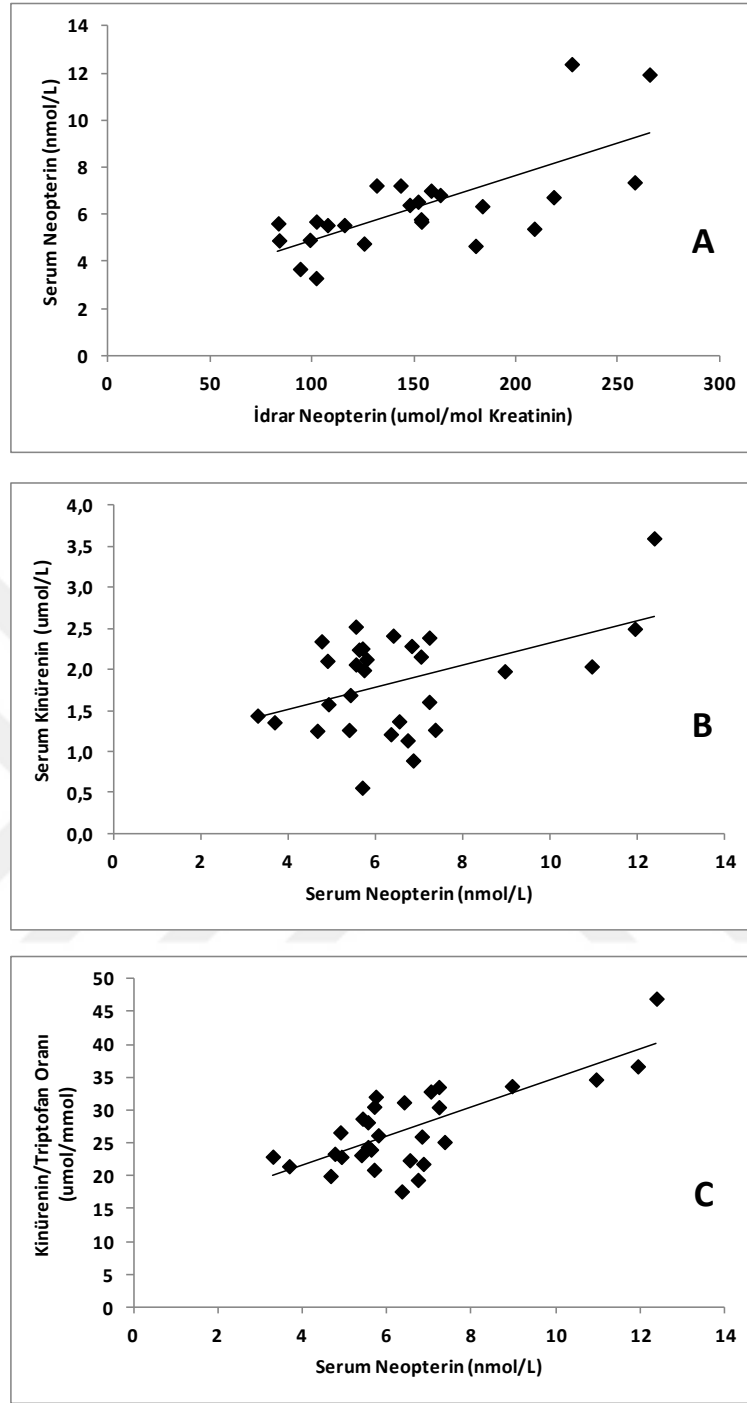
Şekil 4.9. Çalışma gruplarının serum kinürenin düzeylerinin karşılaştırılması.



Şekil 4.10. Çalışma gruplarının kinürenin/triptofan oranlarının karşılaştırılması.

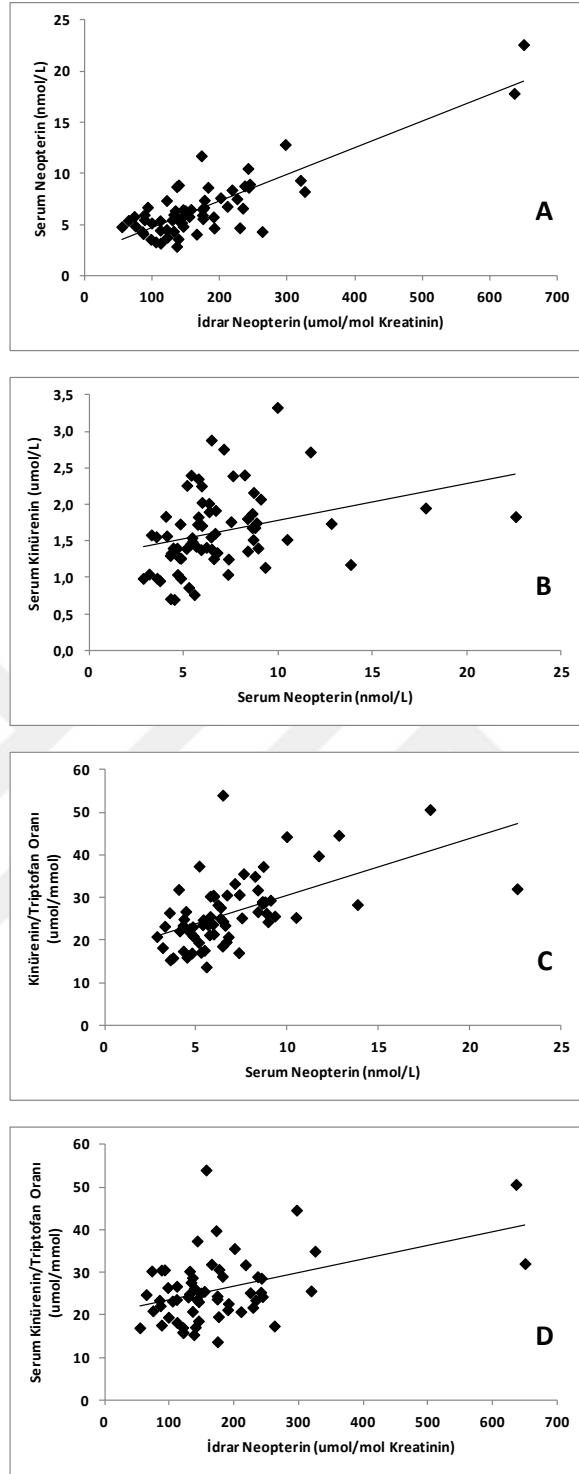
Kontrol grubu ( $37,0 \pm 1,3$  yıl) ile diyabet hastalarının ( $41,6 \pm 1,8$  yıl) yaş ortalamaları karşılaştırıldı ve istatistiksel bir fark bulunmadı ( $p>0,05$ ). Yaşın ölçülen değişkenler üzerine bir etkisinin olup olmadığı da değerlendirildi; çalışma gruplarının yaşları ile ölçülen değişkenler arasında herhangi anlamlı bir ilişki saptanmadı (Tümü,  $p>0,05$ ). Yaşın ölçülen değişkenlere etki etmemesinin belirlenmesinin ardından, diyabet hastaları içinde herhangi bir yaş alt gruplaması yapılmadı.

Tez kapsamında ölçülen değişkenlerin birbiri ile ilişkileri incelendiğinde, kontrol ve hasta gruplarının her ikisinde de idrar neopterin-serum neopterin, serum neopterin-kinürenin ve serum neopterin-kinürenin/triptofan oranı arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu (Tümü  $p<0,05$ ). Diyabet hastalarında bu değişkenlerin yanı sıra idrar neopterin-serum kinürenin/triptofan oranı arasında da istatistiksel bir ilişki saptandı ( $p<0,05$ ). Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı olan korelasyonlar Şekil.4.11. ve 4.12.'de gösterilmiştir.



**Şekil 4.11.** Kontrol grubunda ölçülen parametreler arasındaki ilişkiler.

A, İdrar neopterin-Serum neopterin ( $p=0,00$  ve  $R=0,695$ ); B, Serum neopterin-Kinürenin ( $p<0,05$  ve  $R=0,466$ ); C, Serum neopterin-Kinürenin/Triptofan oranı ( $p=0,00$  ve  $R=0,747$ ).



**Şekil 4.12.** Diyabet hastalarında (n=64) ölçülen parametreler arasındaki ilişkiler.

A, İdrar-Serum neopterin ( $p<0,01$  ve  $R=0,845$ ); B, Serum neopterin-Serum Kinürenin ( $p<0,05$  ve  $R=0,306$ ); C, Serum neopterin-Serum Kinürenin/Triptofan oranı ( $p=0,00$  ve  $R=0,545$ ); D, İdrar neopterin-Serum Kinürenin/Triptofan oranı ( $p<0,01$  ve  $R=0,434$ ).

Çalışmada hastaların kan glukoz düzeyleri ve HbA<sub>1</sub>C düzeyleri incelenmiştir. Hastalara ait kan glukoz düzeyleri Tablo 4.3.'te gösterilmiştir. Hastaların kan glukoz ile HbA<sub>1</sub>C düzeyleri arasında korelasyon gözlenmiştir ( $p<0,01$  ve  $R=0,684$ ). Diyabet hastalarında, HbA<sub>1</sub>C düzeyleri ve yaş arasında korelasyon bulunmuştur ( $p<0,05$  ve  $R=-0,336$ ). Diyabet hastaları arasında kan glukoz ve HbA<sub>1</sub>C düzeyleri arasında da korelasyon bulunmuştur ( $p<0,01$  ve  $R=0,650$ ). Tip 1 diyabet hastalarında kan glukoz ve HbA<sub>1</sub>C düzeyleri arasında korelasyon bulunmuştur ( $p<0,01$  ve  $R=0,533$ ). Tip 2 diyabet hastalarında HbA<sub>1</sub>C düzeyleri ile idrar biyopterin düzeyleri arasında korelasyon bulunmuştur ( $p<0,05$  ve  $R=0,543$ ). Tip 2 diyabet hastalarında HbA<sub>1</sub>C ve kan glukoz düzeyleri arasında korelasyon bulunmuştur ( $p<0,01$  ve  $R=0,562$ ). Metformin kullanan Tip 2 diyabet hastalarında, Kyn/Trp oranı ve HbA<sub>1</sub>C düzeyi arasında korelasyon bulunmuştur ( $p<0,01$  ve  $R=-0,838$ ). Metformin ve vildagliptin kullanan Tip 2 diyabet hastalarında ise HbA<sub>1</sub>C düzeyleri ile herhangi bir parametre arasında korelasyon bulunmamıştır. Çalışmada diyabet harici sahip olunan hastalıklar veya ailede bulunan hastalıkların parametreleri etkilemediği sonucuna ulaşılmıştır.

**Tablo 4.3.** Çalışma gruplarının kan glukoz değer verileri.

Grup	n	Kan Glukoz (mg/dl)
		(Ortalama $\pm$ SH)
Kontrol	30	91,6 $\pm$ 1,42
Diyabet	68	178,3 $\pm$ 12,03
Tip 1 (İnsülin)	34	223,4 $\pm$ 20,12
Tip 2		131,88 $\pm$ 6,85
Metformin	16	121,19 $\pm$ 11,5
Metformin + Vildagliptin	18	141,39 $\pm$ 7,55

## 5. TARTIŞMA

Neopterin, immün uyarı aracılığıyla monosit ve makrofajlarda GTP'den sentezlenen konjuge olmayan bir pteridin bileşiğidir. Kansere, enfeksiyona, otoimmün hastalıklara ve organ transplantasyonu gibi organizmanın immün sisteminde aktivasyonun gözlemlendiği birçok durumda neopterin düzeyleri artmaktadır (7, 129, 130). Biyopterin ise guanozin trifosfat ile başlayan yolda tetrahidrobiyopterinden sentezlenen diğer bir pteridin bileşiğidir. Neopterin benzer olarak, birçok patolojide immün uyarıya bağlı olarak biyopterin düzeylerinin de arttığı bilinmektedir (131-133). Diyabet, insülin eksikliği veya insülin yetersizliğine bağlı olarak ortaya çıkan, hiperglisemi ile belirgin bir endokrin bozukluktur. Tip 1 diyabet patolojisinde, pankreas  $\beta$ -hücrelerinde meydana gelen otoimmün hasara bağlı olarak insülin salgılanamamaktadır (104, 105). Tip 2 diyabette ise genetik ve çevresel faktörlere bağlı olarak pankreas  $\beta$ -hücre fonksiyonlarında bozulma ve/veya insülin direnci oluşmaktadır (1, 82). İnsülin bağımlı kronik otoimmün bir hastalık olarak kabul edilen Tip 1 diyabet tanısını yeni alan hastaların sağlıklı kişilere göre daha yüksek neopterin konsantrasyonuna sahip olduğu ve Tip 2 diyabetlilerde kontrol grubuna benzer şekilde neopterin düzeyleri bulunduğu bilinmektedir (134). Diyabet hastalarının sayısının her geçen gün artması, neopterin ve kinürenin yolağı bileşenleri gibi erken tanı için güncel biyomarkörlerin önemini arttırmaktadır. Diyabette pteridinler ile triptofan metabolizmasındaki olası değişikliklerin araştırılmasının amaçlandığı bu tez çalışmasında, Tip 1 ve Tip 2 diyabette immünolojik ve inflamatuvar biyomarkör olarak günümüzde kabul edilen neopterin ve ilgili yollardaki değişkenler olan biyopterin, triptofan ve kinürenin düzeyleri değerlendirilmiştir.

Serum, idrar ve beyin omurilik sıvısı (BOS) gibi biyolojik sıvılarda neopterin düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan ELISA kitleri, kullanıma hazır ve standardizasyonu ilgili firma tarafından sağlanmış ticari ürünlerdir. Bu tez çalışması kapsamında ELISA neopterin kitleri kullanılarak serum örneklerinde neopterin düzeyleri belirlenmiştir. Serumda triptofan ve kinürenin düzeylerinin ölçülmesi için

kesin, tekrarlanabilir ve duyarlı olduğu diğer araştırmalarımızda belirlenen YBSK yöntemi kullanılmış ve kyn/trp oranı ile IDO aktivitesi değerlendirilmiştir.

Bu çalışmada cinsiyetin ölçülen parametrelere etkisi araştırılmış ve kontrol grubunda ve hasta grubunda cinsiyetin etkisinin olmadığı saptanmıştır. Daha önce erişkinlerde yapılan çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur (135, 136).

Diyabet ile yaş arasındaki ilişki incelendiğinde yaşın diyabet tiplerine göre etkisinin farklı olduğu bildirilmektedir; Tip 1 diyabet, çoğunlukla 25 yaş öncesi daha sık gözlenirken (107), Tip 2 diyabette, yaş arttıķça hastalık insidansı artmaktadır (1, 54). Yapılan tez çalışmasında hem kontrol grubunun hem de Tip 1 ve Tip 2 diyabet hasta gruplarının neopterin, biyopterin ve kinürenin yolağı bileşenlerinin yaş ile değişkenlik göstermediği saptanmıştır. ( $p>0,05$ ). Benzer sonuçlar Dominguez-Rodriguez ve ark. tarafından da bildirilmiştir (137).

Diyabette neopterin ve kinürenin yolağının değerlendirildiği az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalardan bir tanesi Grossman ve ark.'nin (138) yürüttüğü araştırmadır ve diyabet hastalığında neopterin düzeylerinin yüksek olduğu rapor edilmiştir. Benzer şekilde gestasyonel diyabetli hastalarda, sağlıklı gebe kadınlara göre daha yüksek serum neopterin düzeyleri olduğu rapor edilmiştir (19, 20). Diyabetik nefropati hastalarında ve son dönem böbrek yetmezliği olanlarda hem serum neopterin hem de idrar neopterin düzeylerinin sağlıklı kontrole kıyasla yüksek olduğu bildirilmiştir (139, 140). Hemodiyaliz hastalarında neopterin düzeylerinin sağlıklı kontrole oranla daha yüksek bulunmasının diyabet ve tansiyon hastalarında neopterin ölçümünün nefropati gelişim riskinin erken tanısında kullanılabileceği ifade edilmiştir. Oxenkurg (141, 142), diyabette kinürenin yolağını değerlendirdiği araştırmasında, diyabet hastalarının kinürenin düzeylerinin yüksek olduğunu bildirmiş, triptofan düzeyleri ile korelasyon içinde olduğunu belirtmiştir. Ayrıca, neopterin düzeyleri ile bireylerin diyabet tanısı aldıktan sonra geçen süre arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu bildirilmiştir (143). Bu çalışmada ise diyabet hastalarının tanı aldığı süreler ile ölçülen parametreler değerlendirilmiş, ancak herhangi bir ilişki bulunamamıştır.

Tez çalışmasında, sağlıklı katılımcılar ile diyabet hastalarının serum ve idrar neopterin düzeyleri kıyaslandığında diyabet hastalarında bu düzeylerin daha yüksek olduğu, ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur (ikisi de  $p>0,05$ ). Triptofan ve kinürenin düzeyleri ile Kyn/Trp oranı değerlendirildiğinde ise sadece Tip 1 diyabet hastaları ile sağlıklı katılımcılar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

Bu tez kapsamında ölçülen değişkenlerin birbiri ile ilişkileri incelendiğinde, daha önce yapılan çalışmalardakine benzer şekilde, hem kontrol grubunda hem de diyabet hasta gruplarında idrar ve serum neopterin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Tip 1 diyabet gibi otoimmün hastalıklar olan romatoid artrit ve multipl sklerozda benzer şekilde hem kan hem de idrarda yüksek neopterin düzeyleri tespit edilmiştir (28, 144). Tez çalışmasında, serum neopterin düzeyleri ile kinürenin veIDO aktivitesini yansıtan Kyn/Trp oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Triptofan düzeyi değişmezken kinürenin düzeyinin artması ve dolayısıyla Kyn/Trp oranını yükseltmesi ve bu sonucun idrar neopterin düzeyleri ile pozitif ilişkili olması, diyabette inflamasyon ve/veya dejenerasyon nedeniyle triptofan metabolizmasının tetiklenerek kyn metabolitinin artışına neden olduğu ve IDO'nun IFN-  $\gamma$ , IL-1, TNF-alfa gibi sitokin aracılıklı bir etken ile indüklendiği şeklinde yorumlanmıştır. Bu durum immün aktivasyonu gösteren neopterin ve IDO aktivitesini ifade eden Kyn/Trp oranlarının paralellik gösterdiği diğer çalışmalar ile benzerdir (34, 145, 146) Pertovaara ve ark. otoimmün bir hastalık olan sistemik lupus eritematozusta benzer sonuçlar elde etmişlerdir (147). Ayrıca, romatoid artrit hastalarında yapılan araştırmalarda benzer şekilde neopterin düzeyleri ile Kyn/Trp oranları arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (145, 146). IFN- $\gamma$  gibi inflamasyon molekülleri ile oluşan stimülasyon, hem kinürenin yolağını tetiklemekte hem de T-hücre aracılıklı immün yanıtı uyarmaktadır; bu nedenle hem kontrol grubunda hem de diyabet gruplarında serum neopterin düzeyleri ile birlikte triptofan metabolizmasının pozitif anlamlı ilişki göstermesi, beklenen ve birbirini destekleyen bir sonuçtur. Diyabetin immün sistem ile ilintili olduğunu gösteren önemli bir sonuç, serum neopterinini ile

pozitif korelasyon gösteren idrar neopterin düzeylerinin Kyn/Trp oranıyla da pozitif anlamlı ilişki içerisinde bulunmasıdır.

Yükselmiş neopterin konsantrasyonları ile artmış triptofan yıkımı arasındaki ilişki HIV gibi enfeksiyon hastalıklarında, jinekolojik kanserlerde, malign tümörlerde, kardiyovasküler hastalıklarda, nörodejeneratif hastalıklarda veya normal yaşlanma süreci hastalıklarında gösterilmiştir (12, 75). Diyabet hastalığında saptanan artmış Kyn/Trp oranı IDO'nun aktive olduğunu göstermektedir; bu oranın aynı zamanda immün aktivasyon göstergesi olan neopterin ile ilişkili olması diyabette inflamasyon ve/veya immün mediyatörlerin rol aldığını göstermektedir. Hastalıkların yanı sıra tedavide kullanılan ilaç dahil çeşitli ksenobiyotiklere maruziyet sonucunda immün sistem yolağındaki bazı immün markörlerin değişebileceği ifade edilse de Tip 2 diyabet hastalarında metformin ve/veya vildagliptin kullanımının ölçülen parametrelere herhangi bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir.

T-hücrelerinin aktivasyonu ve otoimmüniteden köken alan hastalıklarda neopterin düzeylerinin belirlenmesi hastalıkların aktivitesini ve prognozunu belirlemede yararlı olacaktır. Bu tez çalışması diyabet hastalığında pteridin yolağının değerlendirilmesi konusunda yapılmış ilk çalışmalardan olması nedeniyle önemlidir. Bu çalışmadan elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, neopterin gibi önemli bir biyomarkörün, kinürenin yolağı bileşenleri ile birlikte ifade edilerek diyabet patolojisini aydınlatmak için ilk yapılan uluslararası çalışmalardan biri olduğu bilinmektedir. Bu tez araştırmasının sonuçları genişletilmiş diyabet hasta gruplarında yapılacak daha sonraki araştırmalara ve oksidatif stres markörlerinin dahil olduğu ayrıntılı ileri çalışmalara yol gösterici olacaktır.

Makrofajlarda, IDO indüksiyonu pteridin biyosentezinin anahtar enzimi GTP siklohidroksilaz indüksiyonu ile ilişkilidir; IDO'nun pteridin sentezinde doğrudan rolü olduğu gösterilmesinde bu paralel indüksiyonun IFN- $\gamma$  aracılıklı olduğunu düşündürmektedir ve bu şekilde neopterin ve tetrahidrobiopterin sentezi de artmaktadır. Çeşitli hastalıklarda neopterin üretimi artma eğilimi gösterirken, biopterin miktarının çok az değişmesi veya hiç değişmemesinin nedeni IFN- $\gamma$ 'nın neopterin ve BH<sub>4</sub> sentezini başlatan ilk enzim olan GTP-CH I enzimini indükleyip, BH<sub>4</sub>

biyosentez yolağında bulunan PTPS ve SR enzimlerini etkilememesinden dolayıdır. Bu tez çalışmasında triptofanın hidrosilasyon reaksiyonunda çok önemli bir kofaktör olan biyopterin düzeyleri idrar örneklerinde ölçülerek dolaylı olarak BH<sub>4</sub> yolağı da değerlendirilmiştir. Bu tez çalışmasında idrar biyopterin düzeyleri kontrol grubuna kıyasla, diyabetlilerde farklı bulunmamıştır. Ancak, metformin ve vildagliptin beraber kullanan Tip 2 diyabetlilerde belirlenen biyopterin düzeyi, insülin kullanan Tip 1 diyabet hastalarında saptanan biyopterin düzeyinden yaklaşık 1,5 kat daha yüksek bulunmuştur. Yalnızca metformin kullanan Tip 2 diyabet alt grubunda ise anlamlı olmasa da insülin grubuna göre yüksek biyopterin düzeyi olduğu anlaşılmıştır. Oral antidiyabetiklerin oksidatif stres göstergesi olan nitrik oksit ilişkili BH<sub>4</sub> yolağını etkileyerek biyopterin atılımını arttırdığı düşünülmüştür.

Bazı patolojilerde patolojilerde makrofajlar, IFN- $\gamma$  ile uyarıldığında neopterin ve 7,8-dihidroneopterin ek olarak reaktif oksijen bileşikleri, dolayısıyla oksidatif stres oluşturur. Bu nedenden dolayı da oksidatif stres bağlantılı patolojilerde çoğunlukla artmış neopterin düzeyleri saptanmakta ve neopterinin immün sistem tarafından indüklenen oksidatif stresin dolaylı bir göstergesi olabileceği bildirilmektedir. Bu tez çalışmasının kısıtlılığını oksidatif stres markörlerinin ölçülerek pteridin yolağı değişkenleri ile değerlendirilmesinin yapılmaması oluşturmaktadır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması, diyabetin T-hücre aracılıklı immünite ile ilintili olduğunu ifade eden ve triptofan metabolizmasının immün modülasyona dahil olduğunu gösteren yeni bilgiler sağlamıştır. Elde edilen çıktılar değerlendirildiğinde aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır:

- Tip 2 diyabet hastalığında neopterin ve pteridin yolağı bileşenlerinde herhangi bir değişiklik gözlenmezken, Tip 1 diyabette hücrel immüniteyi ifade eden neopterin düzeylerinde bir artış gözlenmiştir.
- İmmün aktivasyonu gösteren ve IDO aktivitesini ifade eden Kyn/Trp oranı Tip 2 diyabette sağlıklı kişiler ile benzerlik gösterirken, Tip 1 diyabette yükselmiştir.
- Tip 1 diyabette neopterin ve IDO aktivasyonu ile ifade edilen T-hücre aracılıklı immünitenin rol oynadığı düşünülmektedir.
- Neopterin, immün aktivasyon durumunu ifade eden bir biyomarkör olarak diyabetin Tip 1 ve Tip 2 olarak tanısının ayrımında kullanım potansiyeline sahiptir.
- Diyabet hastalığında pteridin yolağı çalışmaları oldukça azdır. Bu tez çalışması, diyabet ve pteridin konularındaki gelecek araştırmalara yol gösterici bir nitelikte olup yeni çalışmalar ile desteklenerek ve katılımcı ölçeğinin genişletildiği ileri araştırmalar ile literatüre katkı sağlayacaktır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Satman I, Imamoğlu Ő, Yilmaz C, Akalin S, Salman S, Dinççağ N. Yazım Komitesi. Türkiye Endokrinoloji Ve Metabolizma Derneği Diabetes Mellitus Ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi Ve İzlem Kılavuzu. 9. Baskı. Ankara. Miki Matbaacılık; 2017.
2. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 7th edn. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2015.
3. Wächter H, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Weiss G ve ark. Neopterin, Biochemistry-Methods-Clinical Application. Berlin. 1993.
4. Hoffmann G, Wirleitner B, Fuchs D. Potential role of immune system activation-associated production of neopterin derivatives in humans. *Inflamm Res*. 2003;52(8):313-21.
5. Pfeleiderer W. Pteridines. Properties, reactivities and biological significance. *J Heterocyclic Chem*. 1992; 29:583-605.
6. Girgin G. Çocuklarda Pteridin Yolağının Değerlendirilmesi. Ankara: Hacettepe Üniversitesi; 2009.
7. Smith I, Howells DW, Hyland K. Pteridines and mono-amines: relevance to neurological damage. *Postgrad Med J*. 1986;62(724):113-23.
8. Oettl K, Reibnegger G. Pteridines as inhibitors of xanthine oxidase: structural requirements. *Biochim Biophys Acta*. 1999;1430(2):387-95.
9. Altındağ ZZ. Ksenobiyotiklerin pteridin yolağına etkilerinin incelenmesi. Doktora Tezi. Hacettepe Üniversitesi, 1999. Ankara.
10. Berdowska A, Zwirski-Korczała K. Neopterin measurement in clinical diagnosis. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*. 2001; 26: 319-329.
11. D-(+)-Neopterin [Internet]. [Erişim Tarihi 6 Ocak 2018]. Erişim adresi: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/dneopterin25321200964511?lang=en&region=TR>
12. Murr C, Widner B, Wirleitner B, Fuchs D. Neopterin as a marker for immune system activation. *Curr Drug Metab*. 2002;3(2):175-87.
13. Hasegawa H, Sawabe K, Nakanishi N, Wakasugi OK. Delivery of exogenous tetrahydrobiopterin (BH<sub>4</sub>) to cells of target organs: role of salvage pathway and uptake of its precursor in effective elevation of tissue BH<sub>4</sub>. *Mol Genet Metab*. 2005;86(1):2-10.
14. Laich A, Neuraüter G, Wirleitner B, Fuchs D. Degradation of serum neopterin during daylight exposure. *Clin Chim Acta*. 2002 Aug;322(1-2):175-8.
15. Altındağ ZZ. Kanserli hastaların biyolojik sıvılarında neopterin ve dihidropteridin redüktaz (DHPR) aktivitesinin saptanması ve klinik öneminin değerlendirilmesi. Bilim Uzmanlığı Tezi. Hacettepe Üniversitesi, Ankara. 1993.

16. Fuchs D, Weiss G, Reibnegger G, Wachter H. The role of neopterin as a monitor of cellular immune activation in transplantation, inflammatory, infectious, and malignant diseases. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 1992; 29(3-4):307-41.
17. Arshadi D, Nikbin B, Shakiba Y, Kiani A, Jamshidi AR ve ark. Plasma level of neopterin as a marker of disease activity in treated rheumatoid arthritis patients: association with gender, disease activity and anti-CCP antibody. *Int Immunopharmacol.* 2013;17(3):763-7.
18. Baydar T, Yuksel O, Sahin TT, Dikmen K, Girgin G ve ark. Neopterin as a prognostic biomarker in intensive care unit patients. *J Crit Care.* 2009;24(3):318-21.
19. Ipekci SH, Kebapcilar AG, Yilmaz SA, Ilhan TT, Pekin AT ve ark. Serum levels of neopterin in gestational diabetes mellitus: the relationship with Apgar scores. *Arch Gynecol Obstet.* 2015;292(1):103-9.
20. Karaca A, Omma T, Dura Deveci C, Bakar F, Doğan K. Neopterin and hsCRP are not correlated in gestational diabetes mellitus. *Gynecol Endocrinol.* 2016 Dec;32(12):977-981.
21. Kuzmits R, Ludwig H, Legenstein E, Szekeresz T, Kratzik C ve ark. Neopterin as tumour marker serum and urinary neopterin concentrations in malignant diseases. *J Clin Chem Clin Biochem.* 1986;24(2):119-24.
22. Uomo G, Spada OA, Manes G, Feola B, Misso S, Cavallera A, et al. Neopterin in acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol.* 1996;31(10):1032-6.
23. Azurmendi L, Degos V, Tiberti N, Kapandji N, Sanchez-Peña P, Sarrafzadeh A ve ark. Neopterin plasma concentrations in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: correlation with infection and long-term outcome. *J Neurosurg.* 2016; 124(5):1287-99.
24. Signorelli SS, Anzaldi M, Fiore V, Candido S, Di Marco R ve ark. Neopterin: a potential marker in chronic peripheral arterial disease. *Mol Med Rep.* 2013;7(6):1855-8.
25. Hermus L, Schuitemaker JH, Tio RA, Breek JC, Slart RH ve ark. Novel serum biomarkers in carotid artery stenosis: useful to identify the vulnerable plaque? *Clin Biochem.* 2011;44(16):1292-8.
26. Yadav AK, Sharma V, Jha V. Association between serum neopterin and inflammatory activation in chronic kidney disease. *Mediators Inflamm.* 2012;2012:476979.
27. Akbulut HH, Bulut S, Berilgen MS, Kansız F. Multipl Skleroz Hastalarında Serum Neopterin Düzeyleri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci.* 2005; 25:178-182.
28. Bagnato F, Durastanti V, Finamore L, Volante G, Millefiorini E. Beta-2 microglobulin and neopterin as markers of disease activity in multiple sclerosis. *Neurol Sci.* 2003;24(5):301-4.

29. Hagberg L, Cinque P, Gisslen M, Brew BJ, Spudich S ve ark. Cerebrospinal fluid neopterin: an informative biomarker of central nervous system immune activation in HIV-1 infection. *AIDS Res Ther.* 2010; 7:15.
30. Thuma PE, Weiss G, Herold M, Gordeuk VR. Serum neopterin, interleukin-4, and interleukin-6 concentrations in cerebral malaria patients and the effect of iron chelation therapy. *Am J Trop Med Hyg.* 1996;54(2):164-8.
31. Samsonov MY, Tilz GP, Pisklakov VP, Reibnegger G, Nassonov EL ve ark. Serum-soluble receptors for tumor necrosis factor-alpha and interleukin-2, and neopterin in acute rheumatic fever. *Clin Immunol Immunopathol.* 1995;74(1):31-4.
32. Wagner R, Hayatghebi S, Rosenkranz M, Reinwein D. Increased serum neopterin levels in patients with Graves' disease. *Exp Clin Endocrinol.* 1993;101(4):249-54.
33. Kullich W. Correlation of interleukin-2 receptor and neopterin secretion in rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol.* 1993;12(3):387-91.
34. Widner B, Leblhuber F, Walli J, Tilz GP, Demel U ve ark. Tryptophan degradation and immune activation in Alzheimer's disease. *J Neural Transm (Vienna).* 2000;107(3):343-53.
35. Maes M, Scharpé S, Meltzer HY, Okayli G, Bosmans E ve ark. Increased neopterin and interferon-gamma secretion and lower availability of L-tryptophan in major depression: further evidence for an immune response. *Psychiatry Res.* 1994;54(2):143-60.
36. Budavari S, O'Neil MJ, Smith A, Heckelman PE, Kinneary JF. *The Merck Index-An Encyclopedia of Chemicals, Drug and Biologicals.* New Jersey: Merck & Co. Inc. 1996.
37. Marsalek P, Svoboda M, Smutna M, Blahova J, Vecerek V. Neopterin and biopterin as biomarkers of immune system activation associated with castration in piglets. *Journal of Animal Science.* 2011;89(6):1758 – 1762.
38. 6-Biopyterin [Internet]. [Erişim Tarihi 6 Ocak 2018]. Erişim adresi: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/b2517?lang=en&region=TR>
39. Bjelaković G, Jevtović-Stoimenov T, Bjelaković B, Stojanović I. Biochemical functions and clinical importance of unconjugated pteridines. *FU Med Biol.* 2004;11(2):49-54.
40. Werner ER, Werner-Felmayer G, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G ve ark. Tetrahydrobiopterin biosynthetic activities in human macrophages, fibroblasts, THP-1, and T 24 cells. GTP-cyclohydrolase I is stimulated by interferon-gamma, and 6-pyruvoyl tetrahydropterin synthase and sepiapterin reductase are constitutively present. *J Biol Chem.* 1990;265(6):3189-92.
41. Kinoshita H, Tsutsui M, Milstien S, Katusic ZS. Tetrahydrobiopterin, nitric oxide and regulation of cerebral arterial tone. *Prog Neurobiol.* 1997;52(4):295-302.

42. Foxton RH, Land JM, Heales SJ. Tetrahydrobiopterin availability in Parkinson's and Alzheimer's disease; potential pathogenic mechanisms. *Neurochem Res.* 2007;32(4-5):751-6.
43. Thöny B, Auerbach G, Blau N. Tetrahydrobiopterin biosynthesis, regeneration and functions. *Biochem J.* 2000;347:1-16.
44. Laursen JB, et al. Endothelial regulation of vasomotion in apo-E deficient mice: Implications for interactions between peroxynitrite and tetrahydrobiopterin. *Circulation* 2001, 103: 1282-1288.
45. Ishii M, Shimizu S, et al. Reduction by tetrahydrobiopterin of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced endothelial cell injury. *Pharmacol Toxicol* 1998, 82: 280-6.
46. Kojima S, Ona S, et al. Antioxidative activity of 5,6,7,8,-tetrahydrobiopterin and its inhibitory effect on paraquat-induced cell toxicity in cultured rat hepatocytes. *Free Radic Res* 1995, 23: 419-30.
47. 5,6,7,8-Tetrahydrobiyopterin [Internet]. [Erişim Tarihi 6 Ocak 2018]. Erişim adresi:<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/t4425?lang=en&region=TR>
48. Kinoshita H, Tsutsiu M, Milstien S, Katuzi ZS. Tetrahydrobiopterin biosynthetic activities in human macrophages, fibroblasts, THP-1 and T24 cells. *The Journal of Biological Chemistry.* 1990;265(6):3189-3192.
49. Richard DM, Dawes MA, Mathias CW, Acheson A, Hill-Kapturczak N ve ark. L-Tryptophan: Basic Metabolic Functions, Behavioral Research and Therapeutic Indications. *Int J Tryptophan Res.* 2009;2:45-60.
50. Miura H, Ozaki N, Sawada M, Isobe K, Ohta T ve ark. A link between stress and depression: shifts in the balance between the kynurenine and serotonin pathways of tryptophan metabolism and the etiology and pathophysiology of depression. *Stress.* 2008;11(3):198-209.
51. L-Tryptophan [Internet]. [Erişim Tarihi 6 Ocak 2018]. Erişim adresi: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/t0254?lang=en&region=TR>
52. Schröcksnadel K, Wirleitner B, Winkler C, Fuchs D. Monitoring tryptophan metabolism in chronic immune activation. *Clin Chim Acta.* 2006;364(1-2):82-90.
53. Hol JW, Stolker RJ, Klimek M, Stronks DL, Fekkes D. The tryptophan kynurenine pathway, neopterin and IL-6 during vulvectomy and abdominal hysterectomy. *J Biomed Sci.* 2014; 21(1): 102-113.
54. Gasse T, Murr C, Meyersbach P, Schmutzhard E, Wachter H ve ark. Neopterin production and tryptophan degradation in acute Lyme neuroborreliosis versus late Lyme encephalopathy. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* 1994;32(9):685-9.
55. Widner B, Laich A, Sperner-Unterweger B, Ledochowski M, Fuchs D. Neopterin production, tryptophan degradation, and mental depression--what is the link? *Brain Behav Immun.* 2002;16(5):590-5.

56. L-Kynurenine [Internet]. [Erişim Tarihi 6 Ocak 2018]. Erişim adresi: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/k8625?lang=en&region=TR>
57. Chen Y, Guillemin GJ. Kynurenine Pathway Metabolites in Humans: Disease and Healthy States. *Int J Tryptophan Res.* 2009; 2: 1–19.
58. Alberati-Giani D, Malherbe P, Ricciardi-Castagnoli P, Köhler C, Denis-Donini S ve ark. Differential regulation of indoleamine 2,3-dioxygenase expression by nitric oxide and inflammatory mediators in IFN-gamma-activated murine macrophages and microglial cells. *J Immunol.* 1997;159(1):419-26.
59. King NJ, Thomas SR. Molecules in focus: indoleamine 2,3-dioxygenase. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39(12):2167-72.
60. Takikawa O. Biochemical and medical aspects of the indoleamine 2,3-dioxygenase-initiated l-tryptophan metabolism. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 2005;338(1):12-9.
61. Zamanakou M, Germenis AE, Karanikas V. Tumor immune escape mediated by indoleamine 2,3-dioxygenase. *Immunol Lett.* 2007;111(2):69-75.
62. Schroecksadel K, Winkler C, Fuith LC, Fuchs D. Tryptophan degradation in patients with gynecological cancer correlates with immune activation. *Cancer Lett.* 2005;223(2):323-9.
63. Shemer Y, Sarov I. Inhibition of growth of *Chlamydia trachomatis* by human gamma interferon. *Infect Immun.* 1985;48(2):592-6.
64. Byrne GI, Lehmann LK, Landry GJ. Induction of tryptophan catabolism is the mechanism for gamma-interferon-mediated inhibition of intracellular *Chlamydia psittaci* replication in T24 cells. *Infect Immun.* 1986;53(2):347-51.
65. MacKenzie CR, Hadding U, Daubener W. Interferon-gamma-induced activation of indoleamine 2,3-dioxygenase in cord blood monocyte-derived macrophages inhibits the growth of group B streptococci. *J Infect Dis.* 1998;178(3):875-8.
66. MacKenzie CR, Hucke C, Muller D, Seidel K, Takikawa O, Daubener W. Growth inhibition of multiresistant enterococci by interferon-gamma-activated human uro-epithelial cells. *J Med Microbiol.* 1999;48(10):935-41.
67. Pantoja LG, Miller RD, Ramirez JA, Molestina RE, Summersgill JT. Inhibition of *Chlamydia pneumoniae* replication in human aortic smooth muscle cells by gamma interferon-induced indoleamine 2, 3-dioxygenase activity. *Infect Immun.* 2000;68(11):6478-81.
68. Schrotten H, Spors B, Hucke C, Stins M, Kim KS, Adam R, et al. Potential role of human brain microvascular endothelial cells in the pathogenesis of brain abscess: inhibition of *Staphylococcus aureus* by activation of indoleamine 2,3-dioxygenase. *Neuropediatrics.* 2001;32(4):206-10.
69. Adams O, Besken K, Oberdorfer C, MacKenzie CR, Takikawa O, Daubener W. Role of indoleamine-2,3-dioxygenase in alpha/beta and gamma interferon-

- mediated antiviral effects against herpes simplex virus infections. *J Virol.* 2004;78(5):2632-6.
70. Girgin G, Sahin TT, Fuchs D, Yuksel O, Kurukahvecioglu O, Sare M, et al. Tryptophan degradation and serum neopterin concentrations in intensive care unit patients. *Toxicol Mech Methods.* 2011;21(3):231-5.
71. Girgin G, Tolga Sahin T, Fuchs D, Kasuya H, Yuksel O, Tekin E, et al. Immune system modulation in patients with malignant and benign breast disorders: tryptophan degradation and serum neopterin. *Int J Biol Markers.* 2009;24(4):265-70.
72. Ozkan Y, Mete G, Sepici-Dincel A, Sepici V, Simsek B. Tryptophan degradation and neopterin levels in treated rheumatoid arthritis patients. *Clin Rheumatol.* 2012;31(1):29-34.
73. Pellegrin K, Neurauter G, Wirleitner B, Fleming AW, Peterson VM ve ark. Enhanced enzymatic degradation of tryptophan by indoleamine 2,3-dioxygenase contributes to the tryptophan-deficient state seen after major trauma. *Shock.* 2005;23(3):209-15.
74. Huang A, Fuchs D, Widner B, Glover C, Henderson DC, Allen-Mersh TG. Serum tryptophan decrease correlates with immune activation and impaired quality of life in colorectal cancer. *Br J Cancer.* 2002;86(11):1691-6.
75. Palabiyik SS, Keles S, Girgin G, Arpali-Tanas E, Topdagi E ve ark. Neopterin Release and Tryptophan Degradation in Patients with Uveitis. *Curr Eye Res.* 2016;41(11):1513-1517.
76. Lapin IP. Kynurenines as probable participant of depression. *Pharmakopsychiatr Neuropsychopharmakol.* 1973;6:273-9.
77. Oxenkrug G. Serotonin-kynurenine hypothesis of depression: historical overview and recent developments. *Curr Drug Targets.* 2013;14(5):514-21.
78. Bilous, E. and Donnelly, E. *Handbook of Diabetes.* 4th Edition. Amerika Birleşik Devletleri: John Wiley & Sons; 2010.
79. Gümüş E, Çelik H, Özkan S, Keskinliç B, Çakır B. T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Türkiye Diyabet Programı. 2. Basım. Ankara: Kuban Matbaacılık Yayıncılık; 2014.
80. Møller F, Hansen M, Sjølie AK. Is one 60 degrees fundus photograph sufficient for screening of proliferative diabetic retinopathy? *Diabetes Care.* 2001;24(12):2083-5.
81. Diabetes [Internet]. [Erişim Tarihi: 24 Nisan 2016]. Erişim adresi: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
82. Satman I, Yilmaz T, Sengül A, Salman S, Salman F ve ark. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes Care.* 2002;25(9):1551-6.

83. Satman I, Omer B, Tutuncu Y, Kalaca S, Gedik S ve ark. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *Eur J Epidemiol.* 2013;28(2):169-80.
84. Ünüvar N, Mollahaliloğlu S, Yardım N. Türkiye Hastalık Yüğü Çalışması. Ankara: Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı Hıfzısıhha Mektebi Müdürlüğü; 2006.
85. American Diabetes Association Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus [İnternet]. 2014 [Erişim Tarihi: 20 Aralık 2017]. Erişim adresi: [http://care.diabetesjournals.org/content/37/Supplement\\_1/S81](http://care.diabetesjournals.org/content/37/Supplement_1/S81)
86. Global Report on Diabetes [İnternet]. 2016 [Erişim Tarihi: 24 Temmuz 2017]. Erişim adresi: <http://www.who.int/diabetes/global-report/en/>
87. Diagnosing Diabetes and Learning About Prediabetes [İnternet]. 201 [Erişim Tarihi: 1 Mayıs 2018]. <http://www.diabetes.org/diabetes-basics/diagnosis/>
88. Mates JM, Perez-Gomez C, Nunez de Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem.* 1999;32(8):595-603.
89. Wohaieb SA, Godin DV. Alterations in free radical tissue-defense mechanisms in streptozocin-induced diabetes in rat. Effects of insulin treatment. *Diabetes.* 1987;36(9):1014-8.
90. Wolff SP, Jiang ZY, Hunt JV. Protein glycation and oxidative stress in diabetes mellitus and ageing. *Free Radic Biol Med.* 1991;10(5):339-52.
91. Kaneto H, Kajimoto Y, Miyagawa J, Matsuoka T, Fujitani Y, Umayahara Y, et al. Beneficial effects of antioxidants in diabetes: possible protection of pancreatic beta-cells against glucose toxicity. *Diabetes.* 1999;48(12):2398-406.
92. de Oliveira VN, Bessa A, Jorge ML, Oliveira RJ, de Mello MT, De Agostini GG, et al. The effect of different training programs on antioxidant status, oxidative stress, and metabolic control in type 2 diabetes. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2012;37(2):334-44.
93. Aydin 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 glycemic control. *Clin Biochem.* 2001;34(1):65-70.
94. Einarson TR, Acs A, Ludwig C, Panton UH. Prevalence of cardiovascular disease in type 2 diabetes: a systematic literature review of scientific evidence from across the world in 2007-2017. *Cardiovasc Diabetol.* 2018;17(1):83.
95. Chihara E. Myopia and diabetes mellitus as modificatory factors of glaucomatous optic neuropathy. *Jpn J Ophthalmol.* 2014;58(1):16-25.
96. Ersoy C, Tuncel E, Özdemir B, Ertürk E, İmamoğlu Ş. İnsülin kullanan tip 2 diabetes mellituslu hastalarda diyabet eğitimi ve metabolik kontrol. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi.* 2006;32(2):43-7.
97. Holt RIG, Hanley NA. *Essential Endocrinology and Diabetes.* Oxford: Blackwell Publishing; 2007.

98. Kanski JJ, Bowling B, Nischal KK, Pearson A, Akova YA. Klinik Oftalmoloji: Sistematik Yaklaşım. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2013.
99. Frank RN. Diabetic retinopathy. *N Engl J Med* 2004; 350:48.
100. Klein R, Klein BEK, Moss SE, et al. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. II. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is less than 30 years. *Arch Ophthalmol*. 1984;102:520-6.
101. Young MJ, Boulton AJ, MacLeod AF, Williams DR, Sonksen PH. A multicentre study of the prevalence of diabetic peripheral neuropathy in the United Kingdom hospital clinic population. *Diabetologia*. 1993;36(2):150-4.
102. Diabetes [internet]. 2017 [Erişim tarihi: 20 Eylül 2017]. Erişim adresi: <http://www.who.int/diabetes/en/>
103. Kukreja A, Maclaren NK. Autoimmunity and diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(12):4371-8.
104. Haller MJ, Atkinson MA, Schatz D. Type 1 diabetes mellitus: etiology, presentation, and management. *Pediatr Clin North Am*. 2005;52(6):1553-78.
105. Akesen E, Turan S, Güran T, Atay Z, Save D ve ark. Prevalence of type 1 diabetes mellitus in 6-18-yr-old school children living in Istanbul, Turkey. *Pediatr Diabetes*. 2011;12(6):567-71.
106. Klöppel G, Löhr M, Habich K, Oberholzer M, Heitz PU. Islet pathology and the pathogenesis of type 1 and type 2 diabetes mellitus revisited. *Surv Synth Pathol Res*. 1985;4(2):110-25.
107. Abacı A, Böber E, Büyükgebiz A. Tip 1 Diyabet. *Güncel Pediatri*. 2007;5:1-10.
108. İliçin G, Biberöglü K, Süleymanlar G, Ünal S. Temel İç Hastalıkları. 3. Baskı. Güneş Kitabevi: Ankara. 2012
109. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF ve ark. Homeostasis model assessment: insulin resistance and  $\beta$ -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):412-9.
110. Yang Q, Graham TE, Mody N, Preitner F, Peroni OD ve ark. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature*. 2005;436(7049):356-62.
111. Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Ankara: Hacettepe-Taş; 2005.
112. Mycek M, Harvey R, Champe P. Lippincotts Illustrated Reviews: Farmakoloji. Ankara: Güneş Kitabevi; 2001.
113. De Franzo RA. From the Triumvirate to the Ominous Octet: A New Paradigm for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes*. 2009; 58(4): 773–795.

114. Viollet B, Guigas B, Sanz Garcia N, Leclerc J, Foretz M ve ark. Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. *Clin Sci (Lond)*. 2012 Mar; 122(6): 253–270.
115. Vestergaard P. Discrepancies in bone mineral density and fracture risk in patients with type 1 and type 2 diabetes-a meta-analysis. *Osteoporos Int*. 2007;18(4):427-44.
116. Stage TB, Brøsen K, Christensen MM. A Comprehensive Review of Drug-Drug Interactions with Metformin. *Clin Pharmacokinet*. 2015 Aug;54(8):811-24.
117. Hieronymus L, Griffin S. Role of Amylin in Type 1 and Type 2 Diabetes. *Diabetes Educ*. 2015 Dec;41(1):47S-56S.
118. Ahren B, Pacini G, Foley JE, Schweizer A. Improved Meal-Related -Cell Function and Insulin Sensitivity by the Dipeptidyl Peptidase-IV Inhibitor Vildagliptin in Metformin-Treated Patients With Type 2 Diabetes Over 1 Year. *Diabetes Care*. 2005;28(8): 1936-40.
119. Mkele G. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors: their role in the management of type 2 diabetes. *Journal of Endocrinology, Metabolism and Diabetes of South Africa*. 2015;20:64-66.
120. Inzucchi SE. Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes: scientific review. *JAMA*. 2002;287(3):360-72.
121. Keating GM. Vildagliptin: a review of its use in type 2 diabetes mellitus. *Drugs*. 2014;74(5):587-610.
122. He YL. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of vildagliptin. *Clin Pharmacokinet*. 2012;51(3):147-62.
123. Galvus [Internet]. 2017 [Erişim tarihi: 3 Ocak 2018]. Erişim adresi: [http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000771/human\\_med\\_000803.jsp&mid=WC0b01ac058001d124](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000771/human_med_000803.jsp&mid=WC0b01ac058001d124)
124. Pratley RE, Jauffret-Kamel S, Galbreath, E, Holmes, D. Twelve-week monotherapy with the DPP-4 inhibitor vildagliptin improves glycemic control in subjects with type 2 diabetes. *Horm Metab Res*. 2006; 38:423–428.
125. Ristic S, Byiers S, Foley J, Holmes D. Improved glycaemic control with dipeptidyl peptidase-4 inhibition in patients with type 2 diabetes: vildagliptin (LAF237) dose response. *Diabetes Obesity Metab*. 2005;7:692–698.
126. Ahren B, Schweizer A, Dejager S, Villhauer EB, Dunning BE, Foley JE. Mechanisms of action of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor vildagliptin in humans. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2011; 13: 775–783.
127. Bekiari E, Rizava C, Athanasiadou E, Papatheodorou K, Liakos A. Systematic review and meta-analysis of vildagliptin for treatment of type 2 diabetes. *Endocrine*. 2016;52(3):458-80.
128. Barilla D, Yanling H, Balez S. No pharmacokinetic interactions or acute clinical safety issues preclude combination of the DPP-4 inhibitor LAF236 with

- glyburide [Bildiri]. American Diabetes Association 64th Annual Scientific Sessions;2004; Orlando.
129. Agacayak E, Tunc SY, Sak S, Basaranoglu S, Yuksel H, Turgut A, Gul T. Levels of Neopterin and other Inflammatory Markers in Obese and Non-Obese Patients with Polycystic Ovary Syndrome. *Med Sci Monit.* 2005;21:2446-2455.
  130. Aleksandrova K, Chuang SC, Boeing H, Zuo H, Tell GS ve ark. A prospective study of the immune system activation biomarker neopterin and colorectal cancer risk. *J Natl Cancer Inst.* 2015;107(4):djv010.
  131. Amsterdam JGV, Opperhuizen A. Nitric oxide and biopterin in depression and stress. *Psychiatry Res.* 1999;85(1):33-8.
  132. Duch DS, Bowers SW, Woolf JH, Nichol CA. Biopterin cofactor biosynthesis: GTP cyclohydrolase, neopterin and biopterin in tissues and body fluids of mammalian species. *Life Sci.* 1984;35(18):1895-901.
  133. Marsálek P, Svoboda M, Smutná M, Blahová J, Vecerek V. Neopterin and biopterin as biomarkers of immune system activation associated with castration in piglets. *J Anim Sci.* 2011;89(6):1758-62.
  134. Baydar T, Palabıyık S, Şahin G. Neopterin: Günümüzün Popüler Biyogöstergesi mi? *Türkiye Klinikleri J Med Sci.* 2009;29(5):1280-1291.
  135. Oxenkrug GF. Metabolic syndrome, age-associated neuroendocrine disorders, and dysregulation of tryptophan-kynurenine metabolism. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1199:1-14.
  136. Oxenkrug GF. Interferon-gamma-inducible kynurenines/pteridines inflammation cascade: implications for aging and aging-associated psychiatric and medical disorders. *J Neural Transm (Vienna).* 2011;118(1):75-85.
  137. Dominguez-Rodriguez A, Abreu-Gonzalez P, Juarez-Prera RA, Arroyo-Ucar E, Hernandez-Garcia C ve ark. Usefulness of serum neopterin levels in acute decompensated heart failure to predict renal dysfunction. *Biomarkers.* 2012;17(2):134-9.
  138. Grossmann V, Schmitt VH, Zeller T, Panova-Noeva M, Schulz A ve ark. Profile of the Immune and Inflammatory Response in Individuals With Prediabetes and Type 2 Diabetes. *Diabetes Care.* 2015;38(7):1356-64.
  139. Weiss MF, Rodby RA, Justice AC, Hricik DE. Free pentosidine and neopterin as markers of progression rate in diabetic nephropathy. Collaborative Study Group. *Kidney Int.* 1998;54(1):193-202.
  140. Aşçı A. Hemodiyaliz Hastalarında Neopterin Düzeylerinin Toksikolojik Açıdan Değerlendirilmesi. *Erzurum: Atatürk Üniversitesi; 2008.*
  141. Oxenkrug G, Tucker KL, Requintina P, Summergrad P. Neopterin, a Marker of Interferon-Gamma-Inducible Inflammation, Correlates with Pyridoxal-5'-Phosphate, Waist Circumference, HDL-Cholesterol, Insulin Resistance and

- Mortality Risk in Adult Boston Community Dwellers of Puerto Rican Origin. *Am J Neuroprot Neuroregen.* 2011;3(1):48-52.
142. Oxenkrug G. Insulin resistance and dysregulation of tryptophan-kynurenine and kynurenine-nicotinamide adenine dinucleotide metabolic pathways. *Mol Neurobiol.* 2013;48(2):294-301.
  143. Weitgasser R, Lechleitner M, Koch T, Galvan G, Mühlmann J ve ark. Antibodies to heat-shock protein 65 and neopterin levels in patients with type 1 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2003 May;111(3):127-31.
  144. Altındağ ZZ, Sahin G, Inanici F, Haşçelik Z. Urinary neopterin excretion and dihydropteridine reductase activity in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 1998;18(3):107-11.
  145. Ozkan Y, Mete G, Sepici-Dincel A, Sepici V, Simsek B. Tryptophan degradation and neopterin levels in treated rheumatoid arthritis patients. *Clin Rheumatol.* 2012;31(1):29-34.
  146. Schroecksnadel K, Winkler C, Duftner C, Wirleitner B, Schirmer M ve ark. Tryptophan degradation increases with stage in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol.* 2006;25(3):334-7.
  147. Pertovaara M, Hasan T, Raitala A, Oja SS, Yli-Kerttula U ve ark. Indoleamine 2,3-dioxygenase activity is increased in patients with systemic lupus erythematosus and predicts disease activation in the sunny season. *Clin Exp Immunol.* 2007 Nov;150(2):274-8.

## 8. EKLER

## EK-1: Etik Kurul Onayı



T. C.  
SAĞLIK BAKANLIĞI  
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU  
Eskişehir İli Kamu Hastaneleri Birliği Genel Sekreteri  
Eskişehir Devlet Hastanesi

T.C.  
Sağlık Bakanlığı  
ESKİŞEHİR DEVLET HASTANESİ :  
GİDEN EVRA  
Kayıt Tarihi : 15.05.2015  
Alınan: ECZACI SİNEM GÜRCÜ  
Konusu: ETİK KURUL BAŞVURUSU  
G.Birim: ADLI KALEM  
Kayıt No : 7976

Sayı : 22205031-060.99 /12  
Konu : Etik Kurul Başvurunuz

14/05/2015

Sayın Eczacı Sinem GÜRCÜ

24/12/2014 Tarihinde Hastanemiz Etik Kuruluna;“Diabet hastalarında pteridinler ve ilgili yolların değerlendirilmesi” konulu çalışmanız için yapmış olduğunuz izin başvurunuz Etik Kurulumuzca 14/05/2015 Perşembe günü 09:30-11:00 saatleri arasında yapılan toplantıda değerlendirilmiş olup,Çalışmanızda kullanılacak sarf malzeme maliyetlerinin tarafınızca karşılanarak evrensel ve hastanemiz bilimsel çalışma kriterleri ve tıbbi araştırmalar etik ilkelerini dikkate alarak yapmanıza Etik Kurulumuzca izin verilmiştir Gereğini bilgilerinize rica ederim.

Op. Dr. Murat ÇİLEKAR  
Hastane Yöneticisi  
Etik Kurulu Başkanı

EKLER:

- Etik Kurul Değerlendirme Formu

## 9. ÖZGEÇMİŞ

### I. Bireysel Bilgiler

**Adı Soyadı:** Sinem GÜRCÜ

**Doğum Yeri ve Tarihi:** Yalova, 29.09.1987

**Uyruğu:** Türkiye Cumhuriyeti

**İletişim Adresi ve Telefonu:** Eskişehir Devlet Hastanesi Eczane Birimi  
Odunpazarı/Eskişehir, (0530) 294 8658.

### II. Eğitim

Eğitim	Kurum	Yıl
Doktora	Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı	2013-
Lisans	Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2005-2010
Lise	Yalova Şehit Osman Altinkuyu Anadolu Lisesi	2001-2005

### III. Mesleki Deneyim

Unvan	Görev Yeri	Yıl
Eczacı	Eskişehir Devlet Hastanesi	2010-

### IV- Bilimsel Faaliyetler

Bilimsel Etkinliklere Katılım

1. International Symposium On Drug Research & Development "From Chemistry To Medicine" – Ankara, 4 – 7 Mayıs 2009.
2. 7. Uluslararası Katılımlı Türk Toksikoloji Derneği Kongresi – Ankara, 30 Mayıs – 1 Haziran 2009.
3. 10. Türkiye Eczacılık Kongresi – Ankara, 30 Eylül – 3 Ekim 2010.

4. 21. Ulusal Farmakoloji Kongresi “5. Klinik Farmakoloji Sempozyumu, 4. Klinik Toksikoloji Sempozyumu” – Eskişehir, 19 – 22 Ekim 2011.
5. P4 Predictive, Preventive, Personalized, Participatory Medicine Meeting – Eskişehir, 13 – 16 Eylül 2012.
6. 11. Türkiye Eczacılık Kongresi – Ankara, 18 -21 Ekim 2012.
7. 8. Uluslararası Katılımlı Türk Toksikoloji Derneği Kongresi – Antalya, 15 – 18 Kasım 2012.
8. TÜKED 2015 Hastane Eczacılığı Çalıştayı – İzmir, 5 – 8 Mart 2015.

#### **Bilimsel Kuruluşlara Üyelikler**

1. Türk Eczacıları Birliği (TEB)
2. Türk Toksikoloji Derneği (TTD)
3. Klinik Enteral Parenteral Nutrisyon Derneği (KEPAN)
4. Tüm Kamu Eczacıları Derneği (TÜKED)