



**T.C.**

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**DİYABETİK NÖROPATİLİ HASTALARDA ADAMTS4, ADAMTS5  
VE MMP9 SEVİYELERİNİN SİNİR HASARI İLE İLİŞKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**KENAN ELPE**

**Tez Danışmanı**

**PROF. DR. DİLEK ÜLKER ÇAKIR**

**ÇANAKKALE – 2023**





T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**DIYABETİK NÖROPATİLİ HASTALARDA ADAMTS4, ADAMTS5 VE MMP9  
SEVİYELERİNİN SİNİR HASARI İLE İLİŞKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KENAN ELPE

Tez Danışmanı

PROF. DR. DİLEK ÜLKER ÇAKIR

## ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi taahhüt ve beyan ederim.

Kenan ELPE

22/08/2023

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitiminin tamamında ve tez çalışmamın tüm evrelerinde kıymetli bilgileriyle ve önemli tecrübeleriyle bana yol gösteren ve yeni başladığım akademik hayatımda bana ilham olan, bana yüksek lisans eğitiminden çok daha fazlasını katan değerli hocam Prof. Dr. Dilek Ülker Çakır'a teşekkürü borç bilirim. Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgileriyle ve yardımlarıyla bana destek olan Doç. Dr. Özgül Ocak'a, Doç. Dr. M. Hilal Şehitoğlu'na, içten yardımlarından dolayı değerli arkadaşım Uz. Dr. Abdülhakim Hasan Gül'e teşekkürlerimi sunuyorum.

Kenan ELPE  
Çanakkale, Ağustos 2023

## ÖZET

### DİYABETİK NÖROPATİLİ HASTALARDA ADAMST4, ADAMST5 VE MMP9 SEVİYELERİNİN SİNİR HASARI İLE İLİŞKİSİ

Kenan ELPE

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Dilek ÜLKER ÇAKIR

22/08/2023, 67

Bu çalışmanın temel amacı diyabetik nöropati hastalığında serum ADAMTS4, ADAMTS5 ve MMP9 düzeylerinin tespit edilmesi ile hastalığın patogenezinin ortaya çıkarılması, erken tanısı, tedavisi ile birlikte yeni tedavi yöntemlerinin belirlenmesi ve korunma stratejilerinin anlaşılmasıdır. Çalışmada veriler 10 kontrol 29 tanılı olmak üzere toplamda 39 katılımcıdan toplanmıştır. Verilerin analizleri SPSS 22 paket programında frekans ve parametrik testlerden bağımsız örneklem için t testi ve korelasyon analizi ile analiz gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın sonucunda plazma ve serumda ADAMTS4, ADAMTS5 ve MMP9 düzeylerinde diyabetik nöropati görülen hastalar ve kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık meydana gelmediği belirlenmiştir. Bu çalışmada belirlenen parametrelerin ELISA yöntemi ilk kez kan örnekleri üzerinde çalışılması nedeniyle alanyazın açısından önem arz ederken aynı zamanda sınırlılıkları da beraberinde bulundurmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Diyabet, Diyabetik Nöropati, ADAMST4, ADAMST5, MMP9, ELISA Metodu

## ABSTRACT

### ADAMTS4, ADAMTS5 AND MMP 9 LEVELS'S RELATIONSHIP WITH NERVE DAMAGE IN DIABETIC NEUROPATHY

Kenan ELPE

Çanakkale Onsekiz Mart University

School of Graduate Studies

Postgraduate Dissertation in Department of Medical Biochemistry

Supervisor: Prof. Dr. Dilek ÜLKER ÇAKIR

22/08/2023, 67

The primary goal of this study is to determine the serum levels of ADAMTS4, ADAMTS5, and MMP9 in diabetic neuropathy, to uncover the pathogenesis of the disease, to identify early diagnosis, treatment, new treatment methods, and to comprehend prevention strategies. Data was collected from 39 participants in the study, 10 of whom were controls and 29 of whom were diagnosed. The independent sample T test, correlation test one of the frequency and parametric tests in the SPSS 22 package program, was used to analyze data. While the ELISA method of the parameters determined in this study is important for the literature because it is the first time to work on blood samples, it also has limitations. As a result of the study, it was determined that there was no statistically significant difference between the patients with diabetic neuropathy and the control group in ADAMSTS4, ADAMTS5 and MMP9 levels in plasma and serum.

**Keywords:** Diabetes, Diabetic Neuropathy, ADAMST4, ADAMST5, MMP9, ELISA Method

## İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN .....	i
TEŞEKKÜR .....	ii
ÖZET .....	iii
ABSTRACT .....	iv
İÇİNDEKİLER .....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	vii
TABLolar DİZİNİ .....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	x

### BİRİNCİ BÖLÜM 1

#### GİRİŞ

### İKİNCİ BÖLÜM 4

#### KURAMSAL ÇERÇEVE/ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Diabetes Mellitus Hastalığı .....	4
2.2. Diyabetik Nöropati .....	11
2.3. Matrix Metalloproteazlar .....	16
2.4. MMP-9 .....	22
2.5. ADAMTS Enzim Ailesi .....	23

### ÜÇÜNCÜ BÖLÜM 33

#### MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Türü .....	34
3.2. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi .....	34
3.3. Veri Toplama Yöntemi .....	34
3.4. Etik .....	34
3.5. Çalışmaya Dahil Etme ve Dışlama Kriterleri .....	35
3.6. Kan Alma ve Analizler .....	35

3.7. Araştırmanın Sınırlılıkları .....	39
3.8. Verilerin Değerlendirilmesi .....	39

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM 39

ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. ADAMTS4 Seviyeleri ELISA Testi Analiz Bulguları .....	40
4.2. ADAMTS5 Seviyeleri ELISA Testi Analiz Bulguları .....	43
4.3. MMP9 Seviyeleri ELISA Testi Analiz Bulguları .....	46

BEŞİNCİ BÖLÜM 50

TARTIŞMA

ALTINCI BÖLÜM 55

SONUÇ

KAYNAKÇA .....	57
EKLER .....	I
EK 1: ETİK KURUL ONAY FORMU .....	I
EK 2- KATILIMCILAR İÇİN ONAM FORMU .....	II
ÖZGEÇMİŞ.....	<b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>AKG</b>	Açlık Kan Glukozu
<b>AChE</b>	Asetilkolin Esteraz
<b>ADAMs</b>	Disintegrin ve Metalloproteinaz Alanı
<b>ADAMTs</b>	Trombospondin Tip 1 Motifli Disintegrin ve Metalloproteinaz
<b>ADAM9</b>	Disintegrin ve Metalloproteinaz Alanı İçeren Protein 9
<b>ADAMTS4</b>	Disintegrin ve Metalloproteinaz ile Trombospondin Motif4
<b>AGE</b>	Yüksek İleri Glikasyon Son Ürünleri
<b>ApoE</b>	Apolipoprotein
<b>APP</b>	Amiloid Öncü Protein
<b>A<math>\beta</math></b>	Amiloid Beta
<b>BuChE</b>	Bütirilkolin Esteraz
<b>CRD</b>	Koni Çubuk Atrofisi
<b>CSPGs</b>	Toplayıcı Kondritin Sülfat Proteoglikanları
<b>DM</b>	Diabetes Mellitus
<b>DSPNP</b>	Distal Duysal ve Sensorimotor Polinöropati
<b>ECM</b>	Ekstraselüler Matriks
<b>EGF</b>	Epidermal Büyüme Faktörü
<b>ICD</b>	Hücre İçi Alan
<b>KTS</b>	Karpal Tünel Sendromu
<b>MMPs</b>	Metalloproteinaz
<b>MRI</b>	Manyetik Rezonans Görüntüleme
<b>NFY</b>	Nötrofil Yumak
<b>NMDA</b>	N-Metil-D-Aspartik Asit
<b>NO</b>	Nitrik Oksit
<b>OOTT</b>	Oral Glukoz Tolerans Testi
<b>PDGF</b>	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
<b>PKC</b>	Protein Kinaz C
<b>PNP</b>	Polinöropati
<b>PSEN1/2</b>	Presenilin 1/2
<b>ROS</b>	Reaktif Oksijen Radikalleri
<b>SSS</b>	Merkezi Sinir Sistemi

**TIMP**

Metalloproteinaz Doku İnhibitörü



## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo No</b>	<b>Tablo Adı</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1</b>	Diabetes mellitus ve glukoz metabolizmasının diğer bozukluklarında teşhis ölçütleri (TEMĐ, 2022)	5
<b>Tablo 2</b>	ADA ve WHO'ya göre GDM teşhis ölçütleri (TEMĐ, 2022)	8
<b>Tablo 3</b>	Diyabetik Nöropati Sınıflandırması (TKNEED, 2021)	12
<b>Tablo 4</b>	ADAMTS4'ün Serum Düzeylerine İlişkin Betimleyici İstatistik Verileri	40
<b>Tablo 5</b>	ADAMTS4'ün Plazma Düzeylerine İlişkin Betimleyici İstatistik Verileri	41
<b>Tablo 6</b>	ADAMTS4'ün Plazma ve Serum Düzeylerine İlişkin Bağımsız Örneklem İçin T Testi	42
<b>Tablo 7</b>	ADAMTS4'ün Plazma ve Serum Düzeylerine İlişkin Bağımsız Örneklem İçin T Testi	42
<b>Tablo 8</b>	ADAMTS5'in Serum Düzeylerine İlişkin Betimleyici İstatistik Verileri	43
<b>Tablo 9</b>	ADAMTS5'in Plazma Düzeylerine İlişkin Betimleyici İstatistik Verileri	44
<b>Tablo 10</b>	ADAMTS5'in Plazma ve Serum Düzeylerine İlişkin Bağımsız Örneklem İçin T Testi	45
<b>Tablo 11</b>	ADAMTS5'in Plazma ve Serum Düzeylerine İlişkin Bağımsız Örneklem İçin T Testi	45
<b>Tablo 12</b>	MMP9'un Serum Düzeylerine İlişkin Betimleyici İstatistik Verileri	46
<b>Tablo 13</b>	MMP9'un Plazma Düzeylerine İlişkin Betimleyici İstatistik	47

	Verileri	
<b>Tablo 14</b>	MMP9'un Plazma ve Serum Düzeyleri Arasındaki Farklılık	48
<b>Tablo 15</b>	Faktörler Arası Korelasyon Testi Sonuçları	49



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil No</b>	<b>Şekil Adı</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Şekil 1</b>	MMP Çeşitleri (Reel, 2006)	18
<b>Şekil 2</b>	MMP Enzim Aktivitesindeki Düzenleme (Reel, 2006)	20
<b>Şekil 3</b>	ADAMTs Molekülünün Şematik Gösterimi (Paulissen vd., 2009)	23
<b>Şekil 4</b>	ADAMTs Ailesi Alt Birimleri (Kelwick, 2015)	24
<b>Şekil 5</b>	ADAMTS Gen Ailesi ve Klasifikasyonu (Sunay vd., 2014)	27
<b>Şekil 6</b>	ADAMTS Proteinlerinin Yapısı (Yılmaz, 2020)	28
<b>Şekil 7</b>	Tau Üretiminde ADAMTS Etkileri (Gürses vd., 2016)	30
<b>Şekil 8</b>	ELISA Yönteminin Genel Uygulama Basamakları	35
<b>Şekil 9</b>	Diyabetik Nöropati Gelişiminin Patofizyolojik Süreci (Tanyeri, 2000)	50

## BİRİNCİ BÖLÜM

### GİRİŞ

Diabetes mellitus (DM), anormal karbonhidrat metabolizması ile karakterize bir sendromdur. Diyabetik nöropati, periferik nöropatinin diğer nedenleri dışında, diyabet sırasında klinik veya subklinik olarak ortaya çıkabilen periferik sinir hasarıdır. DM'de nöropati prevalansının %5-60 arasında değiştiğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Nöropati belirti ve bulguları olmayan sinir iletim bozuklukları dahil edildiğinde bu sayı %100'e kadar yükselmektedir (Terzi ve Cengiz, 2009) .

Diyabetiklerde yaygın olarak sinsi nöropati gözlenmektedir. Erken duyu etkilenmelerinden ayak başparmağında meydana gelen tutulum yukarıya doğru ilerlemektedir (Görgülü vd., 2022). Üst uzuvlar ise daha az sıklıkla etkilenmektedir. Daha şiddetli vakalarda karın ön orta hattı etkilenirken, bundan sonra duyu kaybı vücuda ve yan bölgelere doğru yayılmaktadır. Omurganın korunmadığı durumlarda miyelopati ile karıştırılabilme mümkündür. Asemptomatik bir hastada bile aşıl refleksi kaybolur ve titreşim hissi azalır (Said, 1996).

Hastanın diyabetik nöropati tanısı için öykü ve fiziki muayene bulguları ile klasik klinik değerlendirmesinin yanı sıra; morfolojik ve elektrofizyolojik çalışmalar ve kantitatif duysal testler çok önemlidir. Hastada klinik şikayetler, araştırma bulguları, elektrofizyolojik inceleme ile kantitatif duysal testlerden en az ikisi varsa nöropati olduğu söylenebilmektedir (Terzi ve Cengiz, 2009). Metabolik, vasküler, genetik, immün ve nörotropizm gibi birçok faktör patogeneze katkıda bulunur. Metabolizma ve kan damarlarının en önemli faktörler olduğu düşünülmektedir (Ünal vd., 2015). Diyabetik nöropatinin gelişimi için ana patojenik hipotezler, poliol yolu aktivasyonu, artmış enzimatik olmayan glikosilasyon, vasküler fonksiyon bozukluğu, lipid metabolizması bozuklukları ve nörotrofik bozukluklardır. Son zamanlarda, nöronları ve aksonları etkileyen yeni nörotrofinler ve büyüme faktörleri veya inflamatuvar mediatörler tanımlanmıştır (Ertur vd., 2020). Diyabetik polinöropatinin gelişimi için dört ana yoldan bahsedilmektedir (Marangoz, 2019);

- AGE ürünlerinin oluşumu ile sonuçlanan proteinlerin nonenzimatik glikasyonu,
- Artmış poliol yolağı,
- Protein kinaz c aktivasyonu,
- Artmış hexosamin yolağı.

Yukarıda sıralanan yollardan özellikle , yüksek ileri glikasyon son ürünlerinin (AGE) spesifik olarak hücrelere zarar verdiği ilk mekanizma endotelial hücrelerini içermektedir. İkinci mekanizma ise, hücre dışı matris moleküllerinin hücreden ayrılan AGE ürünleri tarafından modifiye edilmesidir (Parmaksız, 2011). AGE'ler başlıca iki şekilde diyabet komplikasyonları ile ilişkilidir. Bunlardan ilki; özellikle hücre dışı matris yapısal proteinleri arasında çapraz bağlar oluşturmak, matris yapısını ve işlevini bozmak veya daha fazlasıdır. Bir diğesinde ise, AGE'ler, bazı hücrelerde reseptörlerine bağlanarak birçok metabolik değişikliğe neden olmaktadır. Farklı transkripsiyon faktörleri ile sitokin sentezi ve salınmasına neden olan birtakım işaretlerin aktivasyonu ile bu durum sağlanabilmektedir (Yılmaz ve Karabudak, 2018).

Astrositler ve hücre dışı matris proteinleri, nöronlar arasındaki sinaptik fonksiyonların düzenlenmesinde çok önemli bir rol oynar. Ancak travma, inme ve nörodejeneratif hastalıklar gibi çeşitli patolojik durumlar astrositlerin aktivasyonuna yol açarak sinir rejenerasyonunu inhibe edici ve zararlı etkisi olan glial skar dokusunun oluşmasına neden olur. Bu, astrositlerin hücre dışı matrisinin bileşenlerini yok etmekten de sorumlu olan metalloproteinazların (MMP'ler) salınmasına neden olur (Abali vd., 2014). ADAMs'ler (disintegrin ve metalloproteinaz alanı) ve ADAMTs'ler (trombospondin tip 1 motifli disintegrin ve metalloproteinaz), matrix MMPs'leri içeren yeni bir MMPs sınıfı olarak kabul edilir. Matrix MMPs'ler, bazal laminanın degradasyonu ile ve kan-beyin bariyerini geçerek merkezi sinir sisteminde nöroinflamasyonu teşvik edebilir. Bununla birlikte, ADAMTs'lerin sinir sistemindeki rolü hakkında daha az şey bilinmektedir (Öztürk, 2013).

Diyabetik nöropatide sinir hasarının aşamalarından biri, hücre dışı matrisin parçalanmasıdır. Bir metalloproteinaz ve disintegrin olan ADAMTs ailesi, merkezi sinir sisteminde rejenerasyon, nöroplastisite, enflamasyon ile anjiyogenez olmak üzere çoğu fizyolojik ve patolojik evredeki hücre dışı matriste önemli işlevleri olan bir enzim grubudur. Birden çok alt tipi olan ADAMTs ailesinin ADAMTs-1, 4, 5 ve 9 şeklinde alt tipleri mevcuttur. Bunlardan ADAMTs-4 en yaygın olarak merkezi sinir sisteminde ifade edilir (Lamerchant vd., 2013). Hayvan çalışmalarında, ADAMTs-4'lü farelerde omurilikte nörodejenerasyonun arttığı ve amyotrofik lateral sklerozlu farelerde daha kötü hastalık prognozunun olduğu bulunmuştur. ADAMTs1 ve ADAMTs4 için de aynı durum gösterilmiştir (Yılmaz, 2020). Metalloproteinaz olan MMP9 ayrıca hücre dışı matris

bozulmasını da artırabilmektedir (Genç, 2016). En önemli agrekanazlardan biri olan ADAMTs-4, osteoartrit ve nöral plastisitede önemli bir rol oynar (Pektanç, 2017).

Dünyada oldukça yaygın olan diyabet hastalığının ciddi komplikasyonlarının ve nörolojik tahribatının erken teşhisi, erken önlem alınması ve konforlu bir yaşam sürme açısından oldukça etkilidir. Bu hastaların yaşam konforları ciddi şekilde etkilenmektedir. ADAMTs-4, ADAMTs-5 ve MMP9 seviyeleri, literatürde artan borderline lezyonların belirteçleri olarak gözlenmiştir. Bu nedenle diyabetik nöropatide ADAMTs-4, ADAMTs-5 ve MMP9 serum düzeylerinin belirlenmesi hastalığın patogenezinin anlaşılmasına yardımcı olur. Bu çalışmanın amacı serum ADAMTs-4, ADAMTs-5 ve MMP9 düzeylerinin belirlenmesi ve bu sayede diyabetik nöropatinin tanı, tedavi ve önlenmesine yönelik stratejilerin geliştirilebilemsine yardımcı olmaktır. Ayrıca ADAMTs-4 ve ADAMTs-5 düzeylerinin saptanmasının erken tanı ve patogenez için olduğu kadar yeni tedavi yaklaşımlarının belirlenmesi açısından da önemli olduğu düşünülmektedir.

## İKİNCİ BÖLÜM

### KURAMSAL ÇERÇEVE/ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

#### 2.1. Diabetes Mellitus Hastalığı

##### Diabetes Mellitus'un Tanım ve Tarihçesi

Diyabet; insülin, hormonun yeterince salgılanmaması, etkisinin yetersiz kalması veya her ikisinin birden olması durumunda kişinin kanında hiperglisemi ile seyreden metabolik bir hastalıktır. Kronik dönemde diyabetin neden olduğu hiperglisemi başta böbrekler, sinirler ve gözler olmak üzere çeşitli organlara zarar verebilmektedir (Saeedi vd., 2019).

Diabetes Yunanca "sifon" anlamına gelir, çok idrara çıkma anlamına gelmektedir. Mellitus ise Latince "bal" anlamındaki "mel" sözcüğünden ileri gelmiştir. William Cullen, 19. yüzyılda hastaların idrarının tatlılığından dolayı "şeker hastalığı" kelimesini "mellitus"a eklemiştir (Dobson, 2012). Mısır'da M.Ö. 16. yüzyılda diyabetten bahsedilmektedir. Ebers Papirüsünde. M.Ö. 400 yılında, eski Hintli doktorlar hastalarının idrarının karınca ve sineklerle dolu olduğundan, hastaların idrarlarının tadında bir tatlılık olduğunu düşünerek tespit ettikleri hastalık için tatlı idrar manasındaki "madhumeh" sözcüğünü kullanmışlardır (Yılmaz, 1996). Aşağıda kronolojik olarak diyabet hakkındaki gelişmeler sıralanmıştır;

- 1815'te Chevreul, idrardaki şekerin "glikoz" olduğunu açıkladı,
- 1889'da Oskar Minkowski yaptığı deneylerle pankreasın şeker hastalığından sorumlu organ olduğunu belirlemiştir,
- 1921'de insülin Banting ve Best tarafından keşfedildi,
- 1955'te, diyabet tedavisi için oral diyabet ilaçları (tolbutamid) hastaların kullanımına sunulmuştur,
- 1973'te Danimarkalı şirketler Nova ve Leo, saflaştırılmış ve antikor içermeyen insülin türleri geliştirdi (ADA, 1998).

Günümüzde tamamen sentetik bir ürün olan insan insülini "Rekombinant DNA" teknolojisi kullanılarak üretilmektedir.

## Tanı

İnsülin pankreasta üretilir, kandaki glikozu hücrelere dönüştürür, böylece hücreler glikozu enerji olarak kullanabilir. İnsülinin protein ve yağ metabolizması üzerinde de etkisi vardır. İnsülin eksikliği veya hücrelerin insüline direnci hiperglisemiye neden olur. Hiperglisemi diyabetin ilk belirtisidir. Uzun süreli kontrolsüz insülin birçok vücut organına zarar verebilir. Bu zararlar arasında kalp ve damar hastalıkları, sinir hasarı ile böbrek ve göz hastalıkları ilk sıralarda yer almaktadır. Ancak diyabet kontrol altına alınırsa bu zararlar uzun vadede korunabilir. Açlık kan şekerinin 126 mg/dL'nin üzerinde olması veya aç-tok farketmeksizin ölçümlenen kan şekerinin 200 mg/dL'nin üzerinde olması durumunda diyabet tanısı konulur (Kocasoy Orhan, 2004).

Açlık kan glukoz testine (AKG) kıyasla, 75 g glukoz ile tanı için standart oral glukoz tolerans testi (OGTT) daha duyarlı ve spesifiktir. Ancak OGTT'nin sınırlı kullanımı, aynı kişide yüksek günlük değişkenlik ile maliyetli olmasından kaynaklanmaktadır. Öte yandan AKG kullanımının daha kolay ve ucuz olması klinik pratikte kullanımını artırmaktadır. OGTT diyabeti teşhis etmesine rağmen, diyabetik olmayan bireylerde glikosile hemoglobin A1C (HbA1C:A1C) AKG'den yüksek değildir (<%6). Tip 1 diyabet tanısı için OGTT genellikle gerekli değildir çünkü hastalık klinik olarak belirgindir (TEMD, 2022). Aşağıdaki tabloda DM için tanı kriterleri detaylı olarak paylaşılmıştır (Tablo 1).

Tablo 1

Glukoz metabolizması ile Diabetes mellitus'un diğer bozukluklarında kullanılan teşhis ölçütleri (TEMD, 2022)

<b>Diabetes mellitus</b>	<b>Kriterler</b>
Rasgele glukoz (+diyabet semptomları)	≥200
OGTT'de 2. saat KG	140–199
AKG (min. 8 saat açlığın ardından)	≥126
Bozulmuş Açlık Glukozu (IFG) (*)	
OGTT'de 2. saat KG	≥200
Bozulmuş Glukoz Toleransı (IGT)	
AKG (min. 8 saat açlığın ardından)	100–125

\*2006 yılı WHO/IDF Raporunda normal AKG kesim noktasının 110 mg/dl ve IFG 110-125 mg/dl olarak korunması benimsenmiştir.

AKG: Açlık kan glukoz düzeyi,  
2.saat KG: 2. saat kan glukoz düzeyi,  
OGTT: Oral glukoz tolerans testi,  
IGT: Bozulmuş glikoz toleransı,

IFG: Bozulmuş açlık glukozu,  
WHO: Dünya Sağlık Örgütü,  
IDF: Uluslararası Diyabet Federasyonu.

Teşhis ölçütleri, venöz plazmada glukoz oksidaz yöntemiyle elde edilen ölçümlere dayanır. Hastaların klinikte veya evde kan şekeri takibi için kullanılan tam kan şekeri (KG), kılcal damar kg ve serum şekeri değerleri biraz daha düşüktür. Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre, açlık durumundaki mutlak kılcal KG seviyesi venöz plazma ile aynıdır, ancak yemek yerken, kılcal damardaki KG seviyesi yaklaşık olarak plazmadakinden daha düşüktür. Aşağıda plazma glukoz düzeylerinin hesaplanmasına ilişkin formüller verilmiştir. Bu formüllerde venöz plazmadaki glukoz düzeyi 126 mg/dl, kanda ise ~% 11 (112 mg/dl), serumda ~% 5 (120 mg/dl) ve son olarak kapiller kanda ~% 7 (118 mg/dl) olarak daha düşük ölçümlenmektedir (Şahin ve Öncel, 2014).

$$\text{Plazma glukoz (mg/dl)} = 0.558 + [20.254 \times \text{tam KG (mg/dl)}/18] \quad (2.1)$$

$$\text{Plazma glukoz } \left(\frac{\text{mg}}{\text{dl}}\right) = 0.102 + [19.295 \times \text{kapiller KG (mg/dl)}/18] \quad (2.2)$$

$$\text{Plazma glukoz (mg/dl)} = -0.137 + [18.951 \times \text{serum glukoz (mg/dl)}/18] \quad (2.3)$$

## Sınıflandırma

### *Tip 1 Diabetes Mellitus Hastalığı:*

Tip 1 diyabette vücudun bağışıklık sisteminin hücreleri pankreasın hücrelerine saldırır ve bu hasar nedeniyle insülin salgılanmaz, bu nedenle otoimmün reaksiyonun nedeni tam olarak bilinmemektedir. Viral enfeksiyonların neden olduğu belirli kalıtsal genlerin veya belirli çevresel maruziyetlerin bu otoimmün reaksiyonu tetiklediği düşünülmektedir. Tip 1 diyabet her yaşta ortaya çıkabilir, ancak çoğunlukla çocukluk döneminde ortaya çıkar. Tip 1 diyabetli hastalar günlük olarak insülin enjekte etmelidir. Bu hastalar eksojen insülin olmadan yaşayamazlar. Düzenli insülin tüketimi ve uyarlanmış fiziksel aktivite ve yaşam tarzı, hastalığın olumsuz sonuçlarını geciktirebilir. Hastalık genellikle çocukluk çağında ortaya çıktığı için hastaların tedaviye uyumu zordur veya bazı ailelerin tedaviyi karşılayamaması nedeniyle diyabetik ketoasidozlu hastalarda ciddi sağlık sorunları gelişebilir (Kahn vd., 2009).

### *Tip 2 Diabetes Mellitus Hastalığı:*

Tip 2 diyabette hiperglisemi, hücrelerin insüline dirençli hale gelmesine neden olur. İnsülin direnci sırasında, insülin verimsizliği nedeniyle pankreasta insülin üretimi artar. Ancak zamanla pankreas ihtiyacı karşılayacak kadar insülin salgılayamaz ve hiperglisemi oluşur. Tip 2 diyabet en çok yaşlılarda görülür, ancak yetersiz fiziksel aktivite ve obezite nedeniyle genç insanlarda da görülebilir. Tip 2 diyabetin belirtileri genellikle Tip 1 diyabetinkine benzer. Bununla birlikte, tip 2 diyabetin tam olarak ne zaman ortaya çıktığını bilmek imkansızdır çünkü sonuçları daha az dramatiktir. Tip 2 diyabet vakalarının neredeyse üçte biri ön tanının uzun sürmesi nedeniyle teşhis edilememiştir. Uzun süredir tanı konulamayan hastalarda ilk tanı anında retinopati, diyabetik nöropati ve nefropati semptomları da olabilmektedir. Tip 2 diyabetin nedenleri tam olarak anlaşılammıştır, ancak aşırı kilo ve obezite, yaşlanma, etnik köken ve aile öyküsü ile güçlü bir şekilde ilişkilidir. Tip 1 diyabet gibi, tip 2 diyabet de birkaç genetik yatkınlığın ve çevresel tetikleyicilerin bir kombinasyonundan kaynaklanır. Tip 2 diyabet yönetiminin temel taşı, sağlıklı beslenme, düzenli egzersiz, sigarayı bırakma ve sağlıklı kiloyu korumayı içeren yaşam tarzı teşvikidir. Yaşam tarzı değişiklikleri kan şekerini kontrol etmek için yeterli değilse, oral ilaçlar genellikle ilk ilaç olarak metformin ile başlatılır. Tek bir antidiyabetik ilaçla tedavi yetersiz kaldığında, artık çeşitli kombinasyon terapi seçenekleri mevcuttur (örn., sülfonilüreler, dipeptidil peptidaz 4 (DPP4) inhibitörleri, glukagon benzeri peptit 1 (GLP-1) analogları). Oral ilaçlar hiperglisemiyi tavsiye edilen seviyelere getiremezse insülin enjeksiyonları gerekli olabilir. Küresel olarak, tip 2 diyabet prevalansı yüksektir ve tüm bölgelerde artmaktadır. Büyüme, nüfusun yaşlanması, ekonomik gelişme ve kentleşme tarafından yönlendirilmektedir (Kahn vd., 2009).

### *Gestasyonel Diabetes Mellitus:*

Birçok toplumda gestasyonel diyabet taraması için 50 gram (g) glukoz ile testi pozitif çıkan gebelere birkaç gün sonra 100 g glukoz ile 3 saatlik OGTT yapılır. OGTT’de alternatif olarak 75 g glukozlu ve 2 saatlik öneriler bulunmaktadır (Tablo 2).

Tablo 2

ADA ve WHO’ya göre GDM teşhis ölçütleri (TEMĐ, 2022)

ADA kriterleri	Açlık	1. saat	2. saat	3. saat
100 gr Glukoz ile OGTT (min. 2 patolojik sonuç teşhis için yeterlidir.)	>95	>180	>155	>140
75 gr Glukoz ile OGTT (min. 2 patolojik sonuç teşhis için yeterlidir.)	>126		>200	
75 gr Glukoz ile OGTT (min. 2 patolojik sonuç teşhis için yeterlidir.)	>95	>180	>155	
WHO kriterleri				

50 g glukozlu tarama testi; gebeliğin 24. ve 28. haftaları arasında herhangi bir dönemde (açlık-tokluk durumuna bakılmaksızın) anneye 50 g glukozlu sıvı içirildikten 1 saat sonra KG düzeyinin 140 mg/dl’ye eşit ya da üzerinde olması normal değildir.

100 g glukozlu OGTT; 50 g glukozlu tarama testinde pozitif sonuç alan gebelerde tanının kesinleştirilmesi için uygulanmalıdır.

75 g glukozlu OGTT; WHO ve bazı otoriteler, gebeler için de tıpkı gebe olmayan erişkinlerde olduğu gibi 75 g glukozlu, 2 saatlik OGTT yapılmasını yeterli görmektedir (Tablo 2.2) (TEMĐ, 2022).

#### *Diğer Diyabet Tipleri:*

Diyabetle ilişkili genetik sendromlar aşağıdaki gibi sıralanabilmektedir (IDF, 2019);

- Pankreatit, travma, enfeksiyon, pankreas kanseri ve pankreatektomi gibi ekzokrin pankreas hastalıklarının neden olduğu diyabet,
- Anti-insülin hormonlarının aşırı salgılanmasına neden olan endokrin bozuklukların neden olduğu diyabet,
- İnsülin sekresyonunu veya insülin etkisini bozan ilaçlardan kaynaklanan ilaç ve kimyasal kaynaklı diyabet,
- Beta hücrelerini yok eden viral bir enfeksiyonun neden olduğu enfeksiyöz diyabet,

- Aşılannmış diyabetin yaygın olmayan spesifik formları (tip 1 diyabete neden olanlar dışındaki immünolojik bozukluklar).

### **Diyabet Komplikasyonları**

Diyabet hastalarının birkaç ciddi sağlık sorunu riski daha yüksektir. Sürekli yüksek kan şekeri, kalbi ve kan damarlarını, gözleri, böbrekleri ve sinirleri etkileyen ciddi hastalıklara neden olabilmektedir. Ek olarak, diyabet hastalarının enfeksiyon kapma riski daha yüksektir. Diyabet hastalığı, gelir düzeyi yüksek olan hemen hemen tüm ülkelerde diğer bazı rahatsızlıkların (görme bozuklukları, alt ekstremitte amputasyonları, kalp-damar rahatsızlıkları, böbrek yetmezliği vb.) sebebi olarak belirlenmiştir. Diyabet hastalarında kan şekeri, basıncı ve kolesterol düzeylerinin normal düzeyde tutulabilmesi, diyabet hastalığında ortaya çıkan komplikasyonların geciktirilmesi ya da önlenmesinde son derece etkindir. Diyabetli hastalar komplikasyonlar açısından düzenli olarak izlenmelidir (Satman vd., 2014).

#### *Kardiyovasküler Hastalık:*

Kardiyovasküler hastalıklar, diyabetiklerde en yaygın ölüm ve sakatlık nedenidir. Diyabetle ilişkili kardiyovasküler hastalık türleri arasında anjina, miyokard enfarktüsü (kalp krizi), konjensif kalp yetmezliği, periferik arter rahatsızlığı ve inme gibi rahatsızlıklar da yer almaktadır. Diyabetli kişilerde yüksek tansiyon, yüksek kolesterol, yüksek kan şekeri ve diğer risk faktörleri kardiyovasküler komplikasyon riskini artırmaktadır (Çayır ve Turan, 2015).

#### *Böbrek Hastalığı:*

Nefropati, yani böbrek rahatsızlıkları diyabetli kişilerde diyabeti olmayanlara göre daha yüksek oranda rastlanmaktadır ve diyabet, kronik böbrek hastalığının birincil sebeplerindendir. Hastalığa, böbrek fonksiyonunu bozabilen veya tamamen başarısız olabilen küçük kan damarlarının hasar görmesi neden olur. Normal kan şekerini ve kan basıncını korumak, nefropati riskini önemli ölçüde azaltabilir (İmamoğlu vd., 2015).

### *Göz Hastalığı:*

Diyabetli çoğu insan, görüşü bozabilen veya körlüğe yol açabilen bir tür göz hastalığı (retinopati) geliştirir. Sürekli yüksek kan şekeri seviyeleri, yüksek tansiyon ve yüksek kolesterol ile retinopatinin ana nedenleridir. Retinopatide retinayı besleyen kan damarı ağı bloke olabilir ve hasar görebilir, bu da kalıcı görme kaybına yol açar. Retinopati, düzenli göz muayeneleri ve normal glikoz seviyelerinin korunması ile tedavi edilebilir (Satman vd., 2014).

### *Sinir Hasarı:*

Kan şekeri ve tansiyon çok yüksekse diyabet vücudun sinirlerine zarar verebilir (nöropati). Sindirim ve idrara çıkma, iktidarsızlık ve diğer birçok işlevde sorunlar olabilir, ancak en çok etkilenen bölgeler uzuvlar ve özellikle ayaklardır. Bu bölgelerdeki sinir hasarı periferik nöropati olarak adlandırılır ve ağrı, karıncalanma ve his kaybına neden olabilir. Duyu kaybı özellikle önemlidir çünkü ciddi enfeksiyonlara, diyabetik ayağa ve amputasyonlara yol açabilecek yaralanmaları belirleyebilir (Reyhanoğlu vd., 2018).

### *Diyabetik Ayak Problemi:*

Diyabet hastaları, sinir ve kan damarı hasarının bir sonucu olarak bir dizi farklı ayak problemi geliştirebilir. Bu problemler kolaylıkla enfeksiyonlara ve ülserlere yol açarak kişinin uzuvlarının kesilme riskini artırır. Diyabet hastalarının, diyabeti olmayan kişilere göre 25 kat daha fazla amputasyon riski vardır. Ayrıca, diyabetle ilişkili amputasyonların çoğu, kapsamlı tedavi ile önlenir. İyi bir takip bakımı ile multidisipliner bir ayak ekibi ile amputasyon olsa bile kalan bacak ve kişinin hayatı kurtarılabilir. Şeker hastalarının ayakları düzenli olarak kontrol edilmelidir (Ertürl vd., 2004).

### *Hamilelik Komplikasyonları:*

Hamilelik sırasında herhangi bir diyabet türünden muzdarip olan kadınlar, durumlarını dikkatli bir şekilde izleyip yönetmezlerse çeşitli komplikasyonlarla karşılaşma riski altındadır. Tip 1 diyabetli kadınların, komplikasyonları en aza indirmek için gebelik öncesinde ve gebelik sırasında daha fazla planlamaya ve izlemeye ihtiyacı vardır. Hamilelik sırasında yüksek kan şekeri, fetüste aşırı kilo alımına (makrozomi) ve aşırı

insülin üretimine yol açan değişikliklere neden olabilir. Doğum sırasında sorunlara, bebek ve annede travmaya ve doğumdan sonra bebeğin kan şekeri ani düşüşe (hipoglisemi) neden olabilirler. Anne karnında uzun süre yüksek kan şekeri maruz kalan çocukların gelecekte diyabet geliştirme riski daha yüksektir (Akarsu vd., 2008).

## **2.2. Diyabetik Nöropati**

Diyabetik nöropati, periferik nöropatinin diğer nedenleri dışında, diyabet sırasında klinik veya subklinik olarak ortaya çıkabilen periferik sinir hasarıdır.

### **Epidemiyoloji**

Diyabet tanısı konulmuş hastaların yalnızca %10'unda nöropati gözlemlenirken, 20 yıllık bir sürecin ardından oran %50'ye çıkmaktadır. Sinir ileti anomalikleri bu oranlara eklendiğinde (nöropati bulgu ve semptomları hariç) ise bu oran %100'e kadar çıkmaktadır. Tip 2 diyabet tanısı konulduktan sonraki 9 yıl içinde nöropatinin başladığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Terzi ve Cengiz, 2009). Nöropatinin en yaygın şekli distal duyuşal ve otonomik polinöropatidir. Karpal tünel sendromu (KTS) en yaygın mononöropatidir. Risk, 20 yıldan daha uzun süredir şeker hastalığına sahip kişilerde ve diyabeti iyi kontrol edilemeyen hastalarda iki katına çıkmaktadır. Nöropatinin mortalite üzerinde çok az etkisi vardır. Tip 1 DM ve şiddetli nöropatisi olan hastalarda %44 oranında dizabilite ile tip 2 DM ve duyuşal nöropatisi olan hastalarda %74 oranında kısmi aktivite kısıtlılığı bildirilmiştir (Bird ve Brown, 1996).

### **Sınıflandırma**

Diyabetik nöropati sınıflandırması aşağıdaki tabloda verilmiştir (Tablo 3).

Tablo 3  
Diyabetik Nöropati Sınıflandırması (TKNEED, 2021)

Sınıflandırma
I. Asimetrik Multifokal Polinöropati
• Proksimal Diyabetik Polinöropati (Diyabetik amiyotrofi-Lumbal radiküloplexopati)
• Trunkal Polinöropati (Trokolomber radikülopati)
II. Diyabetik Mononöropatiler
• Kranial Nöropatiler
• Ekstremit Nöropatileri
• Mononöropati Multiplex
III. Simetrik Jeneralize Polinöropati
• Akut Polinöropati
- Kaşektik Polinöropati
- Akut Ağrılı Duysal Polinöropati
- Hiperglisemik Polinöropati
- Hiperinsülin Polinöropati
• Kronik Polinöropati
- Otonomik Polinöropati
- Distal Sensorimotor Polinöropati
- Konik İnflamatuar Demiyelizan Polinöropati ile Kombinasyon

*Distal Duysal ve Sensorimotor Polinöropati (DSPNP):*

Bu, diyabetik polinöropatiler (PNP) arasında en yaygın sendromdur. Bu tip 2 diyabette daha sık görülür. Çok yavaş gelişen, uzun süre asemptomatik ve sinsi kalan bir nöropati türüdür. Erken duyu tutulumu ayak başparmağında başlar ve yukarıya doğru ilerler. Primer refleks kaybı erken dönemde görülse de ileri evrelerde yaygın hipo/arefleksi görülür. Özellikle distal alt ekstremitede titreşim algılama eşiği yükselir. İntrinsik bacak kaslarında orta derecede atrofi ve parezi gözlemlenebilir. DSPNP, geniş ve küçük fiber tipleri olarak iki gruba ayrılır. İki form sıklıkla bir arada bulunsa da biri tek başına da görülebilir (Yoldaş vd., 2007).

*Otonomik Nöropati:*

Diyabetik otonomik nöropatinin çoğunlukla küçük miyelinli ve miyelinsiz sinir lifleri tutumu nedeniyle distal simetrik polinöropati ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Tüm diyabet hastalarının %5'inde görülür. Genellikle herhangi bir belirtiyeye neden olmaz. Klinik

olarak ortostatik hipotansiyon, nöropatik ödem, kardiyak aritmiler, anhidroza bağlı kuru ayaklar, gece terlemeleri, cinsel işlev bozukluğu ve nörojenik mesane şeklinde kendini gösterir (Araç 2017).

*Akut Ağrılı Diyabetik Polinöropati:*

Alt ekstremiteleri aşan bulgularla seyreden, ani ve belirgin kilo kaybının takip ettiği şiddetli, geri dönüşümsüz yanıcı ağrı ile karakterizedir. Sinir biyopsisi, tüm lifleri etkileyen akut aksonal dejenerasyonu gösterir. Nöropatik semptomlar, uygun diyabet kontrolü ve kilo alımı ile azaltılabilir (Ünal vd., 2015).

*İnsülin Nöropatisi:*

İnsülin tedavisinin başlamasının ardından metabolik yollarda insülinin etkisiyle meydana gelen ve yaklaşık olarak 21-28 günlük süreç içerisinde kaybolan bir polinöropatidir (Delibaş ve Kılınç, 2013).

*Kaşektik Polinöropati:*

Akut ağrılı bir polinöropati şekli olan kaşektik polinöropatiye, genel olarak diyabet kontrolünü sağlayamayan kadın hastalarda rastlanmaktadır. Hasta ağrılı polinöropati belirtileri ile hızla kilo verir (20-25 kg) ve insülin tedavisine dramatik yanıt verir (Güntel ve Uysal, 2021).

*Proksimal Diyabetik Polinöropati (Diyabetik Amiyotrofi):*

Diyabetik amiyotrofi, subakut ya da akut olarak rastlanabilen, gürültülü ve asimimetrik bir başlangıçla ortaya çıkmaktadır. Diyabetik amiyotrofi çoğunlukla alt ekstremitelerde pronlemi olan kişilerde, ilk tanıda özellikle kalça ve uyluk bölgesinde şiddetli ağrı ile kendisini göstermektedir. Pek çok hastada 8-12 aylık süre içerisinde içinde spontan kısmi veya tam iyileşme meydana gelmektedir (Nacır vd., 2009).

*Trunkal Radikülopati:*

Diyabetik amiyotrofi gibi, diyabet sırasında görülen ve nedeni tam olarak anlaşılamayan akut veya yavaş ilerleyen bir durumdur. Orta yaşlı ve yaşlı diyabetiklerde ve tip 2 diyabette görülür. En görünür belirti ağrıdır. EMG tanı için önemlidir ancak bölgedeki EMG hem karışık hem de çok kompleks olduğundan dolayı göğüs paravertebral kası ile de faaliyet gösterebilmektedir. Fakat bu tanı kriteri kesin olarak güvenilir olmadığı için ayırıcı tanıda görüntüleme çalışmalarından yararlanılmalıdır (Longstreth, 2005).

#### *Kranial Nöropatiler:*

Çoğunlukla kan şekeri dengesi bozuk olan yaşlı hastalarda görülür. Vakaların yarısında ağrı aynı göz çevresindedir. Spontan gelişmeler aylar içinde görülebilir. Altıncı kraniyal sinirin tutulumu da nadir değildir (Ünal vd., 2015).

#### *Tuzak Nöropatisi:*

Tuzak nöropatilerin diyabet hastalığıyla tam olarak ilişki içerisinde olduğu konusunda net bir görüşe varılamamıştır. Hem karpal tünel sendromu hem de fibüler sinir tuzak nöropatisinin diyabette oldukça yaygın olduğu gösterilmesine rağmen, diyabetik olmayan popülasyonunda da yaygındır. Bu nedenle şeker hastalığına neden olan olayı açıklamadan önce detaylı bir şekilde araştırılması gerekir (Karakoyun ve Çalık, 2019).

### **Diyabetik Nöropatinin Tanısı**

Hastanın diyabetik nöropati teşhisi için hem hastanın öyküsü hem de fiziki muayene bulguları ile geleneksel klinik değerlendirmesinin yanı sıra; morfolojik ve elektrofizyolojik çalışmalar ve nicel duyuşal testler çok önemlidir. Hastada klinik şikayetler, araştırma bulguları, elektrofizyolojik çalışmalar ve kantitatif duyuşal testlerden en az ikisi varsa nöropati olduğu söylenebilir (Ünal vd., 2015).

#### *Patogenezi:*

Metabolik, vasküler, kalıtım, bağışıklık sistemi ve nörotropizm gibi birçok faktör patogeneze katkıda bulunur. Metabolizma ve kan damarlarının en önemli faktörler olduğu düşünülmektedir. Diyabetik nöropatinin gelişimi için ana patojenik hipotezler, poliöl yolu

aktivasyonu, artmış enzimatik olmayan glikosilasyon, vasküler fonksiyon bozukluğu, lipid metabolizması bozuklukları ve nörotrofik bozukluklardır. Son zamanlarda, nöronları ve aksonları etkileyen yeni nörotrofinler ve büyüme faktörleri veya inflamatuvar mediatörler tanımlanmıştır. Diyabetik polinöropati gelişiminde dört ana yol vardır:

1. Artmış poliol yolağı,
2. AGE ürünlerinin oluşumu ile sonuçlanan proteinlerin nonenzimatik glikasyonu,
3. Protein kinaz c aktivasyonu,
4. Artmış hexosamin yolağı (Marangoz, 2019).

Artmış poliol yolağı; Kronik hiperglisemi, poliol yolunu aşırı aktive eder. Aldoz redüktaz, glikozu sorbitole dönüştürür ve başka bir enzim olan sorbitol dehidrogenaz, sorbitolu fruktoza dönüştürür. Glikozdaki bir artış, sinirin hem çevresinde hem de içerisinde poliol yolu akışında bir yükselmeye neden olur. Sorbitol ve fruktozdaki artış sinir dokusuna zarar verir Miyoinositol eksikliği, poliol yolunun indüksiyonunun başlangıç noktasıdır. Daha sonra, diyabette sinir iletiminin akut yavaşlaması, miyoinositole bağlı Na,K-ATPaz'da bir kusura neden olur. Na,K-ATPaz sinir iletimiyle bir ilişki içerisinde ve bunun sonucunda, iletim hızı düşmektedir (Baram ve Elçioğlu, 2016).

AGE ürünlerinin oluşumu ile sonuçlanan proteinlerin nonenzimatik glikasyonu; Plazma ve doku proteinlerinin glikosilasyonu, gelişmiş glikoz son ürünlerinin oluşumuna yol açan diyabetik makro ve mikrovasküler komplikasyonlarda önemli bir rol oynar. Kronik hipergliseminin bir sonucu olarak, AGE ürünlerinin üretimine bağlı olarak makro ve mikro ölçekte aterogenez meydana gelir. Kronik hiperglisemide, dolaşımdaki aşırı glikoz türevleri amino asitlerle birleşir. Bu enzimatik olmayan reaksiyon başlangıçta erken geri dönüşümlü glikosilasyon ürünleri ve daha sonra hücre içi ve hücre dışı matris proteinleri ile etkileşime giren ve bunların işlevini etkileyen geri dönüşümsüz gelişmiş glikosilasyon son ürünleri üretir. AGE ürünleri, endotel hücreleri, makrofajlar ve mikroglia'da RAGE'ye (ileri glikasyon son ürünleri için reseptör) bağlanarak plazma proteinlerini değiştirir. Bu şekilde reaktif oksijen radikallerinin (ROS) oluşumunu tetikler. Bu, proinflamatuvar gen ekspresyonunu tetikler. Bloklar ve büyüme faktörleri makrofajlar ve mezangiyal hücreler tarafından salgılanmaya başlar (Macit ve Akbulut, 2015; Yılmaz ve Karabudak, 2018).

Ekstrasellüler matriks (ECM) proteinleri, ECM proteinlerinin çapraz bağlarında yapısal kusurların ve proteolizin başlamasıyla sonuçlanan glikasyonun hedeflerinden

biridir (Duran-Jimenez vd., 2009). Astrositler ve hücre dışı matriks proteinleri, nöronlar arasındaki sinaptik fonksiyonların düzenlenmesinde çok önemli bir rol oynar. Bununla birlikte, travma, inme ve nörodejeneratif rahatsızlıklar gibi çeşitli patolojik vaziyetler, astrositlerin sinir rejenerasyonu üzerinde inhibe edici ve tahribata yol açan bir etkisi olan glial skar dokusu oluşturmak için aktivasyonuna neden olur. Bu durum aynı zamanda astrositlerin hücre dışı matriks bileşenlerinin yıkımından da sorumlu olan metalloproteinazların (MMP'ler) salınımına neden olur. AGE'nin diğer etkileri arasında; vasküler geçirgenlikte artış, prokoagülan aktivite, adezyon moleküllerinin ekspresyonu ve monosit sayısında artış yer almaktadır (Bayram vd., 2016).

Protein kinaz c aktivasyonu; Fazla kan şekeri, diaçilgliserol'ü aktif protein kinaz c'ye dönüştürür. Aktive edilmiş protein kinaz c, vasküler hücre geçirgenliğini ve proliferasyonunu ve ECM proteinlerinin ve sitokinlerin üretimini destekler. Böylece vazokonstriksiyon ve sinir iskemizi meydana gelir. Bu nörojenik değişiklikler diyabetik nöropatiye yol açar (Bayram vd., 2016).

Artmış hexosamin yolağı; Üridin difosfat-N-asetilglukozamin (UDPGlcNAc), heksamin yolundaki normal hücreler için gerekli olan transkripsiyon faktörlerini düzenler. Yüksek kan şekeri, heksamin yolunun glikolitik araçlarını değiştirir ve heksamin yoluna bu glikoz akışı, hücre içinde hücrel hasara ve oksidatif strese neden olur (Bayram vd., 2016).

### **2.3. Matrix Metalloproteazlar**

ECM bileşenlerini parçalayan,  $Zn^{++}$  ve  $Ca^{++}$  bağımlı nötr pH aktif endopeptidazların bir multigen ailesidir. Hücre dışı matriks, metaloproteinazlar (MMP'ler) aracılığıyla sentez, parçalanma ve yeniden şekillenme süreçlerinde hücrel düzenleme ve dönüşüm gibi etkilerini ortaya koymaktadır. Fibroblastlar, kondrositler, endotel hücreleri, osteoblastlar, nötrofiller ve makrofajlar olmak üzere farklı bağ dokusu hücrelerince proenzim olarak salgılanmaktadırlar. MMP'ler, yara iyileşmesi, kemiğin yeniden şekillenmesi, rahim ve meme dokusunun fizyolojik fonksiyonları, yumurtlama, embriyo oluşumu, embriyo implantasyonu, laktasyon gibi fizyolojik süreçlerde ve artrit, tümör hücrel invazyonu ve metastaz gibi patolojik süreçlerde yer alır (Şen, 2012).

## **Matriks Metalloproteinazların Tarihçesi**

Matris metaloproteinazlar (MMP'ler) ilk olarak 1949'da depolimerize edici enzimler olarak tanımlandı ve MMP'lerin yanstrozu ve anjiyogenezi teşvik ettiği ve tümör büyümesini teşvik ettiği öne sürüldü. 13 yıl sonra, matris metaloproteinazlar ilk kez omurgalılarından izole edildi ve kolajenazın iribaş rezorpsiyonuna neden olduğu bulundu. Çeşitli memeli matriks metalloproteinazları, önümüzdeki 20 yıl içinde kısmen saflaştırıldı (Kavak, 2008; Şen, 2012).

1980'lerin sonunda moleküler biyolojideki gelişmeler ve yeni enzimler ile enzim yapılarında benzeşmeler olduğu belirlenmiştir. Matriks metaloproteinazların bağ dokusu rejenerasyonundaki görevi, aşağı yukarı 25 yıl önce, eklem iltihabı ve artritte kırık ve kemik hücre dışı matrisinin anormal dönüşümüne ilişkin çalışmalarda belirlenmiştir. Literatürde yer alan araştırmalar, klasik matriks metaloproteinazların ve yeni ortaya çıkarılan matris metaloproteinaz enzim familyalarının epifiz kırık displazisi, kanser ve metastaz, kalp yetmezliği ve serebral iskemide önemli roller oynadığını göstermiştir (Şen, 2012).

## **Metallo Proteinazların Yapısı**

Matris metaloproteinazlar, birkaç ortak yapısal özelliği paylaşır. MMP'lerin yapısı genellikle, enzimin N-terminal lider dizisi olan bir predomain içerir. Bu lider sekans, enzimi salgılamak için işaretler ve salgılamadan sonra kaybolur. Başka bir bölge olan proalan, enzim stabilitesinden sorumludur ve enzim aktivasyonundan sonra kaybolur. Bir sonraki bölge,  $Zn^{++}$  bağlama bölgesini içeren katalitik bölgedir. Katalitik alan ayrıca 2-3  $Ca^{++}$  iyonu içerir. Bu bölge stabilite ve enzim aktivitesi için gereklidir (Kuzuya ve Iguchi, 2003). MMP-7 ve MMP-26 dışında kalan MMP'ler, alan olarak C terminalinde hemopeksin/vitronektin benzeridir. Aslında bu bölge bir hemopeksin bağlayıcı peptiddir ve jelatinaz kümesinden endojen matris metaloproteinazların (TIMP) doku inhibitörlerinin MMP-13 ile MMP'lere bağlanmasında rol oynar. Alan olarak katalitik bölge hemopeksin benzeri alana bağlanan peptid prolindir, prolince zengindir ve menteşe bölgesi olarak adlandırılır (Ramos-DeSimone vd., 1999).

Matriks metalloproteinazlar hücre dışı proteinlerdir. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda MMP-1, MMP-2 ve MMP-11'in hücrede de bulunduğu ve hücre içi proteinler

üzerinde etkileri olduğu bildirilmiştir. Tipik bir MMP propeptit bölgesi, 80 amino asit, katalitik bölgede 170 amino asit ve menteşe ve hemopeksin bölgelerinde 200 amino asit içerir. Bu genelliğe ek olarak, MMP-7, MMP-26 ve MMP-23, menteşe ve hemopeksin alanları içermez (Nagase, 1997). Matriks metalloproteinazlar, ortaya çıkan bazı fizyolojik olaylarda (embriyonik gelişim, hücre göçü, yara iyileşmesi, doku rezorpsiyonu, blastokist bağlanması, organ gelişimi, sinir büyümesi, ovulasyon, servikal dilatasyon, endometriyal dönüşüm, anjiyogenez, apoptoz, kemik rejenerasyonu) yer alır ve çok önemlidir (Şen, 2012).

### **Metallo Proteazların Çeşitleri**

Günümüzde henüz 23'ü insanlarda bulunan 24 farklı MMP tanımlanmıştır. MMP'ler, substrat özgüllüğü, sekans benzerliği ve alan içeriğine dayalı olarak altı kümeye ayrılır. Bunlar;

- Kollajenazlar,
- Jelatinazlar,
- Stromelisinler,
- Matrilizinler,
- Membran tipi MMP'ler,
- Diğer MMP'ler (Hidalgo ve Eckhardt, 2001).

Aşağıda Şekil 1'de MMP çeşitleri detaylı olarak sıralanmıştır.

Grup adı	Tanımlayıcı isim	Numara	Temel substrat
Kollajenazlar	İnterstisyel kollajenaz	MMP-1	Kollajen Tip 1, 2, 3, 7 ve 10, jelatin, PG
	Nötrofil kollajenaz	MMP-8	Kollajen Tip 1, 2, 3, PG
	Kollajenaz 3	MMP-13	Kollajen Tip 1, 2, 3
	Kollajenaz-4	MMP-18	Kollajen I
Jelatinazlar	Jelatinaz A	MMP-2	Jelatin, kollajen IV, V, VII; X, XI, elastin
	Jelatinaz B	MMP-9	Jelatin, kollajen IV, V, XIV, elastin, PG
Stromelisinler	Stromelisin 1	MMP-3	PG, laminin, FN, jelatin, kollajen III, IV, IX ve X
	Stromelisin 2	MMP-10	PG, laminin, FN, jelatin, kollajen III, IV, IX ve X
	Stromelisin 3	MMP-11	PG, laminin, elastin, entaktin, tenaskin, versikan, jelatin, kollajen III, IV, IX, X
Membran tipi MMP'ler (MT-MMP'ler)	MT1-MMP	MMP-14	Kollajen I, II, III, FN, laminin, VN
	MT2-MMP	MMP-15	Agrekan, FN, laminin, tenaskin
	MT3-MMP	MMP-16	Kollajen III, FN, jelatin
	MT4-MMP	MMP-17	Jelatin
	MT5-MMP	MMP-24	PG
	MT6-MMP	MMP-25	Kollajen IV, fibrin, FN, jelatin
Diğerleri	Matrilisin 1	MMP-7	Serin proteaz inhibitörleri
	Metaloelastaz	MMP-12	Kollajen I, IV, elastin, FN, jelatin, laminin, VN
	RASI-1	MMP-19	Kollajen IV, entaktin, FN, jelatin, laminin, tenaskin
	Enamelisin	MMP-20	Agrekan, amelogenin
	X-MMP	MMP-21	Tanımlanmamıştır
	CA-MMP	MMP-23	Tanımlanmamıştır
	Matrilisin 2	MMP-26	Kollajen IV, FN, jelatin, VN
	CMMP (Horoz)	MMP-27	Tanımlanmamıştır
Epilisin	MMP-28	Tanımlanmamıştır	

PG: Proteoglikan, FN: Fibronektin, VN: Vitronektin,|

Şekil 1. MMP Çeşitleri (Reel, 2006).

#### *Kollajenazlar:*

MMP-1, MMP-8, MMP-13 ve MMP-18 kollajenaz grubuna aittir. Bu enzimlerin temel özelliği hücreler arası boşlukta tip I, II, III kollajeni parçalayabilmeleridir (Apakkan Aksun vd., 2001).

#### *Jelatinazlar:*

Jelatinaz grubu, MMP 2 (jelatinaz A) ve MMP 9'u (jelatinaz B) içerir. Bu grup, denatüre kollajenleri ve jelatinleri basit bir şekilde zorlukla karşılaşmadan sindirir (Apakkan Aksun vd., 2001).

#### *Stromelisinler:*

Başlıca substratlar proteoglikanlar, tip 4 kollajen, laminin ve fibronektindir. Stromelizin-1 ile Stromelizin-2 olmak üzere iki çeşittir (Apakkan Aksun vd., 2001).

#### *Matrilizinler:*

Matrilizler, bir hemopeksin alanının olmaması ile karakterize edilir. MMP-7 (Matrilysin-1) ve MMP-26 (Matrilysin-2) bu gruba aittir ve endometazlar şeklinde de ifade

edilebilirler. ESM içeriğine ek olarak, MMP-7 hücre yüzey molekülleri pro- $\alpha$ -defensin, fas-ligand, TNF- $\alpha$  ve E-cadherini de etkiler (Apakkan Aksun vd., 2001).

#### *Membran tipi MMP'ler:*

Membran tipi matriks metaloproteinazlar (MT-MMP'ler) hücre zarına bağlı bulunurken, diğer matris metaloproteinazlar hücre dışı boşluğa proenzimler olarak salgılanır. Yapısal olarak birbirlerine benzeyen membran tipi MMP'ler, önemli substratlar olarak kollajenler, fibronektin ve proteoglikanlar ile çoklu substratlara sahip güçlü matris metaloproteinazlardır (Reel, 2006).

#### *Diğer MMP'ler:*

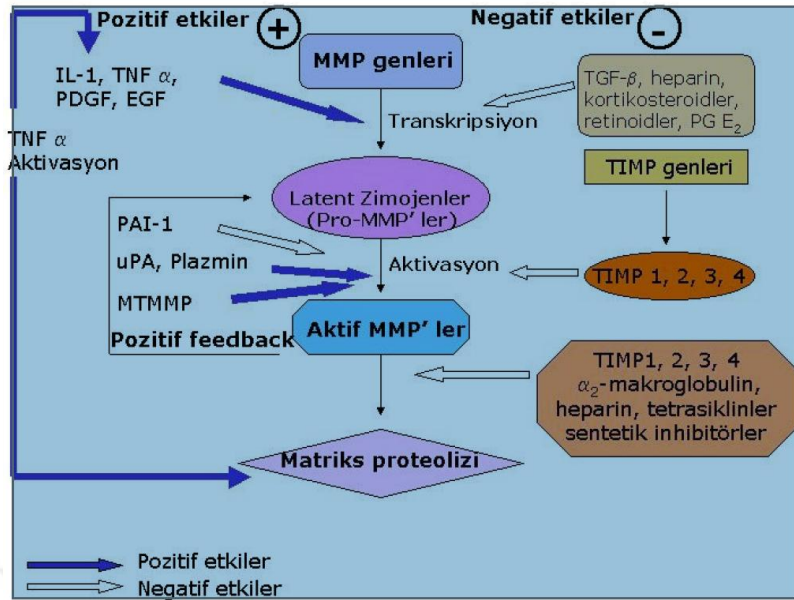
Bu gruptaki MMP'ler yukarıdaki gruplara dahil değildir. Metalloelastazlar esas olarak makrofajlarda eksprese edilir ve makrofaj göçünde önemli bir rol oynar (Şen, 2012).

### **MMP Aktivitesinin Düzenlenmesi**

MMP'ler vasküler ECM'nin yıkımında önemli bir rol oynar. Tüm MMP'ler proenzimler olarak sentezlenir ve çoğu, zimojenin aktif olmayan gizli bir formu olan proenzim olarak salgılanır. Gizli zimojenlerin aktivasyonu, hücre içinde, MT-MMP'ler tarafından hücre yüzeyinde, diğer proteazlar tarafından hücre dışı boşlukta veya "aktivasyon kademesi" şeklinde ifade edilen veya diğerlerini aktive eden önceden aktifleştirilmiş MMP'ler tarafından oluşabilmektedir. MMP'lerde proteolitik aktivitenin düzenlenmesi üç adımda gerçekleşir ve bunlar aşağıdaki gibi sıralanabilmektedir;

- Transkripsiyon,
- Pro-enzimin etkinleşmesi,
- Enzim etkinliğinin baskılanmasıdır.

Aşağıda Şekil 2'de MMP'lerde enzim aktivitesi düzenlemeleri gösterilmiştir.



Şekil 2. MMP Enzim Aktivitesindeki Düzenleme (Reel, 2006).

#### *Transkripsiyon:*

Tümör nekroz faktörü- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), enflamatuar sitokinler (interlökin-1 (IL-1) gibi), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), çoğu büyüme faktörü ve epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi hormonlar tarafından MMP gen ekspresyonu uyarılmaktadır. MMP gen transkripsiyonunun inhibisyonu ise dönüşen büyüme faktörü- $\beta$  (TGF-b), heparin, kortikosteroidler, retinoidler, prostaglandin E2 (PGE2) ve diğer eikozanoidler tarafından sağlanmaktadır. Aynı zamanda ateroskleroz ve restenozda mühim aracı faaliyetler gösteren çoğu sitokinle büyüme faktörü MMP transkripsiyonunda da önemli role sahiptir (Öztürk, 2013).

#### *Pro-enzimin Etkinleşmesi:*

Sentezlenmelerinin ardından inaktif proenzim olarak salınma geçen MMP'lerin temel fizyolojik aktive edicileri plazmindir. Enzimin pro-bölgesinde yer alan sistein sülfidril grubuyla, aktif bölgedeki  $Zn^{++}$  arasında olan ilişki, geç kalmayı engellemektedir. Ürokinaz tipi plazminojen aktivatörün (uPA) endotel hücresi, monosit-makrofaj, düz kas hücresi gibi farklı hücrelerde eksprese edilen aktif formunun, plazminin plazminojene dönüştürülmesini sağladığı ve oluşan plazminin pro-MMP'lerin aktivasyonunu sağladığı bildirilmektedir. Steroid hormonları, hücrel onkogenler, sitokinler ve büyüme faktörleri

uPA'nın ekspresyonunu düzenlemektedir ve uPA aracılı aktivasyon basamağındaki bir MMP aktivasyonu, bir diğer MMP'nin aktivasyonuna neden olarak, aktive olmuş enzim, başka MMP'nin aktive olmasını sağlayan çevrim meydana getirmektedir. Bu bilgiler ışığında plazmin MMP-1, MMP-9 ve MMP-3 aktif duruma geçebilmektedir. Pro-MMP-1, MMP-1'e MMP-3 ile çevrilebilmektedir. Bunun yanı sıra pro-MMP-9, MMP-1 tarafından aktif hâle geçirilebilmektedir. Buradan hareketle MMP'ler ile MMP-2'nin etkinleştiricisi rolünde MT-MMP'ler görülmektedir (Borkakoti, 1998).

#### *Enzim Etkinliğinin Baskılanması:*

Dokuya özgü inhibitörler olan TIMP'ler, MMP aktivitesinin düzenlenmesinde anahtar rol oynamakta olup, aktif MMP inhibitörleri aşağıdaki gibi sıralanmaktadır (Reel, 2006);

- $\alpha$ 2-makroglobulin,
- heparin,
- tetrasiklinler,
- Sentetik inhibitörler.

Bağ dokusu metabolizmasında etkin bir role sahip olan ve düzenlenmeyi sağlayan mühim proteinler TIMP'lerdir. Bu proteinler hem dokuların yapısına katılmakta hem de vücut sıvılarının yapılarında yer almaktadırlar. Katalitik aktivite tutulmasını, gizli enzim yapısının aktifliğini engellemek için geri döndürülmeyecek şekilde kovalent olmayan bağla bağlanan TIMP'ler, MMP enziminin aktivasyonu ile birlikte MMP/TIP dengesinin de korunmasını sağlarlar. İnsanlarda tanımlanan dört tip TIMP, 1, 2, 3 ve 4'tür. Tıpkı MP'lerde olduğu gibi sentezlenmelerinden vasküler düz kas hücreleri, kan hücreleri, endotel hücreleri, makrofajlar ile bağ dokusu hücreleri sorumludur (Reel, 2006).

#### **2.4. MMP-9**

Jelatinaz b olarak da bilinen MMP-9, ECM ayrışmasına katılan çinko metaloproteinaz ailesinin bir enzimidir. Bir sinyal proteini, bir propeptit, bir katalitik alan ve ardından bir C-terminali hemopeksin benzeri alan tarafından bağlanan üçlü bir fibronektin tip II alanından oluşur (Nagase, 1996). Elastaz ile birlikte MMP9, bazal membran boyunca nötrofil göçünde düzenleyici bir faktördür. MMP9, nötrofillerin hücre

dışı matrisin ayrıştırılmasında, IL-1 $\beta$  aktivasyonunda ve bazı kemokinlerin modifikasyonunda bu işlevinde rol oynar (Opdenakker vd., 2001). MMP9 ayrıca neovaskülarizasyon ve anjiyogenezde önemli bir rol oynar. Örneğin; MMP9'un malign gliomanın neovaskülarizasyonunda yer aldığı gösterilmiştir (Aras ve Zaidi, 2017).

### **Hücreden Salınımı**

MMP-9'un salgılanması farklı birçok hücre çeşidi tarafından sağlanmaktadır ve bu hücrelerin nötrofiller fibroblastlar ve makrofajlar olduğu bilinmektedir. Nötrofillerin içerdikleri proteazlar, serin proteazlar (katepsin G, elastaz, proteinaz 3), ürokinaz plazminojen aktivatörü (uPA) ile MMP'ler (MMP-8 ve -9) olarak ifade edilebilmektedir. MMP-9 aktivasyonu nötrofil tarafından salınan bütün proteazlarca desteklenmektedir. Nötrofillerde MMP-9, granülosit farklılaşması sırasında medulla osseada sentezlenir (Tschesche vd., 2001). MMP-9'un bazı anahtar proanjyogenik faktörleri aktif hâle getirmesi nedeniyle ECM bozulmaktadır (Bekes vd., 2011).

## **2.5. ADAMTS Enzim Ailesi**

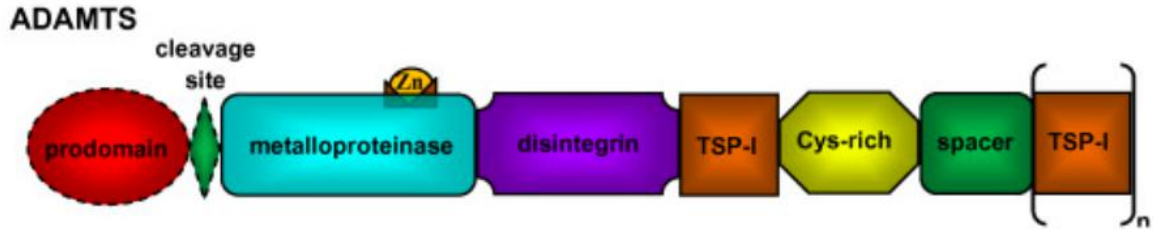
### **ADAMTS'lerin Genel Özellikleri**

ADAMTs'ler (disintegrin ve metalloproteinaz içeren trombospondin motifleri), çok sayıda alt birimi olan 19 üyeye sahip hücre dışı çinko metaloproteinaz enzim familyasıdır. ADAMTs'ler, metalopeptidaz alt ailesinin M12B adamalis dalını oluşturur. Yapı bakımından incelendiğinde ADAM'ler, A-disintegrin ve metalloproteaz molekülüne benzer olup, bütünleşik bir zar proteini olarak işlev görmelerine karşın ADAMTs'ler farklı alt birimlerin bir araya gelerek oluşturdukları proteolitik enzimler olarak bulunmaktadırlar (Gül, 2019).

ADAMTs üyelerinin tamamı (Şekil 2.4) sırasıyla aşağıda verilmiştir;

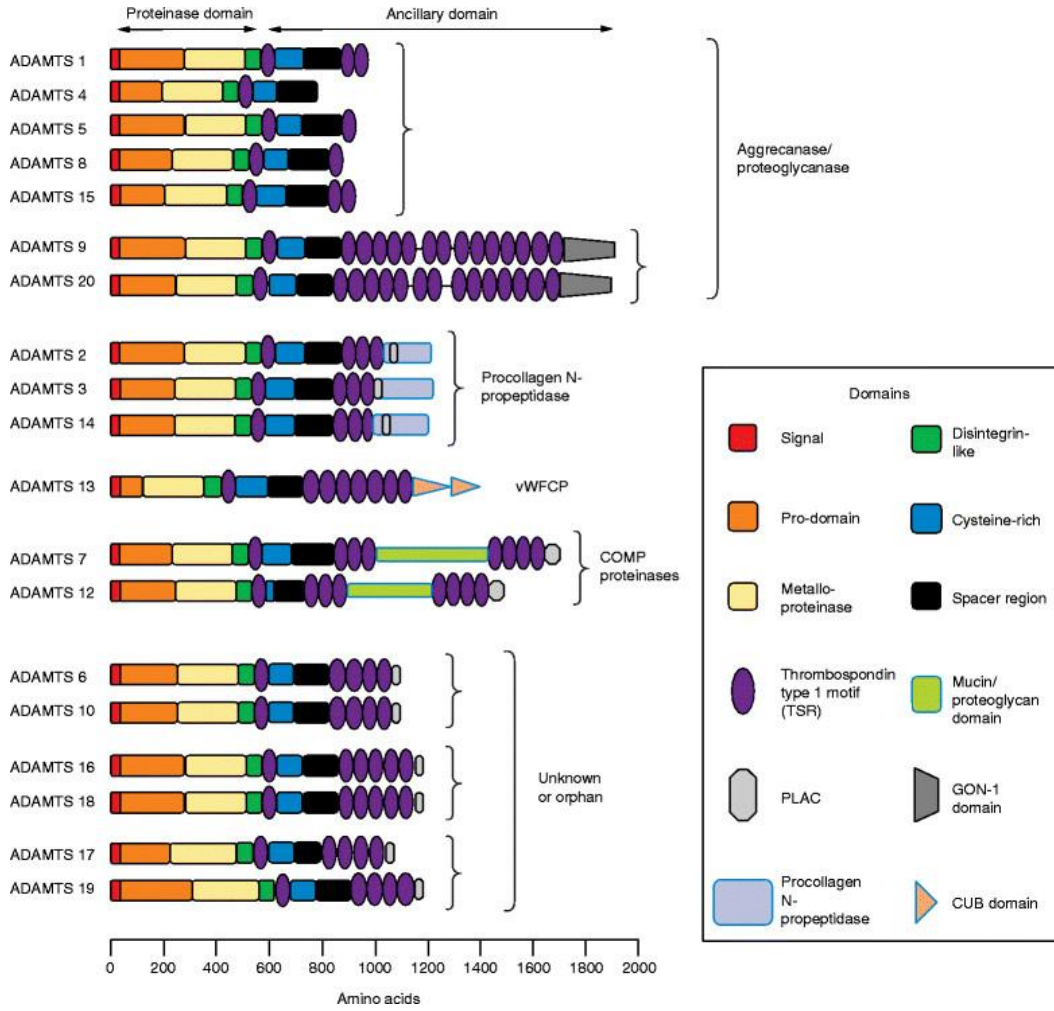
1. Sinyal peptid (Sekretuar yolaklara yönelmeyi sağlar),
2. Enzim aktivitesini geciktiren ünite (ADAMTs9 ve ADAMTs13 hariç),
3. Çinko bağlayan metalloproteinaz ünite,
4. Disintegrin benzeri ünite,

5. Merkez TSR (trombospondin tekrarı),
6. Sistein açısından yoğun bölge,
7. Farklı miktarlarda C terminal bölge TSR'leri bulunduran Spacer birimi (Şekil 3)  
(Sun vd., 2015).



Şekil 3. ADAMTs Molekülünün Şematik Gösterimi (Paulissen vd., 2009).

ADAMTs'ler proproteinler olarak sentezlendikten sonra, furin proprotein dönüştürücüler tarafından parçalanır ve Golgi aparatından geçiş sırasında aktif formlara dönüştürülür (Kumar vd., 2012). ADAMTs'nin katalitik işlev gören (metalloproteinaz) birimi katalitik bir çinkodan meydana gelir ve bu çinko 3 histidin kalıntısının koordinasyonu sağlanmaktadır. Bu aktif bölgeyi, ADAM ve Matrix Metalloproteinazlarında (MMP'ler) de görülen, yüksek oranda muhafaza edilmiş bir metionin kalıntısı izlemektedir. Katalitik ünitiden sonra bir parçalayıcıdır. İntegrinle disintegrin arasında bir etkileşime bulunmaz. Disintegrin'den sonra trombospondin tekrar bölgesi gelir. Bu trombospondin dizileri, ADAMTs'ye özeldir ve ADAMTs'yi hücre dışı matrise ve heparine bağlama özellikleri verir (Jones ve Riley, 2005). TSR'yi sistein açısından zengin, yüksek oranda korunmuş bir birim takip eder. Bunu, uzunluğu ve sıralaması değişen ancak genellikle N-terminaline doğru bazı hidrofobik kalıntılar içeren bir ayırıcı bölge izler. ADAMTs-4 dışındaki tüm ADAMTs'lerde, ayırıcı bölgeyi 1-14 arasında TSR takip eder (Gül, 2019).



Şekil 4 ADAMTs Ailesi Alt Birimleri (Kelwick, 2015).

ADAMTs, yapısal ve işlevsel olarak ortak yönlerine göre kendi aralarında 4 ayrı gruba ayrılır. Bu gruplar aşağıdaki gibi sıralanmaktadır;

- von Willebrand-yıkıcı faktör (ADAMTs-13),
- proteoglikanazlar,
- prokollajen-n-peptidazlar,
- Diğer ADAMTs'ler.

Yukarıda sıralanan gruplardan diğer ADAMTs'ler olarak sınıflandırılan grubun işlevleri tam anlamıyla aydınlatılamamıştır. Bu sebeple, bu grubun üyeleri yetim (orbo) olarak adlandırılır. ADAMTs (Apte, 2004), hücre dışı matrisi bozarak etki ettikleri çok çeşitli substratlara sahiptir. Bunlar arasında agrekanın parçalanmasını sağlayan agrekanaz grupları ADAMTs 1, 4, 5, 8, 9, 15 ve 20'dir. Bu grubun ADAMTs'leri, brevican ve versican'ın yanı sıra önemli bir kıkırdak proteoglikanı olan agrekan'ı yok etme yeteneğine

sahiptir. Brevican ve agrecan, yıkıcı özelliklerinden dolayı hiyalektanazlar olarak da adlandırılır (Gao vd., 2002). ADAMTs'nin etkili olduğu ya da görev aldığı süreçler arasında hücre dışı matriks üretimi ve yıkımı, interdigital ağ gerilemesi, kan pıhtılaşması, melanoblast gelişimi ve ovulasyon gibi fizyolojik etkiler ile patolojik olarak artrit, ateroskleroz, anjiyogenez, yara iyileşmesi ve kanser yer almaktadır (Gül, 2019).

### **ADAM-TS (ADAM+ Trombospondin)**

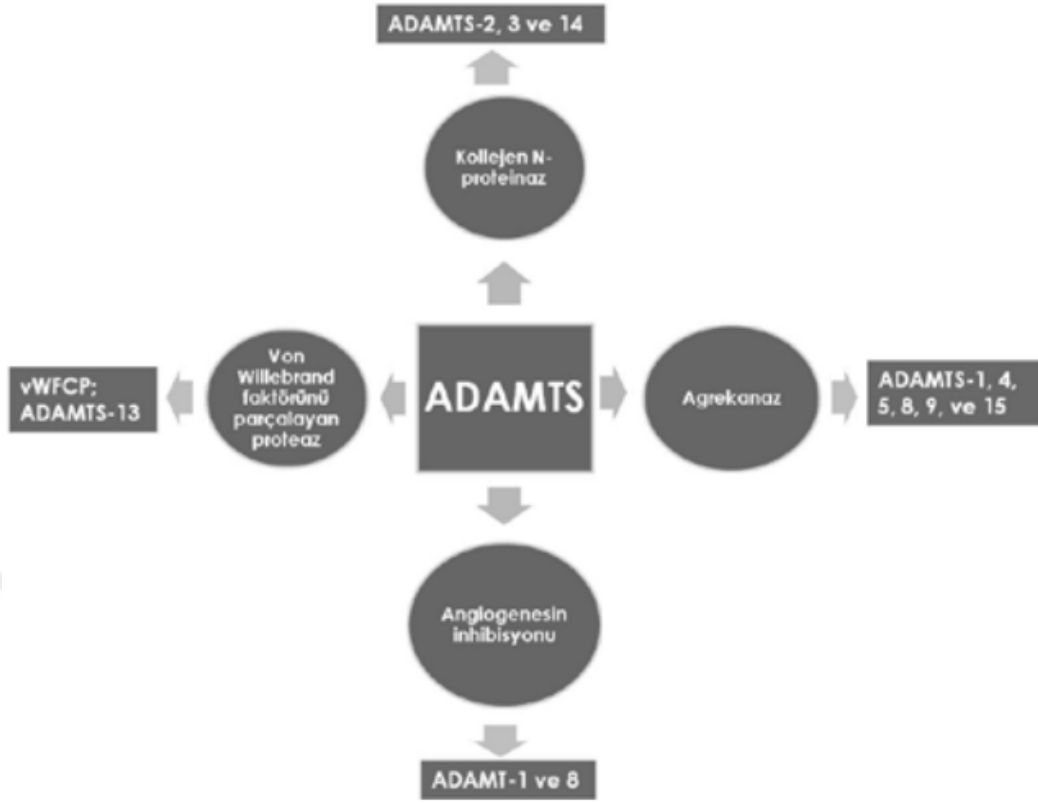
Pek çok fizyolojik süreçte rol oynayan hücre dışı matris (ECM) etkileşimi aynı zamanda hücreler için gereken mekanik desteği de sağlamaktadır (Rocks vd., 2008). Bunların yanı sıra yara iyileşmesi, programlanmış hücre ölümü, hücre migrasyonu ile embriyogenez sürecinde de mühim etkileri bulunmaktadır (Kuno vd., 1997; Doyle vd., 2004). Tüm bu sıralananlar haricinde ECM'nin önemli olduğu başka durumlar da mevcuttur. Dahası bu etkileşimler AIDS'ten tümör metastazına kadar pek çok patolojik süreçte önemli rol oynamaktadır (Hirohata vd., 2002; Hatipoğlu vd., 2009). ECM etkileşiminin büyük etkisinin olduğu hem patolojik hem de fizyolojik süreçlerde, hücre dışı ve hücre yüzey proteazları mühim rol oynamaktadır (Tang ve Hong 1999; Tang 2001; Porter vd., 2005).

ECM'nin proteolitik aktivitesi bulunmaktadır. Birçok molekül bu sürece dahil olur ve proteaz aktivitesine sahiptir. Bu farklı protein familyalarına ait moleküllerin gruplandırılması, alan yapısına dayanmaktadır. Gruplandırılan ilk moleküller serin proteazlardır ve aralarında ürokinaz, plazmin, trombin ve doku plazminojen aktivatörü içerirler. Bir diğeri çinko bağımlı endopeptidaz, matris metalloproteinazlardır (MMP'ler). Bu grupta 23 üye bulunmaktadır. Sıralanan bu gruplar geniş spektrumlu proteazlar olarak da ifade edilmektedir ve hücre dışı matris bozulmasıyla birlikte kanser metastazında da yer alırlar. Üçüncü gruplandırma kemik farklılaşma proteini 1/toloid ailesi ve metalloproteinazlardır. Son grup ADAM grubudur ve MDC (metalloproteaz/disintegrin/sistein) olarak da adlandırılırlar. Transmembran glikoproteinlerdir. Proteolize katılırlar ve hücreler arası yapışmada önemli bir rol oynarlar (Tang ve Hong 1999, Tang 2001, Porter vd., 2005, Rocks vd., 2008).

ADAM ailesinden proteinler, Zn'ye bağılı metalloproteinazlardır ve birden çok bölgeleri bulunmaktadır ve hücre zarında bulunurlar. Aslında kullanılan "ADAM" kısaltması bize molekülün yapısı hakkında bilgi sağlamaktadır. Bu bize içerdiği iki önemli

alan hakkında bilgi verir. Disintegrin ve metaloproteinazın önemi içerdiği etki alanlarından gelmektedir. Sıralanan bu alanlar ADAMs'ın, proteinazların ve yapışma proteinlerinin niteliklerini kapsamaktadır. Bu özellikler ADAM proteinlerini diğer hücre yüzeyi proteinlerinden farklı kılar. Hücre-hücre etkileşimlerinde ve hücre-matriks etkileşimlerinde etkin rol oynadığı düşünülmektedir (Tang ve Hong 1999, Tang 2001, Porter vd., 2005).

Büyük oranda tanımlanmış olan ADAM familyasının proteinlerine ek olarak Kuno vd., (1997) (Şekil 5), çalışmalarında ADAM ile ilgili proteinlerin başka bir grubunu tanımlamıştır. Çalışmada hücre hattı farelere enjekte edilmiş ve bu şekilde kaşeksik bir kolon kanseri sistemi oluşturulmuştur. Daha sonra meydana getirilen kanser için genler tanımlanmıştır. Bu çalışma, trombospondin tip 1 (TSP1) özelliklerine sahip keşfedilmemiş bir protein tanımlamıştır. Bu yeni grup ADAM familyasının üyelerine çok benzer olarak belirlenmiştir ve iltihaplanmayla da ilişkilidir. Çalışma sonucunda keşfedilen yeni protein familyası ADAMTS (trombospondin motifli disintegrin ve metaloproteinaz) olarak adlandırılmıştır. Çalışmanın sonucunda ADAMTs, ADAM ailesi ile hem benzerliklere hem de farklılıklara sahip olarak belirlenmiştir ve yapılarında ADAM proteinlerinin tüm alanları mevcut çıkmıştır. ADAM proteinleri gibi, hücre zarında bulunmadıkları ve hücre dışı matristen salgılandıkları tespit edilmiştir. Ayrıca kendilerine özgü TSP1 motiflerini de içerdikleri bu nedenle de ADAM grubuna dahil edilmedikleri ve yeni bir protein ailesi oluşturduklarını bildirmişlerdir.



Şekil 5. ADAMTS Gen Ailesi ve Klasifikasyonu (Sunay vd., 2014).

1997 yılında ilk üyesinin bulunmasından bu yana ADAM ailesine her gün yeni üyeler atanmaktadır. Bugüne kadar insanlarda 19 ADAMTS geni tanımlanmıştır. Bunlardan üçü ADAMTSL (ADAMTS-benzeri) adı verilen genlerdir. ADAMTS benzeri alanlara sahip olan bu genlerin tanımlanmasının ardından şüphesiz yapılan gruplandırma da revize edilmiştir. ADAMTS'nin yer aldığı önemli görevler (organogenez ve hücre dışı matris oluşumu vb.) bulunmaktadır. Gruplandırmaları aşağıdaki gibi yapılmaktadır;

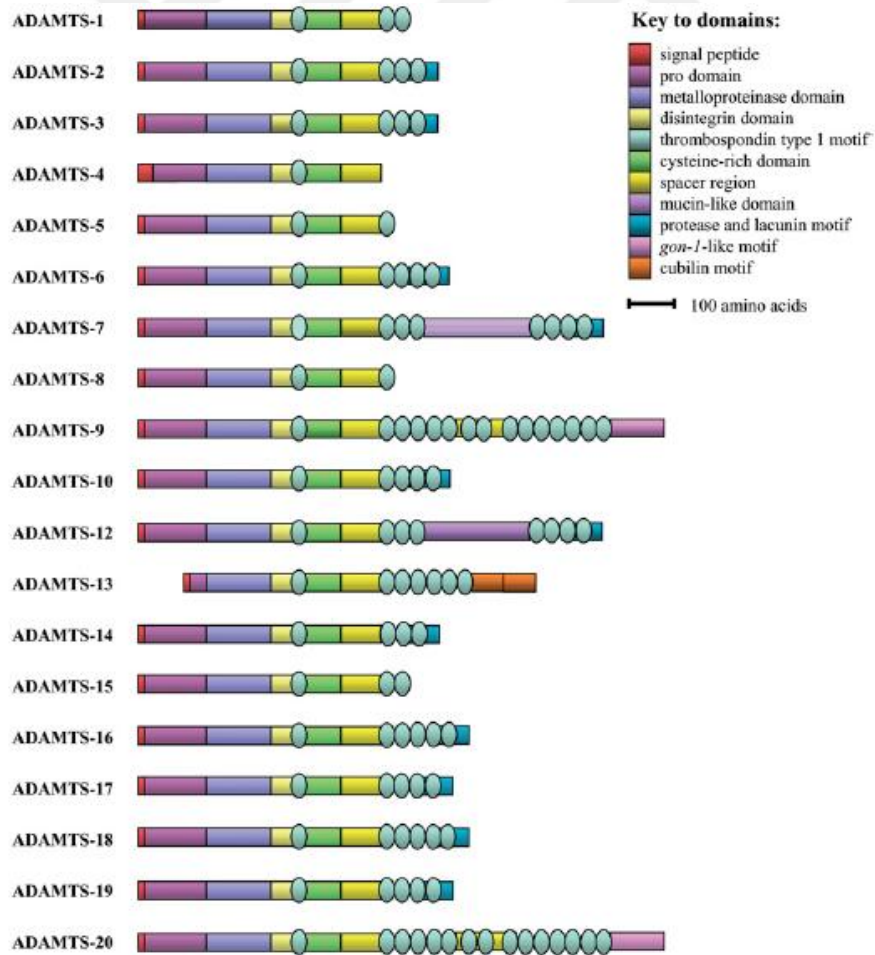
- Protein dizileri,
- Domainlerin organizasyonu,
- Substrat seçimi,
- Gen dizisi korunmuşluğu (Tang ve Hong 1999, Tang 2001, Porter vd., 2005, Jones ve Riley 2005).

Alt gruplar ise aşağıdaki gibi sıralanmıştır ve Şekil 2.7'de de gösterilmiştir:

1. ADAMTS2, grup 3 ve 14 kollajen N-proteinazlara aittir. Prokollajenin kollajene dönüştürülmesinde rol oynayan genler N-terminal propeptitlerini de uzaklaştırırlar.

2. ADAMTS1, 4, 5, 8, 9 ve 15 agrekanazlardır. Agrekanaz aktiviteleri sayesinde, bir matriks proteoglikan olan agrekanı etkili bir şekilde parçalamaktadırlar. Ek olarak, merkezi sinir sisteminde yardımcı bir rolü bulunduğu keşfedilen grubun, merkezi sinir sisteminde yüksek oranda ifade edilen brevica'yı düşürdüğü de bulunmuştur. Ayrıca kan damarlarında versanları parçalamaktadır.
3. ADAMTS-1 ve 8, anjiyojenezin inhibisyonunu sağlar.
4. ADAMTS13 (vWFCP) geni bir proteazdır ve von Willebrand faktörünü parçalar. VWF'nin de kan pıhtılaşma homeostazında önemli rol oynadığı bilinmektedir (Yılmaz, 2020).

ADAMTS'ın belirtilenlerin dışında başka işlevleri de bulunur ve enflamasyonda mühim rol oynarlar. Üstelik organogenez ve doğurganlıkta aktif rol oynarlar. Literatürde yer alan güncel araştırmalarca çoğu kanser ve artritte, ADAMTS genlerinin ekspresyonu farklıdır (Jones ve Riley 2005).



Şekil 6. ADAMTS Proteinlerinin Yapısı (Yılmaz, 2020).

## ADAMTS4 ve ADAMTS5

### *ADAMTS4 ve ADAMTS5'in Yapısı ve Bileşenleri:*

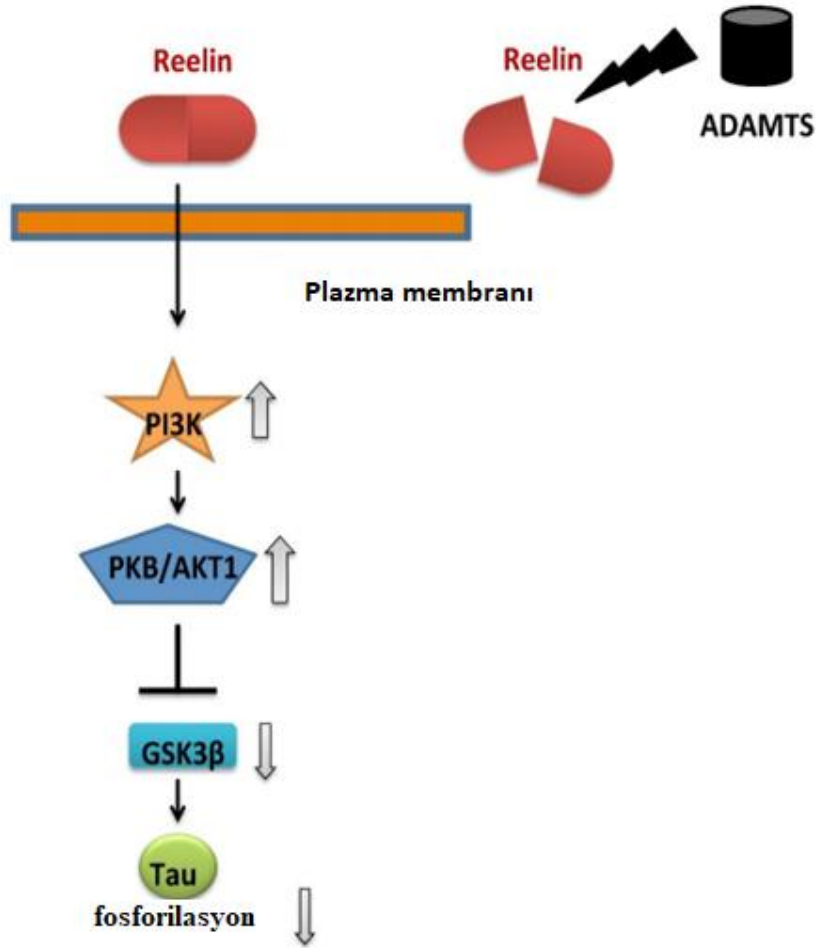
ECM'deki hiyalektanların proteolitik bozunması, tamamı spesifik Glu-X bağları üzerinde bir miktar glutamil endopeptidaz aktivitesine sahip olan ADAMTS metalloproteinaz familyasının alt bir grubunun aktivitesinden kaynaklanmaktadır (X'in çoğunlukla Ala veya Gly olduğu bulunmuştur. Ayrıca glikozaminoglikanlar yerine ikame edilmiş substratlar üzerindedirler). Bu sayede ADAMTS 1, -4 ve -5'in "agrekanaaz" aktivitesi, ADAMTS4'ün "brevikanaaz" aktivitesi ve ADAMTS 1 ve -4'ün "versikanaaz" aktivitesi sergiler (Tortorella vd., 1999; Matthews vd., 2000; Kuno vd., 2000).

Her substrat için en yüksek aktivitesi olan ADAMTS4'ün söz konusu aktivitenin açıklanmasında "hiyalektanaz" terimi kullanılmıştır. Ortak substrat özgüllükleriyle tutarlı bir şekilde ADAMTS 1, -4 ve -5, oldukça yüksek sekans homolojisini paylaşır ve bu açıdan, tümü prokollajen olan başka bir alt grup olan ADAMTS2, -3 ve -14'ten çok farklıdır. Klonlanmış, eksprese edilmiş ve saflaştırılmış 14 üyesi olan ADAMTS familyasının aktivasyon modu hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Aktive edilmiş ADAMTS4 (agrekanaaz-1) başlangıçta sığır nazal kıkırdak eksplantlarından 62-kDa dubleks protein olarak saflaştırılmıştır ancak ardından bir furin klivaj bölgesi (133) ile bir prodomain (kalıntı 1-207) içeren bir 837-kalıntı proteinine klonlanmıştır (133). (Kalıntı 208,212), parçalayıcı benzeri motif (kalıntı 441-462), katalitik alan (kalıntı 213-440), Cys açısından zengin alan (kalıntı 548 ve C-ucu), trombospondin-1 benzeri motif (kalıntı 463,547), C terminali aralayıcı alan (kalıntı 695-837) (Yılmaz, 2020).

### *ADAMTS4 ve ADAMTS5'in Fonksiyonu:*

ADAMTS-4 ve ADAMTS-5 agrekanaazları GAG-bağlanma bölgesindeki, Glu373-Ala374 bağındaki ve öteki 4 bölgedeki agrekanı parçalarlar. Glu373- Ala374 bağında IGD içindeki bölünmedense öteki 4 bölgenin in vitro olarak bölünmesi çok daha etkin olarak değerlendirilmektedir (Sugimoto vd., 1999). ADAMTS-4 ile ADAMTS-5'in bölünmesi sonucunda meydana gelmiş olan agrekan fragmanlarının IL-1 ile tümör nekroz faktörüyle muamele edilen sığır kıkırdak eksplantlarında tanımlanarak agrekan salınımlarını uyarmaktadırlar (Tortorella vd., 2001). Dahası, ADAMTS-4 ile ADAMTS-5, hem kan

damarlarında hem de merkezi sinir sisteminde sıklıkla bulunan kondroitin sülfat proteoglikanları brevicanı parçalayabilmektedirler (Matthews vd., 2000). ADAMTS-4'ün dekora ve karboksillenmiş transferrin fibromoduleline karşı etkili olması için C terminalinde işlenmiş olması gerekmektedir (Kashiwagi vd., 2004). Merkezi sinir sistemi fizyolojisi ve patolojisi ADAMTS-4'ün brevicanı bozma kabiliyetinden ileri gelmektedir. Buna bir örnek verilmesi gerekirse, invaziv gliomaların niteliği nedeniyle artan agrekanaz aracılı brevican bölünme gerçekleşmektedir (Matthews vd., 2000; Nakamura vd., 2000).



Şekil 7. Tau Üretiminde ADAMTS Etkileri (Gürses vd., 2016).

Şekil 7’de ADAMTS’nin TAU üretimi hakkındaki etkileri gösterilmiştir. Şekle bakıldığında ADAMTS, reelin reseptörlerine bağlandıktan sonra fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3K) ile protein kinaz B’yi (PKB / Akt) aktive etmekte olduğunu görürüz. Fosforilasyonun düzenlenmesinde rol oynayan glikojen sentaz kinaz 3β’nın (GSK3β) inhibe edilmesine mikrotübül stabilize edici protein tau neden olmaktadır. Reelin’in ADAMTS tarafından sindirilmesi ile birlikte sinyal yolunun neticesindeki tau

fosforilasyonunun artırılması depresyondaki reelin düzeyinden kaynaklanmaktadır (Yılmaz, 2020).

*ADAMTS4 ve ADAMTS5'in Aktivitesinin Regülasyonu:*

ADAMTS protein familyasının tüm üyeleri çoğunlukla inaktif formda sentezlenir; pre-proenzim olarak. Bunlar aşağıdaki yapıları içerir;

- Bir pro-domain,
- Merkezi bir TS motifi (trombospondin tip 1),
- Bir sinyal peptid,
- Bir metalloproteinaz katalitik domain,
- Sisteinden zengin bir domain,
- Bir disintegrin benzeri domain,
- Değişen miktarlarda TS motifi tekrarları,
- Bir spacer bölgesi.

ADAMTS ailesinin tüm üyeleri yukarıda sıralanmış olan sekiz bölgeye sahiptir. Bu bölgelere ek olarak, bazı grup üyeleri beş farklı bölgeden birini veya birkaçını içerebilmektedir. Molekülün karboksil ucunda her zaman bu alan bulunmaktadır (Tang ve Hong 1999, Tang 2001, Jones ve Riley 2005).

Birbirlerinden farklı adımlarla kontrollenen ADAMTS gen ifadeleri seviyelerinin bağlı olduğu transkripsiyon faktörleri ADAMTS4, NF factorB'dir (Bondeson vd., 2007; Bondeson vd., 2008). Tıpkı NFκB inhibitöründeki gibi ADAMTS4'ün de reseptörlerini azaltarak düzenlemesinin sitokin menşeli inflamasyon cevabının inhibisyonu terapötik stratejisine bağlıdır. TIMP (Tissue inhibitor of metalloproteinases) özel doku inhibisyonunu sağlar ve aynı zamanda da matriks proteazlarının kontrol edilmesini sağlamaktadır. Matriks metalloproteazlarından ADAMTS aktivasyonunun kontrol edilmesi üzerinde de TIMP'nin etkisi bulunmaktadır. Hem ADAM proteinleri için hem de ADAMTS proteinleri için ayırt edici olan TIMP'ler bazı ADAMTS türlerinin inhibisyonunu sağlayabilirler (Handsley ve Edwards 2005). İnhibisyon üzerinde etkili olsalar dahi TIMP-1, 2 ve 4'e karşı da duyarsız kalırlar (Kashiwagi vd., 2001, Hashimoto vd., 2003). Artritlerde ADAMTS1, 4, 5 aktiviteleri artmaktadır ve bu genlerin inhibisyonu

katekin galat esterleri tarafından gerçekleřtirilebilmektedir. Katekin galat esterleri yeřil ayda mevcuttur (Vankemmelbeke vd., 2003).



## ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Araştırmanın Türü

Bu araştırma perspektif deneyseldir ve yapılan deneylerin amacı hastalıkların patogenezinin aydınlatılabilmesi için kullanılan birtakım biyo-belirteçlerin hastalık süreçlerindeki değişimlerin belirlenmesidir.

#### 3.2. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi

Benzer demografik özelliklere sahip DN tanısı almamış normal sağlık popülasyondan kontrol grubu olarak kan örneği alınacaktır. 1. grup 10 sağlıklı bireyden, 2. grup ise 29 diyabetik nöropatili bireyinden olmak üzere, toplam 39 gönüllü ile çalışma gerçekleştirilmiştir. Gönüllülerin hastalığın prevalansının arttığı 18 yaş üstü, diyabet tanısı olan bireylerden oluşmaktadır.

#### 3.3. Veri Toplama Yöntemi

Çalışmada Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık, Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroloji polikliniğinde Diabetik Nöropati tanısı almış olan hastalardan aydınlatılmış onamları alınmış ve ardından hastalardan Kasım 2018-Aralık 2018 tarihleri arasında, kan örnekleri sarı ve mor kapaklı biyokimya tüplerine 10 ml düzeyinde alınmıştır (Ek-2).

Alınan kanlar örnekleri vakit kaybedilmeden, 4000 rpm'de santrifüjde 15 dk tutulmuş ve serum kısmı ayrılmıştır. Santrifüj sonucunda elde edilen serum örnekleri çalışma yapılıncaya kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir. Alınan kanlardan ADAMTS4 ve ADAMTS5 ve MMP9 düzeyleri ELISA yöntemiyle ölçülmüştür. Bunlarla beraber rutin biyokimya testlerinden CRP, lökosit sayısı, nötrofil/lenfosit oranı, glukoz, insülin düzeyleri ölçülerek ve HOMA hesabı yapılmış ve hastaların NIH skorları hesaplanmıştır.

#### 3.4. Etik

Bu çalışma, E.1800184145 numarası ile Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Rektörlüğü Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 06.02.2019 tarih ve 03-01 no'lu kararı ile etik kurul onayını almıştır (Ek-1).

### **3.5. Çalışmaya Dahil Etme ve Dışlama Kriterleri**

Dahil edilme kriterleri: Çanakkale 18 Mart Üniversitesi nöroloji polikliniğine ayaktan başvurma veya sevkle yönlendirilen 18 yaşın üstünde Diyabetik Nöropati tanısı klinik olarak konmuş hastalar ve sağlıklı gönüllüler.

Dışlama kriterleri: 18 yaş altında olanlar, gebe ve laktasyon döneminde bulunan kadınlar, aktif enfeksiyon varlığı olanlar, periferik hastalığı öyküsü olanlar, son 1 yıl içerisinde derin ven trombozu veya herhangi bir trombotik atak geçirenler, anevrizmatik damar hastalığı öyküsü olanlar, geçici iskemik atak geçirenler, artrit öyküsü bulunanlar (aktif veya remisyonda) ve malignite varlığı bulunanlar.

### **3.6. Kan Alma ve Analizler**

#### **Kan Alma İşlemi**

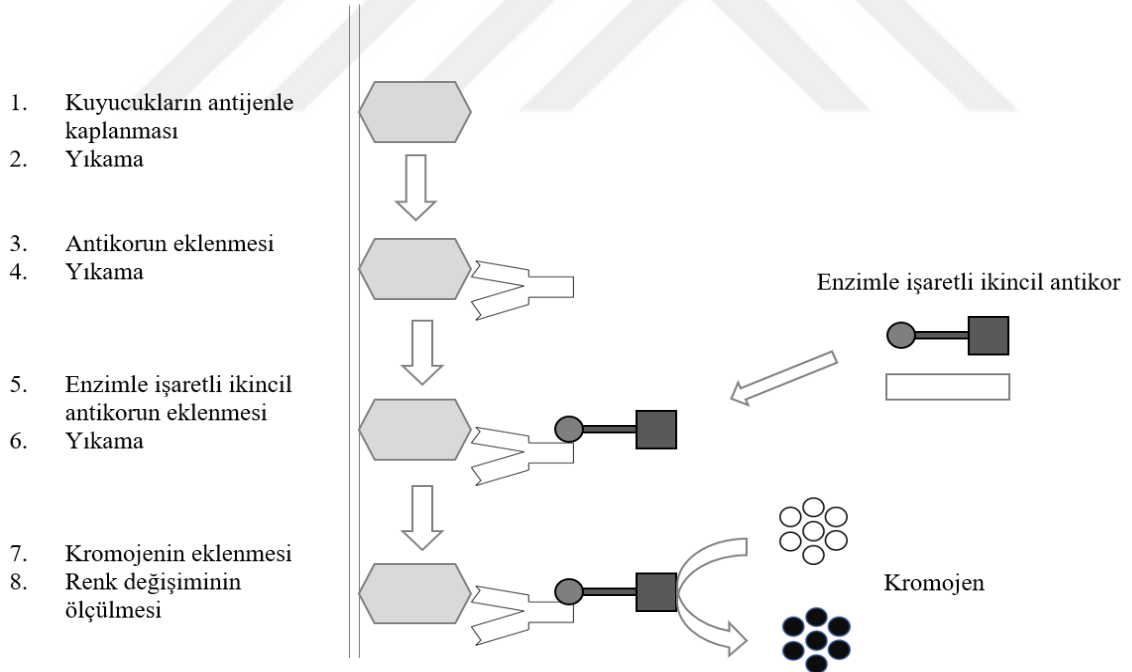
Çalışmada kan alma işlemine hastanın kimlik kontrolü ile başlanmış ve yaklaşık on beş dakika süreyle hasta dinlendirilmiştir. Çalışmada araştırılan parametrelerin plazma ve serumla belirlenebilmesi nedeniyle sarı kapaklı jel biyokimyasal tüp ve mor kapaklı hemogram tüpünün kullanımı uygun görülmüştür. Kan alma işleminden sonra kullanılacak olan kan tüplerinin etiketlemelerinden emin olunduktan sonra hastaya çalışma hakkında bilgi verilerek, uygun pozisyonda kan alınarak damarın birkaç santim üzerinde turnike yerleştirilmiştir. Damar yüzeyi %70'lik alkolle silindikten sonra adaptör sabitlenmiş önceden belirlendiği üzere sarı kapaklı tüp adaptöre yerleştirilerek istenilen kan miktarına ulaşıncaya kadar toplama işlemine yapılmıştır. İşlem sonunda turnike çıkarılmış ve akabinde iğne damardan çekilerek damar kapatılmıştır. Katılımcılardan toplanan 10'ar ml kan örnekleri vakit kaybetmeden santrifüjlenmiştir.

ELISA testlerinde kullanılmak üzere bütün reaktifler oda sıcaklığına kadar ılıtılmış ve ilk dilüsyondan sonra, tüm bileşenler hafifçe karıştırılarak en az 15 dakika beklemesine izin verilmiştir. Son olarak çalışma dilüsyonları hazırlanmış ve hemen kullanılmıştır.

## ELISA Yöntemiyle ADAMTS4, ADAMTS5 ve MMP9 Seviyelerinin Belirlenmesi

### ELISA Yöntemi:

Enzim immunoassay (EIA)'nın heterojen bir türü olan ELISA (Enzyme Linked-Immunosorbent Assay), antijen veya antikor enzimi ile kompleks oluşturma yoluyla substratıyla etkileşir ve reaksiyonun sonucunda bir rengin meydana gelmesini sağlar. Meydana gelen renkte optik dansite ölçümü yapılarak, saf standartların oluşturduğu absorpsiyon-konsantrasyon grafiği üzerinde elde edilen absorpsiyonlara karşılık gelen konsantrasyonların okunması ekstrapolasyon ile tespit edilmesi sağlanmaktadır. Bahsedilen prosedür sayesinde bir numunenin içindeki enzim, protein veya madde miktarı/miktar değişiminin hesaplanması sağlanmaktadır. Aşağıdaki şekilde yöntemin genel uygulama basamakları verilmiştir (Şekil 8).



Şekil 8. ELISA Yönteminin Genel Uygulama Basamakları.

#### *ADAMTS4, ADAMTS5 Seviyelerinin Belirlenmesi:*

ADAMTS4 seviyelerinin, diyabetik nöropati hastalarındaki seviyelerinin belirlenmesinde ticari kit olan Abbkine, Inc.-KTE60920, Human adam metallopeptidase with thrombospondin type-I motif-4 (ADAMTS4) ELISA Kit kullanılmıştır. ADAMTS protein familyasının indirgediği gruplar; kartilajın büyük bir kısmı olan proteoglikanlar, beyin-spesifik ekstraselüler matriks proteinleri, brevikanlar, agrekanlar, versikanlar ve nörokanlardır. Bu çalışmada tercih edilen ADAMTS4 kiti de yöntem olarak sandwich elisa prensibine dayanmaktadır.

Kitin kullanma talimatlarına dikkat edilerek Abbkine, Inc.- KTE60917, a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 5 (ADAMTS5) ELISA Kit vasıtası ile ADAMTS5 düzeyleri tespit edilmiştir. ADAMTS5 kiti de yine sandwich elisa yöntemini kullanmaktadır.

#### *ELISA Kitlerinin Çalışma Prosedürü:*

Standartlar kitlerin birinci altı kuyucuğuna 50 µl hacminde eklenmiş ve kör için boş bir kuyucuk bırakılmıştır. Bu işlemin ardından her kuyucuk için yine 50 µl hacminde kontrol, ilaçlı hasta ve ilaçsız hasta serumlarının pipetlenmesi sağlanmıştır. Yapılan inceleme sonucunda örneklerin herhangi bir dilüsyon işlemine gereksinimlerinin olmadığı tespit edilmiş ve bu işlem yapılmadan devam edilmiştir. 45 dk ve 37°C işlem parametrelerinde, plakalarda immobilize olabilen benzeri olmayan antikor ile bağlanmanın sağlanması için inkübasyon sağlanmıştır. Bu işlemin ardından ise kit kuyucuklarının 250 µl yıkama tamponu ile 5 defa olmak üzere yıkanması Multiplaka Yıkayıcı Biotek 50 TS Cihazı ile sağlanmıştır. Ardından bütün kuyucuklara HRP-Konjuge Belirleme Antikoru, multikanallı pipetle 50 µl düzeyinde eklenmiştir. İnkübasyon işlemi 37°C ve 30 dakika işlem parametrelerinde sağlanmış ve ardından yine yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Her bir kuyucuğa 50 µl düzeyinde kromojen solüsyonu ilave edilerek ışık ile temas etmemeleri sağlanmıştır. Bu kez inkübasyon parametreleri 15 dk 37 °C olacak şekilde işlem sağlanmış ve ardından 50 µl hacminde durdurma çözeltisi eklenerek işlem tamamlanmıştır. Durdurma çözeltisinin ilavesi plakalarda mavi renkten sarı renge olacak şekilde bir değişimin gözlenmesini sağlamıştır. Meydana gelen renk değişiminin ölçülmesi için ise Thermo Scientific™ Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer cihazı ile 450 nm'de renk analizi gerçekleştirilmiş ve absorbanslar kaydedilmiştir. Serumda bulunan ADAMTS4, ADAMTS5 ve MMP9 seviyeleri, kitlerde bulunan standart konsantrasyonunun verdiği

absorbansların kullanılması ile hesaplanmıştır. Hesaplamalar sırasında konsantrasyon-absorbans grafiğinden faydalanılmıştır. İki tekerrürlü olarak gerçekleştirilen yöntemde elde edilen iki sonucun ortalaması kullanılmıştır.

#### *Serumda Protein Tayini:*

Protein ve enzim düzeylerinin numunelerde belirlenmesinin ardından Bradford Reagent kullanılarak protein tayini yapılmıştır.

#### *Bradford Yöntemi:*

Bradford yönteminin prensibi uygulanarak belirlenen toplam protein miktarları serum örnekleri için düzeyin tespit edilmesini sağlamıştır (Bradford, 1976). Protein konsantrasyonlarının tespitinde ise Bradford reaktifi kullanılmış ve yöntem esas olarak çözeltilerdeki mevcut proteinlerin boya ve Vrillant Blue G arasında meydana gelen kompleksin meydana gelmesine dayanmaktadır. Eklenen boya meydana gelen kompleksin 465-595 nm aralığında absorbans vermesini sağlamaktadır. Elde edilen absorbans miktarları da serumdaki mevcut proteinin düzeyi ile orantılı olmaktadır. Çalışmada kullanılan B6916- Bradford Reagent (3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA) Sigma'dan sağlanmıştır. Herhangi bir dilüsyon işlemine gerek duymayan Bradford Reagent standart analizlerin bu çalışmada olduğu gibi yuvacıklarda gerçekleştirilmesine son derece uyumludur.

Doğrusal konsantrasyon aralığı için standart protein olarak BSA (sığır serum albümini) 0,1-1,4 mg/ml protein belirlenmiştir. Protein tayininin uygulanmasında 96 kuyucuklu kimyasal prosedürü takip edilmiştir. Prosedüre göre de oda sıcaklığına getirilen Bradford reaktifi yavaş ve dikkatli bir şekilde karıştırılarak farklı konsantrasyonlardaki BSA standardı hazırlanmıştır. Sonrasında birinci beş kuyucuğa hazırlanmış olan standarttan 5 µl'şer eklenmiş ve kör numunesi için bir kuyucuk boş bırakılmıştır. Karışımında numune ya da standart olmayan aynı hacimdeki kör bu kuyuya eklenmiştir. Birinci beş kuyucuğa serum örnekleri 5 µl hacminde eklenmiş ve tümünün üzerine 250 µl Bradford Reaktifi ilavesiyle 30 sn çalkalayıcıda karıştırılmıştır. 20 dakika oda sıcaklığında karanlığında inkübasyona bırakılmış olan plakada protein-boya kompleksinin 60 dakika sabit kalması göz önünde bulundurulmuştur. 20 dakikanın sonunda bütün numuneler için absorbansların ölçülmesi 595 nm'de sağlanmıştır. Konsantrasyon-absorbans grafikleri standartlar üzerinden elde edilmiş ve grafikler oluşturulmuştur. Numunelerdeki protein

konsantrasyonları ise standart grafiklerinden faydalanılarak mg/ml biriminde olacak şekilde hesaplanmıştır.

### **3.7. Araştırmanın Sınırlılıkları**

Bu çalışmanın ana amacı kandaki biyobelirteç olabilecek parametrelerin tespit edilmesidir. Literatürde ADAMTS4 ve ADAMTS5 seviyelerinin kanda incelemesi hakkında sınırlı sayıda çalışma olmasından dolayı, çalışmada belirlenen dışlama kriterleri büyük bir titizlikle belirlenmiştir ancak hâlihazırda protein düzeylerinin değişmesine neden olan değişik unsurlar da bulunabilmektedir. Bu çalışmanın önerileri arasında bir sonraki aşamada hayvan deneyleri ve farklı analiz metotlarının kullanılması bulunmaktadır.

### **3.8. Verilerin Değerlendirilmesi**

Bu çalışmada elde edilmiş olan ham verilerin analiz edilmesinde IBM SPSS Ver.22 İstatistik programı kullanılmıştır. Yapılan normallik dağılımı analizi sonucunda gruptaki dağılımın normal dağılıma uyum sağlamadığı, gruplararası dağılımın ise normal olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla elde edilen veriler parametrik olmayan test yöntemlerinden olan bağımsız örneklem için t testi ve korelasyon testi ile analiz edilmiş, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olup olmadığı değerlendirilmiştir. İstatistik test sonuçlarına göre de ADAMTS4, ADAMTS5 ve MMP9 seviyeleri için p değerleri, ortalamalar, standart sapma, ortanca, minimum, maksimum gibi betimsel istatistik değerleri belirlenmiş ve sigma 0,95 güvenirlilik düzeyi kabul edilmiştir.

## **DÖRDÜNCÜ BÖLÜM**

### **ARAŞTIRMA BULGULARI**

Gruplar arasında dağılımın normalliğinin belirlenebilmesi için basıklık çarpıklık değerlerine bakılmış ve -1,5 ile 1,5 arasında olan değerlerle gruplarımızın normal dağılıma uygun olduğunu gözlenmiştir. Bu nedenle gruplar arasındaki ilişkinin tespit edilebilmesi için parametrik testlerden bağımsız örneklem için T testi ile belirlenen faktörler arasında bir ilişki olup olmadığının belirlenebilmesine dair korelasyon analizi uygulanmıştır. Bunun dışında tüm parametreler için frekans testleri uygulanmıştır.

#### **4.1. ADAMTS4 Seviyeleri ELISA Testi Analiz Bulguları**

Aşağıda ADAMTS4'ün serum ve plazmadaki düzeylerine ilişkin betimleyici istatistik (Tablo 4-5) ve bağımsız örneklem için T testi (Tablo 6-7) sonuçları paylaşılmıştır.

Tablo 4  
ADAMTS4'ün Serum Düzeylerine İlişkin Betimleyici İstatistik Verileri

			Standart Hata	
Diyabetik Nöropati Grubu	Ortalama		6,996191834	0,6051538785
	%95 Güven Aralığı	Alt Sınır	5,756590308	
		Üst Sınır	8,235793361	
	%5 Budanmış Ortalama		6,965448966	
	Medyan		6,397936800	
	Varyans		10,620	
	Std. Sapma		3,2588533693	
	Minimum		1,2746760	
	Maksimum		13,1249352	
	Değer Aralığı		11,8502592	
	Çeyrek Değer Aralığı		4,7360376	
	Çarpıklık		0,263	0,434
	Basıklık		-0,677	0,845
	Kontrol Grubu	Ortalama		6,811164000
%95 Güven Aralığı		Alt Sınır	5,145513152	
		Üst Sınır	8,476814848	
%5 Budanmış Ortalama			6,726060000	
Medyan			6,423468000	
Varyans			5,422	
Std. Sapma			2,3284193302	
Minimum			3,9980040	
Maksimum			11,1561960	
Değer Aralığı			7,1581920	
Çeyrek Değer Aralığı			3,5034480	
Çarpıklık			0,521	0,687
Basıklık			-0,577	1,334

Tablo 4 incelendiğinde nöropati grubunun ADAMTS4 serum düzeyinin, kontrol grubundan daha yüksek olduğu görülmektedir.

Tablo 5  
ADAMTS4'ün Plazma Düzeylerine İlişkin Betimleyici İstatistik Verileri

			Standart Hata	
Diyabetik Nöropati Grubu	Ortalama		8,202614400	0,2731455929
	%95 Güven Aralığı	Alt Sınır	7,643101017	
		Üst Sınır	8,762127783	
	%5 Budanmış Ortalama		8,168616276	
	Medyan		7,931700000	
	Varyans		2,164	
	Std. Sapma		1,4709340344	
	Minimum		5,8466520	
	Maksimum		11,1514680	
	Değer Aralığı		5,3048160	
	Çeyrek Değer Aralığı		2,1266544	
	Çarpıklık		0,526	0,434
	Basıklık		-0,474	0,845
	Kontrol Grubu	Ortalama		8,998336800
%95 Güven Aralığı		Alt Sınır	6,959505416	
		Üst Sınır	11,037168184	
%5 Budanmış Ortalama		8,681088000		
Medyan		8,250840000		
Varyans		8,123		
Std. Sapma		2,8500897476		
Minimum		6,9577320		
Maksimum		16,7494200		
Değer Aralığı		9,7916880		
Çeyrek Değer Aralığı		1,6961700		
Çarpıklık		2,669	0,687	
Basıklık		7,721	1,334	

Tablo 5'teki değerler incelendiğinde ADAMTS4'ün plazmadaki düzeyinin, serumda belirlenenin aksine kontrol grubunda daha yüksek ortalamaya sahip olduğu belirlenmiştir.

Tablo 6  
ADAMTS4'ün Plazma ve Serum Düzeyleri Arasındaki Farklılık

	Nöropati Durumu	N	Ortalama	Standart Sapma
Serum	Sağlıklı	10	6,8112	2,32842
ADAMTS4	Hasta	29	6,9962	3,25885
Plazma	Sağlıklı	10	8,9983	2,85009
ADAMTS4	Hasta	29	8,2026	1,47093

Tablo 7  
ADAMTS4'ün Plazma ve Serum Düzeyleri Arasındaki Farklılık

		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
Serum	Eşit varyanslar varsayımı	1,138	,293	-,165	37	,870
ADAMTS4	Eşit farkların varsayılmaması			-,194	22,034	,848
Plazma	Eşit varyanslar varsayımı	,987	,327	1,142	37	,261
ADAMTS4	Eşit farkların varsayılmaması			,845	10,700	,417

ADAMTS4 düzeylerinin kandaki ve serumdaki düzeyleri açısından kontrol ve diyabetik nöropatili gruplar arasında anlamlı bir farklılık olup olmadığına ilişkin uygulanan bağımsız örneklem için T testi sonuçları yukarıda Tablo 6 ve 7'de paylaşılmıştır. Görüldüğü üzere gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ( $p>0,05$ ). Yani ADAMTS4'ün kan ve serumdaki düzeyleri arasında nöropati ya da kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık yoktur. Bu nedenle ADAMTS4 için immunoassay olduğu çıkarımı yapılamamaktadır.

#### 4.2. ADAMTS5 Seviyeleri ELISA Testi Analiz Bulguları

Aşağıda ADAMTS5'in serum ve plazmadaki düzeylerine ilişkin betimleyici istatistik (Tablo 8-9) ve bağımsız örneklem için T testi (Tablo 10-11) sonuçları paylaşılmıştır.

Tablo 8  
ADAMTS5'in Serum Düzeylerine İlişkin Betimleyici İstatistik Verileri

			Standart Hata	
Diyabetik Nöropati Grubu	Ortalama		7,8681034179	0,56912444471
	%95 Güven Aralığı	Alt Sınır	6,7023048408	
		Üst Sınır	9,0339019951	
	%5 Budanmış Ortalama		7,8950555402	
	Medyan		7,2968856000	
	Varyans		9,393	
	Std. Sapma		3,06482893055	
	Minimum		2,13938880	
	Maksimum		12,98219640	
	Değer Aralığı		10,84280760	
	Çeyrek Değer Aralığı		5,01925980	
	Çarpıklık		0,017	0,434
	Basıklık		-0,880	0,845
	Kontrol Grubu	Ortalama		7,6552964400
%95 Güven Aralığı		Alt Sınır	6,0853175390	
		Üst Sınır	9,2252753410	
%5 Budanmış Ortalama			7,6219520000	
Medyan			7,3345866000	
Varyans			4,817	
Std. Sapma			2,19467917052	
Minimum			4,62262800	
Maksimum			11,28816480	
Değer Aralığı			6,66553680	
Çeyrek Değer Aralığı			3,19704480	
Çarpıklık			0,298	0,687
Basıklık			-1,040	1,334

Tablo 8 incelendiğinde serum düzeylerinde diyabetik nöropati grubunun ADAMTS5 düzey ortalamasının daha yüksek olduğu görülmektedir.

Tablo 9  
ADAMTS5'in Plazma Düzeylerine İlişkin Betimleyici İstatistik Verileri

			Standart Hata	
Diyabetik Nöropati Grubu	Ortalama		9,0202459779	0,29437995295
	%95 Güven Aralığı	Alt Sınır	8,4172359799	
		Üst Sınır	9,6232559760	
	%5 Budanmış Ortalama		8,9148892575	
	Medyan		8,4631032000	
	Varyans		2,513	
	Std. Sapma		1,58528456257	
	Minimum		6,74896440	
	Maksimum		13,09278600	
	Değer Aralığı		6,34382160	
	Çeyrek Değer Aralığı		1,91169204	
	Çarpıklık		1,205	0,434
	Basıklık		0,866	0,845
	Kontrol Grubu	Ortalama		10,4823687600
%95 Güven Aralığı		Alt Sınır	6,9955861942	
		Üst Sınır	13,9691513258	
%5 Budanmış Ortalama			9,8817778667	
Medyan			9,0889398000	
Varyans			23,758	
Std. Sapma			4,87418592966	
Minimum			7,65378840	
Maksimum			24,12158520	
Değer Aralığı			16,46779680	
Çeyrek Değer Aralığı			1,84357890	
Çarpıklık			2,967	0,687
Basıklık			9,103	1,334

Tablo 9'a göre plazma ADAMTS5 düzey ortalaması kontrol grubunda daha yüksektir.

Tablo 10  
ADAMTS5'in Plazma ve Serum Düzeyleri Arasındaki Farklılık

Nöropati	N	Ortalama	Standart Sapma
----------	---	----------	----------------

Durumu					
Serum	Sağlıklı	10	7,6553	2,19468	
ADAMTS5	Hasta	29	7,8681	3,06483	
Plazma	Sağlıklı	10	10,4824	4,87419	
ADAMTS5	Hasta	29	9,0202	1,58528	

Tablo 11

ADAMTS5'in Plazma ve Serum Düzeyleri Arasındaki Farklılık ne İlişkin Bağımsız Örneklemeler İçin T Testi

		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Ortalama fark
Serum ADAMTS5	Eşit varyanslar varsayımı	1,316	,259	-,202	37	,841	-,21281
	Eşit farkların varsayılmaması			-,237	21,980	,815	-,21281
Plazma ADAMTS5	Eşit varyanslar varsayımı	3,763	,060	1,439	37	,159	1,46212
	Eşit farkların varsayılmaması			,932	9,964	,374	1,46212

ADAMTS5 düzeylerinin plazma ve serumdaki düzeyleri kıyaslandığında kontrol grubu ile diyabetik nöropatili grup arasında ADAMTS5 düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık meydana getirmediği görülmektedir ( $p>0.05$ ). Bu nedenle ADAMTS4 sonuçlarında olduğu gibi ADAMTS5 düzeyleri için de diyabetik nöropatide sinir hasarına anlamlı bir etkisinin olduğu çıkarımı yapılamamaktadır.

### 4.3. MMP9 Seviyeleri ELISA Testi Analiz Bulguları

Aşağıda ADAMTS4'ün serum ve plazmadaki düzeylerine ilişkin betimleyici istatistik (Tablo 12-13) ve bağımsız örneklemeler için T testi (Tablo 14-15) sonuçları paylaşılmıştır.

Tablo 12

MMP9'un Serum Düzeylerine İlişkin Betimleyici İstatistik Verileri

	Standart Hata
--	---------------

Diyabetik Nöropati Grubu	Ortalama		7,8814181010	0,93214697409
	%95 Güven Aralığı	Alt Sınır	5,9720015821	
		Üst Sınır	9,7908346200	
	%5 Budanmış Ortalama		7,7240341803	
	Medyan		7,1532832400	
	Varyans		25,198	
	Std. Sapma		5,01976507996	
	Minimum		0,30783050	
	Maksimum		18,70844336	
	Değer Aralığı		18,40061286	
	Çeyrek Değer Aralığı		7,34685935	
	Çarpıklık		0,410	0,434
	Basıklık		-0,458	0,845
	Kontrol Grubu	Ortalama		8,1080122670
%95 Güven Aralığı		Alt Sınır	5,5708067501	
		Üst Sınır	10,6452177839	
%5 Budanmış Ortalama			8,0202443000	
Medyan			7,7036714000	
Varyans			12,580	
Std. Sapma			3,54676874680	
Minimum			3,41423324	
Maksimum			14,38161470	
Değer Aralığı			10,96738146	
Çeyrek Değer Aralığı			6,06417824	
Çarpıklık			0,328	0,687
Basıklık			-0,817	1,334

Tablo 12’de görüldüğü üzere MMP9 serumda kontrol grubunda daha yüksek bir ortalamaya sahiptir.

Tablo 13  
MMP9’un Plazma Düzeylerine İlişkin Betimleyici İstatistik Verileri

			Standart Hata
Diyabetik	Ortalama	10,3909653148	0,43111878633

Nöropati Grubu	%95 Güven Aralığı	Alt Sınır	9,5078585140		
		Üst Sınır	11,2740721157		
	%5 Budanmış Ortalama		10,3040159276		
	Medyan		10,5632968400		
	Varyans		5,390		
	Std. Sapma		2,32164571582		
	Minimum		6,76591766		
	Maksimum		15,67532600		
	Değer Aralığı		8,90940834		
	Çeyrek Değer Aralığı		3,52667196		
	Çarpıklık		0,442	0,434	
	Basıklık		-0,187	0,845	
	Kontrol Grubu	Ortalama		10,7337975200	0,64288255278
		%95 Güven Aralığı	Alt Sınır	9,2794961484	
		Üst Sınır	12,1880988916		
%5 Budanmış Ortalama			10,6404874500		
Medyan			10,6500428000		
Varyans			4,133		
Std. Sapma			2,03297313478		
Minimum			7,77097430		
Maksimum			15,37620200		
Değer Aralığı			7,60522770		
Çeyrek Değer Aralığı			1,59096578		
Çarpıklık			1,036	0,687	
Basıklık			2,937	1,334	

Tablo 4.13'e göre plazmada MMP9 düzeyleri, serumda olduğu gibi kontrol grubunda daha yüksek bir ortalamaya sahip olmuştur.

Tablo 14  
MMP9'un Plazma ve Serum Düzeyleri Arasındaki Farklılık

	Nöropati Durumu	N	Ortalama	Standart Sapma
Serum MMP9	Sağlıklı	10	8,1080	3,54677
	Hasta	29	7,8814	5,01977
Plazma MMP9	Sağlıklı	10	10,7338	2,03297
	Hasta	29	10,3910	2,32165

Tablo 14'te MMP9 seviyelerinin serum ve plazmadaki düzeyleri kontrol grubu ve diyabetik nöropatili grup arasında anlamlı bir farklılık olup olmadığına bakılmıştır. Bağımsız örneklem için T testi ile değerlendirilen sonuçlara göre iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ( $p>0,05$ ).

MMP9'un plazma ve serum düzeyleri arasındaki farklılık incelendiğinde serum ve plazma düzeylerinin istatistiksel olarak birbirlerinden anlamlı düzeyde farklı olmadıkları belirlenmiştir ( $p>0,05$ ).

Son olarak tüm faktörler arasında anlamlı bir ilişkinin olup olmadığının tespiti için korelasyon analizi gerçekleştirilmiştir. Korelasyon testi sonuçları aşağıda Tablo 15'te paylaşılmıştır.

Tablo 15  
Faktörler Arası Korelasyon Testi Sonuçları

		Serum MMP9	Plazma MMP9	Serum ADAMTS4	Plazma ADAMTS4	Serum ADAMTS5	Plazma ADAMTS5
Serum MMP9	Pearson Korelasyon	1	,068	,975**	,116	,954**	,078
	Sig. (2-tailed)		,680	,000	,481	,000	,638
	N	39	39	39	39	39	39
Plazma MMP9	Pearson Correlation	,068	1	,084	,850**	,130	,727**
	Sig. (2-tailed)	,680		,611	,000	,432	,000

P9	N		39	39	39	39	39	39
Serum	Pearson		,975**	,084	1	,121	,987**	,075
AD	Correlation							
AM	Sig. (2-tailed)		,000	,611		,461	,000	,651
TS4	N		39	39	39	39	39	39
Plazma	Pearson		,116	,850**	,121	1	,171	,942**
AD	Correlation							
AM	Sig. (2-tailed)		,481	,000	,461		,299	,000
TS4	N		39	39	39	39	39	39
Serum	Pearson		,954**	,130	,987**	,171	1	,127
AD	Correlation							
AM	Sig. (2-tailed)		,000	,432	,000	,299		,442
TS5	N		39	39	39	39	39	39
Plazma	Pearson		,078	,727**	,075	,942**	,127	1
AD	Correlation							
AM	Sig. (2-tailed)		,638	,000	,651	,000	,442	
TS5	N		39	39	39	39	39	39

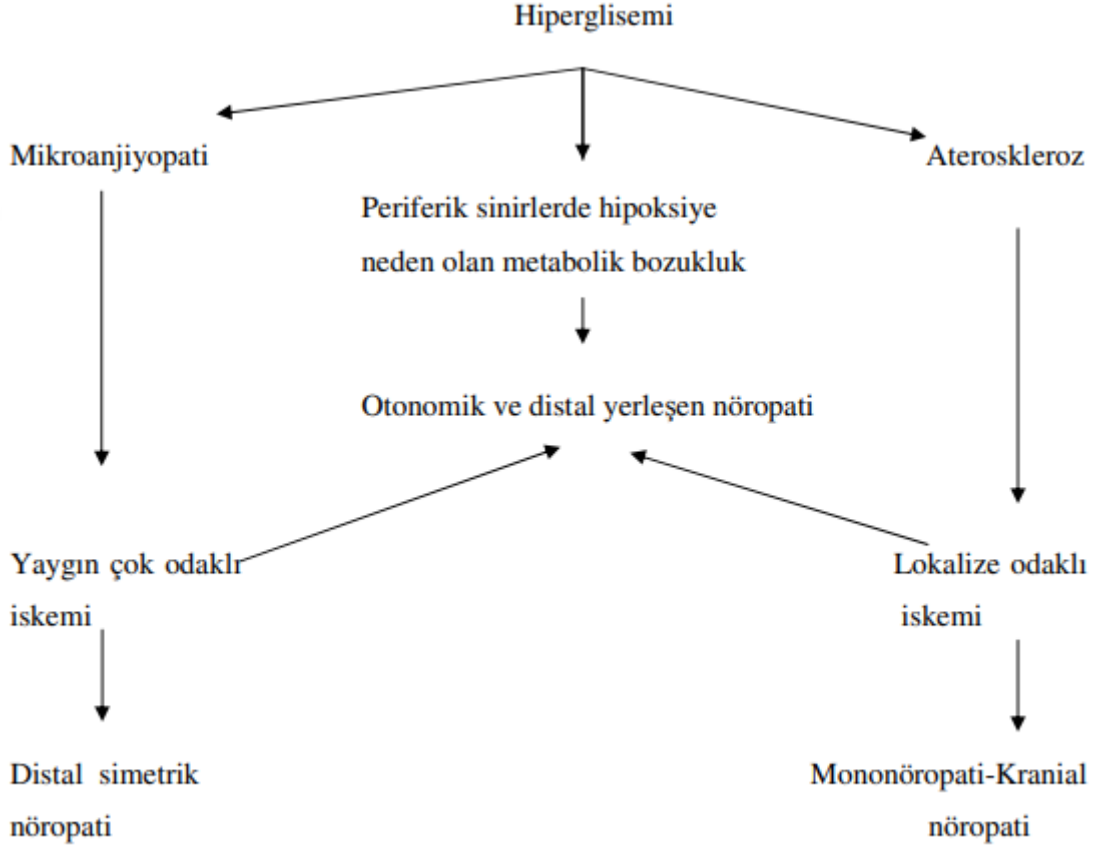
\*\* . Korelasyon anlamlılık düzeyi 0.01'dir (2-tailed).

Bu çalışmada incelenen faktörler olan Serum MMP9, Plazma MMP9, Serum ADAM TS4, Plazma ADAM TS4, Serum ADAM TS5 ve Plazma ADAM TS5'in arasındaki ilişki değerlendirildiğinde tüm değerlerde değil bazıları arasında anlamlı farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Korelasyon anlamlılık düzeyinde 0.01 düzeyinde incelendiğinde serumdaki MMP9, ADAMTS4 ve ADAMTS5 değerleri arasında anlamlı farklılık olduğu gözlenmiştir. Bu durum ise diğer istatistiki analizlerin doğruluğunu desteklemekte ancak incelenen faktörlerin diyabetik nöropatide sinir hasarına ilişkin etkin bir rolü olup olmadığına dair bir çıkarım yapılamamasına neden olmaktadır.

## BEŞİNCİ BÖLÜM

### TARTIŞMA

Nöropatinin diyabetik nöropatide metabolik ve iskemik faktörlerin bir kombinasyonu yoluyla geliştiği düşünülmektedir. İskemik faktörlerde endotel disfonksiyonunun önemli olduğu gösterilmiştir. Diyabetik nöropatide patogeneze aşağıda verilen gelişim basamakları takip edilmektedir (Şekil 9) (Karayalçın, 2007).



Şekil 9. Diyabetik Nöropati Gelişiminin Patofizyolojik Süreci (Tanyeri, 2000).

Bu çalışmada ADAMTS4 değerlerinin, serumda nöropati hastalarında daha yüksek düzeyde, plazmada ise kontrol grubunda daha yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir. Ancak gruplar arası anlamlılık Mann-Whitney testi ile analiz edildiğinde seviyeler arasında kontrol grubu ile diyabetik nöropatililer arasında anlamlı bir farklılık olmadığı göze çarpmaktadır. Bu haliyle elde edilen bulgular ışığında ADAMTS4'ün diyabetik nöropatide belirleyici bir faktör olarak kabul edilemeyeceği, patogenezi ve etiolojide fayda sağlamayacağı çıkarımı yapılabilir. Literatürde diyabetik nöropatide ADAMTS4 düzeylerinin araştırıldığı sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. yapılan çalışmaların daha

çok gen ekspresyonu üzerine olduğu göze çarpmaktadır. Bu nedenle sonuçların kıyaslanması noktasında bir sınırlılıkla karşılaşılmaktadır. Johnson-Lynn vd. (2018) çalışmalarında diyabetik nöropatide Charcot artropatisi odağından ADAMTS4 ve ADAMTS5 düzeylerini değerlendirmiştir. Çalışmanın sonucunda ADAMTS4 ve ADAMTS5'in diyabetli hastalarda belirgin bir farklılık meydana getirdiğini tespit etmiştir. Bu çalışmada elde edilen verilerin aksine Taştumur vd. (2021) çalışmalarında, prediyabetik ve Tip 2 diyabet hastalarında ADAMTS7 ve ADAMTS 12 düzeylerini araştırmışlar ve kontrol grubu ile düzeyleri kıyaslamışlardır. Çalışmanın sonucunda ADAMTS düzeylerinin kontrol grubuna göre diyabetik hastalarda çok daha yüksek olduğu ve bu nedenle bir immünoassay olduğu belirlenmiştir. Özpak (2019), çalışmasında diyabet modeli oluşturulmuş sıçanlarda ADAMTS4 gen ekspresyon profillerini incelemiştir. Çalışmada ratlar dört farklı gruba ayrılmış ve kontrol grubuna kıyasla ADAMTS4 gen ekspresyon düzeyleri diyabetli ratlarda azalmıştır. Bir başka çalışmada yine insülinle indüklenmiş olan OUMS-27 hücrelerinde ADAMTS gen ifadesi ve protein profilleri incelenmiştir. Çalışmada Tip 1 diyabeti bulunan çocuklar üzerinde inceleme yapılmış ve araştırmanın sonucunda kontrol grubuna insülin indüksiyonu uygulanması sonucunda ADAMTS1, ADAMTS5, ADAMTS7 düzeylerinin hem mRNA hem de protein seviyeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış olduğu tespit edilmiştir. Buradan hareketle çalışmada diyabetli hastalarda görülen kırık/kemik metabolizmasındaki gecikmeli kırık iyileşmesi başta olmak üzere tüm hastalıklar ve teşhis güçlükleri insülin eksikliğinden kaynaklanabildiği; çünkü iyileşmede söz sahibi olan bazı ADAMTS genleri, kırık matrisinin parçalanmasını önleyen ve iyileşmeye zemin hazırlayan insülinin yokluğunda arttığı bildirilmiştir (Akyol, 2014).

Karaköse vd. (2017), çalışmalarında primer hiperparatioidizmde serum ADAMTS1, ADAMTS4 düzeylerinin insülin direnci üzerindeki etkisini incelemişler ve çalışmada 48 yeni tanı konulmuş hasta üzerinde araştırmalar gerçekleştirmişlerdir. Araştırmaların sonucunda serum ADAMTS'nin tüm katılımcılarda primer hiperparatiroidizmin cerrahi müdahale sonucu düzeltilmesinin ardından ADAMTS1 ve ADAMTS4 düzeylerinin öncesine kıyasla anlamlı düzeyde düşük olduğu ve açlık insülin düzeyleri ile ADAMTS1 ve ADAMTS4 düzeylerinin de ilişki içerisinde oldukları tespit edilmiştir. Bu bağlamda yapılan çalışmalarda amaçlanan her ne kadar ADAMTS grubunun immünoassay özellik taşıyıp taşımadığının belirlenmesi olmasa da grubun düzeylerindeki anlamlı değişim nedeniyle bu özelliğe sahip oldukları çıkarımı yapılabilmektedir. Bu nedenle aslında

literatürde yer alan çalışma sonuçları birbirlerini destekler niteliktedir. Yine bir başka çalışmada gestasyonel diyabet mellitus ve ADAMTS9 arasındaki ilişki araştırılmıştır. Çalışmada, gestasyonel diyabet mellitus gebelikte en yaygın meydana gelen bozukluklardan birisi olduğu için 69 tanılı gebe ve 69 sağlıklı gebe ile araştırmalar yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda ADAMTS9'un gestasyonel diyabet mellitus ile ilişkilendirilemeyeceği ortaya çıkarılmıştır (Eski, 2020). Yurteri (2016), çalışmasında yine pek çok araştırmada olduğu gibi diyabet oluşturulmuş sıçanlarda bir inceleme gerçekleştirmiş ve sıçanlarda da tıpkı insanlarda olduğu gibi MMP-1, MMP-3, MMP-13 ve ADAMTS-4 üretiminin insülin varlığında kıkırdak oluşumunun sınırlandığı ve bu grubun üretiminin de mevcut durumu hızlandırmak adına artış görüldüğü tespit edilmiştir.

Matris metalloproteinazlar, proteolitik aktiviteleri için gerekli olan  $Zn^{++}$  iyonu bağlama bölgesini içeren, yapısal olarak benzer 20'den fazla proteinden oluşan bir gruptur. MMP'ler, diabetes mellitus dahil olmak üzere çeşitli fizyolojik ve patofizyolojik süreçlerde yer alır. DM'nin mekanizmaları ve komplikasyonları yoğun bir şekilde araştırılmaktadır ve kanıtlar, MMP'lerin diyabetik nöropatinin mikrovasküler komplikasyonların gelişiminde ve ilerlemesinde yer aldığını göstermektedir (Abreu ve Brito Vieira, 2016). Tam olarak anlaşılacakla birlikte, DM kaynaklı MMP düzensizliğinin yapısal ve biyomekanik değişikliklere katkıda bulunabileceğine ve tendon iyileşme sürecini engelleyebileceğine inanılmaktadır. Lemarchant vd. (2013), çalışmasında santral sinir sistemindeki ADAMTS proteoglikanaz rollerinin nöroplastiklik, inflamasyon, rejenerasyon, remiyelinasyon, nörorepair (CSPG degradasyonu) ve anjiyogenez gibi fizyolojik ve patolojik olduğunu bildirmiştir. Bir başka çalışmada ise Tip 2 diyabetli farelerde IRAK/TRAF6'nın miR-146a'nın varsayılan hedefleri olduğunu doğrulamışlar, ancak ek olarak enflamatuvar süreçlerdeki rolünü doğrulayan ek hedef gen olarak ADAMST3'ü (trombozpondin motifli bir parçalanma ve metalloproteinaz 3) tahmin etmek için biyoassay olarak kullanmışlardır (Liu vd., 2017). Farklı bir çalışmada ise Zhao vd. (2017), diyabetik nöropatik osteoartropatinin patogenezi ve potansiyel risk faktörlerini incelemişlerdir.

MMP-9 latent bir biçimde salınarak, aktivasyon üzerine birçok inflamatuvar olaya katılır ve bu enzim mitokondride de bulunur. Enzim; gen transkripsiyonu, sentez, sekresyon, aktivasyon, inhibisyon ve likosilasyon gibi birçok farklı aşamadan geçerek üretilir ve üretimi sıkı bir şekilde kontrol edilir (Ünal, 2019). MMP-9 aktivitesinin değerlendirilmesinde güncel tekniklere bakıldığında en sık kullanılanın, inhibitörlerinin

aktivitesini değerlendirmek için zimografi ve ters zimografi olduğu görülmektedir. Bu yöntemin in situ zymografi ve gerçek zamanlı zymografi gibi çeşitleri bulunmaktadır (Chaturvedi ve Kaczmarek, 2014). MMP'ler birçok biyolojik süreci düzenleyebilmektedir ve özellikle, MMP-9 hücrede gizli bir formda üretildiğinden ve hücre dışı boşluğa salındıktan sonra, propeptidin bölünmesiyle aktive edilmektedir. Embriyonik gelişim, üreme, anjiyogenez, kemik gelişimi, yara iyileşmesi, hücre göçü gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde hücre dışı matriksin parçalanmasında rol oynar ve son zamanlarda, öğrenme ve hafızadaki rolü de dahil olmak üzere merkezi sinir sistemi aktivitesinin çeşitli yönlerinde giderek daha önemli olduğu gösterilmiştir (Huntley, 2012; Tan, 2021).

Shiomi vd. (2010) çalışmalarında nöropatide özellikle MMP-9'un kan-beyin bariyerinin bozulmasında ve bu hastalıkların patogenezinin merkezinde olduğunu bildirmişlerdir. Fakat bu çalışmada MMP9 seviyelerinin serum ve plazmada kontrol grubu ile diyabetik nöropatili grup arasında anlamlı bir farklılık yaratmadığı belirlenmiştir. Singh, vd. (2020), çalışmalarında MMP9 seviyelerindeki modülasyon ile birlikte diyabetik nöropati komplikasyonlarının azaltılmasının sağlanabilirliği araştırılmıştır. Sıçanlar ile gerçekleştirilen çalışmada 8 haftalık diyabet indüksiyonunun sonunda MMP-9 aktivasyonu ve azalmış motor sinir iletim hızı ile ilişkili belirgin hiperaljezi ve allodiniden belirgin nöropati geliştirdiği gözlenmiştir. Çalışmanın sonucunda MMP inhibisyonu modülasyonu yoluyla nöropatik komplikasyonların tersine çevirilebildiği, MMP-9'un naringenin gibi doğal bir flavonoid tarafından modülasyonu, diyabetik nöropatik komplikasyonları hedeflemek için yeni bir yaklaşım olabileceği bildirilmiştir. Sinovyumun intimal astar tabakası üzerinde fibroblast benzeri sinovyositlerin, inflamatuvar sitokinler tarafından aktive edildiğinde, eklem kıkırdağının parçalanmasından sorumlu olan olağanüstü miktarda MMP salgıladığı belirlenmiştir (Bottini ve Firestein, 2013). Molligan, vd. (2016) fibroblast benzeri sinovyositlerin DNOAP'taki ortak yıkımda önemli bir rol oynayabileceğini bildirmiştir. Ayrıca çalışmada DNOAP sinovyumundaki sinir lifleri normal kontrolden anlamlı derecede daha az olarak tespit edilmiştir. DNOAP hastalarında kadherin-11 ekspresyonunun yanı sıra ADAMTS-4, ADAMTS-5 ve IL-6 ekspresyonu artmış ve RANKL yukarı regüle edilmiştir.

Bizim çalışmamızda ADAMTS4, ADAMTS5 ve MMP9'un kandaki serum ve plazma seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı bir şekilde farklılık

gözlenmemiştir. Bu nedenle bu belirteçlerin diabetik nöropatiye anlamlı bir etkisi olduğu çıkarımı yapılamaktadır.

Literatürde ADAMTS üzerinde olduğu gibi MMP-9'un da diyabetik nöropati ile ilişkisini inceleyen oldukça sınırlı sayıda çalışma olduğu gözlenmektedir. Bu nedenle bu çalışma alanyazının genişletilmesi açısından son derece önemlidir. Ayrıca bu çalışmada gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemesinin nedeninin küçük bir örneklem üzerinde çalışılması olabileceği tahmin edilmektedir. Daha büyük bir örneklem grubu ile daha fazla veri ile yapılan çalışmalarda sonuçların değişip değişmeyeceği gözlenmelidir.



## ALTINCI BÖLÜM

### SONUÇ

Diabetes Mellitus, kronik ve akut komplikasyonları nedeniyle dünya çapında en sık görülen hastalıklardan biri ve halk sağlığı sorunudur. İnsülin eksikliği sırayla karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozuklukları ile kronik hiperglisemiye yol açmaktadır. Dünyada en sık görülen endokrin bozukluk olan diyabetin 2025 yılına kadar, dünya çapında 300 milyondan fazla insanda görüleceği tahmin edilmektedir. DM ilerleme gösterdikçe doku veya damar hasarı, retinopati, nöropati, nefropati, kardiyovasküler komplikasyonlar gibi ciddi rahatsızlıkların görüldüğü bilinmektedir (Bastaki, 2005). Diyabetin çok çeşitli heterojen hastalıkları kapsamaması nedeniyle erken teşhisi ve kontrol altında tutulabilmesi son derece önemlidir. Ayrıca teşhis yöntemlerinin geliştirilmesi de klinik anlamda kolaylık sağlayacaktır.

ADAMTS4, ADAMTS5 ve MMP9 seviyelerinin sinir hasarında yükselen belirteçler olarak literatürde tespit edildiği görülmektedir. Bu nedenle Diyabetik nöropatide serumda ADAMTS4, ADAMTS5 ve MMP9 düzeylerinin belirlenmesi hastalığın patogenezinin anlaşılmasında faydalı olacaktır. Bu çalışmanın temel amacı diyabetik nöropati hastalığında serum ADAMTS4, ADAMTS5 ve MMP9 düzeylerinin tespit edilmesi ile hastalığın patogenezinin ortaya çıkarılması, erken tanısı, tedavisi ile birlikte yeni tedavi yöntemlerinin belirlenmesi ve korunma stratejilerinin anlaşılmasıdır. Çalışmamızdan elde edilen veriler ilk defa kanda ELISA ile belirlendiği için kısıtlılıklar olabilir. Bu bağlamda konu hakkında hayvan çalışmalarının yapılması ve doğrulamının olması önemlidir. Beyin dokularının histopatolojik olarak değerlendirilmesi ve serum değerlerinin birlikte incelenmesi çalışmanın sonuçlarını açıklamak açısından önemlidir. ADAM9 ve özellikle ADAMTS4 ile ilgili çalışmalar literatürde yetersizdir. Ancak elde edilen bilgiler literatüre farklı yaklaşımlar getirmek için uygundur.

## KAYNAKÇA

- Abali, O., Gokce, E. C., Cemil, B., Erdogan, B., Yonezawa, T., & Demircan, K. (2014). *Early Induction of ADAMTS 1,-4,-5 and-9 In IL-Stimulated Mouse Astrocytes*. Turkish Neurosurgery, 24(4).
- Abreu, B. J., & Brito Vieira, W. H. D. (2016). *Metalloproteinase Changes In Diabetes*. Metabolic Influences on Risk for Tendon Disorders, 185-190.
- ADA (American Diabetes Association). (1998). *The Expert Committee on the Diagnosis And Classification of Diabetes Mellitus*, American Diabetes Association. Diab. Care, 21(Suppl 2), B1-B167.
- Akarsu, S., Kurt, A. N. Ç., Kurt, A., Yılmaz, E., & Aygün, A. D. (2008). *Diyabetik Anne Bebeğinde Klinik ve Laboratuvar Bulguları*. Fırat Tıp Dergisi, 13(3), 199-204.
- Akyol, S. (2014). *İnsülin ile indüklenen OUMS-27 hücrelerinde adamts, TIMP ve sinyal yollarının gen ifadesi ve protein profillerinin araştırılması*. Doktor Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi.
- Apakkan Aksun, S., Bayındır, O., & Özmen, D. (2001). *Metalloproteinazlar, İnhibitörleri ve İlişkili Fizyolojik ve Patolojik Durumlar*. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri, 21, 332-342.
- Apte, S. S. (2004). *A Disintegrin-Like and Metalloprotease (Reprolysin Type) with Thrombospondin Type 1 Motifs: the ADAMTS Family*. The international journal of biochemistry & cell biology, 36(6), 981-985.
- Araç, E. (2017). *Diyabetik Otonom Nöropati'de Güncel Tanı ve Tedavi Yaklaşımları*. Abant Tıp Dergisi, 6(3), 129-133.
- Aras, S., & Zaidi, M. R. (2017). *Tameless Traitors: Macrophages in Cancer Progression And Metastasis*. British journal of cancer, 117(11), 1583-1591.
- Bastaki, S. (2005). *Diabetes Mellitus and its Treatment*. Dubai Diabetes and Endocrinology Journal, 13, 111-134.

- Bayram, E. H., Sezer, A. D., & Elçioğlu, H. K. (2016). *Diabetic Neuropathy and Treatment Strategy-New Challenges And Applications*. Smart Drug Delivery System, 2(3), 24-35.
- Bayram, E., & Elçioğlu, K. (2016). *Diyabetik Nöropatiye Güncel Tedavi Yaklaşımları*. Marmara Pharmaceutical Journal, 20(3), 252-262.
- Bekes, E. M., Schweighofer, B., Kupriyanova, T. A., Zajac, E., Ardi, V. C., Quigley, J. P., & Deryugina, E. I. (2011). *Tumor-Recruited Neutrophils and Neutrophil TIMP-Free MMP-9 Regulate Coordinately The Levels Of Tumor Angiogenesis and Efficiency of Malignant Cell Intravasation*. The American journal of pathology, 179(3), 1455-1470.
- Bird, S. J., & Brown, M. J. (1996, June). *The Clinical Spectrum of Diabetic Neuropathy*. In *Seminars in Neurology* (Vol. 16, No. 02, pp. 115-122). © 1996 by Thieme Medical Publishers, Inc.
- Bondeson, J., Lauder, S., Wainwright, S., Amos, N., Evans, A., Hughes, C., ... & Caterson, B. (2007). *Adenoviral Gene Transfer of The Endogenous Inhibitor Ikappabalpha Into Human Osteoarthritis Synovial Fibroblasts Demonstrates That Several Matrix Metalloproteinases and Aggrecanases Are Nuclear Factor-Kappab-Dependent*. The Journal of rheumatology, 34(3), 523-533.
- Bondeson, J., Wainwright, S., Hughes, C., & Caterson, B. (2008). *The Regulation of The ADAMTS4 and ADAMTS5 Aggrecanases in Osteoarthritis: A Review*. Clinical and experimental rheumatology, 26(1), 139.
- Borkakoti, N. (1998). *Matrix Metalloproteases: Variations on A Theme*. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 70(1), 73-94.
- Bottini, N., & Firestein, G. S. (2013). *Duality Of Fibroblast-Like Synoviocytes in RA: Passive Responders and Imprinted Aggressors*. Nature Reviews Rheumatology, 9(1), 24-33.
- Bradford, M. M. (1976). *A Rapid and Sensitive Method For The Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing The Principle of Protein-Dye Binding*. Analytical biochemistry, 72(1-2), 248-254.

- Chaturvedi, M., & Kaczmarek, L. (2014). *Mmp-9 İnhibition: A Therapeutic Strategy in Ischemic Stroke*. *Molecular neurobiology*, 49(1), 563-573.
- Cong, L., & Jia, J. (2011). *Promoter Polymorphisms Which Regulate ADAM9 Transcription Are Protective Against Sporadic Alzheimer's Disease*. *Neurobiology of aging*, 32(1), 54-62.
- Çayır, A., & Turan, M. (2015). *Diabetes Mellitusla İlişkili Kardiyak Bozukluklar*. *Ankara Medical Journal*, 15(4).
- Delibaş, N., & Kılınç, İ. (2003). *İnsulin ve Gliklazid Tedavisinin Streptozotosin Diabetik Rat Hipokampuslarında Lipid Peroksidasyonuna Etkisi*. *Türk Biyokimya Klinik Dergisi*, 1(1), 33-39.
- Dobson, M. (2012). *Clinical Investigator Of Diabetes Mellitus*. *Diabetes Its Medical and Cultural History: Outlines—Texts—Bibliography*, 235.
- Doyle, K. M., Russell, D. L., Sriraman, V., & Richards, J. S. (2004). *Coordinate Transcription Of The ADAMTS-1 Gene By Luteinizing Hormone and Progesterone Receptor*. *Molecular Endocrinology*, 18(10), 2463-2478.
- Duran-Jimenez, B., Dobler, D., Moffatt, S., Rabbani, N., Streuli, C. H., Thornalley, P. J., ... & Gardiner, N. J. (2009). *Advanced Glycation End Products in Extracellular Matrix Proteins Contribute to The Failure Of Sensory Nerve Regeneration In Diabetes*. *Diabetes*, 58(12), 2893-2903.
- Ertuğrul, M. B., Bakıroğlu, S., Aksoy, M., & Çalangu, S. (2004). *Diyabetik Ayak İnfeksiyonu*. *Klimik Derg*, 17, 3-12.
- Ertur, E., Keskinler, M. V., Çakır, İ. B., Erbakan, A., & Aytekin, O. (2020). *Tip 2 Diyabetli Hastalarda Diyabetik Periferik Nöropati Sıklığı, İlişkili Faktörler ve Farkındalık Durumunun Değerlendirilmesi*. *Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 6(3), 180-185.
- Eski, Y. (2020). *Gestasyonel Diyabet Mellitus ile Bcl11a, Adamts9, Wfs1 ve C2cd4b Genlerindeki Polimorfizmler Arasındaki İlişkinin Araştırılması* (Doctoral dissertation). Karabük Üniversitesi.

- Frayne, J., Hurd, E. A., & Hall, L. (2002). *Human Tmdc III: A Sperm Protein With A Potential Role In Oocyte Recognition*. *Molecular human reproduction*, 8(9), 817-822.
- Gao, G., Westling, J., Thompson, V. P., Howell, T. D., Gottschall, P. E., & Sandy, J. D. (2002). *Activation Of The Proteolytic Activity Of ADAMTS4 (Aggrecanase-1) By C-Terminal Truncation*. *Journal of Biological Chemistry*, 277(13), 11034-11041.
- Genç, F. (2016). *DeneySEL Diyabetik Sıçan Böbrek Dokusunda Matrix Metalloproteinase 9 ve Apoptozis Üzerine Vitamin D'nin Etkileri*. Uzmanlık Tezi. Fırat Üniversitesi. Elazığ.
- Görgülü, Ü., Çiftçi, S., & Polat, Ü. (2022). *Diyabetik Nöropatinin Yönetiminde Güncel Tedavi Yaklaşımları ve Hemşirelik Bakımı*. *Sağlık Bilimlerinde Değer*, 12(3), 560-565.
- Gül, A. H. (2019). *İskemik Kalp Hastalarında Koroner Kollateral Dolaşım ile ADAMTS-1 ve ADAMTS-13 Düzeyleri Arasındaki İlişki*. Uzmanlık Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi. Çanakkale.
- Güntel, M., & Uysal, A. (2021). *Diyabetik Periferik Nöropati ve Vitamin D İlişkisi*. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Dergisi*, 12(43), 100-105.
- Gürses, M. S., Ural, M. N., Gulec, M. A., Akyol, O., & Akyol, S. (2016). *Pathophysiological Function Of ADAMTS Enzymes On Molecular Mechanism Of Alzheimer's Disease*. *Aging and disease*, 7(4), 479.
- Handsley, M. M., & Edwards, D. R. (2005). *Metalloproteinases And Their Inhibitors In Tumor Angiogenesis*. *International journal of cancer*, 115(6), 849-860.
- Hashimoto, T., Wen, G., Lawton, M. T., Boudreau, N. J., Bollen, A. W., Yang, G. Y., ... & Young, W. L. (2003). *Abnormal Expression Of Matrix Metalloproteinases And Tissue Inhibitors Of Metalloproteinases In Brain Arteriovenous Malformations*. *Stroke*, 34(4), 925-931.
- Hatipoglu, O. F., Hirohata, S., Cilek, M. Z., Ogawa, H., Miyoshi, T., Obika, M., ... & Ninomiya, Y. (2009). *ADAMTS1 Is A Unique Hypoxic Early Response Gene Expressed By Endothelial Cells*. *Journal of Biological Chemistry*, 284(24), 16325-16333.

- Hidalgo, M., & Eckhardt, S. G. (2001). *Development Of Matrix Metalloproteinase Inhibitors In Cancer Therapy*. Journal of the National Cancer Institute, 93(3), 178-193.
- Hirohata, S., Wang, L. W., Miyagi, M., Yan, L., Seldin, M. F., Keene, D. R., ... & Apte, S. S. (2002). *Punctin, A Novel ADAMTS-Like Molecule, ADAMTSL-1, In Extracellular Matrix*. Journal of Biological Chemistry, 277(14), 12182-12189.
- Huntley, G. W. (2012). *Synaptic Circuit Remodelling By Matrix Metalloproteinases In Health And Disease*. Nature Reviews Neuroscience, 13(11), 743-757.
- IDF, (2019). *International Diabetes Federation, Diabetes Atlas, Ninth edition*. Erişim: 04.07.2022,  
[https://diabetesatlas.org/upload/resources/material/20200302\\_133351\\_IDFATLAS9\\_e-final-web.pdf](https://diabetesatlas.org/upload/resources/material/20200302_133351_IDFATLAS9_e-final-web.pdf)
- İmamoğlu, ř., Satman, İ., Akalın, S., Salman, S., & Yılmaz, C. (2015). *Geçmişten Geleceđe Diabetes Mellitus*. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği.
- Johnson-Lynn, S. E., McCaskie, A. W., Coll, A. P., & Robinson, A. H. N. (2018). *Neuroarthropathy In Diabetes: Pathogenesis Of Charcot Arthropathy*. Bone & Joint Research, 7(5), 373-378.
- Jones, G. C., & Riley, G. P. (2005). *ADAMTS Proteinases: A Multi-Domain, Multi-Functional Family With Roles In Extracellular Matrix Turnover And Arthritis*. Arthritis research & therapy, 7(4), 1-10.
- Kahn, C. R., Weir, G. C., King, G. L., Jacobson, A. M., Moses, A. C., & Smith, R. J. (2009). *Joslin: Diabetes Mellito-14*. Artmed Editora.
- Karakose, M., Caliskan, M., Arslan, M. S., Demirci, T., Karakose, S., & Cakal, E. (2017). The impact of parathyroidectomy on serum ADAMTS1, ADAMTS4 levels, insulin resistance, and subclinical cardiovascular disease in primary hyperparathyroidism. *Endocrine*, 55, 283-288.
- Karakoyun, A., & Çalık, Y. (2019). *Üst Ekstremitte Tuzak Nöropatileri*. Ege Tıp Bilimleri Dergisi, 2(1), 42-47.

- Karayalçın, C. F. (2007). *Unilateral Diyabetik Ayak Ülseri Gelişiminde Polinöropatinin Etkisi*. Tıpta Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi.
- Kashiwagi, M., Enghild, J. J., Gendron, C., Hughes, C., Caterson, B., Itoh, Y., & Nagase, H. (2004). *Altered Proteolytic Activities Of ADAMTS-4 Expressed By C-Terminal Processing*. Journal of Biological Chemistry, 279(11), 10109-10119.
- Kavak, T. (2008). *Kolorektal Tümörlerde Matris Metalloproteinaz-9, Nitrik Oksit ve Malondialdehid Konsantrasyonları Üzerine Melatoninin Etkisi* (Doctoral dissertation, Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi).
- Kelwick, R., Desanlis, I., Wheeler, G. N., & Edwards, D. R. (2015). *The ADAMTS (A Disintegrin And Metalloproteinase With Thrombospondin Motifs) Family*. Genome biology, 16(1), 1-16.
- Kocasoy Orhan, E. (2004). *İstanbul Tıp Fakültesi Diyabet Polikliniğine Başvuran Diabetes Mellituslu Hastalarda Elektrofizyolojik Yöntemlerle Diyabetik Periferik Nöropati ve Lanss Ağrı Skalası Kullanılarak Nöropatik Ağrı Prevelans Çalışması*. Uzmanlık Tezi, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- Kumar, S., Rao, N., & Ge, R. (2012). *Emerging Roles Of Adamtss In Angiogenesis And Cancer*. Cancers, 4(4), 1252-1299.
- Kuno, K., Kanada, N., Nakashima, E., Fujiki, F., Ichimura, F., & Matsushima, K. (1997). *Molecular Cloning Of A Gene Encoding A New Type Of Metalloproteinase-Disintegrin Family Protein With Thrombospondin Motifs As An İnflammation Associated Gene*. Journal of Biological Chemistry, 272(1), 556-562.
- Kuno, K., Okada, Y., Kawashima, H., Nakamura, H., Miyasaka, M., Ohno, H., & Matsushima, K. (2000). *ADAMTS-1 Cleaves A Cartilage Proteoglycan, Aggrecan*. FEBS letters, 478(3), 241-245.
- Kuzuya, M., & Iguchi, A. (2003). *Role Of Matrix Metalloproteinases In Vascular Remodeling*. Journal of atherosclerosis and thrombosis, 10(5), 275-282.
- Lemarchant, S., Pruvost, M., Montaner, J., Emery, E., Vivien, D., Kanninen, K., & Koistinaho, J. (2013). *ADAMTS Proteoglycanases In The Physiological And Pathological Central Nervous System*. Journal of neuroinflammation, 10(1), 1-8.

- Lemarchant, S., Pruvost, M., Montaner, J., Emery, E., Vivien, D., Kanninen, K., & Koistinaho, J. (2013). *ADAMTS Proteoglycanases In The Physiological And Pathological Central Nervous System*. *Journal of neuroinflammation*, 10(1), 1-8.
- Liu, X. S., Fan, B., Szalad, A., Jia, L., Wang, L., Wang, X., ... & Zhang, Z. G. (2017). *Microrna-146a Mimics Reduce The Peripheral Neuropathy İn Type 2 Diabetic Mice*. *Diabetes*, 66(12), 3111-3121.
- Longstreth, G. F. (2005). *Diabetic Thoracic Polyradiculopathy*. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 19(2), 275-281.
- Macit, S., & Akbulut, G. (2015). *Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres*. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 43(1), 59-65.
- Marangoz, A. D. (2019). *Diyabetik Polinöropati Tanılı Hastalarda Nöropatik Ağrısı Olanlar ile Olmayanlar Arasında Melatonin Düzeylerinin Karşılaştırılması*. Uzmanlık Tezi, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- Matthews, R. T., Gary, S. C., Zerillo, C., Pratta, M., Solomon, K., Arner, E. C., & Hockfield, S. (2000). *Brain-Enriched Hyaluronan Binding (BEHAB)/Brevican Cleavage In A Glioma Cell Line Is Mediated By A Disintegrin And Metalloproteinase With Thrombospondin Motifs (ADAMTS) Family Member*. *Journal of Biological Chemistry*, 275(30), 22695-22703.
- Molligan, J., Barr, C., Mitchell, R., Schon, L., & Zhang, Z. (2016). *Pathological Role Of Fibroblast-Like Synoviocytes In Charcot Neuroarthropathy*. *Journal of Orthopaedic Research*, 34(2), 224-230.
- Nacı, B., Koç, B., Genç, H., & Erdem, H. R. (2009). *Diyabetes Mellitus'un Nadir Bir Komplikasyonu: Diyabetik Amiyotrofi*. *Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Bilimleri Dergisi*, 12(3), 129.
- Nagase, H. (1996). *Matrix Metalloproteinases*. *Zinc metalloproteases in health and disease*, 173-224.
- Nagase, H. (1997). *Activation Mechanisms Of Matrix Metalloproteinases*. *Biological chemistry*, 378(3-4), 151-160.

- Nakamura, H., Fujii, Y., Inoki, I., Sugimoto, K., Tanzawa, K., Matsuki, H., ... & Okada, Y. (2000). *Brevican Is Degraded By Matrix Metalloproteinases And Aggrecanase-1 (ADAMTS4) At Different Sites*. *Journal of Biological Chemistry*, 275(49), 38885-38890.
- Opdenakker, G., Van den Steen, P. E., Dubois, B., Nelissen, I., Van Coillie, E., Masure, S., ... & Van Damme, J. (2001). *Gelatinase B Functions As Regulator And Effector In Leukocyte Biology*. *Journal of leukocyte biology*, 69(6), 851-859.
- Özpak, L. (2019). Diyabet modeli oluşturulmuş sıçan hipokampusünde alzheimer ilişkili adamts4, TIMP3, reln, bcan genlerinin ekspresyon profillerinin incelenmesi. Çukurova Üniversitesi, Uzmanlık Tezi.
- Öztürk, Ö. G. (2013). *Matriks Metalloproteinaz Enzim Ailesi*. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi, 22(2), 209-220.
- Parmaksız, İ. (2011). *Diyabet Komplikasyonlarında İleri Glikasyon Son Ürünleri*. *Marmara Medical Journal*, 24(3).
- Paulissen, G., Rocks, N., Gueders, M. M., Crahay, C., Quesada-Calvo, F., Bekaert, S., ... & Cataldo, D. D. (2009). *Role Of ADAM And ADAMTS Metalloproteinases In Airway Diseases*. *Respiratory research*, 10(1), 1-12.
- Pektañç, G. *ADAMTS (-1,-4,-5) Genlerinin Psoriatik Artrit Patogenezindeki Rollerinin ve Moleküler Mekanizmalarının Araştırılması* (Master's thesis, Sağlık Bilimleri Enstitüsü). Dicle Üniversitesi.
- Porter, S., Clark, I. M., Kevorkian, L., & Edwards, D. R. (2005). The ADAMTS metalloproteinases. *Biochemical Journal*, 386(1), 15-27.
- Ramos-DeSimone, N., Hahn-Dantona, E., Siple, J., Nagase, H., French, D. L., & Quigley, J. P. (1999). Activation of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) via a converging plasmin/stromelysin-1 cascade enhances tumor cell invasion. *Journal of Biological Chemistry*, 274(19), 13066-13076.
- Reel, B. (2006). Matriks metalloproteinaz enzimleri ve ateroskleroz. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 26(5), 527-37.

- Reyhanoğlu, D. A., Kara, B., Őengün, İ. Ő., & Yıldırım, G. (2018). Diyabetik Nöropatide görölen biyomekanik değişiklikler. *Dokuz Eylöl Üniversitesi Tıp Faköltesi Dergisi*, 32(2), 167-172.
- Rocks, N., Paulissen, G., El Hour, M., Quesada, F., Crahay, C., Guéders, M., ... & Cataldo, D. (2008). Emerging roles of ADAM and ADAMTS metalloproteinases in cancer. *Biochimie*, 90(2), 369-379.
- Saeedi, P., Petersohn, I., Salpea, P., Malanda, B., Karuranga, S., Unwin, N., ... & IDF Diabetes Atlas Committee. (2019). Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas. *Diabetes research and clinical practice*, 157, 107843.
- Said, G. (1996). Diabetic neuropathy: an update. *Journal of neurology*, 243(6), 431-440.
- Satman, İ., İmamoğlu, Ő., Yılmaz, C., Akalın, S., Salman, S., & Dinççađ, N. (2014). Diabetes Mellitus ve komplikasyonlarının tanı, tedavi ve izlem kılavuzu. *Miki Matbacılık: Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, Ankara, Mayıs*, 15-25.
- Shiomi, T., Lemaître, V., D'Armiento, J., & Okada, Y. (2010). Matrix metalloproteinases, a disintegrin and metalloproteinases, and a disintegrin and metalloproteinases with thrombospondin motifs in non-neoplastic diseases. *Pathology international*, 60(7), 477-496.
- Singh, P., Bansal, S., Kuhad, A., Kumar, A., & Chopra, K. (2020). *Naringenin Ameliorates Diabetic Neuropathic Pain By Modulation of Oxidative-Nitrosative Stress, Cytokines and MMP-9 Levels*. *Food & function*, 11(5), 4548-4560.
- Sugimoto, K., Takahashi, M., Yamamoto, Y., Shimada, K., & Tanzawa, K. (1999). *Identification Of Aggreacanase Activity In Medium Of Cartilage Culture*. *The Journal of Biochemistry*, 126(2), 449-455.
- Sun, Y., Huang, J., & Yang, Z. (2015). *The Roles Of ADAMTS In Angiogenesis And Cancer*. *Tumor Biology*, 36(6), 4039-4051.
- Sunay, F. B., Türkođlu, S. A., & Köçkar, F. (2012). *ADAMTS Ailesi ve Anti-Anjiogenetik ADAMTS1*. *Uludađ Üniversitesi Tıp Faköltesi Dergisi*, 38(1), 49-56.

- Şahin, E., & Öncel, M. (2014). *Diyabet Tanı ve Takibinde Geleneksel ve Yeni Biyokimyasal Belirteçler*.
- Şen, F. (2012). *Matriks Metalloproteinaz-3 (MMP-3) Ve Matriks Metalloproteinaz-9 (MMP-9) Gen Polimorfizminin Akut Miyokard İnfarktüsüne Olası Etkileri*. Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Mersin.
- Tan, S. (2021). *DeneySEL Diyabet Oluşturulmuş Gebe Sıçan Modelinde Embriyo-Endometriyum İlişkisinde Diyabete Bağlı Değişimlerin Araştırılması*. Tıpta Uzmanlık Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Denizli.
- Tang, B. L. (2001). *ADAMTS: A Novel Family Of Extracellular Matrix Proteases*. The international journal of biochemistry & cell biology, 33(1), 33-44.
- Tang, B. L., & Hong, W. (1999). *ADAMTS: A Novel Family Of Proteases With An ADAM Protease Domain And Thrombospondin 1 Repeats*. FEBS letters, 445(2-3), 223-225.
- Tanyeri F. *Diabetes Mellitus*. Gülman B. Diyabetik Ayak. 2.Baskı, Samsun: Ofset, 2000:32-65.
- Taştemur, M., Beysel, S., Hepşen, S., Öztekin, S., Çakal, E., Akdağ, İ., & Yıldız, M. (2021). *Investigating ADAMTS7 And ADAMTS12 Levels In Prediabetic And Type 2 Diabetic Patients*. Biomarkers in Medicine, 15(10), 753-760.
- TEMD, (2022). *Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. TEMD Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu-2022*. 15. Baskı (Çevrimiçi Yayın): Temmuz 2022. Erişim, 06.02.2022 [https://file.temd.org.tr/Uploads/publications/guides/documents/diabetes-mellitus\\_2022.pdf](https://file.temd.org.tr/Uploads/publications/guides/documents/diabetes-mellitus_2022.pdf)
- Terzi, M., & Cengiz, N. (2009). *Diyabetik Nöropati*. Journal of Experimental and Clinical Medicine, 21(1).
- TKNEED, (2021). *Nöropatiler*. Erişim: 15.08.2021, <https://www.tkneed.org/media/DEYTARESELLER tkneed/deytacatalog/content/files/Diyabetik%20Nöropatiler%2B.pdf>

- Tortorella, M. D., Burn, T. C., Pratta, M. A., Abbaszade, I., Hollis, J. M., Liu, R., ... & Arner, E. C. (1999). *Purification and Cloning of Aggrecanase-1: A Member of The ADAMTS Family Of Proteins*. Science, 284(5420), 1664-1666.
- Tortorella, M. D., Malfait, A. M., Deccico, C., & Arner, E. (2001). *The Role Of ADAM-TS4 (Aggrecanase-1) And ADAM-TS5 (Aggrecanase-2) In a Model of Cartilage Degradation*. Osteoarthritis and Cartilage, 9(6), 539-552.
- Tschesche, H., Zölzer, V., Triebel, S., & Bartsch, S. (2001). *The Human Neutrophil Lipocalin Supports The Allosteric Activation Of Matrix Metalloproteinases*. European Journal of Biochemistry, 268(7), 1918-1928.
- Ünal, A. (2019). *Diyabetik ve Diyabetik Olmayan Hastalarda Vitreus Örneğinde Matriks Metalloproteinaz 9 ve 14 Düzeylerinin Karşılaştırılması*. Tıpta Uzmanlık Tezi, Atatürk Üniversitesi. Erzurum.
- Ünal, E., Akan, O., & Üçler, S. (2015). *Diyabet ve Nörolojik Hastalıklar*. Okmeydanı Tıp Dergisi, 31(ek sayı), 45-51.
- Vankemmelbeke, M. N., Jones, G. C., Fowles, C., Ilic, M. Z., Handley, C. J., Day, A. J., ... & Buttle, D. J. (2003). *Selective Inhibition Of ADAMTS-1,-4 And-5 By Catechin Gallate Esters*. European journal of biochemistry, 270(11), 2394-2403.
- Yılmaz, B., & Karabudak, E. (2018). *Diyet Kaynaklı İleri Glikasyon Son Ürünleri ve Sağlık Üzerine Etkileri*. Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, (4), 349-356.
- Yılmaz, M. A. (2020). *Alzheimer hastalığında adamTS4, adam9 proteinlerinin rolü ve asetilkolinesteraz aktivitesi ile ilişkisi* (Master's thesis, Sağlık Bilimleri Enstitüsü). Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi. Çanakkale.
- Yılmaz, M. T. (1996). *Hatemi H.: Diabetes Mellitusun tarihçesi*. Aktüel Tıp Dergisi, 7, 497-499.
- Yılmaz, M., & Şehitoğlu, H. (2022). *Alzheimer Hastalığında ADAMTS4 ve ADAM9 Proteinlerinin Rolü*. VIII. INSAC International Congress on Health Sciences (ICHES-2022), Konya, Türkiye, 18- 20 Mart 2022, ss.47-53

Yoldaş, T. K., Keklikođlu, H. D., Çoruh, Y., Polat, H. G., & Ersin, T. (2007). *Distal Simetrik Polinöropati Şeklinde Prezente Olan Basınç Felçleri ile Beraber Olan Herediter Nöropati Olgusu*. Kocatepe Tıp Dergisi, 8(2), 65-68.

Yurteri, B. (2016). Streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş sıçan pankreasında resveratrol kullanımına bağlı proinflamatuvar gen ifadelenmelerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Gazi üniversitesi.

Zhao, H. M., Diao, J. Y., Liang, X. J., Zhang, F., & Hao, D. J. (2017). *Pathogenesis and Potential Relative Risk Factors of Diabetic Neuropathic Osteoarthropathy*. Journal of Orthopaedic Surgery and Research, 12(1), 1-8.



**EKLER**  
**EK 1: ETİK KURUL ONAY FORMU**



T.C.  
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 18920478-050.04.04-E.1900024186  
Konu : Başvuru İncelemesi (Doç. Dr.  
Dilek ÜLKER ÇAKIR)

12/02/2019

Sayın Doç. Dr. Dilek Ülker ÇAKIR

Yürütücülüğünü yapmış olduğunuz "Diabetik Nöropatili Hastalarda ADAMTS4, ADAMTS5 ve MMP9 Seviyelerinin Sinir Hasarı ile İlişkisi" başlıklı 2011-KAEK-27/2018-E.1800184145 no'lu projeniz ile ilgili olarak Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun almış olduğu 06.02.2019 tarih ve 03-01 no'lu kararı aşağıdadır.

Bilgilerinize rica ederim.

**Karar Tarihi:** 06.02.2019  
**Karar No:** 2019-03

**Karar01)**2011-KAEK-27/2018-E.1800184145 no'lu araştırma ile ilgili olarak, proje yürütücüsü Doç. Dr. Dilek ÜLKER ÇAKIR'ın çalışması Etik Kurul tarafından değerlendirilmiş olup; yapılan oylamada "**ETİK KURUL ONAYINI ALIR**" kararı verilmiştir.

*e-imzalıdır*

Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR  
Kurul Başkanı

## EK 2- KATILIMCILAR İÇİN ONAM FORMU

### ONAM FORMU (D2)

	Evet	Hayır
Hasta Bilgilendirme Formunu okudunuz mu?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Araştırma projesi size sözlü olarak da anlatıldı mı?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Size araştırmayla ilgili soru sorma, tartışma fırsatı tanındı mı?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sorduğunuz tüm sorulara tatmin edici yanıtlar alabildiniz mi?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Araştırma hakkında yeterli bilgi aldınız mı?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Herhangi bir zamanda herhangi bir nedenle ya da neden göstermeksizin araştırmadan çekilme hakkına sahip olduğunuzu anladınız mı?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Araştırma sonuçlarının uygun bir yolla yayınlanacağına katılıyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Yukarıdaki soruların yanıtları size kim tarafından açıklandı? <i>Lütfen ismini yazınız.</i>		

İmza:

Adı / Soyadı:

Tarih: