



**T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İNSÜLİN DİRENCİ OLAN VE OLMAYAN
TİP 2 DİYABETLİ HASTALARDA SERUM
MYO-İNOSİTOL OKSİJENAZ
DÜZEYLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

ARZU ATAKLI

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. EBRU KALE**

**TIBBİ BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI
TIBBİ BİYOKİMYA YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TEMMUZ/2024**

İTHAF

“Koronavirüs pandemisinde kaybettiğim en kıymetlime, Anneciğime ithaf ediyorum.”

TEŞEKKÜR

Tıbbi biyokimya yüksek lisans öğrenciliğim süresince her türlü bilgi ve birikimlerini benimle paylaşarak pek çok konuda tecrübe edinmemi sağlayan, tez danışmanım değerli hocam Prof. Dr. Ebru KALE'ye,

Yüksek lisans tez çalışmamız için gerekli serum örneklerinin temini için bize yardımcı olan Doç. Dr. Eylem ÇAĞILTAY' a,

Yüksek lisans sürecim boyunca yardımını esirgemeyen Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma ve arkadaşlarıma,

Bugüne gelmemi sağlayan ve beni her zaman destekleyen aileme ve dostlarıma,

Tezimi 2023/048 proje numarasıyla destekleyen Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ÖZET	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
1. GENEL BİLGİLER	3
2.1. DİYABET	3
2.1.1. Tanım, Tarihçe ve Epidemiyoloji	3
2.1.2. Patofizyoloji.....	5
2.1.2.1. İnsülin direnci	6
2.1.3. Klinik Bulgular	7
2.1.4. Diyabet Tedavisi	8
2.1.5. Diyabet Komplikasyonları	8
2.2. MYO-İNOSİTOL	9
2.2.1. Myo-inositol'ün tanımı ve işlevi.....	9
2.2.2. Myo-inositol'ün metabolizması	11
2.2.3. Myo-inositol ve glukoz ilişkisi	12
2.2.4. Myo-inositol ve insülin sinyali	13
2.3. MYO-İNOSİTOL OKSİJENAZ.....	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	16
3.1. VERİ TOPLAMA VE DEĞERLENDİRME ÖLÇEKLERİ	16
3.1.1. Dahil Edilme ve Dışlama Kriterleri	16
3.1.2. Örneklerin Toplanması, Saklanması ve Analizi	17
3.1.2.1 İnsülin Direnci Testi	17
3.1.2.2 Kit İçeriği.....	17
3.1.2.3 Standartların hazırlanması	17
3.1.2.4 Örneklerin çalışılması	18
3.3 İSTATİSTİKSEL ANALİZ	19
4. BULGULAR.....	20
5. TARTIŞMA	31

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	37
KAYNAKLAR	38
EKLER.....	43



TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2.1: Diyabet tanı kriterleri	3
Tablo 4.1: Grupların yaş ortalamaları ve p değeri	21
Tablo 4.2: Grupların BKİ değeri ortalamaları ve p değeri.....	21
Tablo 4.3: Grupların açlık glukoz, açlık insülin, HOMA-IR ve HbA1C değerlerinin medyan, en küçük ve en büyük değeri	23
Tablo 4.4: Grupların kalsiyum ortalama değerleri	27
Tablo 4.5: Grupların HCT, HGB, RBC, WBC, MCV ve RDW değerleri	28
Tablo 4.6: Serum Myo-inositol Oksijenaz konsantrasyonlarının karşılaştırılması.....	29

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Diyabetin patofizyolojisi.....	6
Şekil 2.2: Myo-inositol'ün yapısı.....	9
Şekil 2.3: Myo-inositol'ün de novo biyosentezi	11
Şekil 2.4: Fosfatidil inositolden ikinci habercilerin oluşumu.....	13
Şekil 2.5: Myo-inositol katabolizması.....	15
Şekil 3.1: Standart çalışma solüsyonları	18
Şekil 4.1: Grupların cinsiyete göre dağılımı	20
Şekil 4.2: Grupların açlık glukoz, açlık insülin, HOMA-IR, HbA1C ortalama değerleri...	22
Şekil 4.3: Grupların GFR, üre ve kreatinin ortalama değerleri	24
Şekil 4.4: Grupların kolesterol, trigliserid, LDL ve HDL ortalama değerleri.....	26
Şekil 4.5: Grupların serum Myo-inositol Oksijenaz ortalama konsantrasyon değerleri	30

SİMGELER VE KISALTMALAR

BKİ	: Beden Kütle İndeksi
DAG	: Diaçilgliserol
DCI-IPG	: D-chiro inositol fosfoglikan
DM	: Diyabetes Mellitus
GLUT 4	: Glukoz taşıyıcı tip 4
GFR	: Glomerüler filtrasyon hızı
HbA1C	: Glukolize hemoglobin testi
HCT	: Hematokrit
HDL	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HGB	: Hemoglobin
HMIT	: Hidrojene bağlı myo-inositol taşıyıcı
HOMA-IR	: İnsülin direnci homeostatik değerlendirme modeli
HRP	: Yabancurpu Peroksidazı
IMPase 1	: İnositol Monofosfataz 1
InsP	: İnositol fosfat
IP₃	: İnositol trifosfat
IP6K1	: İnositol Hekzakifosfat kinaz
ISYNA1	: İnositol Sentaz A1
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
MCV	: Ortalama Kırmızı Kan Hücresi Hacmi
MI-IPG	: Myo-inositol Fosfoglikan
MIOX	: Myo-inositol Oksijenaz
MIPS	: Myo-inositol 3 Fosfat Sentaz

OGTT	: Oral Glukoz Tolerans Testi
PI	: Fosfatidilinositol
PIP	: Fosfainositid
PIP₂	: Fosfatidilinositol 4,5 bifosfat
PIP₃	: Fosfatidilinositol 3,4,5 trifosfat
PKOS	: Polikistik Over Sendromu
RBC	: Kırmızı Kan Hücresi
RDW	: Kırmızı kan hücresi dağılım genişliği
SMIT1	: Sodyuma bağlı myo-inositol taşıyıcı tip 1
SMIT2	: Sodyuma bağlı myo-inositol taşıyıcı tip 2
SGLT 1	: Sodyum Glikoz Kotransporter 1
SGLT 2	: Sodyum Glikoz Kotransporter 2
TMB	: 3,3',5,5'-Tetrametilbenzidin
VLDL	: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
WBC	: Beyaz Kan Hücresi

İNSÜLİN DİRENCİ OLAN VE OLMAYAN TİP 2 DİYABETLİ HASTALARDA SERUM MYO-İNOSİTOL OKSİJENAZ DÜZEYLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

ÖZET

Amaç: İnsülin direnci ve diyabet durumunda myo-inositol katabolizmasındaki değişikliğin saptanarak insülinin myo-inositol metabolizması üzerine etkinliğini ortaya koymaktır.

Gereç ve Yöntem: Çalışma Sultan Abdülhamid Han Eğitim ve Araştırma Hastanesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Polikliniğine başvuran ve çalışmaya katılmayı kabul eden hastalar ile yapılmıştır. İnsülin direnci olan ve olmayan diyabet hastaları ile kontrol grubu için sağlıklı bireylerden serum örnekleri alınmıştır. Alınan örneklerde serum Myo-inositol Oksijenaz düzeyi Enzime Bağlı İmmünosorbent testi (ELİSA) yöntemi ile çalışılmıştır. Hastaların rutin klinik biyokimya testleri sırasında yapılan açlık glukoz, açlık insülin, Glukolize Hemoglobin Testi (HbA1C), İnsülin Direnci Homeostatik Modeli Değerlendirmesi (HOMA-IR), lipid parametreleri ile bulunan sonuçlar değerlendirilmiştir. Verilerin değerlendirilmesinde istatistiksel olarak $p<0,05$ anlamlı kabul edilmiştir.

Bulgular: Gruplar arasında beden kütle indeksi, açlık glukoz, açlık insülin, HOMA-IR, HbA1C, trigliserid parametreleri açısından anlamlı farklılık olduğu ($p<0,001$) ve bu parametrelerin en yüksek değerleri insülin direnci olan diyabet grubunda görülmüştür. Serum Myo-inositol Oksijenaz konsantrasyonları bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır ($p=0,206$).

Sonuç: Gruplar arasında serum Myo-inositol Oksijenaz konsantrasyonları açısından farklılık bulunamamıştır. Bu bulguların doğrulanması ve nedenlerinin daha iyi anlaşılabilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, İnsülin Direnci, Myo-inositol Oksijenaz

COMPARISON OF SERUM MYO-INOSYTOLOXYGENASE LEVELS IN TYPE 2 DIABETES PATIENTS WITH AND WITHOUT INSULIN RESISTANCE

ABSTRACT

Aim: It was aimed to reveal the effectiveness of insulin on myo-inositol metabolism by detecting the change in myo-inositol catabolism in cases of insulin resistance and diabetes.

Materials and Methods: The study was conducted with patients who applied to the Endocrinology and Metabolic Diseases Polyclinic of Sultan Abdülhamid Han Training and Research Hospital and agreed to participate in the study. Serum samples were taken from diabetic patients with and without insulin resistance and from healthy individuals for the control group. Serum Myo-inositol Oxygenase level in the samples taken was studied by the Enzyme-linked immunosorbent test (ELISA) method. The results obtained with fasting glucose, fasting insulin, Glycosized Hemoglobin Test (HbA1C), Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance (HOMA-IR) and lipid parameters performed during the routine clinical biochemistry tests of the patients were evaluated. In evaluating the data, $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results: There was a significant difference between the groups in terms of body mass index, fasting glucose, fasting insulin, HOMA-IR, HbA1C, triglyceride parameters ($p < 0.001$) and the highest values of these parameters were seen in the insulin resistant diabetes group. No statistically significant difference was found between the groups in terms of serum Myo-inositol oxygenase concentrations ($p = 0.206$).

Conclusion: No difference was found between groups in terms of serum Myo-inositol oxygenase concentrations. Further studies are needed to confirm these findings and better understand their causes.

Key Words: Diabetes, Insulin Resistance, Myo-inositol Oxygenase

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diyabet, vücutta insülin hormonunun yeteri kadar üretilmemesi ya da kullanılamaması sonucu kan glukoz seviyesinin yükselmesi ile tanımlanan metabolik hastalıktır. Diyabetin farklı sınıflandırmaları olmakla beraber temel olarak dört klinik tip bulunmaktadır. Tip 1 diyabet, Tip 2 diyabet, gestasyonel diyabet ve spesifik diyabet tipleri (monojenik diyabet sendromları, pankreas hastalıklarına bağlı sekonder diyabet ve transplantasyonla ilişkili diyabet gibi) diyabetin klinik tiplerini oluşturmaktadır. En yaygın olarak görülen diyabet türünü Tip 2 diyabet oluşturmaktadır. Tip 2 diyabet, insülin direnci zemininde, ilerleyici insülin sekresyon defekti ile karakterizedir. Yüksek kan glukoz düzeyine yanıt olarak insülin hormonu görevini tam olarak yerine getirememektedir. Özellikle Tip 2 diyabetin gelişmesinde önemli bir etken olan insülin direncinde, hücre ve reseptördeki defekte bağlı olarak vücutta üretilen insülinin kullanımındaki sorunlar nedeniyle glukoz hücre içine alınıp enerji olarak kullanılamamaktadır (1,2).

Myo-inositol, inositolün stereoizomeri ve en aktif formudur. Hücre içinde glukozdan üretililebilmekle beraber besinlerle dışarıdan da alınabilmektedir. Myo-inositol hücre içinde serbest formda veya hücre membranında fosfatidilinositol olarak bulunmaktadır. Vücutta myo-inositol'ün en çok sentezlendiği organ böbrekler olmasına rağmen karaciğer ve beyinde de sentezlenmektedir. Kan dolaşımında myo-inositol serbest halde bulunmaktadır (3). Myo-inositol glukoz metabolizması üzerinde insüline yanıt olarak çok sayıda ikinci haberci oluşturarak etkili olmaktadır. Myo-inositol fosfoglikan hücre zarının yapısında bulunur ve insülin sinyal yolağında ikincil haberci olarak görev almasından dolayı glukoz metabolizmasında etkilidir. İnsülinin reseptöre bağlanmasıyla myo-inositol fosfoglikan fosforile olarak Glukoz Taşıyıcı Tip 4 (GLUT 4)'ün hücre zarına translokasyonunu indüklemekte ve adenilat siklaz enzimini inhibe ederek hücre içi glikoz alımını artırmaktadır (4).

Kan glukoz seviyesinin yükselmesi; myo-inositolün hücre içine alınmasını engellemekte, hücre içi myo-inositol biyosentezinini azaltmakta, hücre içi sorbitol birikimine bağlı ozmolariteyi dengelemek için myo-inositolün hücreden atılımını arttırmaktadır. Bununla beraber myo-inositolün glukoz ile bazı ortak taşıyıcı sistemleri paylaştığı, kimyasal yapılarının birbirine benzemesi nedeniyle hücre dışında bulunan

fazla glukozun myo-inositol taşıyıcılarıyla yarışmaya girerek, hücelere myo-inositol alımını engelleyebildiği yapılan çalışmalarda belirtilmektedir (5,6).

Myo-inositol katabolizmasında, tek ve hız kısıtlayıcı enzim olarak rol alan Myo-inositol Oksijenaz (MIOX) hem yapısında olmayan demir içeren enzimdir. Böbreklerde bulunan MIOX, kan dolaşımıyla böbreğe gelen myo-inositolü D-glukuronik aside dönüştürülerek atılımını sağlamaktadır ve bu yol geri dönüşümsüzdür. Bu nedenle böbrekler myo-inositolün plazma konsantrasyonunun düzenlenmesinde oldukça önemlidir. Yüksek kan glukoz konsantrasyonu MIOX düzeyini artırarak idrar myo-inositol kaybına neden olmaktadır. Farelerle yapılan çalışmada hiperglisemik durumun MIOX düzeyini artırdığı ve bir süre sonra böbrek homeostazında bozulmaya yol açarak böbrek hasarına yol açabileceği bildirilmektedir (7–9). Tip 2 diyabetli bireylerle yapılan çalışmada da normal bireylere göre böbreklerden myo-inositol atılımının arttığı gözlenmiştir (10).

Tez çalışmamızda amaç, insülinin myo-inositol metabolizması üzerine etkinliğini ortaya koymaktır. Bu amaçla kontrol grubuyla insülin direnci olan ve olmayan Tip 2 diyabetli bireyler arasında serum MIOX düzeyindeki farklılığın araştırılması, serum MIOX düzeylerinin açlık glikoz, açlık insülin, HOMA-IR, HbA1C değişkenleri ile ilişkisi incelenecektir.

1. GENEL BİLGİLER

2.1. DİYABET

2.1.1. Tanım, Tarihçe ve Epidemiyoloji

Diyabet dünya çapında küresel sağlığı tehdit eden kronik bir hastalıktır. Yüksek kan glukozu ile seyredip vücudun insülin hormonunu yeterince veya hiç üretmediği ya da insülini etkin şekilde kullanamaması sonucu gelişmektedir. Amerikan Diyabet Derneği'nin sınıflandırmasına göre genel olarak dört tip diyabet türü tanımlanmaktadır. Bunlar; çoğunlukla erken yaşlarda başlayan ve otoimmün β hücresi yıkımına bağlı mutlak insülin yetmezliği görülen tip 1 diyabet, genellikle orta yaşlarda başlayan ve yeterli β hücresi olmasına rağmen insülin salgılanmasındaki yetersizlik nedeniyle ortaya çıkarak toplumda en sık görülen tip 2 diyabet, ekzokrin pankreas hastalıkları ya da ilaç veya kimyasal kaynaklı diyabet gibi diğer nedenlere bağlı spesifik diyabet türleri ve gebeliğin ikinci veya üçüncü trimesterinde ortaya çıkan gestasyonel diyabet (11,12). Diyabet tanı kriterleri Tablo 2.1'de verilmiştir. Bu kriterlerden birinin olması durumunda diyabet tanısı konulmaktadır (11).

Tablo 2.1: Diyabet tanı kriterleri (11)

Parametreler	Tanı Kriterleri
Açlık plazma glukozu (En az 8 saat açlık gerekmektedir)	≥ 126 mg/dL (7,0 mmol/L)
Rastlantısal plazma glukozu (Klasik hiperglisemi ya da hiperglisemik kriz semptomları olan hastalarda)	≥ 200 mg/dL (11,1 mmol/L)
Oral Glukoz Tolerans Testi 2. Saat plazma glikozu (75 g glukoz alımı sonrası)	≥ 200 mg/dL (11,1 mmol/L)
Glukolize Hemoglobin Testi	$\geq \%6,5$ (48 mmol/mol)

Diyabetin tarihi ilk yüzyıllara dayanmaktadır. İlk olarak milattan önce 15. yüzyıla ait Mısır ve Hint papirüslerinde diyabetle ilgili semptomlardan bahsedildiği bildirilmekle beraber yazılı kaynak olarak diyabet ismi milattan sonra 2. yüzyılda ilk defa Arateus tarafından kullanılmıştır. Arateus, bu hastaların çok fazla idrara çıktığını ve hastalarda giderilemeyen bir susuzluk olduğunu belirterek bu hastalığa Yunancada sifon anlamına gelen “Diyabet” ismini vermiştir. Bundan sonra Thomas Willis diyabet hastalarının idrarının tatlı olduğunu belirterek Yunancada bal tatlısı anlamına gelen Latince “Mellitus” kelimesini eklemiş ve hastalığın ismini “Diabetes Mellitus” (DM) olarak tanımlamıştır. Zamanla pankreasın önemi ve işlevinin bilim adamları tarafından anlaşılmasıyla beraber diyabetin patogenezi ve metabolik olaylar açıklanmaya başlanılmıştır. Bunun üzerine pek çok ülkeden bilim adamları tarafından diyabet hastalığı modelini oluşturmak ve pankreatik ekstratlarla tedavinin etkinliğini incelemek için özellikle köpeklerle yapılan pankreatektomi deneyleri yapılmaya başlanılmıştır. Yapılan pek çok çalışma üzerine 1921’de Frederick Grant Banting ve Charles Best tarafından insulin sentezlenerek elde edilen maddeye “İsletin” adı verilmiştir. Daha sonra Macleod tarafından bu maddenin ismi “İnsülin” olarak değiştirilmiştir. 1923 yılında Banting ve Best insülinin keşfi üzerine Nobel ödülü almışlardır. Bundan sonra insülinle ilgili çalışmalar devam etmiş ve insülin diyabet tedavisinde kullanılmaya başlanılmıştır (2,13).

Diyabet dünya çapında her geçen gün hızla artmaktadır. Uluslararası Diyabet Federasyonu’nun 2021 yılında yayımladığı kılavuzda dünya çapında yaklaşık 537 milyon diyabetli birey olduğu ve 2030 yılında bu rakamın 643 milyona yükseleceği düşünülmektedir. Bununla beraber dünyada yaklaşık 240 milyon bireyin tanı almamış diyabetli olduğu tahmin edilmekte ve bu bireylerin büyük çoğunluğunun Afrika, Güneydoğu Asya, Batı Pasifik gibi düşük ve orta gelirli ülkelerde yaşadığı düşünülmektedir. Uluslararası Diyabet Federasyonu’nun verilerine göre 2021 yılında dünyada diyabet ve diyabete bağlı komplikasyonlardan 20-79 yaş arası yaklaşık 6,7 milyon insanın hayatını kaybettiği tahmin edilmektedir. En yaygın görülen diyabet türü olan Tip 2 diyabetin görülme sıklığı yaşla beraber artmaktadır. Tip 2 diyabetin en sık 55 ile 59 yaşları arasında görüldüğü ve erkeklerde kadınlara göre biraz daha erken yaşta ortaya çıktığı belirtilmektedir. Küresel sağlık harcamalarının da büyük bir bölümünü oluşturan diyabetin 2021 yılında neden olduğu doğrudan sağlık harcamalarının yaklaşık bir trilyon Amerikan doları olduğu ve 2030 yılına kadar bu rakamı da aşacağı

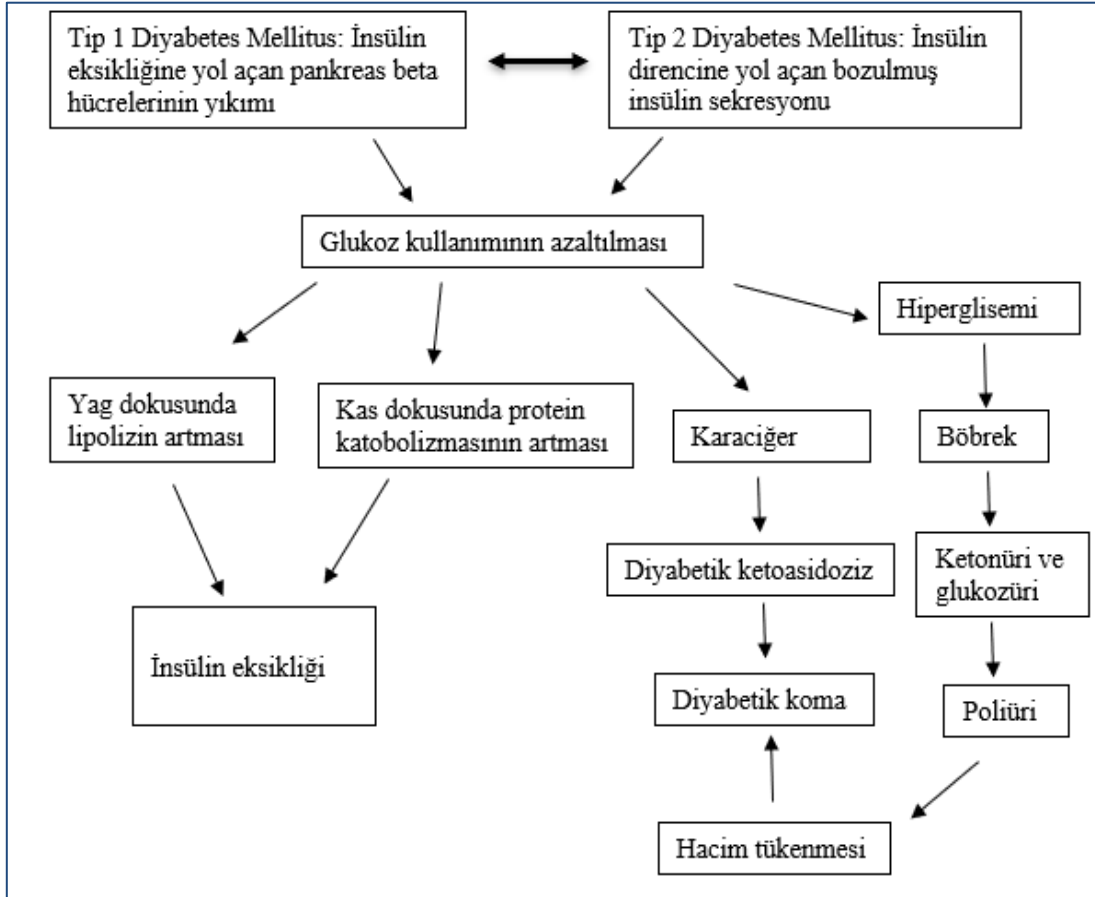
beklenilmektedir. Diyabetin dünya çapında artışını durdurmak hem toplum sağlığının iyileştirilmesinde hem de ekonomik maliyetleri azaltmak için oldukça önemlidir (12,14).

2.1.2. Patofizyoloji

Diyabet durumunda vücut ya yeterli insülin hormonunu üretememekte ya da ürettiği insülini etkili bir şekilde kullanamamaktadır. İnsülin, pankreasın Langerhans adacıklarının beta hücreleri tarafından salgılanan polipeptid hormondur ve kandaki glukozun kullanılmasını sağlayarak kan glukoz seviyesinin düzenlenmesini sağlar. Tip 1 diyabet insülin yetersizliği sonucu kan glukoz düzeyinin yükselmesi ile karakterize otoimmün hastalıktır. Pankreasta otoimmün kaynaklı beta hücre harabiyeti sonucu total insülin eksikliği görülmektedir. Bu kişilerde insülin otoantikor, adacık hücre otoantikor ve anti-glutamik asit dekarboksilaz antikorları gibi antikor testleri yapılarak teşhis koyulabilmektedir. Aynı zamanda bu kişilerde sık görülen ketoasidoz durumunda glukoz eksikliğinde karaciğerde parçalanmış yağların ketonlara dönüşmesiyle kan asidik hale gelerek yaşamı tehdit edebilmektedir. İnsülin üretiminde bozukluk olduğu için bu hastalara eksojen insülin ikame tedavisi verilmektedir (15).

Tip 2 diyabette ise pankreasın beta hücrelerinden yetersiz insülin salınması veya yeterli insülin salınmasına karşın dokuların insüline uygun şekilde yanıt verememesi sonucu kan glukoz seviyesi yükselmektedir. Obezite, hipertrigliseridemi, sağlıksız beslenme alışkanlıkları, hareketsiz yaşam, stres gibi çevresel ve genetik faktörler tip 2 diyabetin patogeneğinde etkili olarak diyabet riskini artırmaktadır. Tip 2 diyabetli kişilerde obezite ve bel çevresinde fazla yağlanma sıklıkla gözlenmektedir. Bu durumda adipoz dokudan serbest yağ asidi artışı ve adipokin deregülasyonu insülin direncini artırmaktadır. Tip 2 diyabetin patofizyolojisindeki temel mekanizma plazmadaki inflamatuvar sitokinler ve yüksek yağ asitleri seviyeleri ile ilişkili olan insülin eksikliği ve insülin direnci durumu; kas, karaciğer ve yağ dokusunda glukoz alımının azalmasına, yüksek yağ yıkımına ve hepatik glukoz üretiminde artışa neden olmaktadır. Bunun sonucunda insülinin yetersiz kalması ve glukagonun fazla salgılanması nedeniyle hiperglisemi görülmektedir. Ayrıca hepatik ve kas yağ birikimi hücre içi insülin sinyalinin bozulmasına bağlı olarak da glukozun hücreye alınmasını engelleyebilmektedir. Tip 2 diyabet gelişiminde yer alan organlar arasında pankreas, karaciğer, iskelet kası, böbrekler, beyin, ince bağırsak ve yağ dokusu bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucu adipokin deregülasyonu, bağırsak mikrobiyotasındaki

anormalliklerin, immün deregölasyonun ve inflamasyonun diyabetin gelişmesinde önemli patofizyolojik faktörler olduğu bildirilmektedir (16,17). Diyabetin patofizyolojisi genel olarak Şekil 2.1’de gösterilmiştir (16).



Şekil 2.1: Diyabetin patofizyolojisi (16)

2.1.2.1. İnsülin direnci: İnsülin direnci, hücrelerin insüline yeterli yanıt verememesi sonucu hücrede glukoz alımı ve kullanımında aksaklıkların olması durumudur. Normal ya da yüksek kan glukoz seviyeleri korunurken insüline dokuların tepkileri azalmaktadır. İnsüline dirençli dokular kandaki glukozu uygun şekilde metabolize edememektedir. Bunun sonucunda pankreas β hücreleri insülin üretmeye devam eder ve aşırı insülin sentezi, insüline karşı artan doku direncine yol açarak kısır bir döngü oluşturmaktadır. Bir süre sonra pankreasın beta hücrelerinin uzun süre ve fazla miktarda insülin üretmesine rağmen kan glukoz düzeyindeki yükselişi kontrol edemez ve Tip 2 diyabet ortaya çıkmaktadır (18,19).

İnsülin direncinin periferik ve hepatik olmak üzere iki tipi bulunmaktadır. Hepatik insülin direnci hepatositlerde artan glukoneogenez, Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol (VLDL) ve trigliserit sentezi ile karakterizedir. Buna karşın periferik insülin direnci daha çok iskelet kası ve yağ dokusunu ifade etmektedir. Periferik insülin direncinde iskelet kası tarafından glikoz alımı bozulmakta ve yağ dokusundan serbest yağ asitleri salınımı artmaktadır (20,21).

İnsülin direncinin etiopatogenezinde reseptör öncesi, reseptör ve reseptör sonrası bozukluk olarak üç mekanizma bulunmaktadır. Reseptör öncesi bozukluk anormal insülin molekül yapısı ile karakterizedir. Bu durumda genetik olarak insülin molekülünün yapısı normalden farklı olarak üretilmektedir. Fakat eksojen insülin uygulandığında hücreye glikoz alımı normal olarak gerçekleşmektedir. Reseptör insülin direncinde insülin reseptörünün yapısından veya işlevinden sorumlu bir gen mutasyona uğradığında ortaya çıkmaktadır. Mutasyonlar insülinin reseptöre uygun olmayan bir şekilde bağlanmasına neden olur. İnsülin direncinin oluşmasında en önemli mekanizma olan reseptör sonrası insülin direncinde ise insülinin reseptörüne bağlanmasındaki bozukluklar veya hücreye glikoz taşıyıcılarının yapısı ve işleyişindeki bozukluklar neden olmaktadır (22,23).

2.1.3. Klinik Bulgular

Diyabet türlerinden özellikle tip 1 ve tip 2 diyabette klinik bulgu ve hastalığın ilerlemesi değişebilmektedir. Bazı hastalar tanı sırasında net olarak tip 1 veya tip 2 diyabet olarak sınıflandırılmamaktadır. Eskiden kaba olarak sadece yetişkinlerde görülen tip 2 diyabet ve sadece çocuklarda görülen tip 1 diyabet olarak tanımlanmasına karşın günümüzde her iki hastalığın her iki yaşta da görülebilmesi nedeniyle bu sınıflandırma artık geçerli değildir. Tip 1 diyabetli bireyler çoğunlukla sık ve fazla miktarda idrara çıkma olarak bilinen poliüri ve fazla su içme isteği olarak bilinen polidipsi, yorgunluk, sürekli gözlenen açlık hali, bulanık görme gibi semptomlarla kliniğe başvurmakta ve bu bireylerin yaklaşık yarısında diyabetik ketoasidoz gözlemlendiği bildirilmektedir. Tip 1 diyabetin ayırt edilmesinde en yardımcı bulgular; tanı anında 35 yaşından küçük olması, daha düşük Beden Kütle İndeksinin (BKİ) $<25 \text{ kg/m}^2$ olması, istemsiz kilo kaybı, ketoasidoz ve açlık glukozun $>360 \text{ mg/dl}$ olmasıdır. Tip 2 diyabetli bireylerde tip 1 diyabette görülen benzer semptomlar görülebilmekle beraber semptomlar daha hafif olabilmekte veya herhangi bir semptom görülmeyebilir. Bununla birlikte tip 2 diyabetli bireylerde çoğunlukla daha yüksek BKİ seviyeleri gözlenebilmektedir.

Genellikle tanı anında tip 2 diyabetli bireylerde diyabetik ketoasidoz nadiren gözlenmektedir. Açlık glikoz ve HbA1C seviyelerinin, diyabetin klinik başlangıcından çok önce yükselerek tanıyı diyabetik ketoasidoz başlangıcından önce mümkün kıldığı belirtilmektedir. Tip 2 diyabette sıklıkla insülin direnci ortamında yetersiz β hücresi insülin salgılanması görülmektedir (11,12).

2.1.4. Diyabet Tedavisi

Diyabetin tedavisini tıbbi beslenme tedavisi, fiziksel aktivitenin artırılması, oral antidiyabetik ilaçlar ve insülin tedavisi oluşturmaktadır. Tıbbi beslenme tedavisi ve egzersiz diyabetli bireylerde hem hastalığı iyi yönetmeyi hem de komplikasyon riskini azaltmayı sağlamaktadır (24). Yaşam tarzı değişikliği glisemik kontrolün sağlanmasında oldukça etkili olmasına karşın uzun dönemde hastalığı etkin bir şekilde yönetmek için farmakolojik ajanlara ihtiyaç duyulabilmektedir. Özellikle tip 1 diyabetli hastalar için insülin tedavisi gereklidir. Tip 2 diyabetli hastalarda ise farklı mekanizmalarla kan glukoz seviyesini düşürücü etkiye sahip ilaçlar kullanılabilir. Bunlar; insülin salgılanmasını artıran ilaçlar (Sülfonilüreler, Meglitinidler), insüline duyarlılığı artıran ilaçlar (Biguanidler, Tiyazolidinedionlar), Glukozun emilimini yavaşlatan ilaçlar (Alfa glikozidaz inhibitörleri), insülinomimetrik ilaçlar ve böbrekten glukozun geri emilimi engelleyen Sodyum Glikoz Kotransporter 2 (SGLT 2) inhibitörleridir. Bu ilaçlarla kan glukoz düzeyleri kontrol altına alınamayan tip 2 diyabetli hastalarda ikili veya üçlü ilaç kombinasyonları kullanılabilir ve gerekli durumlarda insülin tedavisine de başlanılabilmektedir (16,25).

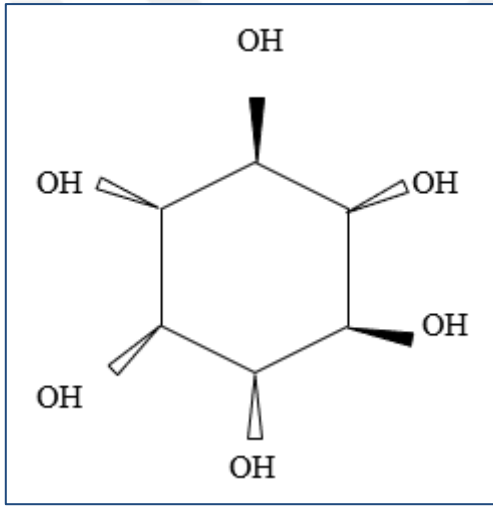
2.1.5. Diyabet Komplikasyonları

Diyabette görülen insülin eksikliği veya hücrelerin insüline cevap verememesi durumu yüksek kan şekeri seviyelerine (hiperglisemi) neden olmaktadır. İnsülin eksikliği ve yüksek kan şekeri uzun dönemde kontrol altına alınmazsa vücudun pek çok organında hasara neden olabilmekte ve yaşamı tehdit eden komplikasyonlara neden olabilmektedir. Bu komplikasyonlardan en sık görülenlerini kardiyovasküler hastalıklar, inme, sinir hasarı olarak bilinen nöropati, böbrek hasarı olarak bilinen nefropati, alt ekstremitte amputasyonu, görme kaybına neden olabilen retinopati oluşturmaktadır. Bununla birlikte diyabet yönetimi sağlanıp kan glukoz düzeyi kontrol altına alınırsa komplikasyon riski geciktirilebilmekte ya da önlenebilmektedir (12,26).

2.2. MYO-İNOSİTOL

2.2.1. Myo-inositol'ün tanımı ve işlevi

Myo-inositol, inositol molekülünün dokuz stereoizomerinden biridir ve hem bitki hem de hayvan hücrelerinde bulunmaktadır. Memeli hücrelerinde inositolün en yaygın bulunan izomeri myo-inositol'dür. Myo-inositol'ün yapısında altı adet hidroksil grubu bulunmakta ve siklik yapıda karbonhidrat olduğu belirtilmektedir (27). Şekil 2.2'de Myo-inositol'ün yapısı gösterilmektedir (21).



Şekil 2.2: Myo-inositol'ün yapısı (21)

Myo-inositol hücrede glukozdan de novo biyosenteziyle üretilebildiği gibi besinlerle dışardan da alınabilmektedir. Besinlerle alınan myo-inositol serbest halde, fosfatidilinositol ya da fitik asit formunda alınmaktadır. Hayvansal kaynaklı besinler daha çok serbest halde veya fosfolipitlere bağlı halde myo-inositol içerirken bitkisel myo-inositol kaynakları genellikle fitik asit formunda bulunmaktadır (4,28). İnsanlarda günlük diyet myo-inositol gereksinim miktarı belirtilmemekle beraber günlük ortalama diyet alımının 0,5-1 gram olduğu belirtilmektedir. Besinsel kaynaklarını tam tahıllar, yağlı tohumlar, fasulye, kavun ve narenciye gibi besinler oluşturmaktadır (29). Bununla beraber yapılan çalışmalarda fazla kafein alımı, artan yaş, uzun süre antibiyotik kullanımı, fazla miktarda rafine karbonhidrat alımı, sodyum eksikliği, insülin direnci ve tip 1 ve tip

2 diyabetin myo-inositol ihtiyacını artırdığı bildirilmektedir (5,7). B8 vitamini olarak da bilinen inositol, glikozdan sentezlenebildiği için artık vitamin olarak kabul edilmemektedir. Bununla beraber myo-inositol eksikliğinde cilt bozuklukları, egzama, kellik, göz ile ilgili problemler, kabızlık gibi belirtilerin olabileceği belirtilmektedir (30). Her bir böbreğin günlük 2 gram myo-inositol sentezlediği bildirilmekle beraber böbreğe kıyasla çok daha düşük miktarda olmasına rağmen karaciğer ve beyinin de myo-inositol sentezlediği belirtilmektedir (31). Bununla beraber beyin, kalp ve yumurtalıklar gibi büyük miktarda glukoz kullanan dokularda myo-inositol seviyelerinin diğer dokulara göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Beyin dışındaki dokulardaki myo-inositol seviyesinin büyük oranda besinlerle alınan myo-inositol seviyesine bağlı olduğu bildirilmiştir. Beyinde, beyin omurilik sıvısında, ince bağırsak ve böbrekte daha çok serbest myo-inositol bulunurken; karaciğer, iskelet kası ve kalpte ise fosfolipite bağlı halde bulunmaktadır (5,27).

Myo-inositol ikinci haberci olarak hücrenin yaşamı, büyümesi, sinirsel gelişimi ve fonksiyonları, osteogenesis ve üreme gibi birçok sistemi etkileyebilmektedir (32). Kadın üreme sisteminde myo-inositol gonadotropin reseptörlerinin sinyalleşmesinde anahtar rol oynayarak oosit gelişimini ve steroid üretimini düzenlemektedir. Erkek üreme sisteminde ise testiste gonadotropinlerin etkisi altında sertoli hücreleri tarafından myo-inositol üretilip salınır ve sperm hücrelerinin hareketliliği, kapasitesi ve akrozom reaksiyonunun gelişiminde rol oynamaktadır (33,34). Myo-inositol hücrenin yaşamı için oldukça önemlidir. Yapılan bir hücre kültürü çalışmasında de novo myo-inositol sentezi yapamayan insan embriyonik böbrek hücresinin myo-inositol içermeyen kültür ortamına maruz bırakılması sonucunda hücrenin bir süre sonra öldüğü gözlenmiştir. Ortama sonradan yapılan myo-inositol takviyesinin ise hücre ölümünü engellediği bildirilmiştir (35).

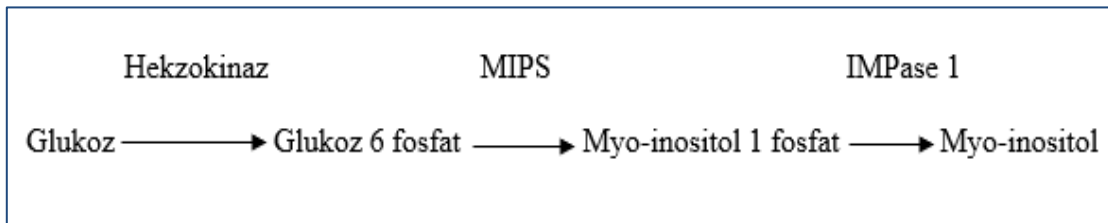
Myo-inositol, fosfatidilinositol 4,5 bifosfat (PIP₂) ve fosfatidilinositol 3,4,5 trifosfat (PIP₃) olarak plazma membranlarındaki fosfainositidlerin yapısal bileşenidir. Hem PIP₂ hem de PIP₃ fosfainositid kinazlar tarafından myo-inositolün fosforilasyonu ile üretilmektedir. Bu fosfainositidler hücre göçünü ve endositozu modüle etmektedir. Bununla beraber PIP₂ hücre içi iyonize kalsiyum sinyalleşmesinde etkili iki molekül olan PIP₃ ve Diaçilgliserol (DAG) üretiminde gerekli olan Fosfolipaz C 'nin öncüsüdür. Aynı zamanda PIP₃ ise protein kinaz B'yi aktive eden insülin sinyal kaskadının bir sinyal

molekölüdür. Bu nedenle glikoz metabolizmasının myo-inositol molekölü ile yakından ilişkili olduğu belirtilmektedir (7,36).

2.2.2. Myo-inositol'ün metabolizması

Myo-inositol plazma konsantrasyonunu diyetle alım, hücre dışından hücre içine alım, hücre içinde glukozdan endojen sentez, hücrenel metabolizma ve böbreklerden atılımı belirlemektedir. Böbrekler myo-inositol metabolizmasında ana organıdır. Burada hem endojen biyosentez hem de katabolizma gerçekteşmektedir (3). Diyetle alınan myo-inositol bağırsaklardan emilerek myo-inositol taşıyıcılarıyla hücre içine alınmaktadır. Myo-inositolün hücre dışından hücre içine alınmasında üç tip taşıyıcı rol almaktadır. Bu taşıyıcılar sodyuma bağı myo-inositol taşıyıcı tip 1 ve tip 2 (SMIT1 ve SMIT2) ile hidrojene bağı myo-inositol taşıyıcı (HMIT) olmak bilinmektedir. Bu taşıyıcılar hücre içi keseciklerde veya çekirdeğin etrafındaki membranöz yapılarda yer alır. SMIT1 osmoregülasyonda önemli rol oynamaktadır. Bununla beraber SMIT1'in ekspresyonu hipertonic stres altında yukarı doğru düzenlenmektedir (34,36,37).

Karaciğer ve böbrekte myo-inositol endojen olarak üretilebilmektedir. Endojen sentezde myo-inositol hücrede glukozdan üç aşamada üretilmektedir (Şekil 2.3). İlk aşamada D-glukoz molekölü Hekzokinaz enzimiyle glukoz 6 fosfata çevrilir. İkinci aşamada glukoz 6 fosfat, Myo-inositol 3 Fosfat Sentaz (MIPS) veya İnositol sentaz A1 (ISYNA1) enzimleriyle myo-inositol 1 fosfat molekölüne dönüştürölür. Üçüncü aşamada ise myo-inositol 1 fosfat, İnositol Monofosfat 1 (IMPase 1 veya IMPA1) enzimiyle myo-inositol molekölüne çevrilmektedir (34,38).



Şekil 2.3: Myo-inositol'ün de novo biyosentezi (36)

MIPS: Myo-inositol 3 Fosfat Sentaz, IMPase 1: İnositol Monofosfat 1

Hücre içinde fosfatidilinositol (PI), fosfainositid (PIP) ve inositol fosfat (InsP) gibi moleküllerin yıkımından myo-inositol elde edilebilmektedir. Bununla beraber myo-inositol yeni PIP oluşturmak için DAG yolu tarafından da kullanılabilir. Myo-inositolün katabolizmasından böbreğe özgü bir enzim olan MIOX sorumludur ve bu yol, glukuronat-ksilüloz yolundan oluşan myo-inositol'ün D glukuronata bozunmasına ve ardından böbreklerden atılımıyla sonuçlanır. Böbrekler; myo-inositol'ün de novo sentezi, proksimal tübülden yeniden emilmesi ve katabolizması için ana bölgedir ve plazma inositol konsantrasyonunun düzenlenmesinde en önemli organdır. Böbreğin proksimal tübüler bölgesinde eksprese edilen MIOX enzimi myo-inositol seviyesinin önemli belirleyicisidir. Bu enzimin ekspresyon seviyesindeki ve aktivitesindeki değişimler myo-inositol seviyesindeki azalmaya neden olarak metabolik komplikasyonlara neden olabilmektedir (39–41).

2.2.3. Myo-inositol ve glukoz ilişkisi

Myo-inositol, glukoz gibi monosakkaritlerin siklik formuna benzer yapıda olduğu için şeker alkolü olarak da tanımlanabilmektedir (42). Aynı zamanda glukozdan de novo biyosenteziyle hücre içinde üretilebilen myo-inositol ile glukoz molekülü arasında yapı benzerliği bakımından bazı etkileşimler bulunmaktadır (43).

Kan glukoz seviyesinin yüksekliği myo-inositol'ü dört farklı şekilde etkilemektedir. İlk olarak yüksek kan glukoz düzeyi myo-inositol'ün bağırsak ve böbreklerden geri emilimini engellemektedir. İkinci olarak polioll yolunun aktivasyonu ile glukoz, myo-inositol'ün hücre içinden hücre dışına atılmasına neden olur, böylece artan sorbitol seviyesine bağlı olarak ozmolaritedeki artış tamponlanmış olmaktadır. Üçüncü olarak ise yüksek glukoz seviyesi hücre içinde fosfatidik asiti artırarak myo-inositol'ün de novo biyosentezinin ana negatif düzenleyicisi olan İnositol heksakifosfat kinaz (IP6K1)'i aktive ederek myo-inositol biyosentezini engellemektedir. Son olarak glukoz seviyesinin artması MIOX'un aktivasyonu ve aşırı ekspresyonuna neden olarak renal tübüler katabolizmayı artırarak idrarla myo-inositol atılımına neden olmaktadır (4,7,8).

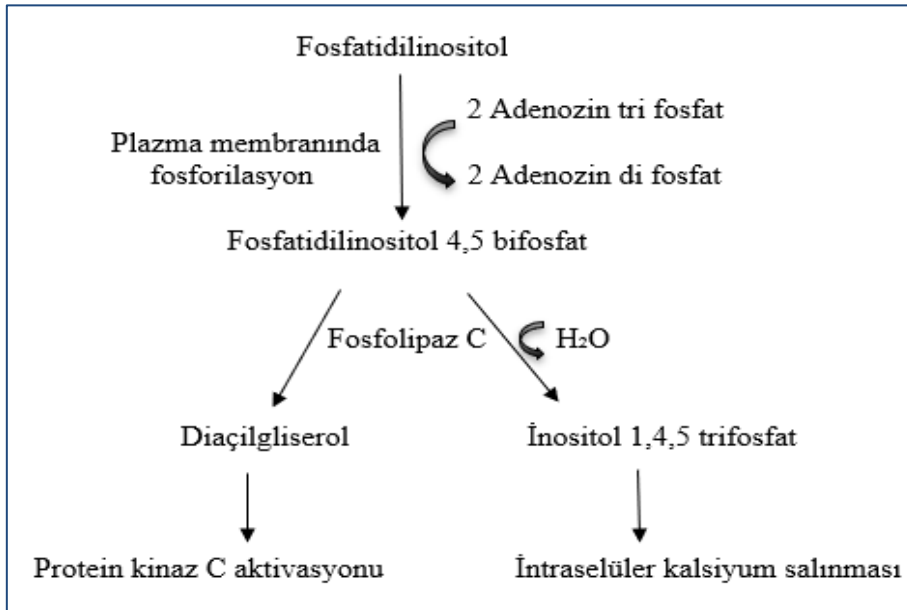
Hepatositlerde SGLT 1 ve SGLT 2 inhibitörleri hem glukozun hem de myo-inositol'ün geri emilimini engellemektedir, bu da iki molekülün aynı taşıyıcı sistemleri paylaştığını düşündürmektedir (44).

Yapılan bir çalışmada diyet myo-inositol takviyesinin normal ve diyabetik sıçanlarda bağırsaktan glukoz emilimini inhibe ettiği ve kas glukoz alımını arttırdığı ve kan glukoz artışını azalttığı gözlenmiştir (45). Başka bir çalışmada diyabetli ve sağlıklı kişilerin idrar myo-inositol seviyeleri karşılaştırıldığında; diyabetli bireylerde idrar myo-inositol miktarının sağlıklı bireylere göre yüksek olduğu ve plazma glukozu ile doğrusal olarak arttığı bildirilmiştir (46).

Myo-inositol metabolizmasındaki eksiklikler veya anormallikler glukoz alımını engellemekte, insülin sinyali ile ilişkili problemlere ve diyabetle ilgili uzun vadede mikrovasküler komplikasyonlara neden olabilmektedir (47,48).

2.2.4. Myo-inositol ve insülin sinyali

Myo-inositol; inositol fosfatlar, PI, inositol glikanlar ve inositol sfingolipitleri gibi pek çok molekül bileşeninde bulunmaktadır. Bu nedenle birkaç farklı sinyal yolu aracılığıyla temel fizyolojik işlevlerde önemli rol almaktadır. Özellikle fosfatidilinositol molekülü hücre sinyallerinin iletilmesinde önemli role sahiptir. Bu sinyal yollarından en çok bilineni olan kalsiyum sinyalinde anahtar faktör olan İnositol trifosfat 3 (IP₃) gibi birçok sinyal molekülü oluşmaktadır (38,49). Fosfatidilinositolden ikinci habercilerin oluşumu Şekil 2.4' te gösterilmiştir (49).



Şekil 2.4: Fosfatidilinositolden ikinci habercilerin oluşumu (49)

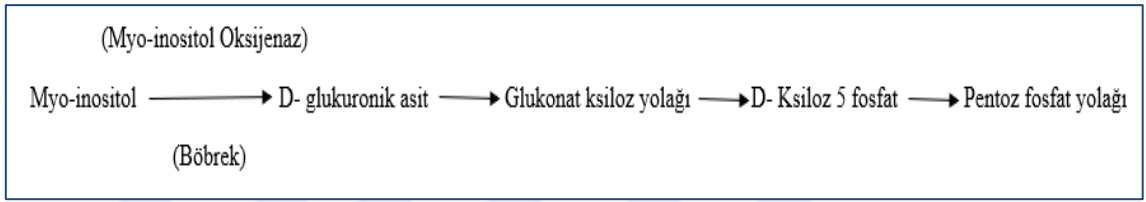
Fosfatidilinositol aynı zamanda hücre membranına proteinlerin bağlanmasında görev almaktadır. Spesifik proteinler membrandaki fosfatidilinositole bir karbonhidrat köprüsü aracılığıyla kovalent şekilde bağlanabilmektedir. Böylece enzimin membranın dış yüzeyindeki etkinliği artmaktadır. İnsülin mimetik ve ikinci haberci özelliği olan inositol fosfoglikanlar membran-protein bağlanmasına aracılık etmektedir (50).

İnsülin hormonu uyarısı ile dokuya özgü epimeraz enzimi tarafından myo-inositol ikinci sırada en aktif formu olan D-chiro inositol'e dönüşmektedir. Bu reaksiyon tek yönlü olarak gerçekleşmektedir. İnsülin sinyalinde farklı etkilere sahip iki tür inositol fosfoglikan molekülü vardır. Bunlar insülin sinyalinde rol alan ikinci haberciler olan Myo-inositol fosfoglikan (MI-IPG) ve D-chiro inositol fosfoglikan (DCI-IPG) molekülüdür. Hücre zarının iç tarafında bulunan inositol glikosil-fosfatidilinositol lipitleri (PIP₂, PIP) insülin uyarısıyla hidrolizasyona uğrayarak MI-IPG ve DCI-IPG'yi serbest bırakır. Bununla beraber MI-IPG, hücre zarına GLUT4'ün translokasyonunu teşvik eder, adenilat siklaz enzimini baskılar ve yağ dokusundan serbest yağ asidi salınımını azaltarak glukozun hücre içine alınmasını arttırmaktadır. Beyin, kalp ve yumurtalık gibi yüksek glukoz kullanımına sahip organlarda myo-inositol konsantrasyonu diğer organlara göre daha yüksektir (50–52). Diğer taraftan DCI-IPG ise glukojen sentezini uyararak glukojen sentezine katılır, pirüvat dehidrogenazı uyararak glikolizi ve ardından Krebs döngüsü yoluyla Adenozin trifosfat oluşumunu sağlamaktadır. Karaciğer ve kas gibi glukojen depolayan organlarda D-chiro inositol miktarı diğer organlara göre daha fazla miktarda bulunmaktadır. Bu aktivitelerle MI-IPG ve DCI-IPG insülin duyarlaştırıcı etki göstererek insülin gereksinimi azaltabilmektedirler. Bu da dolaşımda daha düşük seviyede insülin konsantrasyonlarına neden olmaktadır (51,53). Polikistik Over Sendromu (PKOS) tanılı bireylerle yapılan bir çalışmada myo-inositol takviyesinin insülin duyarlılığını arttırmada metformin kadar etkili olduğu gözlenmiştir (54). Yakın zamanda yapılan bir meta analiz ve sistematik incelemede 600–4000 mg aralığındaki dozlarda verilen myo-inositol takviyesinin açlık ve Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT) sonrası plazma glukoz seviyesinde azalmanın yanı sıra glukoz intoleransı ve insülin direncinde iyileşme sağladığı gösterilmiştir (55,56).

2.3. MYO-İNOSİTOL OKSİJENAZ

Myo-inositol katabolizmasında rol alan MIOX, 33 kDa'lık hem olmayan demir enzimidir. İlk olarak sıçan böbreği ekstratlarında keşfedilmiştir (57).

Yalnızca böbrek proksimal tübülünden eksprese edilen MIOX, myo-inositol katabolizmasındaki tek enzimdir ve diyabet durumunda yukarı regüle edilmektedir. Bu enzim myo-inositol'ü glukuronik aside metabolize etmektedir. Bu basamak hız kısıtlayıcı ve geri dönüşümsüzdür. Sonraki basamakta oluşan metabolitler pentoz fosfat yoluna girmektedir (Şekil 2.5). Pentoz fosfat yolu ile Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat (NADPH), pentozlar ve riboz 5 fosfat gibi nükleotid sentez öncü maddeleri vücutta homeostazın korunması ve enerji üretiminde oldukça önemlidir (58,59).



Şekil 2.5: Myo-inositol katabolizması (58)

Bununla beraber MIOX'un enzim aktivitesi serin/treonin kalıntılarının fosforilasyonuna bağlıdır. Hiperglisemi durumunda protein kinaz A ve protein kinaz C tarafından kontrol edilen translasyon sonrası modifikasyonlar çoğunlukla MIOX enziminin N terminal segmentinde kümelenen serin ve treonin kalıntılarının fosforilasyonu yoluyla MIOX'u aktive etmektedir (4, 60). Promotör, ozmotik hem oksidan hem de antioksidan yanıt elemanlarını içeren MIOX'un transkripsiyonu organik osmolitler, yüksek glukoz ortamı ve oksidan strese büyük ölçüde etkilenmektedir (61).

Yapılan çalışmalarda böbrek proksimal tübül hücrelerinde hiperosmotik stres altında MIOX'un artması diyabetle ilişkili metabolik stresi artırarak retinopati, nefropati, katarakt gibi komplikasyonların oluşmasına katkı sağladığı belirtilmektedir (62).

Diyabet durumunda MIOX ekspresyonu artarak idrarla myo-inositol kaybını artırmaktadır. Artan myo-inositol kaybı renal myo-inositol hücre içi tükenmesine ve genel vücut myo-inositol seviyelerinde azalmasına neden olabilir. Bununla beraber insülin direnci durumunda da diyabet durumuna göre daha az olmakla beraber MIOX seviyesinin artarak myo-inositol kaybına neden olduğu gözlenmiştir (63).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma; Sağlık Bilimleri Üniversitesi Sultan Abdülhamid Han Eğitim ve Araştırma Hastanesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Polikliniğine 14.02.2023-05.07.2023 tarihleri arasında başvuran ve çalışmaya katılmayı kabul eden hastalar ile yapılmış prospektif bir çalışmadır.

Dahil edilme kriterlerine uygun olan hastalardan alınan kan örnekleri Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı Laboratuvarında çalışma gününe kadar saklanmış ve çalışma gününde analizleri yapılmıştır.

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 22/643 numaralı projemiz için gerekli etik kurul izni alınmıştır (EK-1). Çalışmayı kabul eden hastalara "Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu" (EK-2) okutularak onamları alınmıştır.

Çalışmamız 2023/048 proje numaralı Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.

3.1. VERİ TOPLAMA VE DEĞERLENDİRME ÖLÇEKLERİ

3.1.1. Dahil Edilme ve Dışlama Kriterleri

Çalışmada katılımcılar 18-75 yaş arası kadın-erkek çalışmayı kabul eden kişilerden oluşmaktadır. Çalışma üç gruptan oluşmaktadır. İnsülin direnci olan DM grubundan 55 kişi, insülin direnci olmayan DM grubundan 55 kişi ve kontrol grubundan 53 kişi olmak üzere toplam 163 kişi çalışmaya dahil edilmiştir.

Birinci grup: İnsülin direnci olan Tip 2 diyabetli bireyler bu grubu oluşturmaktadır. Bu gruba HbA1C > 5,7 % ve HOMA-IR > 2,7 olan hastalar dahil edilmiştir.

İkinci grup: İnsülin direnci olmayan Tip 2 diyabetli bireyler bu grubu oluşturmaktadır. Bu gruba HbA1C > 5,7 % ve HOMA-IR < 2,7 olan hastalar dahil edilmiştir.

Üçüncü grup: İnsülin direnci ve diyabeti olmayan sağlıklı bireyler bu grubu oluşturmaktadır. HbA1C < 5,7 % ve HOMA-IR < 2,7 olan hastalar dahil edilmiştir.

Dahil edilme kriterlerini sağlamayan, herhangi bir bulaşıcı hastalığı olan ve çalışmayı kabul etmeyen kişiler çalışma dışı bırakılmıştır.

3.1.2. Örneklerin Toplanması, Saklanması ve Analizi

Polikliniğe başvurup rutin analizleri (Açlık glikoz, açlık insülin, HbA1C, HOMA-IR, total kolesterol, trigliserid, hemogram, glomerüler filtrasyon hızı) yapılması planlanan, çalışmaya dahil edilen hastalardan ek olarak 1 tüp jelli biyokimya tüpüne (8 ml) kan örneği alındı.

Alınan örnekler Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında soğutmalı santrifüj cihazında santrifüj edildi (1500 g'de 20 dk). Elde edilen serumlar mikrosantrifüj tüplerine (1,5 ml) porsiyonlanarak çalışma gününe kadar -80° dolapta (Phcbi, VIP ECO Natural Refrigerants, Tokyo) saklandı.

Yeterli örnek sayısına ulaşıldığında Human Myo-inositol Oksijenaz (MIOX) ELİSA Kitinde (ELK Biotechnology, Cat: ELK3372, Wuhan/Çin) örnekler analiz edildi.

3.1.2.1 İnsülin Direnci Testi: Çalışmada kişilerdeki insülin direncinin belirlenmesinde HOMA-IR değeri (64) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{HOMA-IR} = \text{Açlık glukoz (mg/dl)} \times \text{Açlık insülin (uIU/mL)} / 405$$

3.1.2.2 Kit İçeriği: Kitin içinde Ön Kaplamalı Mikroplate, Standart (liyofilize), Biotinlenmiş Antikor (100x), Streptavidin-Yabanturpu Peroksidazı ("Horseradish Peroxidase", HRP) (100x), Standart/Numune Seyreltici Tampon, Biotinlenmiş Antikor Seyreltici, HRP Seyreltici, Yıkama Tamponu (25x), 3,3',5,5'-Tetrametilbenzidin (TMB) Substrat Solüsyonu, Durdurucu reaktif, plate kapakları bulunmaktadır.

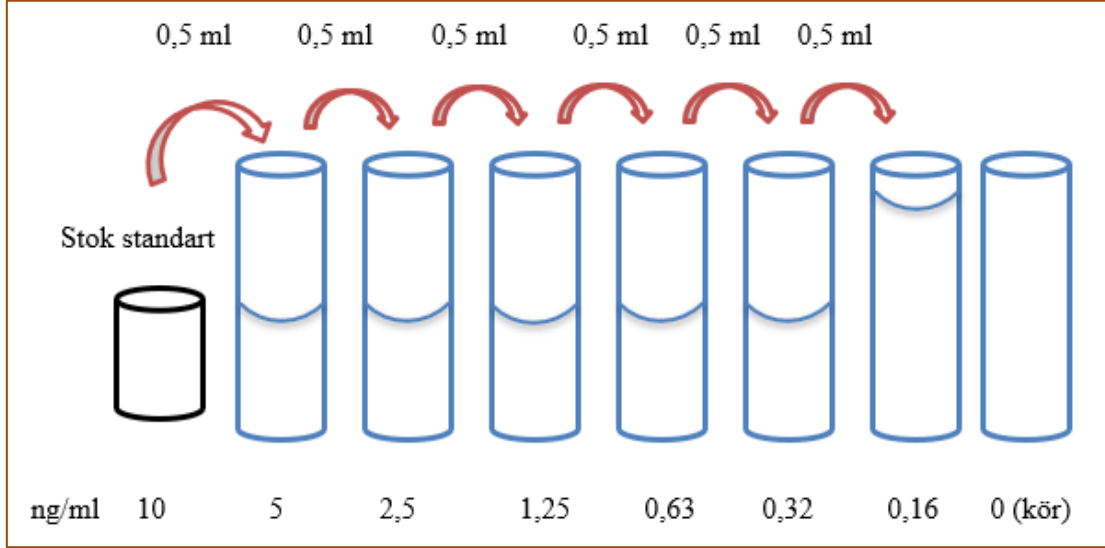
3.1.2.3 Standartların hazırlanması: Çalışmaya başlamadan önce kit malzemeleri ve kan örnekleri oda ısısına getirildi.

Standart çalışma solüsyonu 1000 g x 1 dk santrifüj edildi. Daha sonra 1 ml standart seyreltme tamponu ile karıştırılıp 10 dk oda sıcaklığında bekletildi.

Standart stok solüsyonunun konsantrasyonu 10 ng/ml'dir.

Standart seyreltme tamponundan 0,5 ml içeren 7 tüp oluşturuldu (Şekil 3.1). Çift dilüsyon serisi oluşturmak için seyreltilmiş standart kullanıldı.

Elde edilen konsantrasyonlar (10 ng/ml, 5 ng/ml, 2,5 ng/ml, 1,25 ng/ml, 0,63 ng/ml, 0,32 ng/ml, 0,16 ng/ml) ve standart seyreltme tamponu (0 ng/ml, kör) kullanıldı.



Şekil 3.1: Standart çalışma solüsyonları

3.1.2.4 Örneklerin çalışılması: Oda sıcaklığına getirilen plate'e hazırlanan standartlar ve örneklerden 100 µL eklendi ve 37°C'de 80 dakika inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyondan sonra plate kuyucukları aspire edildi ve yıkama tamponu (1x) ile her seferinde 200 µL miktar olacak şekilde üç kez plate yıkandı. Kurutmadan sonra her kuyucuğa 100 µL Biotinlenmiş Antikor solüsyonu (1x) eklenip 37°C'de 50 dakika inkübasyona bırakıldı.

Sonra plate kuyucukları aspire edildi ve yıkama tamponu (1x) ile her seferinde 200 µL miktar olacak şekilde üç kez plate yıkandı. Kurutmadan sonra her kuyucuğa 100 µL Streptavidin-HRP solüsyonu (1x) eklenip 37°C'de 50 dakika inkübasyona bırakıldı.

Plate kuyucukları aspire edilip yıkama tamponu (1x) ile her seferinde 200 µL miktar olacak şekilde beş kez plate yıkandı. Kurutmadan sonra 90 µL TMB Substrat solüsyonu her bir kuyucuğa eklenerek 37°C'de 20 dakika karanlıkta inkübasyona bırakıldı. Yıkama işlemleri otomatik plate yıkayıcıda (BioTek LS405 Washer, ABD) yapıldı.

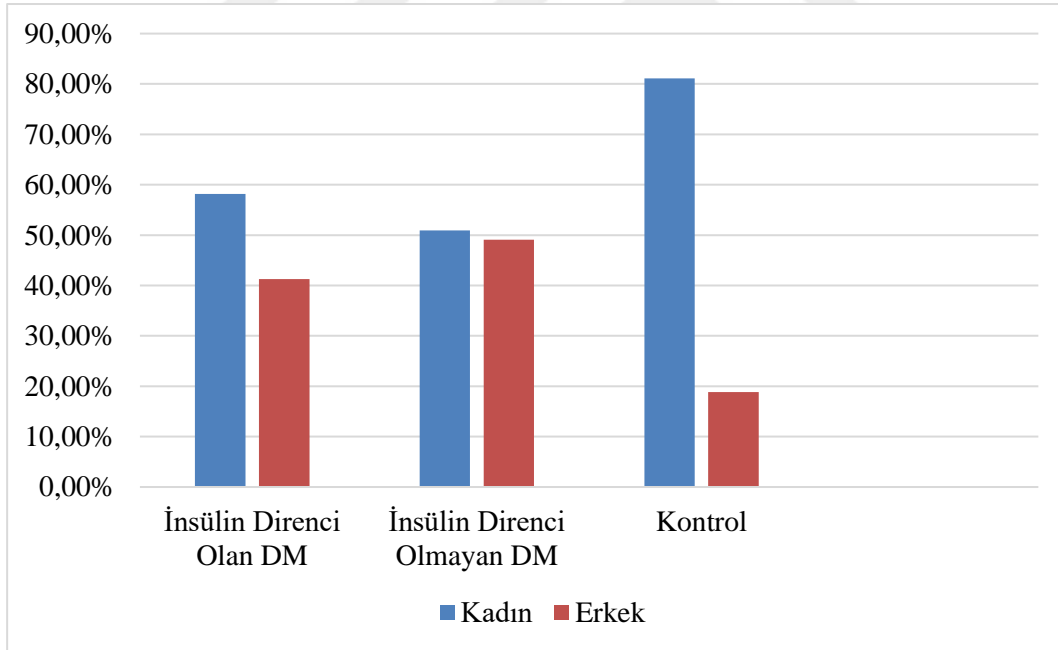
Son olarak 50 µL durdurucu reaktif her bir kuyucuğa eklenerek plate 1 dk karıştırıldı ve ELİSA okuma cihazında (BioTek HTX Synergy Reader, ABD) 450 nm dalga boyunda ölçüm alındı. Sonuçlar konsantrasyon cinsinden hesaplandı.

3.3 İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Veriler SPSS 25 programı kullanılarak analiz edilmiştir. Nicel değişkenler ortalama \pm , standart sapma veya medyan (minimum-maksimum) değerleri ile sunulmuştur. Değişkenlerin dağılımı Shapiro Wilk testi kullanılarak analiz edilmiştir. Üç veya daha fazla grubun karşılaştırılması için Kruskal Wallis H veya Tek yönlü Varyans analizleri kullanılmıştır. Grup içi karşılaştırmalarda Bonferroni düzeltmesi kullanılmıştır. Analizlerde güven düzeyi %95 olarak alınmıştır. İstatistiksel olarak 0,05'in altındaki p değerleri anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmamızda toplam 163 hasta olmak üzere üç gruba çalışılmıştır. Hasta grubu Sağlık Bilimleri Üniversitesi Sultan Abdülhamid Han Eğitim ve Araştırma Hastanesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Polikliniğine başvurup diyabet tanısı almış insülin direnci olan 55 birey (32 kadın %58,18; 23 erkek %41,82), diyabet tanısı almış insülin direnci olmayan 55 birey (28 kadın %50,91; 27 erkek %49,09) dahil edilmiştir. Kontrol grubuna ise insülin direnci ve diyabeti olmayan 53 birey (43 kadın %81,13; 10 erkek %18,87) dahil edilmiştir (Şekil 4.1). Hastalardan alınan kan örneklerinde serum MIOX seviyesi ölçülerek HOMA-IR, HbA1C, açlık insülin ve açlık glukoz gruplar arasında karşılaştırılmıştır. Aynı zamanda rutin tetkikler sırasında istenen total kolesterol, LDL, HDL, trigliserid, üre, kreatinin gibi parametreler gruplar arasında anlamlı farklılık açısından incelenmiştir.



Şekil 4.1: Grupların cinsiyete göre dağılımı

DM: Diyabetes Mellitus

İnsülin direnci olan DM, insülin direnci olmayan DM ve kontrol grubundaki bireylerin yaş ortalaması Tablo 4.1’de gösterilmiştir. Diyabetli hastaların genel yaş ortalaması 58,86 olarak bulunmuştur. Gruplar arasındaki yaş farkı istatistiksel olarak Tek

yönlü varyans analizi testi kullanılarak yapılmıştır. Yapılan analizde yaşın insülin direnci olan DM, insülin direnci olmayan DM ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılığa sahip olduğu ($p<0,001$) görülmüştür.

Tablo 4.1: Grupların yaş ortalamaları ve p değeri

İnsülin direnci olan DM grubu	İnsülin direnci olmayan DM grubu	Kontrol grubu	P değeri
57,11 ± 8,6	60,62 ± 6,69	51,64 ± 8,34	<0,001

DM: Diyabetes Mellitus

Gruplardaki bireylerin BKİ değerlerinin ortalaması ve p değerlerinin karşılaştırılması Tablo 4.2’de verilmiştir. Gruplar arasındaki BKİ farkının saptanması için Kruskal Wallis H testi yapılmıştır. Analiz sonucuna göre insülin direnci olan DM, insülin direnci olmayan DM ve kontrol grubu arasında BKİ açısından anlamlı farklılık olduğu ($p<0,001$) bulunmuştur. Gruplarda BKİ değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$BKİ = [\text{Kilo (kg)}] / [\text{Boy (m)}]^2$$

Tablo 4.2: Grupların BKİ değeri ortalamaları ve p değeri

İnsülin direnci olan DM grubu	İnsülin direnci olmayan DM grubu	Kontrol grubu	P değeri
33,14±6,6	29,87±6,55	26,31±4,52	<0,001

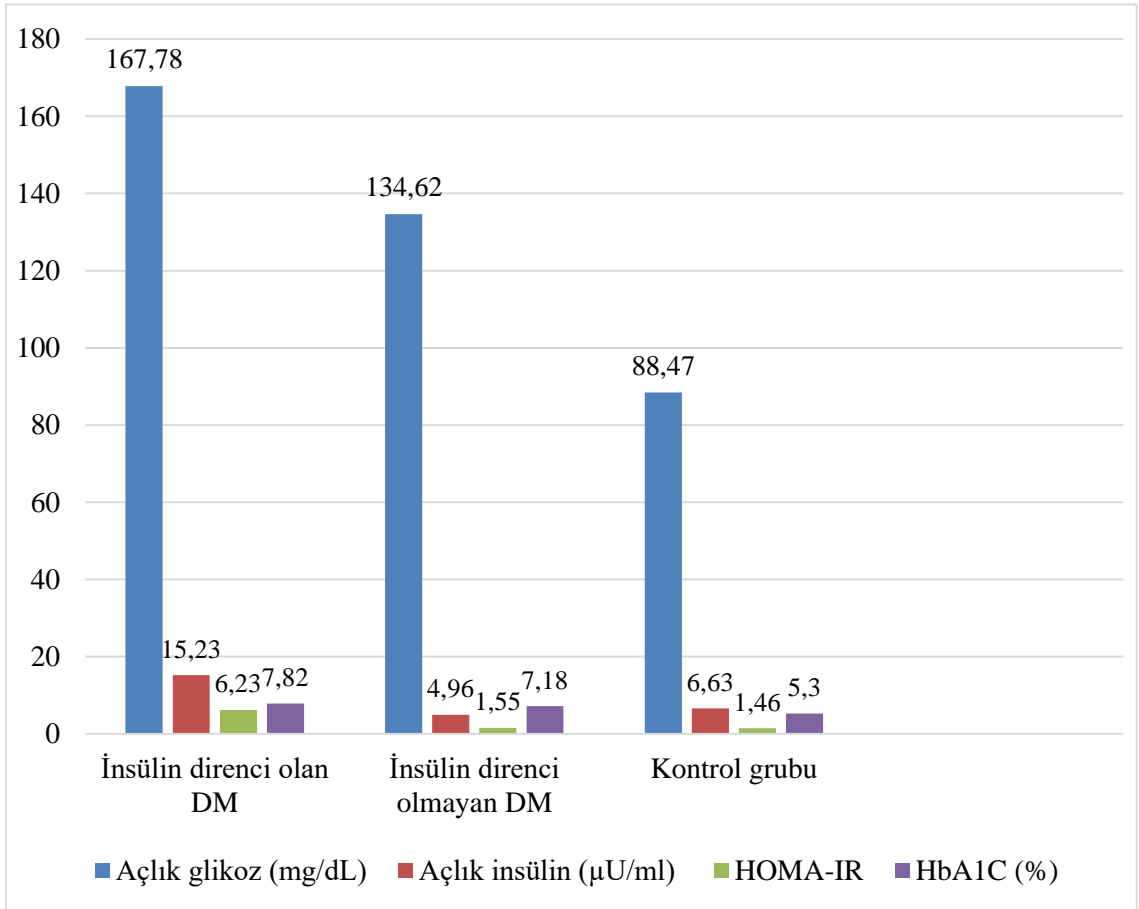
BKİ: Beden Kütle İndeksi, DM: Diyabetes Mellitus

Gruplar arasında açlık glukoz, açlık insülin, HOMA-IR VE HbA1C parametreleri açısından anlamlı farklılığın araştırılmasında Kruskal Wallis H testi kullanılmıştır. Kruskal Wallis H testi ile yapılan analiz sonucunda insülin direnci olan DM, insülin

direnci olmayan DM ve kontrol grubu arasında açlık glukoz, açlık insülin, HOMA-IR ve HbA1C değerleri açısından anlamlı farklılık olduğu ($p<0,001$) gözlenmiştir.

Grupların açlık glukoz, açlık insülin, HOMA-IR ve HbA1C ortalama değerleri Şekil 4.2’de verilmiştir. Gruplarda HOMA-IR değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\text{HOMA-IR} = \text{Açlık glukoz (mg/dl)} \times \text{Açlık insülin (uIU/mL)} / 405$$



Şekil 4.2: Grupların açlık glukoz, açlık insülin, HOMA-IR ve HbA1C ortalama değerleri

DM: Diyabetes Mellitus, HOMA-IR: İnsülin direnci homeostatik değerlendirme modeli, HbA1C: Glukolize Hemoglobin Testi

Açlık glukoz ile HbA1C parametreleri arasında anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur. Açlık glukoz, açlık insülin, HOMA-IR ve HbA1C değişkenlerinin insülin direnci olan DM, insülin direnci olmayan DM ve kontrol grubu arasında karşılaştırılması, medyan değeri, en küçük ve en büyük değerleri Tablo 4.3’te verilmiştir.

Tablo 4.3: Grupların açlık glukoz, açlık insülin, HOMA-IR ve HbA1C değerlerinin medyan, en küçük ve en büyük değerleri

Değişken	İnsülin direnci olan DM grubu (1)	İnsülin direnci olmayan DM grubu (2)	Kontrol grubu (3)	Farklılık
Açlık glukoz	157 (86-338)	121 (85-286)	89 (70-103)	1>2>3
Açlık insülin	14,5 (4,9-47,7)	4,8 (0,8-9,9)	6,9 (2,5-11,5)	1>3>2
HOMA-IR	4,68 (2,71-30,98)	1,52 (0,28-2,69)	1,42 (0,52-2,59)	1>3; 1>2
HbA1C	7,5 (5,8-12,7)	6,5 (5,7-13,4)	5,3 (4,8-5,6)	1>3; 2>3

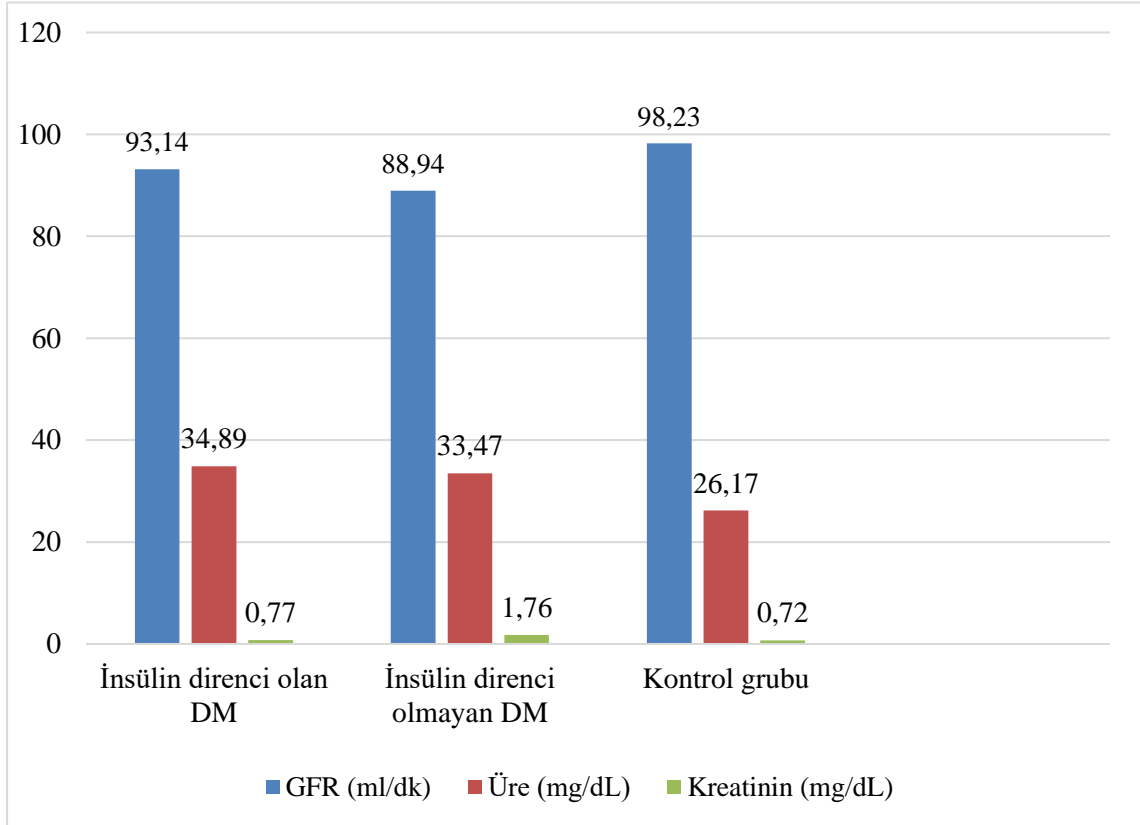
DM: Diyabetes Mellitus, HOMA-IR: İnsülin direnci homeostatik değerlendirme modeli, HbA1C: Glukolize Hemoglobin Testi

Üç grup arasında Glomerüler Filtrasyon Hızı (“Glomerular filtration rate”, GFR), üre ve kreatinin parametreleri açısından Kruskal Wallis H testine göre anlamlı farklılık gözlenmiştir. Kontrol grubunun GFR değerinin medyanı 101,11 (52,41-117,48) iken insülin direnci olan DM grubunun 95,81 (50,79-116,36) ve insülin direnci olmayan DM grubunun ise 91,65 (20,41-110,87) olarak bulunmuştur. Üç grup arasında GFR değeri açısından değerlendirilen p değeri 0,003 olarak bulunmuştur. Bununla beraber yaş ile GFR arasında anlamlı negatif korelasyon görülmüştür.

Kontrol grubunun üre değerinin medyanı 27 (11-47), insülin direnci olan DM grubununki 32 (18-57) ve insülin direnci olmayan DM grubunun ise 2 (17-127) olarak saptanmıştır. Üç grup açısından üre değeri karşılaştırıldığında $p<0,001$ olarak bulunmuştur.

Kreatinin değerler açısından gruplar karşılaştırıldığında kontrol grubunun kreatinin değerinin medyanı 0,67 (0,48-1,16), insülin direnci olan DM grubunun medyan değeri 0,75 (0,46-1,47) ve insülin direnci olmayan DM grubunun medyanı ise 0,82 (0,46-52) olarak belirtilmiştir. Üç grup arasında kreatinin değerleri anlamlılık açısından karşılaştırıldığında p değeri 0,006 olarak bulunmuştur. Bununla beraber kreatinin ile GFR arasında anlamlı negatif korelasyon görülmüştür.

Kontrol grubu, insülin direnci olan DM ve insülin direnci olmayan DM grubunun ortalama GFR, üre ve kreatinin değerleri Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3: Grupların GFR, üre ve kreatinin ortalama değerleri

DM: Diyabetes Mellitus, GFR: Glomerüler Filtrasyon Hızı

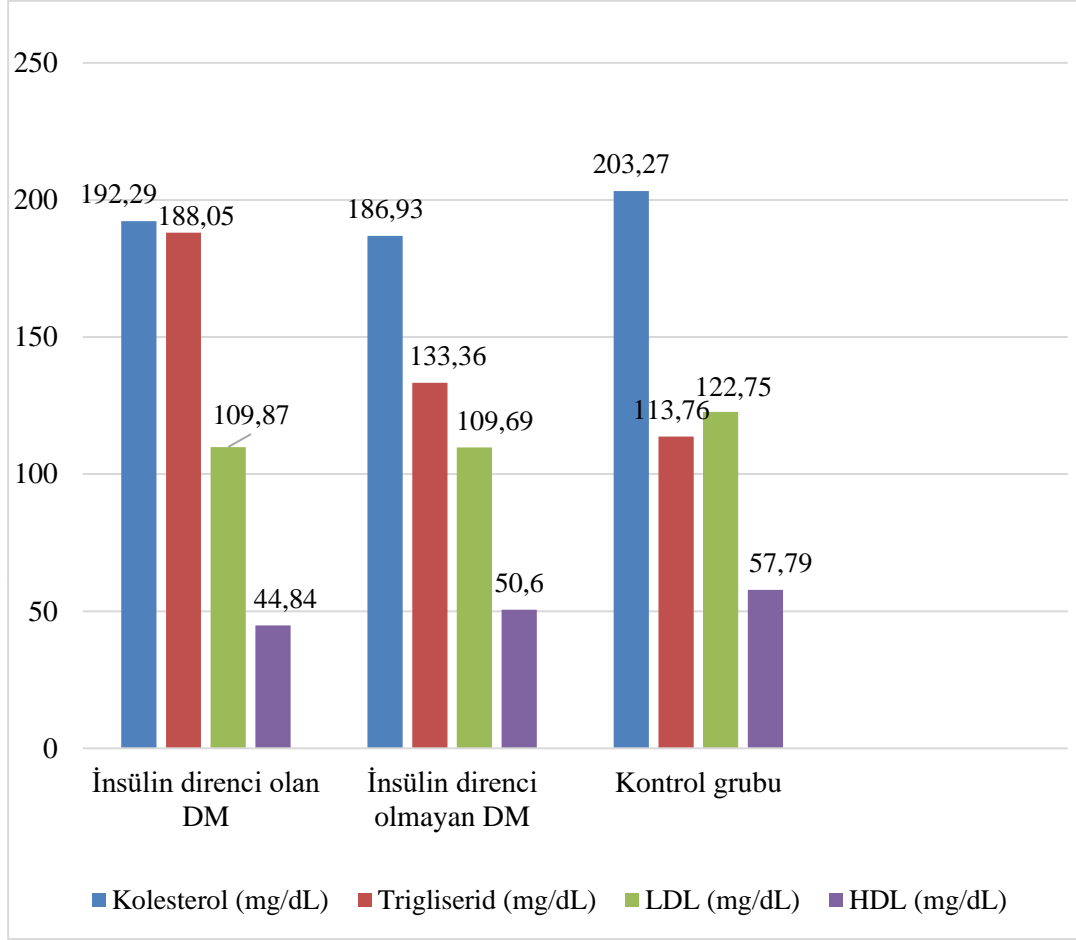
Gruplar arasında lipit parametreleri değerlendirildiğinde Kruskal Wallis H testine göre trigliserid ve Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (“High density lipoprotein”, HDL) değerleri üç grup arasında karşılaştırıldığında $p < 0,001$ olarak bulunarak anlamlı farklılığın olduğu görülmüştür.

Kontrol grubunun trigliserid değerinin medyanı 99,8 (39,5-397,5), insülin direnci olan DM grubunun medyanı 170,2 (66,7-365,4) ve insülin direnci olmayan DM grubunun medyan değeri ise 112,8 (50,9-341,1) olarak bildirilmektedir.

İnsülin direnci olan DM grubunda HDL değerinin medyanı 42 (27-100), insülin direnci olmayan DM grubunun medyanı 48 (29-101) ve kontrol grubunun medyan değeri ise 57 (33-89) olarak belirtilmektedir.

Kolesterol değeri üç grup arasında Kruskal Wallis H testine göre karşılaştırıldığında p değeri 0,055 bulunarak gruplar arasında kolesterol değeri açısından anlamlı farklılığın olmadığı bulunmuştur. Kontrol grubunun kolesterol değerinin medyanı 211 (141-282), insülin direnci olan DM grubunun medyanı 197 (94-329) ve insülin direnci olmayan DM grubunun medyan değeri ise 190 (98-308) olarak bulunmuştur.

Gruplar arasında Düşük Yoğunluklu Lipoprotein ("Low density lipoprotein", LDL) değeri Kruskal Wallis H testine göre kıyaslandığında p değeri 0,069 bulunarak gruplar arasında LDL değeri açısından anlamlı farklılığın olmadığı bulunmuştur. Kontrol grubunda kolesterol değerinin medyanı 117,5 (73-182), insülin direnci olmayan DM grubunun medyanı 109 (30-226) ve insülin direnci olan DM grubunun medyan değeri ise 114 (30-237) olarak bildirilmiştir. Üç grubun kolesterol, trigliserid, HDL ve LDL ortalama değerleri Şekil 4.4'te verilmiştir.



Şekil 4.4: Grupların kolesterol, trigliserid, LDL ve HDL ortalama değerleri

DM: Diyabetes Mellitus, LDL: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein, HDL: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein

Aynı zamanda trigliserid ile HDL arasında orta düzeyde anlamlı negatif korelasyon görülürken; kolesterol ile LDL arasında çok yüksek düzeyde anlamlı pozitif korelasyon gözlenmiştir

Üç grup arasında kalsiyum değeri Kruskal Wallis H testine göre karşılaştırıldığında p değeri 0,008 bulunarak gruplar arasında anlamlı farklılığın olduğu gözlenmiştir.

Kontrol grubunun kalsiyum değerinin medyanı 9,23 (8,44-11,02), insülin direnci olan DM grubunun medyanı 9,53 (8,68-10,44) ve insülin direnci olmayan DM grubunun medyan değeri ise 9,48 (8,43-10,51) olarak bulunmuştur.

Üç grup arasında kalsiyum ortalama değerleri Tablo 4.4'te gösterilmiştir.

Tablo 4.4: Grupların kalsiyum ortalama değerleri

Değişken	İnsülin direnci olan DM grubu	İnsülin direnci olmayan DM grubu	Kontrol grubu
Kalsiyum	9,59 ± 0,42	9,48 ± 0,43	9,35 ± 0,49

DM: Diyabetes Mellitus

Kontrol grubu, insülin direnci olan DM ve insülin direnci olmayan DM grubu arasında Hematokrit (HCT) ve Hemoglobin (HGB) parametrelerinin istatistiksel olarak karşılaştırılmasında Tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Analiz sonucunda HCT değeri için p değeri 0,95 çıkararak gruplar arasında HCT değeri açısından anlamlı farklılık olmadığı görülmüştür. Gruplar arasında HGB değeri için yapılan analiz sonucunda p değeri 0,146 bulunarak gruplar arasında HGB değeri açısından anlamlı farklılığın olmadığı gözlenmiştir.

Kırmızı Kan Hücresi (“Red blood cell”, RBC), Beyaz Kan Hücresi (White blood cell”, WBC), Ortalama Kırmızı Kan Hücresi Hacmi (“Mean corpuscular volume”, MCV) ve Kırmızı kan hücresi dağılım genişliği (“Red cell distribution width”, RDW) parametrelerinin gruplar arasında anlamlı farklılık açısından karşılaştırılmasında Kruskal Wallis H testi yapılmıştır. Yapılan analiz sonucunda RBC değeri için p değeri 0,002 bulunarak gruplar arasında RBC değeri açısından anlamlı farklılığın olduğu belirtilmektedir.

Gruplar arasında WBC değeri için yapılan analiz sonucunda $p < 0,001$ olarak bulunarak anlamlı farklılığın olduğu bulunmuştur. Üç grup arasında yapılan analiz sonucunda MCV değeri için p değeri 0,216 ve RDW değeri için p değeri ise 0,159 çıkararak gruplar arasında MCV ile RDW parametreleri açısından anlamlı farklılığın olmadığı görülmüştür.

Kontrol grubu, insülin direnci olan DM grubu ve insülin direnci olmayan DM grubunun HCT, HGB, RBC, WBC, MCV ve RDW değerlerinin ortalamaları Tablo 4.5’te verilmiştir.

Tablo 4.5: Grupların HCT, HGB, RBC, WBC, MCV ve RDW ortalama değerleri

Değişken	İnsülin direnci olan DM grubu	İnsülin direnci olmayan DM grubu	Kontrol grubu
HCT	42,7±3,83	42±3,77	41,14±3,58
HGB	14,03±1,32	13,79±1,43	13,52±1,31
RBC	4,96±0,53	4,78±0,43	4,65±0,4
WBC	8,45±2,25	8,09±3,11	6,92±1,98
MCV	86,44±6,02	88,02±5,02	88,61±5,06
RDW	13,79±1,31	13,87±1,47	13,62±1,63

DM: Diyabetes Mellitus, HCT: Hematokrit, HGB: Hemoglobin, RBC: Kırmızı Kan Hücresi, WBC: Beyaz Kan Hücresi, MCV: Ortalama Kırmızı Kan Hücresi Hacmi, RDW: Kırmızı kan hücresi dağılım genişliği

Yapılan ELİSA analizi sonucundaki verilere bakıldığında grupların serum MIOX konsantrasyon değerleri bakımından dağılımının incelenmesi için yapılan Shapiro Wilk testi sonucunda; değişkenin gruplar arasında (insülin direnci olan DM, insülin direnci olmayan DM ve kontrol grubu) normal dağılmadığı görülmüştür ($p<0,05$).

Normal dağılım göstermeyen grupların karşılaştırılması için yapılan Kruskal Wallis testi analiz sonucunda kontrol grubu, insülin direnci olan DM grubu ve insülin direnci olmayan DM grubu arasında serum MIOX konsantrasyonları bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilememiştir ($p>0,05$).

Kruskal Wallis H testi sonucundaki veriler (medyan, en küçük ve en büyük değer) Tablo 4.6'da verilmiştir.

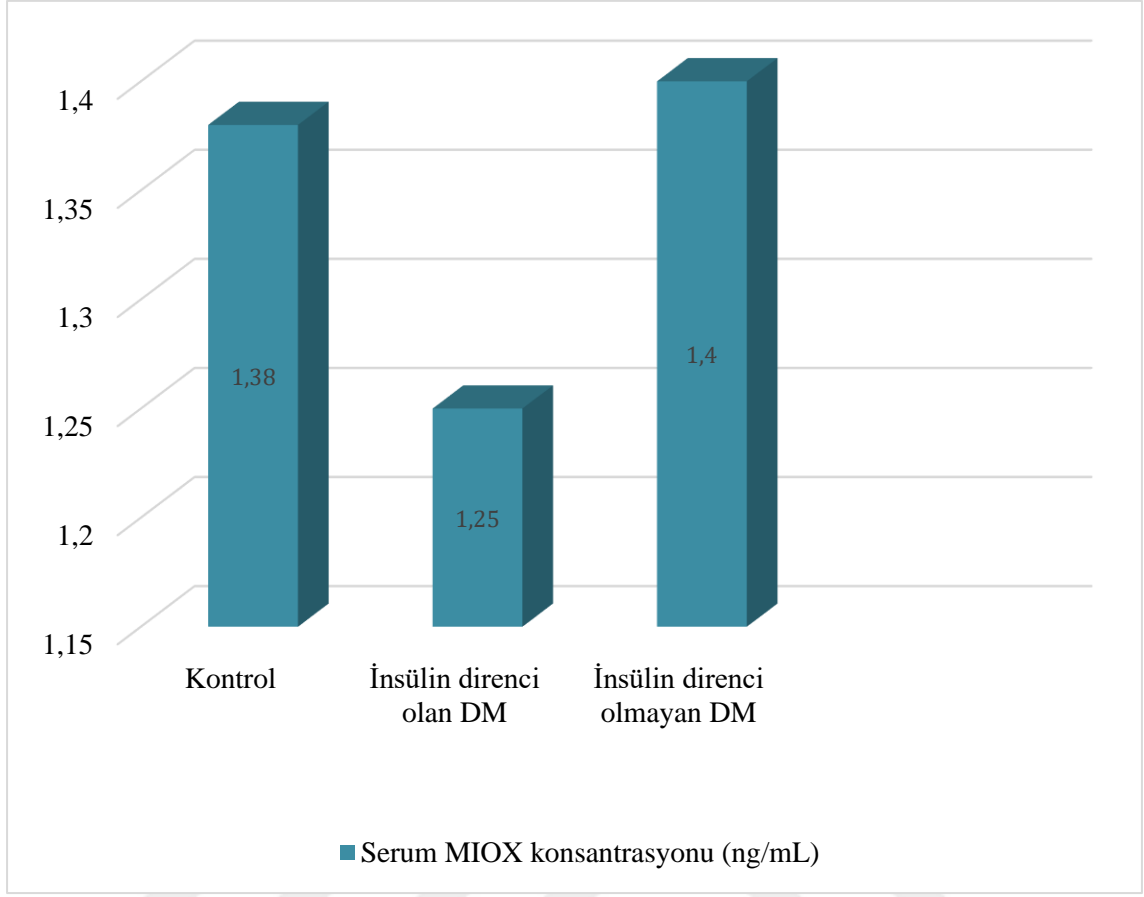
Tablo 4.6: Serum Myo-inositol Oksijenaz konsantrasyonlarının karşılaştırılması

Serum MIOX konsantrasyonu	Kişi sayısı	Medyan (en küçük ve en büyük değer)	H	P
Kontrol	53	1,022 (0,594-5,228)	3,161	0,206
İnsülin direnci olan DM	55	0,849 (0,491-6,755)		
İnsülin direnci olmayan DM	55	0,91 (0,479-8,866)		

DM: Diyabetes Mellitus, MIOX: Myo-inositol Oksijenaz

Serum MIOX konsantrasyonları ile diğer parametreler arasında anlamlı herhangi bir korelasyon bulunamamıştır.

Kontrol grubu, insülin direnci olan DM grubu ve insülin direnci olmayan DM grubunun serum örneklerinin ELİSA yöntemiyle analizi sonucu hesaplanan serum MIOX konsantrasyonlarının ortalama değerleri (Şekil 4.5) ve standart sapmaları kontrol grubunda $1,38 \pm 1,02$, insülin direnci olan DM grubunda $1,25 \pm 1,07$, insülin direnci olmayan DM grubunda ise $1,4 \pm 1,41$ olarak bulunmuştur.



Şekil 4.5: Grupların serum Myo-inositol Oksijenaz ortalama konsantrasyon değerleri

DM: Diyabetes Mellitus, MIOX: Myo-inositol Oksijenaz

5. TARTIŞMA

Diyabet dünyada hızla artan, pek çok komplikasyonu olabilen ve bunun sonucunda sağlık harcamalarının büyük bir kısmını oluşturan bir hastalıktır (65). Diyabetin erken veya ileri evrelerinde kullanılan yaşam tarzı değişikliği, ilaç ve insülin tedavisi ile hastalığın yönetimi sağlanmaya çalışılmaktadır (66). Özellikle tip 2 diyabetin gelişiminde önemli bir role sahip insülin direnci iyi yönetilemeyip kontrol altına alınmadığı zaman bireylerin diyabete yakalanma riskini artırmaktadır. Bu nedenle glukoz metabolizmasındaki değişikliklerin saptanarak önlem alınması, diyabetin önlenmesinde veya komplikasyon riskinin azaltılmasında oldukça önemlidir (67). Glikoz metabolizması ile yakından ilişkili olan myo-inositol'un katabolizmasında rol alan, böbrekte bulunan, tek ve hız kısıtlayıcı enzim olan MIOX'un plazma myo-inositol seviyesini düzenlediği; diyabet ve insülin direnci gibi glukoz metabolizmasındaki bozulmalar sonucu MIOX seviyesinin artarak myo-inositol eksikliğine sebep olabileceği belirtilmektedir (68–70). Literatürde diyabetli hastalarda serum MIOX konsantrasyonu ile ilgili yapılan çalışmalar bulunmakla beraber özellikle insülin direnci ve diyabet durumunun birlikte değerlendirildiği bir çalışma bulunmamaktadır. Bilgimiz dahilinde bu anlamda çalışmamız bir ilki oluşturmaktadır. Çalışmamızın amacı insülin direnci ve diyabet durumunda myo-inositol katabolizmasındaki değişikliğin saptanarak insülinin myo-inositol metabolizması üzerine etkinliğini ortaya koymaktır. Bununla beraber çalışmamızın sonucunda insülin direnci olan DM, insülin direnci olmayan DM ve kontrol grupları arasında serum MIOX konsantrasyonlarının istatistiksel olarak anlamlı farklılığa sahip olmadığı bulunmuştur.

Çalışmamızda gruplar arasında serum MIOX seviyesinin yanında bulgular bölümünde verilen cinsiyet, yaş, BKİ, açlık insülin, açlık glukoz, HbA1C, HOMA-IR, lipit parametreleri, kreatinin, GFR parametrelerinin literatüre göre karşılaştırması yapılmıştır.

Literatürde diyabetin cinsiyete göre değerlendirilmesinde dünya genelinde erkeklerde diyabet görülme sıklığının kadınlara göre daha fazla olduğu ve diyabetin daha çok orta yaşlarda görüldüğü belirtilmektedir (71,72). Çalışmamızda insülin direnci olan DM ve insülin direnci olmayan DM gruplarında kadın hasta sayısı fazladır

(toplam kadın DM hasta sayısı=60, toplam erkek DM hasta sayısı=50). Bunun nedeni çalışmamız için veri toplandığı sırada polikliniğe başvuran hastaların çoğunluğunu kadınların oluşturması olarak düşünülüp bu verinin genel durumu doğru yansıtamayabileceği belirtilmektedir. Diyabet hastalarının genel yaş ortalamalarına bakıldığında ise (ortalama 58,86) literatürle uyumlu olduğu bulunmuştur. Ayrıca gruplar arasında yaş ortalamasında anlamlı farklılığın olduğu, DM gruplarının yaş ortalamasının kontrol grubuna göre daha fazla olduğu bulunmuştur. Bununla beraber serum MIOX ile yaş arasında anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır.

Obezite diyabetin gelişmesinde oldukça önemli bir yere sahiptir. Yapılan çalışmalarda diyabetli bireylerde obezite görülme sıklığının fazla olduğu ve kilo kaybı sonucu BKİ'nin düşmesiyle diyabetin komplikasyonlarının hafifletebileceği bildirilmiştir (73,74). Çalışmamızda kontrol grubuna göre diyabetli bireylerde daha yüksek BKİ saptanmış; en yüksek BKİ insülin direnci olan DM grubunda görülmüştür. Gruplar arasında BKİ açısından anlamlı farklılığın olduğu bulunmuştur.

Myo-inositol, membran yapısında, sinyal iletiminde, organik bir osmolit olarak birçok fizyolojik işlevi olan bir moleküldür (30). Aynı zamanda glukoz homeostazında önemli rolü bulunmaktadır. Diyabet durumunda MIOX'un artarak myo-inositol'ün idrarla atılımının arttığı bilinmektedir. Abbas Abd ve ark. (75) tarafından yapılan bir çalışmada diyabetik nefropatili hastalar ve kontrol grubu arasında serum MIOX seviyesi karşılaştırılması sonucu diyabetli hastaların serum MIOX düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı derece yüksek olduğu, diyabetli hastalarda nefropati düzeyi arttıkça serum MIOX düzeyinin daha fazla bulunduğu belirtilmektedir. Gao ve ark. (76) tarafından yapılan benzer çalışmada albüminürisi olan diyabet hastaları ve kontrol grubu arasında serum MIOX düzeyi karşılaştırılmış, diyabetli hastalarda serum MIOX düzeyinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu, diyabetli hastalarda böbrek hasarı arttıkça serum MIOX düzeyinin arttığı bildirilmiştir. Xie ve ark. (77) tarafından yapılan başka bir çalışmada yine MIOX'un diyabetik nefropatide önemli rolü olduğu vurgulanmıştır. Aynı zamanda MOX böbreğe özgü bir enzim olduğu için böbrek yaralanmalarında erken teşhis parametresi olabileceği vurgulanmıştır (78–80). Bununla beraber idrar myo-inositol seviyesinin diyabet için bir biyobelirteç olabileceği ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır (81,82). Çalışmamızda hem diyabetli hastalar arasında hem de diyabetli hasta ve kontrol grubu

arasında serum MIOX seviyesi açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır. Bunun nedeni olarak myo-inositol'ün esansiyel bir molekül olmaması ve glukozdan de novo olarak sentezlenmesi sonucu serumdaki seviyelerin etkilenemeyebileceği düşünülmektedir. Aynı zamanda gruplar arasında GFR, kreatinin ve üre seviyeleri arasında anlamlı farklılığın olduğu bulunmuştur. Bununla beraber serum MIOX seviyesi ile idrar MIOX düzeyinin beraber değerlendirilmesinin çalışmaya daha doğru bir değerlendirme sağlayacağı düşünülmektedir.

Yang ve ark. (83) tarafından yapılan çalışmada diyabetli hastalarda myo-inositol katabolizmasında rol alan MIOX enziminde tek nükleotid polimorfizmlerinin olduğu gözlenmiştir. Myo-inositol metabolizmasının gen düzeyinde etkilendiğini gösteren çalışmalar (84,85) bulunmakla beraber; serum ve idrar MIOX veya myo-inositol seviyesi ile beraber gen çalışmalarının daha fazla yapılmasının myo-inositol ile ilgili bilgilerin netleşmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Müllner ve ark. (86) tarafından yapılan bir çalışmada 81 adolesan birey dört gruba ayrılarak OGTT'den sonra plazma myo-inositol seviyesine bakılmıştır. Birinci grubun BKİ'si normal aralıkta, normal insülin seviyesi ve glukoz toleransı olan, ikinci grubu oluşturan bireyler obez, normal insülin seviyesi ve normal glukoz toleransı olan, üçüncü grubu oluşturan bireyler obez, yüksek insülin seviyesi ve normal glukoz toleransı olan, dördüncü grubu oluşturan bireyler ise obez ve hem yüksek insülin seviyesi hem de bozulmuş glukoz toleransı olan bireylerden oluşmuştur. Çalışma sonucunda 3. ve 4. grupların plazma myo-inositol seviyesinin 1. ve 2. gruba göre anlamlı olarak daha düşük olduğu gözlenmiş ve insülin seviyesinin plazma myo-inositol seviyesini etkileyebileceği belirtilmiştir. Bunun nedeni olarak da OGTT sonrası sağlıklı bireylerin glukozu myo-inositol biyosentezi için daha iyi kullanabilmesi sonucu daha yüksek myo-inositol seviyesine sahip olduğu düşünülmektedir. Bu çalışma gruplar açısından bizim çalışmamıza benzer olmakla beraber hasta gruplarında net bir diyabet durumu olmaması, bizim çalışmamızda myo-inositol seviyesi hakkında dolaylı bir yorum yapılabildiği ve bulgularımızda gruplar arasında MIOX seviyesi anlamlı farklılığa sahip olmadığı için çalışmamızla bu çalışma örtüşmemektedir.

Croze ve ark. (87) tarafından yapılan bir çalışmada yüksek yağlı beslenmiş tip 2 diyabetli farelerde myo-inositol takviyesinin insülin hassasiyetini geliştirdiğini

fakat insülin direncini ve obeziteyi önleyemediği; insülin direnci veya hipergliseminin myo-inositol metabolizmasındaki değişikliklerle ilişkili olduğu (artmış idrar myo-inositol seviyesi, karaciğer ve böbrek doku içi tükenme) bildirilmiştir. Bununla beraber çalışmada myo-inositol takviyesinin etkilerinin ilk görüldüğü organ portal ven aracılığıyla karaciğer ve myo-inositol yıkımının gerçekleştiği organ olan böbrekler olduğu belirtilerek; myo-inositol takviyesinin bu organlardaki doku içi tükenmeyi onardığı belirtilmektedir. Aynı zamanda myo-inositol'ün karaciğer yağlanması olan hastalarda karaciğer fonksiyonunu iyileştirebildiği bildirilmektedir (88). Buradan hareketle diyabet ve insülin direnci durumlarında idrar myo-inositol seviyelerinin yanında özellikle karaciğer ve böbrek gibi dokularda myo-inositol seviyelerin araştırılması myo-inositol metabolizmasının aydınlatılması açısından önemli olduğu düşünülmektedir.

Myo-inositol takviyesi bazı hasta gruplarında (PKOS, insülin direnci) kullanılmakla beraber genellikle kabul edilen doz günlük 4 gram olmakla beraber özellikle net bir tavsiye edilen günlük alım düzeyi bulunmamaktadır (89). Myo-inositol'ün farmokinetiğinin anlaşılması için farelerle yapılan bir çalışmada myo-inositol takviyesi sonrası en yüksek serum myo-inositol konsantrasyonunun bir saat sonra olduğu, zamanla giderek seviyesinin azaldığı ancak 24 saat sonraki seviyesinin takviye kullanmadan önceki seviyesinden daha yüksek olduğu bulunmuştur (90). Buradan çıkarılacak sonuçla myo-inositol ile ilgili çalışmalarda açlık ve tokluk durumlarının beraber değerlendirilmesi ve takviye sonrası düzeylerin belirli aralıklarla kontrol edilmesinin bu konudaki eksikliklerin giderilmesi açısından önemli olabileceği düşünülmektedir.

Santamaria ve ark. (91) yapmış olduğu bir çalışmada gestasyonel diyabetli hastalarda amniyon sıvıda myo-inositol konsantrasyonları karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre gestasyonel diyabet hastalarında myo-inositol seviyesinin daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bunun nedeni olarak gestasyonel diyabet hastalarında amniyon sıvıda artan glukoz nedeniyle myo-inositol'ün hücre içine alınamaması ve idrar üretimine bağlı olarak amniyotik sıvıda artan myo-inositol'ün inositüriye katkı sağladığı düşünülmektedir.

Kısa ve ark. (92) tarafından yapılan çalışmada gestasyonel diyabetli hastalarda OGTT öncesi ve sonrası serum MIOX seviyesi ölçülmüştür. Çalışma sonucunda

gestasyonel diyabetli hastaların serum MIOX seviyesinin hem OGTT öncesinde hem de OGTT sonrasındaki ikinci saat sonunda kontrol grubuna göre daha yüksek seviyede olduğu gözlenmiştir. Çalışma sonucunda gestasyonel diyabetli hastalarda serum MIOX seviyesinin yüksek bulunmasının diyabetli hastalarda daha düşük myo-inositol seviyesi görülmesinin nedeni olabileceği düşünülmüştür.

Serum MIOX seviyesinin bakıldığı bir başka çalışma ise Mertoğlu ve ark. (93) tarafından PKOS'lu bireyler ile yapılmıştır. Çalışmada PKOS'lu bireylerle kontrol grubu arasında serum MIOX seviyesinin anlamlı farklılığa sahip olmadığı görülmüştür. Çalışma sonucunda serum MIOX seviyesinin myo-inositol eksikliğini yansıtmayabileceği belirtilmiştir. Bu çalışma hasta grubu açısından bizim çalışmamızla uyuşmasa da bulunan sonuç bakımından benzer olduğu düşünülmüştür.

Myo-inositol'ün ikinci haberci olarak görev yapan türevi olan MI-IPG, aynı zamanda yağ dokusundan serbest yağ asitlerinin salınmasının azaltılmasında ve adenilat siklazın inhibe edilmesinde de önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir. Serbest yağ asitlerinin glukozun uzaklaştırılmasını azalttığı, insülin direncine ve trigliserit sentezinin artmasına neden olduğu bilinmektedir (4,47,94). Farelerle yapılan bir çalışmada myo-inositol takviyesinin lipojenik genlerin ekspresyonunu azalttığı ve trigliserit birikimini azalttığı bulunmuştur (95). Yine başka bir çalışmada myo-inositol takviyesi yapılan farelerde hepatik trigliserit içeriğinin azalarak karaciğer yağlanmasını azalttığı gözlenmiştir (96). Buradan çıkarılacak sonuçla MIOX seviyesinin yüksek olduğu hastalarda myo-inositol seviyesinin düşük olması ve aynı zamanda trigliserit düzeylerinin yüksek olması beklenmektedir. Çalışmamızda gruplar arasında serum MIOX seviyesi anlamlı bir farklılığa sahip olmadığı için bununla ilgili herhangi bir yorum yapılamamaktadır. Fakat gruplar arası trigliserit düzeyi anlamlı farklılığa sahiptir ve en fazla, insülin direnci olan DM grubunda görülürken en az ise kontrol grubunda görülmektedir. Bu anlamda literatürle uyumlu olduğu söylenebilmektedir.

Antony ve ark. (97) tarafından yapılan çalışmada myo-inositol takviyesi alan diyabetik farelerde kolesterol, LDL, açlık glukoz ve insülin seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığını saptamışlardır. Serum MIOX seviyesinden dolaylı olarak myo-inositol seviyesi tahmini yapıldığında, MIOX seviyesi yüksek olan hastaların myo-inositol seviyelerinin düşük olması ve bunun sonucunda da kolesterol,

LDL, açlık glukoz ve açlık insülin seviyelerinin daha yüksek olması beklenmekte idi. Gruplar arasında serum MIOX düzeyleri anlamlı farklılığa sahip olmadığı için bu konuda yorum yapılamamaktadır. Fakat gruplar arasında açlık insülin, açlık glukoz, HOMA-IR, HbA1C gruplar arasında anlamlı farklılığa sahip olup bu parametreler için en yüksek değerler insülin direnci olan DM grubunda görülmüştür.

Çalışmamızın kısıtlılıkları arasında bireylerin idrar MIOX seviyesine bakılamaması, bireylerin diyetle myo-inositol alımının hesaplanamaması ve gen düzeyinde araştırmaların yapılamaması yer almaktadır. Bu anlamda ileriki çalışmalar için bu faktörlerin beraber değerlendirilmesinin myo-inositol metabolizmasının aydınlatılması açısından yol gösterici olabileceği düşünülmektedir.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışma sonuçlarına bakıldığında insülin direnci olan, insülin direnci olmayan ve sağlıklı bireyler arasında serum MIOX seviyesi açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır.

Gruplar arasında BKİ, açlık insülin, açlık glukoz, HbA1C, HOMA-IR, GFR, kreatinin, üre ve trigliserid parametrelerinin anlamlı farklılığa sahip olduğu bulunmuştur.

Bilgimiz dahilinde çalışmamız diyabet ve insülin direnci durumunun beraber değerlendirilerek serum MIOX seviyesinin bakıldığı ilk çalışma olup literatüre bu anlamda katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Myo-inositol'ün pek çok yaşamsal görevi olmasına karşın metabolizması net olarak bilinmemektedir. Gelecekteki çalışmalar için diyabet hastaları ve insülin direnci olan hastalarda serum MIOX seviyesi ile beraber idrar MIOX, açlık ve OGTT sonrası MIOX seviyeleri beraber değerlendirilmesi önerilmektedir. Bununla beraber genetik çalışmalar ve doku düzeyindeki çalışmaların da myo-inositol metabolizmasıyla ilgili bilgilerin aydınlatılmasında etkili olabileceği belirtilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Türkiye Diyabet Vakfı. Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi. (İnternette) 2021, Erişim 10.07.2023, https://www.turkdiab.org/admin/PICS/webfiles/Diyabet_Tani_ve_Tedavi_Rehberi_2021.pdf.
2. İmamoğlu, Ş. ve Ersoy Özyardımcı, C. (2022) Diabetes Mellitusun Tanı, Tedavi ve İzlemi. *Uludağ Üniversitesi*. Erişim 10.07.2023, https://acikerisim.uludag.edu.tr/bitstream/11452/30068/4/Diabetes_mellitusun_tan%C4%B1_tedavi_ve_izlemi.pdf.
3. Croze, M.L. ve Soulage, C.O. (2013) Potential role and therapeutic interests of myo-inositol in metabolic diseases. *Biochimie*, **95**, 1811–1827.
4. Dinicola, S., Minini, M., Unfer, V., Verna, R., Cucina, A. ve Bizzarri, M. (2017) Nutritional and acquired deficiencies in inositol bioavailability. Correlations with metabolic disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, **18**.
5. Lepore, E., Lauretta, R., Bianchini, M., Mormando, M., Di Lorenzo, C. ve Unfer, V. (2021) Inositols depletion and resistance: principal mechanisms and therapeutic strategies. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**.
6. Ijuin, T. ve Takenawa, T. (2012) Regulation of insulin signaling and glucose transporter 4 (GLUT4) exocytosis by phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate (PIP 3) phosphatase, skeletal muscle, and kidney enriched inositol polyphosphate phosphatase (SKIP). *Journal of Biological Chemistry*, **287**, 6991–6999.
7. DiNicolantonio, J.J. ve H O'Keefe, J. (2022) Myo-inositol for insulin resistance, metabolic syndrome, polycystic ovary syndrome and gestational diabetes. *Open Heart*, **9**, 1-7.
8. Sharma, I., Deng, F., Liao, Y. ve Kanwar, Y.S. (2020) Myo-inositol oxygenase (miox) overexpression drives the progression of renal tubulo-interstitial injury in diabetes. *Diabetes*, **69**, 1248–1263.
9. Zhan, M., Usman, I.M., Sun, L. ve Kanwar, Y.S. (2015) Disruption of Renal Tubular Mitochondrial Quality Control by Myo-Inositol Oxygenase in Diabetic Kidney Disease. *Journal of the American Society of Nephrology*, **26**, 1304–1321.
10. Hong, J.H., Jang, H.W., Kang, Y.E., Lee, J.H., Kim, K.S., Kim, H.J., ve ark. (2012) Urinary chiro- and myo-inositol levels as a biological marker for type 2 diabetes mellitus. *Disease Markers*, **33**, 193–199.
11. American Diabetes Association (2022). 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2022. *Diabetes Care*, **45**, 17–38. <https://doi.org/10.2337/dc22-S002>
12. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas 10th edition. (İnternette) 2021, Erişim 12.07.2023, <http://www.diabetesatlas.org>.
13. March, C.A., Libman, I.M., Becker, D.J. and Levitsky, L.L. (2022) From Antiquity to Modern Times: A History of Diabetes Mellitus and Its Treatments. *Hormone Research in Paediatrics*, **95**, 593–607.
14. Tinajero, M.G. ve Malik, V.S. (2021) An Update on the Epidemiology of Type 2 Diabetes: A Global Perspective. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, **50**, 337–355.
15. Zaccardi, F., Webb, D.R., Yates, T. ve Davies, M.J. (2016) Pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus: A 90-year perspective. *Postgraduate Medical Journal*, **92**, 63–69.
16. Ojo, O.A., Ibrahim, H.S., Rotimi, D.E., Ogunlakin, A.D. ve Ojo, A.B. (2023) Diabetes mellitus: From molecular mechanism to pathophysiology and pharmacology. *Medicine in Novel Technology and Devices*, **19**, 100247.
17. Galicia-Garcia, U., Benito-Vicente, A., Jebari, S., Larrea-Sebal, A., Siddiqi, H., Uribe, K.B., ve ark. (2020) Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, 1–34.
18. Wondmkun, Y.T. (2020) Obesity, insulin resistance, and type 2 diabetes: Associations and therapeutic implications. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*, **13**, 3611–3616.
19. Lubawy, M. ve Formanowicz, D. (2022) Insulin Resistance and Urolithiasis as a Challenge for a Dietitian. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **19**.
20. Khalid, M., Alkaabi, J., Khan, M.A.B. ve Adem, A. (2021) Insulin signal transduction perturbations in insulin resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**.
21. Lee, S.H., Park, S.Y. ve Choi, C.S. (2022) Insulin Resistance: From Mechanisms to Therapeutic Strategies. *Diabetes and Metabolism Journal*, **46**, 15–37.
22. Li, M., Chi, X., Wang, Y., Setrerrahmane, S., Xie, W. ve Xu, H. (2022) Trends in insulin resistance: insights into mechanisms and therapeutic strategy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, **7**.
23. Petersen, M.C. ve Shulman, G.I. (2018) Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. *Physiol Rev*, **98**, 2133–2223.

24. Arsh, A., Afaq, S., Carswell, C., Bhatti, M.M., Ullah, I. ve Siddiqi, N. (2023) Effectiveness of physical activity in managing co-morbid depression in adults with type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Affective Disorders*, **329**, 448–459.
25. Padhi, S., Nayak, A.K. ve Behera, A. (2020) Type II diabetes mellitus: a review on recent drug based therapeutics. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, **131**.
26. Cole, J.B. ve Florez, J.C. (2020) Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications. *Nature Reviews Nephrology*, **16**, 377–390.
27. Chatree, S., Thongmaen, N., Tantivejkul, K., Sitticharoon, C. ve Vucenik, I. (2020) Role of inositols and inositol phosphates in energy metabolism. *Molecules*, **25**.
28. Holub, B.J. (1986) Metabolism And Function Of Myo-Inositol And Inositol Phospholipids. *Ann. Rev. Nutr.* 1986. **6**:563-597.
29. Clements, R.S. ve Darnell, B. (1980) Myo-inositol content of common foods: development of a high-myo-inositol diet. *Am. J. Clin. Nutr.* **33**: 1954-1967.
30. Schellack, N. (2015) B-complex vitamin deficiency and supplementation. *S Afr Pharm J*, **82**:28-33.
31. Vazquez-Levin, M.H. ve Verón, G.L. (2020) Myo-inositol in health and disease: its impact on semen parameters and male fertility. *Andrology*, **8**, 277–298.
32. Chhetri, D.R. (2019) Myo-inositol and its derivatives: Their emerging role in the treatment of human diseases. *Frontiers in Pharmacology*, **10**.
33. Azziz, R., Carmina, E., Chen, Z., Dunaif, A., Laven, J.S.E., Legro, R.S., ve ark. (2016) Polycystic ovary syndrome. *Nature Reviews Disease Primers*, **2**.
34. Garzon, S., Laganà, A.S. ve Monastra, G. (2019) Risk of reduced intestinal absorption of myo-inositol caused by D-chiro-inositol or by glucose transporter inhibitors. *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology*, **15**, 697–703.
35. Suliman, M., Case, K.C., Schmidtke, M.W., Lazcano, P., Onu, C.J. ve Greenberg, M.L. (2022) Inositol depletion regulates phospholipid metabolism and activates stress signaling in HEK293T cells. *Biochimica et Biophysica Acta- Molecular and Cell Biology of Lipids*, **1867**.
36. Su, X.B., Ko, A.L.A. ve Saiardi, A. (2023) Regulations of myo-inositol homeostasis: Mechanisms, implications, and perspectives. *Advances in Biological Regulation*, **87**.
37. Aouameur, R., Da Cal, S., Bissonnette, P., Coady, M.J. ve Lapointe, J.-Y. (2007) SMIT2 mediates all myo-inositol uptake in apical membranes of rat small intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, **293**, 1300–1307.
38. Kiani, A.K., Paolacci, S., ve Calogero, A.E., (2021) From Myo-inositol to D-chiro-inositol molecular pathways. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, **25**, 2390-2402.
39. Rodehuscord, M. ve Huber, K. (2020) Myo-inositol: its metabolism and potential implications for poultry nutrition—a review. *Poultry Science*, **99**, 893–905.
40. Bizzarri, M., Fuso, A., Dinicola, S., Cucina, A. ve Bevilacqua, A. (2016) Pharmacodynamics and pharmacokinetics of inositol(s) in health and disease. *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology*, **12**, 1181–1196.
41. Beemster, P., Groenen, P. ve Steegers-Theunissen, R. (2002) Special Article Involvement of Inositol in Reproduction. *Nutrition reviews*, **60**, 80–87.
42. Siracusa, L., Napoli, E. ve Ruberto, G. (2022) Novel Chemical and Biological Insights of Inositol Derivatives in Mediterranean Plants. *Molecules*, **27**.
43. Li, Y., Han, P., Wang, J., Shi, T. ve You, C. (2022) Production of myo-inositol: Recent advance and prospective. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, **69**, 1101–1111.
44. Bevilacqua, A. ve Bizzarri, M. (2018) Inositols in insulin signaling and glucose metabolism. *International Journal of Endocrinology*, **2018**, 1-8.
45. Chukwuma, C.I., İbrahim, M.A. ve İslam, M.S. (2016) Myo-inositol inhibits intestinal glucose absorption and promotes muscle glucose uptake: a dual approach study. *Journal of Physiology and Biochemistry*, **72**, 791–801.
46. Takakado, M., Takata, Y., Yamagata, F., Yaguchi, M., Hiasa, G., Sato, S., ve ark. (2020) Simple and non-invasive screening method for diabetes based on myoinositol levels in urine samples collected at home. *BMJ Open Diabetes Research and Care*, **8**.
47. Antonowski, T., Osowski, A., Lahuta, L., Górecki, R., Rynkiewicz, A. ve Wojtkiewicz, J. (2019) Health-promoting properties of selected cyclitols for metabolic syndrome and diabetes. *Nutrients*, **11**.
48. Mancini, M., Andreassi, A., Salvioni, M., Pelliccione, F., Mantellassi, G. ve Banderalli, G. (2016) Myoinositol and D-Chiro Inositol in Improving Insulin Resistance in Obese Male Children: Preliminary Data. *International Journal of Endocrinology*, **2016**, 1-5.
49. Weston, E., Pangilinan, F., Eaton, S., Orford, M., Leung, K.Y., Copp, A.J., ve ark. (2022) Investigating Genetic Determinants of Plasma Inositol Status in Adult Humans. *Journal of Nutrition*, **152**, 2333–2342.

50. Dinicola, S., Unfer, V., Facchinetti, F., Soulage, C.O., Greene, N.D., Bizzarri, M., ve ark. (2021) Inositols: From established knowledge to novel approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**.
51. Facchinetti, F., Unfer, V., Dewailly, D., Kamenov, Z.A., Diamanti-Kandarakis, E., Laganà, A.S., ve ark. (2020) Inositols in Polycystic Ovary Syndrome: An Overview on the Advances. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, **31**, 435–447.
52. Sun, T.-H., Heimark, D.B., Nguyen, T., Nadler, J.L. ve Lerner, J. (2002) Both myo-inositol to chiro-inositol epimerase activities and chiro-inositol to myo-inositol ratios are decreased in tissues of GK type 2 diabetic rats compared to Wistar controls. *Biochem Biophys Res Commun*, **293**, 1092-1098.
53. Cabrera-Cruz, H., Oróstica, L., Plaza-Parrochia, F., Torres-Pinto, I., Romero, C. ve Vega, M. (2020) The insulin-sensitizing mechanism of myo-inositol is associated with AMPK activation and GLUT-4 expression in human endometrial cells exposed to a PCOS environment. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, **318**, 237–248.
54. Fruzzetti, F., Perini, D., Russo, M., Bucci, F. ve Gadducci, A. (2017) Comparison of two insulin sensitizers, metformin and myo-inositol, in women with polycystic ovary syndrome (PCOS). *Gynecological Endocrinology*, **33**, 39–42.
55. Caputo, M., Bona, E., Leone, I., Samà, M.T., Nuzzo, A., Ferrero, A., ve ark. (2020) Inositols and metabolic disorders: From farm to bedside. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, **10**, 252–259.
56. Miñambres, I., Cuixart, G., Gonçalves, A. ve Corcoy, R. (2019) Effects of inositol on glucose homeostasis: Systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Clinical Nutrition*, **38**, 1146–1152.
57. Contreras, A., Jones, M.K., Eldon, E.D. ve Klig, L.S. (2023) Inositol in Disease and Development: Roles of Catabolism via myo-Inositol Oxygenase in *Drosophila melanogaster*. *International Journal of Molecular Sciences*, **24**.
58. Derkaczew, M., Martyniuk, P., Osowski, A. ve Wojtkiewicz, J. (2023) Cyclitols: From Basic Understanding to Their Association with Neurodegeneration. *Nutrients*, **15**.
59. Alok, A., Kaur, H., Bhati, K.K., Kumar, J., Pandey, P., Upadhyay, S.K., ve ark. (2015) Biochemical characterization and spatio-temporal expression of myo-inositol oxygenase (MIOX) from wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Gene*, **4**, 10–19.
60. Nayak, B., Kondeti, V.K., Xie, P., Lin, S., Viswakarma, N., Raparia, K., ve ark. (2011) Transcriptional and post-translational modulation of myo-inositol oxygenase by high glucose and related pathobiological stresses. *Journal of Biological Chemistry*, **286**, 27594–27611.
61. Tominaga, T., Dutta, R.K., Joladarashi, D., Doi, T., Reddy, J.K. ve Kanwar, Y.S. (2016) Transcriptional and translational modulation of myo-inositol oxygenase (Miox) by fatty acids: Implications in renal tubular injury induced in obesity and diabetes. *Journal of Biological Chemistry*, **291**, 1348–1367.
62. Tominaga, T., Sharma, I., Fujita, Y., Doi, T., Wallner, A.K. ve Kanwar, Y.S. (2019) Myo-inositol oxygenase accentuates renal tubular injury initiated by endoplasmic reticulum stress. *Am J Physiol Renal Physiol*, **316**, 301–315.
63. Chang, H.-H., Chao, H.-N., Walker, C.S., Choong, S.-Y., Phillips, A. ve Loomes, K.M. (2015) Renal depletion of myo-inositol is associated with its increased degradation in animal models of metabolic disease. *Am J Physiol Renal Physiol*, **309**, 755–763.
64. Matthews, D.R., Hosker, J.R., Rudenski, A.S., Naylor, B.A., Treacher, D.F. ve Turner, R.C. (1985) Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, **28**, 412-419.
65. Russo, M.P., Grande-Ratti, M.F., Burgos, M.A., Molaro, A.A. ve Bonella, M.B. (2023) Prevalence of diabetes, epidemiological characteristics and vascular complications. *Archivos de Cardiologia de Mexico*, **93**, 30–36.
66. Mesinovic, J., Fyfe, J.J., Talevski, J., Wheeler, M.J., Leung, G.K.W., George, E.S., ve ark. (2023) Type 2 Diabetes Mellitus and Sarcopenia as Comorbid Chronic Diseases in Older Adults: Established and Emerging Treatments and Therapies. *Diabetes and Metabolism Journal*, **47**, 719–742.
67. Mannar, V., Boro, H., Patel, D., Agstam, S., Dalvi, M. ve Bundela, V. (2023) Epigenetics of the pathogenesis and complications of type 2 diabetes mellitus. *touchREVIEWS in Endocrinology*, **19**, 46–53.
68. Hanafy, M.M., Lindeque, J.Z., El-Maraghy, S.A., Abdel-Hamid, A.H.Z. and Shahin, N.N. (2021) Time-based investigation of urinary metabolic markers for Type 2 diabetes: Metabolomics approach for diabetes management. *BioFactors*, **47**, 645–657.
69. Sun, L., Dutta, R.K., Xie, P. ve Kanwar, Y.S. (2016) myo-inositol oxygenase overexpression accentuates generation of reactive oxygen species and exacerbates cellular injury following high glucose

- ambience: A new mechanism relevant to the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Journal of Biological Chemistry*, **291**, 5688–5707.
70. Prabhu, K.S., Arner, R.J., Vunta, H. ve Reddy, C.C. (2005) Up-regulation of human myo-inositol oxygenase by hyperosmotic stress in renal proximal tubular epithelial cells. *Journal of Biological Chemistry*, **280**, 19895–19901.
71. Succurro, E., Vizza, P., Cicone, F., Cassano, V., Massimino, M., Giofrè, F., ve ark. (2024) Sex-specific differences in myocardial glucose metabolic rate in non-diabetic, pre-diabetic and type 2 diabetic subjects. *Cardiovascular Diabetology*, **23**, 1-11.
72. Kautzky-Willer, A., Leutner, M. ve Harreiter, J. (2023) Sex differences in type 2 diabetes. *Diabetologia*, **66**, 986-1002.
73. Dambha-Miller, H., Day, A.J., Strelitz, J., Irving, G. ve Griffin, S.J. (2020) Behaviour change, weight loss and remission of Type 2 diabetes: a community-based prospective cohort study. *Diabetic Medicine*, **37**, 681–688.
74. Frank, L.D., Adhikari, B., White, K.R., Dummer, T., Sandhu, J., Demlow, E., ve ark. (2022) Chronic disease and where you live: Built and natural environment relationships with physical activity, obesity, and diabetes. *Environment International*, **158**.
75. Abbas Abd, M., Al-Saeed, H.H. ve Sami Malik, A. (2021) Study the Levels of Serum Myo-Inositol Oxygenase (MIOX) in Type2 Diabetic Patients with Albuminuria. *Annals of R.S.C.B.*, **25**, 1488–1499.
76. Gao, P., Xu, B., Song, P., Zhu, X., Yuan, S., Kanwar, Y.S., ve ark. (2018) The kidney specific protein myo -inositol oxygenase, a potential biomarker for diabetic nephropathy. *Kidney and Blood Pressure Research*, **43**, 1772–1785.
77. Xie, P., Sun, L., Oates, P.J., Srivastava, S.K. ve Kanwar, Y.S. (2010) Pathobiology of renal-specific oxidoreductase/myo-inositol oxygenase in diabetic nephropathy: its implications in tubulointerstitial fibrosis. *Am J Physiol Renal Physiol*, **298**, 1393–1404.
78. Sharma, I., Deng, F. ve Kanwar, Y.S. (2020) Modulation of renal injury by variable expression of myo-inositol oxygenase (MIOX) via perturbation in metabolic sensors. *Biomedicines*, **8**.
79. Mertoğlu, C., Ozmen, Z.C., Firat, F., Arici, A., Unsal, V. ve Erdemir, F. (2020) Effectiveness of myo-inositol oxygenase in the early diagnosis of experimental acute kidney injury. *Bratislava Medical Journal*, **121**, 565–570.
80. Mertoglu, C., Gunay, M., Gurel, A. ve Gungor, M. (2018) Myo-inositol oxygenase as a novel marker in the diagnosis of acute kidney injury. *Journal of Medical Biochemistry*, **37**, 1–6.
81. Hong, J.H., Jang, H.W., Kang, Y.E., Lee, J.H., Kim, K.S., Kim, H.J., ve ark. (2012) Urinary chiro- and myo-inositol levels as a biological marker for type 2 diabetes mellitus. *Disease Markers*, **33**, 193–199.
82. Ikezaki, H., Furusyo, N., Okada, K., Ihara, T., Hayashi, T., Ogawa, E., ve ark. (2014) The utility of urinary myo-inositol as a marker of glucose intolerance. *Diabetes Research and Clinical Practice*, **103**, 88–96.
83. Yang, B., Hodgkinson, A., Millward, B.A. ve Demaine, A.G. (2010) Polymorphisms of myo-inositol oxygenase gene are associated with Type 1 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and its Complications*, **24**, 404–408.
84. Sharma, I., Dutta, R.K., Singh, N.K. ve Kanwar, Y.S. (2017) High Glucose–Induced Hypomethylation Promotes Binding of Sp-1 to Myo-Inositol Oxygenase: Implication in the Pathobiology of Diabetic Tubulopathy. *American Journal of Pathology*, **187**, 724–739.
85. Nayak, B., Xie, P., Akagi, S., Yang, Q., Sun, L., Wada, J., ve ark. (2005) Modulation of renal-specific oxidoreductase myo-inositol oxygenase by high-glucose ambience. *Proc Natl Acad Sci USA*, **102**, 17952–17955.
86. Müllner, E., Röhnisch, H.E., von Brömssen, C. and Moazzami, A.A. (2021) Metabolomics analysis reveals altered metabolites in lean compared with obese adolescents and additional metabolic shifts associated with hyperinsulinaemia and insulin resistance in obese adolescents: a cross-sectional study. *Metabolomics*, **17**, 1-13.
87. Croze, M.L., Géloën, A. and Soulage, C.O. (2015) Abnormalities in myo-inositol metabolism associated with type 2 diabetes in mice fed a high-fat diet: Benefits of a dietary myo-inositol supplementation. *British Journal of Nutrition*, **113**, 1862–1875.
88. Agajani Delavar, M., Eduardo Gabriel Kluck, G. and Ebrahimi-Mameghani, M. (2023) Myo-inositol supplementation improves cardiometabolic factors, anthropometric measures, and liver function in obese patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Frontiers in Nutrition*, **10**, 1-10.
89. Merviel, P., James, P., Bouée, S., Le Guillou, M., Rince, C., Nachtergaele, C., ve ark. (2021) Impact of myo-inositol treatment in women with polycystic ovary syndrome in assisted reproductive technologies. *Reproductive Health*, **18**.

90. Antonowski, T., Osowski, A., Szczesny, D., Szablińska-Piernik, J., Juśkiewicz, J., Lahuta, L., ve ark. (2022) Pharmacokinetics of Myo-Inositol in a Wistar Rat Animal Model. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**.
91. Santamaria, A., Corrado, F., Baviera, G., Carlomagno, G., Unfer, V. and Danna, R. (2016) Second trimester amniotic fluid myo-inositol concentrations in women later developing gestational diabetes mellitus or pregnancy-induced hypertension. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*, **29**, 2245–2247.
92. Kısa, B., Sert, U.Y., Celik, H.K., Candar, T., Erol Koç, E.M., Taşçı, Y., ve ark. (2022) Myo-inositol oxygenase activity in second trimester of pregnancy: altered myoinositol catabolism in gestational diabetes mellitus. *Archives of Physiology and Biochemistry*, **128**, 910–913.
93. Mertoglu, C., Gunay, M., Gul, V., Kulhan, M., Aktas, M. and Coban, T.A. (2018) Does myo-inositol oxygenase, the only enzyme to catalyze myo-inositol in vivo, play a role in the etiology of polycystic ovarian syndrome? *Gynecological Endocrinology*, **34**, 418–421.
94. Pani, A., Giossi, R., Menichelli, D., Fittipaldo, V.A., Agnelli, F., Inglese, E., ve ark. (2020) Inositol and non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review on deficiencies and supplementation. *Nutrients*, **12**, 1–13.
95. Shimada, M., Hibino, M. and Takeshita, A. (2017) Dietary supplementation with myo-inositol reduces hepatic triglyceride accumulation and expression of both fructolytic and lipogenic genes in rats fed a high-fructose diet. *Nutrition Research*, **47**, 21–27.
96. Shimada, M., Ichigo, Y., Shirouchi, B., Takashima, S., Inagaki, M., Nakagawa, T., ve ark. (2019) Treatment with myo-inositol attenuates binding of the carbohydrate-responsive element-binding protein to the ChREBP- β and FASN genes in rat nonalcoholic fatty liver induced by high-fructose diet. *Nutrition Research*, **64**, 49–55.
97. Antony, P.J., Gandhi, G.R., Stalin, A., Balakrishna, K., Toppo, E., Sivasankaran, K., ve ark. (2017) Myoinositol ameliorates high-fat diet and streptozotocin-induced diabetes in rats through promoting insulin receptor signaling. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, **88**, 1098–1113.

EKLER

EK-1.Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 13.02.2023-15326



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Toplantı Tarihi : 27.01.2023
Toplantı Sayısı : 2023/2
Karar Sayısı : 2/3

Kurulumuza değerlendirilmek üzere sunulan, Prof. Dr. Ebru KALE'nin sorumlu, Doç. Dr. Eylem ÇAĞILTAY ve Arzu ATAKLI'nın yardımcı araştırmacı olduğu 22/643 kayıt numaralı "*İnsülin Direnci Olan ve Olmayan Tip 2 Diyabetli Hastalarda Myo-inositol Oksijenaz Düzeylerinin Karşılaştırılması*" başlıklı proje önerisi kurulumuzun 27.01.2023 tarihli toplantısında değerlendirilmiş ve etik açıdan uygun bulunmuştur.

Doç. Dr. Yasemin AYDIN KARTAL
Başkan

Doç. Dr. Muzaffer AKDOĞAN
Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Derya BÜYÜKKAYHAN
Etik Kurul Üyesi

Prof. Dr. Recep KEŞLİ
Etik Kurul Üyesi

Prof. Dr. Abubekir ELTAS
Etik Kurul Üyesi

Doç. Dr. Erhan ALABAY
Etik Kurul Üyesi

Doç. Dr. Eray Metin GÜLER
Etik Kurul Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Banu BAYRAM
Etik Kurul Üyesi

Doç. Dr. Bahar Başak KIZILTAN ELİAÇIK
Etik Kurul Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Gamze TEMİZ
Etik Kurul Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Tuğçe ÖZYAZICI
Etik Kurul Üyesi

30.01.2023 Memur

Ali CEYLAN

Evrakı Doğrulamak İçin : <https://www.turkiye.gov.tr/sbu-ebys?eD=BSE5RMDNFS&eS=15326>

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

EK-2.Bilgilendirilmiş Onam Formu

AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU

Sultan Abdülhamid Han Eğitim ve Araştırma Hastanesi Doç. Dr. Eylem ÇAĞILTAY sorumluluğunda yürütülen, “**İnsülin Direnci Olan ve Olmayan Tip 2 Diyabetli Hastalarda Serum Myo-inositol Oksijenaz Düzeylerinin Karşılaştırılması**” ile ilgili yaptığımız araştırmaya katılımınız rica olunmaktadır. Bu çalışmaya katılımınız tamamen gönüllülük esasına dayanır. Lütfen aşağıdaki bilgileri okuyunuz ve katılmaya karar vermeden önce anlamadığınız herhangi bir şey varsa çekinmeden sorunuz.

ÇALIŞMANIN ADI

İnsülin Direnci Olan ve Olmayan Tip 2 Diyabetli Hastalarda Serum Myo-inositol Oksijenaz Düzeylerinin Karşılaştırılması

ÇALIŞMANIN AMACI

Diyabet ve insülin direnci toplumda sık görülebilen bir durumdur. Tip 2 diyabet özellikle ilerleyen yaşlarda kalp damar hastalıkları gibi pek çok kronik hastalığa yakalanma riskini artırmaktadır. Bu nedenle diyabetin erken tanısı kalp damar hastalıkları riskinin önlenmesinde önem arz etmektedir.

Bu çalışmada, sizin kan örneğiniz alınarak kanda insülin direnci ve diyabet ile ilişkili olabilecek belirteçlerin düzeylerine bakılacak ve bu belirteçlerin diyabet ve insülin direnci ile ilgisinin olup olmadığı belirlenecektir.

PROSEDÜRLER

Bu çalışmaya gönüllü katılmak istemeniz halinde, genel bilgileriniz, vücut kitle indeksi, ek hastalıklarınız ile ilgili genel bilgileriniz tarafımızca doldurulduktan sonra rutin biyokimyasal ve hormonal değerlendirmeniz için alınacak kana ek olarak çalışmamız için bir biyokimya tüpüne daha örnek alınacaktır. Bunun için sizden yaklaşık 5-10 ml kan örneği alınacaktır.

OLASI RİSKLER VE RAHATSIZLIKLAR

Bu çalışmadan dolayı oluşabilecek herhangi bir risk veya rahatsızlık bulunmamaktadır. Sadece kan almaya bağlı ortaya çıkması muhtemel şikayetler görülebilir.

TOPLUMA VE/VEYA DENEKLERE OLASI FAYDALARI

Çalışmaya katılan bireyler diyabet hastalığı ve yönetimi hakkında bilgilendirilecek. Çalışma neticesinde bulunan sonuçlar sizlerle paylaşılacak olup artmış şeker hastalığı ve kalp damar hastalıkları risklerinizin olup olmadığı ile ilgili bilgilendirme yapılacaktır. Çalışma neticesinde bulunan sonuçların diyabet hastalarının uzun dönem sistemik hastalık risklerinin azaltılmasına yardımcı olabileceği düşünülmektedir.

GİZLİLİK

Bu çalışmayla bağlantılı olarak elde edilen ve sizinle özdeşleşmiş bilgi yoktur, anket yoluyla alınan veriler ve kan örnekleri üçüncü kişilerle paylaşılmayacaktır. Tüm kodlanan anket verileri ve kan sonuçları, sınırlı erişime sahip güvenli ve şifreli bir veri tabanında tutulacaktır.

KATILIM VE AYRILMA

Bu çalışmanın içinde olmak isteyip istemediğinize tamamı ile bağımsız ve etki altında kalmadan karar verebilirsiniz. Bu çalışmaya gönüllü olarak katılmaya karar vermeniz halinde dahi, sahip olduğunuz herhangi bir hakkı kaybetmeden veya herhangi bir cezaya maruz kalmadan istediğiniz zaman çekilebilirsiniz. Çalışmadan çekilmek isterseniz bir cezası yoktur ve sahip olduğunuz faydaları kaybetmezsiniz. Katılımcının gizli kalması adına dolduracağımız anketlerin üzerine ad ve soyadınızla ilgili bir yazı lütfen yazmayınız.

ARAŞTIRMACILARIN KİMLİĞİ

Bu araştırma ile ilgili herhangi bir sorunuz veya endişeniz varsa, lütfen iletişime geçiniz:

Arzu ATAKLI
Sağlık Bilimleri Üniversitesi

Katılımcı adı soyadı ve İmzası

Tarih

Şahit adı soyadı ve İmzası

Tarih
