

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI



**DIYABETİKLERDE VE DIYABETİK PERİFERİK NÖROPATİSİ OLANLARDA
İDRAR 6-SÜLFATOKSİMELATONİN DÜZEYLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Kemal KURT

TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi Ersen KARAKILIÇ

Çanakkale 2020

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

İÇ KAPAK SAYFASI

**DİYABETİKLERDE VE DİYABETİK PERİFERİK NÖROPATİSİ OLANLARDA
İDRAR 6-SÜLFATOKSİMELATONİN DÜZEYLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Kemal KURT

TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi Ersen KARAKILIÇ

Bu çalışma ÇOMÜ Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından TTU-2020-3111 sayı ile desteklenmiştir.

Çanakkale 2020

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

İç Hastalıkları Anabilim Dalı uzmanlık

çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Dr. Kemal KURT'ın **Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 18/11/2020

TEZ KONU BAŞLIĞI

Dişabetiklerde ve Dişabetik Periferik Nöropatisi
Olaklarda İdrar 6-Sellatoksimelebin Doreyleri

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Ersen KARAKILIÇ

Tez Jürisi Üyeleri:

Adı Soyadı

Prof. Dr. Yavuz BEYAZIT

Ersen Kordilic

Mustafa Engin

İmzası

[Signature]
[Signature]
[Signature]

Dr. Öğr. Üyesi Mustafa EROĞLU
Çanakkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi
Endokrinoloji ve Metabolizma Hast. Uzmanı
Endokrinoloji ve Metabolizma Hast. Uzmanı

ONAY:

Bu tez Anabilim/Bilim Dalı Akademik Kurulunca belirlenen yukarıdaki
jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Fakülte Yönetim
Kurulunun 01/12/2020 tarih ve 47.06 sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Taher DEMİR
Dekan

TEŞEKKÜR

4 yıllık iç hastalıkları asistanlık eğitimim süresince bizden bilgi, tecrübe ve yardımlarını esirgemeyerek gelişmemizde büyük emekleri bulunan, bu zorlu süreçte yer yer yaşadığımız sorunlarla özveriyle ilgilenen, meslek sevgisi ile bizlere örnek olan tüm değerli hocalarıma,

Tez çalışmam sırasında her zaman bilimsel açıdan destek olan ve deneyimleri ile yol gösteren, çalışma süresince beni motive eden ve eğitimi her zaman birinci önceliği olarak gören değerli hocam ve tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Ersen KARAKILIÇ'a,

Tezimin gerçekleşmesinde büyük emeği olan, bilimsel desteğini benden hiçbir zaman esirgemeyen kıymetli hocam Prof. Dr. Coşkun BAKAR'a ve Dr. Öğr. Üyesi Özgül OCAK'a ve Dr. Öğr. Üyesi Suat ÇAKINA'ya

Birlikte çalışmaktan büyük mutluluk ve onur duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma,

Tez çalışmam sırasında vakalarım ile ilgili tetkik ve ölçümlerin yapılmasında hiçbir yardımı esirgemeyip özveriyle ve gönüllülük esasıyla çalışan Hemşire Mine TEPE olmak üzere, birlikte çalıştığım tüm sağlık çalışanlarına,

Bana daima güvenen, ihtiyacım olan her anda yanımda olan, bana maddi ve manevi her konuda sabırla destek olup fedakârlıklarını esirgemeyen, varlığıyla bana güç veren ve hayatı paylaşmaktan sonsuz mutluluk duyduğum çok sevdiğim eşim Tuğba KURT'a,

Binbir emek ve fedakârlıklarla beni yetiştiren, dualarını her zaman arkamda hissettiğim canım anneme ve babama, beraber güle oynaya büyüdüğüm, en iyi dostum olan canım kardeşime ve hayatıma girdikleri ilk günden beri desteklerini ve dualarını eksik etmeyen kayınvalidem ve kayınbabama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Kemal KURT



*Doğumuyla kalbimde daha önce var olduğunu bile bilmediğim bir yer açan
ve kucağıma aldığım o ilk anda içini mutlulukla dolduran
canım oğlum Kemal Toprak'a ithaf edilmiştir.*

ÖZET

DİYABETİKLERDE VE DİYABETİK PERİFERİK NÖROPATİSİ OLANLARDA İDRAR 6-SÜLFATOKSİMELATONİN DÜZEYLERİ

Giriş ve Amaç: Diyabetik periferik nöropatinin patogeneğinde oksidatif stres önemli bir yer almaktadır. Pineal bezin temel hormonu olan melatonin ise çok güçlü bir antioksidan moleküldür. Aynı zamanda güçlü antiinflamatuvar özelliklere de sahiptir. Diyabet ve komplikasyonlarının patogeneğinde melatonin düzeylerinin rolü bu nedenle birçok araştırmaya konu olmuştur. Biz de melatoninin temel metaboliti olan üriner 6-sülfatoksimelatonin düzeylerinin periferik nöropatili ve nöropatisiz tip 2 diyabetli hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre nasıl farklılık gösterdiğini inceledik.

Materyal-Metod: Çalışmaya diyabetik nöropatili (n=43), diyabeti olup nöropatisi olmayan (n=44) ve kontrol grubu (n=40) olarak 3 grup halinde toplamda 127 katılımcı alınmıştır. Nöropati tanısı Michigan Nöropati Tarama Aracı (anket+fizik muayene) kullanılarak yapılmıştır. Anket bölümünde 7 puan ve üzeri, fizik muayene bölümünde 2,5 puan ve üzeri nöropati tanısı koymak için kriter olarak kullanıldı. Melatonin düzeyleri 24 saatlik idrarda 6-sülfatoksimelatonin düzeyleri ölçülerek değerlendirilmiştir. 6-sülfatoksimelatonin ölçümü ELISA yöntemiyle Biotek ELx800, USA cihazı kullanılarak çalışıldı.

Bulgular: Üriner 6-sülfatoksimelatonin düzeyleri üç grup arasında anlamlı farklılık göstermiştir ($p=0,023$). 6-sülfatoksimelatonin değerlerinin tüm diyabetik katılımcılar arasındaki dağılımının kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde düşük olduğunu saptadık ($p=0,006$). Ancak diyabetik katılımcılar kendi içinde periferik nöropatili ve nöropatisiz olarak ayrıldığında 6-sülfatoksimelatonin değerleri arasında anlamlı fark yoktu ($p=0,792$). 6-sülfatoksimelatonin düzeyleriyle açlık plazma glukozu arasında negatif yönlü zayıf korelasyon ($r=-0,211$, $p=0,017$), mikroalbuminüri ile pozitif yönlü zayıf korelasyon saptandı ($r=0,209$, $p=0,023$). Baktığımız diğer değişkenlerle 6-

sülfatoksimelatonin düzeyleri arasında korelasyon yoktu. Regresyon analizi sonucunda ise yaş (**B=0,826, %95 güven aralığı=0,227-1,426**), insülin kullanımı (**B=14,584, %95 güven aralığı=3,857-25,311**), glomerüler filtrasyon hızı (**B=0,248, %95 güven aralığı=0,018-0,478**) değişkenleri ile 6-sülfatoksimelatonin değerleri arasında anlamlı ilişki saptandı. İnsülin kullanan diyabetik katılımcılarda 6-sülfatoksimelatonin düzeyleri kullanmayanlara göre belirgin şekilde yüksekti (**p=0,018**).

Sonuç: Diyabetli hastalarda üriner 6-sülfatoksimelatonin düzeyleri daha düşükken nöropati varlığının 6-sülfatoksimelatonin düzeylerini etkilemediğini saptadık. İnsülin kullanan diyabetik hastalarda 6-sülfatoksimelatonin düzeyleri kontrol grubuyla benzer olup kullanmayan diyabetiklere göre anlamlı olarak daha yüksekti.

Anahtar Kelimeler: diyabetik nöropati, distal simetrik polinöropati, melatonin, antioksidan, oksidatif stres, 6-sülfatoksimelatonin

ABSTRACT

LEVELS OF URINE 6-SULFATOXYMELATONIN IN DIABETICS AND WITH DIABETIC PERIPHERAL NEUROPATHY

Introduction and Purpose: Oxidative stress plays an important role in the pathogenesis of diabetic peripheral neuropathy. Melatonin, the main hormone of the pineal gland, is a very powerful antioxidant molecule. It also has antiinflammatory properties. Therefore the role of melatonin levels in the pathogenesis of diabetes and its complications has been studied in many researches. We investigated how urinary 6-sulfatoxymelatonin levels, the main metabolite of melatonin, differed in type 2 diabetes patients with and without peripheral neuropathy compared to the healthy control group.

Material-Method: A total of 127 participants were included in the study in 3 groups: diabetic neuropathy (n=43), diabetes but no neuropathy (n=44) and control group (n=40). Neuropathy diagnosis was made using the Michigan Neuropathy Screening Instrument (questionnaire+physical examination). A score of 7 and above in the questionnaire section and a score of 2,5 and above in the physical examination section were used as criteria for the diagnosis of neuropathy. Melatonin levels were evaluated by measuring 6-sulfatoxymelatonin levels in 24-hour urine. 6-sulfatoxymelatonin measurement was studied by ELISA method using Biotek ELx800, USA device.

Findings: We found a significant difference in urinary 6-sulfatoxymelatonin levels according to the 3 groups (**p=0,023**). The distribution of 6-sulfatoxymelatonin values among all diabetic participants was significantly lower than the control group. (**p=0,006**). However, when diabetic participants were separated into with peripheral neuropathy and without neuropathy, no significant difference was found in the 6-sulfatoxymelatonin levels (**p=0,792**). 6-sulfatoxymelatonin levels were negatively

weak correlated with fasting plasma glucose ($r=-0,211$, $p=0,017$) and positively weak correlated with microalbuminuria ($r=0,209$, $p=0,023$). There was no correlation between 6-sulfatoxymelatonin levels and other variables. As a result of the multiple linear regression analysis, a significant relationship was found between age ($B=0,826$, %95 confidence interval= $0,227-1,426$), insulin use ($B=14,584$, %95 confidence interval= $3,857-25,311$), glomerular filtration rate ($B=0,248$, %95 confidence interval= $0,018-0,478$) variables and 6-sulfatoxymelatonin values. In diabetic patients, 6-sulfatoxymelatonin levels were significantly higher in insulin users than those who did not use ($p=0,018$).

Conclusion: We found that while urinary 6-sulfatoxymelatonin levels were lower in diabetic patients, the presence of neuropathy did not affect 6-sulfatoxymelatonin levels. 6-sulfatoxymelatonin levels in diabetic patients using insulin were similar to the control group and significantly higher than those who did not use it.

Keywords: diabetic neuropathy, distal symmetrical polyneuropathy, melatonin, antioxidant, oxidative stress, 6-sulfatoxymelatonin

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK SAYFASI	i
KABUL VE ONAY SAYFASI.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET	v
ABSTRACT.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
KISALTMALAR.....	xii
ŞEKİLLER.....	xvi
TABLolar.....	xvii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Diyabetes Mellitus	3
2.1.1 Diyabetes Mellitus Tanımı	3
2.1.2 Diyabetes Mellitus Tarihçesi	4
2.1.3 Diyabetes Mellitus Tanısı	5
2.1.4 Prediyabet	5
2.1.5 Diyabetes Mellitus Epidemiyolojisi	7
2.1.6 Diyabetes Mellitus Sınıflandırması	9
2.1.7 Tip 2 Diyabetes Mellitus.....	11
2.1.8 Tip 2 Diyabetes Mellitus Risk Faktörleri	12
2.1.9 Glisemik Hedefler	14
2.1.10 Glisemik Kontrolün Değerlendirilmesi	15
2.1.11 Diyabetes Mellitus Komplikasyonları	16
2.2 Diyabetik Nöropati	17
2.2.1 Diyabetik Nöropati Sınıflandırması	18
2.2.2 Diyabetik Nöropati Taraması	19
2.2.3 Diyabetik Nöropati Risk Faktörleri	20

2.2.4	Diyabetik Nöropati Morfolojisi	20
2.2.5	Diyabetik Nöropati Patogenezi	22
2.2.6	Diyabetik Nöropati Klinik Bulguları	24
2.2.7	Distal Simetrik Polinöropati	27
2.2.8	Diyabetik Nöropati Ayırıcı Tanısı	28
2.2.9	Diyabetik Nöropatiyi Önleme	30
	Glisemik Kontrol	30
	Yaşam Tarzı Değişiklikleri	31
2.2.10	Diyabetik Periferik Nöropatide Farmakolojik Tedaviler	32
	Diyabetik Periferik Nöropatide Ağrı Yönetimi	33
2.3	Diyabet, Nöropati ve Oksidatif Stres	35
2.3.1	İleri Glikasyon Son Ürünleri Birikimi	36
2.3.2	Sorbitol Birikimi	37
2.3.3	Glukozun Otoksidasyonu	38
2.3.4	Artmış Protein Kinaz C Aktivitesi	38
2.3.5	Artmış Heksozamin Yolu Aktivitesi	38
2.3.6	Artmış Poli (Adenozin Difosfat-Riboz) Polimeraz Aktivitesi	39
2.4	Melatonin	40
2.4.1	Pineal Bez	42
2.4.2	Melatonin Sentezi	44
2.4.3	Melatonin Sentezine Etki Eden Faktörler	48
	Işık Varlığı	48
	Işığın Dalgaboyu ve Parlaklık Şiddeti	48
	Yaşlanma	49
	Adrenerjik Uyarı	50
2.4.4	Melatonin Reseptörleri	50

2.4.5	Melatonin Metabolizması	51
	Melatonin ve 6-Sülfatoksimelatonin	52
2.4.6	Melatonin Fizyolojik Etkileri.....	53
	Melatonin ve Antioksidan Etkileri	53
2.5	Melatonin ve Diyabetes Mellitus	56
2.5.1	Melatoninin Pankreas ve Diyabet Üzerindeki Etkisi	57
	Melatonin Protektif Etkisi	57
	Melatonin ve İnsülin Duyarlılığı	58
	Melatonin ve İnsülin Sekresyonu	59
2.5.2	Diyabetin Melatonin Üzerindeki Etkisi	59
2.5.3	Melatoninin Diyabette Bir İlaç Olma Potansiyeli	60
3.	GEREÇ VE YÖNTEM	62
3.1	Araştırmaya Alma Ölçütleri	62
3.2	Araştırmaya Almama Ölçütleri	63
3.3	Veri Toplama ve Katılımcıların Değerlendirilmesi	63
3.3.1	Alınan İdrar Örneklerinde 6-Sülfatoksimelatonin Değerlendirmesi ...	64
	6-OH Melatonin Sülfat ELISA Kit Protokolü	65
3.3.2	Michigan Nöropati Tarama Aracı.....	66
	Michigan Nöropati Tarama Aracı Skoruması	67
3.3.3	İstatistiksel Analiz.....	69
4.	BULGULAR	71
4.1	Tanımlayıcılar	71
4.2	6-Sülfatoksimelatonin Değerlerinin ve Diğer Verilerin Analizi	75
5.	TARTIŞMA.....	82
6.	SONUÇ ve ÖNERİLER.....	89
7.	KAYNAKÇA.....	90

KISALTMALAR

6-SOM	: 6-sülfatoksimelatonin
AANAT	: Aralkilamin N-asetiltransferaz
AC	: Adenilat siklaz
ADA	: Amerikan Diyabet Birliği
ADP	: Adenozin difostat
AGE	: İleri glikasyon son ürünleri
ALT	: Alanin transaminaz
APG	: Açlık plazma glukoza
APPL1	: Adaptör protein, PH alanı ve lösin fermuar ile etkileşen fosfotirozin 1
APUD	: Amin prekürsör gerialım ve dekarboksilasyon
ATP	: Adenozin trifosfat
BAG	: Bozulmuş açlık glukoza
BARI 2D	: Tip 2 Diyabette Bypass Anjiyoplasti Revaskülarizasyon Araştırması
Bcl-2	: B-hücreli lenfoma 2
BGT	: Bozulmuş glukoz toleransı
BH ₄	: Tetrahidrobiopterin
Bkz.	: Bakınız
BLK	: B lenfosit kinaz
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
cAMP	: Siklik adenozin monofosfat
CEL	: Karboksil ester lipaz (safra tuzu bağımlı lipaz)
cGMP	: Siklik guanozin monofosfat
CN	: Charcot nöroartropatisi
CYP	: Sitokrom P450
DCCT	: Diyabet Kontrolü ve Komplikasyonları Çalışması
DIDMOAD	: Diyabetes insipidus, diyabetes mellitus, optik atrofi ve sağırılık
DM	: Diyabetes mellitus
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DON	: Diyabetik otonom nöropati
DPN	: Diyabetik periferik nöropati
DSPN	: Distal simetrik polinöropati

ECLIA	: Elektrokemilüminesans immünolojik test
ELISA	: Enzim bağılı immünosorbent test
ER	: Endoplazmik retikulum
ET-1	: Endotelin-1
ETZ	: Elektron transport zinciri
EURODIAB	: Diyabetin Epidemiyolojisi ve Önlenmesi Çalışması
FFA	: Serbest yağ asitleri
GA	: Güven aralığı
GC	: Guanilat siklaz
GFAT	: Glutamin fruktoz 6-fosfat aminotransferaz
GFR	: Glomerüler filtrasyon hızı
GLUT4	: Glukoz taşıyıcı tip 4
GSH	: Glutasyon
GSSG	: Glutasyon disülfid
HbA1c	: Glikozile hemoglobin
HDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein
HIOMT	: Hidroksiindol O-metiltransferaz
HIV	: İnsan immün yetmezlik virüsü
HLA	: İnsan lökosit antijen (DR3/4)
HNF	: Hepatosit nükleer faktör (4 α , 1 α , 1 β)
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
HRP	: Horseradish peroksidaz
HTP	: Hidroksitriptofan
IBM	: Uluslararası İş Makineleri
IENFD	: İntraepidermal sinir lifi yoğunluğu
IL	: İnterlökin (1 β , 6, 10)
INS	: İnsülin
IPF1	: İnsülin promotör faktör 1
KCJN11	: İçeri doğrultucu potasyum kanal alt ailesi J üyesi 11
KGİ	: Kombine glukoz intoleransı
KLF11	: Krueppel benzeri faktör 11
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
MDA	: Malondialdehid
MDRD	: Böbrek Hastalığında Diyet Modifikasyonu Çalışması

MNSI	: Michigan nöropati tarama aracı
MODY	: Gençlerde görülen erişkin tipi diyabet (1-14)
mRNA	: Mesajcı ribonükleik asit
mTOR	: Rapamisin memeli hedefi
NA	: Noradrenalin
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotit
NADH	: Redükte nikotinamid adenin dinükleotit
NADP	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NADPH	: Redükte nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NAT	: N-asetiltransferaz
NeuroD1	: Nörojenik diferansiyasyon 1
NF-κB	: Nükleer faktör-κB
NGSP	: Ulusal Glikohemoglobin Sertifika Programı
Nrf2	: Nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2
OAD	: Oral antidiyabetik
OGTT	: Oral glukoz tolerans testi
OUAS	: Obstrüktif uyku apne sendromu
PARP	: Poli (adenozin difostat-riboz) polimeraz
PAX4	: Eşleştirilmiş kutu geni 4
PDR	: Proliferatif diyabetik retinopati
PG	: Plazma glukozu
PI3-K	: Fosfoinositid-3 kinaz
PINK1	: Fozfataz ve tensin homolog (PTEN) ile indüklenen kinaz 1
PKC	: Protein kinaz C
PTEN	: Fozfataz ve tensin homolog
PVN	: Paraventriküler çekirdek
QR2	: Kinon redüktaz 2
RAGE	: İleri glikasyon son ürünleri reseptörü
RNS	: Reaktif nitrojen türleri
ROR	: Retinoid yetim (orphan) reseptör
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RZR	: Retinoid Z reseptör
SAH	: S-adenozilhomosistein
SAM	: S-adenozilmetionin

SCG	: Süperior servikal gangliyon
SCN	: Suprakiazmatik çekirdek
SPSS	: Sosyal Bilimler İçin İstatistik Paketi
SS	: Standart sapma
STZ	: Streptozosin
T.kol	: Total kolesterol
TGF	: Dönüştürücü büyüme faktörü (α , β)
TNF- α	: Tümör nekrozis faktör- α
TSH	: Tiroid stimülan hormon
TURDEP	: Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması
UDP-GlcNac	: Üridin difosfat N-asetilglukozamin
VKİ	: Vücut kitle indeksi
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
YTD	: Yaşam tarzı değişiklikleri

ŞEKİLLER

Şekil 2.1: TURDEP-II'de yaş gruplarına göre bilinen ve yeni diyabet sıklıkları	8
Şekil 2.2: TURDEP-I'den TURDEP-II'ye geçen dönemde diyabet ve BGT oranlarındaki değişim	8
Şekil 2.3: DPN'li bir hastanın peroneal sinir biyopsisi elektron mikrografı	21
Şekil 2.4: Soğan görünümü (onion-bulb formation)	22
Şekil 2.5: Diyabetik nöropati oluşumunda metabolik mekanizmalar	23
Şekil 2.6: DSPN nedeniyle ağırlı hastanın tedavi algoritması	34
Şekil 2.7: AGE oluşumunu gösteren ok diyagramı	36
Şekil 2.8: Polyol yolunun diyabetik komplikasyonlardaki rolü	37
Şekil 2.9: Melatoninin kimyasal yapısı (N-asetil 5-metoksitriptamin)	40
Şekil 2.10: Pineal bezin beyindeki lokasyonu	43
Şekil 2.11: Pinealositlerin ışık mikroskopunda görüntüsü	43
Şekil 2.12: Plazma melatonin konsantrasyonunun bir günlük seyri	44
Şekil 2.13: Pineal bezde ışık etkisiyle triptofandan melatonin sentezi	45
Şekil 2.14: Melatonin sentez basamakları	47
Şekil 2.15: Plazma melatonin konsantrasyonunun yaşa göre değişimi	49
Şekil 2.16: Melatoninin hücreleri oksidatif hasardan koruyan etkileri	56
Şekil 3.1: MNSI birinci bölüm (A. Öykü)	68
Şekil 3.2: MNSI ikinci bölüm (B. Fizik değerlendirme)	69
Şekil 4.1: Katılımcıların gruplara göre 6-SOM ($\mu\text{g/gün}$) değerlerinin dağılımı	76
Şekil 4.2: Katılımcıların kontrol ile tüm diyabetikler gruplarına göre 6-SOM ($\mu\text{g/gün}$) değerlerinin dağılımı	77
Şekil 4.3: Diyabetik katılımcıların kullandığı antidiyabetik ilaç grubuna göre 6-SOM ($\mu\text{g/gün}$) değerlerinin dağılımı	79

TABLÖLAR

Tablo 2.1: DM ve prediyabet durumlarının tanı kriterleri	6
Tablo 2.2: TURDEP-I ve TURDEP-II çalışmalarında katılımcılarda bakılan patolojilerin prevalans yüzdeleri	9
Tablo 2.3: DM'nin etiyolojik sınıflandırması	10
Tablo 2.4: Glisemik kontrol hedefleri.....	15
Tablo 2.5: DSPN'de etkilenen sinir liflerinin fizyolojik fonksiyonu, tutulumunda görülen semptomlar ve klinik muayenesi.....	25
Tablo 2.6: Melatonin bazı oluşumlar üzerine etkisi ve etki mekanizması	41
Tablo 4.1: Katılımcıların gruplara göre dağılımı	71
Tablo 4.2: Katılımcıların cinsiyetlerine göre dağılımı	71
Tablo 4.3: Katılımcıların yaş, VKİ ve laboratuvar değerlerinin dağılımı.....	72
Tablo 4.4: Katılımcıların yaş, VKİ, MNSI puanları ve laboratuvar değerlerinin gruplara göre dağılımı	74
Tablo 4.5: Katılımcıların 6-SOM ($\mu\text{g/gün}$) değerlerinin gruplara göre dağılımı	75
Tablo 4.6: Katılımcıların 6-SOM ($\mu\text{g/gün}$) değerlerinin kontrol ile tüm diyabetikler gruplarına göre dağılımı	76
Tablo 4.7: Diyabetik katılımcıların nöropati ve kullanılan antidiyabetik ilaç değişkenlerine göre dağılımı	78
Tablo 4.8: Diyabetik katılımcıların 6-SOM ($\mu\text{g/gün}$) değerlerinin kullandıkları antidiyabetik ilaç gruplarına göre dağılımı	78
Tablo 4.9: Katılımcıların 6-SOM ($\mu\text{g/gün}$) değerlerinin çalışmada bakılan diğer değişkenlerle korelasyon analizi	80
Tablo 4.10: Katılımcıların 6-SOM ($\mu\text{g/gün}$) değerlerini etkileyen faktörlerin multiple linear (çoklu doğrusal) regresyon analizi ile değerlendirilmesi	81

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diyabetes mellitus (DM), tüm dünyada ve ülkemizde sıklığı giderek artan, kronik, multisistemik, sinsi seyirli bir metabolizma hastalığıdır. İnsülin sekresyonunun ve/veya insülinin dokular üzerindeki etkisinin mutlak veya göreceli olarak azalması sonucu gelişen hiperglisemi, patogenezinin temelini oluşturur (1). En sık görülen alt tipi tüm diyabetlerin %90-95'ini oluşturan tip 2 DM'dir (2).

Tip 2 diyabetin mikrovasküler komplikasyonlarından biri olan diyabetik periferik nöropati (DPN), diğer bir adıyla distal simetrik polinöropati (DSPN), diyabetiklerde oldukça sık görülür. Oldukça heterojen bir kliniği olup alt ekstremitelerde nöropatik ağrı yapabileceği gibi çeşitli duyu kayıpları oluşturarak hafif semptomlardan, iskemi ve enfeksiyonla birlikte ayak amputasyonuna kadar gidebilen ciddi sorunlara sebep olabilir. Tıpkı diyabet gibi sinsi seyirli olan nöropati uzun süreler asemptomatik de kalabilir (3). Diğer birçok kronik hastalıkta olduğu gibi tip 2 diyabet ve DPN'nin de patogenezinde ve progresyonunda oksidatif stres ve inflamatuvar süreç önemli bir yer tutmaktadır (4). Günümüzde DPN'nin küratif tedavisinin eksikliği devam etmektedir. Endojen antioksidanların diyabetik süreçte neler yapabildikleri ya da diyabetik süreçten nasıl etkilendikleri araştırılması gereken önemli bir konudur.

N-asetil 5-metoksitriptamin olarak da bilinen, pineal bezden salgılanan ve karanlıkta salgısı artan melatonin, en güçlü endojen antioksidan ve antiinflamatuardan biri olmakla birlikte, hücre yenilenmesi, bağışıklık sisteminin güçlenmesi, biyoritmin düzenlenmesi ve termoregülasyon gibi çok sayıda önemli görevleri yerine getirmektedir (5). Melatonin, temel antioksidan özelliklerini direkt etkiyle, antioksidan enzimlerin indüksiyonuyla ve prooksidan enzimlerin inhibisyonu ile gösterir (6). Esansiyel bir aminoasit olan triptofan, pineal bez tarafından aktif transportla alınır ve birbirini izleyen 4 enzimatik reaksiyona katılarak melatonine dönüşür (7). Yarı ömrü 30-50 dakika olan melatoninin metabolizması temel olarak karaciğerde hidroksilasyon ve konjugasyona

uğrayarak gerçekleşir (8). Temel idrar metaboliti 6-sülfatoksimelatonin (6-SOM)'dir ve plazma melatonin düzeyleriyle korele seyir gösterir (9).

Melatoninin, diyabet ve komplikasyonları ile olan ilişkisi birçok araştırmaya konu olmuştur. Ancak insanlardaki melatonin ile DSPN ilişkisi hakkında halen çok az şey bilinmektedir. Biz bu çalışmada 6-SOM düzeylerini 24 saatlik idrar örneklerinde araştırdık. Melatonin sekresyonunun periferik nöropatili ve nöropatisiz tip 2 diyabet hastalarında, sağlıklı bireylere göre etkilenip etkilenmediğini ve diyabetik nöropatide melatonin düzeylerine etki edebilecek faktör(ler) olup olmadığını göstermeye çalıştık.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Diyabetes Mellitus

2.1.1 Diyabetes Mellitus Tanımı

DM, insülin sekresyonunun ve/veya insülinin dokular üzerindeki etkisinin mutlak veya göreceli olarak azalması sonucu meydana gelen, karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında bozukluklara yol açan, sürekli medikal bakım gerektiren kronik, geniş spektrumlu bir metabolizma hastalığıdır ve dünyadaki en yaygın metabolik hastalıklardan biridir (1).

DM'nin başlıca klasik semptomları arasında poliüri, polidipsi, polifaji veya iştahsızlık, halsizlik, çabuk yorulma, ağız kuruluğu ve noktüri bulunur. Daha nadir olarak bulanık görme, kaşıntı, tekrarlayan inatçı enfeksiyonlar ve açıklanamayan kilo kaybı görülür (10).

Klinik olarak karakteristik belirtileriyle ya da ketoasidoz, hiperosmolar hiperglisemik durum gibi akut komplikasyonlarla karşımıza çıkabilir. Diyabetin beraberinde getirdiği kronik hiperglisemi, vücutta birçok sistemde ve organda; özellikle sinir sistemi, göz, böbrek, kalp ve kan damarlarında hasar, disfonksiyon ve yetersizlikle ilişkilidir (11).

Başlıca kronik diyabet komplikasyonları arasında potansiyel görme kaybı ile sonuçlanabilen retinopati, son dönem böbrek yetmezliğine kadar gidebilen nefropati, diyabetik ayak ülserleri, amputasyon ve charcot nöroartropatisi (CN) ile sonuçlanabilen periferik nöropati, gastrointestinal, genitoüriner ve kardiyovasküler semptomlara ve seksüel disfonksiyona neden olabilen otonomik nöropati vardır. Gelişmiş toplumlarda körlük, son dönem böbrek yetmezliği ve nontravmatik alt ekstremitte amputasyonların en önemli nedeni diyabettir. Diyabetli hastalarda aterosklerotik kalp hastalığı, periferik arter hastalığı ve serebrovasküler hastalık insidansı da artmıştır. Hipertansiyon ve lipoprotein metabolizması anormallikleri de sıklıkla bulunur (12).

2.1.2 Diyabetes Mellitus Tarihçesi

Diyabetin kökenine ait bilinen en eski kayıtlar milattan önce 1500'lü yıllara ait olduğu saptanan Mısır papirüsleridir ve diyabet, çok fazla idrar boşaltılması ile karakterize edilen bir hastalık olarak tanımlanmıştır. Miladi ikinci yüzyılda Kapadokyalı Aretaeus bu hastalığa “diabetes” ismini vermiştir (13). Antik Hint hekimi Sushruta ve cerrah Charaka beşinci yüzyılda bu hastalığın daha sonra tip 1 ve tip 2 diyabet olarak adlandırılacak iki türünü tanımlamıştır.

1789 yılında İngiliz hekim, Thomas Willis, hastaların idrarını tatmış ve hastalığa ballı anlamına gelen “mellitus” adını eklemiştir. Hastalığın patogenezi hakkındaki ilk bilgiler 18. yüzyılda edinilmiştir. Karaciğerin kana glukoz saldığı tespit edildikten sonra hastalığın mezkezindeki organ karaciğer olarak düşünülse de 1889'da Oscar Minkowski'nin pankreatektomi uyguladığı bir köpekte diyabet geliştiğini saptaması üzerine hastalığın etyolojisinde gözler pankreasa çevrilmiştir. 1869'da 22 yaşında olan ve tıp doktorası üzerinde çalışan Paul Langerhans, pankreasta "Langerhans adacıkları" olarak bilinen hücreleri ilk kez tanımlamıştır. Ancak insülinin keşfi bundan yaklaşık 30 yıl sonra, 1921'de olmuştur. 1960'lı yıllara geldiğimizde ise radyoimmün testlerle insülin ölçüm metodlarının geliştirilmesi sayesinde patogenezi hakkında hızlı bir bilgi birikimi sağlanmıştır (14,15).

Bugün bile diyabet hakkındaki veriler yeterli olmayıp çok sayıda çalışma yürütülmekte, diyabete yaklaşımımız güncellenmekte ve mevcut bilgilere yenileri eklenmektedir.

2.1.3 Diyabetes Mellitus Tanısı

Amerikan Diyabet Birliği (ADA) güncel kılavuzunda diyabet tanısı koymak için gereken kriterler aşağıdaki gibi özetlenmiştir (2):

Açlık plazma glukozu (APG) ≥ 126 mg/dl* (Açlık en az 8 saat süreyle kalori alınmaması olarak tanımlanır.)

ya da

Oral glukoz tolerans testi (OGTT) sırasında 2. saat plazma glukozu (PG) ≥ 200 mg/dl* [Test Dünya Sağlık rgt (WHO)'nn önerdiği şekliyle, suda çözündürülmüş 75 gram glukoz ile yapılmalıdır.]

ya da

Glikozile hemoglobin (HbA1c) $\geq 6,5$ * [Test, Ulusal Glikohemoglobin Sertifika Programı (NGSP) sertifikalı ve Diyabet Kontrolü ve Komplikasyonları alışması (DCCT) testine standartlaştırılmış yöntem kullanılan bir laboratuarda yapılmalıdır.]

ya da

Klasik hiperglisemi veya hiperglisemik kriz semptomları olan bir hastada, rastgele bakılan bir PG ≥ 200 mg/dl.

*: Aşıkâr hipergliseminin yokluğunda tanı koymak, aynı örnekten veya iki ayrı test örneğinden iki anormal test sonucu gerektirir.

2.1.4 Prediyabet

Prediyabet, plazma glukoz seviyeleri gerekli diyabet kriterlerini karşılamaya yetmeyen ancak normal kabul edilemeyecek kadar da yüksek olan bireyler için kullanılan bir terimdir (16,17).

Prediyabetli hastalar, bozulmuş açlık glukozu (BAG) ve/veya bozulmuş glukoz toleransı (BGT) ve/veya HbA1c ölçümü %5,7–6,4 aralığında olan hastalar olarak tanımlanır (18).

BAG ve BGT'nin her ikisi de diyabet ve kardiyovasküler hastalık için önemli risk faktörleridir.

Prediyabet kriterleri aşağıdaki gibidir (2):

APG: 100 mg/dl ile 125 mg/dl arasında (BAG) olması

veya

75 gr. OGTT 2. saat PG: 140 mg/dl ile 199 mg/dl arasında (BGT) olması

veya

HbA1c %5,7 ile %6,4 arasında olmasıdır.

DM ve glukoz metabolizmasının diğerk bozukluklarında tanı kriterleri Tablo 2.1’de özetlenmiştir.

Tablo 2.1: DM ve prediyabet durumlarının tanı kriterleri* (19)

	Aşıkâr DM	İzole BAG	İzole BGT	BAG+BGT (KGİ)	DM Riski Yüksek
APG (≥8 st açlıkta)	≥126 mg/dl	100-125 mg/dl	<100 mg/dl	100-125 mg/dl	-
OGTT 2. saat PG (75 g glukoz)	≥200 mg/dl	<140 mg/dl	140-199 mg/dl	140-199 mg/dl	-
Rastgele PG	≥200 mg/dl + DM semptomları	-	-	-	-
HbA1c**	≥%6.5	-	-	-	%5.7-6.4

*: Glisemi venöz plazmada glukoz oksidaz yöntemi ile ‘mg/dl’ olarak ölçölür. Aşıkâr DM tanısı için dört tanı kriterinden herhangi birisi yeterli iken izole BAG, izole BGT ve BAG + BGT için her iki kriterin bulunması şarttır.

** : Standardize metotlarla ölçölmelidir.

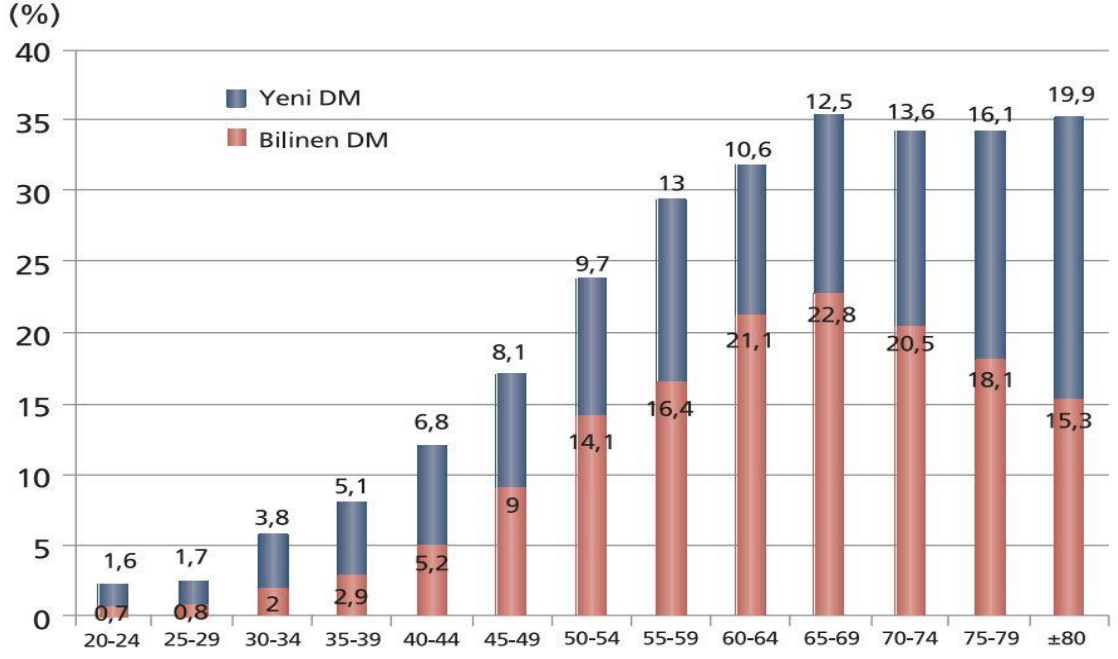
DM: Diyabetes mellitus, APG: Açlık plazma glukozu, 2.st PG: 2. saat plazma glukozu, OGTT: Oral glukoz tolerans testi, HbA1c: Glukozillenmiş hemoglobin A1c, BAG: Bozulmuş açlık glukozu, BGT: Bozulmuş glukoz toleransı, KGİ: Kombine glukoz intoleransı.

2.1.5 Diyabetes Mellitus Epidemiyolojisi

Son yıllarda tüm dünyada ve ülkemizde DM prevalansı dramatik şekilde artmıştır (20). Diyabet, çoğu ülkede ölüme neden olan ilk beş hastalık içinde yer almaktadır. WHO'nun verilerine göre diyabetli hasta sayısı 1980 yılında 108 milyonken günümüzde bu sayı 422 milyona kadar çıkmıştır ve her yıl 1.6 milyon ölüm doğrudan diyabet ile ilişkilendirilmiştir (21). Uluslararası Diyabet Federasyonu, dünyadaki diyabetli hasta sayısının 2045 yılında %48'lik bir artışla 629 milyona ulaşacağını öngörmektedir (22). Bu sayılara ve öngörülere bakıldığında diyabet ve komplikasyonları önemli bir global sağlık tehdidi oluşturmaktadır.

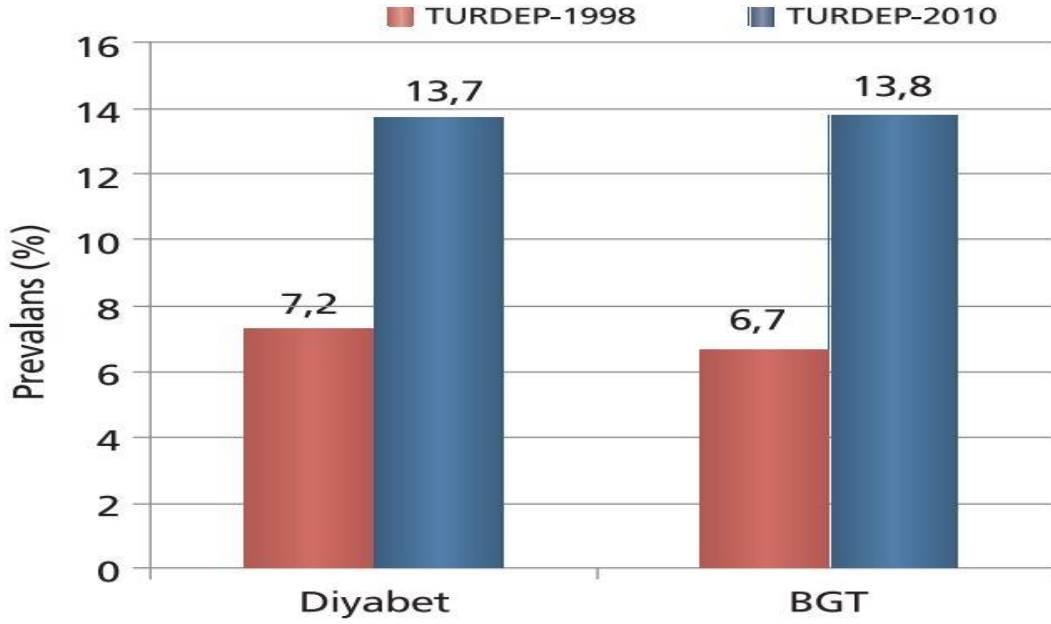
Ülkemizde de diyabet prevalansı hızla artış göstermektedir. Türkiye'de diyabet prevalansının incelendiği en kapsamlı çalışma 24.788 kişinin katılımıyla yapılan Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması (TURDEP)'dir. 1997-1998 yıllarında yapılan TURDEP-I çalışmasında ülkemizde erişkin toplumdaki diyabet sıklığı %7,2 ve BGT prevalansı ise %6,7 olarak tespit edilmiştir ve yaşla birlikte giderek arttığı görülmüştür (23).

2010 yılında yapılan, 26.499 katılımcıyla gerçekleştirilen TURDEP-II'ye göre Türk erişkin toplumunda diyabet sıklığının %13,7'ye yükseldiği görülmüştür. İzole BAG, izole BGT ve ikisinin birlikteliği olarak tanımlanan KGI sırasıyla %14,7, %7,9 ve %8 olarak rapor edilmiştir. TURDEP-II' de bilinen ve yeni tanı konan DM hastalarının yaş gruplarına göre sıklığı Şekil 2.1'de, TURDEP-I'den TURDEP-II'ye geçen dönemde diyabet ve BGT oranlarındaki değişim Şekil 2.2'de, iki çalışmada elde edilen prevalans verilerinin özeti de Tablo 2.2'de verilmiştir. Bu veriler eşliğinde TURDEP çalışmaları, tip 2 diyabetin ülkemizde hızla büyüyen bir halk sağlığı sorunu olduğunu göstermiştir (24).



Şekil 2.1: TURDEP-II’de yaş gruplarına göre bilinen ve yeni diyabet sıklıkları (25)

DM: Diabetes mellitus



Şekil 2.2: TURDEP-I’den TURDEP-II’ye geçen dönemde diyabet ve BGT oranlarındaki değişim (25)

TURDEP: Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması, BGT: Bozulmuş glukoz toleransı

Tablo 2.2: TURDEP-I ve TURDEP-II çalışmalarında katılımcılarda bakılan patolojilerin prevalans yüzdeleri (23)

	TURDEP-I	TURDEP-II
Diyabetes mellitus	%7.2	%13.7
Bozulmuş glukoz toleransı	%6.7	%13.9
Obezite	%22	%32
Hipertansiyon	%25	%30
Sigara kullanım oranı	%30	%17.3

TURDEP: Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans alışması

2.1.6 Diyabetes Mellitus Sınıflandırması

Diyabet aşağıdaki gibi 4 temel kategoriye ayırmıştır (Tablo 2.3):

1.Tip 1 DM: Genellikle mutlak insülin eksikliğine yol açan otoimmün zeminde pankreas β hücre yıkımı sonucunda gelişen diyabettir.

2.Tip 2 DM: Genellikle insülin direncinin temelinde, yeterli insülin sekresyonunun da progresif kaybı nedeniyle gelişen diyabettir.

3.Gestasyonel DM: Gebeliğin ikinci veya üçüncü trimesterinde tespit edilen ve gebelikten önce aşikâr bir diyabeti bulunmayan diyabettir.

4.Diğer nedenlere bağlı diyabet türleri: Örnek olarak, monogenik diyabet sendromları [yenidoğan diyabeti ve gençlerde görülen erişkin tipi diyabet formları (maturity onset diabetes of the young, MODY) gibi], ekzokrin pankreas hastalıkları (kistik fibrozis ve pankreatit gibi) ve ilaç veya kimyasal ajanlarla indüklenen diyabet [glukokortikoid kullanımı, insan immün yetmezlik virüsü (HIV) tedavisinde veya organ naklinden sonra rejeksiyonun önlenmesi için kullanılan ilaçlar gibi] verilebilir (26).

Tablo 2.3: DM'nin etiyolojik sınıflandırması (26)

I. Tip 1 diyabet

II. Tip 2 diyabet

III. Gestasyonel diyabet

IV. Diğer spesifik diyabet tipleri

A. beta-hücre fonksiyonlarının genetik defekti

- 20. Kromozom, HNF-4 α (MODY1)
- 7. Kromozom, Glukokinaz (MODY2)
- 12. Kromozom, HNF-1 α (MODY3)
- 13. Kromozom, IPF1 (MODY4)
- 17. Kromozom, HNF-1 β (MODY5)
- 2. Kromozom, NeuroD1 (MODY6)
- 2. Kromozom, KLF11 (MODY7)
- 9. Kromozom, CEL (MODY8)
- 7. Kromozom, PAX4 (MODY9)
- 11. Kromozom, INS (MODY10)
- 8. Kromozom, BLK (MODY11)
- Mitokondriyal DNA
- 11. Kromozom, Neonatal DM
- 11. Kromozom, KCJN11 (MODY13)
- 3. Kromozom, APPL1 (MODY14)
- Diğerleri

B. İnsülinin etkisindeki genetik defektler

- Leprechaunizm
- Lipoatrofik diyabet
- Rabson-Mendenhall sendromu
- Tip A insülin direnci
- Diğerleri

C. Pankreasın ekzokrin doku hastalıkları

- Fibrokalkülöz pankreatopati
- Hemokromatoz
- Kistik fibroz
- Neoplazi
- Pankreatit
- Travma/pankreatektomi
- Diğerleri

D. Endokrinopatiler

- Akromegali
- Aldosteronoma
- Cushing sendromu
- Feokromositoma
- Glukagonoma
- Hipertiroidi
- Somatostatinoma
- Diğerleri

E. İlaç veya kimyasal ajanlar

- Atipik anti-psikotikler
- Anti-viral ilaçlar
- β -adrenerjik agonistler
- Diazoksid
- Fenitoin
- Glukokortikoidler
- α -İnterferon
- Nikotinik asit
- Pentamidin
- Proteaz inhibitörleri
- Tiyazid grubu diüretikler
- Tiroid hormonu
- Vacor
- Statinler
- Transplant rejeksiyonunu önlemek için kullanılan ilaçlar

F. İmmün aracılıklı nadir diyabet formları

- Anti insülin-reseptör antikorları
- Stiff-man sendromu
- Diğerleri

G. Diyabetle ilişkili genetik sendromlar

- Alström sendromu
- Down sendromu
- Friedreich tipi ataksi
- Huntington korea
- Klinefelter sendromu
- Laurence-Moon-Biedl sendromu
- Miyotonik distrofi
- Porfiriya
- Prader-Willi sendromu
- Turner sendromu
- Wolfram (DIDMOAD) sendromu
- Diğerleri

H. Enfeksiyonlar

- Konjenital rubella
- Sitomegalovirus
- Koksaki B
- Diğerleri (adenovirus, kabakulak)

HNF (4 α , 1 α , 1 β): Hepatosit nükleer faktör (4 α , 1 α , 1 β), MODY (1-14): Gençlerde görülen erişkin tipi diyabet formları (1-14) (maturity onset diabetes of the young), IPF1: İnsülin promotör faktör 1, , NeuroD1: Nörojenik diferansiyasyon 1, KLF11: Krueppel benzeri faktör 11, CEL: karboksil ester lipaz (safra tuzu bağımlı lipaz), PAX4: Eşleştirilmiş kutu geni 4, INS: İnsülin, BLK: B lenfosit kinaz, DNA: Deoksiribonükleik asit, DM: Diyabetes mellitus, KCJN11: İçeri doğrultucu potasyum kanal alt ailesi J üyesi 11, APPL1: Adaptör protein, PH alanı ve lösin fermuar ile etkileşen fosfotirozin 1, DIDMOAD sendromu: Diyabetes insipidus, diyabetes mellitus, optik atrofi ve sağırlık (deafness) ile seyreden sendrom (Wolfram sendromu)

2.1.7 Tip 2 Diyabetes Mellitus

Daha önceleri “insüline bağımlı olmayan diyabet” veya “yetişkin başlangıçlı diyabet” olarak adlandırılan tip 2 DM, tüm diyabetlerin %90-95'ini oluşturmaktadır. Diyabetin bu formu, periferik insülin direncine ve kısmi insülin eksikliğine sahip bireyleri kapsar (2).

İnsülin salınımı ve etkisi, metabolik talebi tam olarak karşılamalıdır. Bu nedenle, insülinin sentez ve salınmasındaki moleküler mekanizmalar ve dokuların insüline tepkisi sıkı bir şekilde düzenlenmelidir. Bu mekanizmalardan herhangi birindeki kusurlar, tip 2 DM'nin patogeneze yol açan metabolik bir dengesizliğe yol açabilir (27).

Tip 2 diyabetin çeşitli nedenleri bulunmaktadır. Spesifik etiyolojileri bilinmemekle birlikte, diyabetin bu formunda pankreas β hücrelerinin otoimmün yıkımı meydana gelmez ve hastalarda bilinen diğer diyabet nedenlerinden hiçbiri yoktur. Tip 2 diyabetli hastaların tamamı değilse de çoğunda aşırı kilo veya obezite vardır. Fazla kilonun kendisi de bir dereceye kadar insülin direncine neden olur (2).

Hastalarda insülin direnci geliştiğinde, postreseptör düzeyde hücre defekti sonucunda pankreastan salınan insülinin kullanımında ortaya çıkan sorunlar nedeniyle glukoz hücre içine alınıp enerjiye dönüştürülemez, bunun sonucunda hücre içi glukoz düşüklüğü oluşur (28).

Çoğu dokuda insülin direnci gelişmesi sonucunda, hücre içindeki glukoz düşüklüğü nedeni insüline talep artışı olur. Bu durum hiperglisemi gelişiminden önce meydana gelir. Bu sebeple diyabete progresyon sırasında, pankreatik β hücrelerinin insülin hipersekresyonu ile insülin direncini telafi ettiği normoglisemik bir dönem vardır. β hücrelerindeki bu kompensasyon, bireyleri belli bir süre korusa da bu dönemi β hücre yetmezliği izler. En son süreç olarak insülin direncine ek olarak pankreastan gerektiği kadar insülin salınamaz ve DM oluşur (29).

Tip 2 diyabet bu şekilde gelişir ve sıklıkla yıllar boyu teşhis edilemez. Çünkü hiperglisemi yavaş yavaş gelişir ve erken dönemde hastanın klasik

diyabet semptomlarını fark etmesi için yeterince şiddetli değildir. Bunun yanında, tanı konulmamış hastalar için bile komplikasyon gelişme riski mevcuttur (2).

Tip 2 DM'deki metabolik disfonksiyona kronik inflamasyonun da eşlik ettiği iyi bilinmektedir. Tümör nekroz faktör- α (TNF- α) ve interlökin (IL)-6 gibi diyabetojenik proinflamatuvar sitokinlerle birlikte adipositlerden leptin ve resistin gibi adipokinlerin sekresyonundaki artış, ayrıca adiponektin sekresyonundaki azalma tip 2 DM'nin temel özelliğidir. İnflamatuvar araçılar ve insülin direnci arasındaki etkileşim, diyabet yönetimi için bir anahtardır (30).

Tip 1 diyabetin aksine, tip 2 diyabetli hastalar normal veya yüksek insülin seviyelerine sahip olabilir. Bu hastalarda gelişen hipergliseminin, β hücre fonksiyonları normal olsaydı, daha yüksek insülin değerlerine yol açması beklenirdi. Ancak bu hastalarda sentezlenebilen insülin miktarı kısıtlıdır ve insülin direncini telafi etmek için yeterli değildir. İnsülin direnci, kilo kaybı ve/veya hipergliseminin farmakolojik tedavisi ile düzelebilir, ancak nadiren tamamen normale döner (2).

Kardiyovasküler hastalık açısından DM bağımsız bir risk faktörüdür. Yapılan birçok çalışmada diyabetin, makrovasküler bir komplikasyonu olarak, koroner kalp hastalığı riskinde artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Diyabetli hastalarda meydana gelen ateroskleroz daha erken yaşlarda ve multisegment tutulum şeklinde görülür. İnsülin direncinin; hipertansiyon ve hiperlipidemi gibi kalp damar hastalıkları için risk faktörü olduğu düşünülürse, hiperglisemi ve sistemik insülin direncinin ateroskleroz patogenezinde olan rolünü ayırmak güçtür (31).

2.1.8 Tip 2 Diyabetes Mellitus Risk Faktörleri

Diyabet konusundaki tüm gelişmelere rağmen patogenezi kısmen anlaşılmıştır. Oldukça heterojendir ve hem insülin salınımı ve tepkisini etkileyen genetik faktörler hem de obezite gibi çevresel faktörler önemlidir. Tip 2 diyabet gelişme riski yaş, obezite ve sedanter yaşam ile artar. Daha önce gestasyonel DM öyküsü olan kadınlarda, hipertansiyon veya dislipidemili hastalarda ve bazı ırksal/etnik alt gruplarda (Afro-Amerikan, Amerikan Kızılderili, İspanyol/Latin ve

Asya Amerikalı) daha sık görülür. Tip 1 diyabete göre genetik yatkınlık ve birinci derece akrabada aile öyküsü ile çok daha yakından ilişkilidir (2,32).

Ülkemizde diyabet gelişme riski yüksek kabul edilen ve düzenli taranması önerilen bireyler aşağıda özetlenmiştir.

1. Ülkemizde yaşla birlikte diyabet sıklığı arttığı için kilosu ne olursa olsun, 40 yaşından itibaren 3 yılda bir, tercihen APG ile diyabet taraması yapılmalıdır.

2. Vücut kitle indeksi (VKİ) ≥ 25 kg/m² olan asemptomatik kişilerin, aşağıdaki risk gruplarından birine mensup olmaları halinde, daha genç yaşlardan itibaren ve daha sık (örneğin yılda bir kez) diyabet yönünden araştırılmaları gerekir.

- Birinci ve ikinci derece yakınlarında diyabet olan kişiler
- Diyabet prevalansı yüksek etnik kökene mensup kişiler
- Hipertansif bireyler (Kan basıncı $\geq 140/90$ mmHg)
- Makrozomik (doğum tartısı 4000-5000 gr üzerinde olan) bebek doğuran veya daha önce gestasyonel DM tanısı almış olan kadınlar
- Koroner, periferik veya serebral vasküler hastalığı bulunanlar
- Dislipidemikler [yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) < 35 mg/dl veya trigliserid ≥ 250 mg/dl]
- İnsülin direnci ile ilgili klinik hastalığı veya bulguları (akantozis nigrikans) bulunan kişiler
- Polikistik over sendromu olan kadınlar
- Sedanter yaşam süren veya fizik aktivitesi düşük olan kişiler
- Doymuş yağlardan zengin ve posa miktarı düşük beslenme alışkanlıkları olanlar
- Şizofreni hastaları ve atipik antipsikotik ilaç kullanan kişiler
- Solid organ (özellikle renal) transplantasyonu yapılmış hastalar
- Uzun süreli kortikosteroid ya da antiretroviral ilaç kullanan hastalar

3. Daha önce prediyabet (BAG, BGT veya KGİ) saptanan bireyler yılda bir kez diyabet açısından taranmalıdır.

4. Daha önce GDM tanısı almış kadınlar üç yılda bir diyabet için değerlendirilmelidir (24).

2.1.9 Glisemik Hedefler

DM, pek çok farklı patolojinin majör risk faktörüdür. HbA1c seviyesi, diyabetle ilişkili morbidite ve mortalitenin anahtar bir prediktörüdür. Serum HbA1c'deki %1'lik azalma, miyokardiyal enfarktüs riskinde %14 ve diyabete bağlı ölüm riskinde %20'den fazla azalma ile sonuçlanır (33). Bu yüzden de diyabetin progresyonundan ve gelişebilecek akut veya kronik komplikasyonlarından korunmak adına her bir hastanın plazma glukoz ve HbA1c değeri için belli bir aralık belirlenmeli ve bu aralığın altındaki ya da üstündeki değerlerden kaçınılmalıdır.

Her ne kadar kılavuzlar tarafından bu konuda belli bir eşik değer belirlenmiş olsa da (Tablo 2.4) diyabette glisemik hedefler bireyselleştirilmelidir. Her bir tip 2 diyabet hastasının tedavisi hastanın komorbid hastalıkları, fonksiyonel durumu, diyabetin şiddeti ve süresi, komplikasyonların varlığı, hastanın sosyokültürel seviyesi gibi parametreler göz önünde bulundurularak kişiye özgü şekilde düzenlenmelidir. Bunu yaparken glisemik kontrolün potansiyel faydası ile hipoglisemi ve kilo alımı riskleri arasındaki denge sağlanmalıdır.

Tablo 2.4: Glisemik kontrol hedefleri (34)

	Hedef(*)	Gebelikte
HbA1c	$\leq 7\%$	$6-6.5\%$
APG	80-130 mg/dl	<95 mg/dl
Tokluk 1. saat PG (**)	-	<140 mg/dl (***)
Tokluk 2. saat PG	<160 mg/dl	<120 mg/dl

HbA1c: Glikozile hemoglobin, APG: Açlık plazma glukozu, PG: Plazma glukozu

*: Glisemik hedefler bireyselleştirilmelidir. Hastanın yaşam beklentisi, diyabet yaşı, hipoglisemi riski, diyabet komplikasyonları, renal fonksiyonlarda azalma ve eşlik eden diğer hastalıklarına göre belirlenmeli, gerekirse daha esnek glisemik kontrol hedeflenmelidir.

** : Tokluk PG ölçümü için öğüne başladıktan sonraki süre dikkate alınır (öğünü bitirdikten sonraki değil).

***: Gebelerde öğün sonrası 1.st PG takip edilmelidir.

2.1.10 Glisemik Kontrolün Değerlendirilmesi

Hastalarda uygun ve yeterli glisemik kontrolün sağlanıp sağlanmadığının değerlendirilmesinde kullanılan en önemli tetkiklerden biri HbA1c'dir. Hastaların glisemik yönetimlerini ne kadar başarıyla yaptıkları, öncelikli olarak, HbA1c testi ile değerlendirilir. Glisemik kontrolün faydalarını gösteren klinik çalışmalarda HbA1c, ölçülen temel parametredir. Eritrositler glukozu karşı serbest geçirgendir ve bunun sonucunda glukoz, kandaki konsantrasyonuna bağlı bir oranda hemoglobine geri döndürülemez şekilde bağlanır. Bu duruma glikasyon adı verilir. Nonenzimatik bir reaksiyondur. Eritrosit ömrü ortalama 120 gün olduğundan hastalardan HbA1c bakılması, son 3 aylık ortalama plazma glukoz seviyeleri ile korelasyon gösterir (35). Bu sayede klinisyenler hastaların 3 aylık glukoz ortalamaları hakkında bilgi sahibi olup mevcut tedavinin devamı ya da tedavi rejimi değişikliği gibi uygulamaları rahatlıkla yapılabilmektedir.

Bunun yanında evde glukoz takibi hastanın kan şekerini kendi kendine izlemesi, özellikle insülin alan kişilerde kan şekerinin yönetimi ve ilaç

ayarlamasına yardımcı olabilir. Devamlı glukoz monitörizasyonu, tip 1 diyabetli birçok hastada tedavinin etkinliğini ve güvenliğini değerlendirmede önemli bir role sahiptir ve sınırlı bir veri, yoğun insülin rejimleri ile tedavi edilen tip 2 diyabetli seçilmiş hastalarda da yardımcı olabileceğini düşündürmektedir (36).

2.1.11 Diyabetes Mellitus Komplikasyonları

DM kronik seyirli bir hastalık olduğu için hastalığın seyri sırasında gerek hastalığın temel özelliklerinden olan hiperglisemi ve birtakım kimyasal tepkimeler sonucu oluşan toksik maddelere, gerekse uygulanan tedavinin yan etkilerine, yanlış tedavi uygulamalarına ya da hasta uyumsuzluğuna bağlı olarak komplikasyonlar gelişebilmektedir.

DM komplikasyonlarını akut ve kronik olarak iki temel başlıkta sınıflandırabiliriz (10).

Diyabetin akut komplikasyonları:

- Diyabetik ketoasidoz
- Hiperosmolar hiperglisemik durum
- Laktik asidoz
- Hipoglisemi

Diyabetin kronik komplikasyonları ise mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlar olarak ayrılır.

Diyabetik kronik makrovasküler komplikasyonları:

- Kardiyovasküler hastalık
- Serebrovasküler hastalık
- Periferik damar hastalığı
- Artmış generalize ateroskleroz

Diyabetin kronik mikrovasküler komplikasyonları:

- Diyabetik nöropati

- Diyabetik retinopati
- Diyabetik nefropati

Diyabetin bütün komplikasyonları mortalite, morbidite ve hastaların yaşam kalitesi açısından önem arz etmektedir. Üzerinde çok sayıda çalışma yapılmış ve yapılmaktadır. Biz de bu çalışmamızda diyabetin kronik, mikrovasküler bir komplikasyonu olan DPN üzerinde durduk.

2.2 Diyabetik Nöropati

Periferik ve otonom sinir sistemlerinin tutulumu diyabetik hastaların yaklaşık %50'sinin yaşam kalitesini etkilemekte olup diyabetik nöropati en sık görülen komplikasyonudur. Diyabet, sinir sisteminde farklı bölümleri etkileyebilir. Özellikle alt ekstremiteleri tutan DSPN, enfeksiyon ve iskemi ile birlikte en önemli ve en sık nontravmatik ayak amputasyonu nedenidir (37).

DPN, DM hastalarında diğer nöropati nedenleri dışlandıktan sonra periferik sinir disfonksiyonunun semptom ve/veya bulgularının olması olarak tanımlanmıştır. Tanımlamadaki en önemli nokta, diyabetik nöropatinin aslında bir ekartasyon tanısı olduğunun vurgulanmasıdır. Unutulmamalıdır ki diyabet dışı nöropati etkenleri de diyabetli hastalarda mevcut olabilir ve özel önlemlerle tedavi edilmeleri gerekebilir (38).

Diyabetik nöropatiler oldukça heterojen bir klinik olup sinir sisteminin pek çok farklı bölümünü etkiler ve çeşitli klinik belirtilerle kendini gösterir. Günümüzde semptomatik olan diyabetik nöropati için bir dizi tedavi seçeneği mevcuttur. Bu tedavilerin gerekli hastalara mümkün olan en kısa sürede verilmesi durumunda hastaların yaşam kalitelerinde iyileşmeler görülmektedir. DPN'lerin %50'ye yakını da asemptomatik olabilir ve bu hastalar tanınmazsa ve koruyucu ayak bakımı uygulanmazsa, his kusuru olan ayaklarını travmatize etme riski altındadır. Bu ve bunun gibi sebeplerden dolayı diyabetli bir hastada nöropatinin mümkün olan en erken sürede tanınıp uygun şekilde yönetilmesi önemlidir (3). Prediyabet hastalarında bile diyabetik nöropatlere benzer nöropatiler gelişebilir (39,40).

Çeşitli diyabetik nöropati formları arasında, DSPN ve diyabetik otonom nöropati (DON)'ler, özellikle kardiyovasküler otonom nöropati, üzerinde en çok durulan ve çalışma yapılan konulardır (41–43).

2.2.1 Diyabetik Nöropati Sınıflandırması

ADA'nın en son 2017 yılında revize ederek yayınladığı ve güncelliğini koruyan DN sınıflandırması aşağıdaki gibidir (3):

A. Diffüz nöropati

DSPN

- Primer olarak küçük lif tipi nöropati
- Primer olarak büyük lif tipi nöropati
- Mix (küçük ve büyük) lif tutulumlu tip (en yaygın)

Otonomik

- Kardiyovasküler
 - Azalmış kalp hızı variabilitesi
 - İstirahat taşikardisi
 - Ortostatik hipotansiyon
 - Ani ölüm (malign aritmi)
- Gastointestinal
 - Diyabetik gastroparezi (gastropati)
 - Diyabetik enteropati (diyare)
 - Kolonik hipomotilite (konstipasyon)
- Ürogenital
 - Diyabetik sistopati (nörojenik mesane)
 - Eretil disfonksiyon
 - Kadın seksüel disfonksiyon

- Sudomotor disfonksiyon
 - Distal hipohidrozis/anhidrozis
 - Gustatuar terleme
- Hipoglisemi farkındasızlığı
- Anormal pupiller fonksiyon

B. Mononöropati (atipik formlar)

İzole kraniyal veya periferik sinir tutulumu

Mononöritis multipleks

C. Radikülopati ya da poliradikülopati (atipik formlar)

Radikülopleksus nöropatisi (lumbosakral poliradikülopati)

Torasik radikülopati

2.2.2 Diyabetik Nöropati Taraması

Diyabetik nöropatinin daha nadir atipik formları mevcut olsa da DSPN ve DON, pratikte karşılaşılan en yaygın formlardır ve hastalarda genelde bu formlar araştırılır (44).

Tip 2 diyabetliler için tanı anından itibaren, tip 1 diyabetliler için tanıdan 5 yıl sonra başlanmak suretiyle tüm diyabetik hastalar, yılda bir kez DPN açısından değerlendirilmelidir. Periferik nöropati semptomları olan prediyabetli hastalarda da nöropati taraması göz önünde bulundurulmalıdır.

Nöropati değerlendirmesi yapılırken DSPN için fizik muayene; dikkatli bir anamnezin yanında sıcaklık veya iğne batma hissi (küçük lif işlevi) ve 128 Hz diyapazon (büyük lif işlevi) kullanarak titreşim hissinin değerlendirilmesini içermelidir. Eğer hastalarda mikrovasküler komplikasyonlar varsa bu değerlendirmelerin yanında otonom nöropatinin semptom ve bulguları da incelenmelidir.

Kliniğin atipik olduğu, tanının net olmadığı veya farklı bir etiolojiden şüphelenildiğı durumlar dışında, tarama için elektrofizyolojik test veya bir nöroloğa sevk nadiren gerekir (45).

2.2.3 Diyabetik Nöropati Risk Faktörleri

Hipergliseminin süresi ve şiddeti, hem tip 1 hem de tip 2 diyabetli hastalarda diyabetik nöropati için en başta gelen majör risk faktörleridir (46,47).

Ek risk faktörleri glisemik değişkenlik, ileri yaş, artmış VKİ, önceden var olan kardiyovasküler hastalık, hipertrigliseridemi, hipertansiyon, sigara ve yoğun alkol kullanımıdır (48,49). Bunlara ek olarak insan lökosit antijen (HLA) DR3/4 genotip pozitifliği de artan risk ile ilişkili bulunmuştur (50).

Vasküler risk faktörleri ve nöropati arasındaki bağlantının güçlü kanıtı Diyabetin Epidemiyolojisi ve Önlenmesi Çalışması (EURODIAB)'ndan gelmektedir. EURODIAB'da diyabetik ve katılım anında nöropatisi bulunmayan 1172 katılımcı arasından, 276 hastada (%24) devam eden 7.3 yıl içinde DSPN gelişti. Gelişen nöropatinin insidansı, başta diyabet süresi ve HbA1c değerleri olmak üzere, artmış trigliserit seviyeleri, VKİ, sigara içimi ve başlangıçta hipertansiyon varlığı ile ilişkiliydi. Başlangıçta mevcut olan kardiyovasküler hastalık, diğer kardiyovasküler risk faktörlerinden bağımsız olarak iki kat nöropati riski ile ilişkili bulundu (51).

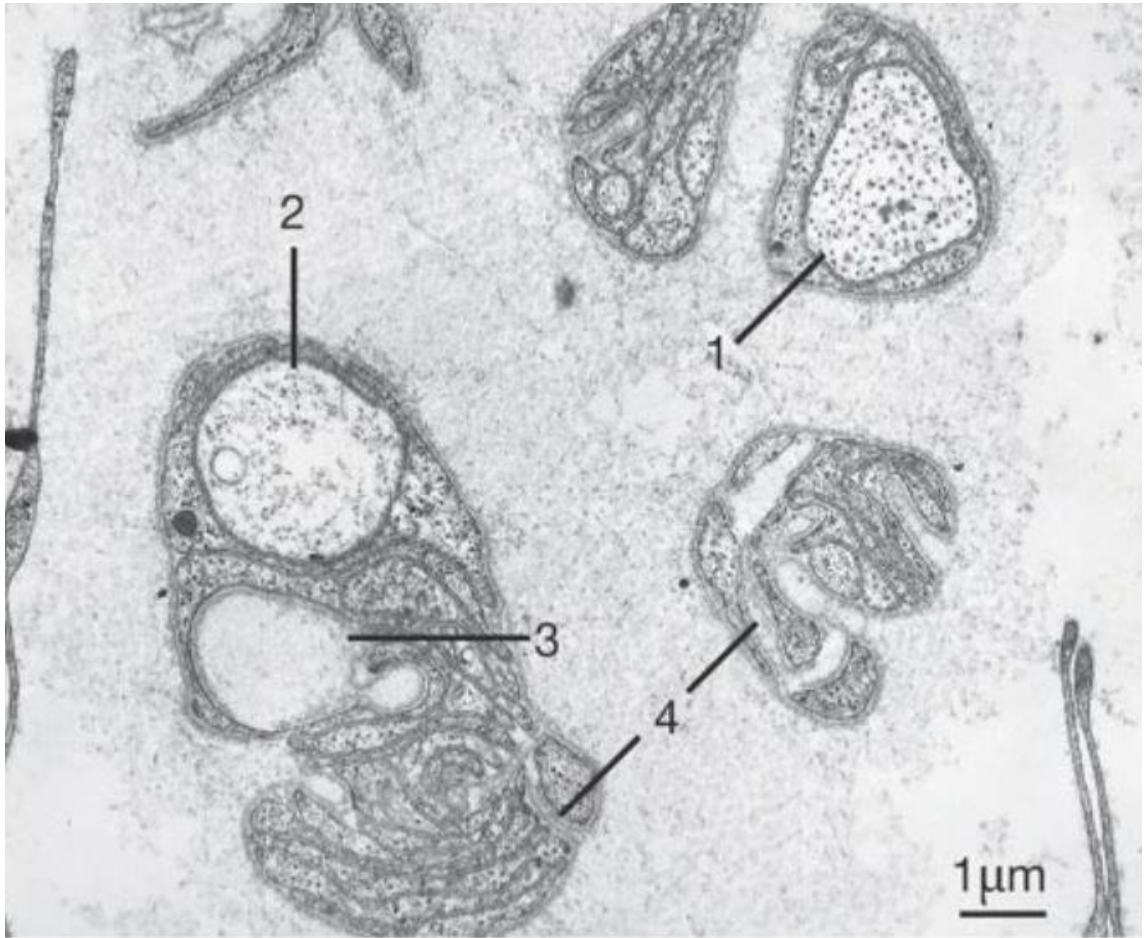
2.2.4 Diyabetik Nöropati Morfolojisi

Diyabetin kronik sürecinde özellikle alt ekstremitede, diğer birçok polinöropatide olduğu gibi, periferik sinir aksonlarının distalden başlayıp proksimale doğru ilerleyen hasarı söz konusudur. Bu durum “dying-back” nöropati olarak adlandırılır.

Diyabetik nöropati öncelikle vücuttaki en uzun miyelinli ve miyelinsiz duyuşal aksonların distal bölümlerini içine alan bir aksonopatiyle karşımıza çıkar. Motor aksonlar kısmen korunmuştur (52). Distal “dying-back” nöropati yaygın

görölmekle birlikte, duyuşal ganglionlardaki proksimal sinir disfonksiyonunun da bu fenomene katkıda bulunduğuna dair kanıtlar vardır (53).

Diyabetik nöropatide bildirilen morfolojik anormallikler arasında sinir liflerinde aksonal dejenerasyon, Schwann hücre disfonksiyonundan kaynaklanan primer demiyelinizasyon, Schwann hücrelerinin miyelinasyon, remiyelinasyon kontrol bozukluğu ve proliferasyonu ile ilişkili sekonder segmental demiyelinasyon, Schwann hücrelerinin denerve bantlarının atrofisi, soğan görünümu (onion bulb formation) ve bazal laminada hipertrofi bulunur (54).



Şekil 2.3: DPN'li bir hastanın peroneal sinir biyopsisi elektron mikrografı* (54)

DPN: Diyabetik periferik nöropati

*: 1: Normal sinir lifi, 2: Dejenere sinir lifi, 3: Sinir lifi dejenerasyonu nedenli oluşun boşluğu dolduran kollajen cebi, 4: Schwann hücrelerinin denerve bantları



Şekil 2.4: Soğan görünümü (onion-bulb formation)* (55)

*: Schwann hücrelerinin tekrarlayan segmental demiyelinizasyon ve remiyelinizasyondan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Diyabetik nöropati, üremik nöropati ve alkolik nöropati dahil olmak üzere diğer birçok metabolik nöropatiden morfolojik ve fonksiyonel olarak ayırt edilemez. Bununla birlikte, diyabetik nöropatide, diğer etkenlerin aksine vasa nervorumun morfolojik anormallikleri erken dönemlerde ve sinir lifi kaybının şiddetine paralel olarak görülür (56,57).

2.2.5 Diyabetik Nöropati Patogenezi

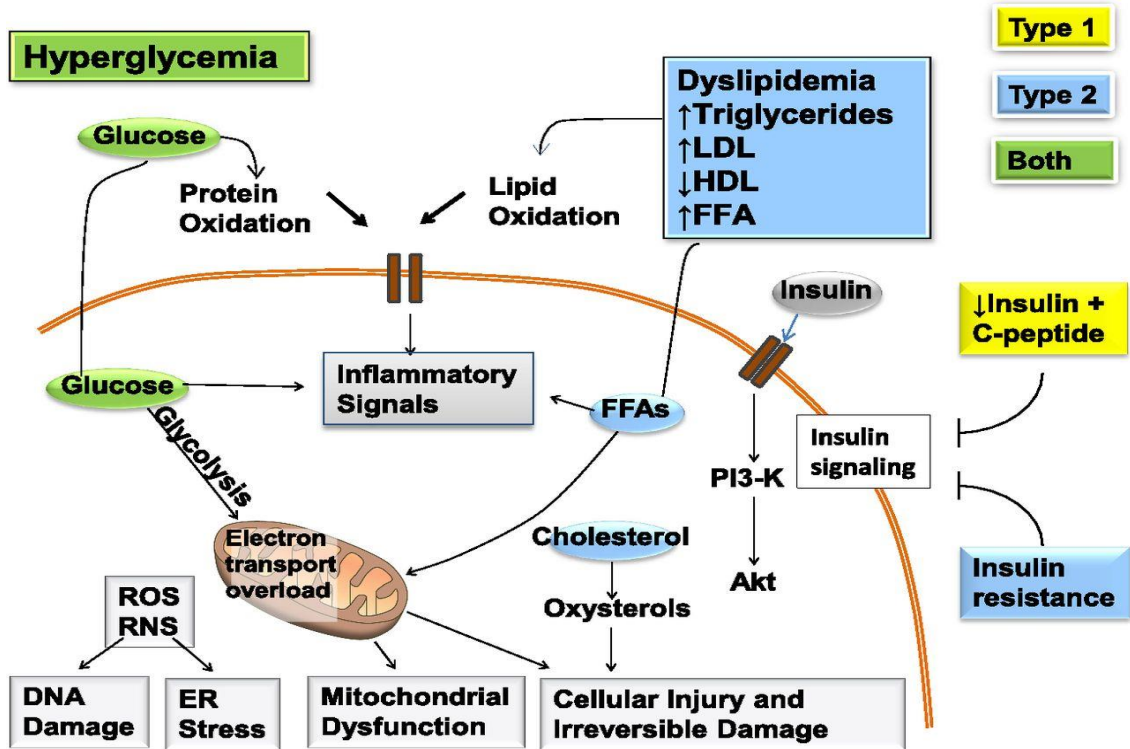
Diyabette, karmaşık bir metabolik, vasküler ve hormonal faktör dizisi sinir lifi onarımı ile hasarı arasındaki dengeyi hasar lehine doğru kaydırır (44).

Diyabetteki nöropati daha çok distal duyu ve otonomik sinir liflerine etki eder ve bu diyabetik nöropatinin klinik bulgularına yol açan progresif duyu kaybıyla sonuçlanır. Diyabetik nöropati patogenezinde rol alan başlıca metabolik faktörler aşağıda sıralanmıştır (58).

- İleri glikasyon son ürünlerinin birikimi (AGE)
- Sorbitol birikimi (polyol yolu aktivasyonu)
- Heksozamin yolundaki bozulma
- Protein kinaz C (PKC) yolundaki bozulma
- Poli [adenozin difostat (ADP)-riboz] polimeraz (PARP) aktivasyonu

Tüm bu metabolik değişiklikler mitokondrial disfonksiyona, değiştirilmiş gen ekspresyonuna ve iyon akımı defektlerine, oksidatif stres ve inflamasyon ile birlikte sinir hasarına ve hücre ölümüne yol açar (58).

Bu mekanizmaların her biri hücrelerde oksidatif stresi artırarak etki eder. Diyabetin ve DSNP'nin oksidatif stresle olan ilişkisini ayrı bir başlık altında daha ayrıntılı inceledik (Bkz. Diyabet, Nöropati ve Oksidatif Stres).



Şekil 2.5: Diyabetik nöropati oluşumunda metabolik mekanizmalar* (44)

LDL: düşük dansiteli lipoprotein, HDL: yüksek dansiteli lipoprotein, DNA: deoksiribonükleik asit, ER: endoplazmik retikulum, FFA: serbest yağ asitleri, PI3-K: fosfoinositid-3 kinaz, RNS: reaktif nitrojen türleri, ROS: reaktif oksijen türleri.

*: Tip 1 diyabet (sarı), tip 2 diyabet (mavi) ve her ikisi (yeşil) ile bağlantılı olan faktörlerin DNA hasarına, ER stresine, mitokondriyal disfonksiyona, hücre hasara neden olduğu özetlenmektedir.

Metabolik pek çok faktörün yanında, zayıf onarım süreçleri ve endotel disfonksiyonu ile birlikte nörovasküler bozukluk ve beraberinde gelişen iskemi de suçlanmıştır (59). DPN'li hastalara yapılan otopsi serilerinde endonöral kan damarlarında kalınlaşma ve vasküler oklüzyon bulguları uzun zaman önce tespit edilmiştir (60). Devam eden çalışmalarda ileri polinöropatili diyabetik hastaların sural sinirlerindeki endonöral oksijen basıncında azalma olduğuna dair morfolojik ve klinik kanıtlar gösterilmiştir (61,62).

Ek olarak, tip 2 diyabetli ve DPN'li hastaların sinirlerinde küçük damar vaskülitisi saptanabilir (63). Ancak diyabetin duysal ve otonomik liflere zarar verme yönündeki çarpıcı eğilimini sadece vaskülitte ya da fokal endonöral iskemiye dayanarak açıklamak zordur. Nöropati gelişiminde iskemik faktörler ve metabolik faktörler birlikte değerlendirilir (64). Bu vasküler ve metabolik etkileşimin kesin doğası net değildir ve multifaktöriyel olabilir. İnflamasyonun, özellikle de akut faz reaktanları ve interlökinlerin de etkisi vardır (64,65).

Diyabette sinir lifi hasarını artıran bu faktörlerin beraberinde periferik sinir onarımı için gereken mekanizmaların bozulduğu görülür (66). Bu komplikasyon, normal olarak sinir onarımına, rejenerasyona aracılık eden nörotrofik peptitlerin, hastalığa bağlı kaybından kaynaklanıyor olabilir. Bu peptitler arasında sinir büyüme faktörü, beyin türevli nörotrofik faktör, nörotrofin-3, insülin benzeri büyüme faktörleri ve vasküler endotelyal büyüme faktörü bulunur (66). Ek olarak, insülinin kendisi de periferik nöronlar için nörotrofik bir faktör olarak işlev görür ve bu nedenle özellikle tip 1 diyabette insülin kaybı, sinir canlılığını ve onarımını tehlikeye atabilir (67).

2.2.6 Diyabetik Nöropati Klinik Bulguları

5 yıl veya daha uzun süredir tip 1 diyabetli hastalar ve tanı anından itibaren tip 2 diyabetli hastalar tıbbi geçmiş ve basit klinik testler kullanılarak yıllık olarak DSPN açısından değerlendirilmelidir. Hastaların %50'ye yakını DSPN semptomları yaşayabilir.

Tablo 2.5: DSPN'de etkilenen sinir liflerinin fizyolojik fonksiyonu, tutulumunda görülen semptomlar ve klinik muayenesi (3)

	Büyük, Miyelinli Sinir Lifleri	Küçük, Miyelinli Sinir Lifleri
Fonksiyonu	• Basınç • Denge	• Nosisepsiyon • Protektif duyu
Semptomu	• Uyuşma • Karıncalanma • Denge kaybı	• Ağrı: yanma, elektrik çarpması, saplanma şeklinde
Muayenesi *	• Ayak bileği refleksi • Vibrasyon • Monofilaman • Proprioepsiyon duyularının azlığı ya da yokluğu	• Termal diskriminasyon • Pinprick (iğne batması) testi algılarının azlığı ya da yokluğu

*: Muayene bulgularının paterni, simetrik ve distalden proksimale doğru yayılım şeklindedir.

Belirtiler, ilgili duysal liflerin hangi sınıftan olduğuna göre değişir. En yaygın erken semptomlar, küçük liflerin tutulumu ile indüklenir ve ağrı ve disestezi (hoş olmayan yanma hissi) içerir (68,69). Nöropatik ağrı, genellikle hastaları tıbbi yardım aramaya sevk eden ilk semptom olarak karşımıza çıkar ve DSPN'li bireylerin %25 kadarında mevcuttur (70).

Karakteristik olarak ağrı hissi yanıcı, batıcı, karıncalanma veya elektrik çarpma hissini kapsayan bir parestezi şeklindedir. Bu semptomların değişen kombinasyonlarını içerir ve genellikle geceleri artar. Nöropatik ağrıya, ağrılı uyaranlara aşırı bir yanıt (hiperaljezi) ve hatta çoraplar, ayakkabılar ve yatak örtüleri ile temasla bile kaynaklanan ağrı (allodini) eşlik edebilir. Nöropatik ağrı, günlük aktivitelere engel olup psikososyal bozukluğa ve sağlıkla ilişkili yaşam kalitesinin düşmesine neden olabilir (71,72).

Büyük liflerin tutulumu ise uyuşma, ağrısız karıncalanma ve denge duyusunun kaybı ile sonuçlanabilir. Hastalar ayrıca başlangıçta büyük liflerin kaybindan dolayı duyarsız, uyuşmuş bir ayakla gelebilirler. Hastalar sıklıkla ayaklarının yüne sarılmış gibi veya kalın çoraplar giymiş gibi olduğunu belirtirler. Mevcut olan his kusuru ve ağrı duyusunun kaybı, plantar yüzeyde gelişen ülsere lezyonları üzerinde ağrı hissetmeden yürümeye izin verir ve sıklıkla enfeksiyonla

komplike hale gelir. Bu durum kronikleşme sürecini tetikleyen faktördür ve "ağrının armağanı"nın kaybının bir sonucudur (73).

Aşağıdaki klinik testler, distalden proksimale kadar küçük ve büyük lif fonksiyonunu değerlendirmek için kullanılabilir.

1. Küçük lif işlevi: İğne batması ve sıcaklık hissi

2. Büyük lif işlevi: Titreşim algısı, propriyosepsiyon, monofilament testi ve ayak bileği refleksleri

Titreşim algısının değerlendirilmesinde 128 Hz diyapazon kullanılır. Hafif dokunma duyusunun değerlendirilmesi, daha önce Perkins ve arkadaşlarının geçerli kıldığı gibi, 10 g monofilament ile bilateral ayak başparmağının dorsal yönünün muayenesi şeklinde yapılır (74). 10 g monofilament, temel olarak daha ileri nöropatiyi tespit etmek ve yüksek ülserasyon ve amputasyon riski olan hastaları belirlemek için kullanılan yararlı bir klinik araçtır (75).

Değerlendirmeler, tipik nöropati tutulum paternini takip etmelidir. Her iki taraftan distal olarak (halluksun dorsal yönü) başlanarak ve bir duyu eşik tanımlanana kadar proksimale doğru ilerlemelidir (75). Diyabetli hastalarla yapılan birkaç hasta kohortunda gösterildiği gibi, en az iki muayeneyi birleştirmek nöropatiyi tespit etmenin duyarlılığını ve özgüllüğünü artıracaktır (76–79).

DSPN teşhisi temelde klinik bulgulara göre yapılır. Diyabetli bir hastada tipik semptomatoloji ve simetrik distal duyu kaybı veya semptomsuz hastalarda tipik bulguların bir kombinasyonu, DSPN'yi oldukça düşündürür ve ek tetkik veya sevk genellikle gerektirmez. Hastaların yarısı asemptomatik olabileceğinden, tanı muayene sırasında veya bazı durumlarda, hasta ağrısız ayak ülseri ile başvurduğunda konulabilir.

Diyabetli hastalarda diyabetik nöropati tanısı konmadan önce diyabet dışı nöropati etkenlerinin dışlanması gerekir (Bkz. Diyabetik Nöropatide Ayırıcı Tanı).

2.2.7 Distal Simetrik Polinöropati

Diyabetik nöropatilerin en yaygın olan formu, yaklaşık %75'ini oluşturan DSPN'dir (41). DSPN, potansiyel olarak periferik sinir sistemi disfonksiyonu ile ortaya çıkan çok çeşitli klinik patolojileri kapsar (80).

Hastalarda DM başlangıcı sırasında, eş zamanlı olarak DSPN tanısı alan hastaların yaklaşık %10-20 olduğu bildirilmektedir. Bununla birlikte, ilerleyen zamanlarda DM'li hastaları analiz eden çalışmalar, DM ve DSPN ilişkisi için artan yaygınlık oranları bildirmektedir. Beş yıl sonra, %26'sında ve on yılın sonunda, diyabetli hastaların %41'inde nöropati görülmüştür. Literatür raporlarının öngörüsüne göre DM'li hastaların %50 ila %66'sı, yaşamlarının bir noktasında DSPN geliştirecekti (76,81).

Diyabetik nöropatinin patogenezinin multifaktöriyel olduğunu daha önce belirtmiştik. DSPN için de yine aynı şekilde metabolik, nörovasküler ve otoimmün yollar vardır. Sürekli olarak yüksek kan serum glukozu, en başta oksidatif strese ve beraberinde sinirlere oksijen ve besin maddelerini ulaşmasını sekteye uğratan hasarlı küçük kan damarlarına yol açar. Primer olarak distal duyuşal sinir lifleri hasar görür; daha sonra hasar proksimal ilerleme ile devam eder ve hem cilt hem de ayaklarda tedrici bir his kaybına yol açar. DPN'nin yarısı asimetrik olabilir (82,83).

DSPN'nin hiperglisemi (84), boy (belki sinir uzunluğunun bir göstergesi olarak) (85), sigara içimi (86), kan basıncı, kilo ve lipid ölçümleri (51,87) ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

DSPN'nin, özellikle ağırlı küçük lifli nöropati alt tipinin, prediyabet veya metabolik sendrom mevcut olan deneklerde de %10-30 oranında mevcut olabileceğine dair kanıtlar ortaya konulmuştur (39,40,88).

DSPN klasik olarak distalden başlayıp proksimale doğru ilerleyen duyu kaybına neden olur (eldiven çorap tarzı tutulum) (44). Oluşan bu his kusuru, iskemi ve inflamasyonla birleştiğinde ayak ülserasyonunun toplumdaki en önemli nedenidir ve ayrıca CN gelişiminde bir öncü olarak karşımıza çıkmaktadır. Ayak ülseri ve CN, DSPN'nin geç komplikasyonları olarak kabul edilmektedir (89,90). Bu geç komplikasyonlar, amputasyon riskini ve diyabetik nöropatinin ekonomik

maliyetini oldukça artırır ve beraberinde mortalitenin öngörücüleridir. Diyabetik ayak ülseri olan hastalarda beş yılda ölüm riski, ayak ülseri olmayan diyabetiklerin ölüm riskinden 2,5 kat fazladır (91).

DSPN tüm bunların yanında düşme ve fraktürlere de büyük katkıda bulunur. Küçük ve büyük liflerin disfonksiyonu ile duyu, propriyosepsiyon, sıcaklık ayrımı ve ağrı duyusunun kaybı ile en nihayetinde dengesizliğe, tekrarlayan küçük yaralanmalara ve düşme riskinde artmaya neden olur. Bu tekrarlayan küçük yaralanmalar CN patogenezinde katkıda bulunur (92,93).

2.2.8 Diyabetik Nöropati Ayırıcı Tanısı

Diyabetik nöropatinin ayırıcı tanısında düşünülmesi ve gerekli hallerde ekarte edilmesi gereken başlıca hastalıklar aşağıda özetlenmiştir (3,50).

Metabolik hastalıklar

- Tiroid hastalığı
- Renal hastalık

Sistemik hastalıklar

- Sistemik vaskülit
- Paraproteinemi
- Amiloidoz
- Maligniteler

İnfeksiyöz nedenler

- HIV
- Hepatit B
- Lyme hastalığı

İnflamatuar nedenler

- Kronik inflammatuar demiyelinizan poliradikülönöropati

Nutrisyonel nedenler

- Vitamin B₁₂ eksikliği
- Postgastroplasti
- Piridoksin eksikliği
- Tiamin eksikliği
- Tokoferol eksikliği

Endüstriyel ajanlar, ilaçlar ve madenler

- Endüstriyel ajanlar (akrilamid, organofosfor ajanlar)
- İlaçlar (alkol, amiodaron, kolşisin, dapson, vinka alkaloidleri, platin, taksol)
- Madenler (arsenik, civa)

Hereditör

- Hereditör motor, duyuşal ve otonomik nöropatiler

Etiyoloji araştırılırken kapsamlı bir öykü ve fizik muayene periferik nöropati nedenlerinin çoğunu ekarte edebilir. Küçük semptomlar laboratuvar incelemesine genellikle ihtiyaç duymaz. Kalıcı ve açıklanamayan semptomlar, serum glukozu, HbA1c, tam kan sayımı, eritrosit sedimantasyon hızı, tiroid stimulan hormon (TSH) ve vitamin B₁₂ dahil olmak üzere çeşitli laboratuvar araştırmalarını ve elektromiyografi gibi incelemeleri gerektirebilir. Klinik uygulamada rutin değerlendirme için şü anda önerilmeyen, ancak daha objektif bir küçük lif ölçümü için yararlı araçlar olarak kanıtlanmış diğer tetkikler, intraepidermal sinir lifi yoğunluğu (IENFD) ve korneal konfokal mikroskopidir. İdiyopatik nöropatisi olan hastalarda düşünülebilir. IENFD ile epidermisteki aksonların sayısı ve morfolojisi değerlendirilebilir ve yaşa bağı normal değerlerle karşılaştırılır (94,95).

Klinik özelliklerin atipik olduğu, tanının net olarak konulamadığı veya farklı bir etiyojiden şüphelenildiğı durumlar haricinde, tanı için elektrofizyolojik test veya bir nöroloğa sevk nadiren gereklidir. İleri inceleme ve sevk gerektiren atipik özellikler, duyudan daha şiddetli bir motor kayıp, semptom ve bulgulardaki asimetri ve hızlı progresyondur (42,96).

2.2.9 Diyabetik Nöropatiyi Önleme

Altta yatan sinir hasarını hedefleyen ve geri döndürebilen tedavilerin eksikliği nedeniyle, diyabetik nöropatiyi gelişmeden önlemek, diyabet bakımının anahtar bileşenidir. Diyabetik nöropatinin semptom ve bulgularının taranması, nöropatinin en erken aşamalarını tespit ederek erken müdahaleyi mümkün kıldığından klinik uygulamada da önem arz etmektedir.

Diyabetik nöropatinin birçok farklı formu olmasına rağmen, en yaygın alt tipi olan DSPN, büyük komplikasyonlara yol açabilir. Periferik polinöropati semptomlarının erken tanınip değerlendirilmesi, hastayı nöropatik ayak ülserlerinden korur ve sonuçta morbidite ve mortaliteyle mücadele etmeye yardımcı olur.

ADA diyabet kılavuzları DSPN gelişimini önlemek veya geciktirmek adına glisemik kontrolün büyük bir önemi olduğunu belirtmiştir. Hem tip 1 hem de tip 2 diyabette nöropatiyi önlemek için glisemik kontrolü erken sağlamak ve en optimum seviyelerde tutmak gerektiğini savunmuştur (3).

Glisemik Kontrol

Tip 1 diyabetli kişilerde etkili glukoz kontrolü, DSPN insidansını önemli ölçüde azaltır (%78 rölatif risk azalması). Ancak bunun aksine, tip 2 diyabetli kişilerde glisemik kontrol, DSPN gelişme riskinde ılımlı ölçüde azalma sağlar (%5-9 rölatif risk azalması) (44,97).

Glisemik kontrolün daha iyi nöropati sonuçlarıyla ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar olmakla birlikte birçok kişinin yeterli glukoz kontrolüne rağmen DSPN geliştirdiği ve glisemik kontrolün tek başına yeterli olmadığı noktası da vurgulanmaktadır (98–100). Hastalardaki birden fazla komorbidite varlığı, polifarmasi, hipoglisemi ve kilo alımı, bu çalışmalardaki glukoz kontrolünün zayıflamasına neden olur ve bu tutarsız bulguların oluşmasına katkıda bulunduğu düşünülebilir (100).

Spesifik glukoz düşürücü stratejiler de bu tutarsızlığa katkıda bulunabilir. Örneğin, tip 2 Diyabette Bypass Anjiyoplasti Revaskülarizasyon Araştırması

(BARI 2D) kapsamında özellikle erkek tip 2 diyabet hastalarının 4 yıllık takiplerinde insülin duyarlaştıcılarla tedavi edilenlerin, insülin ve sülfonilüre ile tedavi edilenlere göre daha düşük DSPN insidansına sahip olduğu bulundu. Bu sonucun, daha az kilo alımı ve daha az hipogliseminin bir sonucu olabileceği üzerinde duruldu (76).

Son olarak, tip 2 diyabetli birçok hastanın diyabet tanısı konmadan yıllar önce asemptomatik hiperglisemiye sahip olması, nöropatiye progresyonun tıpkı diyabet gibi sinsi seyirli olduğunu ve bu hastalara yapılan müdahalelere rağmen alınan kısıtlı faydayı açıklayabilir.

Yaşam Tarzı Değişiklikleri

Fiziksel aktiviteyi artırmaya yönelik yaşam tarzı değişiklikleri (YTD)'nin, diyabet ve komplikasyonlarının oluşumunu farmakolojik müdahalelerden daha etkili şekilde önleyebileceğini gösteren kanıtlar vardır (101).

Egzersiz, tip 2 DM'deki insülin direncini kesinlikle önlediği, HbA1c ve açlık insülini gibi glisemik belirteçlerde yararlı değişiklikleri indüklediği kanıtlanmıştır. Bu değişikliklerle birlikte egzersiz, lipid profilini, kan basıncını ve inflamatuvar belirteçleri olumlu yönde değiştirebilir (102).

YTD, diyabet ve nöropati bakımı için temel bir yaklaşım olarak tanımlanmaktadır. Fiziksel aktivitenin kalori kısıtlaması ile kombinasyonunun sadece refah durumunu iyileştirmekle kalmadığı, aynı zamanda uzun vadede kilo alımını ve genel morbiditeyi de önlediği kanıtlanmıştır (103).

Son zamanlarda sistematik bir derleme, aerobik egzersizin tip 2 DM'li hastaların sinir fonksiyonu üzerindeki etkisine ilişkin 12 randomize klinik çalışmayı değerlendirdi. Egzersiz protokollerinin heterojen olmasına rağmen, 11 çalışma aerobik eğitimin sinir fonksiyonu üzerindeki yararlı etkileri olduğunu bildirdi (104).

Diyabetik hastalar, uygulanan bu YTD'nin yanında, düzenli ayak bakımı yapmaları ve nasıl yapacakları hakkında bilgilendirilmeli, özellikle nöropatik

semptomu olan hastalara eğitim verilmelidir. Biz klinik pratiğimizde nöropatili hastaya aşağıdaki uyarılarda bulunuyoruz:

- Tırnaklarınızı derin kesmeyin.
- Kumsal, bahçe gibi yerlerde çıklak ayakla dolaşmayın.
- Ayaklarınızı ısıtmak için sıcak su torbası kullanmayın ve soba, kalorifer peteği gibi ısıtıcılara yakın temasından kaçının.
- Olası bir akıntılı yarayı farkedebilmeniz adına açık renkli çoraplar giyin ve sıkı olmamasına dikkat edin.
- Ayaklarınızı ıslak bırakmayın.
- Topuk taşı, nasır bandı vs. kullanmayın.
- Ayakkabınızı giymeden önce içini silkeleyin.
- Çok sıkı ya da gevşek ayakkabı ve özellikle parmak arası terlik kullanmayın.

2.2.10 Diyabetik Periferik Nöropatide Farmakolojik Tedaviler

Diyabetik nöropatinin patogenezi aydınlatmada yakın zamandaki büyük gelişmelere rağmen, DSPN'nin doğal seyrini etkili bir şekilde hedef alan veya uygulandıktan sonra DSPN'yi tersine çeviren tedavi seçeneklerinin eksikliği devam etmektedir.

Nöropatili birçok hasta, hafif-orta derecede uyuşukluk semptomlarına sahiptir, ancak yine de ayaklarında protektif duyu kalır. Sadece uyuşukluğu olan hastaların şikayetleri destek ve eğitimle hafifletilebilir. Periyodik takipleri önemlidir. İyileştirilmiş glisemik kontrol ile parestezi ve disestezi bir yıl içinde azalabilir.

Uyku veya günlük yaşam aktivitelerini bozan ağrılı semptomlar pregabalin, gabapentin veya antidepresanlar ile tedavi edilebilir. Bu ilaçların birçok hastada semptomları %30-50 oranında azalttığı gösterilmiştir. Bazı hastalar antioksidan olan α -lipoik aside de yanıt verir. Ek olarak, endotel disfonksiyonunun diyet yönetimi için L-metilfolat, piridoksal 5'-fosfat ve metilkobalamin içeren reçetenin sinir lifi yoğunluğunu ve monofilaman hissini önemli ölçüde iyileştirdiği

gösterilmiştir. Topikal kapsaisin krem substance P depolarını boşaltarak, artan yanma hissini tolere eder ve bazı hastalara yardımcı olabilir (105).

Diyabetik Periferik Nöropatide Ağrı Yönetimi

Diyabette veya prediyabette nöropatik ağrı için bir tedavi rejimi olarak glisemik kontrol ve/veya YTD'nin yanına genellikle bir farmakolojik tedavi gerekir (106). Bahsedildiği gibi diyabette nöropatik ağrının semptomatik tedavisinde birincil yaklaşım olarak pregabalin, gabapentin veya duloksetin düşünülür. Gabapentin, hastaların sosyoekonomik durumu, komorbiditeleri ve potansiyel ilaç etkileşimlerinin dikkate alınması gereken durumlarda tercih edilebilir.

Trisiklik antidepresanlar, diyabette nöropatik ağrıda etkilidir, ancak daha yüksek ciddi yan etki riski göz önüne alındığında kar-zarar durumuna göre dikkatli kullanılmalıdır.

Bağımlılık ve diğer komplikasyonların yüksek riskleri göz önüne alındığında, tapentadol veya tramadol gibi opioid ilaçların kullanımı, DSPN ile ilişkili ağrının tedavisinde ilk sıralarda kullanılacak ajanlar arasında önerilmemektedir.

Geniş bir kanıt tabanı, çeşitli yeni kılavuzlar ve sistematik derlemelerle belgelendiği üzere, farklı sınıflardan farklı etki mekanizmasına sahip ajanlar, gerektiğinde birlikte kullanılarak diyabetik nöropatide ağrının farmakolojik tedavisi üzerinde durulmalı ve desteklenmelidir (107–109).

DSPN'deki nöropatik ağrının tedavisinde kullanılan ilaçlar ve bazılarının başlangıç ve efektif dozları aşağıda verilmiştir (44,108,110,109).

Antikonvülzan ilaçlar

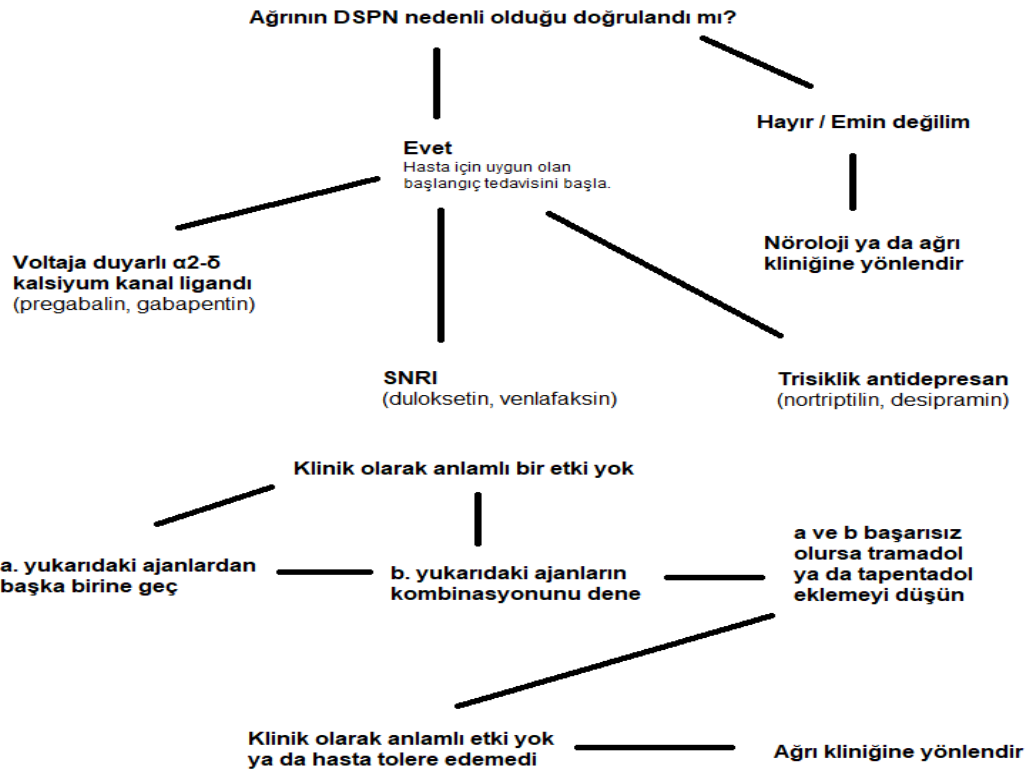
- Pregabalin (25-75 mg, 1-3x/gün) (300-600 mg/gün)
- Gabapentin (100-300mg, 1-3x/gün) (900-3600 mg/gün)

Antidepresan ilaçlar

- Serotonin-norepinefrin reuptake inhibitörleri (SNRI)
 - Duloksetin (20-30 mg/gün) (60-120 mg/gün)
 - Venlafaksin (37,5 mg/gün) (75-225 mg/gün)
- Trisiklik antidepresanlar
 - Amitriptilin (10-25 mg/gün) (25-100 mg/gün)
 - Desipramin
 - Nortriptilin

Opioid ilaçlar

- Tramadol (50mg, 1-2x/gün) (210 mg/gün)
- Tapentadol (uzatılmış salınımlı) (50 mg 2x/gün)



Şekil 2.6: DSPN nedeniyle ağrılı hastanın tedavi algoritması* (109,111)

*: Kullanılacak ajanın seçiminde dikkate alınması gerekenler: Farmakokinetik profil, adverse reaksiyon spektrumu, ilaç etkileşimleri, komorbiditeler ve maliyet.

2.3 Diyabet, Nöropati ve Oksidatif Stres

Oksidatif stres, temel olarak serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki dengenin serbest radikaller lehine bozulmasıdır. Bu radikallerin en yaygın olan iki formu reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif nitrojen türleri (RNS)'dir ve daha farklı çeşitleri de vardır. ROS üretimi sağlıklı hücrelerde sıkı kontrol altında tutulur. Ancak metabolik disfonksiyon sonucu aşırı üretimi dengeyi bozar ve hücre hasarına neden olur (112).

Oksidatif stresin baskın olduğu durumda ROS, düşük dansiteli lipoprotein (LDL)'de oksidasyona neden olur (113). Okside olmuş LDL, LDL reseptörleri tarafından tanınmaz ve makrofajlardaki reseptörlerce alınarak aterosklerotik plak oluşumuna neden olabilir (114).

DM ve DPN'nin patogenezinde oksidatif stres önemli bir rol almaktadır. Oluşan hiperglisemiye uzun süre maruz kalmak çeşitli metabolik bozukluklara neden olur ve bu durum şiddetli bir feedforward mekanizmayla oksidatif stres oluşumuna zemin hazırlar. Yapılan çalışmalar, hiperglisemi sonucu artan serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stresin diyabet ve diyabetik nöropatinin gelişimine neden olduğunu ve lipid peroksidasyonunu önemli derecede artırdığını göstermiştir (4,114,115). Oluşan bu oksidatif stres, sinir sistemi hücrelerine Ca^{+2} iyon girişini artırarak da DPN patogenezinde katkıda bulunur (116).

Diyabetik hastalarda ve diyabet oluşturulan sıçan çalışmalarında kalp, böbrek, damar, göz ve sinirlerde artmış oksidatif stres aktivitesi belirlenmiştir (117).

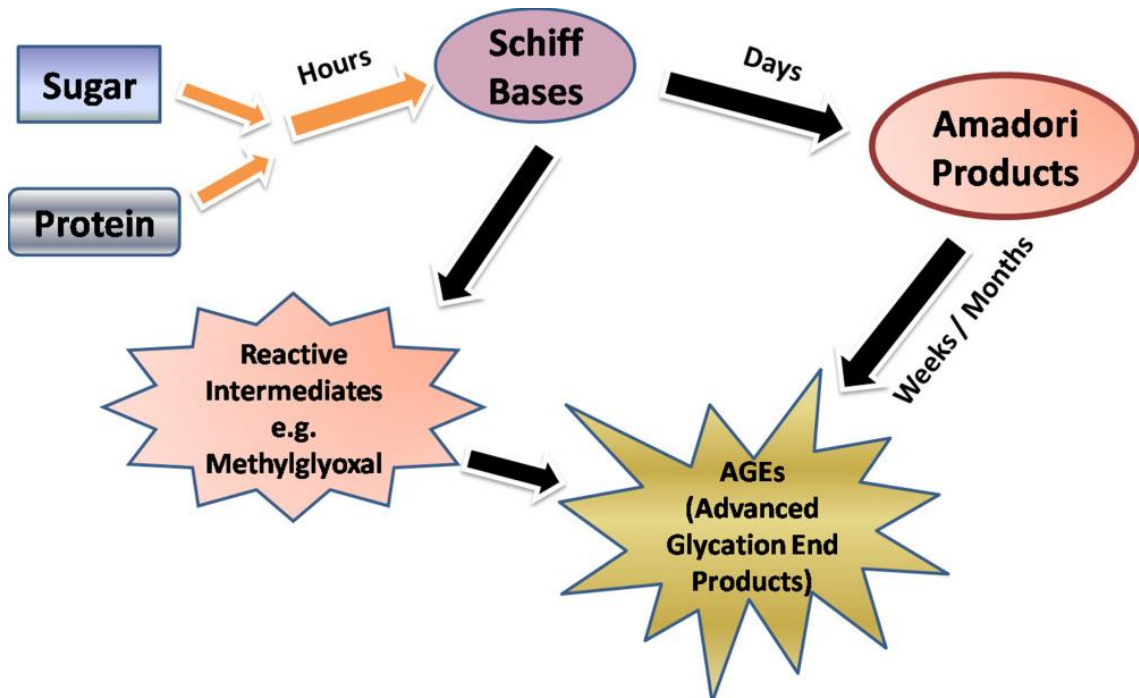
DM'de hiperglisemi, ROS oluşumunu hem doğrudan (114) hem de çeşitli metabolik yollar üzerinden artırabilir (118).

Hiperglisemi nedenli ROS üretiminin gerçekleştiği bu yolların başlıcaları arasında AGE ve sorbitol birikimi, glukozun otoksidasyonu, heksozamin, PKC ve PARP yollarının aktivasyonu sayılabilir.

2.3.1 İleri Glikasyon Son Ürünleri Birikimi

Glikasyon tepkimesinin ilk basamağı glukoz gibi indirgeyici bir şekerin karbonil grubunun, tipik olarak proteinlerdeki lizin amino asidinin amino grubu ile kondensasyonudur. Tepkimeden su açığa çıkmasıyla “Schiff bazı”, sonrasında daha stabil olan “Amadori ürünleri” oluşur. Progresyon bu noktaya kadar reversibl olup, oluşan bu Amadori ürünleri önce dikarbonil bileşiklere ve sonrasında da haftalar içinde irreversibl AGE'lere dönüşmektedir. Glikasyon ürünlerinin en tipik örneği HbA1c ve fruktozamindir (119,120).

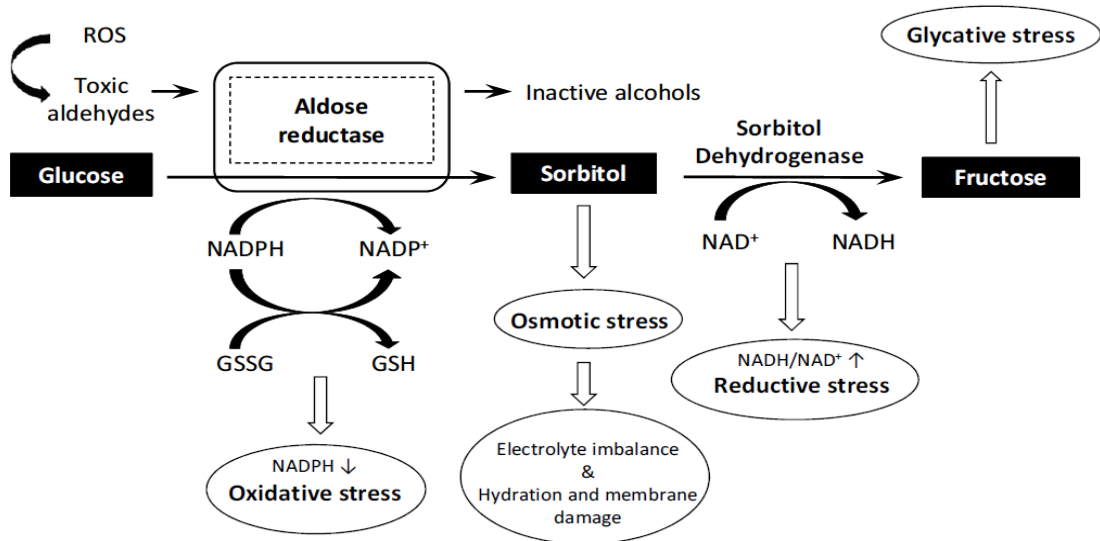
Diyabetli hastalarda serumda AGE konsantrasyonu artmaktadır. Bu AGE peptitleri in vitro koşullarda kollajen ile güçlü çapraz bağlanma aktivitesine sahiptir ki bu durum diyabetik mikrovasküler komplikasyonların gelişmesinde önemli rol oynamaktadır. Oluşan glikasyon ürünleri bir yandan da hücre yüzeyinde bulunan AGE reseptörleri (RAGE)'ne tutunur. RAGE aktivasyonu proinflamatuardır ve ROS oluşumuna neden olur. AGE'lerin vasküler hasara katkıda bulunabilecek diğer etkileri arasında vasküler geçirgenlikte artış, prokoagülan aktivitede artış, adhezyon moleküllerinin ekspresyonunda artış ve lokal monosit akınında artış sayılabilir (121,122).



Şekil 2.7: AGE oluşumunu gösteren ok diyagramı (123)

2.3.2 Sorbitol Birikimi

Diyabetik süreçte bazı organ ve dokularda glukoz girişi insüline bağımlı değildir. Plazma glukoz konsantrasyonu yükseldiğinde hücre içinde de yükselir ve normalde aktif olmayan polyol yolu (aldoz redüktaz enzimi) çalışmaya başlar. Aldoz redüktaz enzimi toksik aldehitleri inaktif alkollere çevirmekle görevlidir. Bu enzim hiperglisemi durumunda glukozu fruktoza çevirerek sorbitol oluşumuna neden olur (112). Bu yolun ürünü olan sorbitol, plazma membranından diffüze olamaz, hücre içinde birikir, osmotik etki yaparak hücrenin su alıp şişmesine ve hücre membran bütünlüğünün bozulmasına neden olur. Osmotik basınçtaki artış da morfolojik ve fonsiyonel yapı değişikliklerini beraberinde getirir (124).



Şekil 2.8: Polyol yolunun diyabetik komplikasyonlardaki rolü* (124)

ROS: Reaktif oksijen türleri, NADP(H): Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (redükte), GSSG: Glutatyon disülfid, GSH: Glutatyon, NAD(H): Nikotinamid adenin dinükleotid (redükte)

*: Polyol yolunda artan sorbitol birikimi, elektrolit dengesizliğine, hidrasyona ve membran hasarına neden olan ozmotik strese; azalan NADPH seviyeleri oksidatif strese; artan NADH/NAD⁺ oranı da psödohipoksiye neden olan redüktif strese yol açabilir. Ayrıca fruktozun fosforilasyonu AGE'lerin oluşumuna yol açabilir ve ardından AGE'lerin reseptörleri ile bağlanması ROS üretimine yol açabilir.

Aldoz redüktaz aktivitesi için redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) gereklidir ve sorbitol üretimi sırasında NADPH tüketilir. DM'de NADPH azalmasına bağlı olarak glutatyon (GSH) redüktaz aktivasyonu azalmıştır. Redükte GSH miktarının azalması, antioksidan etkide azalmaya ve beraberinde diyabetin vasküler komplikasyonlarının ortaya çıkışında önemli rol oynar (119).

2.3.3 Glukozun Otoksidasyonu

Hücre içindeki glukozun büyük bir kısmı oksidatif fosforilasyon aracılığı ile enerji üretmek için mitokondriyal elektron transport zinciri (ETZ)'ne girer. Glukoz hücre içinde hızla pirüvat ve redükte nikotinamid adenin dinükleotid (NADH)'e dönüştürülür. Süperoksit, mitokondride üretilen ve daha reaktif türlere dönüşebilen bir serbest radikaldir ve solunum zincirindeki NADH'dan adenozin trifosfat (ATP) sentez reaksiyonlarının gerçekleştiği ETZ sırasında açığa çıkar. Diyabette oluşan hiperglisemide bu yolak aktivitesi ve NADH oranı artar ve bu durum süperoksit radikalının artmasıyla sonuçlanır (125,126).

2.3.4 Artmış Protein Kinaz C Aktivitesi

DM'de oksidatif stres nonenzimatik, enzimatik ve mitokondriyal yollarda gerçekleşen çeşitli reaksiyonlar sonucu oluşmaktadır. Bu süreçler genellikle sinyal basamağı oluşturan bazı ürünler tarafından başlatılmaktadır. PKC de bu ürünlerden biridir.

Diyabette, endotelin-1 (ET-1) ekspresyonu ve etkinliğinde artma görülür. ET-1; vasküler gerimdeki anormallikleri ve insülin direnci gibi metabolik durumlarda görülen endotele bağımlı gevşemeyi bozan önemli bir peptittir (127).

Hiperglisemi durumunda ET-1'in etkinleştirdiği enzimlerden biri fosfolipaz C'dir. Bu enzimin indüklediği reaksiyon sonucunda oluşan ürünlerden biri olan diaçilgliserol, PKC aktivasyonuna neden olarak vazokonstriksiyon ve sinir hipoksisi oluşturur. Sonuçta DM'deki damar patolojilerine ve artmış oksidatif strese neden olmaktadır (119).

2.3.5 Artmış Heksozamin Yolu Aktivitesi

Amino şekerler heksozamin biyosentez yolağında sentezlenirler. Fazla glukoz, glikolitik süreçteki ara maddeleri heksozamin yoluna çevirir. Bu yolda fruktoz 6-fosfat hız sınırlayıcı enzim glutamin fruktoz 6-fosfat aminotransferaz (GFAT) tarafından glukozamin 6-fosfata dönüştürülür. Glukozamin 6-fosfat, üridin

difosfat N-asetilglukozamin (UDP-GlcNAc) sentazın etkisiyle daha sonra UDP-GlcNAc'a dönüştürülen bir ara üründür (128).

UDP-GlcNAc glikolipid, proteoglikanlar ve glikozaminoglikanların biyosentezinde gerekli olan öncüdür. Aynı zamanda, glukozamin N-asetiltransferaz enzimi tarafından kontrol edilen bir proses olan proteinlerin posttranslasyonel modifikasyonu için de kullanılır (129).

Normal kan şekeri seviyeleri altında, çok az miktarda fruktoz 6-fosfat glikolizden heksosamin yoluna yönlendirilir. Bununla birlikte, hiperglisemik durumda, aşırı miktarda fruktoz 6-fosfat, heksosamin yolağına yönlendirilir ve sonuç olarak GFAT aktivitesi upregüle olur (129). Bunun eşlik eden etkisi, yükselmiş UDP-GlcNAc seviyesi ve ardından glukozamin N-asetiltransferaz aktivitesindeki artıştır. Bu enzimin ve heksosamin yolunun hiperaktivitesi, gen ekspresyonundaki değişiklikler ve dönüştürücü büyüme faktörü alfa ve beta (TGF- α , TGF- β) gibi transkripsiyon faktörlerinin artan ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir. Bunlar, diyabette heksosamin yolunun toksik ve prooksidan rolünden ve bununla ilişkili komplikasyonlardan sorumludur (130).

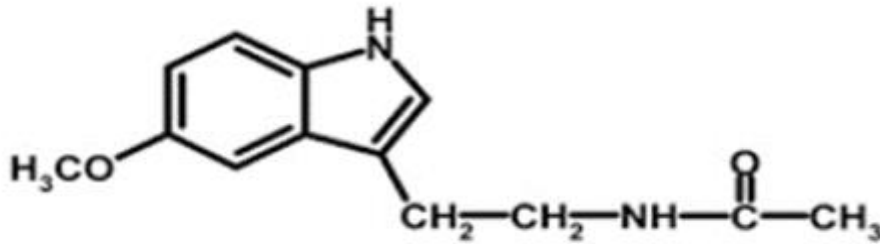
2.3.6 Artmış Poli (Adenozin Difosfat-Riboz) Polimeraz Aktivitesi

Nükleer bir enzim olan PARP, hücre içi yüksek glukozaya yanıt olarak aktive olur. Enzimin etkisiyle nikotinamid adenin dinükleotit (NAD^+), nikotinamid ve ADP-riboz rezidülerine ayrılır ve DNA'nın onarımına yardımcı olur. Ancak PARP'ın aşırı aktivasyonu artmış serbest radikal oluşumu, gen transkripsiyonunda zararlı değişiklikler, artmış PKC aktivitesi ve AGE oluşumu ile sonuçlanır. PARP inhibitörlerinin deneysel diyabetik nöropatinin tedavisinde faydalı olduğu gösterilmiştir (131).

Görüldüğü gibi oksidatif stres, diyabetin etiyolojisinde, progresyonunda ve komplikasyonların gelişiminde önemli bir yer tutmaktadır. Bu nedenle antioksidanların bu süreçte neler yaptıkları büyük önem arz etmektedir. Biz bu çalışmamızda en güçlü antioksidanlardan biri olan melatonin üzerinde durduk.

2.4 Melatonin

N-asetil 5-metoksitriptamin olarak da bilinen, pineal bezden (epiphysis cerebri, epifiz, glandula pinealis, corpus pineale) salgılanan ve karanlıkta salgısı artan melatonin hormonu, güçlü bir antioksidan ve antiinflamatuvar olmakla birlikte, hücrelerin yenilenmesi, bağışıklık sisteminin güçlenmesi, uyku ritminin ve vücut ısısının düzenlenmesi gibi çok sayıda önemli görevleri yerine getirmektedir (5).



Şekil 2.9: Melatoninin kimyasal yapısı (N-asetil 5-metoksitriptamin) (132)

Vücutta birçok biyolojik ve fizyolojik düzenlemeden sorumludur. İnsan biyoritmi (sirkadiyen ritim) üzerine etkili başlıca hormon melatoninidir. En temel görevi vücudun biyolojik saatini koruyup ritmini ayarlamaktır (133). Ancak melatoninin pek çok doku ve organda reseptörü tanımlanmış olup üstlendiği görevler oldukça fazladır. Vücuttaki başlıca etkileri Tablo 2.6'da özetlenmiştir

Tablo 2.6: Melatoninin bazı oluşumlar üzerine etkisi ve etki mekanizması (134)

	Melatonin etkisi	Etki mekanizması
Uyku	Hipnotik etki (uykuya dalış hızı ile uyku kalitesinde artma)	- Hipotermik etki (farmakolojik dozlarda) - Limbik sistemde reseptör aracılı etki
Sirkadiyen Ritim	- Sirkadiyen ritimlerin kontrolü - Aydınlık-karanlık siklusunun düzenlenmesi	- Gözlerden gelen uyarılara cevap olarak salınır - Nöral ve periferik dokularda reseptör aracılı etki - Termoregülasyon
Duygudurum	Mevsimsel affektif bozukluk ve depresyon gibi siklik duygudurum bozuklukları üzerine düzenleyici etki	Bilinmiyor fakat tedavide kullanılan tüm antidepresanlar melatonin üretimini artırmaktadır
Yaşlanma	Hücre hasarının önlenmesi ve diğer protektif etkiler	Antioksidan etki
İmmünite	Artmış immün yanıt	- T-helper lenfositler tarafından interleokin yapımının artması - Granülosit ve makrofajlarda artmış koloni uyarıcı faktörün üretimi ile kemik iliği hücrelerinin apoptozisten korunması
Antitümör	Antiproliferatif etkiler	- Direkt antiproliferatif etki (antimitotik aktivite) - İmmünomodülatör etki (immün yanıtın artmasıyla tümör büyümesinin baskılanması) - Antioksidan etki
Seksüel olgunlaşma ve üreme	Antigonadal, anovulatuvar etkiler	- Hipotalamik-hipofizer-gonadal aksın baskılanması (serumda düşük luteinizan hormon ve yüksek prolaktin seviyeleri) - Seks steroidlerinin üretimi üzerine düzenleyici etki

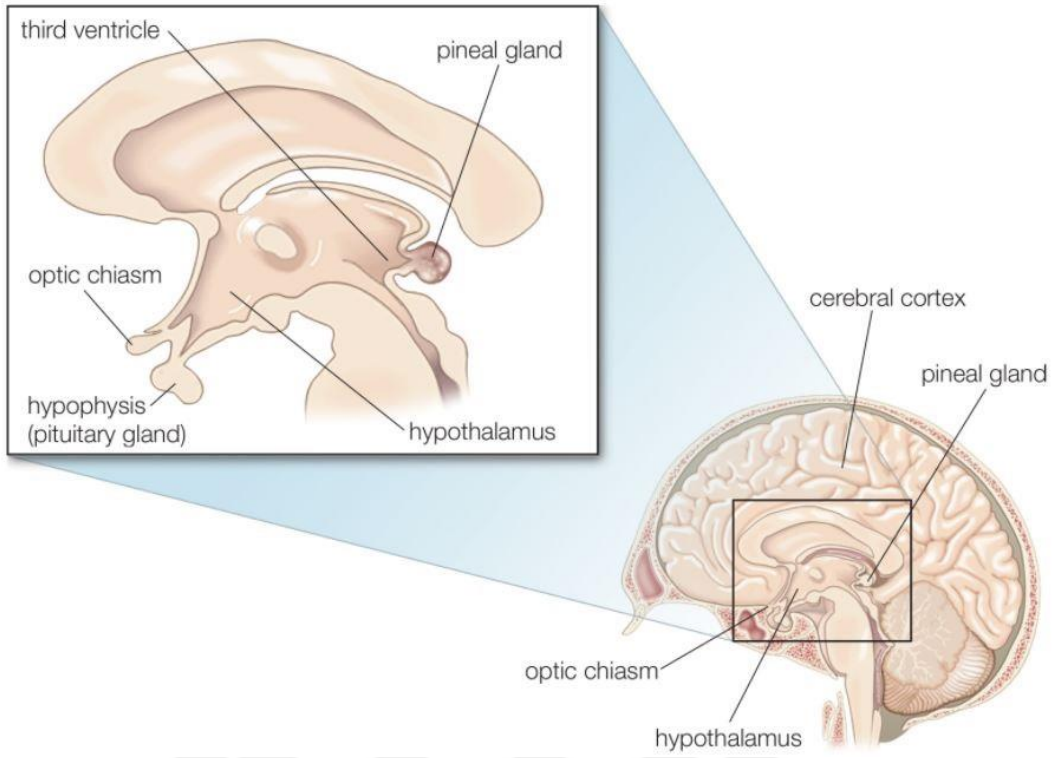
2.4.1 Pineal Bez

Melatoninin temel sentez yeri olan pineal bez, yaklaşık 300 yıl önce Fransız filozof Descartes tarafından “ruhun tahtı” olarak tanımlanmış, ancak melatoninin varlığı 1958 yılında dermatolog Lerner tarafından ortaya konmuştur. Sığır pineal bez ekstrelerinin, kurbağalarda deri rengini açtığını gözleyen Lerner, melanin granüllerinin agregasyona uğradığını görmüş ve ekstrelerden izole ettiği bu maddeye melatonin adını vermiştir (134,135).

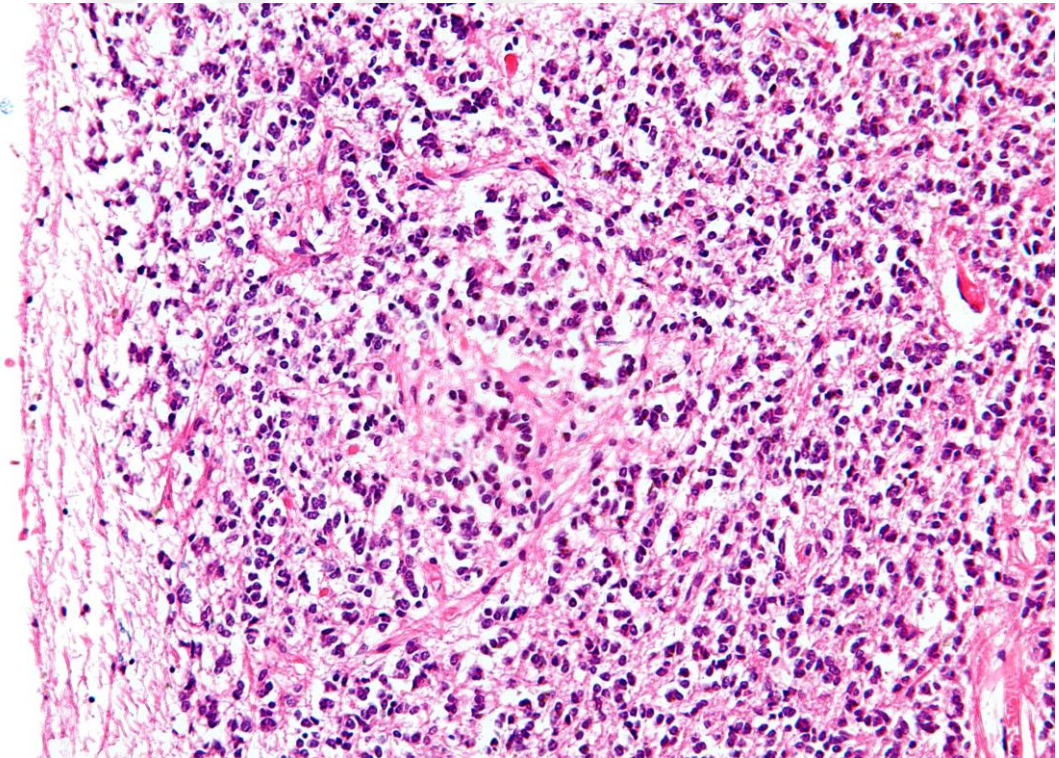
Pineal bez, adını çam kozalağına benzeyen şeklinden almıştır. Beyin orta hattında, üçüncü ventrikülün arkasında bulunur. 0,15-0,20 gr ağırlığında, 4x8x12 mm ebatlarında konik yapılı olup, insan vücudundaki en küçük endokrin bez olarak tanımlanır (5).

Pineal bezde arteriyel beslenme, posterior serebral arterin bir dalı olan posterior medial koroideal arter yoluyla olur. Venöz drenajı ise Galen veni içine olmaktadır. Pineal bezin, küçük çapına rağmen kanlanması oldukça güçlüdür (4 ml/dk/gr) ve vücutta böbrekten sonra kütlesine göre en çok kanlanan ikinci organdır. Kapiller yapısı ayrışık endotelyal yapılanma gösterir ve pineal bezin kan beyin bariyeri yoktur. Çoğunlukla süperior servikal gangliyon (SCG)’dan sempatik innervasyonu vardır. Sfenopalatin ve otik gangliyonlardan da parasempatik lifler ulaşır (136).

Ana hücre tipi melatonin sentezleyen pinealositlerdir. Işık mikroskopunda belirgin çekirdekçik içeren, lobüle ve düzensiz kenarlı çekirdeğe sahip hücreler olarak görülür. Pinealositlerin komşuluğunda akso-dendritik iletişimde rol oynayan çok sayıda sinaps vardır. Pinealositlerden salgılanan melatonin, hücre içinde sentez edildikten hemen sonra sistemik kan dolaşımına ya da serebrospinal dolaşıma salınmaktadır. Hücrelerde salgı granülleri içinde bir depolanma söz konusu değildir. Epifizde ek olarak pinealositlerin arasında yer alan interstisyel hücreler, perivasküler makrofajlar, pineal nöronlar ve parakrin fonksiyon gösteren peptiderjik nöron benzeri hücreler de mevcuttur (137).



Şekil 2.10: Pineal bezin beyindeki lokasyonu (138)



Şekil 2.11: Pinealositlerin ışık mikroskopunda görüntüsü* (139)

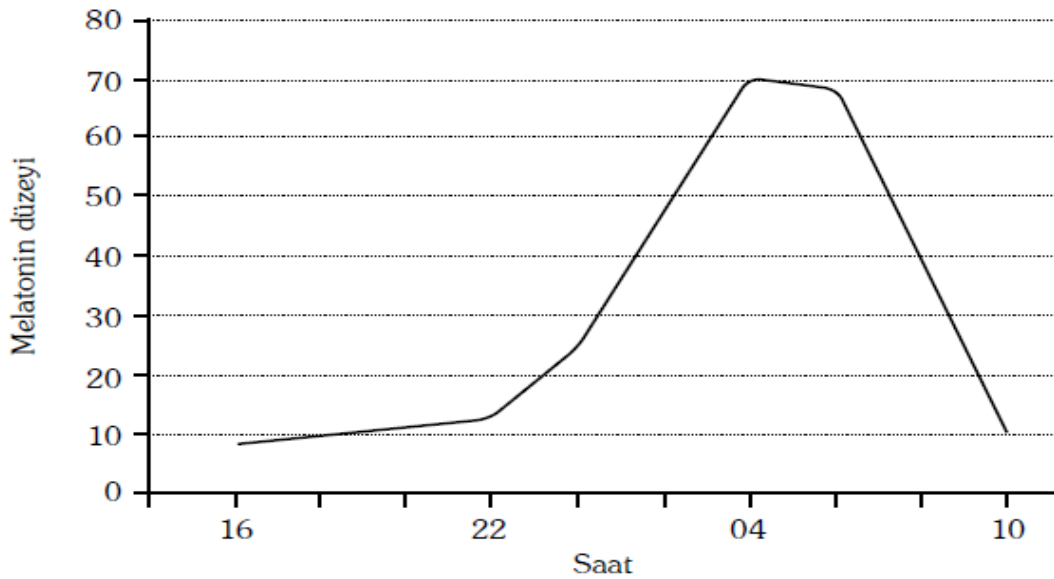
*: Hematoksilen-Eozin boyama

Amfoterik bir bileşik olduğundan hem lipofilik hem de hidrofilik özelliğe sahiptir. Dolayısıyla beyin omurilik sıvısı (BOS) dahil olmak üzere kana ve tüm vücut sıvılarına hızlı bir şekilde dağılmaktadır. Bu özelliğinden dolayı pineal bezde oluşan melatonin miktarıyla plazma melatonin düzeyleri arasında güçlü bir korelasyondan söz edilebilir (133).

2.4.2 Melatonin Sentezi

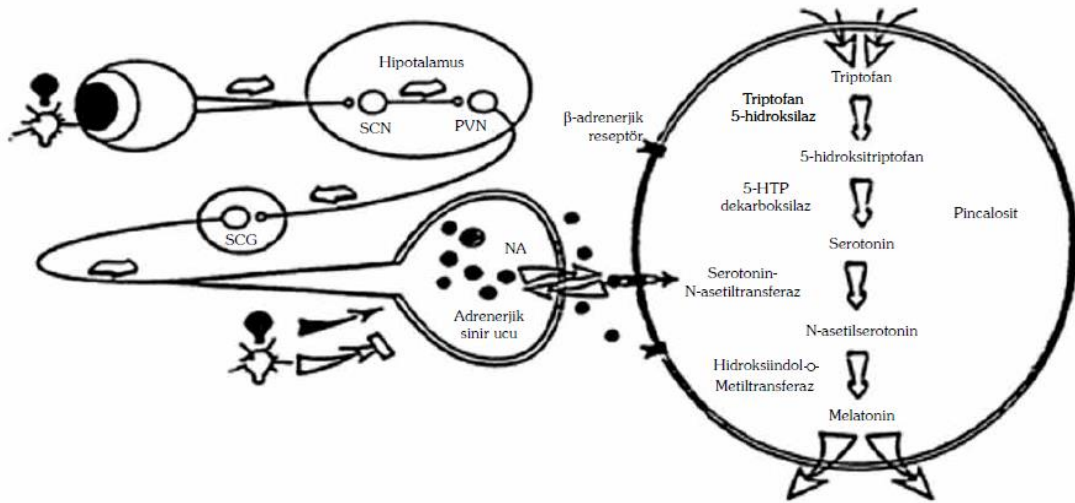
Melatonin hormonunun sentezlenmesi gözdeki retinal hücrelerin ışığa duyarlı olmasına bağlıdır. Bu duyarlılık sayesinde ışıkla hiperpolarize olan retinal hücreler, karanlıkta depolarize olur ve pineal bezde melatonin salgılamasının uyarılarını gönderir. Yani melatonin sentezi karanlığın etkisiyle uyarılır.

Melatoninin kana salınımı özel bir sirkadiyen ritme sahiptir. Akşam 21:00-22:00 saatlerinde artmaya başlar, 02:00-04:00 saatlerinde maksimuma ulaşır. Sabah 05:00-07:00 arasında azalmaya başlar ve 07:00'den sonra bazal seviyelere iner. Melatoninin kandaki konsantrasyonu gündüz saatlerinde yaklaşık 0-20 pg/dl iken, gece saatlerinde 50-200 pg/dl düzeylerine kadar yükselir. Endojen gece melatonin üretiminin gece başına yaklaşık 10-80 µg olduğu tahmin edilmektedir (5,140).



Şekil 2.12: Plazma melatonin konsantrasyonunun bir günlük seyri (141)

Karanlık bilgisi, retinadaki fotoreseptörlerce alınır ve oluşan impuls monosinaptik retinohipotalamik yol ile hipotalamustaki suprakiazmatik çekirdeğe (SCN) iletilir. Bu yapı otonom, merkezi ve sirkadyen olarak çalışmaktadır. Buraya gelen impulslar daha sonra paraventriküler çekirdeğe (PVN) geçer ve oradan da anterior medial beyin sapında ve retiküler formasyonda birleşerek omuriliğin intermediolateral çekirdeğine giderler. Buradan sempatik sinir sisteminin preganglionik adrenerjik sinirleri ile alınan sinyaller SCG'ye götürülür. SCG'den çıkan son sempatik ileti ise pineal beze ulaşır. Bu sempatik sinir lifleri, pineal bezin parankim hücreleri üzerindeki terminallerde günlük karanlık aydınlık siklusuna göre ritmik şekilde norepinefrin salgırlar. Bu madde pinealosit membranda bulunan β -adrenerjik reseptörlerce tanınır ve böylece bir reaksiyonlar serisi başlar. Pinealosit hücre membranında adenilat siklaz (AC) aktivasyonu gerçekleşir. Bunun yanında aralkilamin N-asetiltransferaz (AANAT) aktivitesinde artış olur. Bu da hücre içindeki siklik adenozin monofosfat (cAMP) düzeylerinde ve N-asetiltransferaz (NAT) enzim aktivitesinde artışa neden olur (5,7,142).

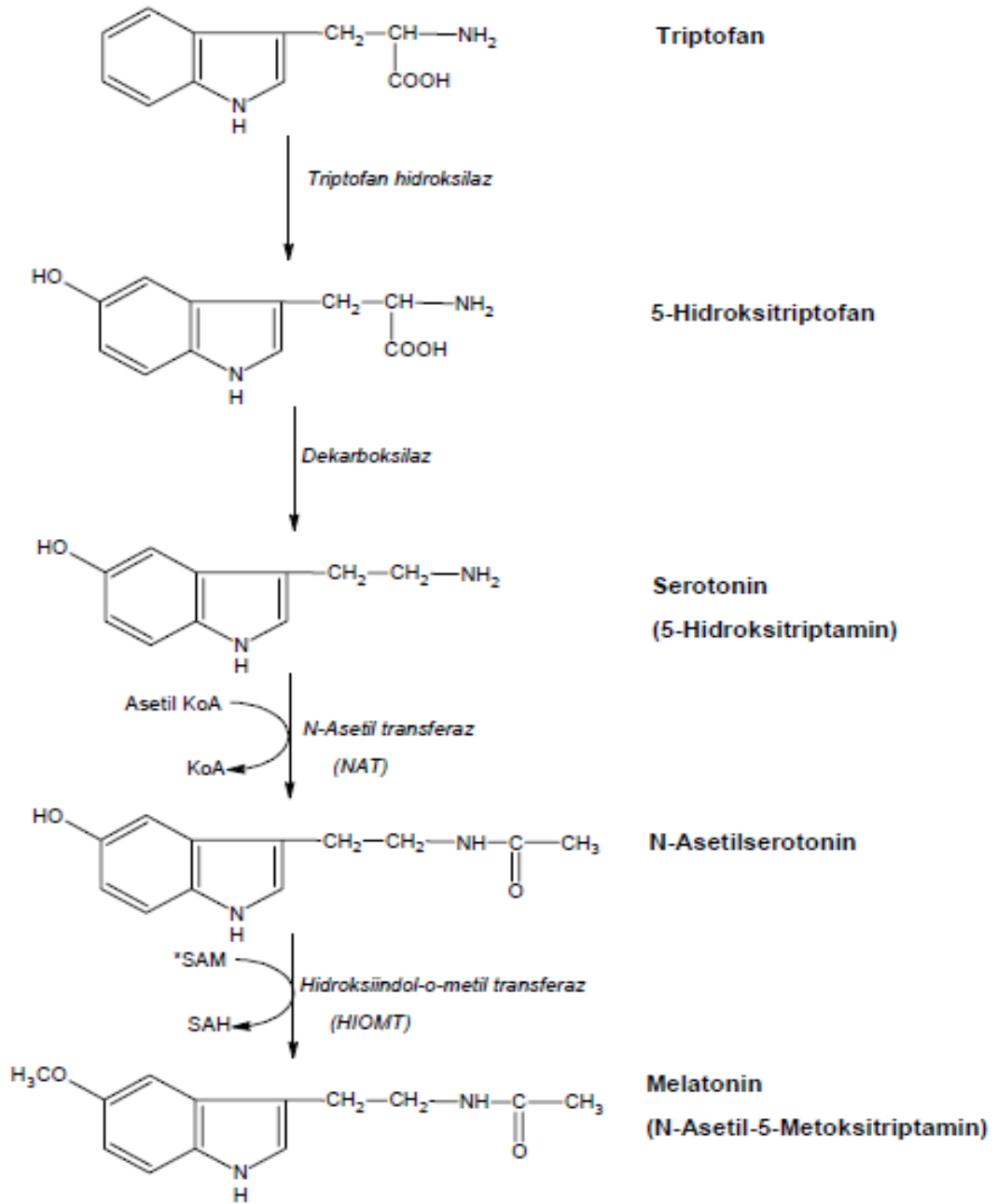


Şekil 2.13: Pineal bezde ışık etkisiyle triptofandan melatonin sentezi (143)

SCN: Suprakiazmatik çekirdek; PVN: Paraventriküler çekirdek; SCG: Süperior servikal ganglion; NA: Noradrenalin; HTP: Hidroksitriptofan

Sonrasında pinealositler içinde gerçekleşenler şunlardır:

Melatonin sentezinde öncü madde olan triptofan, esansiyel bir aminoasittir ve besinlerle dışarıdan alınması gerekir. Triptofan, plazmadan pineal beze aktif transportla alındıktan sonra, birbirini izleyen 4 enzimatik reaksiyona katılır ve melatonin sentezi tamamlanmış olur. İlk olarak triptofan, pinealositlerde triptofan hidroksilaz ile hidroksillenerek serotonin ve melatonin sentezindeki ilk ara metabolit olan ve kan beyin bariyerini kolaylıkla geçebilen 5-hidroksitriptofan (HTP)'ı oluşturur (7). Burada görev alan triptofan hidroksilaz, serotonin üretim yolağının hız kısıtlayıcı basamağıdır. Triptofan hidroksilaz enzimi, tetrahidrobiopterin (BH₄) ve O₂'yi kofaktör, vitamin B₆ (piridoksal fosfat)'yı da koenzim olarak kullanır. 5-HTP, L-aminoasid dekarboksilaz enzimi aracılığıyla karboksil grubunu kaybeder ve 5-hidroksitriptamine (serotonin) dönüşür. Serotonin kan beyin bariyerini geçemez. Serotonin daha sonra NAT enzimi aracılığı ile asetillenerek N-asetilserotonine dönüşür. N-asetilserotonin ise hidroksiindol O-metiltransferaz (HIOMT) ile N-asetil 5-metoksitriptamine yani melatonine dönüşür (143,144).



Şekil 2.14: Melatonin sentez basamakları (145)

SAM: S-adenozilmetionin, SAH: S-adenozilhomosistein

Sentezini takiben, doğrudan sistemik kan dolaşımına ve BOS içine karışan melatonin, membran reseptörleri aracılığıyla hedef hücrelerine ulaşır. Aynı zamanda lipofilik özelliğinden dolayı hücre membranını geçebilen melatonin için, sitozolik ve nükleer bağlanma yerleri de tanımlanmıştır (134,146).

Pineal bez, melatonin sentezinden sorumlu tek organ değildir. Diffüz nöroendokrin sistem içinde kabul edilen amin prekürsör gerialım ve dekarboksilasyon (APUD) sistemi hücrelerinde de melatonin sentez edildiği gösterilmiştir. Bu hücreler retina, lakrimal bezler, bronş, karaciğer, böbrek, adrenal bezler, gastrointestinal sistem, timus, plasenta, over, testis ve endometriumda tespit edilmiştir. Ayrıca mast hücresi, lökosit ve doğal öldürücü hücrelerde de melatonin sentezlendiği gösterilmiştir. Ancak buralarda sentezlenen miktarların kan dolaşımındaki melatonin düzeyine katkısı oldukça küçüktür. Pineal bez kan dolaşımındaki melatonin miktarının yaklaşık %80'ini tek başına sentezler (147).

2.4.3 Melatonin Sentezine Etki Eden Faktörler

Işık Varlığı

Melatoninin sentez ve salınımını etkileyen birçok faktör olsa da içlerinde en önemlisi ışıktır. Bir başka ifadeyle aydınlık-karanlık; gündüz-gece ritmi sentez ve salınımın düzenlenmesinde majör etkindir. Bu düzenleme mekanizması, “fotonöroendokrin kontrol” olarak adlandırılır. Işığa maruziyet, pineal melatonin sentezindeki sirkadiyen ritmi senkronize ettiği gibi melatonin sentezini akut olarak da baskılayabilir. Özellikle gece saatlerinde gözlerin yapay ışığa maruz kalması melatoninin noktural sentez ve salınımında hızlı bir düşüşe sebep olabilmektedir (148).

Işığın Dalgaboyu ve Parlaklık Şiddeti

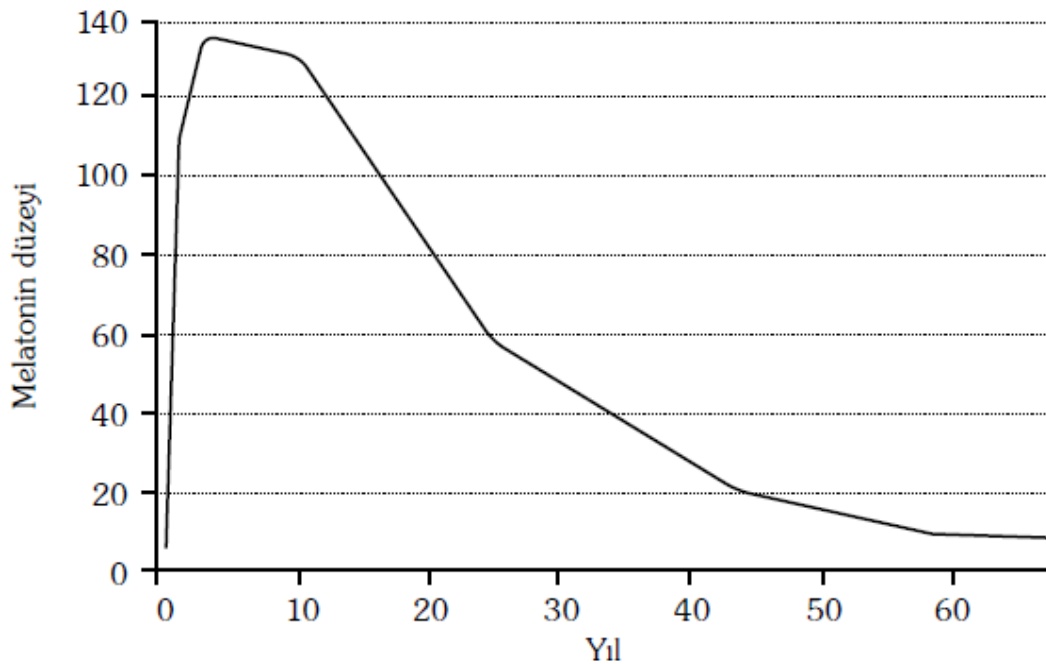
Işığın melatonin sentezi üzerine etkisi, dalga boyu ve şiddeti ile de yakın ilişkilidir. Papamichael ve arkadaşları eş zamanlı olarak mavi ve kırmızı monokromatik ışık uyguladıkları bir çalışmada, bu dalga boylarındaki ışığa maruz kalmanın, akut melatonin baskılanması ve duygudurum değişikliklerine sebep olduğu bildirilmiştir. Çalışmada, 18-35 yaş arası sağlıklı erkeklere 30 dakika süreyle kırmızı (627 nm) ve mavi (479 nm) monokromatik ışık, önce ayrı ayrı daha

sonra yine 30 dakika boyunca bir arada uygulanmış ve özellikle mavi ışık ile melatonin baskılanması arasında anlamlı bir ilişki olduğu bulunmuştur (149).

Genel olarak, ışığın parlaklık şiddeti de melatoninin baskılanma düzeyinde önemli bir parametredir ve ışık uyarının parlaklığı arttıkça, melatonin baskılama gücü de artış gösterir (148).

Yaşlanma

Serum melatonin düzeyi, yaşa göre değişkendir. Yenidoğanlarda kan melatonin düzeyleri düşüktür. Üçüncü aydan sonra melatonin düzeyi ritmik özelliğine kavuşur. Melatonin anne sütüne geçebildiğinden anne sütü ile beslenen bebeklerin beslenmeyenlere göre sirkadiyen organizasyonları daha çabuk gelişir. En yüksek melatonin düzeyi yaşamın 3. ve 5. yılları arasında saptanır. Yaşlılıkla birlikte gece melatonin salınım amplitüdü azalır (150).



Şekil 2.15: Plazma melatonin konsantrasyonunun yaşa göre değişimi (141)

Adrenerjik Uyarı

Pineal bezdeki en önemli nörotransmitter norepinefrindir. Norepinefrin, pinealosit membranındaki postganglionik reseptörlere (β_1 ve α_1 -adrenerjik reseptörler) tutunarak işlev gösterir. β_1 reseptörlerinin uyarılmasıyla melatonin sentezinin yaklaşık %85'i, α_1 reseptörlerinin uyarılmasıyla da yaklaşık %15'i gerçekleşir (133).

β -blokör ilaçlar, β_1 -adrenerjik reseptörler üzerindeki etkisiyle melatonin sentez ve salınımını azaltır. Ayrıca β -blokörlerin, nokturnal melatonin seviyelerini azaltarak, uyku düzensizliklerine neden olabileceği bildirilmektedir (151).

Yukarıda bahsedilenlerin yanında alkol, sigara, fazla çay ve kahve tüketimi, aşırı ses, yatmadan önce karnın tok olması da melatonin salgılanmasını kısmi ölçüde baskılar (152).

2.4.4 Melatonin Reseptörleri

Melatonin, hedef dokularda bulunan özgül reseptörleri aracılığıyla etkisini gösterir. Melatonin reseptörlerinin vücutta bulunduğu yerler aşağıdaki gibidir:

Beyin, retina, kardiyovasküler sistem, aort, koroner ve serebral arterler, pankreas, karaciğer ve safra kesesi, duodenal enterositler, kolon, çekum ve apendiks vermiformis, deri, parotis bezi, böbrek, immün sistem hücreleri, trombositler, kahverengi ve beyaz adipositler, prostat ve meme epitel hücreleri, over (granüloza hücreleri), miyometriyum, plasenta ve fetal böbrek (153).

Melatoninin insanlarda MT_1 (Mel_{1a} , ML_{1a} , ML_1 , $MTNR1A$) ve MT_2 (Mel_{1b} , ML_{1b} , $MTNR1B$) olmak üzere iki tip membran reseptörü bulunmaktadır. Ayrıca amfibi ve kuşlarda Mel_{1c} ($MTNR1C$) reseptörünün varlığı da gösterilmiştir (154,155).

MT_1 subtipi (yüksek afiniteli) özellikle hipofiz bezinin pars tuberalisinde, retinada ve hipotalamus (özellikle SCN)'ta ve deride eksprese edilir (146).

MT₂ subtipi (düşük afiniteli) ise, Reppert ve arkadaşları tarafından beyin (özellikle SCN), retina ve insan pitüiter bezinde tespit edilmiştir (156). Genel hatlarıyla her iki reseptör de pek çok doku ve organda bulunmaktadır

MT₁ ve MT₂ reseptörlerinin (G protein bağlı reseptörler, G_i yapılı) aktivasyonu hedef hücrelerde AC aktivitesinin inhibisyonuna neden olur. Melatoninin MT₁ reseptörüne bağlanması, cAMP üretiminin ve protein kinaz A'nın baskılanmasına yol açar. MT₂ reseptörünün aktivasyonu cAMP üretimini engellemekle birlikte, guanilat siklaz (GC) üzerinden siklik guanozin monofosfat (cGMP) üretimini de inhibe eder (146,157).

MT₁ 351 aminoasitten oluşur ve 4. kromozomda kodlanmıştır. MT₂ ise 11. kromozomda kodlanır ve 363 aminoasit içermektedir (155). Melatoninin sirkadiyen ritim ve reproduktif etkilerini MT₁ reseptör aracılığı ile gerçekleştirdiği; MT₂ reseptörünün ise beyinde ve retinada dopaminerjik sistemle ilişkili olduğu düşünülmektedir (158).

Melatoninin insanlardaki bu iki membran reseptörünün haricinde hücre içi reseptörleri de bulunmaktadır:

MT₃ (QR2, kinon redüktaz 2) enzim yapılı olup, kinonların elektron transfer reaksiyonlarını inhibe ederek oksidatif stresin önlenmesinde rol oynayan redüktaz grubuna aittir (159). MT₃ reseptörü karaciğer, böbrek, kalp, akciğer, bağırsak, kas ve kahverengi yağ dokusunda eksprese edilir ve bir detoksifikasyon enzimidir (157).

Son olarak da melatoninin bir nükleer reseptörü bulunmaktadır. Retinoid Z reseptör (RZR)- α ya da retinoid yetim (orphan) reseptör (ROR)- α aracılığıyla melatonin, nükleustaki transkripsiyon faktörlerine bağlanır (159). Melatoninin immünomodülatör ve antitümör etkilerinin bu reseptör aracılığıyla gerçekleştiği düşünülmektedir (160).

2.4.5 Melatonin Metabolizması

Plazmadaki melatonin miktarının %60-70'i albumine bağlı olarak taşınır ve yarı ömrü 30-50 dakikadır (8,133). Temel olarak karaciğerde sitokrom P450

(CYP)'1A2 ve CYP2C19 tarafından metabolize edilir. En önemli metaboliti 6-hidroksimelatoninidir. 6-hidroksimelatonin daha sonra konjugasyona uğrar. İdrardaki temel metaboliti 6-hidroksimelatonin sülfat (6-SOM)'tır ve bu metabolit, plazma melatonin konsantrasyonu ile yakın ilişkilidir. Melatonin metabolitlerinin yaklaşık olarak %50-80'i sülfat deriveleri ve %5-30'u glukuronid deriveleridir ve bunlar idrar yoluyla atılır. Melatoninin yaklaşık olarak %1'lik kısmı ise değişmeden atılır (5,133).

Melatonin ve 6-Sülfatoksimelatonin

Plazma melatonin ölçümü yaparken dikkate alınması gereken en önemli husus ve belki de sorun melatoninin sirkadiyen döngüsünün olmasıdır. Uygun zamanlama bu bakımdan önem arz etmektedir. Sirkadiyen ritminden dolayı gece boyunca yüksek seviyelerde salgılanmaktadır ve daha önce de bahsedildiği gibi 07:00'dan sonra bazal seviyelerine düşmektedir. İnsan plazmasında melatonin örneklemesinin rutin kan alma uygulamasına uygun olmadığını belirtmek önemlidir; rutin kan alma, tipik olarak sabah saat 08:00 ile 11:00 arasında melatonin seviyelerinin düşük olduğu ve gece seviyeleri için tahmin değerinin olmadığı zamanlarda yapılır. Melatonin ölçümü için olası alternatifler, gece tükürükte melatonin veya sabah idrarda 6-SOM metaboliti ölçümüdür. 6-SOM ölçümü önceki gece melatonin seviyelerinin iyi bir şekilde tahmin edilmesini sağlar (161,162).

6-SOM, melatoninin başlıca üriner metabolitidir. Özellikle 24 saatlik idrar örneklerindeki ölçümü, melatonin sekresyonunun sağlam, basit ve güvenilir bir şekilde değerlendirmesini sağlamaktadır. Bu konuda yapılan birkaç araştırma, sağlıklı gönüllülerde 24 saatlik idrar örneklerinden bakılan 6-SOM ile plazma melatonin seviyeleri arasında sağlam bir korelasyon olduğunu doğrulamıştır (163,164). 6-SOM ölçümü, melatoninini incelemek için invazif olmayan bir yöntemdir. Uzun bir periyotta arzu edildiği zaman kişiyi rahatsız etmeden tekrar ölçüm imkânı sunar.

Tüm bunlar göz önüne alındığında melatoninle ilgili insan çalışmalarında kullanılacak en ideal ve kolay ölçümün 24 saatlik idrar örneğinden 6-SOM bakmak olduğu söylenebilir.

2.4.6 Melatonin Fizyolojik Etkileri

Melatonin günümüzden yaklaşık 62 sene önce bulunmuş olmasına rağmen, fizyolojik önemi nedeniyle günümüzde halen pek çok çalışmaya konu olmaktadır. Keşfinden bu yana sellüler ve moleküler düzeyde etkisinin anlaşılabilmesi için yapılan pek çok çalışma ile büyük bir ilerleme kaydedildiği bildirilmektedir.

Melatonin gerek fizyolojik, gerekse eksikliğinde görülen patolojik mekanizmalarda rol almaktadır. Vücutta birçok doku ve organda reseptörlerinin bulunması dolayısıyla oluşturduğu etki spektrumu da oldukça geniştir. Bu nedenle melatonin hakkında yoğun bilgi birikimi söz konusudur (Tablo 2.6).

Biz çalışmamızda diyabetle ve DPN ile olan ilişkisini araştırmış olup konu ile daha ilgili olduğunu düşündüğümüz antioksidan etkileri üzerinde durduk.

Melatonin ve Antioksidan Etkileri

Oksidatif stresin oluşturduğu ROS, yüksek kimyasal aktiviteye sahiptir. Başlıcaları; süperoksit (O_2^-), hidroksil (OH^-), peroksil (ROO^-) ve alkoksil (RO^-) radikalleridir (165).

ROS, en temel olarak mitokondride ve ayrıca mitokondriyal olmayan bölgelerde, örneğin peroksizomlarda ve daha önce bahsedildiği gibi birçok farklı yolla üzerinden üretilir. Serbest radikaller dış atomik orbitalde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektronlara sahip yüksek enerjili, unstabil reaktif moleküllerdir. Bu nedenle vücutta ROS birikmesi protein, lipid, DNA ve nükleotid gibi birçok biyolojik materyalle etkileşerek zarar verirler. Bu zararın hem yaşlanmayı arttırdığı hem de yaşlanmayla arttığı düşünülmektedir. Diyabet, ateroskleroz, kanser, sepsis, respiratuvar distres sendromu, dejeneratif sinir sistemi hastalıkları gibi birçok patoloji serbest radikallerle ilişkili bulunmuştur (166,167).

Oldukça zararlı olan bu radikallerin vücuttan temizlenmeleri antioksidan mekanizmalarla mümkündür. Vücutta oksidan etkili reaktif radikaller ve antioksidan mekanizmalar arasındaki denge son derece önem arz eder.

Melatoninin bir antioksidan olduğu, literatürde ilk kez 1991 yılında Ianoş ve arkadaşları (168) tarafından öne sürülmüş ve daha sonra yapılan in vitro (169) ve in vivo (170) çalışmalarla kanıtlanmıştır.

Melatoninin antioksidan etkisi, yapısındaki pirol halkasından kaynaklanmaktadır. Doku hasarına yol açan bazı toksinlerle oluşan oksidatif stres melatonin tarafından engellenir. Melatonin, bu radikal toplayıcı özelliği için bağlanma bölgesine veya reseptöre ihtiyaç duymaz (171).

Melatoninin OH⁻ (hidroksil), H₂O₂ (hidrojen peroksit), ¹O₂ (singlet oksijen), HOCl (hipokloröz asit), NO (nitrik oksit), ONOO⁻ (peroksinitrit) gibi serbest radikallerin her birini detoksifiye ettiği ve böylece onların biyomoleküller üzerindeki zararlı etkilerini önleyebildiği bildirilmektedir (172,173). Ayrıca birçok antioksidanın kan beyin bariyerini geçememesine rağmen melatoninin geçmesi onun üstün bir antioksidan olarak görülmesini sağlamıştır. Kolaylıkla kan beyin bariyerini, kan testis bariyerini ve plasentayı geçebilen melatonin tüm intraselüler komponentlere rahatlıkla ulaşabilir ve bulunduğu her yerde antioksidan etkinlik gösterebilir (146,174).

Hücre membranı ile temas ettiğinde, reseptörleri aracılığıyla fosfolipid tabakanın dış yüzeyine tutunan melatonin, radikallerle membrandan önce temasa geçerek onları detoksifiye eder ve membranı korur. Çekirdeğe kadar ulaşabilme özelliği, DNA'nın da oksidatif hasara karşı korunmasında, melatonine bir üstünlük sağlamaktadır (168).

Çeşitli antioksidanların gücünü belirlemek amacıyla yapılan karşılaştırmalı çalışmalar, melatoninin bilinen en güçlü antioksidanlar arasında olduğunu göstermektedir. Melatoninin askorbat, α-tokoferol ve GSH gibi bilinen birçok antioksidandan daha güçlü olduğu. GSH'dan 5 kat ve mannitolden yaklaşık 14 kat daha güçlü bir şekilde OH⁻ radikalini yakaladığı in vitro çalışmalarla gösterilmiştir (172,175).

Melatoninin klasik antioksidanlardan önemli bir farkı daha vardır. Klasik antioksidanlar etkilerini gösterdikten sonra, kısmen prooksidan olan maddelere dönüşürler. Yani bu maddeler süpürdükleri oksidan maddelerden sadece daha az zararlıdır. Ancak melatonin, oksidan maddelere etki ettikten sonra moleküler rearanjmana uğrar. Bu rearanjman ürünlerinin her biri de kendi başına güçlü bir antioksidandır. Melatonin redoks döngüsüne girmez ve bu nedenle oksidasyonu desteklemez. Bu özellik bir antioksidan ajan için çok değerlidir ve melatonin bu özelliği sayesinde “süisidal veya terminal antioksidan” olarak nitelendirilir. Ayrıca, bu ürünlerin çoğu adım başına birden fazla ROS temizler, böylece bir melatonin molekülü, bir veya daha az ROS'u temizleyen klasik antioksidanlara kıyasla 10 ROS'a kadar temizleme kapasitesine sahiptir (176,177).

Melatonin; doğrudan serbest radikalleri gidermesinin yanı sıra reseptörleri aracılığı ile antioksidan enzimleri aktive ederek veya prooksidan enzimleri inhibe ederek de koruyucu özellik göstermektedir. Farmakolojik ve muhtemelen fizyolojik düzeylerdeki melatoninin, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz, katalaz ve γ -glutamilsistein sentetaz gibi antioksidan enzimlerin gen ekspresyonlarını ya da aktivitelerini artırdığı ve bu yolla da dolaylı olarak oksidatif stresi baskıladığı bildirilmektedir (172,178).

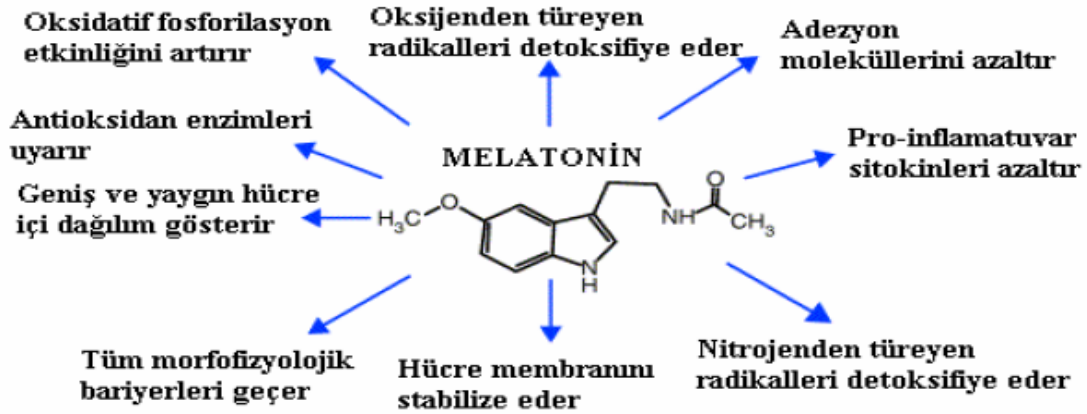
Melatonin, güçlü bir endojen antioksidan olan nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2 (Nrf2) ekspresyonunu yükseltir; Hem oksijenaz-1 gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonunu artırıp, oksidatif stresi ve nükleer faktör- κ B (NF- κ B) kaskadının aktivasyonunu azaltır (179). Melatonin, MT₂/Akt/NF- κ B yolu aracılığıyla fosfataz ve tensin homolog (PTEN) ile indüklenen kinaz 1 (PINK1) ekspresyonunu uyararak hiperglisemi koşulları altında nöronal hücrelerde apoptozu önler (180).

Melatonin ayrıca nitrik oksit sentaz, siklooksijenaz-2, miyeloperoksidaz ve eozinofil peroksidaz gibi prooksidan enzimlerin ekspresyonunu da inhibe eder (181).

Tüm bu fizyolojik etkilerinin yanında; oksidatif doku hasarına yol açan kainik asit (182), L-sistein (183), sisplatin (184), adriyamisin (185) ve

streptozotosin (186) gibi toksinlerle indüklenen oksidatif stresin de melatonin ile önlenbildiği, in vivo çalışmalarla da gösterilmiştir.

Sonuç olarak melatonin, direkt antioksidan olarak, antioksidan enzimleri indükleyerek, prooksidan enzimlerin inhibe ederek ve daha pek çok farklı yoldan etkisini göstermektedir (Şekil 2.16).



Şekil 2.16: Melatoninin hücreleri oksidatif hasardan koruyan etkileri (6)

2.5 Melatonin ve Diyabetes Mellitus

DM'nin, morbidite ve mortaliteyi artıran birçok kronik komplikasyonlara yol açabildiği bilinmektedir. Bu nedenle, DM ve komplikasyonlarının gelişmeden önlenmesi, mümkün olduğunca geciktirilmesi ya da morbiditenin en aza indirilmesi için etkili yöntemlerin araştırılması önemlidir.

Diyabet komplikasyonların gelişiminde pek çok patolojik süreç etkili olup, en önemli unsurlardan biri de kronik hiperglisemide artan oksidatif strestir. Tam da bu noktada melatoninin önemi bir kez daha anlaşılmaktadır. Antioksidan ve antiinflamatuvar etkili melatonin ile diyabet gibi kronik ve ilerleyici bir hastalığın ilişkisi pek çok farklı açıdan çalışmalara konu olmuştur. Oksidatif stresin diyabetle ilişkisi, doku ve organlarda oluşturduğu hasar, melatoninin oluşan bu hasarı önlemek ve tersine çevirmek için aldığı rol ve DM üzerindeki etkileri ya da tam tersi olarak diyabetin melatonin sentezi ve salınımındaki etkisi, bu konuda önem arz eden başlıca unsurlardır.

2.5.1 Melatoninin Pankreas ve Diyabet Üzerindeki Etkisi

Melatoninin Protektif Etkisi

Çalışmalar, melatoninin DM ile birçok farklı şekilde ilişkilendirilebileceğini göstermiştir. Ortaya çıkan kanıtlar, melatoninin en başta oksidatif hasarı iyileştirerek DM ve diyabetik komplikasyonları azalttığını göstermektedir. Pankreas β hücreleri, yüksek endojen seviyelerde ROS ürettikleri ve antioksidan enzimlerin çoğunu eksprese etmedikleri için özellikle oksidatif strese oldukça duyarlıdır. Bir ROS temizleyicisi olarak hizmet eden melatonin, pankreas dokusunu korur ve rejenerasyonuna yardımcı olur (187,188).

Histopatolojik çalışmalar streptozosin (STZ) ile indüklenen diyabetik sıçanlarda periferik ve santral nöropatide melatoninin nöroprotektif etkisini doğrulamıştır. Melatoninin siyatik sinirlerde, miyelin kılıfının vakuolizasyonunu, aksonlarda miyelin kaybını ve dejenere liflerin sayısını azalttığı bildirilmiştir. Melatonin ile tedavi edilen diyabetik sıçanlarda serebral kortekste nörodejeneratif ve nekrotik değişikliklerde azalma görülmüştür (189).

Diyabetik süreçte PINK1 ekspresyonunun susturulması, mitokondriyal ROS üretiminin artmasına ve apoptotik sürecin aktivasyonuna neden olur. PINK1 ekspresyonunu uyararak, hiperglisemi koşulları altında nöronal hücre apoptozunu önlemektedir (180). Schwann hücrelerinde ayrıca B-hücreli lenfoma 2 (Bcl-2), NF- κ B, rapamisin memeli hedefi (mTOR), Wnt sinyal yollarını düzenleyerek mitokondriyal disfonksiyon ve apoptozu önler ve nöropatinin önüne geçer (190).

Baydaş ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada diyabetli ratlar sürekli ışık altında tutularak melatonin sentezleyebilme yetenekleri engellenmiştir. Sonrasında, subkutan melatonin enjeksiyonu yapılan diyabetli grupta karaciğer, böbrek ve beyin dokusunda malondialdehid (MDA, vücutta lipid peroksidasyonunun yani dolayısıyla oksidatif stresin bir belirticidir.) düzeyi düşük bulunurken, glutatyon peroksidaz enziminin aktivitesinde artış görülmüştür. Özellikle beyin dokusundaki MDA düzeyi daha fazla düşmüştür (191).

Baydaş ve arkadaşları tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise melatonin ve vitamin E'nin diyabetik ratlarda oksidatif stres durumuna etkileri kıyaslanmış. Melatonin uygulanan hayvanların bakılan tüm dokularında MDA düzeyi, vitamin E uygulanan hayvanlardan daha düşük bulunmuştur (192).

Ancak melatoninin pankreas, diyabet ile olan ilişkisi sadece proteksiyonla sınırlı kalmaz. Yapılan çalışmalar melatoninin karbonhidrat metabolizması, glukoz homeostazı ve insülin sekresyonu üzerinde de söz sahibi olduğunu göstermiştir.

Melatonin ve İnsülin Duyarlılığı

2018'de yapılan bir sistematik incelemeye göre, melatonin, insülin duyarlılığını artırarak ve APG'yi düşürerek daha iyi glisemik kontrolde potansiyel bir role sahiptir (193).

Endojen melatonin seviyelerini uzaklaştırmak için pinealektomi uygulanan hayvanlarda glukoz taşıyıcı tip 4 (GLUT4) geninin ekspresyon seviyesi azalır, bu da sonuç olarak glukoz intoleransı ve insülin direnci ile sonuçlanır (194).

Pinealektomize sıçanlara melatonin uygulandığında, hepatosit membranlarındaki insülin reseptörlerinin sayısında ve insüline olan duyarlılığında artış görülmüştür (195).

Azalan melatonin salgısı seviyesi, bir hastada gelişen tip 2 DM riskinin artmasıyla bağımsız olarak ilişkilidir. Bu nedenle, değişken melatonin membran reseptörleri ve düşük melatonin salgılanması, tip 2 DM gelişme riskini artırmaktadır (196).

Çeşitli genom çalışmaları, MT₂ reseptöründe meydana gelen tekli nükleotid polimorfizmlerinin, yükselen PG ve HbA1c seviyesi ve gestasyonel diyabet insidansının artmasıyla ilişkili olduğunu saptamaktadır. Melatonin reseptöründe fonksiyon kaybına neden olan bu polimorfizmler artış gösteren tip 2 diyabet insidansı ile ilişkilendirilmektedir (197).

Melatonin ve İnsülin Sekresyonu

Melatoninin insülin sekresyonu üzerindeki etkisini araştıran çalışmalar çelişkilidir. Melatoninin insülin sekresyonu üzerinde inhibitör (198,199), nötr (200) veya stimülan (201) etki yaptığını gösteren çalışmalar vardır.

Bununla birlikte, inhibe edici etki, klonal β hücreleri ile çoğaltılmış deneylerde tutarlıdır (202,203).

Gündüz vakti melatonin seviyesi düşüktür ve insülin salgısı yüksek seyretmektedir; geceleri ise glukoz seviyelerinde yükseliş ile insülin seviyelerinde düşüş, melatonin seviyesindeki yükselişle eşzamanlıdır (204).

Melatonin, insülin salgısı üzerindeki etkisini MT_1 ve MT_2 reseptörleri ile gösterir. Melatonin, bu reseptörlerine bağlandığında, G_i protein sinyalleme kaskadı aktive olur ve daha sonra cAMP azalmasına neden olan AC/cAMP ve GC/cGMP yollarını inhibe eder. cAMP, insülin salgısının güçlendiricisidir. Bu nedenle cAMP azaldığında insülin üretimi de azalır (199).

Melatonin antiinsülineryik etkilerini sadece pankreasta bulunan reseptörleri ile değil, santral sinir sistemi üzerinden de gösterdiği öne sürülmektedir. Shima ve arkadaşları 1997'de yaptıkları hayvan çalışmasında melatoninin otonom sinir sistemi yoluyla, kan glukozunu düzenlemekte görevli olan hipotalamik SCN üzerinde etkili olduğunu öne sürmüşlerdir. Bu görüş SCN'de yüksek seviyede melatonin reseptörü tespit edildiği ve melatoninin aktifleştirdiği antiinsülineryik bir alan olabileceği belirtilerek savunulmuştur (205). Devam eden yıllarda melatoninin hipotalamik SCN'deki insülin reseptörlerini aktive ettiği ve hipotalamusun insüline olan duyarlılığını artırdığı tespit edilmiştir (206).

2.5.2 Diyabetin Melatonin Üzerindeki Etkisi

Melatoninin diyabetteki etkileri kadar diyabetik süreç ve hipergliseminin de melatonin üzerindeki etkileri de büyük önem arz etmektedir.

Diyabetin komplikasyonlarından DON, pineal bezin innervasyonuna olumsuz etki eder ve bu durum tıpkı ışık ile melatonin salınımı arasındaki ilişkiye benzetilebilir (207).

Melatonin salgısının, vücutta artan insülin direnci ile birlikte azaldığı gösterilmiştir (208). Ayrıca 2014 yılında yapılan bir hayvan çalışmasında, STZ ile indüklenen diyabetik sıçanların epifiz bezinde melatonin üretiminin hiperglisemi nedeniyle zarar gördüğünü kanıtladı. Bu nedenle, araştırmacılar melatonin eksikliğinin diyabetik hastaları temsil eden bir damga niteliğinde olabileceğini öne sürmüşlerdir (209). Diyabetteki bu melatonin düşüklüğünün insülinizasyonla önüne geçilebildiği rat çalışmalarında gösterilmiştir (210).

Melatonin reseptörlerinin transkripsiyon seviyeleri görünüşte plazma melatonin konsantrasyonu ile ters orantılıdır. Bu nedenle düzenlemenin muhtemelen negatif bir feedback mekanizması tarafından regüle edildiği düşünülmüştür. Tip 2 DM hastalarında vücutta dolaşan sistemik melatonin seviyesinin azalması ile birlikte pankreas hücrelerinde melatonin membran reseptörünü kodlayan mesajcı ribonükleik asit (mRNA)'in upregüle ekspresyonu gözlenmiştir. Reseptörlerin daha yüksek ekspresyonu, tip 2 DM hastalarında düşük melatonin telafi etmek için olduğu düşünülmektedir (211,212). Bu da bizleri pankreasın fonksiyonlarını yerine getirebilmek için melatonine ihtiyaç duyduğu ve diyabetik süreç ile melatonin düşüklüğünün birbirini pozitif feedback bir mekanizmayla indüklediği sonucuna ulaştırmaktadır.

2.5.3 Melatoninin Diyabette Bir İlaç Olma Potansiyeli

Melatonin, nörodejeneratif hastalıkları, kanseri, kardiyovasküler hastalıkları ve diğer birçok klinik sorunu tedavi etmek için potansiyel terapötik etkilere sahiptir (213). DM'de de oksidatif stresin zararlarını daha ılımlı hale getirmek amacı ile çeşitli antioksidanların kullanımı yaygın olarak araştırılmaktadır.

Diyabette endojen antioksidan koruma sisteminde bozukluklar nedeniyle diyabetin tedavisinde eksojen antioksidanların uygulanması ve rutin tedavi protokollerine eklenmesi konusu üzerinde durulmaktadır. Bu yolla diyabetin oksidatif stres kaynaklı komplikasyonlarının önüne geçilebileceği ya da progresyonun yavaşlatılabileceği öne sürülmektedir (214).

Yapılan alışmalar melatoninin diyabet komplikasyonlarına yönelik önemli bir tedavi seçeneği olabileceğini göstermektedir. Sürekli olarak, kronik melatonin uygulamasının in vivo hiperinsülinemiye iyileştirdiği gösterilmiştir (215).

Yavaş salınımlı 2 mg melatonin ile uzun süreli tedavi (5 ay)'nin etkilerinin incelendiği bir araştırmada, melatoninin HbA1c seviyesini düşürdüğü ve daha iyi glisemik kontrol sağladığı görüldü (216).

Toplam 7 hafta süren deneysel bir çalışmada melatoninle tedavi edilen sıçanlarda melatoninin uygulama yöntemleri de kendi arasında karşılaştırılmış, melatonin bir gruba oral, diğerine intraperitoneal 200 µg düzenli olarak verilmiştir. Oral melatonin tedavisinin de antioksidan statüyü baskılamada intraperitoneal yolla eşit etkilere sahip olduğu belirtilmiştir. Melatonin verilen diyabetik graplarda MDA düzeylerinin, verilmeyen gruba göre düşük bulunduğu, dolayısıyla lipid peroksidasyonunun önlendiği bildirilmiştir (217).

Tüm bunların ek olarak özellikle DM'li erkek hastalar otonom bir nöropati olan erektil disfonksiyon açısından da risk altındadır. Diyabetik sıçanlarda yapılan histolojik analizde, melatonin uygulamasından sonra diyabetik sıçanlarda korpus kavernozumun endotel yoğunluğunda bir artış olduğu, bununla birlikte korpus kavernozumundaki düz kas ve kollajen oranlarının değişmediği gösterilmiştir. Sonuç olarak, kronik melatonin tedavisi, diyabetik sıçanlarda erektil disfonksiyonun önlenmesinde olumlu etkilere sahiptir (218).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

"Diyabetiklerde ve Diyabetik Periferik Nöropatisi Olanlarda İdrar 6-Sülfatoksimelatonin Düzeyleri" başlıklı 2011-KAEK-27/2019-E.1900088397 nolu projemiz, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Rektörlüğü Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun almış olduğu 24.07.2019 tarih ve 14-11 nolu kararla etik kurul onayı aldı.

Çalışmamız Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu tarafından desteklendi (Proje Kodu: TTU-2020-3111).

Bu çalışmanın katılımcıları Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı Polikliniği'ne ve İç Hastalıkları (Genel Dahiliye) Bilim Dalı Polikliniği'ne Ekim 2019-Temmuz 2020 tarihleri arasında başvuru yapan, araştırmaya alma ve almama kriterleri sonucunda katılımı uygun bulunan ve aydınlatılmış onamı alınan bireylerden seçildi.

3.1 Araştırmaya Alma Ölçütleri

Polikliniklerimize başvuran 25-75 yaş arası 127 katılımcı belirlendi ve katılımcılar diyabetik olup DSPN olanlar [DM(+)NP(+) grubu], diyabetik olup DSPN olmayanlar [DM(+)NP(-) grubu] ve kronik hastalığı olmayıp, genel sağlık kontrolü için gelenler grubu (Kontrol grubu) olmak üzere 3 gruba ayrıldı.

Diyabetli hastalar ya daha önceden tip 2 DM tanılı olup antidiyabetik ilaç kullanan hastalardan ya da ADA kriterlerine göre yeni tanı tip 2 DM olan hastalardan seçildi.

Tüm katılımcıların nöropatisi olup olmadığı Michigan nöropati tarama aracı (MNSI) kullanılarak belirlendi.

Kontrol grubu ise diyabet ve nöropati kriterlerini karşılamayan, çalışmanın sonuçlarına etki edecek herhangi bir hastalığı ve ilaç kullanım öyküsü bulunmayan katılımcılardan oluşturuldu.

3.2 Araştırmaya Almama Ölçütleri

Plazma melatonin konsantrasyonunu ve beraberinde çalışmamızda da kullandığımız idrar 6-SOM konsantrasyonunu etkileme potansiyeline sahip bir durumu, DM dışında kronik bir hastalığı ya da ilaç kullanımı olan bireyler çalışmamız dışında tutuldu. Bunlar arasında diğer endokrinopatiler, renal sistem hastalığı [glomerüler filtrasyon hızı (GFR)<45 ml/dk/1.73 m²], solunum sistemi hastalığı, gastrointestinal sistem hastalığı, genitoüriner sistem hastalığı, kanser, aktif otoimmün veya romatolojik hastalığı, kronik enfeksiyon hastalığı, alerjik hastalığı, uyku bozuklukları, psikiyatrik hastalıklar, son 6 ay içinde β -blokör veya selektif serotonin gelialım inhibitörü kullanan hastalar ve gebeler bulunmaktadır. Üriner 6-SOM düzeylerini etkileyebileceğinden proliferatif diyabetik retinopati (PDR)'si olan DM hastalarını çalışmamızın dışında tuttuk. Ayrıca yaş aralığımızın dışında olan bireyler, aydınlatılmış onam vermeyen bireyler de çalışmamızın dışında bırakıldı. Nöropatisi olan hastalardan vitamin B₁₂ eksikliği ve tiroid fonksiyon bozukluğu olanlar çalışmaya dahil edilmedi. Atipik nöropati kliniği olanlar (duyudan daha şiddetli bir motor kayıp, semptom ve bulgulardaki asimetri ve hızlı progresyon) da çalışmaya dahil edilmedi.

3.3 Veri Toplama ve Katılımcıların Değerlendirilmesi

Araştırmamıza katılan bütün katılımcılardan evde 24 saatlik idrar örneği toplamaları ve topladıkları idrarla birlikte, kendileriyle belirlemiş olduğumuz bir günde gelmeleri istendi. Katılımcılar idrarlarını gelmeden bir gün önce toplamaları, idrar topladıkları günün sabah ilk idrarını almayıp sonrasındaki bütün idrarlarını gün boyunca almaları, o gece yemek yemeden saat 22:00-23:00 gibi karanlık bir odada uyumaları, gece idrarları ve ertesi günün sabah ilk idrarlarını almaları konularında uyarıldı. Geldiklerinde topladıkları 24 saatlik idrar miktarları ölçülüp not alındı. 6-SOM bakılmak üzere 24 saatlik idrar numunesinden 100 cc kadar numune kabına alınıp numaralandırıldı ve değerlendirileceği tarihe kadar -80°C dolapta saklandı.

Tüm katılımcıların boy ve kilo ölçümü yapıldı. Katılımcıların APG, LDL, HDL, total kolesterol (T.kol), trigliserid, alanin transaminaz (ALT), kreatinin, idrar

mikroalbümin tetkikleri hastane bilgi ve yönetim sisteminden alınarak kayıt edildi. Tüm kan örnekleri en az 8 saat açlıktan sonrası, sabah saat 09:00-11:00 saatleri arasında alındı.

APG, fotometrik yöntem (heksokinaz ile enzimatik referans yöntem); LDL, HDL, T.kol, trigliserid ve ALT (erkek: 5-41 u/L, kadın: 5-33 u/L) enzimatik kolorimetrik yöntem; kreatinin (erkek: 0,7-1,2 mg/dl, kadın: 0,5-0,9 mg/dl) kinetik kolorimetrik yöntem (Jaffe reaksiyonu); idrar mikroalbümin immunoturbidimetrik yöntem ile Roche Hitachi cobas c 6000 c 501 (SN 1179-05) cihazı kullanılarak çalışıldı. Vitamin B₁₂ (197-771 pg/ml) ve TSH (0,27-4,20 µIU/ml) elektrokemilüminesans immünolojik test (ECLIA) yöntemi ile Roche Hitachi cobas 6000 e 601 (SN 1179-05) cihazı kullanılarak çalışıldı. HbA1c ise yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) prensibi ile Arkray Adams A1c HA-8160 (SN 11004025) cihazında çalışıldı. Katılımcıların GFR değerleri Böbrek Hastalığında Diyet Modifikasyonu (MDRD) Çalışması formülü kullanılarak hesaplandı.

Diyabetik olan tüm katılımcıların verdikleri anamnez bilgilerinden yola çıkılarak kullandıkları ilaçları sadece oral antidiyabetik (OAD) kullananlar (OAD grubu) ve insülin ya da insülin+OAD kullananlar (insülin±OAD grubu) olarak; diyabet süreleri yıl olarak; nonproliferatif retinopati var/yok olarak not alındı. Nöropati taraması tüm katılımcılara MNSI ile yapıldı.

3.3.1 Alınan İdrar Örneklerinde 6-Sülfatoksimelatonin Değerlendirmesi

24 saatlik idrar numunelerinden numune kabına yaklaşık 100 cc kadar alınan numuneler numaralandırıldı ve değerlendirileceği tarihe kadar -80 °C dolapta muhafaza edildi. Örneklem ve veri toplama işlemlerine son verildikten sonra alınan numunelerdeki 6-SOM ölçümleri enzim bağlı immünosorbent deneyi (ELISA) kit protokolü ile yapıldı.

6-OH Melatonin Sülfat ELISA Kit Protokolü

İdrar örneklerinden 6-OH melatonin sülfat ölçümü ELISA kiti (GenWay Biotech Incorporated, Cat No 40-371-25006, USA) kullanılarak gerçekleştirildi.

Bu protokole göre;

1. Kit içeriği ve idrar örnekleri oda sıcaklığına geldikten sonra çalışmaya başlandı.

2. Kitin içinde bulunan stok yıkama solüsyonu 24X'ten X konsantrasyona dilüe edildi.

3. Kitin içinde bulunan stok biotin ve horseradish peroksidaz (HRP) 100X konsantrasyondan X konsantrasyona düşürülerek biotinli ve HRP'li çalışma solüsyonları hazırlandı.

4. Kitin içinde bulunan liyofilize formdaki stok standarta 1ml standart sulandırma solüsyonu pipetlendi. 10 dk sabit konumda karıştırmadan çözülmesi beklendikten sonra pipetle homojen hale getirildi.

5. Stok standart 300 ng/ml konsantrasyon olarak hazır hale getirildikten sonra seri dilüsyon yapılarak stok standarttan hariç 6 farklı konsantrasyonda sırasıyla (150- 75- 37,5- 18,75- 9,38- 4,69) hazırlandı.

6. Kitin içinde bulunan standart sulandırma solüsyonu ise blank olarak kullanıldı.

7. Plate'in kuyucuklarına hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki 7 standart ve blank pipetlendi (50 µl).

8. Hemen ardından diğer kuyucuklara her biri için 50 µl olacak şekilde numuneler pipetlendi.

9. Daha sonra beklemeden hazırlanmış olduğumuz biotinli çalışma solüsyonu plate'in tüm kuyucuklarına 50'şer µl pipetlendi.

10. Plate 45 dk 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.

11. İnkübasyon sonunda plate, otomatik yıkama cihazında (Biotek ELx50) 3 kere yıkama solüsyonu ile yıkandı.

12. Daha sonra hazırlamış olduğumuz HRP çalışma solüsyonu tüm kuyucuklara 100'er µl pipetlendi.

13. Plate 37 °C'de 30 dk inkübasyona bırakıldı.

14. Inkübasyondan sonra plate otomatik yıkama cihazında 5 kere yıkama solüsyonu ile yıkandı.

15. Daha sonra plate'in tüm kuyucuklarına 90'ar µl substrat pipetlendi ve tekrar 37 °C'de 15 dk inkübasyona bırakıldı.

16. Inkübasyondan sonra reaksiyona giren kuyucuklardaki mavi renk oluşumu gözlemlendi ve tüm kuyucuklara 50'şer µl stop solüsyonu pipetlenerek reaksiyon durduruldu.

17. Kuyucuklardaki reaksiyonun durmasıyla sarı renk oluşumu görüldü ve ELISA microplate reader (Biotek ELx800, USA) cihazında plate'in absorbanansı 450 nm'de ölçüldü.

18. Ölçülen absorbananslar standart eğri grafiğinden elde edilen denklem ile hesaplandı.

19. Her örnek üç (3) kere ölçüldü ve ortalama değerleri alındı.

20. Sonuçlar ng/ml ve 24 saatlik idrar miktarlarıyla çarpılarak µg/gün olarak verildi.

3.3.2 Michigan Nöropati Tarama Aracı

MNSI, diyabette DSPN değerlendirilmesi için yaygın olarak kullanılmaktadır. MNSI "A. Öykü" ve "B. Fizik değerlendirme" olarak iki bölümden oluşur. Birinci bölümde hastalara yöneltilen 15 adet soru bulunmaktadır ve anormal sonuçlar puanlanmaktadır. İkinci bölümde ise hastaların her iki alt ekstremitelerinin inspeksiyonunu, ülserasyon varlığını, ayak bileği refleksini, ayak başparmak titreşim algısını ve monofilaman algısını test eden bir fizik muayene bulunmaktadır. Anormal sonuçlar puanlanmaktadır (219).

Çalışmamızda MNSI, kontrol grubu da dahil olmak üzere bütün katılımcılara aynı ve tecrübeli bir araştırmacı tarafından uygulandı.

Michigan Nöropati Tarama Aracı Skorlaması

Birinci bölümde (Şekil 3.1) 15 sorudan oluşan bir anket mevcuttur. 1-3, 5, 6, 8, 9, 11, 12, 14, 15 numaralı sorulara “evet” yanıtı, 7 ve 13 numaralı sorulara “hayır” yanıtı puanlandı (1 puan). 4. soru dolaşım bozukluğunun bir ölçüsü olarak; 10. soru genel asteni ölçüsü olarak kabul edildi. Puanlama algoritmasına dahil edilmeyip katılımcılar hakkında genel bir bilgi sahibi olmak için kullanıldı. Ankette puan değeri taşıyan 13 sorudan toplamda 7 ve üzeri puan alanlar DSPN olarak kabul edildi.

İkinci bölümde (Şekil 3.2) MNSI muayenesi sırasında, katılımcıların her ayağı deformiteler, kuru cilt, kallus, enfeksiyonlar, fissürler ve diğer diyabetik anomaliler açısından incelendi. Herhangi bir anormalliği olan her ayak puanlandı (1 puan). Her ayak ayrıca ülser açısından incelendi ve ülserli her ayak puanlandı (1 puan). Ayak bileği refleksi (Aşil tendon refleksi)’nin, refleks çekici ile muayenesinde refleks yok ise katılımcılardan Jendrassic manevrası yapmaları istendi. Manevra eşliğinde varsa refleks pekiştirmeli var (0,5 puan), Jendrassic manevrası ile refleks alınamazsa yok (1 puan) olarak değerlendirildi. Titreşim algısı, 128 Hz diyapazon kullanılarak ayak başparmağı üzerinde test edildi. Genel olarak, muayene eden kişi elinin dorsal yüzünde, normal bir deneğin ayak başparmağında hissettiğinden en az 5 saniye daha uzun süre titreşimi hissedebilmelidir. 10 saniyeye kadar normal kabul edildi. Muayene eden kişinin titreşimi hissettiği süre katılımcıdan ≥ 10 saniye daha fazlaysa, katılımcıda titreşim algısı azalmış (0,5 puan), katılımcı titreşim hissini hiç algılayamazsa yok (1 puan) kabul edildi. Son olarak monofilaman testi Semmes-Weinstein 10 g monofilaman ile her iki alt ekstremitede 1. 3. ve 5. ayak parmaklarının alt yüzüne ve 1. 3. ve 5. metatarsal kemiklerin distal lojuna uygulandı. Hastalar monofilamanı zorlanarak hissettiklerinde azalmış (0,5 puan), hissedemediklerinde yok (1 puan) olarak değerlendirildi. Total skorun 10 olduğu bu bölümde $\geq 2,5$ puan alan katılımcılar DSPN olarak kabul edildi.

MICHIGAN NÖROPATİ TARAMA ARACI

A. Öykü

- | | | |
|---|-------------------------------|--------------------------------|
| 1. Bacaklarınız ve / veya ayaklarınız uyuşuyor mu? | ☐ Evet | ☐ Hayır |
| 2. Bacaklarınızda ve / veya ayaklarınızda yanma hissi var mı? | ☐ Evet | ☐ Hayır |
| 3. Ayaklarınızda dokunmaya karşı duyarlılık var mı? | ☐ Evet | ☐ Hayır |
| 4. Bacaklarında ve / veya ayaklarında kas krampları var mı? | ☐ Evet | ☐ Hayır |
| 5. Bacaklarınızda veya ayaklarınızda iğnelenme hissi oldu mu? | ☐ Evet | ☐ Hayır |
| 6. Yatak örtüleri cildinize temas ettiğinde ağrı yapıyor mu? | ☐ Evet | ☐ Hayır |
| 7. Kütüve veya duşa girdiğinizde, soğuk ve sıcak suyu ayırt edebiliyor musunuz? | ☐ Evet | ☐ Hayır |
| 8. Ayağınızda hiç açık yara oldu mu? | ☐ Evet | ☐ Hayır |
| 9. Doktorunuz size diyabetik nöropatiniz olduğunu söyledi mi? | ☐ Evet | ☐ Hayır |
| 10. Çoğu zaman kendinizi zayıf hissediyor musunuz? | ☐ Evet | ☐ Hayır |
| 11. Şikayetleriniz geceleri kötüleşiyor mu? | ☐ Evet | ☐ Hayır |
| 12. Yürürken bacak ağrınız oluyor mu? | ☐ Evet | ☐ Hayır |
| 13. Yürürken ayaklarınızı hissedebiliyor musunuz? | ☐ Evet | ☐ Hayır |
| 14. Ayaklarınızda açık çatlaklar oluşacak kadar kuruluk oluyor mu? | ☐ Evet | ☐ Hayır |
| 15. Daha önce hiç amputasyon geçirdiniz mi? | ☐ Evet | ☐ Hayır |

Toplam: _____

Şekil 3.1: MNSİ birinci bölüm (A. Öykü)

MICHIGAN NÖROPATİ TARAMA ARACI

B. Fizik Değerlendirme

1. Ayak görüntümü

- Sağ**
a. Normal ☐ 0 Evet ☐ 1 Hayır
b. Cevap 'Hayır' ise doldurun:

Deformite ☐
Kuru cilt,kallus ☐
Enfeksiyon ☐
Fissür ☐
Diğer ☐
belirtin: _____

- Sol**
Normal ☐ 0 Evet ☐ 1 Hayır
Cevap 'Hayır' ise doldurun:

Deformite ☐
Kuru cilt,kallus ☐
Enfeksiyon ☐
Fissür ☐
Diğer ☐
belirtin: _____

- Sağ**
2. Ülserasyon ☐ 0 Yok ☐ 1 Var

- Sol**
Yok ☐ 0 Var ☐ 1

3. Ayak bileği refleksi ☐ 0 Var ☐ 0.5 Pekiştirmeli var ☐ 1 Yok

- Var ☐ 0 Pekiştirmeli var ☐ 0.5 Yok ☐ 1

4. Ayak başparmak Titreşim algısı ☐ 0 Var ☐ 0.5 Azalmış ☐ 1 Yok

- Var ☐ 0 Azalmış ☐ 0.5 Yok ☐ 1

5. Monofilaman ☐ 0 Normal ☐ 0.5 Azalmış ☐ 1 Yok

- Normal ☐ 0 Azalmış ☐ 0.5 Yok ☐ 1

İmza: _____

Toplam Skor _____/10 Puan

Şekil 3.2: MNSI ikinci bölüm (B. Fizik değerlendirme)

3.3.3 İstatistiksel Analiz

Araştırmanın verileri elektronik ortamda Uluslararası İş Makineleri (IBM) Şirketi'nin Sosyal Bilimler İçin İstatistik Paketi (SPSS) 20 (IBM SPSS Statistics version 20) programına aktarılıp veri kontrolü ve analizi bu programda yapıldı. Program Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilgi İşlem Daire Başkanlığı tarafından lisanslı olarak temin edildi. Tanımlayıcı verilerin sunumunda sayı,

yüzde, ortalama, standart sapma (SS), ortanca, minimum, maksimum değerler kullanıldı. Sürekli verilerin karşılaştırılmasında öncelikle normal dağılıma uygunluk testi (Kolmogorov-Smirnov testi) kullanıldı. Sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U ve Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Kruskal-Wallis testinde ikili grupların karşılaştırılması için (post hoc test) Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı. Katılımcıların 6-SOM değerlerinin yaş, VKİ, MNSI puanları, diyabet süresi ve laboratuvar değerleri ile korelasyon analizi Spearman korelasyon analizi ile yapıldı. HbA1c ve diyabet süresi verileri sadece diyabetik katılımcılar için kullanıldı. Katılımcıların 6-SOM değerlerini etkileyen faktörler multiple linear (çoklu doğrusal) regresyon analizi ile değerlendirildi. Analizde bağımlı değişken olarak 6-SOM değeri, bağımsız değişken olarak yaş, VKİ, antidiyabetik ilaç kullanımı, APG, GFR, HbA1c ve MNSI B. puanı alındı. Analizde enter metodu kullanılıp $R=0,481$, $R^2=0,232$, Durbin-Watson=2,246 olarak saptandı. İstatistiksel anlamlılık için post hoc testlerde $p<0,017$, diğer testlerde $p<0,05$ kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1 Tanımlayıcılar

Bu araştırmada toplam 127 kişi incelendi (Tablo 4.1). Katılımcıların 40 tanesi (%31,5) kontrol grubu, 44 tanesi (%34,6) DSPN olmayan, 43 tanesi (%33,9) de DSPN olan DM gruplarına yerleştirildi (Tablo 4.1). Katılımcıların %44,1'i erkek, %55,9'u kadındı (Tablo 4.2). Katılımcıların yaş ortalaması $53,1 \pm 9,0$, ortancası 53,0 olarak; VKİ ortalaması $29,2 \pm 5,3$ kg/m², ortancası 27,8 kg/m² olarak tespit edildi (Tablo 4.3). Katılımcıların laboratuvar değerlerinin ortancaları HbA1c (diyabetikler için) %7,1, APG 124,1 mg/dl, kreatinin 0,81 mg/dl, GFR 94,1 ml/dk/1,73m², ALT 20,7 u/L, vitamin B₁₂ 364,1 pg/ml ve TSH 1,9 µIU/ml olarak tespit edildi (Tablo 4.3).

Tablo 4.1: Katılımcıların gruplara göre dağılımı

Gruplar	Sayı (n)	Yüzde (%)
Kontrol	40	31,5
DM(+)NP(-)	44	34,6
DM(+)NP(+)	43	33,9
Toplam	127	100,0

DM: Diyabetes mellitus, NP: Nöropati (Distal simetrik polinöropati)

Tablo 4.2: Katılımcıların cinsiyetlerine göre dağılımı

Cinsiyet	Sayı (n)	Yüzde (%)
Erkek	56	44,1
Kadın	71	55,9
Toplam	127	100,0

Tablo 4.3: Katılımcıların yaş, VKİ ve laboratuvar değerlerinin dağılımı

	Ortalama±SS	Ortanca (min-maks)
Yaş (yıl)	53,1±9,0	53,0 (35,0-73,0)
VKİ (kg/m ²)	29,2±5,3	27,8 (20,5-51,5)
HbA1c (%)*	7,7±1,5	7,1 (5,3-11,7)
APG (mg/dl)	142,2±58,2	124,1 (83,4-344,0)
Kreatinin (mg/dl)	0,81±0,18	0,81 (0,48-1,42)
GFR (ml/dk/1.73m ²)	94,4±20,0	94,1 (45,2-148,7)
ALT (u/L)	23,6±11,8	20,7 (5,1-66,8)
Vitamin B ₁₂ (pg/ml)	438,9±273,4	364,1 (134,0-1670,0)
TSH (μIU/ml)	2,5±2,6	1,9 (0,4-22,9)

SS: Standart sapma, min: Minimum, maks: Maksimum, VKİ: Vücut kitle indeksi, HbA1c: Glikozile hemoglobin, APG: Açlık plazma glukozu, GFR: Glomerüler filtrasyon hızı, ALT: Alanin transaminaz, TSH: Tiroid stimulan hormon

*: HbA1c testi sadece diyabetik katılımcılara uygulandı.

Katılımcıların yaş, VKİ, MNSI puanları, laboratuvar değerleri ve diyabetik katılımcıların diyabet süreleri ve HbA1c değerlerinin, oluşturulan gruplara göre dağılımları Tablo 4.4’de verildi. Kontrol, DM(+)NP(-) ve DM(+)NP(+) gruplarının yaş, MNSI A. ve B. puanları, APG, ALT, vitamin B₁₂ değerlerinin ortancalarında anlamlı fark tespit edildi (**p<0,05**). DM(+)NP(-) ve DM(+)NP(+) gruplarının DM süresi ve HbA1c değerlerinin ortancalarında da anlamlı fark saptandı (**p<0,05**). Tablo 4.4’de bu anlamlı farklar incelendiğinde, sırasıyla kontrol, DM(+)NP(-), DM(+)NP(+) gruplarına doğru gidildikçe APG değerinin arttığı görüldü (**p=0,0001**). Nöropati varlığının tespiti için kullanılan MNSI puanları diyabetik nöropatili [Dm(+)NP(+)] grupta diğer gruplara göre daha yüksekti (**p=0,0001, MNSI A.; p=0,0001, MNSI B.**). Örneklemimizdeki grupların yaşlarına bakıldığında diyabetik olan gruplarda kontrol grubuna göre daha yüksek ortanca değerleri tespit edildi (**p=0,0001**). DM süresi ve HbA1c ortancaları DM(+)NP(+) grupta DM(+)NP(-) gruba göre daha yüksekti (**p=0,0001, DM süresi; p=0,001, HbA1c**).

Tablo 4.4: Katılımcıların yaş, VKİ, MNSİ puanları ve laboratuvar değerlerinin gruplara göre dağılımı

	Kontrol		Diyabetes Mellitus [DM(+)]						p*
			DSPN yok [NP(-)]			DSPN var [NP(+)]			
	Ort.±SS	Ortan. (min-maks)	Ort.±SS	Ortan. (min-maks)	Ort.±SS	Ortan. (min-maks)	Ort.±SS	Ortan. (min-maks)	
Yaş (yıl)	46,9±7,8	47,0 (35,0-67,0)	55,1±8,0	55,5 (37,0-70,0)	56,9±8,1	57,0 (40,0-73,0)	56,0±1,9	56,0 (37,0-73,0)	0,0001
VKİ (kg/m ²)	27,7±5,1	26,5 (20,5-51,5)	30,0±5,7	27,8 (22,8-47,9)	29,7±4,7	28,4 (21,1-38,8)	29,8±5,2	28,0 (21,1-47,9)	0,065
MNSI A. (puan)	1,1±1,1	1,0 (0,0-4,0)	1,1±1,1	1,0 (0,0-3,0)	3,6±1,8	3,0 (0,0-8,0)	2,4±1,9	2,0 (0,0-8,0)	0,0001
MNSI B. (puan)	0,3±0,4	0,0 (0,0-1,0)	0,8±0,7	1,0 (0,0-2,0)	3,9±1,4	3,0 (2,5-10,0)	2,3±1,9	2,0 (0,0-10,0)	0,0001
DM süresi (yıl)**	-	-	7,6±8,1	5,5 (0,0-43,0)	12,9±6,5	11,0 (1,0-30,0)	10,2±7,8	10,0 (0,0-43,0)	0,0001**
HbA1c (%)**	-	-	7,2±1,3	6,8 (5,3-10,7)	8,2±1,6	8,1 (5,9-11,7)	7,7±1,9	2,0 (5,3-11,7)	0,001**
APG (mg/dl)	95,8±7,5	95,0 (83,4-112,3)	150,4±50,6	132,3 (90,7-342,3)	177,0±64,2	158,8 (91,9-344,0)	163,5±58,9	141,2 (90,7-344,0)	0,0001
T kol (mg/dl)	206,5±47,1	207,9 (124,2-341,0)	187,0±46,6	184,0 (95,6-301,1)	197,6±43,2	193,8 (121,0-298,2)	192,4±44,9	188,4 (95,6-301,1)	0,153
LDL (mg/dl)	150,6±43,4	142,0 (82,3-280,7)	131,2±42,6	129,1 (52,6-228,8)	140,7±36,8	143,0 (62,4-224,7)	135,9±39,9	133,2 (52,6-228,8)	0,118
HDL (mg/dl)	54,7±14,7	52,0 (31,2-87,6)	43,4±15,5	46,2 (14,6-112,2)	52,3±11,5	50,1 (36,3-85,4)	50,3±13,7	48,3 (14,6-112,2)	0,069
Trigliserid (mg/dl)	167,3±208,6	123,8 (36,4-1394,4)	184,7±125,8	157,1 (45,9-740,0)	181,8±97,5	154,8 (60,5-484,4)	183,2±112,1	154,8 (45,9-740,0)	0,094
Kreatinin (mg/dl)	0,78±0,16	0,75 (0,54-1,25)	0,82±0,16	0,83 (0,53-1,26)	0,83±0,2	0,81 (0,48-1,42)	0,83±0,19	0,81 (0,48-1,42)	0,448
GFR (ml/dk/1,73m ²)	96,4±18,6	95,4 (47,3-134,3)	95,2±17,6	91,9 (46,9-128,3)	91,8±23,5	94,9 (45,2-148,7)	93,5±20,7	92,1 (45,2-148,7)	0,444
ALT (u/L)	21,0±10,2	19,1 (8,2-47,8)	27,2±12,0	26,2 (10,7-57,6)	22,3±12,4	18,8 (5,1-66,8)	24,8±12,4	22,9 (5,1-66,8)	0,014
Vitamin B ₁₂ (pg/ml)	353,9±139,1	345,7 (149,0-672,3)	415,9±282,2	346,7 (134,0-1670,0)	530,4±321,3	499,4 (183,7-1650)	473,8±306,3	374,3 (134,0-1670,0)	0,015
TSH (µIU/ml)	2,7±2,6	2,1 (0,4-14,6)	2,7±3,5	1,8 (0,4-22,9)	2,1±1,1	1,9 (0,7-7,4)	2,4±2,6	1,9 (0,4-22,9)	0,683

DSPN: Distal simetrik polinöropati, Ort: Ortalama, SS: Standart sapma, Ortan: Ortanca, min: Minimum, maks: Maksimum, VKİ: Vücut kitle indeksi, MNSİ: Michigan nöropati tarama aracı, HbA1c: Glukozile hemoglobin, APG: Açlık plazma glukozu, T.kol: Total kolesterol, LDL: Düşük dansiteli lipoprotein, HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein, GFR: Glomerüler filtrasyon hızı, ALT: Alanin transaminaz,

TSH: Tiroid stimulan hormon

p*: Kruskal-Wallis test [Kontrol, DM(+)/NP(-), DM(+)/NP(+) grupları arasında]

**:: Mann-Whitney U test [DM(+)/NP(-), DM(+)/NP(+) grupları arasında]

4.2 6-Sülfatoksimeletonin Değerlerinin Analizi

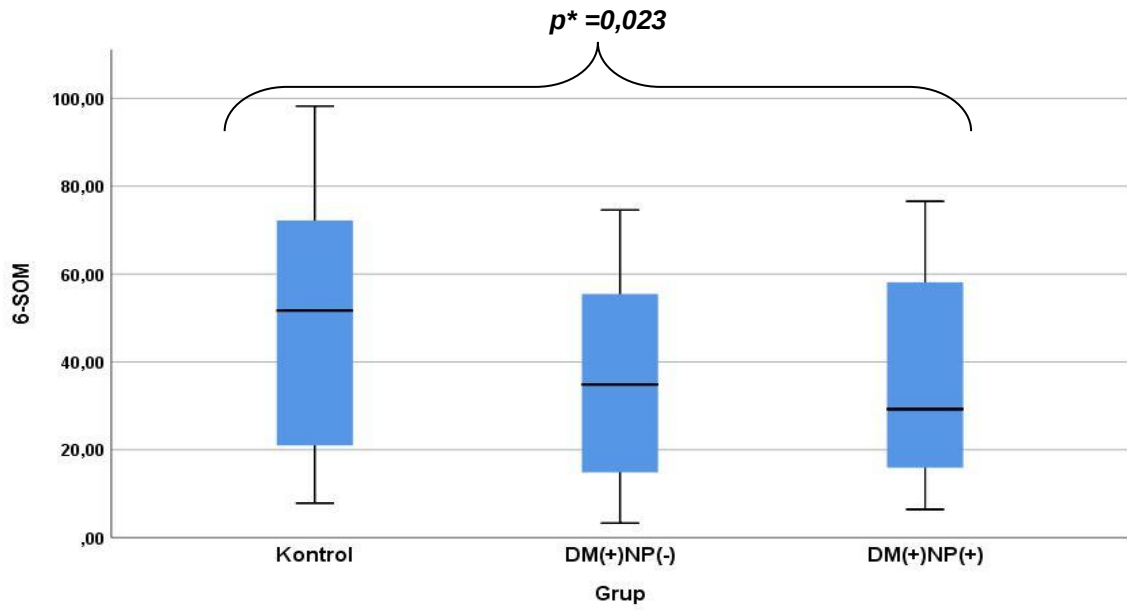
Katılımcıların 6-SOM değerlerinin gruplara göre dağılımında anlamlı fark saptandı (**p=0,023**). Kontrol grubunun ortanca değeri 51,7 µg/gün iken, DM(+)NP(-) grubun 34,9 µg/gün ve DM(+)NP(+) grubun ise 29,3 µg/gün olduğu görüldü (Tablo 4.4). Grupların 6-SOM değerlerinin ortancaları Şekil 4.1’de grafik halinde verildi. Post hoc test ile yapılan karşılaştırmada farkın kontrol ve DM(+)NP(-) grupları arasından kaynaklandığı saptandı (**p=0,011**). Grupların diğer ikili karşılaştırmaları arasında anlamlı fark olmadığı görüldü [**p=0,792, DM(+)NP(-) ve DM(+)NP(+); p=0,026, kontrol ve DM(+)NP(+)**].

Tablo 4.5: Katılımcıların 6-SOM (µg/gün) değerlerinin gruplara göre dağılımı

Gruplar	Ortalama±SS	Ortanca (min-maks)
Kontrol	50,5±27,6	51,7 (7,8-98,2)
DM(+)NP(-)	35,6±23,1	34,9 (3,3-74,6)
DM(+)NP(+)	36,4±22,0	29,3 (6,4-76,6)
p*	0,023	

6-SOM: 6-sülfatoksimeletonin, SS: Standart sapma, min: Minimum, maks: Maksimum, DM: Diyabetes mellitus, NP: Nöropati (Distal simetrik polinöropati)

p*: Kruskal-Wallis test



Şekil 4.1: Katılımcıların gruplara göre 6-SOM (µg/gün) değerlerinin dağılımı

6-SOM: 6-sülfatoksimeletonin, DM: Diyabetes mellitus, NP: Nöropati (Distal simetrik polinöropati)

p*: Kruskal-Wallis test

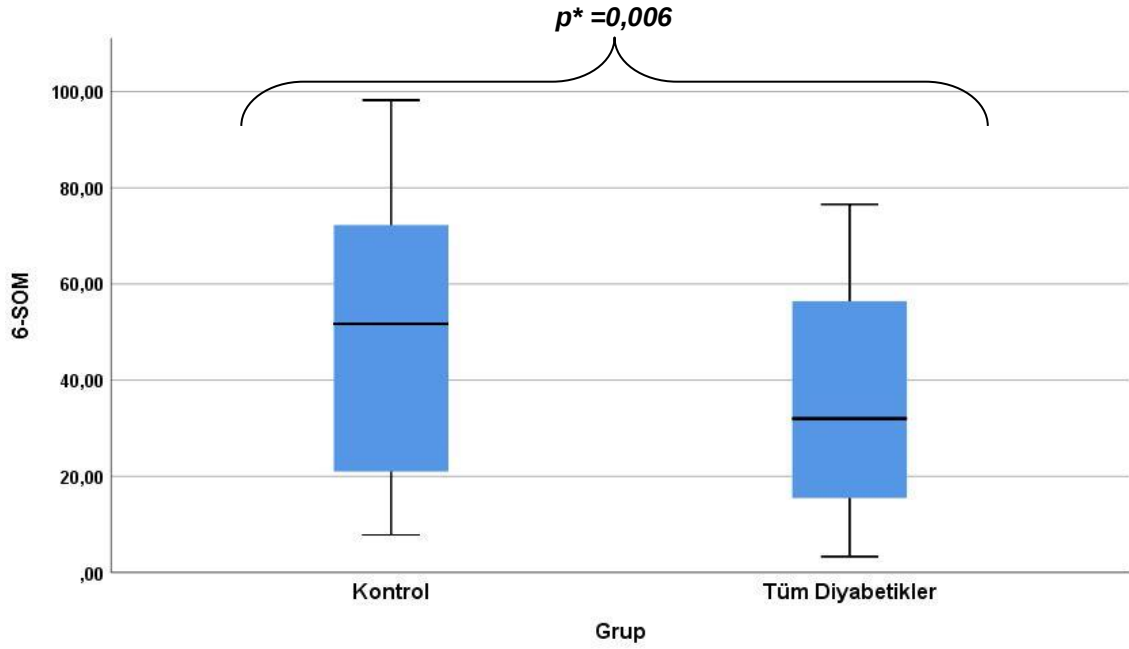
Tüm diyabetik katılımcıların ortak bir grupta birleştirildiği toplamda 87 katılımcıyı içine alan “Tüm diyabetikler” grubu oluşturuldu. Tüm diyabetikler grubunun 6-SOM değerleri dağılımında ortancanın 32,0 µg/gün olduğu görüldü (Tablo 4.5) ve kontrol grubu ile arasında anlamlı fark saptandı (**p=0,006**). Tüm diyabetikler ve kontrol gruplarının 6-SOM değerlerinin ortancaları Şekil 4.2’de grafik halinde verildi.

Tablo 4.6: Katılımcıların 6-SOM (µg/gün) değerlerinin kontrol ile tüm diyabetikler gruplarına göre dağılımı

Gruplar	Ortalama±SS	Ortanca (min-maks)
Kontrol	50,5±27,6	51,7 (7,8-98,2)
Tüm Diyabetikler	36,0±22,4	32,0 (3,3-76,6)
p*	0,006	

6-SOM: 6-sülfatoksimeletonin, SS: Standart sapma, min: Minimum, maks: Maksimum

p*: Mann-Whitney U test



Şekil 4.2: Katılımcıların kontrol ile tüm diyabetikler gruplarına göre 6-SOM (µg/gün) değerlerinin dağılımı

6-SOM: 6-sülfatoksimeletonin

p*: Mann-Whitney U test

Tüm diyabetik katılımcıların 59 tanesi (%67,8) sadece OAD, 28 tanesi (%32,2) ya sadece insülin ya da insülin beraberinde OAD (insülin±OAD) kullanmaktaydı.

Diyabetik katılımcıların nöropati varlığı var/yok olarak; kullandıkları antidiyabetik ilaçlar sadece OAD ya da insülin±OAD olarak ayrılıp bu iki değişkenin ki-kare testi kullanılarak ilişkisi sorgulandı (Tablo 4.6). İnsülin kullananların sayısı DM(+)NP(-) grupta 9, DM(+)NP(+) grupta 19; sadece OAD kullananların sayısı DM(+)NP(-) grupta 35, DM(+)NP(+) grupta 24 kişiydi. İnsülin kullanan katılımcılar, istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturacak şekilde DM(+)NP(+) grubunda toplanmışlardı ($p<0,05$).

Tablo 4.7: Diyabetik katılımcıların nöropati ve kullanılan antidiyabetik ilaç değişkenlerine göre dağılımı

	OAD (n)	İnsülin±OAD* (n)	Toplam
DM(+)NP(-)	35	9	44
DM(+)NP(+)	24	19	43
Toplam	59	28	87
p**	0,018		

OAD: Oral antidiyabetik ilaç, DM: Diyabetes mellitus, NP: Nöropati (Distal simetrik polinöropati)

*: Sadece insülin ya da insülin beraberinde OAD kullananlar

p**: Chi-square test

Diyabetik katılımcıların 6-SOM değerlerinin ilaç kullanım gruplarına göre dağılımında anlamlı fark saptandı (**p=0,001**). Sadece OAD kullanan grubun ortancası 25,1 µg/gün; insülin kullanan grubun ortancası 52,9 µg/gün bulundu (Tablo 4.7). Diyabetik katılımcıların kullandığı antidiyabetik ilaç grubuna göre 6-SOM değerlerinin ortancaları Şekil 4.3'te grafik halinde verildi. Diyabetiklerde insülin kullanımıyla 6-SOM değerlerinin anlamlı şekilde arttığı görüldü.

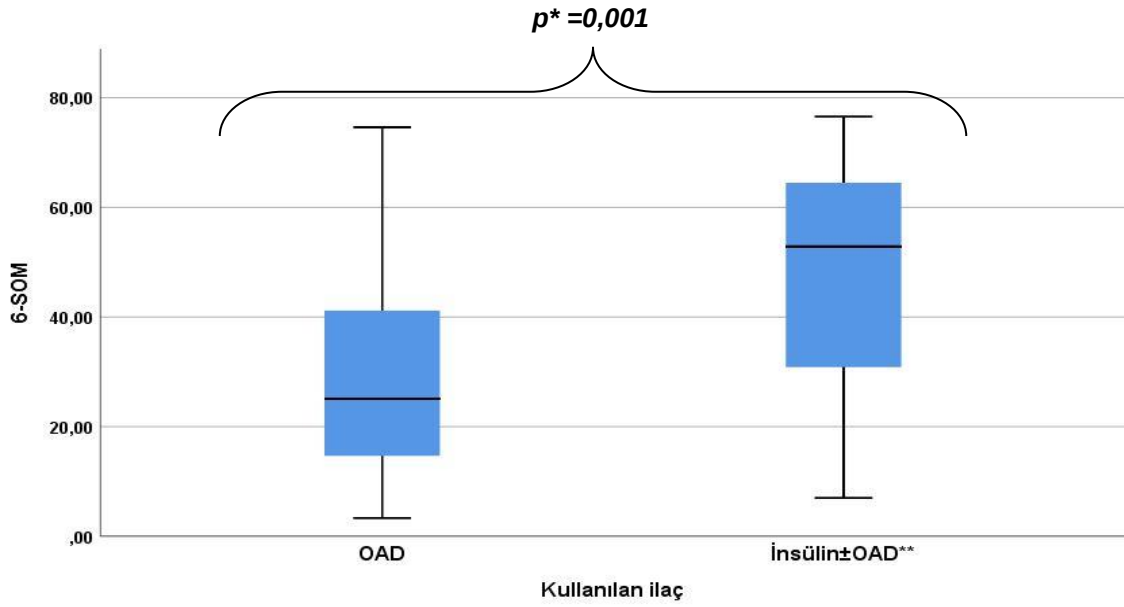
Tablo 4.8: Diyabetik katılımcıların 6-SOM (µg/gün) değerlerinin kullandıkları antidiyabetik ilaç gruplarına göre dağılımı

Gruplar	Ortalama±SS	Ortanca (min-maks)
OAD	30,5±21,1	25,1 (3,3-74,6)
İnsülin±OAD*	47,7±21,0	52,9 (7,0-76,6)
p**	0,001	

6-SOM: 6-sülfatoksimeletonin, SS: Standart sapma, min: Minimum, maks: Maksimum, OAD: Oral antidiyabetik ilaç

*: Sadece insülin ya da insülin beraberinde OAD kullananlar

p**: Mann-Whitney U Test



Şekil 4.3: Diyabetik katılımcıların kullandığı antidiyabetik ilaç grubuna göre 6-SOM ($\mu\text{g/gün}$) değerlerinin dağılımı

6-SOM: 6-sülfatoksimeletonin, OAD: Oral antidiyabetik ilaç

p^* : Mann-Whitney U test

******: Sadece insülin ya da insülin beraberinde OAD kullananlar

Katılımcıların 6-SOM değerlerinin, diğer değişkenlerle olan korelasyon ilişkisi incelendi. Katılımcılarımızdaki 6-SOM değerleri ile yaş, VKİ, DM süresi, HbA1c, MNSI A. ve B. skoru, LDL, HDL, T.kol, trigliserid, kreatinin, GFR, ALT, vitamin B₁₂ ve TSH değerleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunamadı. Analizimizde baktığımız parametreler arasında 6-SOM ile APG arasında negatif yönlü, zayıf korelasyon ($r=-0,211$, $p=0,017$); 6-SOM ile mikroalbuminüri arasında pozitif yönlü, zayıf korelasyon ($r=0,209$, $p=0,023$) istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 4.9).

Tablo 4.9: Katılımcıların 6-SOM ($\mu\text{g/gün}$) değerlerinin çalışmada bakılan diğer değişkenlerle korelasyon analizi

	6-SOM	
	r*	p
Yaş (yıl)	0,019	0,832
Vücut kitle indeksi (kg/m^2)	-0,101	0,258
MNSI A. (puan)	-0,087	0,333
MNSI B. (puan)	-0,047	0,603
DM süresi (yıl)**	0,028	0,798
HbA1c (%)**	0,134	0,215
APG (mg/dl)	-0,211	0,017
LDL (mg/dl)	0,034	0,706
Trigliserid (mg/dl)	0,033	0,715
HDL (mg/dl)	0,075	0,410
T.kol (mg/dl)	0,136	0,133
Kreatinin (mg/dl)	-0,101	0,258
GFR(ml/dk/1.73m^2)	0,079	0,377
ALT (u/L)	-0,058	0,515
Vitamin B ₁₂ (pg/ml)	0,130	0,156
TSH($\mu\text{IU/ml}$)	0,110	0,219
Mikroalbuminüri (mg/gün)	0,209	0,023

6-SOM: 6-sülfatoksimeletonin, MNSI: Michigan nöropati tarama aracı, DM: Diyabetes mellitus, APG: Açlık plazma glukozu, LDL: Düşük dansiteli lipoprotein, HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein, T.kol: Total kolesterol, GFR: Glomerüler filtrasyon hızı, ALT: Alanin transaminaz, TSH: Tiroid stimulan hormon

r*: Spearman korelasyon analizi (Korelasyon katsayısı)

** : HbA1c ve DM süresi verileri sadece diyabetik hastalarda tanımlıdır.

Katılımcıların 6-SOM değerlerini etkileyen faktörlerin incelendiği regresyon analizinde, bağımsız değişkenler yaş, VKİ, APG, HbA1c, GFR, MNSI B. puanı, insülin kullanma durumu olarak belirlendi. Analizde $R=0,481$, $R^2=0,232$, Durbin-Watson=2,246 olarak saptandı. Regresyon analizi sonucunda yaş [**B=0,826, %95 güven aralığı (GA)=0,227-1,426**], insülin kullanımı (**B=14,584, %95 GA=3,857-25,311**) ve GFR (**B=0,248, %95 GA=0,018-0,478**) değişkenleri ile 6-SOM değerleri arasında anlamlı ilişki saptandı. Yaş değişkeni ile GFR değişkenindeki her bir birim artışın 6-SOM değeri üzerinde sırasıyla 0,826, 0,248 birim artışa yol açtığı görülürken; insülin kullanımının 6-SOM değerinde, sadece OAD kullanımına göre 14,584 birim artışa neden olduğu tespit edildi (Tablo 4.10).

Tablo 4.10: Katılımcıların 6-SOM ($\mu\text{g/gün}$) değerlerini etkileyen faktörlerin multiple linear (çoklu doğrusal) regresyon analizi ile değerlendirilmesi

	B	Beta	%95 GA	p*
Constant	-62,140	---	(-120,371 - -3,908)	0,037
Yaş (yıl)	0,826	0,296	(0,227 - 1,426)	0,007
İlaç grupları	14,584	0,305	(3,857 - 25,311)	0,008
MNSI B. (puan)	-0,561	-0,048	(-3,141 – 2,020)	0,667
VKİ (kg/m^2)	-0,055	-0,013	(-0,922 – 0,811)	0,900
APG (mg/dl)	-0,067	-0,176	(-0,176 – 0,042)	0,226
GFR (ml/dk/1,73m^2)	0,248	0,229	(0,018 – 0,478)	0,035
HbA1c (%)	3,039	0,206	(-1,547 – 7,626)	0,191

Bağımlı değişken: 6-SOM değeri

Bağımsız değişken: Yaş, İlaç grupları (1: Sadece OAD kullananlar, 2: Sadece insülin ya da insülin+OAD kullananlar), Michigan nöropati tarama anketi (MNSI B.), vücut kitle indeksi (VKİ), açlık plazma glukozu (APG), glomerüler filtrasyon hızı (GFR), glikozile hemoglobin (HbA1c)

GA: Güven aralığı

p*: Multiple linear (çoklu doğrusal) regresyon (enter metod)

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda melatoninin ana metaboliti olan ve idrarla atılan 6-SOM miktarının diyabetik hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde düşük olduğunu ancak nöropati varlığının diyabetik hastalardaki 6-SOM miktarında anlamlı farklılık oluşturmadığını saptadık.

Melatonin, ölçmesi ve değerlendirmesi oldukça zor bir moleküldür. Plazma yarı ömrü oldukça kısa olup yaklaşık 30-50 dk ile sınırlıdır. Geceleri karanlığın etkisiyle sentezi ve plazmaya salınımı artarak 02:00-04:00 saatleri arasında pik yapar ve gündüz gün ışığı başladığında oldukça düşük olan bazal seviyelere iner. Bir gece boyunca endojen melatonin üretiminin yaklaşık 10-80 µg olduğu tahmin edilmektedir (5,8).

Hastalarda melatonin seviyesi değerlendirilmek istendiğinde gece serum ölçümlerine birkaç defa bakmak gerekir ki bu da oldukça zorlayıcıdır. Plazma melatonin düzeyleri hakkında fikir sahibi olmak için alternatif bir yöntem olarak melatoninin temel idrar metaboliti olan 6-SOM miktarları da değerlendirilebilir. İdrar 6-SOM değerleri, plazma melatonin değerleriyle koreledir (163,220,221). Serum melatonin düzeylerini değerlendirmek isteyen birçok çalışma idrar 6-SOM ölçümleriyle yapılmıştır (222–225).

Biz çalışmamızda günlük 6-SOM düzeylerini katılımcıların topladıkları 24 saatlik idrar örneklerinde ölçtük. Şimdiye kadar 6-SOM değerlendirmesi üzerine yapılan çalışmaların bir kısmında sabah spot idrarda 6-SOM/kreatinin oranı kullanılırken bir kısmında da bizim yaptığımız gibi 24 saat idrar biriktirilerek ölçümler yapılmıştı (226,227). Biz 24 saatlik idrar biriktirme yöntemini günlük 6-SOM düzeyini kreatinin düzeltmesine gerek olmadan direkt olarak verdiği için kullanmayı tercih ettik.

Melatonin ile diyabet ilişkisi uzun bir süre önce O'brien ve arkadaşlarının 8 diyabetik ve otonom nöropatili, 8 diyabetik ve nöropatisiz, 7 sağlıklı kontrol grubu ile yaptıkları çalışmada incelenmiş ve gece melatonin pikinin diyabetik tüm katılımcılarda kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde daha düşük olduğu tespit

edilmiştir. Diyabetik katılımcıların ise otonom nöropati varlığına göre melatonin değerleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır (228).

Tütüncü ve arkadaşlarının da 36 tip 2 diyabet ve 13 sağlıklı kontrol grubu ile yaptığı çalışmada belli saatlerde venöz kanda melatonin düzeyleri incelenmiş ve gece melatonin düzeylerinin diyabetik hastalarda daha düşük olduğu, gündüz melatonin seviyelerinin ise her iki grupta benzer şekilde düşük seyrettiği tespit edilmiştir. Otonom nöropati tanısı konulan 18 diyabetik hasta ve nöropatisi olmadığı bilinen 7 diyabetik hasta arasında ise 6-SOM düzeyleri karşılaştırılmış, otonom nöropatili diyabetiklerde, nöropatisiz diyabetiklere göre melatonin değerleri anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (207).

Bu iki çalışmada bizim çalışmamızdan farklı olarak katılımcıların üriner 6-SOM ölçümü yerine venöz kanlarından belli saatlerde melatonin bakılmıştır. Metod itibarıyla bizim çalışmamızdan farklı olsa da O'brien ve arkadaşlarının bulguları bizim bulgularımızla benzerdir. Biz farklı olarak melatonin düzeylerinin otonom nöropati yerine DSPN ile olan ilişkisini sorguladık. Diyabetik nöropati ve melatonin ilişkisini inceleyen çalışmalar azdır. Çalışmamız diyabetteki periferik nöropati ile plazma melatonin düzeyleri ilişkisini inceleyen ilk insan çalışmasıdır (229–231).

Tütüncü ve arkadaşları bizden farklı olarak melatonin düzeyleri ile otonom nöropati ilişkisini irdemiş ve otonom nöropatilerde nöropatisiz diyabetiklere göre anlamlı düşük bulmuştur. Ancak bu çalışmada 18 adet nöropatili ve sadece 7 adet nöropatisiz hasta değerlendirilmiştir. Çalışma örnekleminin küçük olması bu çalışmanın önemli bir kısıtlayıcı faktörüdür.

Melatonin ile diyabet ve hiperglisemi ilişkisini inceleyen deneysel diyabet çalışmalarında da benzer şekilde diyabetik sıçanlarda plazma melatonin düzeylerinin sağlıklı sıçanlardan daha düşük olduğu bulunmuştur (209,210,229).

Melatonin uygulamasının nöroprotektif mekanizmalara katkı sağlayabileceğini öne süren çok sayıda hayvan çalışması da yapılmıştır. Negi ve arkadaşları yaptıkları deneysel çalışmada STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlarda melatonin uygulamasının nöronal ağrı parametrelerinde iyileşme ile birlikte fonksiyonel eksiklikleri düzelttiğini göstermiştir. Bu düzelmeyi ROS'a bağlı

hasarın inhibisyonu ve apoptotik nöronal hasardan sorumlu olan peroksinitritin inhibisyonuyla ilişkilendirmişlerdir (232). Negi ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer deneysel diyabetik nöropati modelinde melatonin tedavisi sonrası NF- κ B (inflamasyonda görevli) düzeyinin azaldığı ve antioksidan ekspresyonunu arttıran bir molekül olan Nrf2 düzeyinde artmaya neden olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada melatonin tedavisi sonrası sinir ileti hızının ve kan akımının da arttığı tespit edilmiştir (233).

Metwally ve arkadaşlarının 2018'de yaptıkları STZ ile indüklenen diyabetik sıçan modelinde, diyabetik santral nöropatide melatoninin terapötik potansiyelini değerlendirmişlerdir. Melatonin uygulamasının hiperglisemi ile oluşan nörodejenerasyona karşı terapötik etkiler gösterdiğini ve bu nedenle diyabetik nöropatiyi tedavi etmek için kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir (189).

Seyit ve arkadaşlarının deneysel diyabetik nöropatili sıçanlarda melatonin ve α -lipoik asit uygulamanın tibial sinir üzerindeki etkilerini incelemişler ve her ikisinin de diyabetik nöropatili sıçanlarda sinir iletim hızını ve amplitüdünü önemli ölçüde artırdığını bulmuşlardır (234).

Yapılan bir başka deneysel hayvan çalışmasında PINK1 ekspresyonunun hiperglisemi nedeni susturulmasının mitokondriyal ROS üretiminin artmasına ve apoptotik sürecin aktivasyonuna neden olduğu belirtilmiş ve melatonin uygulamasının PINK1 ekspresyonunu uyararak, hiperglisemi koşulları altında nöronal hücre apoptozunu önlediği öne sürülmüştür (180).

Yapılan tüm bu hayvan çalışmalarında sıçanlarda melatonin uygulamasının nöropatiyi iyileştirici etkilerinin olduğu gözlenirse de nöropatik sıçanlardaki melatonin düzeylerine değinmemişlerdir. Biz bu çalışmalardan farklı olarak diyabetik süreç ve diyabetik nöropatinin melatonin düzeyleri ile etkileşimine baktık ve bunu insanlarda araştırdık.

Melatonin hem doğrudan nonenzimatik yolla, hem de dolaylı şekilde redoks yolağındaki enzimleri regüle ederek antioksidan özelliklerini gösterir (235). Melatonin aynı zamanda antiinflamatuardır. Proinflamatuvar TNF- α , IL-1 β , IL-6 gibi sitokinleri azaltırken, IL-10 gibi antiinflamatuvar sitokinleri artırır (236). Pankreas β hücreleri de oksidatif hasara karşı oldukça hassastır ve diyabet

gelişiminde oksidatif stresin önemli bir etken olduğu bilinmektedir (237). Yapılan klinik çalışmalarda düşük üriner 6-SOM ve serum melatonin düzeylerinin ileride ortaya çıkacak diyabeti öngörebileceği gösterilmiştir (238). McMullan ve arkadaşlarının 370 tip 2 DM'li kadın ve 370 eşleştirilmiş kontrol katılımcısını içeren, 2000 yılında başlattıkları 12 yıllık uzunlamasına bir çalışmada, geceleri azalmış melatonin salgılama seviyesinin bağımsız olarak yüksek tip 2 DM gelişme riski ile ilişkili olduğunu kanıtladı (196).

Biz çalışmamızda üriner 6-SOM değerleri ile APG arasında negatif yönlü zayıf korelasyon saptadık. APG arttıkça idrar 6-SOM değerlerinin düşüyor olması melatonin düzeyinin hiperglisemiyle birlikte azaldığını ve diyabetik süreçteki hastaların melatoninin antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinden mahrum kalıyor olabileceğini gösterebilir.

Melatonin ve glukoz homeostazı arasındaki ilişkinin incelendiği Kurhaluk ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada melatonin uygulamasının HbA1c değerlerini düşürdüğü, antioksidan ve antiinflamatuvar etkileriyle karaciğer, böbrek ve çizgili kas hücrelerini lipid peroksidasyonundan ve oksidan hasardan koruduğu ve lökosit (özellikle nötrofil) sayılarını artırdığı gösterilmiştir (239). Reutrakul ve arkadaşlarının yaptığı klinik çalışmada obstrüktif uyku apne sendromu (OUAS) olan diyabetik hastalarda düşük üriner 6-SOM düzeyleri saptanmıştır. Aynı çalışmada uzun DM süresi ve yüksek HbA1c düzeyleri ile düşük üriner 6-SOM düzeyleri arasında da ilişki olduğu belirtilmiştir (238). Ancak OUAS'lı hastalarda yüksek HbA1c düzeyleri saptandığı bilinmektedir (240) ve bu çalışmada DM süresi ve yüksek HbA1c ile düşük melatonin düzeyleri arasındaki ilişkiyi tek başına OUAS'tan bağımsız olarak değerlendirmek zordur.

Bu çalışmalardan farklı olarak biz, diyabet süresi ve HbA1c düzeyleri ile üriner 6-SOM düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon saptamadık. DM süreleri ve yüksek HbA1c düzeyleri ile 6-SOM düzeyleri arasında ilişki olmamasının sebebi bu hastalarda aynı zamanda insülin kullanım oranının yüksek olması olabilir. Çünkü biz tüm insülin kullanan hastalara baktığımızda 6-SOM düzeylerinin insülin kullanmayan diyabetik hastalara göre 2 kat daha fazla olduğunu gördük. Hatta nöropatili hastalarda da 6-SOM değerlerini

nöropatisizlerle benzer bulmamızın bir nedeni de yine insülin kullanan hastaların büyük oranda nöropatili grupta olması olabilir. Nöropatili grupta insülin kullanma oranı, nöropatisi olmayan gruba göre 2,2 kat daha fazlaydı.

İnsülin uygulamasının melatonin düzeyini artırdığı bazı deneysel çalışmalarda da gösterilmiştir. Deneysel diyabet oluşturulan sıçanlarda yapılan bir çalışmada kontrol grubunda normal retinal melatonin ve AANAT aktivitesi gözlemlenirken, diyabetik gruplarda bu iki parametrede düşüşler saptanmıştır ve insülin tedavisi ile bu düşüşün önüne geçilmiştir (210). Bu konuyu özel olarak inceleyen daha kapsamlı insan çalışmaları ile insülin kullanımının melatonin üzerine etkisinin ortaya konması gerektiğini düşünmekteyiz.

İnsülinin melatonin üzerindeki pozitif yönlü etkisinin aksine melatonin uygulanması tam tersi etkiyle insülin seviyelerini düşürmektedir. Birçok çalışma melatoninin artmış seviyelerinin insülin düzeylerini düşürdüğünü göstermiştir (198). Melatonin, insülin salgısı üzerindeki düzenleyici etkisini pankreas β hücreleri üzerinde bulunan MT_1 ve MT_2 membran reseptörleri ile gösterir. İnsülinin günlük sirkadiyen ritminin oluşmasında da melatonin kısmen sorumlu tutulmaktadır (241). Yine son yıllarda yapılan deneysel bir çalışmada oral melatoninin prediyabetik sıçanlarda insülin seviyelerini azalttığı ancak plazma glukoz düzeylerini etkilemediği gösterilmiştir (242).

Melatonin düşüklüğünün diyabet ve nöropati gelişimine etki edebileceği gibi nöropati dışındaki komplikasyonları üzerinde de etkili olabileceğini araştıran çalışmalar vardır (231). Diyabetin, üzerinde en çok çalışılan komplikasyonlarından biri retinopatidir. Melatonin ile ilişkisini inceleyen Chen ve arkadaşları PDR'de üriner 6-SOM düzeyinin retinopatisi olmayan diyabetiklerden daha düşük olduğunu göstermişlerdir. Nonproliferatif retinopatide ise belirgin düşüklük saptamamışlardır. Biz de çalışmamızda melatonin sentezini ve üriner 6-SOM düzeylerini etkileyebileceğinden dolayı PDR'si olan hastaları almadık (226).

Yine benzer şekilde Hikichi ve arkadaşları da melatonin, PDR ilişkisini irdelemiş ve farklı olarak üriner 6-SOM yerine plazma melatonin seviyelerini ölçmüşler ve benzer sonuçlar bulmuşlardır (243). Bu çalışmalardaki melatonin ve

6-SOM düşüklüğüne sebebi diyabetik süreçteki hiperglisemi olabileceğı gibi retinopati nedeniyle retinal hücrelerde aydınlık-karanlık algısının bozulması da olabilir. Aslında teorik olarak retinopati nedeniyle ışık algısı bozulacağından retinopati varlığının melatonin sekresyonu üzerine olumlu etkisi olabileceğı de akla gelmektedir. Bu konu daha kapsamlı klinik çalışmalarla araştırılmalıdır.

Wang ve arkadaşları melatoninin diyabetik nefropatili sıçanlarda glomerülleri diyabetik ve oksidatif hasardan koruduğunu böbreklerde fibrozisin önüne geçtiğini öne sürmüşlerdir (244). Melatonin uygulamalarının diyabetik nefropatiyi olumlu olarak etkilediğı birçok hayvan çalışmasında gösterilmiştir (231,245). Ancak farklı olarak GFR değişkeninin melatoninin idrarla atılan metaboliti olan 6-SOM düzeylerini nasıl etkilediğini gösteren çalışmalar oldukça kısıtlıdır. Biz çalışmamızda insanlardaki GFR değerleri arttıkça üriner 6-SOM düzeylerinin de arttığını saptadık.

Ek olarak diyabetik hastalarda gelişen melatonin düzeylerindeki düşüklüğün diyabetik kardiyomiyopati, koroner arter hastalığı gibi komplikasyonlarda da rol aldığı, yapılan birçok deneysel diyabetik hayvan çalışmasında melatonin uygulamalarının bu komplikasyonlarda olumlu etkiler oluşturduğu hazırlanan derlemelerde gösterilmiştir (230,231). Ancak hazırlanan bu makalelerde melatonin uygulamalarının diyabetik komplikasyonlara etkisini inceleyen insan çalışmasının eksikliği dikkatimizi çekmiştir.

Melatoninin bahsetmiş olduğumuz tüm bu olumlu etkileri göz önüne alındığında diyabet ve komplikasyonları ile ilgili tedavi rejimlerinde yer alabileceğı öne sürülmektedir. Öte yandan melatonin MT₁ ve MT₂ reseptörleri, desensitizasyona oldukça yatkındır ve bunların aktiviteleri, hormonun normalüstü konsantrasyonlarına maruz kaldıktan sonra belirgin şekilde azalır (246,247). Bu yüzden melatoninin diyabet ve komplikasyonlarında bir tedavi ajanı olarak kullanılabilmesi için uygun doz aralığının tespiti gerekmektedir.

Çalışmamızın sonuçlarını etkileyebilecek faktörlerden biri katılımcılarımızın 24 saatlik idrarlarını evlerinde toplayıp getmeleridir. Tüm katılımcılarımıza yapması gereken hususlar hakkında yazılı ve sözlü bilgilendirme yapıldı ancak katılımcılarımızdan bazıları anlatılanlara uygun

şekilde idrar toplamamış ya da gece geç saatlere kadar uyanık kalarak endojen melatonin salgısını azaltmış olabilir. Sonuçları etkileyebilecek faktörlerden bir diğeri de örneklemimizin polikliniklere yapılan başvurular arasından alım kriterlerine uygun şekilde rastgele seçilerek oluşturulmuş ve kontrol, nöropatili ve nöropatisiz diyabet gruplarına dağıtılmış olmasıdır. Bu durum yaş gibi üriner 6-SOM düzeylerini etkileyebilecek bir değişkenin gruplar arasında dengesiz dağılmasına neden olmuştur. Ancak çalışmamızda yaş ile 6-SOM düzeyleri arasında korelasyon olmaması katılımcılarımızın yaş dağılımının melatonin düzeylerini etkileyecek düzeyde olmadığını ve gruplar arasındaki yaş farkının sonuçlarımız üzerinde etkisinin olmadığını düşündürmüştür.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Gerçekleştirmiş olduğumuz çalışmada insanlardaki diyabetik süreç ve hipergliseminin melatonin düzeylerini düşürdüğü ancak diyabetik hastalarda nöropati varlığının melatonin düzeylerini etkilemediği, insülinizasyonun bu hastalarda melatonin seviyelerini iyileştirdiği sonuçlarına ulaştık. Diyabetik bireylerdeki melatonin düşüklüğü oksidan ve inflamatuvar süreci hızlandırıyor olabileceğinden, melatoninin ilaç olarak kullanımı konusunda daha kapsamlı insan çalışmalarının yapılması gerektiğini savunmakta ve belki de yakın bir gelecekte melatonin uygulamalarının diyabetin rutin tedavi protokolleri arasına girebileceğini düşünmekteyiz.

7. KAYNAKÇA

1. Roden M, Shulman GI. The integrative biology of type 2 diabetes. *Nature*. 2019;576(7785):51–60.
2. Association AD. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2020. *Diabetes Care*. 2020 Jan 1;43(Supplement 1):S14–31.
3. Pop-Busui R, Boulton AJM, Feldman EL, Bril V, Freeman R, Malik RA, et al. Diabetic Neuropathy: A Position Statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 2017 Jan 1;40(1):136–54.
4. Oguntibeju OO. Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol*. 2019;11(3):45–63.
5. Claustat B, Brun J, Chazot G. The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep Med Rev*. 2005 Feb;9(1):11–24.
6. Reiter RJ. Melatonin: clinical relevance. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2003 Jun;17(2):273–85.
7. Amaral FG do, Cipolla-Neto J. A brief review about melatonin, a pineal hormone. *Arch Endocrinol Metab*. 2018 Aug;62(4):472–9.
8. Auld F, Maschauer EL, Morrison I, Skene DJ, Riha RL. Evidence for the efficacy of melatonin in the treatment of primary adult sleep disorders. *Sleep Med Rev*. 2017;34:10–22.
9. Tordjman S, Chokron S, Delorme R, Charrier A, Bellissant E, Jaafari N, et al. Melatonin: Pharmacology, Functions and Therapeutic Benefits. *Curr Neuropharmacol*. 2017 Apr;15(3):434–43.
10. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği Diabetes Mellitus Çalışma ve Eğitim Grubu. Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu. 14. Baskı: Ankara, TEMD Yayınları, Haziran 2020.
11. Association AD. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 2003 Jan 1;26(suppl 1):s5–20.
12. Association AD. Standards of Medical Care in Diabetes—2010. *Diabetes Care*. 2010 Jan 1;33(Supplement 1):S11–61.
13. Laios K, Karamanou M, Saridaki Z, Androutsos G. Aretaeus of Cappadocia and the first description of diabetes. *Horm Athens Greece*. 2012 Mar;11(1):109–13.

14. Lakhtakia R. The History of Diabetes Mellitus. Sultan Qaboos Univ Med J. 2013 Aug;13(3):368–70.
15. İmamoğlu Ş, Satman İ, Akalın S, Salman S, Yılmaz C. Geçmişten Geleceğe Diabetes Mellitus. 1. Baskı: Ankara, TEMD Yayınları, Aralık 2015.
16. Selvin E, Rawlings AM, Bergenstal RM, Coresh J, Brancati FL. No racial differences in the association of glycated hemoglobin with kidney disease and cardiovascular outcomes. Diabetes Care. 2013 Oct;36(10):2995–3001.
17. Selvin E. Are There Clinical Implications of Racial Differences in HbA1c? A Difference, to Be a Difference, Must Make a Difference. Diabetes Care. 2016;39(8):1462–7.
18. Association AD. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care. 2011 Jan 1;34(Supplement 1):S62–9.
19. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care. 1997 Jul;20(7):1183–97.
20. Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. Diabetes Res Clin Pract. 2011 Dec;94(3):311–21.
21. World Health Organization. (2020). Diabetes overview [Online]. Erişim: [https://www.who.int/health-topics/diabetes]. Erişim tarihi: 27.09.2020.
22. International Diabetes Federation. (2017) IDF Diabetes Atlas Eighth Edition 2017 [Online]. Erişim: [https://diabetesatlas.org/upload/resources/previous/files/8/IDF_DA_8e-EN-final.pdf]. Erişim tarihi: 27.09.2020.
23. Satman I, Yılmaz T, Sengül A, Salman S, Salman F, Uygur S, et al. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). Diabetes Care. 2002 Sep;25(9):1551–6.
24. Satman I, Omer B, Tutuncu Y, Kalaca S, Gedik S, Dinccag N, et al. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. Eur J Epidemiol. 2013 Feb;28(2):169–80.
25. Satman İ, İmamoğlu Ş, Yılmaz C, Ayvaz G, Çömlekçi A. Türkiye’de ve Dünya’da Diyabet. Volume: 16 Issue Supplement 1. 2012:1-50.
26. Association AD. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care. 2014 Jan 1;37(Supplement 1):S81–90.

27. Galicia-Garcia U, Benito-Vicente A, Jebbari S, Larrea-Sebal A, Siddiqi H, Uribe KB, et al. Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci*. 2020 Aug 30;21(17).
28. Kahn SE, Cooper ME, Del Prato S. Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future. *Lancet Lond Engl*. 2014 Mar 22;383(9922):1068–83.
29. Kasuga M. Insulin resistance and pancreatic beta cell failure. *J Clin Invest*. 2006 Jul;116(7):1756–60.
30. Chen L, Chen R, Wang H, Liang F. Mechanisms Linking Inflammation to Insulin Resistance. *Int J Endocrinol*. 2015;2015:508409.
31. Haffner SM, Lehto S, Rönkämaa T, Pyörälä K, Laakso M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med*. 1998 Jul 23;339(4):229–34.
32. Porte D. Banting lecture 1990. Beta-cells in type II diabetes mellitus. *Diabetes*. 1991 Feb;40(2):166–80.
33. Liu Y, Ye W, Chen Q, Zhang Y, Kuo C-H, Korivi M. Resistance Exercise Intensity is Correlated with Attenuation of HbA1c and Insulin in Patients with Type 2 Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Environ Res Public Health*. 2019 07;16(1).
34. Association AD. 6. Glycemic Targets: Standards of Medical Care in Diabetes—2020. *Diabetes Care*. 2020 Jan 1;43(Supplement 1):S66–76.
35. Nathan DM, Singer DE, Hurxthal K, Goodson JD. The clinical information value of the glycosylated hemoglobin assay. *N Engl J Med*. 1984 Feb 9;310(6):341–6.
36. Laiteerapong N, Ham SA, Gao Y, Moffet HH, Liu JY, Huang ES, et al. The Legacy Effect in Type 2 Diabetes: Impact of Early Glycemic Control on Future Complications (The Diabetes & Aging Study). *Diabetes Care*. 2019;42(3):416–26.
37. 11. Microvascular Complications and Foot Care: Standards of Medical Care in Diabetes—2019 | *Diabetes Care* [Internet]. [cited 2020 Nov 23]. Available from: https://care.diabetesjournals.org/content/42/Supplement_1/S124
38. Boulton AJ, Gries FA, Jervell JA. Guidelines for the diagnosis and outpatient management of diabetic peripheral neuropathy. *Diabet Med J Br Diabet Assoc*. 1998 Jun;15(6):508–14.

39. Asghar O, Petropoulos IN, Alam U, Jones W, Jeziorska M, Marshall A, et al. Corneal confocal microscopy detects neuropathy in subjects with impaired glucose tolerance. *Diabetes Care*. 2014 Sep;37(9):2643–6.
40. Bongaerts BWC, Rathmann W, Heier M, Kowall B, Herder C, Stöckl D, et al. Older subjects with diabetes and prediabetes are frequently unaware of having distal sensorimotor polyneuropathy: the KORA F4 study. *Diabetes Care*. 2013 May;36(5):1141–6.
41. Albers JW, Pop-Busui R. Diabetic neuropathy: mechanisms, emerging treatments, and subtypes. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2014 Aug;14(8):473.
42. Callaghan BC, Kerber KA, Lisabeth LL, Morgenstern LB, Longoria R, Rodgers A, et al. Role of neurologists and diagnostic tests on the management of distal symmetric polyneuropathy. *JAMA Neurol*. 2014 Sep;71(9):1143–9.
43. Dyck PJ, Albers JW, Andersen H, Arezzo JC, Biessels G-J, Bril V, et al. Diabetic polyneuropathies: update on research definition, diagnostic criteria and estimation of severity. *Diabetes Metab Res Rev*. 2011 Oct;27(7):620–8.
44. Callaghan BC, Cheng HT, Stables CL, Smith AL, Feldman EL. Diabetic neuropathy: clinical manifestations and current treatments. *Lancet Neurol*. 2012 Jun;11(6):521–34.
45. Association AD. 11. Microvascular Complications and Foot Care: Standards of Medical Care in Diabetes–2020. *Diabetes Care*. 2020 Jan 1;43(Supplement 1):S135–51.
46. Genuth S. Insights from the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study on the use of intensive glycemic treatment to reduce the risk of complications of type 1 diabetes. *Endocr Pract Off J Am Coll Endocrinol Am Assoc Clin Endocrinol*. 2006 Feb;12 Suppl 1:34–41.
47. Janghorbani M, Rezvanian H, Kachooei A, Ghorbani A, Chitsaz A, Izadi F, et al. Peripheral neuropathy in type 2 diabetes mellitus in Isfahan, Iran: prevalence and risk factors. *Acta Neurol Scand*. 2006 Dec;114(6):384–91.
48. Yang C-P, Li C-I, Liu C-S, Lin W-Y, Hwang K-L, Yang S-Y, et al. Variability of fasting plasma glucose increased risks of diabetic polyneuropathy in T2DM. *Neurology*. 2017 Mar 7;88(10):944–51.
49. Jaiswal M, Divers J, Dabelea D, Isom S, Bell RA, Martin CL, et al. Prevalence of and Risk Factors for Diabetic Peripheral Neuropathy in Youth With Type 1 and Type 2 Diabetes: SEARCH for Diabetes in Youth Study. *Diabetes Care*. 2017;40(9):1226–32.

50. Bodman MA, Varacallo M. Peripheral Diabetic Neuropathy. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 [cited 2020 Nov 23]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK442009/>
51. Tesfaye S, Chaturvedi N, Eaton SEM, Ward JD, Manes C, Ionescu-Tirgoviste C, et al. Vascular risk factors and diabetic neuropathy. *N Engl J Med*. 2005 Jan 27;352(4):341–50.
52. Kles KA, Vinik AI. Pathophysiology and treatment of diabetic peripheral neuropathy: the case for diabetic neurovascular function as an essential component. *Curr Diabetes Rev*. 2006 May;2(2):131–45.
53. Toth C, Brussee V, Cheng C, Zochodne DW. Diabetes mellitus and the sensory neuron. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2004 Jun;63(6):561–73.
54. Said G. Diabetic neuropathy--a review. *Nat Clin Pract Neurol*. 2007 Jun;3(6):331–40.
55. Kalichman MW, Powell HC, Mizisin AP. Reactive, degenerative, and proliferative Schwann cell responses in experimental galactose and human diabetic neuropathy. *Acta Neuropathol (Berl)*. 1998 Jan;95(1):47–56.
56. Malik RA, Tesfaye S, Newrick PG, Walker D, Rajbhandari SM, Siddique I, et al. Sural nerve pathology in diabetic patients with minimal but progressive neuropathy. *Diabetologia*. 2005 Mar;48(3):578–85.
57. Pfützner A, Forst T, Engelbach M, Margin T, Goitom K, Löbig M, et al. The influence of isolated small nerve fibre dysfunction on microvascular control in patients with diabetes mellitus. *Diabet Med J Br Diabet Assoc*. 2001 Jun;18(6):489–94.
58. Feldman EL, Nave K-A, Jensen TS, Bennett DLH. New Horizons in Diabetic Neuropathy: Mechanisms, Bioenergetics, and Pain. *Neuron*. 2017 Mar 22;93(6):1296–313.
59. Ghotaslou R, Memar MY, Alizadeh N. Classification, microbiology and treatment of diabetic foot infections. *J Wound Care*. 2018 02;27(7):434–41.
60. Fagerberg SE. Diabetic neuropathy: a clinical and histological study on the significance of vascular affections. *Acta Med Scand Suppl*. 1959;345:1–97.
61. Dyck PJ, Hansen S, Karnes J, O'Brien P, Yasuda H, Windebank A, et al. Capillary number and percentage closed in human diabetic sural nerve. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1985 Apr;82(8):2513–7.
62. Dyck PJ, Lais A, Karnes JL, O'Brien P, Rizza R. Fiber loss is primary and multifocal in sural nerves in diabetic polyneuropathy. *Ann Neurol*. 1986 May;19(5):425–39.

63. Kelkar P, Masood M, Parry GJ. Distinctive pathologic findings in proximal diabetic neuropathy (diabetic amyotrophy). *Neurology*. 2000 Jul 12;55(1):83–8.
64. Edwards JL, Vincent AM, Cheng HT, Feldman EL. Diabetic neuropathy: mechanisms to management. *Pharmacol Ther*. 2008 Oct;120(1):1–34.
65. Herder C, Lankisch M, Ziegler D, Rathmann W, Koenig W, Illig T, et al. Subclinical inflammation and diabetic polyneuropathy: MONICA/KORA Survey F3 (Augsburg, Germany). *Diabetes Care*. 2009 Apr;32(4):680–2.
66. Kennedy JM, Zochodne DW. Impaired peripheral nerve regeneration in diabetes mellitus. *J Peripher Nerv Syst JPNS*. 2005 Jun;10(2):144–57.
67. Brussee V, Cunningham FA, Zochodne DW. Direct insulin signaling of neurons reverses diabetic neuropathy. *Diabetes*. 2004 Jul;53(7):1824–30.
68. Baron R, Tölle TR, Gockel U, Brosz M, Freynhagen R. A cross-sectional cohort survey in 2100 patients with painful diabetic neuropathy and postherpetic neuralgia: Differences in demographic data and sensory symptoms. *Pain*. 2009 Nov;146(1–2):34–40.
69. Freeman R, Baron R, Bouhassira D, Cabrera J, Emir B. Sensory profiles of patients with neuropathic pain based on the neuropathic pain symptoms and signs. *Pain*. 2014 Feb;155(2):367–76.
70. Davies M, Brophy S, Williams R, Taylor A. The prevalence, severity, and impact of painful diabetic peripheral neuropathy in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2006 Jul;29(7):1518–22.
71. Vileikyte L, Rubin RR, Leventhal H. Psychological aspects of diabetic neuropathic foot complications: an overview. *Diabetes Metab Res Rev*. 2004 Jun;20 Suppl 1:S13-18.
72. Azmi S, Petropoulos IN, Ferdousi M, Ponirakis G, Alam U, Malik RA. An update on the diagnosis and treatment of diabetic somatic and autonomic neuropathy. *F1000Research*. 2019;8.
73. Boulton AJM, Malik RA, Arezzo JC, Sosenko JM. Diabetic somatic neuropathies. *Diabetes Care*. 2004 Jun;27(6):1458–86.
74. Perkins BA, Olaleye D, Zinman B, Bril V. Simple screening tests for peripheral neuropathy in the diabetes clinic. *Diabetes Care*. 2001 Feb;24(2):250–6.
75. Tan LS. The clinical use of the 10g monofilament and its limitations: a review. *Diabetes Res Clin Pract*. 2010 Oct;90(1):1–7.
76. Pop-Busui R, Lu J, Brooks MM, Albert S, Althouse AD, Escobedo J, et al. Impact of glycemic control strategies on the progression of diabetic

- peripheral neuropathy in the Bypass Angioplasty Revascularization Investigation 2 Diabetes (BARI 2D) Cohort. *Diabetes Care*. 2013 Oct;36(10):3208–15.
77. Herman WH, Pop-Busui R, Braffett BH, Martin CL, Cleary PA, Albers JW, et al. Use of the Michigan Neuropathy Screening Instrument as a measure of distal symmetrical peripheral neuropathy in Type 1 diabetes: results from the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications. *Diabet Med J Br Diabet Assoc*. 2012 Jul;29(7):937–44.
 78. Martin CL, Albers J, Herman WH, Cleary P, Waberski B, Greene DA, et al. Neuropathy among the diabetes control and complications trial cohort 8 years after trial completion. *Diabetes Care*. 2006 Feb;29(2):340–4.
 79. Zilliox LA, Ruby SK, Singh S, Zhan M, Russell JW. Clinical neuropathy scales in neuropathy associated with impaired glucose tolerance. *J Diabetes Complications*. 2015 Apr;29(3):372–7.
 80. Wang Y, Li W, Peng W, Zhou J, Liu Z. Acupuncture for postherpetic neuralgia: Systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Aug;97(34):e11986.
 81. Dyck PJ, Kratz KM, Karnes JL, Litchy WJ, Klein R, Pach JM, et al. The prevalence by staged severity of various types of diabetic neuropathy, retinopathy, and nephropathy in a population-based cohort: the Rochester Diabetic Neuropathy Study. *Neurology*. 1993 Apr;43(4):817–24.
 82. Zafeiri M, Tsioutis C, Kleinaki Z, Manolopoulos P, Ioannidis I, Dimitriadis G. Clinical Characteristics of Patients with co-Existent Diabetic Peripheral Neuropathy and Depression: A Systematic Review. *Exp Clin Endocrinol Diabetes Off J Ger Soc Endocrinol Ger Diabetes Assoc*. 2018 Sep 26;
 83. Sloan G, Shillo P, Selvarajah D, Wu J, Wilkinson ID, Tracey I, et al. A new look at painful diabetic neuropathy. *Diabetes Res Clin Pract*. 2018 Oct;144:177–91.
 84. Tesfaye S, Boulton AJM, Dyck PJ, Freeman R, Horowitz M, Kempler P, et al. Diabetic neuropathies: update on definitions, diagnostic criteria, estimation of severity, and treatments. *Diabetes Care*. 2010 Oct;33(10):2285–93.
 85. Sosenko JM, Gadia MT, Fournier AM, O'Connell MT, Aguiar MC, Skyler JS. Body stature as a risk factor for diabetic sensory neuropathy. *Am J Med*. 1986 Jun;80(6):1031–4.
 86. Clair C, Cohen MJ, Eichler F, Selby KJ, Rigotti NA. The Effect of Cigarette Smoking on Diabetic Peripheral Neuropathy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Gen Intern Med*. 2015 Aug;30(8):1193–203.

87. Van Acker K, Bouhassira D, De Bacquer D, Weiss S, Matthys K, Raemen H, et al. Prevalence and impact on quality of life of peripheral neuropathy with or without neuropathic pain in type 1 and type 2 diabetic patients attending hospital outpatients clinics. *Diabetes Metab.* 2009 Jun;35(3):206–13.
88. Callaghan BC, Xia R, Banerjee M, de Rekeneire N, Harris TB, Newman AB, et al. Metabolic Syndrome Components Are Associated With Symptomatic Polyneuropathy Independent of Glycemic Status. *Diabetes Care.* 2016 May;39(5):801–7.
89. Boulton AJM. The pathway to foot ulceration in diabetes. *Med Clin North Am.* 2013 Sep;97(5):775–90.
90. Boulton AJM. Diabetic neuropathy and foot complications. *Handb Clin Neurol.* 2014;126:97–107.
91. Doria M, Viadé J, Palomera E, Pérez R, Lladó M, Costa E, et al. Short-term foot complications in Charcot neuroarthropathy: A retrospective study in tertiary care centres in Spain. *Endocrinol Diabetes Nutr.* 2018 Nov;65(9):479–85.
92. Morrison S, Colberg SR, Parson HK, Vinik AI. Relation between risk of falling and postural sway complexity in diabetes. *Gait Posture.* 2012 Apr;35(4):662–8.
93. Brown SJ, Handsaker JC, Bowling FL, Boulton AJM, Reeves ND. Diabetic peripheral neuropathy compromises balance during daily activities. *Diabetes Care.* 2015 Jun;38(6):1116–22.
94. Chedid V, Brandler J, Vijayvargiya P, Park S-Y, Szarka LA, Camilleri M. Characterization of Upper Gastrointestinal Symptoms, Gastric Motor Functions, and Associations in Patients with Diabetes at a Referral Center. *Am J Gastroenterol.* 2019;114(1):143–54.
95. Petropoulos IN, Ponirakis G, Khan A, Almuhammad H, Gad H, Malik RA. Diagnosing Diabetic Neuropathy: Something Old, Something New. *Diabetes Metab J.* 2018 Aug;42(4):255–69.
96. Boulton AJM, Vinik AI, Arezzo JC, Bril V, Feldman EL, Freeman R, et al. Diabetic neuropathies: a statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care.* 2005 Apr;28(4):956–62.
97. Effect of intensive diabetes treatment on nerve conduction in the Diabetes Control and Complications Trial. *Ann Neurol.* 1995 Dec;38(6):869–80.
98. Ismail-Beigi F, Craven T, Banerji MA, Basile J, Calles J, Cohen RM, et al. Effect of intensive treatment of hyperglycaemia on microvascular outcomes in type 2 diabetes: an analysis of the ACCORD randomised trial. *Lancet Lond Engl.* 2010 Aug 7;376(9739):419–30.

99. Charles M, Fleischer J, Witte DR, Ejksjaer N, Borch-Johnsen K, Lauritzen T, et al. Impact of early detection and treatment of diabetes on the 6-year prevalence of cardiac autonomic neuropathy in people with screen-detected diabetes: ADDITION-Denmark, a cluster-randomised study. *Diabetologia*. 2013 Jan;56(1):101–8.
100. Ang L, Jaiswal M, Martin C, Pop-Busui R. Glucose control and diabetic neuropathy: lessons from recent large clinical trials. *Curr Diab Rep*. 2014;14(9):528.
101. Zheng Y, Ley SH, Hu FB. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nat Rev Endocrinol*. 2018;14(2):88–98.
102. Amanat S, Ghahri S, Dianatinasab A, Fararouei M, Dianatinasab M. Exercise and Type 2 Diabetes. *Adv Exp Med Biol*. 2020;1228:91–105.
103. Osama A-J, Shehab AE-K. Psychological wellbeing and biochemical modulation in response to weight loss in obese type 2 diabetes patients. *Afr Health Sci*. 2015 Jun;15(2):503–12.
104. Gu Y, Dennis SM, Kiernan MC, Harmer AR. Aerobic exercise training may improve nerve function in type 2 diabetes and pre-diabetes: A systematic review. *Diabetes Metab Res Rev*. 2019;35(2):e3099.
105. Iqbal Z, Azmi S, Yadav R, Ferdousi M, Kumar M, Cuthbertson DJ, et al. Diabetic Peripheral Neuropathy: Epidemiology, Diagnosis, and Pharmacotherapy. *Clin Ther*. 2018;40(6):828–49.
106. Smith AG, Russell J, Feldman EL, Goldstein J, Peltier A, Smith S, et al. Lifestyle intervention for pre-diabetic neuropathy. *Diabetes Care*. 2006 Jun;29(6):1294–9.
107. Moulin D, Boulanger A, Clark AJ, Clarke H, Dao T, Finley GA, et al. Pharmacological management of chronic neuropathic pain: revised consensus statement from the Canadian Pain Society. *Pain Res Manag*. 2014 Dec;19(6):328–35.
108. Griebeler ML, Morey-Vargas OL, Brito JP, Tsapas A, Wang Z, Carranza Leon BG, et al. Pharmacologic interventions for painful diabetic neuropathy: An umbrella systematic review and comparative effectiveness network meta-analysis. *Ann Intern Med*. 2014 Nov 4;161(9):639–49.
109. Finnerup NB, Attal N, Haroutounian S, McNicol E, Baron R, Dworkin RH, et al. Pharmacotherapy for neuropathic pain in adults: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol*. 2015 Feb;14(2):162–73.
110. Bril V, England JD, Franklin GM, Backonja M, Cohen JA, Del Toro DR, et al. Evidence-based guideline: treatment of painful diabetic neuropathy--report of the American Association of Neuromuscular and Electrodiagnostic

Medicine, the American Academy of Neurology, and the American Academy of Physical Medicine & Rehabilitation. *Muscle Nerve*. 2011 Jun;43(6):910–7.

111. Dworkin RH, O'Connor AB, Backonja M, Farrar JT, Finnerup NB, Jensen TS, et al. Pharmacologic management of neuropathic pain: evidence-based recommendations. *Pain*. 2007 Dec 5;132(3):237–51.
112. Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocr Rev*. 2004 Aug;25(4):612–28.
113. Nobécourt E, Jacqueminet S, Hansel B, Chantepie S, Grimaldi A, Chapman MJ, et al. Defective antioxidative activity of small dense HDL3 particles in type 2 diabetes: relationship to elevated oxidative stress and hyperglycaemia. *Diabetologia*. 2005 Mar;48(3):529–38.
114. Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovasc Diabetol*. 2005 Apr 29;4:5.
115. Vincent AM, McLean LL, Backus C, Feldman EL. Short-term hyperglycemia produces oxidative damage and apoptosis in neurons. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. 2005 Apr;19(6):638–40.
116. Rajchgot T, Thomas SC, Wang J-C, Ahmadi M, Balood M, Crosson T, et al. Neurons and Microglia; A Sickly-Sweet Duo in Diabetic Pain Neuropathy. *Front Neurosci*. 2019;13:25.
117. Askwith T, Zeng W, Eggo MC, Stevens MJ. Oxidative stress and dysregulation of the taurine transporter in high-glucose-exposed human Schwann cells: implications for pathogenesis of diabetic neuropathy. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009 Sep;297(3):E620–628.
118. Bondeva T, Wolf G. Reactive oxygen species in diabetic nephropathy: friend or foe? *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. 2014 Nov;29(11):1998–2003.
119. Memişoğulları R. Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Derg*. 2005 Dec 1;7(3):30–9.
120. Ahmed N, Thornalley PJ. Advanced glycation endproducts: what is their relevance to diabetic complications? *Diabetes Obes Metab*. 2007 May;9(3):233–45.
121. Yan SF, Ramasamy R, Schmidt AM. Mechanisms of disease: advanced glycation end-products and their receptor in inflammation and diabetes complications. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2008 May;4(5):285–93.

122. Yamagishi S. Role of advanced glycation end products (AGEs) and receptor for AGEs (RAGE) in vascular damage in diabetes. *Exp Gerontol*. 2011 Apr;46(4):217–24.
123. Ashraf JM, Ahmad S, Choi I, Ahmad N, Farhan M, Tatyana G, et al. Recent advances in detection of AGEs: Immunochemical, bioanalytical and biochemical approaches. *IUBMB Life*. 2015 Dec;67(12):897–913.
124. Grewal AS, Bhardwaj S, Pandita D, Lather V, Sekhon BS. Updates on Aldose Reductase Inhibitors for Management of Diabetic Complications and Non-diabetic Diseases. *Mini Rev Med Chem*. 2016;16(2):120–62.
125. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. 2001 Dec 13;414(6865):813–20.
126. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res*. 2010 Oct 29;107(9):1058–70.
127. Pernow J, Shemyakin A, Böhm F. New perspectives on endothelin-1 in atherosclerosis and diabetes mellitus. *Life Sci*. 2012 Oct 15;91(13–14):507–16.
128. Schleicher ED, Weigert C. Role of the hexosamine biosynthetic pathway in diabetic nephropathy. *Kidney Int Suppl*. 2000 Sep;77:S13–18.
129. Buse MG. Hexosamines, insulin resistance, and the complications of diabetes: current status. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2006 Jan;290(1):E1–8.
130. Figueroa-Romero C, Sadidi M, Feldman EL. Mechanisms of disease: the oxidative stress theory of diabetic neuropathy. *Rev Endocr Metab Disord*. 2008 Dec;9(4):301–14.
131. Li F, Drel VR, Szabó C, Stevens MJ, Obrosova IG. Low-dose poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor-containing combination therapies reverse early peripheral diabetic neuropathy. *Diabetes*. 2005 May;54(5):1514–22.
132. ATASOY N. Melatonin ve Antioksidan Etkileri. *Düzce Üniversitesi Sağlık Bilim Enstitüsü Derg*. 2019 Sep 30;9:196–201.
133. Macchi MM, Bruce JN. Human pineal physiology and functional significance of melatonin. *Front Neuroendocrinol*. 2004 Dec;25(3–4):177–95.
134. Brzezinski A. Melatonin in humans. *N Engl J Med*. 1997 Jan 16;336(3):186–95.
135. Lerner AB, Case JD, Takahashi Y, Lee TH, Mori W. ISOLATION OF MELATONIN, THE PINEAL GLAND FACTOR THAT LIGHTENS MELANOCYTES¹. *J Am Chem Soc*. 1958 May 1;80(10):2587–2587.

136. Møller M, Baeres FMM. The anatomy and innervation of the mammalian pineal gland. *Cell Tissue Res.* 2002 Jul;309(1):139–50.
137. Turgut M, Uysal A, Yurtseven M. Epifiz Bezinin Morfolojik Özellikleri, Embriyolojik Gelişimi ve Deneysel Greftleme İşlemleri. *Arşiv Kaynak Tarama Derg.* 2003 Mar 1;12(1).
138. Pineal gland | Definition, Location, Function, & Disorders [Online]. *Encyclopedia Britannica.* [cited 2020 Nov 10]. Erişim: [https://www.britannica.com/science/pineal-gland]. Erişim tarihi: 15.10.2020.
139. Kleinschmidt-DeMasters BK, Prayson RA. An algorithmic approach to the brain biopsy--part I. *Arch Pathol Lab Med.* 2006 Nov;130(11):1630–8.
140. Peuhkuri K, Sihvola N, Korpela R. Dietary factors and fluctuating levels of melatonin. *Food Nutr Res.* 2012;56.
141. Ölmez E, Şahna E, Ağkadir M, Acet A. MELATONİN: EMEKLİLİK YAŞI 80 OLUR MU? İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Derg [Internet]. 2000 [cited 2020 Nov 23];7(2). Available from: https://arastirmax.com/en/publication/inonu-universitesi-tip-fakultesi-dergisi/7/2/melatonin-emeklilik-yasi-80-olur-mu/arid/6cf00546-ff9d-4441-9192-ddd635ffe3e
142. Ostrin LA. Ocular and systemic melatonin and the influence of light exposure. *Clin Exp Optom.* 2019;102(2):99–108.
143. Yazici C, Köse K. MELATONİN: KARANLIĞIN ANTİOKSİDAN GÜCÜ. *Sağlık Bilim Derg.* 2004 Sep 1;13(2):56–66.
144. Zhao D, Yu Y, Shen Y, Liu Q, Zhao Z, Sharma R, et al. Melatonin Synthesis and Function: Evolutionary History in Animals and Plants. *Front Endocrinol.* 2019;10:249.
145. Touitou Y. Human aging and melatonin. Clinical relevance. *Exp Gerontol.* 2001 Jul;36(7):1083–100.
146. Emet M, Ozcan H, Ozel L, Yayla M, Halici Z, Hacimuftuoglu A. A Review of Melatonin, Its Receptors and Drugs. *Eurasian J Med.* 2016 Jun;48(2):135–41.
147. Şener G. Karanlığın hormonu: Melatonin. 2010 [cited 2020 Nov 23]; Available from: http://dspace.marmara.edu.tr/xmlui/handle/11424/1419
148. Brainard GC, Rollag MD, Hanifin JP. Photoc Regulation of Melatonin in Humans: Ocular and Neural Signal Transduction. *J Biol Rhythms.* 1997 Dec 1;12(6):537–46.

149. Papamichael C, Skene DJ, Revell VL. Human nonvisual responses to simultaneous presentation of blue and red monochromatic light. *J Biol Rhythms*. 2012 Feb;27(1):70–8.
150. Fourtillan JB, Brisson AM, Fourtillan M, Ingrand I, Decourt JP, Girault J. Melatonin secretion occurs at a constant rate in both young and older men and women. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001 Jan;280(1):E11-22.
151. Stoschitzky K, Sakotnik A, Lercher P, Zweiker R, Maier R, Liebmann P, et al. Influence of beta-blockers on melatonin release. *Eur J Clin Pharmacol*. 1999 Apr;55(2):111–5.
152. Özçelik F, Erdem M, Bolu A, Gülsün M. Melatonin: Genel Özellikleri ve Psikiyatrik Bozukluklardaki Rolü. *Psikiyatr Güncel Yaklaşımlar*. 2013 Jun 1;5(2):179–203.
153. Uz T, Arslan AD, Kurtuncu M, Imbesi M, Akhisaroglu M, Dwivedi Y, et al. The regional and cellular expression profile of the melatonin receptor MT1 in the central dopaminergic system. *Brain Res Mol Brain Res*. 2005 May 20;136(1–2):45–53.
154. Devavry S, Legros C, Brasseur C, Cohen W, Guenin S-P, Delagrangé P, et al. Molecular pharmacology of the mouse melatonin receptors MT₁ and MT₂. *Eur J Pharmacol*. 2012 Feb 29;677(1–3):15–21.
155. Li DY, Smith DG, Hardeland R, Yang MY, Xu HL, Zhang L, et al. Melatonin receptor genes in vertebrates. *Int J Mol Sci*. 2013 May 27;14(6):11208–23.
156. Reppert SM, Godson C, Mahle CD, Weaver DR, Slaugenhaupt SA, Gusella JF. Molecular characterization of a second melatonin receptor expressed in human retina and brain: the Mel1b melatonin receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995 Sep 12;92(19):8734–8.
157. Ekmekcioglu C. Melatonin receptors in humans: biological role and clinical relevance. *Biomed Pharmacother Biomedecine Pharmacother*. 2006 Apr;60(3):97–108.
158. Dubocovich ML. Melatonin receptors: role on sleep and circadian rhythm regulation. *Sleep Med*. 2007 Dec;8 Suppl 3:34–42.
159. Pandi-Perumal SR, Trakht I, Srinivasan V, Spence DW, Maestroni GJM, Zisapel N, et al. Physiological effects of melatonin: role of melatonin receptors and signal transduction pathways. *Prog Neurobiol*. 2008 Jul;85(3):335–53.
160. Wang R-X, Liu H, Xu L, Zhang H, Zhou R-X. Involvement of nuclear receptor RZR/ROR γ in melatonin-induced HIF-1 α inactivation in SGC-7901 human gastric cancer cells. *Oncol Rep*. 2015 Nov;34(5):2541–6.

161. Lewy AJ, Ahmed S, Jackson JM, Sack RL. Melatonin shifts human circadian rhythms according to a phase-response curve. *Chronobiol Int.* 1992 Oct;9(5):380–92.
162. Burgess HJ, Revell VL, Molina TA, Eastman CI. Human phase response curves to three days of daily melatonin: 0.5 mg versus 3.0 mg. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010 Jul;95(7):3325–31.
163. Nowak R, McMillen IC, Redman J, Short RV. The correlation between serum and salivary melatonin concentrations and urinary 6-hydroxymelatonin sulphate excretion rates: two non-invasive techniques for monitoring human circadian rhythmicity. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1987 Oct;27(4):445–52.
164. Graham C, Cook MR, Kavet R, Sastre A, Smith DK. Prediction of nocturnal plasma melatonin from morning urinary measures. *J Pineal Res.* 1998 May;24(4):230–8.
165. Ray PD, Huang B-W, Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signal.* 2012 May;24(5):981–90.
166. Miller E, Morel A, Saso L, Saluk J. Melatonin redox activity. Its potential clinical applications in neurodegenerative disorders. *Curr Top Med Chem.* 2015;15(2):163–9.
167. Mirza-Aghazadeh-Attari M, Mohammadzadeh A, Mostavafi S, Mihanfar A, Ghazizadeh S, Sadighparvar S, et al. Melatonin: An important anticancer agent in colorectal cancer. *J Cell Physiol.* 2020;235(2):804–17.
168. Ianăș O, Olinescu R, Bădescu I. Melatonin involvement in oxidative processes. *Endocrinologie.* 1991;29(3–4):147–53.
169. Reiter RJ. Interactions of the pineal hormone melatonin with oxygen-centered free radicals: a brief review. *Braz J Med Biol Res Rev Bras Pesqui Medicas E Biol.* 1993 Nov;26(11):1141–55.
170. Sewerynek E, Reiter RJ, Melchiorri D, Ortiz GG, Lewinski A. Oxidative damage in the liver induced by ischemia-reperfusion: protection by melatonin. *Hepatogastroenterology.* 1996 Aug;43(10):898–905.
171. Reiter RJ. Functional aspects of the pineal hormone melatonin in combating cell and tissue damage induced by free radicals. *Eur J Endocrinol.* 1996 Apr;134(4):412–20.
172. Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. A review. *J Biomed Sci.* 2000 Dec;7(6):444–58.

173. Galano A, Tan DX, Reiter RJ. Melatonin as a natural ally against oxidative stress: a physicochemical examination. *J Pineal Res.* 2011 Aug;51(1):1–16.
174. Reiter RJ, Tan DX, Qi W, Manchester LC, Karbownik M, Calvo JR. Pharmacology and physiology of melatonin in the reduction of oxidative stress in vivo. *Biol Signals Recept.* 2000 Aug;9(3–4):160–71.
175. Tan D-X, Chen LD, Poeggeler B, Manchester LC, Reiter R. Melatonin: A potent endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocr J.* 1993 Jan 1;1:57–60.
176. Hacışevki A, Baba B. An Overview of Melatonin as an Antioxidant Molecule: A Biochemical Approach. *Melatonin - Mol Biol Clin Pharm Approaches* [Internet]. 2018 Nov 5 [cited 2020 Nov 23]; Available from: <https://www.intechopen.com/books/melatonin-molecular-biology-clinical-and-pharmaceutical-approaches/an-overview-of-melatonin-as-an-antioxidant-molecule-a-biochemical-approach>
177. Tan D-X, Manchester LC, Esteban-Zubero E, Zhou Z, Reiter RJ. Melatonin as a Potent and Inducible Endogenous Antioxidant: Synthesis and Metabolism. *Mol Basel Switz.* 2015 Oct 16;20(10):18886–906.
178. Mayo JC, Sainz RM, Antoli I, Herrera F, Martin V, Rodriguez C. Melatonin regulation of antioxidant enzyme gene expression. *Cell Mol Life Sci CMLS.* 2002 Oct;59(10):1706–13.
179. Acute dose of melatonin via Nrf2 dependently prevents acute ethanol-induced neurotoxicity in the developing rodent brain - PubMed [Internet]. [cited 2020 Nov 23]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29679979/>
180. Onphachanh X, Lee HJ, Lim JR, Jung YH, Kim JS, Chae CW, et al. Enhancement of high glucose-induced PINK1 expression by melatonin stimulates neuronal cell survival: Involvement of MT2 /Akt/NF-κB pathway. *J Pineal Res.* 2017 Sep;63(2).
181. Maiocchi SL, Morris JC, Rees MD, Thomas SR. Regulation of the nitric oxide oxidase activity of myeloperoxidase by pharmacological agents. *Biochem Pharmacol.* 2017 01;135:90–115.
182. Giusti P, Lipartiti M, Franceschini D, Schiavo N, Floreani M, Manev H. Neuroprotection by melatonin from kainate-induced excitotoxicity in rats. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* 1996 Jun;10(8):891–6.
183. Yamamoto H, Tang H. Melatonin attenuates L-cysteine-induced seizures and lipid peroxidation in the brain of mice. *J Pineal Res.* 1996 Sep;21(2):108–13.

184. Hara M, Yoshida M, Nishijima H, Yokosuka M, Iigo M, Ohtani-Kaneko R, et al. Melatonin, a pineal secretory product with antioxidant properties, protects against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *J Pineal Res.* 2001 Apr;30(3):129–38.
185. Montilla P, Túnez I, Muñoz MC, López A, Soria JV. Hyperlipidemic nephropathy induced by adriamycin: effect of melatonin administration. *Nephron.* 1997;76(3):345–50.
186. Montilla PL, Vargas JF, Túnez IF, Muñoz de Agueda MC, Valdelvira ME, Cabrera ES. Oxidative stress in diabetic rats induced by streptozotocin: protective effects of melatonin. *J Pineal Res.* 1998 Sep;25(2):94–100.
187. Yavuz O, Cam M, Bukan N, Guven A, Silan F. Protective effect of melatonin on beta-cell damage in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Acta Histochem.* 2003;105(3):261–6.
188. Espino J, Rodríguez AB, Pariente JA. Melatonin and Oxidative Stress in the Diabetic State: Clinical Implications and Potential Therapeutic Applications. *Curr Med Chem.* 2019;26(22):4178–90.
189. Metwally MMM, Ebraheim LLM, Galal AAA. Potential therapeutic role of melatonin on STZ-induced diabetic central neuropathy: A biochemical, histopathological, immunohistochemical and ultrastructural study. *Acta Histochem.* 2018 Nov;120(8):828–36.
190. Tiong YL, Ng KY, Koh RY, Ponnudurai G, Chye SM. Melatonin Prevents Oxidative Stress-Induced Mitochondrial Dysfunction and Apoptosis in High Glucose-Treated Schwann Cells via Upregulation of Bcl2, NF- κ B, mTOR, Wnt Signalling Pathways. *Antioxid Basel Switz.* 2019 Jun 26;8(7).
191. Baydaş G, Erçel E, Canatan H, Dönder E, Akyol A. Effect of melatonin on oxidative status of rat brain, liver and kidney tissues under constant light exposure. *Cell Biochem Funct.* 2001 Mar;19(1):37–41.
192. Baydas G, Canatan H, Turkoglu A. Comparative analysis of the protective effects of melatonin and vitamin E on streptozocin-induced diabetes mellitus. *J Pineal Res.* 2002 May;32(4):225–30.
193. Doosti-Irani A, Ostadmohammadi V, Mirhosseini N, Mansournia MA, Reiter RJ, Kashanian M, et al. Correction: The Effects of Melatonin Supplementation on Glycemic Control: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Horm Metab Res Horm Stoffwechselforschung Horm Metab.* 2018 Nov;50(11):e6.
194. Lima FB, Machado UF, Bartol I, Seraphim PM, Sumida DH, Moraes SM, et al. Pinealectomy causes glucose intolerance and decreases adipose cell responsiveness to insulin in rats. *Am J Physiol.* 1998;275(6):E934–941.

195. Akmalı M, Ahmadi R, Vessal M. Pre- and post-treatment of streptozocin administered rats with melatonin: effects on some hepatic enzymes of carbohydrate metabolism. *Arch Iran Med*. 2010 Mar;13(2):105–10.
196. McMullan CJ, Schernhammer ES, Rimm EB, Hu FB, Forman JP. Melatonin secretion and the incidence of type 2 diabetes. *JAMA*. 2013 Apr 3;309(13):1388–96.
197. Bouatia-Naji N, Bonnefond A, Cavalcanti-Proença C, Sparsø T, Holmkvist J, Marchand M, et al. A variant near MTNR1B is associated with increased fasting plasma glucose levels and type 2 diabetes risk. *Nat Genet*. 2009 Jan;41(1):89–94.
198. Peschke E, Bähr I, Mühlbauer E. Melatonin and pancreatic islets: interrelationships between melatonin, insulin and glucagon. *Int J Mol Sci*. 2013 Mar 27;14(4):6981–7015.
199. Mulder H. Melatonin signalling and type 2 diabetes risk: too little, too much or just right? *Diabetologia*. 2017;60(5):826–9.
200. Frankel BJ, Strandberg MJ. Insulin release from isolated mouse islets in vitro: no effect of physiological levels of melatonin or arginine vasotocin. *J Pineal Res*. 1991 Nov;11(3–4):145–8.
201. Peschke E, Bach AG, Mühlbauer E. Parallel signaling pathways of melatonin in the pancreatic beta-cell. *J Pineal Res*. 2006 Mar;40(2):184–91.
202. Ramracheya RD, Muller DS, Squires PE, Brereton H, Sugden D, Huang GC, et al. Function and expression of melatonin receptors on human pancreatic islets. *J Pineal Res*. 2008 Apr;44(3):273–9.
203. Lyssenko V, Nagorny CLF, Erdos MR, Wierup N, Jonsson A, Spégel P, et al. Common variant in MTNR1B associated with increased risk of type 2 diabetes and impaired early insulin secretion. *Nat Genet*. 2009 Jan;41(1):82–8.
204. la Fleur SE, Kalsbeek A, Wortel J, van der Vliet J, Buijs RM. Role for the pineal and melatonin in glucose homeostasis: pinealectomy increases night-time glucose concentrations. *J Neuroendocrinol*. 2001 Dec;13(12):1025–32.
205. Shima T, Chun SJ, Nijima A, Bizot-Espiard JG, Guardiola-Lemaitre B, Hosokawa M, et al. Melatonin suppresses hyperglycemia caused by intracerebroventricular injection of 2-deoxy-D-glucose in rats. *Neurosci Lett*. 1997 Apr 25;226(2):119–22.
206. Anhê GF, Caperuto LC, Pereira-Da-Silva M, Souza LC, Hirata AE, Velloso LA, et al. In vivo activation of insulin receptor tyrosine kinase by melatonin in the rat hypothalamus. *J Neurochem*. 2004 Aug;90(3):559–66.

207. Tutuncu NB, Batur MK, Yildirim A, Tutuncu T, Deger A, Koray Z, et al. Melatonin levels decrease in type 2 diabetic patients with cardiac autonomic neuropathy. *J Pineal Res.* 2005 Aug;39(1):43–9.
208. Singh M, Jadhav HR. Melatonin: functions and ligands. *Drug Discov Today.* 2014 Sep;19(9):1410–8.
209. Amaral FG, Turati AO, Barone M, Scialfa JH, do Carmo Buonfiglio D, Peres R, et al. Melatonin synthesis impairment as a new deleterious outcome of diabetes-derived hyperglycemia. *J Pineal Res.* 2014 Aug;57(1):67–79.
210. do Carmo Buonfiglio D, Peliciari-Garcia RA, do Amaral FG, Peres R, Nogueira TCA, Afeche SC, et al. Early-stage retinal melatonin synthesis impairment in streptozotocin-induced diabetic wistar rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011 Sep 22;52(10):7416–22.
211. Peschke E, Stumpf I, Bazwinsky I, Litvak L, Dralle H, Mühlbauer E. Melatonin and type 2 diabetes - a possible link? *J Pineal Res.* 2007 Apr;42(4):350–8.
212. Tan HY, Ng KY, Koh RY, Chye SM. Pharmacological Effects of Melatonin as Neuroprotectant in Rodent Model: A Review on the Current Biological Evidence. *Cell Mol Neurobiol.* 2020 Jan;40(1):25–51.
213. Boga JA, Caballero B, Potes Y, Perez-Martinez Z, Reiter RJ, Vega-Naredo I, et al. Therapeutic potential of melatonin related to its role as an autophagy regulator: A review. *J Pineal Res.* 2019 Jan;66(1):e12534.
214. Allagui MS, Feriani A, Bouoni Z, Alimi H, Murat JC, El Feki A. Protective effects of vitamins (C and E) and melatonin co-administration on hematological and hepatic functions and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *J Physiol Biochem.* 2014 Sep;70(3):713–23.
215. Nishida S, Segawa T, Murai I, Nakagawa S. Long-term melatonin administration reduces hyperinsulinemia and improves the altered fatty-acid compositions in type 2 diabetic rats via the restoration of Delta-5 desaturase activity. *J Pineal Res.* 2002 Jan;32(1):26–33.
216. Garfinkel D, Zorin M, Wainstein J, Matas Z, Laudon M, Zisapel N. Efficacy and safety of prolonged-release melatonin in insomnia patients with diabetes: a randomized, double-blind, crossover study. *Diabetes Metab Syndr Obes Targets Ther.* 2011;4:307–13.
217. Sailaja Devi MM, Suresh Y, Das null. Preservation of the antioxidant status in chemically-induced diabetes mellitus by melatonin. *J Pineal Res.* 2000 Sep;29(2):108–15.
218. Qiu X-F, Li X-X, Chen Y, Lin H-C, Yu W, Wang R, et al. Mobilisation of endothelial progenitor cells: one of the possible mechanisms involved in the

- chronic administration of melatonin preventing erectile dysfunction in diabetic rats. *Asian J Androl*. 2012 May;14(3):481–6.
219. Feldman EL, Stevens MJ, Thomas PK, Brown MB, Canal N, Greene DA. A practical two-step quantitative clinical and electrophysiological assessment for the diagnosis and staging of diabetic neuropathy. *Diabetes Care*. 1994 Nov;17(11):1281–9.
 220. Bojkowski CJ, Arendt J. Factors influencing urinary 6-sulphatoxymelatonin, a major melatonin metabolite, in normal human subjects. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1990 Oct;33(4):435–44.
 221. Pääkkönen T, Mäkinen TM, Leppäluoto J, Vakkuri O, Rintamäki H, Palinkas LA, et al. Urinary melatonin: a noninvasive method to follow human pineal function as studied in three experimental conditions. *J Pineal Res*. 2006 Mar;40(2):110–5.
 222. Hidalgo MPL, Caumo W, Dantas G, Franco DG, Torres IL da S, Pezzi J, et al. 6-Sulfatoxymelatonin as a predictor of clinical outcome in depressive patients. *Hum Psychopharmacol*. 2011 Apr;26(3):252–7.
 223. Abeysuriya RG, Lockley SW, Robinson PA, Postnova S. A unified model of melatonin, 6-sulfatoxymelatonin, and sleep dynamics. *J Pineal Res*. 2018 May;64(4):e12474.
 224. Pérez-Caraballo AM, Ma Y, Ockene JK, Reeves KW, Balasubramanian R, Stanczyk FZ, et al. Association of urinary levels of 6-sulfatoxymelatonin (aMT6s) with prevalent and incident hypertension. *Chronobiol Int*. 2018;35(8):1115–21.
 225. Reutrakul S, Sumritsopak R, Saetung S, Chanprasertyothin S, Chailurkit L-O, Anothaisintawee T. Lower nocturnal urinary 6-sulfatoxymelatonin is associated with more severe insulin resistance in patients with prediabetes. *Neurobiol Sleep Circadian Rhythms*. 2018 Jan;4:10–6.
 226. Chen W, Cao H, Lu Q-Y, Wang N, Zhao S-Z, Xu X, et al. Urinary 6-sulfatoxymelatonin level in diabetic retinopathy patients with type 2 diabetes. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7(7):4317–22.
 227. Caumo W, Hidalgo MP, Souza A, Torres ILS, Antunes LC. Melatonin is a biomarker of circadian dysregulation and is correlated with major depression and fibromyalgia symptom severity. *J Pain Res*. 2019;12:545–56.
 228. O'Brien IA, Lewin IG, O'Hare JP, Arendt J, Corrall RJ. Abnormal circadian rhythm of melatonin in diabetic autonomic neuropathy. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1986 Apr;24(4):359–64.
 229. Cardinali DP, Vigo DE. Melatonin, mitochondria, and the metabolic syndrome. *Cell Mol Life Sci CMLS*. 2017;74(21):3941–54.

230. Mok JX, Ooi JH, Ng KY, Koh RY, Chye SM. A new prospective on the role of melatonin in diabetes and its complications. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2019 Nov 6;40(1).
231. Pourhanifeh MH, Hosseinzadeh A, Dehdashtian E, Hemati K, Mehrzadi S. Melatonin: new insights on its therapeutic properties in diabetic complications. *Diabetol Metab Syndr.* 2020;12:30.
232. Negi G, Kumar A, Kaundal RK, Gulati A, Sharma SS. Functional and biochemical evidence indicating beneficial effect of Melatonin and Nicotinamide alone and in combination in experimental diabetic neuropathy. *Neuropharmacology.* 2010 Mar;58(3):585–92.
233. Negi G, Kumar A, Sharma SS. Melatonin modulates neuroinflammation and oxidative stress in experimental diabetic neuropathy: effects on NF- κ B and Nrf2 cascades. *J Pineal Res.* 2011 Mar;50(2):124–31.
234. Seyit DA, Degirmenci E, Oguzhanoglu A. Evaluation of Electrophysiological Effects of Melatonin and Alpha Lipoic Acid in Rats with Streptozotocine Induced Diabetic Neuropathy. *Exp Clin Endocrinol Diabetes Off J Ger Soc Endocrinol Ger Diabetes Assoc.* 2016 May;124(5):300–6.
235. Reiter RJ, Paredes SD, Manchester LC, Tan D-X. Reducing oxidative/nitrosative stress: a newly-discovered genre for melatonin. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2009 Aug;44(4):175–200.
236. Kireev RA, Tresguerres ACF, Garcia C, Ariznavarreta C, Vara E, Tresguerres JAF. Melatonin is able to prevent the liver of old castrated female rats from oxidative and pro-inflammatory damage. *J Pineal Res.* 2008 Nov;45(4):394–402.
237. Wang J, Wang H. Oxidative Stress in Pancreatic Beta Cell Regeneration. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:1930261.
238. Reutrakul S, Siwasaranond N, Nimitphong H, Saetung S, Chirakalwasan N, Chailurkit L-O, et al. Associations between nocturnal urinary 6-sulfatoxymelatonin, obstructive sleep apnea severity and glycemic control in type 2 diabetes. *Chronobiol Int.* 2017;34(3):382–92.
239. Kurhaluk N, Sliuta A, Kyriienko S, Winklewski PJ. Melatonin Restores White Blood Cell Count, Diminishes Glycated Haemoglobin Level and Prevents Liver, Kidney and Muscle Oxidative Stress in Mice Exposed to Acute Ethanol Intoxication. *Alcohol Alcohol Oxf Oxf.* 2017 Sep 1;52(5):521–8.
240. Tasali E, Mokhlesi B, Van Cauter E. Obstructive sleep apnea and type 2 diabetes: interacting epidemics. *Chest.* 2008 Feb;133(2):496–506.
241. Mayo JC, Aguado A, Cernuda-Cernuda R, Álvarez-Artme A, Cepas V, Quirós-González I, et al. Melatonin Uptake by Cells: An Answer to Its Relationship with Glucose? *Mol Basel Switz.* 2018 Aug 10;23(8).

242. Djordjevic B, Cvetkovic T, Stoimenov TJ, Despotovic M, Zivanovic S, Basic J, et al. Oral supplementation with melatonin reduces oxidative damage and concentrations of inducible nitric oxide synthase, VEGF and matrix metalloproteinase 9 in the retina of rats with streptozotocin/nicotinamide induced pre-diabetes. *Eur J Pharmacol.* 2018 Aug 15;833:290–7.
243. Hikichi T, Tateda N, Miura T. Alteration of melatonin secretion in patients with type 2 diabetes and proliferative diabetic retinopathy. *Clin Ophthalmol Auckl NZ.* 2011;5:655–60.
244. Wang W, Zhang J, Wang X, Wang H, Ren Q, Li Y. Effects of melatonin on diabetic nephropathy rats via Wnt/ β -catenin signaling pathway and TGF- β -Smad signaling pathway. *Int J Clin Exp Pathol.* 2018;11(5):2488–96.
245. Ebaid H, Bashandy SAE, Abdel-Mageed AM, Al-Tamimi J, Hassan I, Alhazza IM. Folic acid and melatonin mitigate diabetic nephropathy in rats via inhibition of oxidative stress. *Nutr Metab.* 2020;17:6.
246. Gerdin MJ, Masana MI, Dubocovich ML. Melatonin-mediated regulation of human MT(1) melatonin receptors expressed in mammalian cells. *Biochem Pharmacol.* 2004 Jun 1;67(11):2023–30.
247. Gerdin MJ, Masana MI, Rivera-Bermúdez MA, Hudson RL, Earnest DJ, Gillette MU, et al. Melatonin desensitizes endogenous MT2 melatonin receptors in the rat suprachiasmatic nucleus: relevance for defining the periods of sensitivity of the mammalian circadian clock to melatonin. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* 2004 Nov;18(14):1646–56.