

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA STREPTOZOTOSİN İLE OLUŞTURULAN
DİABETİK NÖROPATİDE MELATONİN VE ALFA LİPOİK
ASİT ETKİSİNİN ELEKTROFİZYOLOJİK OLARAK
İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR.DUYGU ARAS SEYİT**

**TEZ DANIŞMANI
YRD.DOÇ.DR.EYLEM DEĞİRMENCİ**

DENİZLİ - 2013

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA STREPTOZOTOSİN İLE OLUŞTURULAN
DİABETİK NÖROPATİDE MELATONİN VE ALFA LİPOİK
ASİT ETKİSİNİN ELEKTROFİZYOLOJİK OLARAK
İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. DUYGU ARAS SEYİT**

**DANIŞMAN
YRD.DOÇ.DR.EYLEM DEĞİRMENCİ**

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 01.03.2012 tarih ve 2012TPF007 nolu kararı ile desteklenmiştir.

DENİZLİ-2013

Yrd.Doç.Dr.Eylem DEĞİRMENCİ danışmanlığında Dr.Duygu ARAS SEYİT tarafından yapılan “Sıçanlarda streptozotosin ile oluşturulan diabetik nöropatide melatonin ve alfa lipoik asit etkisinin elektrofizyolojik olarak incelenmesi” başlıklı tez çalışması 16/05/2013 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Nöroloji Anabilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN


Prof.Dr.Attila Oğuzhanoglu

ÜYE


Yrd.Doç.Dr.Eylem Değirmenci

ÜYE


Yrd.Doç.Dr.Çağdaş Erdoğan

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.
12 gün / ay / 2013 yıl.


Prof.Dr.Hasan Herken
Pamukkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Nöroloji uzmanlık eğitimim süresince büyük emekleri olan saygıdeğer hocalarım; öncelikle tezimin hazırlanmasında ve yazım aşamasında bana yol gösteren ve desteğini hiç esirgemeyen değerli tez hocam Yrd.Doç.Dr.Eylem Değirmenci başta olmak üzere Prof.Dr.Attila Oğuzhanoğlu'na, Prof.Dr.L.Sinan Bir'e, Doç.Dr.Çağatay Hilmi Öncel'e, Doç.Dr.Göksemin Acar'a, Yrd.Doç.Dr.Çağdaş Erdoğan'a; çalışmaktan keyif aldığım tüm asistan arkadaşlarıma ve nöroloji servisinin diğer çalışanlarına teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde büyük payı olan ve her zaman desteklerini hissettiğim aileme, tez süresince sonsuz sabrı, sevgi ve desteğiyle hep yanımda olan sevgili eşim Murat Seyit'e ve biricik kızım Defne'ye sonsuz teşekkür ederim.

Dr.DUYGU ARAS SEYİT

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ONAY SAYFASI.....	III
TEŞEKKÜR.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	IX
ÖZET.....	X
İNGİLİZCE ÖZET.....	XI
GİRİŞ-AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
DİABETES MELLİTUS.....	3
Tanım.....	3
Tanı.....	3
Sınıflama.....	4
Komplikasyonlar.....	5
DİABETİK NÖROPATİ.....	6
Tanım-tarihçe.....	6
Prevelans.....	7
Risk faktörleri.....	7
Klinik ve sınıflama.....	7
Patoloji.....	9
Patogenez.....	10
Tanı.....	13
<i>Klinik tanısal yöntemler.....</i>	14
<i>Elektrofizyolojik tanısal yöntemler.....</i>	14
<i>Motor sinir ileti incelemeleri.....</i>	15
<i>Kayıtlama Yöntemleri.....</i>	15

<i>Ölçümler</i>	16
<i>Duysal Sinir İletimi</i>	17
<i>İğne EMG</i>	17
<i>Geç Yanıtlar</i>	18
<i>SEP (Somatosensory Evoked Potentials)</i>	18
Tedavi	19
<i>Normoglisemiyi Hedefleyen Nedene Yönelik Tedavi</i>	19
<i>Patojenik Mekanizmalara Dayanan Tedavi</i>	20
<i>Ağrılı Nöropatinin Semptomatik Tedavisi</i>	20
<i>Alfa Lipoik Asit</i>	20
<i>Melatonin</i>	23
DENEYSSEL DİABET MODELİ	25
GEREÇ VE YÖNTEM	26
BULGULAR	34
TARTIŞMA	48
SONUÇ	60
KAYNAKLAR	62

SİMGELER VE KISALTMALAR

ALA	: Alfa lipoik asit
AGE	: Advanced glycosylation endproducts
ASA	: Asetilsalisilik asit
DM	: Diabetes Mellitus
DSPN	: Distal simetrik sensorimotor polinöropati
HbA1c	:Yüksek glikolize hemoglobin
KDT	: Kantitatif duysal testler
MAPKs	: Mitogen-activated protein kinases
MSS	: Merkezi sinir sistemi
NF-κB	: Nükleer Faktör-κB
NOS	: Nitrik oksit sentaz
OFT	: Otonom fonksiyon testleri
OGTT	: Oral glukoz tolerans testi
PARP	: Poly ADP-ribose polymeras
SEP	: Somatosensory evoked potentials
SOD	: Süperoksit Dismutaz
STZ	: Streptozotosin
TBARS	:Thiobarbituric acid reactive substances

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1a Sıçanda tibial motor sinir ileti çalışmasında uyarı ve kayıt noktaları.....	30
Şekil 1b EMG veri sayfası örneği.....	31
Şekil 2a Sıçanda tibial SEP’de uyarı ve kayıt noktaları.....	32
Şekil 2b Tibial SEP EMG veri sayfası örneği	33
Şekil 3 ALA, melatonin ve kontrol grubunda DM öncesi ve DM sonrası ortalama ağırlık (g) değerleri	35
Şekil 4 ALA,melatonin ve kontrol grubunda DM öncesi, DM sonrası ve tedavi sonrası ortalama amplitüd değerleri	38
Şekil 5 ALA,melatonin ve kontrol grubunda DM öncesi, DM sonrası ve tedavi sonrası ortalama hız değerleri.....	40

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1 Diabetes Mellitus tanı kriterleri	4
Tablo 2 Diabetes Mellitus etiyolojik sınıflaması.....	4
Tablo 3 Diabetes Mellitusun akut komplikasyonları	5
Tablo 4 Diabetes Mellitusun kronik komplikasyonları	6
Tablo 5 Diabetik nöropati sınıflaması	9
Tablo 6 Deney grupları	28
Tablo 7 ALA, melatonin ve kontrol grubunda DM öncesi, DM sonrası ve tedavi sonrası ortalama amplitüd değerlerinin karşılaştırılması ve anlamlılık değerleri (p değeri).....	37
Tablo 8 ALA, melatonin ve kontrol grubunda DM öncesi, DM sonrası ve tedavi sonrası ortalama hız değerlerinin karşılaştırılması ve anlamlılık değerleri (p değeri).....	39
Tablo 9 ALA, melatonin ve kontrol grubunda DM öncesi, DM sonrası ve tedavi sonrası ortalama distal latans değerlerinin karşılaştırılması ve anlamlılık değerleri (p değeri).....	41
Tablo 10 ALA, melatonin ve kontrol grubunda DM öncesi, DM sonrası ve tedavi sonrası ortalama proksimal latans değerlerinin karşılaştırılması ve anlamlılık değerleri (p değeri).....	42
Tablo 11 ALA, melatonin ve kontrol grubunda DM öncesi elektrofizyolojik değerlerin ortalamalarının karşılaştırılması ve anlamlılık değerleri (p değeri).....	45
Tablo 12 ALA, melatonin ve kontrol grubunda DM sonrası ortalama elektrofizyolojik değerlerin karşılaştırılması ve anlamlılık değerleri (p değeri).....	46
Tablo 13 ALA, melatonin ve kontrol grubunda tedavi sonrası ortalama elektrofizyolojik değerlerin karşılaştırılması ve anlamlılık değerleri (p değeri).....	48

ÖZET

Sıçanlarda streptozotosin ile oluşturulan diabetik nöropatide melatonin ve alfa lipoik asit etkisinin elektrofizyolojik olarak incelenmesi

Dr. Duygu Aras Seyit

Nöropati, diabetes mellitusun sık görülen ve yaşam kalitesini oldukça yakından ilgilendiren bir komplikasyonudur. Diabetik nöropati patogenezinde hiperglisemiyle indüklenen oksidatif stres sonucu polioll yolunda artış, *Poly ADP-ribose polymerase* (PARP) aktivasyonu, sinir büyüme faktörlerinde azalma, metabolik ara ürünlerin oluşumu, lipit peroksidasyonu, proteinlerin glikolizasyonu gibi metabolik anormalliklerle birlikte sinir kan akımında azalma ve periferik sinir sisteminde mikro iskemilerin oluşması rol oynamaktadır. Diabetik nöropatinin gelişimini engelleyebilecek veya yavaşlatabilecek alfa lipoik asit gibi biyolojik maddeleri araştıran çok sayıda çalışma mevcuttur. Diabetik nöropatinin gelişimini yavaşlatıcı etkisi olabilecek bir diğer ajan ise melatonindir ve melatoninin diabetik nöropatideki etkilerini araştıran birkaç çalışma vardır. Bu çalışmada melatoninin nöropati üzerine olan etkisinin deneysel diabet oluşturulan ratlarda hem kontrol grubu hem de ALA grubu ile karşılaştırarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışma 24 erkek Wistar rat ile yapılmıştır. Tüm ratlarda diabetes mellitus (DM) öncesi ve DM sonrası tibial motor sinir iletim çalışması ve kortikal tibial sinir *somatosensory evoked potentials* (SEP) çalışması yapılmış ve sonrasında ALA, melatonin ve kontrol grubu olmak üzere üç grup oluşturulmuştur. İki haftalık tedavi sürecinden sonra tibial motor sinir iletim ve kortikal tibial SEP çalışmaları tekrarlanmıştır. Çalışma sonuçları ALA'nın diabetik nöropati geliştirilmiş ratlarda sinir iletim hızını ve amplitüd değerlerini anlamlı olarak arttırdığını ($p=0,001$; $p=0,002$) göstermiştir. Melatoninin de diabetik nöropati geliştirilmiş ratlarda hem iletim hızını hem de amplitüd değerlerini anlamlı olarak arttırdığı saptanmıştır ($p=0,002$; $p=0,002$). Alfa lipoik asit ve melatoninin elektrofizyolojik etkileri kendi arasında karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Ayrıca ALA ve melatoninin kortikal tibial sinirSEP çalışmalarında P1 ve N1 latans değerleri üzerinde anlamlı bir değişikliğe yol açmadığı saptanmıştır.

Çalışmamız deneysel diabetik nöropatide ALA ve melatoninin etkilerinin hem tibial sinir iletim çalışmaları hem de kortikal tibial sinir SEP çalışmaları ile karşılaştırıldığı ilk çalışmadır. Çalışmamızda kortikal tibial sinir SEP çalışmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamasının nedeni, diabetin merkezi sinir sisteminde ALA ve melatoninin etki etmediğı farklı yolakların olabileceğini düşündürmüştür. Alfa lipoik asit grubunda elde edilen sonuçlar, ALA'nın diabetik nöropati patogenezindeki rolü hakkındaki biyokimyasal çalışma sonuçlarına objektif bir kanıtlar oluşturması açısından önemlidir. Fakat melatoninin diabetik nöropatideki etkisi hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bu nedenle, çalışmamız melatoninin diabetik nöropatideki rolünü araştırarak daha ileri biyokimyasal ve klinik çalışmalar için yol gösterici olabilir.

Anahtar kelimeler: Alfa lipoik asit, melatonin, deneysel diabetik nöropati, kortikaltibial somatosensorial uyarılmış potansiyel, sinir ileti çalışmaları

SUMMARY

Evaluation of electrophysiological effects of melatonin and alpha lipoic acid in rats with streptozotocine induced diabetic neuropathy

Dr. Duygu Aras Seyit

Neuropathy is a common complication of diabetes mellitus and is closely related to quality of life. Pathogenesis of diabetic neuropathy includes increase of polyol pathway due to oxidative stress induced by hyperglycemia, *Poly ADP-ribose polymerase* (PARP) activation, decrease in nerve growth factors, production of metabolic intermediates, lipid peroxidation, and protein glycolysis leading to metabolic abnormalities, decrease in nerve blood current and micro ischemia in peripheral nerve system. There are many studies in which biological ingredients, such as alpha lipoic acid (ALA), that may inhibit or reduce the generation of diabetic neuropathy investigated. Another biological agent that may reduce the generation of diabetic neuropathy is melatonin and there are a few studies which investigates the effects of melatonin on diabetic neuropathy. In this study we aimed to examine the effect of melatonin on experimentally induced diabetic neuropathy by comparing it with both ALA and control groups.

We included 24 male Wistar rats. Tibial motor nerve conduction and cortical tibial nerve *somatosensory evoked potentials* (SEP) studies were performed before and after diabetes mellitus (DM) for all rats. Rats were divided into three (ALA, melatonin and control) groups. After two weeks of treatment period, tibial motor nerve conduction and cortical tibial SEP studies were repeated. Studies showed that ALA significantly increased nerve conduction velocity and amplitude in rats with diabetic neuropathy ($p=0,001$; $p=0,002$). Also, melatonin significantly increased nerve conduction velocity and amplitude in rats with diabetic neuropathy ($p=0,002$; $p=0,002$). There was no significant difference between the electrophysiological effects of ALA and melatonin. Besides, neither ALA nor melatonin did significantly affect P1 and N1 latency values on cortical tibial nerve SEP studies.

Our study is the study in which both tibial nerve conduction and cortical tibial SEP studies were performed to compare effects of ALA and melatonin on experimental diabetic neuropathy. Lack of significant difference on cortical tibial SEP study would be attributed to the involvement of other central nervous system pathways which do not include ALA or melatonin in the pathogenesis. Results of ALA group are important by means of giving objective evidences for results of biochemical studies about the role of ALA in the pathogenesis of diabetic neuropathy. However, there is not enough information about the effect of melatonin in the pathogenesis of diabetic neuropathy. Consequently, results of our study may anticipate further biochemical and clinic studies which investigate the about the role of melatonin in diabetic neuropathy.

Key words: Alpha lipoic acid, melatonin, diabetic neuropathy, tibial somatosensory evoked potential, nerve conduction velocity

GİRİŞ-AMAÇ

Diabetes mellitus (DM) insülin defektine bağlı hiperglisemi ile karakterize karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında bozukluklara yol açan, genetik ve klinik olarak heterojen, kronik bir hastalık grubudur (1,2). Nöropati, DM'nin sık görülen ve yaşam kalitesini oldukça yakından ilgilendiren bir komplikasyondur. Diabetik nöropatide metabolik, vasküler, genetik, immün ve nörotropizm gibi birçok faktör patogeneizde rol oynamaktadır. Major faktörlerin ise metabolik ve vasküler olabileceği düşünülmektedir. Nöropatinin tipi ne olursa olsun sinir lifi içindeki metabolik bozukluklarda ve nöropatinin patogenezinde hiperglisemi esastır (2,3).

Diabetik nöropatisi (DN) olan hastalarda ekstremitelerde yanma, batma, sızlama şeklinde ağrılar, paresteziler, hipoestezi görülmektedir. Ağrının şiddeti ile ilişkili olarak uyku bozuklukları, anksiyete, depresif semptomlar, iştah azalması, kilo kaybı, cinsel bozukluklar, konsantrasyon güçlüğü gibi durumlar da tabloya eşlik etmektedir. Diabetik nöropati tedavisinde kullanılan ilaçlar, hastaların mevcut şikayetlerini ortadan kaldırarak ya da azaltarak, yaşam kalitesinin daha iyi olmasını sağlamaktadırlar (2,4).

Diabetik nöropati tanısı öykü, muayene ve elektrofizyolojik incelemeler ile konabilir. Elektrofizyolojik incelemeler nöropati tanısında çoğu kez vazgeçilemeyecek bir yere sahiptir. Bu testler yardımı ile aksonal ve demyelizan nöropatiler arasında ayırım yapılmakla birlikte, kliniğe yansımamış hafif bir nöropati varlığını ortaya koymak da mümkündür (4,5,6).

Diabetik nöropati ile ilgili yapılan hayvan deneylerinde nöropati gelişimini önlemek ya da yavaşlatmak için çeşitli ajanlar kullanılmıştır. Bunlar içinde alfa lipoik asitten olumlu sonuçlar alınmıştır. Alfa lipoik asit (ALA) hidroksil, süperoksit ve peroksil radikallerini bağlayan, glutatyon sentezini artıran güçlü bir antioksidandır (4,7,8). Deneysel çalışmalarda motor sinir iletim hızını ve nöral sirkülasyonu olumlu

etkilediği, somatik ve otonom n6ropati gelişimini yavaşlattığı bildirilmiştir (8,9,10,11). Yapılan deneysel çalışmalarda periferik sinir hasarı tedavisinde etkili olduğu g6sterilen diğer bir ajan ise melatonindir (12,13). Melatonin pineal bezden salınan, biyolojik sistemler için antioksidan, antikarsinojen ve geroprotektif etkileri olduğu bildirilen 6nemli bir ajandır (10,12). Merkezi sinir sisteminde serbest radikallerin zararlı etkilerini ve nitrik oksit sentaz (NOS) aktivitesini azaltarak n6roprotektif bir etki g6sterdiği bildirilmektedir (10). Yapılan deneysel çalışmalarda diabetik n6ropatide sinir ileti hızını arttırdığı saptanmıştır (14,15).

Bu çalışmada diabetik hale getirilen sıçanlarda, melatonin ve ALA tedavisinin diabetik periferik n6ropati 6zerine olan etkilerinin araştırılması amacıyla tibial motor sinir iletim çalışması, ayrıca diabetin santral sinir sistemine olan etkisi ile ALA ve melatoninin diabetin santral sinir sisteminde neden olduğu değişikliğe etkilerini araştırmak amacıyla da kortikal tibial SEP (Somatosensory evoked potentials) yapılması planlandı. Çalışmamız daha 6nce motor sinir ileti çalışmaları yapılmasına rağmen DM oluşturulmuş sıçanlarda ALA ve melatonin etkisine bakılan kortikal SEP çalışmalarının yapıldığı ilk çalışma olma 6zelliği taşımaktadır.

Çalışma sonucunda; antioksidan ve n6roprotektif etkisi olan melatonin hem diabetik n6ropati tedavisinde etkisi kanıtlanmış olan ALA ile karşılaştırılarak hem de tek başına etkisine bakılarak diabetik n6ropati tedavisinde yeri olup olmayacağı araştırılacaktır.

GENEL BİLGİLER

DIABETES MELLİTUS

Tanım

Diabetes mellitus; insülin salınım eksikliği, insülinin biyolojik etkinliğinin azalması veya her ikisinin birlikteliği sonucu oluşan, hiperglisemi ile seyreden bir karbonhidrat metabolizması bozukluğu ve hızlanmış aterosklerozla birlikte mikrovasküler, makrovasküler komplikasyonlarla giden kronik, metabolik bir hastalıktır (1,2,16,17). Diabetes mellitus gelişiminde mutlak insülin eksikliğine yol açan pankreas β hücre harabiyeti ve insülin direncine yol açan çeşitli patogenetik mekanizmalar rol oynar. İnsülinin hedef dokulardaki eksik etkisine bağlı olarak karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında bozukluklar meydana gelir (16,17).

Tanı

Diabetes mellitus tanısı kliniğe ve laboratuvar bulgularına dayanır. Klasik klinik bulgular; poliüri, polidipsi, polifaji veya iştahsızlık, halsizlik, çabuk yorulma, ağız kuruluğu ve noktüri iken, daha az görülen bulgular; bulanık görme, açıklanamayan kilo kaybı, inatçı enfeksiyonlar ve tekrarlayan mantar enfeksiyonlarıdır (1,2,16). Laboratuvar bulguları; hiperglisemi, glikozüri ve yüksek glikolize hemoglobin (HbA1c) değerleridir. Laboratuvar testlerinden hiperglisemi ve glikozüri, anlık değerleri gösterirken, HbA1c daha uzun (2-5 hafta) bir süredeki değişiklikleri ifade eder (2,6).

Tablo 1'de DM'nin tanı kriterleri görülmektedir. Bu kriterlerden bir veya birden fazlasının olması ile DM tanısı konulmaktadır. Net hiperglisemi yokluğunda bu kriterler tekrar edilerek doğrulanmalı, eğer açlık plazma glukozu (APG) 100-125 mg/dl arasında ise oral glukoz tolerans testi (OGTT) yapılması önerilmektedir (1,2, ,17-19).

Tablo 1. Diabetes Mellitus Tanı Kriterleri

1. En az sekiz saatlik açlık sonrası kan glukoz düzeyinin ≥ 126 mg/dl olması
2. OGTT de 2. saat plazma glukozunun ≥ 200 mg/dl olması*
3. Klasik hiperglisemi semptomları bulunan veya hiperglisemik krizdeki bir hastada rastlantısal plazma glukoz konsantrasyonunun ≥ 200 mg/dl olması
4. HbA1c $> \% 6,5$ (≥ 48 mmol/mol) olması (Test NGSP sertifikalı bir laboratuarda DCTT standarize bir metotla yapılmış olmalı**)

*Dünya Sağlık Örgütü'nün tanımına uygun olarak suda çözülmüş 75 gr anhidroz glukoz içeren şeker yüklemesi ile yapılmalıdır.

**NGSP: National Glycohemoglobin Standardization Program, DCTT: Diabetes Control and Complications Trial

Sınıflama

Amerikan Diyabet Derneği (ADA), DM ile ilgili bir etiyolojik sınıflama oluşturmuştur (1,16,18). Tablo 2'de DM'nin etiyolojik sınıflaması gösterilmektedir.

Tablo 2. Diabetes Mellitus Etiyolojik Sınıflaması

1. Tip 1 DM
 - A- İmmün aracılıklı
 - B- İdiyopatik
2. Tip 2 DM
(İnsülin direnci zemininde ilerleyici insülin sekresyon defekti ile karakterize)
3. Diğer spesifik tipler
 - A- Beta hücre fonksiyonunda genetik defekt
 - B- İnsülin etkisinde genetik defekt
 - C- Ekzokrin pankreas hastalıkları
 - D- Endokrinopatiler
 - E- İlaç veya kimyasal ajanlar
 - F- Enfeksiyonlar
 - G- İmmün aracılıklı nadir diyabet formları
 - H- DM ile ilişkili diğer genetik bozukluklar
4. Gestasyonel DM

Komplikasyonlar

Diabetes mellitus, hızla tanı konup tedavi edilmesi gereken aksi halde mortaliteye yol açabilen akut komplikasyonlara ve birçok organ ve sistemi etkileyebilen kronik komplikasyonlara yol açabilen bir hastalıktır (2,20). Kronik komplikasyonlar diabetle ilişkili morbidite ve mortalitenin çoğundan sorumludur. Kronik komplikasyon riski hiperglisemi süresine bağlı olarak artar ve genellikle hipergliseminin ikinci dekadında ortaya çıkar. Diabetes mellitusda uzun bir asemptomatik hiperglisemi dönemi olabileceğinden hastaların birçoğunda tanı anında kronik komplikasyonlar olabilir. Tablo 3 ve Tablo 4'de DM' nin akut ve kronik komplikasyonları gösterilmektedir (17,18).

Tablo 3. Diabetes Mellitusun Akut Komplikasyonları

- Hipoglisemi
- Diyabetik ketoasidoz
- Hiperglisemik hiperosmolar durum
- Laktik asidoz

Tablo 4. Diabetes Mellitusun Kronik Komplikasyonları

<p>1. Mikrovasküler</p> <ul style="list-style-type: none">• Nöropati<ul style="list-style-type: none">- Duyusal ve motor (Mono ve polinöropati)- Otonom• Göz hastalığı<ul style="list-style-type: none">- Retinopati- Maküler ödem• Nefropati <p>2. Makrovasküler</p> <ul style="list-style-type: none">• Koroner arter hastalığı• Periferik vasküler hastalık• Serebrovasküler hastalık <p>3. Diğer</p> <ul style="list-style-type: none">• Gastrointestinal• Genitoüriner• Dermatolojik• Enfeksiyöz• Katarakt• Glokom
--

DIABETİK NÖROPATİ

Tanım-Tarihçe

Diabetik nöropati, klinik olarak aşikar olabildiği gibi subklinik olarak da seyredabilen, periferik nöropatiye neden olabilecek diğer faktörlerin olmadığı sadece DM zemininde gelişen bir hastalık olarak tanımlanır (21). Diabetin sinir sistemi ile ilişkisi ondokuzuncu yüzyıldan beri bilinmektedir. İlk olarak 1864’de Marchal De Calvi periferik nöropatinin diabet sonucu olabileceğini belirtmiştir. Daha sonra bu bilgiler zaman içinde artmış ve 1950’li yıllardan sonra hastalığın yarattığı komplikasyonlar daha iyi anlaşılır hale gelmiştir (22,23).

Prevalans

Diabetik nöropati prevalansı çeşitli çalışmalarda değişik oranlarda bildirilmiştir. Bu oranın %5'den az olabileceği gibi %60'lara yakın olabileceği ve hatta nöropati bulgu ve semptomları olmaksızın sinir ileti anormallikleri katıldığında %100'e vardığı bildirilmiştir. Seriler arasındaki bu farklılıklar özellikle hastaların yaşına ve DN'yi tanımlamadaki zorluklara dayanmaktadır. Yapılan çalışmalarda erkeklerde kadınlara oranla daha sık saptanmıştır (24).

Risk Faktörleri

Diabetik nöropati etiopatogenezinde hiperglisemi, diabetin süresi, ileri yaş, hipertansiyon, hipoinsülinemi, hiperinsülinemi vardır. Bunlar dışında bazı bağımsız risk faktörleri de etiolojide suçlanmıştır. Bunlar arasında sigara ve alkol kullanımı, vücut kitle indeksi, trigliserit ve kolesterol yüksekliği, genetik yatkınlık bulunmaktadır (24). Diabetik hastalarda makroanjyopati, albümin ekstrezyon oranı ve HbA1c oranı kontrol altına alınmış olsa bile nöropatisi olan hastalarda mortalite oranı anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (25).

Klinik ve Sınıflama

Diabetik nöropati; tek bir nörolojik klinik tabloya değil, çeşitli dağılımlarda periferik sinir tutulumlarına neden olabilmektedir. Diabet seyri sırasında gelişen nöropati tabloları farklı klinik tablolara da yol açmaktadır (6).

Diabette en sık görülen nöropati tipi (yaklaşık 3/4) distal simetrik sensorimotor polinöropatidir (DSPN). Distal simetrik sensorimotor polinöropati, çok yavaş ilerleyen ve uzun süre asemptomatik ve sinsi kalan bir nöropati tipidir. Hastalarda DSPN'de duyu defisitler ön plandadır ve otonomik semptomlar nöropatinin şiddetiyle ilişkilidir (17,19,26-29). Genellikle ekstremitelerde distallerinde başlayıp sonrasında üst ekstremitelere yayılan eldiven-çorap tarzı duyu kusuru, ağrı, parestezi, hiperestezi, dizestezi, propriyosepsiyon kaybı, güçsüzlük ve atrofi görülür. Bu şikayetler geceleri daha da fazla hissedilir. Erken dönemde ilk Aşil refleksi kaybı

saptanırken ileri dönemlerde genel bir hipo/arefleksi görülür. Distal simetrik sensorimotor polinöropatinin ince lif tutulumu ağırlı bir nöropatiye yol açarken derin tendon refleksleri ve propriyosepsiyon korunur. Büyük çaplı lif tutulumunda ise motor ve propriyoseptif kayıp ön plandadır. Diabette her çaptaki lifler değişik oranlarda tutulabilir (27).

Diabetik otonom nöropati sıklıkla DSPN'ye eşlik eder (17,28,29). Tüm diabet popülasyonunun %5'inde bulunur. Klinikte ortostatik hipotansiyon, gastrointestinal semptomlar, kardiyak semptomlar, genitoüriner semptomlar görülebilir (17,28,30).

Diabetik nöropatinin sınıflandırılması hastalığa yaklaşımın standardizasyonu açısından önem taşımaktadır. Anatomik ve klinik özellikleri esas alınarak hazırlanmış çeşitli DN sınıflandırılması olmakla birlikte en sık kullanılan Tablo 5'de görülen Thomas PK'nın yaptığı sınıflamadır (5,31).

Tablo 5. Diabetik Nöropati Sınıflaması

<p>A. Simetrik Jeneralize PNP</p> <p>1. Kronik PNP</p> <ul style="list-style-type: none">* Distal sensorimotor PNP* Otonomik PNP* Kronik inflamatuvar demyelizan PNP ile birliktelik <p>2. Akut PNP</p> <ul style="list-style-type: none">* Akut ağırlı duysal PNP* Hiperglisemik PNP* Kaşektik PNP* Hiperinsülin PNP
<p>B.Asimetrik Multifokal PNP</p> <p>1.Proksimal diabetik PNP (Diyabetik amyotrofi – Lumbal radikülopleksopati)</p> <p>2.Trunkal PNP (Torokolomber radikülopati)</p>
<p>C.Diyabetik Mononöropatiler</p> <p>1.Kranial nöropatiler</p> <p>2.Ekstremite nöropatileri</p> <p>3.Mononöropati multiplex</p>

PNP: Polinöropati

Patoloji:

Hiperglisemiye bağlı periferik sinirlerdeki değişiklikler incelendiğinde myelinli liflerde distalde belirgin olan aksonal dejenerasyon ve segmental demyelinizasyon, myelinsiz liflerde ise aksonal kayıp görülmektedir (24). Bunlar dışında hiperglisemi, nörovasküler kan akımını azaltarak sinir iskemisi oluşturmaktadır. Glukoz otooksidasyonu sonucu açığa çıkan reaktif oksijen radikalleri endotel hasarı yaparak damar geçirgenliğinin artmasına ve proteinlerin damar dışına çıkmasına neden olur. Endonöral ödem sonucu gelişen endonöral basınç artışı ile kapiller daralma ve bunun sonucunda da sinirde iskemi meydana gelir (24,26). İskemi de sinir lifi kaybına neden olmaktadır. Diabetik periferik sinirde görülen en önemli yapısal değişikliklerden birisi de hücre dışı matriks (kollajen, laminin ve fibronektin gibi) birikimidir. Bu birikim perinöral hücre bazal

membranında, endonöral kapiller endotelinde ve bazal membranlarında kalınlaşma şeklinde karşımıza çıkar. Diabetik nöropatide görülen periferik sinir hücre dışı matriks değişiklikleri, sinir yenilenmesini de engellemektedir (24,32).

Diabetik polinöropatinin en yaygın şekli olan DSPN’de en belirgin bulgu miyelinli sinir liflerinin kaybıdır. Ayrıca kalan aksonların segmental demiyelinizasyon ve remiyelinizasyonu da sinir lifi preparatlarında gösterilmiştir (24,26).

Patogenez

Diabetik nöropatinin patogenezi incelendiğinde birçok nedenin iç içe geçmiş olduğu oldukça karışık bir tablo görülmektedir. Son yıllara kadar DM’ye bağlı nöropatide iskemi ve metabolik anormallikler iki ayrı neden olarak gösterilmişken artık metabolik ve vasküler nedenlerin birlikte işlediği düşünülmektedir (24,27,33).

Diabetik nöropatinin tüm formları ele alındığında başlıca beş önemli patogenez üzerinde durulmaktadır. Bu patogenetik faktörler aşağıdaki gibi özetlenebilir (6,24,33,34);

1. Sinir lifleri üzerinde direkt metabolik bozulmanın meydana gelmesi (metabolik)
2. Sinir liflerinin vasküler yetmezliği veya sinir kan akımının azalması (vasküler)
3. Birincil duysal nöron perikaryonunun hedef organ oluşu ve buraya nörotropik maddelerle olan retrograd desteğin bozulması (nörotropizm)
4. Genetik mekanizmalar
5. İmmun mekanizmalar

İlk üç patogenez özellikle DSPN için geçerlidir. Buna karşılık proksimal asimetrik motor PNP ile akut pandisotonomik PNP’nin immün aracılı mekanizma ile oluştuğu öne sürülmektedir. Patogenezde en önemli etmen ise kronik hiperglisemidir (5,34,35).

Sinir içindeki metabolik anormallikler ise başlıca beş grup içinde toplanabilir;

1. Poliöl yolu: Kronik hiperglisemi sonucu ortaya çıkan ve diabetik nöropati patogeneğinde tetiği çeken oksidatif stres, sinir lifi ve çevresinde poliöl yolu akışında artışa yol açar. Bunun sonucunda aldoz redüktaz ve sorbitol dehidrogenaz enzim aktivitesiyle sırasıyla sorbitol ve fruktoz artışı görülür. Sorbitol ve fruktozun sinir dokusu içinde birikimi, sinir dokusunda harabiyete yol açar (5,6,8,17,24,27,28,32,36-39). Bunun sonucunda ise başlıca; a) Sinir dokusu ve mikroçevresindeki nitrik oksit'in (NO) azalmasına neden olarak sinir lifinde kan akımını azaltıp iskemi geliştirir (5,21,32). b) Poliöl aktivitesindeki artış myoinositolün azalmasına ve myoinositol azalması da periferik sinir membranında önemli rol oynayan Na-K-ATPaz enzim aktivitesinde azalmaya neden olur. Bu enzim sinir iletimi ile yakından ilişkili olup, sonuç olarak iletim hızında azalmaya neden olur. Bununla ilgili olarak Tip 1 diabetteki insülin eksikliği ve Tip 2 diabetteki insüline direnç, periferik glikoz alımında azalmaya yol açar. Glikoz enerji kaynağı olarak yeterli miktarda olmadığından aerobik glikoz azalır ve bu da ATP azalmasına neden olur (6,20,32,40,41). c) Poliöl yolu aktivite artışı direkt veya dolaylı olarak protein glikolizasyonuna katkıda bulunur. Sinir liflerinde biriken fruktoz, glikozilasyonu çok daha aktif hale getirir. Bu biyokimyasal olayda sinir proteinlerinde bozulma ile birlikte ileri glikolizasyon son ürünleri (Advanced glycosylation endproducts; AGE) denen metabolik ara ürünler ortaya çıkar. AGE'ler bir yandan kan akımını azaltırken bir yandan da vasa nervorumda ve sinir lifinde yapısal bozukluklara yol açar (5,6,8,21,27).

2. Myoinositol azalması: Myoinositol, ikinci yolaklar ile Na-K-ATPaz enzim aktivitesinde, dolayısıyla da sinir iletiminde etkilidir. Hiperglisemiyle tetiklenen poliöl yolu aktivite artışı sinir miyoinositolünde azalmaya yol açarak sinir lifinde iletimin azalmasına neden olur. Ancak myoinositol azalmasının polinöropati oluşumunda büyük ve önemli bir rolü olmadığı sanılmaktadır (5,6,24).

3. Protein glikozilasyonu: Kronik hipergliseminin başka bir etkisi de AGE meydana getirmesidir. Yapısal proteinlerin kimyasal değişimi sonucu ortaya çıkan bu son ürünler NO azalmasına yol açarken aynı zamanda aterogenetik rolleriyle kapillerin patolojik olarak değişmesine neden olurlar. AGE'lerin diğer bir etkisi de

serbest radikal oluşumuna yol açmaktadırlar. Nitekim AGE oluşumunu engelleyen aminoguanidin deneysel olarak sinir kan akımını ve sinir iletim hızını artırdığı gözlenmiştir. AGE'lerin artışı aynı zamanda aksonal transportun azalmasına yol açarak da sinir işlevini bozmaktadır (6,7,8,20,21,27).

4. Esansiyel yağ asidi metabolizması bozukluğu ve oksidatif stres: Hiperglisemi, sinir kan akımını azaltıp endonöral hipoksi meydana getirirken, oksidatif stres ile de sinir hücreleri ve membranlarında yıkım meydana gelmektedir. Normalde periferik sinirde sitozolik ve lipofilik antioksidan maddeler doğal olarak bulunmaktadır. Bunlardan en önemlileri süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz olup bu maddeler serbest radikal oluşumunu önlemektedirler. Diabette iskemi, hiperglisemi, mitokondriyal akışta artma, katekolamin oksidasyonu ve immünite serbest radikal oluşumuna neden olarak sinir lifinde hasara yol açmaktadır (5,21,24,27,28).

5. Sinir büyüme faktörleri: Hayvan deneylerinde ve diabetik hastalar üzerindeki çalışmalarda sinir büyüme faktör (NGF) düzeyinin azaldığı ve hedef dokulardan sinir hücre gövdesine retrograd aksonal transportunun bozulduğu gösterilmiştir. Birincil duysal nöron gibi uzun seyirli nöronlarda sinir büyüme faktörlerinin varlığı çok önemlidir. Değişik türde proteinlerin sentezinin düzenlenmesi sinir içinde oluşan nörotrofik faktörler yolu ile olur ve bu maddeler retrograd aksonal akış ile hücre gövdesine doğru yol alırlar. Böylece hedef hücrenin doğası ve aktivitesi devam ettirilir. Sinir büyüme faktörünün verilmesi ile deneysel olarak duysal nöronlarda substance P, taşikininler, kalsitonin geni ile ilişkili peptit artışı saptanmıştır ve aksotomi olmuş nöronlarda NGF verilmesi duysal ganglion hücresinde düzelmeye yol açmıştır (5,6,21,24,28,42).

Yapılan çeşitli deneysel çalışmalarda DN gelişiminde PARP (*Poly ADP-ribose polymerase*) aktivasyonunun olduğu da ileri sürülmüştür. Hücre tamirinden sorumlu olan PARP, normalde inaktiftir. Oksidatif stresle birlikte PARP aktive hale gelerek mitokondriyal solunum ve glikolizi uyararak enerji tüketimini başlatır, enerji krizine giren hücrenin ölümüne neden olur (15,21).

Bunlar dışında platelet aktivasyonu, lipit peroksidasyonu, protein kinaz C aktivasyonu , MAPKs (*Mitogen-activated protein kinases*) da değişiklikler, nükleer faktör- κ B (NF- κ B) aktivasyonu da diğer metabolik anormalliklerdendir (10,21,41,43). NF- κ B, proinflamatuvar sitokinlerin sentezlenmesinde genetik kodlamada transkripsiyonu sağlar. Diabetik nöropatide NF- κ B aktivasyonu proinflamatuvar sitokinlerin artışına, dolayısıyla da doku hasarına neden olur (14).

Diabetik nöropatideki vasküler teorinin başında mikrovasküler hastalık nedeniyle sinir kan akımının azalması ve periferik sinir sisteminde mikro iskemilerin oluşması gelmektedir (27,44). Vasa nervorumlardaki fonksiyonel anormallikler DN'nin erken döneminde görülebilir. Bu değişiklikler daha sonra diabetteki nöronal ve iskemik hasara neden olabilir. Mikroanjiopati mekanizmasının temelinde NO ile oluşan vasodilatasyonun bozulması, oksidatif stresle oluşan hasar ve polyol yolundaki değişimler bulunmaktadır. Vasküler hipervizkozite, eritrosit deformabilitesinin kaybı ve değişmiş lokal oksijen salınımı da mikroanjiopatiye ve dolayısıyla hipoksi ve iskemiye katkıda bulunmaktadır. İnsanlarda özellikle sural sinir biyopsilerinde diabetik nöropatiye bağlı mikrovasküler yapısal değişiklikler gösterilmiştir. Ayrıca bazı araştırmacılar hayvan modellerinde diabetik nöropatide sinir kan akımında azalma olduğunu göstermişlerdir (45).

Genetik yatkınlık bu olayların ortaya çıkışını kolaylaştırabilecek ya da zorlaştırabilecek bir altyapı sağlamaktadır (46).

İmmun sürecin ise nispeten daha hızlı bir başlangıç ve gelişim gösteren ve genellikle kendi kendini sınırlayan proksimal asimetrik nöropati gibi kliniklerde rol oynadığı düşünülmektedir (46).

Tanı

Diabetik nöropati tanısı, diabetli kişilerde periferik sinir disfonksiyonuna ait bulgu ve belirtilerin varlığıyla ve diğer sebepler ekarte edildikten sonra konmaktadır.

Diabetik nöropatiler sık görülen hastalıklar olup B12 eksikliği, alkole bağlı nöropati, endokrin nöropatiler, kronik inflamatuvar demyelizan polinöropatiler gibi benzer bulguları olan durumlarla aynı anda da görülebilir. Diabetli hastaların % 10-15'inde ayrıca polinöropatiye sebep olan diğer nedenler de bulunabilir (26,47).

Diabetik nöropatinin varlığının saptanmasında altın bir standart yoktur. Tanı genel olarak klinik belirtiler, objektif nörolojik bulgular, elektrodyagnostik incelemeler, kantitatif duysal testler (KDT) ve otonomik fonksiyon testlerinin (OFT) her birinden en az bir ölçüm yapılarak konmaktadır (5).

Klinik Tanısal Yöntemler

Diabetik nöropatili hastalar özellikle alt ekstremite distallerinde duysal yakınmalar ile hekime başvururlar. Genellikle yapılan nörolojik muayenede eldiven çorap tarzı duyu kusuru, hiporeflexi veya areflexi, vibrasyon duyusunda azalma, özellikle ayak intrinsik kaslarında ılımlı atrofi ve zaaf saptanır (27,48).

Elektrofizyolojik Tanısal Yöntemler

Diabetik nöropati tanısında kullanılan en objektif yöntemlerden biridir ve çoğu kez vazgeçilemeyecek bir yere sahiptir (4,33,49). Diabetik hastaların elektrofizyolojik incelemeleri çoğu zaman nonspesifik aksonal dejenerasyon ile birlikte segmental demiyelinizasyon bulguları içerir. Hiçbir elektrodyagnostik sonuç diabet için spesifik değildir (6,45).

Elektrofizyolojik testler yardımı ile aksonal ve demyelizan nöropatiler arasında ayırım yapmakla birlikte, hafif bir nöropati varlığını ortaya koymak da mümkündür. Rutin elektrofizyolojik inceleme ile erken evrelerdeki ince lif hasarı tespit edilemez. Bundan dolayı ağırlı nöropatinin en sık nedeni olan miyelinsiz C liflerinin tutulumunu göstermek için çeşitli tanı testleri geliştirilmiştir. Bunlar; kantitatif sudomotor akson refleksi testi, kantitatif duyu testleri, deri biyopsisinde intraepidermal sinir lifi incelemesi, lazer ile uyarılmış potansiyeller, korneal konfokal mikroskopisi ve henüz kullanımı kısıtlı olan mikronörografidir (30,50). Buna karşılık

myelinli A tipi kalın lif tutulumunda başta sinir iletim hızında azalma olmak üzere çeşitli elektrofizyolojik bulgular saptanır. Diabetik nöropati tanısı için elektrofizyolojide motor sinir iletimi, duysal sinir iletimi, iğne EMG çalışması, geç yanıtlar, spinal duysal uyarılmış potansiyeller incelenebilir (26,33). Diabetik nöropatide hem spinal hem de kortikal uyarılmış potansiyellerle ilgili çok fazla çalışma olmamakla birlikte çalışmalarda DN'de spinal uyarılmış potansiyel çalışmasında N9 ile N13 komponentinin, kortikal uyarılmış potansiyel çalışmalarında ise N1 latansının uzadığı saptanmıştır.

Diabetik nöropatiler içinde en sık görülen distal simetrik sensorimotor polinöropati (DSPN) olduğu için aşağıda elektrofizyolojik incelemelerde DSPN'den bahsedilecektir.

Distal simetrik sensorimotor polinöropatide klinik tutuluş alt ekstremitelerde belirgin olduğu için elektrofizyolojik bozukluklara da daha çok bacak kas ve sinirlerinde rastlanır. Sinir lifi patolojisinde ağırlıklı olarak aksonal dejenerasyon söz konusudur. Motor sinir liflerinin tutuluşu daha geri planda ve daha seyrek (23,24).

Motor Sinir İletim İncelemeleri

Kayıtlama Yöntemleri

Birleşik motor aksiyon potansiyeli de denilen kas motor yanıtının (M dalgası) kayıtlanması için genelde yüzeysel elektrotlar kullanılmaktadır. İğne elektrotlar iğne ucuna yakın olan kas aktivitesini aldıklarından dolayı kasın tüm aktivitesini göstermezler. Böylece çıkan potansiyel sinirdeki tüm aksonların değil sadece bir kısmının işlevini göstermektedir (6,34).

Yüzeysel elektrot kullanıldığından aktif elektrot kasın motor son plak bölgesine yani kasın en şişkin kısmının üstüne (motor noktaya), pasif elektrot ise tendona yerleştirilir. Sinir distal noktasından uyarıldığından M dalgasının ilk defleksiyonu negatif olur. Proksimal kısımdan uyarıldığında M dalgasının ana kısmından önce gelen ve diğer kasların oluşturduğu başlangıç küçük potansiyeller görülebilir.

Kullanılan stimölasyonun süresi 0.1 veya 0.2 ms olarak seçilir. Sinirin uyarılmadığı durumlarda daha uzun stimulus süreleri kullanılabilir. Stimulus şiddeti sinirdeki tüm aksonları uyarmaya yetecek kadar optimal düzeyde olmalıdır (6).

Ölçümler

Distal latans: Uyarının başlangıcından M dalgasının başlangıcına kadar geçen zamandır. M dalgasının başlangıcı, dalganın izoelektrik çizgiden ayrıldığı ilk noktadır. Distal latans en az iki kısımdan oluşur: 1) Stimölasyon noktasından sinir terminaline olan iletim zamanı, 2) Kas aksiyon potansiyeli oluşumu için gerekli süreyi de içererek nöromusküler geçiş zamanıdır (6,24,34).

İletim zamanı: Proksimal stimölasyonla elde edilen latansdan distal stimölasyonla elde edilen latansın çıkarılması iletim zamanını verir.

İletim hızı: Sinir segment uzunluğunun (mm), iletim zamanına (ms) bölümü metre/sn olarak iletim hızını verir. Proksimal ve distal uyarım noktalarının arası (katotlar arası) şerit mezura ile ölçülür. Proksimal latansdan, distal latansın çıkarılmasının nedeni, her ikisinin de içerdiği nöromusküler geçiş zamanını kaldırmaktır. Elde edilen bu hız, hızlı ileten liflerin iletim hızını yansıtmaktadır (6,24,26,34).

Amplitüd (genlik): Çoğunlukla tepeden tepeye ölçülür. Bazı laboratuvarlarda izoelektrik çizgi ile negatif tepe noktası arasından da ölçüm yapılabilir. Sinir uyarısına yanıt veren kas lifi sayısını gösterir.

Süre: M dalgasının, izoelektrik çizgiden ilk ayrıldığı negatif noktasından pozitif noktaya yeniden döndüğü noktaya kadar geçen zaman (negatif süre) olarak tanımlanabildiği gibi M dalgasının izoelektrik çizgiden ilk ayrıldığı noktadan tekrar izoelektrik çizgiye geldiği en son nokta için geçen süre (total süre) olarak da tanımlanabilir. M yanıtının süresi, büyük çaplı motor sinir liflerinin iletim hızlarının dağılım genişliğini gösterir (6,24).

Şekil: M yanıtının polifazik ve uzun süreli olması, patolojik temporal dispersiyonu gösterir. Periferik sinir demyelinizasyonunda tipik bir bulgudur. Proksimal uyarımla dispersiyon daha da artar. Dispersiyona benzeyen diğer bulgu da kısmi iletim bloğudur. İletim bloğunda distal uyarıma oranla, periferik sinir lezyon yerinin üstünden yapılan uyarımda elde edilen M yanıt amplitüdü daha düşük, süre daha uzundur (6).

Distal simetrik sensorimotor polinöropati de motor sinir iletim hızlarında normale oranla %10-30 iletim yavaşlaması saptanır (sıklıkla fibüler ve tibial sinirde). Distal motor sinirin maksimal uyarımı ile beliren M yanıtı genliğinde ufalma meydana gelir. Bazı olgularda bu normalin %50-80'ine kadar düşebilir. Bazen maksimal motor iletim hızlarının normal limitlerde kalmasına karşın, M yanıtı amplitüdü normalin alt sınırına düşebilir (6).

Duyusal Sinir İletimi

Duyusal sinirlerde aksonal dejenerasyon ve geniş çaplı sinir lif kaybına bağlı olarak, aksiyon potansiyellerinin amplitüdü giderek ufalır ve standart kayıtlama yöntemleriyle elde edilemez hale gelir. Bacak duysal sinirlerinde aksiyon potansiyel yitimi, yüzeysel kayıtlama tekniği ile bu olguların %75'inde saptanabilir. Eğer duysal sinire iğne elektrod ile yaklaşırsa duysal sinir iletim hızında %30'a varan yavaşlamanın olduğu gösterilebilir. Duyusal iletim bozukluklarına, motor ileti bozukluklarına oranla üst ekstremitelerde daha sık rastlanır (6).

İğne EMG

İntrensek ayak kaslarında, spontan difazik ve pozitif denervasyon aktivitesi ile kolleteral reinervasyonu gösteren polifazik, geniş süreli motor ünit değişikliklerine rastlanır. Bazen alt ekstremitelerin ısısının azalması nedeniyle denervasyon aktivitesi kaybolabilir. Motor sinir ileti ve EMG bulguları, bu tip diabetik PNP'de geniş çaplı liflerin aksonal dejenerasyonunu gösterir. Ayrıca motor sinir tutulumu duysal ve otonomik sinir liflerinin tutulumuna göre daha geri düzeydedir (6).

Geç Yanıtlar

F dalgası en sık olarak ekstensör digitorum brevis, abduktor hallusis, tibialis anterior ve soleus kaslarından fibuler ve tibial sinir uyarımları ile çalışılır. Genel olarak bu tip PNP'de F dalgasının maksimal iletiminin diffüz olarak yavaşladığı, kaybolduğu, kronodispersiyonunun arttığı saptanmıştır. F dalgasının rutin incelemede daha yararlı olduğu öne sürülmüşse de bu durum pek kabul görmemiştir (6).

Soleus-H reflekse ait iletim yavaşlaması ve yanıt yitimi tanımlanmışsa da özellikle S1 kök tutuluşundan ayırt etmede zorluklar söz konusudur. Ayrıca yaşın ilerlemesiyle elde edilme oranı da düşer. Dolayısıyla pratik olarak yararlı bir seçim olarak önerilmemektedir (6).

SEP (Somatosensory Evoked Potentials)

Somatosensorial uyarılmış potansiyel incelemesi aferent periferik sinir liflerinin uyarılmasının ardından periferik ve merkezi sinir sistemi kaynaklı bir dizi potansiyelin kaydedilmesinden ibarettir. Rutin çalışmalarda üst ekstremitede median ve ulnar SEP, alt ekstremitede tibial SEP yapılmaktadır. Somatosensorial uyarılmış potansiyel incelemesinde periferik ve merkezi sinir sistemini tutan patolojik süreçlere ilişkin bilgiler elde edilebilir. Bu karma sinirlerin uyarımında hafif bir parmak hareketi oluşturmaya yetecek kadar uyaran şiddeti yeterli olur ve hasta tarafından oldukça iyi tolere edilir (6,34).

Kayıt elektrotları periferik nöral yapıların (median ve ulnar SEP için Erb noktası, tibial SEP için dizardı), omurganın (median ve ulnar SEP'te servikal, tibial SEP'de lomber düzeyde orta hatta) ve kafatasının üzerine (karşı parietal bölge veya verteks) yerleştirilerek kayıt cihazının farklı kanallarına bağlanır. Referans elektrotları ise kafatası üzerinde ve/veya dışındaki noktalara yapıştırılır. Somatosensorial uyarılmış potansiyel incelemelerinde kaydedilen başlıca potansiyellerin kaynakları; tibial SEP; N18: Sinir kökleri, kauda ekuina, N22: Arka boynuzda post sinaptik potansiyeller, P37: Primer sensoriyel kortektir. Somatosensorial uyarılmış potansiyel incelemesinde bir anormalliği en çok gösteren

bulgu, lezyon düzeyinden ve bunun rostralinden kaynaklanan potansiyellerin kaybolması veya latanslarının uzamasıdır. Sağ ve sol taraf uyarımı ile elde edilen dalgalar arasında anlamlı latans farkı bulunması tek taraflı lezyonlar için değerli bir SEP bulgusudur (6,24,34).

Distal simetrik sensorimotor polinöropatide spinal uyarılmış potansiyel çalışmasında N9 ile N13 komponentleri arasındaki zamanın açıldığı ve uzadığı saptanmıştır. Bu durum sensoriyal liflerin proksimalde de iletim yavaşlaması gösterdiğine işaret etmektedir (6).

Tedavi

Kısmen dayanılmaz ölçüde nöropatik ağrı ile birlikte bulunması, önemli bir morbidite ve mortalite artışına yol açabilmesi ve yaşam kalitesinin azalmasından sorumlu olması nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunu oluşturan DN, dört diabetik hastadan en az birini etkilemektedir. Bu hastalarda tedavi dört temel unsura dayanmaktadır. Bunlar; 1) Normoglisemiyi hedefleyen nedene yönelik tedavi, 2) Patojenik mekanizmalara dayanan tedavi, 3) Semptomatik tedavi, 4) Risk faktörleri ve komplikasyonların önlenmesine yönelik tedavi olarak sınıflandırılabilir (10,33,51).

Normoglisemiyi Hedefleyen Nedene Yönelik Tedavi

Bugün için DN'nin önlenmesi ve tedavisinde en etkin yöntem kan glukoz düzeyinin kontrol altında tutulmasıdır. Yoğun diabet tedavisinin, kronik diabet komplikasyonlarını önlemesi ve ilerlemesi üzerinde gösterdiği etkilerin değerlendirildiği, uzun dönemli yedi prospektif araştırma yayınlanmıştır. Bu araştırmaların bulguları tip 1 diabetik hastalarda, yoğun diabet tedavisinin PNP ve otonom nöropati gelişimini geciktirdiğini, ancak tamamen önlemediğini göstermiştir. Optimal glisemik kontrol için de belirli bir HbA1c eşiği değil, mümkün olduğunca erken dönemde normal glisemiye ulaşma hedeflenmelidir (5,21,33,45).

Patojenik Mekanizmalara Dayanan Tedavi

Yapılan araştırmalar DN'nin birçok faktöre bağlı olarak geliştiğini desteklemektedir. Klinik açıdan bakıldığında çeşitli patogenetik mekanizmalara dayanarak, bazıları randomize klinik çalışmalarda desteklenen tedavi yaklaşımları oluşturulmuştur. Bu ilaçlar semptomatik ağrı tedavisine yönelik olmaktan çok, altta yatan nöropatik süreçleri olumlu yönde etkilemek üzere tasarlanmıştır. Alfa lipoik asit de bu amaçla DN tedavisinde kullanılan ilaçlardan biridir (21,33,52).

Ağrılı Nöropatinin Semptomatik Tedavisi

Diabetik nöropatik ağrı, hastaların günlük yaşam kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir. Diabetik nöropatinin patojenik mekanizmalara dayanarak elde edilen ajanların aksine, semptomatik tedavisi için kullanılan ajanlar daha çok ağrıyı modüle etmektedir. Bir kısım ajanlar ise hem ağrıyı modüle etmekte hem de nöropati gelişimini geciktirmektedir. Ağrılı diabetik nöropati için optimal diabet kontrolü, ALA, trisiklik antidepresanlar, selektif serotonin norepinefrin geri alım inhibitörleri, antikvlzanlar, opioidler, kapsaisin ve fizik tedavi etkili uygulanabilen tedavi seçenekleri arasındadır (2,5,20,21,27,33).

Bu ajanlar içinde sayılmayan melatoninin son yıllarda antioksidan, antikarsinojen ve geroprotektif etkileri olduğu bildirilmiştir (10). Ayrıca merkezi sinir sisteminde serbest radikallerin zararlı etkilerini azalttığı ve NO sentaz aktivitesini azaltarak nöroprotektif bir etki gösterdiği de bildirilmektedir (15,53). Travmatik periferik sinir hasarı ve diabetik nropatiyle ilgili deneysel çalışmalarda sinir ileti hızını arttırdığı gösterilmiştir (12).

Alfa Lipoik Asit

Alfa lipoik asit bitkiler, hayvanlar ve insanlar tarafından sentezlenebilen doğal bir bileşik olup oksitlenmiş veya indirgenmiş iki sülfür molekülü içermektedir. Bu farklılık ALA'nın pek çok önemli enzimin (piruvat dehidrogenaz, α ketoglutarat dehidrogeneaz...) kofaktörü olarak görev yapmasını sağlamaktadır (44,54). Alfa

lipoik asitin biyosentez yolağı hala tam olarak açıklanamamışsa da, sekiz karbonlu bir yağ asidi ve elementel sülfürün mitokondride birleşmesiyle sentezlendiği düşünölmektedir. Ancak ALA'nın biyosentezi sonucunda, antioksidan aktivite gösterebilecek kadar serbest ALA dolaşıma katılamamaktadır (54).

Gıdalarla alınan ALA'nın çok büyük bir kısmı lipoamid içeren enzimlerden elde edilir ve lizin amino asidine bağlı (lipolizin) bulunur. Lipolizin açısından zengin hayvan dokuları böbrek, kalp ve karaciğerdir. Hayvansal kaynaklardan elde edilebilecek kadar çok olmasa da ıspanak, brokoli ve domates gibi bitkiler de lipolizin açısından zengindir (8,10,55). Alfa lipoik asit oral dozundan sonra hızla emilir ve vücudun pek çok dokusunda, indirgenmiş formu olan dihidrolipoikasite (DHHLA) kolayca çevrilir. Handelman ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada memeli hücrelerinin ALA'yı alabilme ve DHHLA'ya indirgeyebilme yeteneğinin olduğunu göstermiştir. Oral uygulama gibi ekstraselöler olarak uygulanan lipoik asitten sonra hem ALA'nın hem de DHHLA'nın etkileri intra ve ekstraselöler olarak ortaya çıkmaktadır (20).

Alfa lipoik asit hem yağda hem de suda çözünebilir ortamlarda güçlü bir antioksidandır. Bununla birlikte hem okside formu hem de indirgenmiş formu antioksidan aktivite göstermektedir (8,10,20,56). Dihidrolipoikasit, dihidroaskorbik asiti yeniden askorbik asite çevirebilir, direk olarak C vitamininin, indirek olarak E vitamininin yeniden oluşumunu sağlayabilir. Busse, Kagan ve arkadaşları ALA'nın hücreler arası glutatyon ve koenzim Q 10 seviyelerini arttırdığını bulmuşlardır (57,58).

Alfa lipoik asitin bazı metalleri şelat etme yeteneği bulunmaktadır. Bakır, manganez ve çinko ile stabil kompleksler oluşturmaktadır. Alfa lipoik asitin arsenik zehirlenmelerinde kullanılabileceği hayvan çalışmaları ile gösterilmiştir. Hem in vitro deneylerde hem de hayvan çalışmalarında kadmiyuma bağlı hepatotoksisiteyi azalttığı bulunmuş ayrıca böbreklerde civayı kıskaçlayabildiği (şelat edebildiği) in vitro olarak gösterilmiştir (54).

Dihidrolipoikasit güçlü antioksidan etkinliği sayesinde pankrestaki Langerhans adacık hücrelerini reaktif oksijen hasarına karşı korumaktadır. Estrada ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada ALA'nın kas hücrelerindeki glikoz kullanımını insüline benzer bir şekilde arttırdığını göstermişlerdir. Jacob ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise Tip 2 diabet hastalarına 1000 mg i.v. ALA verilmesi ile insülinle uyarılmış glikoz kullanımında %50 oranında artış olduğu bildirilmiştir (8). Bir diğer çalışmada da, açlık kan şekeri veya insülin seviyelerinde bir değişim olmaksızın glikoz kullanımında ortalama %30 oranında artış bulunmuştur (59).

Alfa lipoik asitin nöropatik semptomları etkileme mekanizması açıkca bilinmemekle beraber bununla ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Nöropati gelişiminde lipid peroksidasyonunun önemli rol oynadığı bilinmektedir ve Nickander ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, ALA'nın sinir dokusundaki lipid peroksidasyonunu azalttığını bulmuşlardır (60). Ziegler ve arkadaşları ise, ALA'nın nöropati semptomlarını anlamlı olarak azalttığını göstermiştir (55). Mitsui ve arkadaşları ALA'nın iskemik reperfüzyon hasarında da etkili olduğunu göstermişlerdir (56). Diabetin komplikasyonlarından korunmada ALA'nın etkin olduğu diğer mekanizmalar ise, protein glikolizasyonundan koruma, aldoz redüktaz enziminin baskılanması, nöropeptitlerdeki defisiti düzeltmesi, apoptozisi önlemesi olarak sıralanabilir. Aldoza redüktaz enziminin baskılanması, beraberinde glikoz ve galaktozun sorbitole dönüşümünü de baskılamaktadır (20,54,61).

Alfa lipoik asit, doza bağımlı olarak költüre nöroblastoma hücrelerinde nöriti indükleyebilmekte ve serbest radikal çöpçüsü olarak davranabilmektedir. Bu antioksidan tedavi deneysel olarak indüklenmiş nöropatide motor ve duysal sinir iletiminin kötüleşmesini engellemektedir. Deneysel DN'de NOS azaldığı, ALA'nın da oksidatif stresi azaltarak NOS azalmasını engelleyebildiği, dolayısıyla sinir kan akımını arttırdığı bildirilmiştir. Alfa lipoik asit veya probukol gibi lipofilik serbest radikal çöpçüleri glutatyon gibi hidrofilik olanlardan daha etkindir (10,20).

Stevans ve arkadaşları, deneysel diabetik nöropati oluşturdukları çalışmalarında ALA tedavisi sonrası Na-K ATPaz aktivitesi, NAD/NADH ve glutasyon oranı ile duysal sinir ileti hızını arttırdığını saptamışlardır (44).

Melatonin

Melatonin veya N-asetil-5-metoksitriptamin doğada yaygın olarak bulunan bir maddedir. Yunancada siyah anlamına gelen “melas” ve iş anlamına gelen “tosos” kelimelerinin birleşmesiyle bu maddeye “melatonin” adı verilmiştir. Birçok organizmada, bitkilerde, omurgalı ve omurgasız türlerde bulunmaktadır (53,62). Bazı bitkilerde melatonin çok yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır. İyi bir serbest radikal karşıtı ve redoks aktivitesinden sorumlu enzimler için iyi bir regülatördür. Hayvanlarda ve insanlarda önemli fizyolojik etkileri olan bir molekül olarak tanımlanır. Omurgalılarda melatonin çoğunlukla epifiz bezinden salgılanır. Ayrıca retina, kemik iliği hücreleri, trombositler, gastrointestinal sistem, cilt ve lenfositlerde de sentezlenmektedir (12,63). Yapılan çalışmalar insan beyninde melatoninin başlıca birikim yerlerinin suprakiazmik nukleus ve pitüiter bezin pars tüberalisi olduğunu göstermiştir. Yetişkinlerde ortalama plazma seviyesi 60–70pg/ml’dir. Melatoninin pinealositlerdeki enzimatik biyosentezi ilk olarak Axelrod tarafından bulunmuştur. Kandan alınan triptofan, 5-hidroksitriptofan yardımı ile serotonine çevrilir. Serotonin ise Arilakilamin N-asetiltransferaz enzimi yardımıyla asetile edilir ve N-asetilserotonin meydana gelir. Son olarak N-asetil serotonin, hidroksi indol O-metiltransferaz yardımı ile melatonine dönüştürülür (62,64).

Melatonin plazmada proteinlere bağlı olarak bulunur ve karaciğerde metabolize edilir. Üretildikten sonra yaklaşık 20–90 dakika kadar kan dolaşımında bulunur. Bunun nedeni melatoninin lipofilik ve bir miktar da hidrofilik olmasıdır. Bu özelliği sayesinde vücutta her hücresele kolayca geçebilmektedir. İnsanlarda ekzojen melatoninin 20-60 dk kadar kısa bir metabolik yarı ömrü bulunmaktadır (12,65).

Melatoninin etkili endojen antioksidan olduğu ilk kez 1993 yılında Tan ve ark. tarafından bildirilmiştir. Melatoninin DNA’yı serbest radikallerin hasarından

koruyucu etkisi, direkt serbest oksijen radikal süpürücüsü ve indirekt olarak da antioksidan etkisiyle birçok ilacın toksisitesini azalttığı bildirilmiştir (64,66).

Melatonin, hücre zarlarından ve kan-beyin bariyerinden kolayca geçebilen güçlü bir antioksidandır. Bir kez okside olduğunda tekrar eski haline redükte olmamaktadır çünkü serbest radikallere etki ederek bir takım kararlı son ürünler oluşturmaktadır. Bu nedenle terminal antioksidanlar olarak da bilinirler (65). Fizyolojik ve oksidatif stresin arttığı durumlarda melatoninin glutasyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidatif enzimlerin ekspresyonları ve aktivitelerinin düzenlediği bildirilmektedir (2,65,67). Buna ek olarak melatonin hücre içi önemli bir antioksidan olan glutasyon sentezini uyarıcı etkisi, mitokondriyal elektron transport sisteminden elektron sızıntısını azaltmasındaki etkinliği ve diğer antioksidanlarla olan sinerjistik etkisi antioksidan özelliğinin mekanizmasından sorumlu tutulmaktadır (64).

Epifiz bezinde melatonin üretimi sirkadian bir ritim izlemektedir. Sirkadian ritim temelde aydınlık-karanlık siklusunu izler. Birçok türde melatonin sekresyonu gecenin uzunluğuyla ilişkilidir. Melatonin salgılanması gece en yüksek seviyesine ulaşmakta, gündüz ise düşük seviyede kalmaktadır. Bu ritim canlının gündüz veya gece aktif olmasından bağımsızdır (12,64,65,68).

Melatoninin geroprotektif özellik gösterdiği ileri sürülmektedir. Bu etki de ilerleyen yaşla birlikte melatonin düzeyinin azaldığı ve bunun sonucu olarak sirkadian siklusun bozulmasına bağlanmıştır. Melatonin tedavisinin bazı sınırlamalarla birlikte erken yaşlanmayı önleyici etkinliğinin bulunduğu belirtilmiştir. Bazı kanser hastalarında epifiz bezinin fonksiyonunda azalma ve melatonin hormonunun sirkadian salınma paterninin bozulduğu bildirilmiş olup bu ajanın akciğer, karaciğer, over, hipofiz ve prostat kanserinde karşı koruyucu etki gösterdiği, tedaviye eklenmesinin antikarsinojen etkinliği arttırdığı bildirilmektedir (68).

Negi ve arkadaşları yaptıkları çalışmada melatoninin DN'nin klasik semptomlarından olan hiperaljezi ve allodinide kısmen düzeltme yaptığını

saptamışlardır. Bu düzelmeyi ROS'a bağlı oksidatif hasarın inhibisyonu ve apoptotik nöronal hasardan sorumlu olan peroksinitrit inhibisyonuyla ilişkilendirmişlerdir (15).

Negi ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada diabetik nöropati oluşturulmuş sıçanlarda melatonin tedavisi sonrası NF- κ B düzeyinin azaldığı ve oksidatif strese karşı antioksidan ekspresyonunu arttıran molekül olan *nuclear erythroid 2-related factor 2* (Nrf2)düzeyinde artmaya neden olduğu gösterilmiş. Aynı çalışmada melatonin tedavisi sonrası motor sinir ileti hızının ve sinir kan akımının da arttığı tespit edilmiştir (14).

DENEYSEL DİABET MODELİ

Diabetin farklı özelliklerinin anlaşılabilmesi için yapılan deneysel çalışmalarda sıçanlarda ilaç ile indüklenen hiperglisemi modeli üzerinde en sık çalışılmış modeldir (69,70). Streptozotosin (STZ), toprakta bulunan *streptomyces achromogenes* isimli bir mikroorganizmanın metabolitidir. Bu molekül 1960'da izole edilmiştir. Başlangıçta antibiyotik, antitümöral ve antikarsinojen özellikleriyle bilinen ajan, 1963'te köpek, kedi ve sıçanlarda diabetojenik etkili bir madde olarak tanımlanmıştır. Streptozotosinin oksidan maddeler meydana getirerek Langerhans adacıklarını seçici olarak tahrip edip diabeti başlattığı düşünülmektedir. Pankreas adacık hücrelerinin yıkımı ile tip 1 DM benzeri bir tablo oluşturmaktadır (69,71).

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma 01.05.2012 – 15.08.2012 tarihleri arasında gerçekleştirildi.

GEREÇ:

Çalışmamızda diabetik polinöropatide hayvan modellerinde en çok kullanılan hayvan türü olan erkek Wistar albino sıçan hayvan türü olarak seçildi (14,15,46). Gerekli hayvanlar Pamukkale Üniversitesi Deney Hayvanları Komitesi'nden etik kurulu onayı alındıktan sonra üniversitemiz deney hayvanı ünitesinden sağlandı.

Çalışmaya 250-350 gr ağırlığında, 18 haftalık 30 adet erkek Wistar albino sıçan alındı. Sıçanların sabit ısı ve nemde, 12 saatlik aydınlık ve 12 saatlik karanlık siklusunun sağlandığı laboratuvarında barınması sağlandı. Deney süresince sıçanlar aynı cins yem ve su ile beslendi. Diabetes mellitus geliştirilecek olan denekler, enfeksiyon riski nedeniyle 3 sıçan bir kafeste olacak şekilde dağıtılarak yerleştirildi.

Elektrofizyolojik ölçümler, xilazine (12 mg/kg) ve ketamine (75 mg/kg) karışımının intraperitoneal (i.p.) enjeksiyon uygulamasıyla sağlanan anestezi altında gerçekleştirildi (46). Çalışmada Medelec (Premier plus/London) marka cihaz kullanılmış olup deneysel diabet oluşturmak için STZ tercih edildi. Çalışmaya alınan tüm sıçanlar STZ ile diabetik hale getirildikten sonra nöropatinin gelişmesi için dört hafta beklenildi. Dört hafta sonra sıçanlar rastgele seçilerek üç tedavi grubu oluşturulup, 1. gruba 100mg/kg ALA, 2. gruba 10 mg/ kg melatonin verildi. Diğer grup ise kontrol grubu olarak seçildi. Çalışmaya alınan sıçanlar, sırası ile her üç gruba alınarak randomize edildi ve her grup için sıçanların kuyrukları farklı renklerle işaretlendi. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler Nanolab ve Sigma Chemical Co. (St.Louis, MO, ABD)'dan temin edildi.

YÖNTEM:

Diabetes mellitus öncesi, DM sonrası ve tedavi sonrası tibial motor sinir ileti çalışması ve tibial SEP çalışması yapılması planlandı. Tibial motor sinir ileti çalışmasında distal latans, proksimal latans, amplitüd ve hız değerleri, tibial SEP çalışmasında ise P1 ve N1 latans değerleri ölçülerek kaydedildi. Sıçanların başlangıç ağırlıkları ölçüldükten sonra tümüne elektrofizyolojik inceleme yapıldı. Sonrasında, tüm sıçanlarda DM geliştirilmek amacı ile STZ kullanıldı. Literatürde sıçanlarda STZ ile diabetin indüklenmesi amacıyla yaygın olarak önerilen doz, 50-75mg/kg i.p. enjeksiyondur (72). Bu çalışmada sıçanların diabetik hale getirilmesi 50 mg/kg i.p. olarak toplam dozun tek seferde enjeksiyonu ile sağlandı (44,46,71). Soğuk zincir ile taşınan ve -4 derecede saklanan 250 mg lık STZ flakonları serum fizyolojik (SF) ile sulandırılarak ağırlıklarına göre tüm sıçanlara uygulandı. Önceki çalışmalarda yaygın olarak kan glukozunun 300 mg/dl üzerindeki değerlerin diabetik değerler olarak kabul edildiği göz önünde bulundurularak diabet tanı ölçütü olarak kan glukozunun 300 mg/dl üzerindeki değerler kabul edildi (46,53,73). Kan şekeri ölçümünde kuyruktan ince bir kesi ile alınan kan, Clever Check TDCC 4222 marka glukometre ve aynı marka 14 numaralı stripler ile değerlendirildi. STZ uygulandıktan sonra 48. saatte 12 saat açlığı takiben kan glukoz seviyeleri ölçüldü ve 300 mg/dl'nin üzerinde değeri olan sıçanlar diabetik olarak kabul edildi.

Tüm sıçanlarda DM geliştikten sonra literatürde diabetik nöropatinin gelişmesi için dört-altı haftalık süreç olduğu göz önünde bulundurularak nöropatinin gelişmesi için dört hafta beklenildi (74). Bu süreç içerisinde sıçanlar sabit ısı ve nemde barındırılıp, laboratuarda 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık siklusu sağlandı. Enfeksiyonun önlenmesi amacıyla günlük olarak kafeslerin bakımı ve temizliği yapıldı. Dört haftalık süreç içinde beş sıçan diabetik komplikasyonlar nedeniyle kaybedildi. Gruplar arası farklılık olmaması amacıyla bir sıçan da çalışmadan çıkarılarak, çalışmaya 24 sıçan ile devam edildi. Dört haftanın sonunda sıçanların ağırlıkları tekrar ölçülerek başlangıç ağırlıklarıyla karşılaştırıldı ve kilo kayıpları kaydedildi. Diabetik nöropati geliştirilmiş 24 sıçana elektrofizyolojik çalışma tekrarlandıktan sonra daha önce randomize olarak seçilen sıçanlardan her grupta sekiz tane olmak üzere üç grup oluşturuldu. Tedavide kullanılan kimyasal

maddelerin dozları, uygulanış ve sulandırılma şekilleri benzer çalışmalarla uyumlu olarak belirlendi (10,53,71,75-79). Buna göre;

Grup 1 (ALA grubu): 100 mg/ kg ALA %5 alkol ile sulandırılarak melatonin ile aynı saatte toplam doz tek seferde, günde 1 defa, 0,4cc miktarda i.p. olarak 2 hafta boyunca uygulandı.

Grup 2 (Melatonin grubu): 10 mg/ kg melatonin 0,5 ml serum fizyolojik içinde 0,1 ml %1 etanol içeren sıvıda çözdürülerek 2 hafta boyunca, sirkadian ritim göz önünde bulundurularak saat 08.00'de toplam doz tek seferde, günde 1 defa 0,4cc miktarda i.p. uygulandı.

Grup 3 (Kontrol grubu): ALA ve melatonin ile eşdeğer miktarda (0,4cc) %0,9 SF verildi.

Takipte, iki haftanın sonunda sıçanlara elektrofizyolojik çalışmalar tekrarlandı. Sonuç olarak her üç grupta DM öncesi, DM sonrası ve tedavi sonrası motor sinir ileti incelemesi ve tibial SEP çalışması tamamlanmış oldu.

Tablo 6'da deney grupları ve uygulanan tedaviler gösterilmiştir.

Tablo 6. Deney grupları

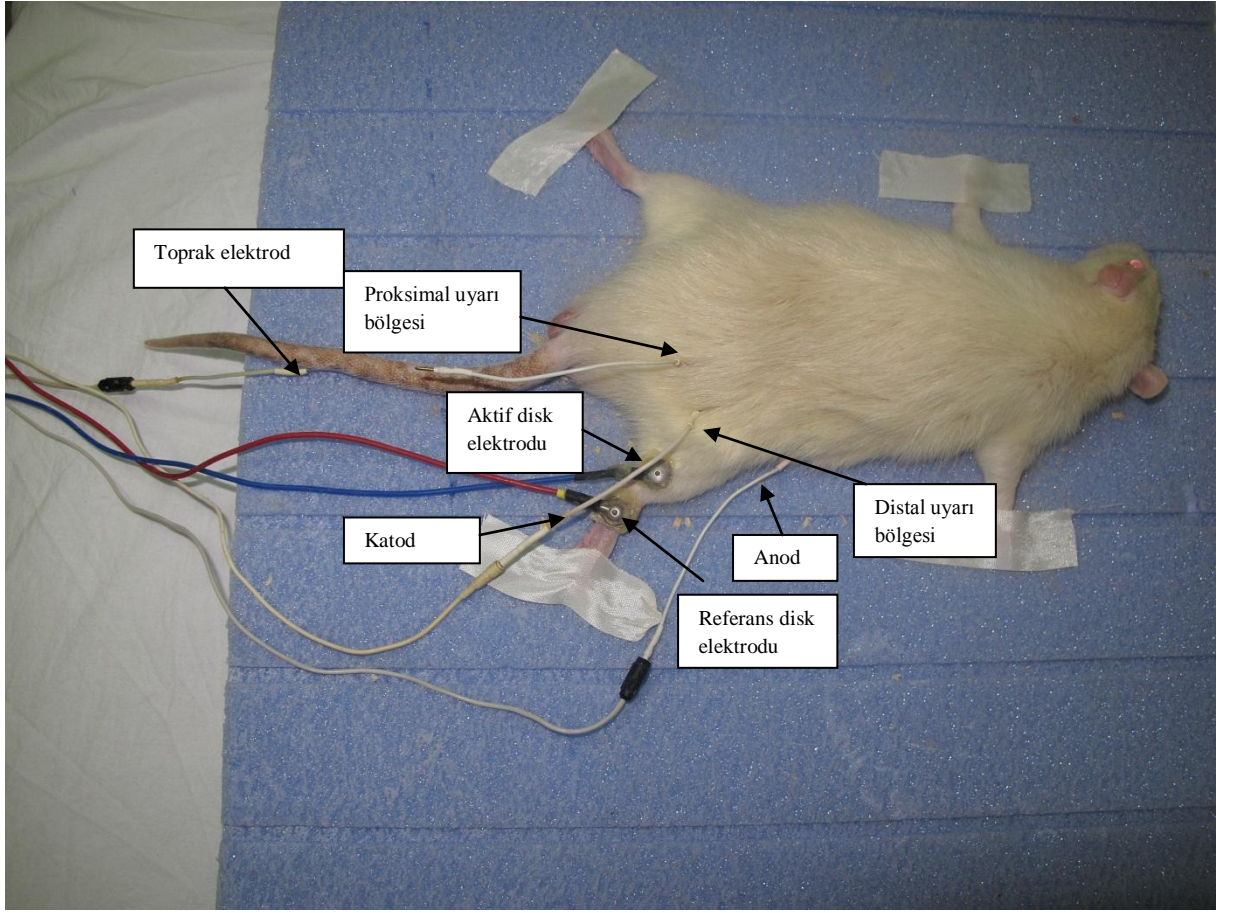
Gruplar	Streptozotosin	Tedavi
1.grup (ALA)	+	ALA
2.grup (Melatonin)	+	Melatonin
3.grup (Kontrol)	+	SF

ALA: Alfa lipoik asit SF: Serum fizyolojik

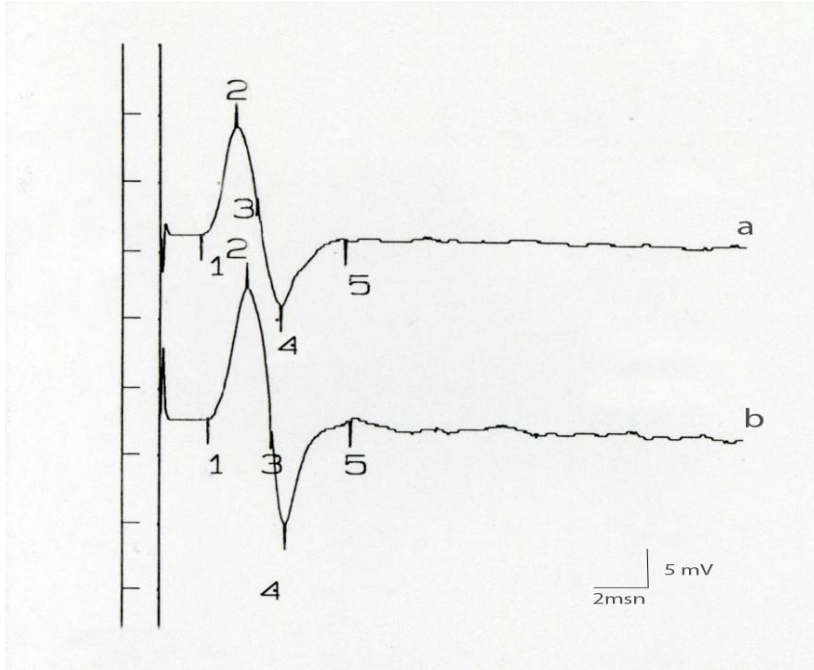
Sinir İletim Çalışmaları

Motor Sinir İletim Çalışması

Diabetes mellitus öncesi, DM sonrası ve tedavi sonrası olmak üzere toplam üç kez yapılan motor sinir ileti çalışması için sağ tibial motor sinir seçildi. Denekler derin anestezi altında iken yapılan çalışmada uyaran şiddeti 8 V (supramaksimal uyarı) olarak belirlendi. Kayıtlamada gümüş klorürlü disk elektrodlar kullanılıp aktif elektrot gastroknemius kasının ortasına, referans elektrot kasın tendonuna, toprak elektrot ise kuyruğa yerleştirildi (Şekil 1a). M yanıtları için kayıtlama duyarlılıkları 5 mv/bölüm ve süpürme süresi 20 msn olarak ayarlandı. Monopolar deri altı iğneler kullanılarak, 1 Hz frekansında 0,1 ms süreli olarak, siyatik çukur ve popliteal fossadan uyarı verildi. Anot ise uzak bölgeye, deri altına yerleştirildi. Elde edilen kayıtlamada amplitüd, distal latans, proksimal latans ve iki uyarı nokta arası mesafe ölçülerek sağ tibial motor sinir ileti hızı ölçüldü. Amplitüd değeri olarak uyarı bölgesinden elde edilen en yüksek tepe negatif değeri alındı. Şekil 1b'de sağ tibial motor sinir ileti çalışmasını gösteren EMG trase örneği gösterilmiştir.



Şekil 1a: Sıçanda tibial motor sinir ileti çalışmasında uyarı ve kayıt noktaları



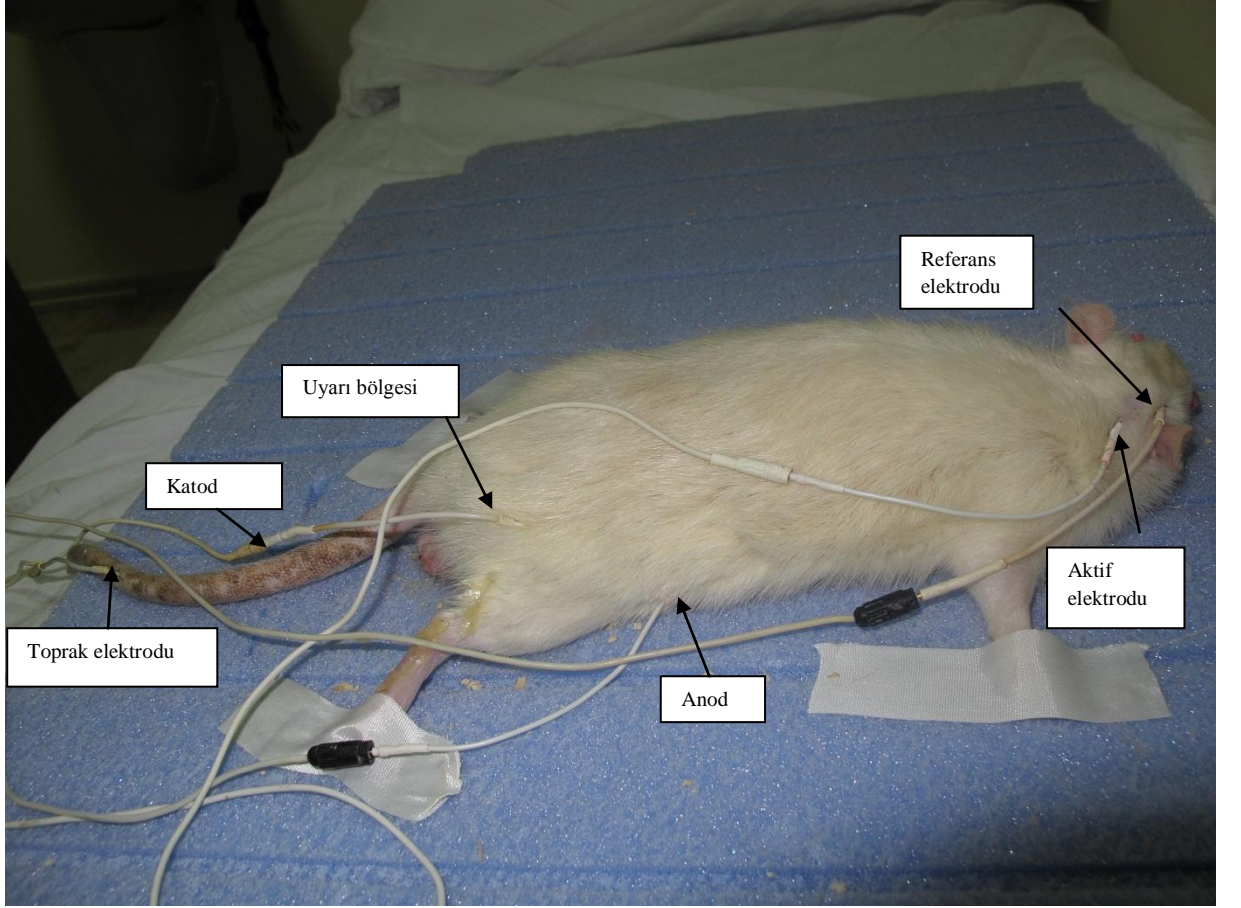
Şekil 1b: EMG veri sayfası örneği

a: Distal uyarı ile elde edilen yanıt

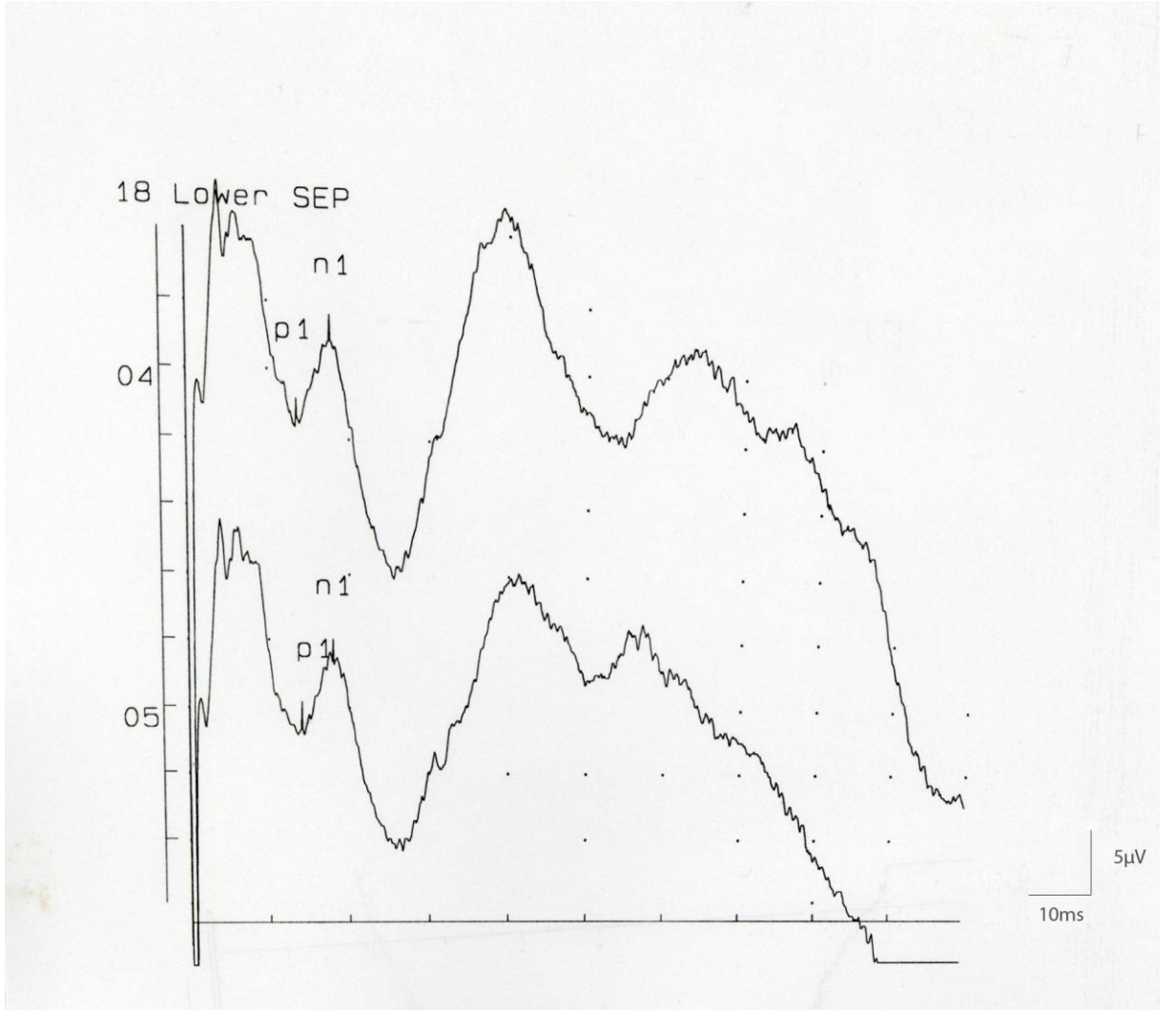
b: Proksimal uyarı ile elde edilen yanıt

SEP

Diabet mellitus öncesi, DM sonrası ve tedavi sonrası yapılan SEP çalışmasında sağ tibial sinir seçildi. Monopolar deri altı iğne kullanılan kayıtlamada aktif elektrot bregmaya, referans elektrot ise nazal bölgeye subkutan olarak yerleştirildi (Şekil 2a). Monopolar deri altı iğne kullanılarak 0,1 ms süreli, 5 Hz frekansında, 4 mA şiddetinde uyarı, siyatik çukurdan verildi. Denek hayvanın bacağı hafif hareketi ile uyarın şiddeti belirlendi. Toplam 256 cevap averajlandı, kayıtlama her sıçan için 2 kez tekrarlandı. Elde edilen kortikal kayıtlamada ilk pozitif dalga P1, ilk negatif dalga N1 dalgası olarak işaretlendi. Çalışmamızda P1 ve N1 dalga latansları m/sn olarak ölçüldü. Şekil 2b'de sağ tibial sinir SEP çalışmasını gösteren EMG trase örneği gösterilmiştir.



Şekil 2a: Sıçanda tibial SEP’de uyarı ve kayıt noktaları



Şekil 2b: Tibial SEP EMG veri sayfası örneği

İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Çalışmanın istatistiksel değerlendirilmesi SPSS-16 programı kullanılarak yapıldı. Non parametrik verilerin gruplar arası ölçümlerinin karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis yöntemi, gruplar arasında fark bulunması halinde farkı yaratan grubun belirlenmesinde Mann Whitney U testi kullanıldı ve Bonferroni düzeltmesi yapıldı. Tekrarlayan ölçümlere sahip grupların, grup içi ölçümlerinin karşılaştırılmasında Friedmann varyans analiz yöntemi, grup içi fark bulunması halinde grup içi farkı yaratan kısmın belirlenmesinde ise Wilcoxon testi kullanıldı ve Bonferroni düzeltmesi yapıldı.

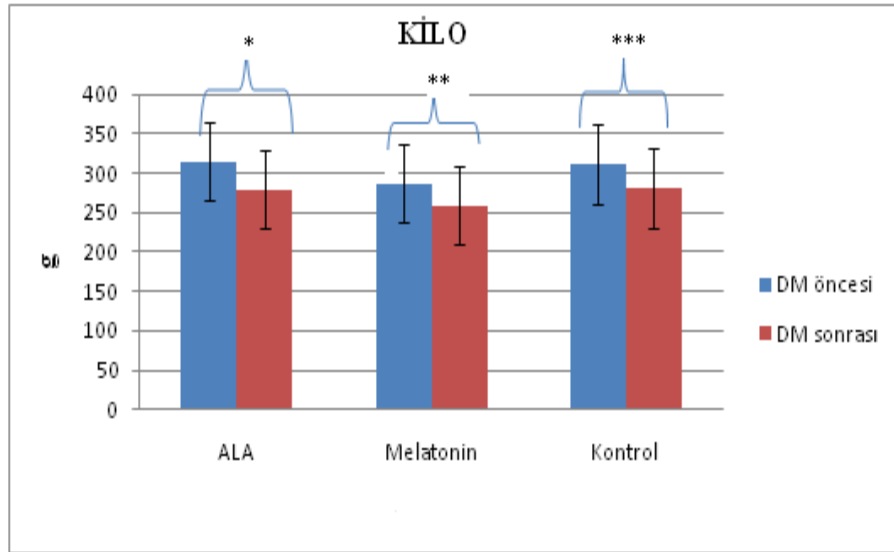
Friedmann ve Wilcoxon testinde p değeri 0,05'in altında olan sonuçlar, Mann Whitney U ve Wilcoxon testinde ise Bonferroni düzeltmesiyle p değeri 0,016'nın altındaki değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya başlangıçta 30 erkek wistar sıçan alınması planlanmasına rağmen çalışma süresince DM geliştikten sonra beş sıçan diabetik komplikasyonlar nedeniyle kaybedildi. Gruplar arası farklılık olmaması amacıyla bir sıçan da çalışmadan çıkarılarak çalışmaya 24 adet sıçan ile devam edildi.

Gruplar Arasında Ortalama Ağırlık Kaybının Karşılaştırılması

Alfa lipoik asit, melatonin ve kontrol grubunun DM öncesi ve DM sonrası ortalama ağırlıkları karşılaştırıldığında (ALA: 314,75-279,25 g, melatonin: 287,25-259,12 g, kontrol: 311,88-280,75 g) her üç grubun da DM sonrası kilolarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma olduğu gözlemlendi (Wilcoxon testi ile $z=-4,288$, $p=0,000$) (Şekil 3).



Şekil 3. ALA, melatonin ve kontrol grubunda DM öncesi ve DM sonrası ortalama ağırlık (g) değerleri

* ALA grubunda Wilcoxon testi, DM öncesi-DM sonrası ($p=0,000$)

** Melatonin grubunda Wilcoxon testi, DM öncesi-DM sonrası ($p=0,000$)

*** Kontrol grubunda Wilcoxon testi, DM öncesi-DM sonrası ($p=0,000$)

ELEKTROFİZYOLOJİK VERİLERİN KARŞILAŞTIRILMASI

Grup İçi Karşılaştırmalar

Her Üç Grubun DM Öncesi, DM Sonrası ve Tedavi Sonrası Ortalama Amplitüd Değerlerinin Karşılaştırılması

Alfa lipoik asit grubunun DM öncesi (34,37 mV), DM sonrası (20,45 mV) ve tedavi sonrası (33,46 mV) ortalama amplitüd değerleri karşılaştırıldığında DM sonrası amplitüdülerin düştüğü, ALA ile tedavi sonrasında ise amplitüdülerin DM sonrası amplitüdülere göre yükseldiği izlendi. Ortalama amplitüd değerlerindeki değişikliğin de istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı (Friedmann varyans analizi ile $p=0,002$). Grup içi ikili analizlerde istatistiksel olarak anlamlı farklılığının hem DM öncesi ve DM sonrası hem de DM sonrası ve tedavi sonrası değerlerinden kaynaklandığı tespit edildi (Wilcoxon testi ile tümü için $z=-2,521$, $p=0,012$) (Tablo 7, şekil 4).

Melatonin grubunun DM öncesi (30,48 mV), DM sonrası (20,73 mV) ve tedavi sonrası (29,75 mV) ortalama amplitüd değerleri karşılaştırıldığında DM sonrası amplitüdülerin düştüğü, melatonin ile tedavi sonrasında ise amplitüdülerin arttığı tespit edildi. Ortalama amplitüd değerlerindeki değişikliğin istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı (Friedmann varyans analizi ile $p=0,002$). Grup içi ikili analizlerde ortalama amplitüd değerlerinde gözlenen değişikliğin istatistiksel olarak anlamlı farklılığına bakıldığında bunun hem DM öncesi ve DM sonrası hem de DM sonrası ve tedavi sonrası değerlerde ortaya çıktığı tespit edildi (Wilcoxon testi ile tümü için $z=-2,524$, $p=0,012$) (Tablo 7, şekil 4).

Kontrol grubunun DM öncesi (24,60 mV), DM sonrası (21,40 mV) ve tedavi sonrası (18,15 mV) ortalama amplitüd değerleri kıyaslandığında DM sonrası amplitüd değerlerinin düştüğü ancak tedavi sonrasında amplitüd değerlerinde düzelmenin olmadığı, aksine ortalama amplitüd değerlerinde düşme olduğu izlendi. Ortalama amplitüd değerlerindeki değişikliğin istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı (Friedmann varyans analizi ile $p=0,000$). Grup içi ikili analizlerde ortalama amplitüd değerlerinde gözlenen değişikliğin istatistiksel olarak anlamlı farklılığına bakıldığında her üç değerde de (DM öncesi-DM sonrası, DM sonrası-tedavi sonrası,

DM öncesi-tedavi sonrası) ortaya çıktığı tespit edildi (Wilcoxon testi ile tümü için $z=-2,521$, $p=0,012$) (Tablo 7, şekil 4).

Tablo 7. ALA, melatonin ve kontrol grubunda DM öncesi, DM sonrası ve tedavi sonrası ortalama amplitüd değerlerinin karşılaştırılması ve anlamlılık değerleri (p değeri)

	DM öncesi (mV)	DM sonrası (mV)	Tedavi sonrası (mV)	p*
ALA	34,37	20,45	33,46	0,002 [^]
Melatonin	30,48	20,73	29,75	0,002 ^{^^}
Kontrol	24,60	21,40	18,15	0,000 ^{^^^}

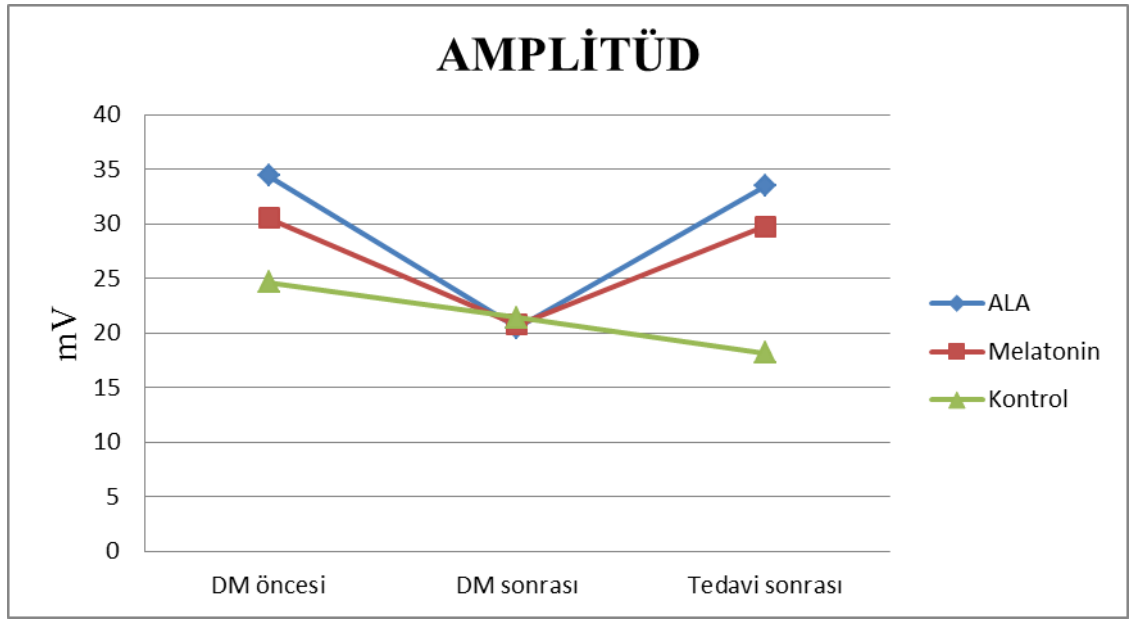
DM: Diabetes mellitus, ALA: Alfa lipoik asit

*Friedman varyans analizi

[^] Wilcoxon testi, DM öncesi-DM sonrası ($p=0,012$) ve DM sonrası - tedavi sonrasında ($p=0,012$) istatistiksel olarak anlamlı fark

^{^^} Wilcoxon testi, DM öncesi-DM sonrası ($p=0,012$) ve DM sonrası-tedavi sonrasında ($p=0,012$) istatistiksel olarak anlamlı fark

^{^^^} Wilcoxon testi, DM öncesi-DM sonrası ($p=0,012$), DM sonrası-tedavi sonrası ($p=0,012$), DM öncesi-tedavi sonrasında ($p=0,012$) istatistiksel olarak anlamlı fark



Şekil 4. ALA, melatonin ve kontrol grubunda DM öncesi, DM sonrası ve tedavi sonrasında ortalama amplitüd değerleri

Her Üç Grubun DM Öncesi, DM Sonrası ve Tedavi Sonrası Ortalama Motor Sinir İletim Hızı Değerlerinin Karşılaştırılması

Alfa lipoik asit grubunun DM öncesi (82,90 m/sn), DM sonrası (48,23 m/sn) ve tedavi sonrası (67,56 m/sn) ortalama hız değerleri karşılaştırıldığında DM sonrası hızların düştüğü, ALA ile tedavi sonrasında ise artış gösterdiği ve ortalama hız değerlerinde izlenen bu farklılığın anlamlı olduğu saptandı (Friedmann varyans analizi ile $p=0,001$). Grup içi ikili analizlerde ise istatistiksel olarak anlamlı farklılığının hem DM öncesi ve DM sonrası hem de DM sonrası ve tedavi sonrası değerlerde ortaya çıktığı tespit edildi (Wilcoxon testi ile tümü için $z= - 2,521$, $p=0,012$) (Tablo 8, şekil 5).

Melatonin grubunun DM öncesi (73,26 m/sn), DM sonrası (51,92 m/sn) ve tedavi sonrası (74,01 m/sn) ortalama hız değerleri karşılaştırıldığında DM sonrası hızların düştüğü, melatonin ile tedavi sonrasında ise hızların arttığı ve ortalama hız değerlerinde izlenen bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı (Friedmann varyans analizi ile $p=0,002$). Grup içi ikili analizlerde ortalama hız

değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı farklılığının hem DM öncesi ve DM sonrası hem de DM sonrası ve tedavi sonrası değerlerden kaynaklandığı tespit edildi (Wilcoxon testi ile tümü için $z = -2,521$, $p = 0,012$) (Tablo 8, Şekil 5).

Kontrol grubunun DM öncesi (69,21 m/sn), DM sonrası (50,32 m/sn) ve tedavi sonrası (47,0 m/sn) ortalama hız değerleri kıyaslandığında DM sonrası ortalama hız değerlerinin düştüğü ancak tedavi sonrasında da ortalama hız değerlerinde düzelmeye olmadığı, aksine düşme olduğu saptandı. Ortalama hız değerlerinde ortaya çıkan farklılıkların anlamlı olduğu tespit edildi (Friedmann varyans analizi ile $p = 0,000$). Grup içi ikili analizlerde ortalama hız değerlerinde gözlenen değişikliğin istatistiksel olarak anlamlı farklılığına bakıldığında her üç değerde de (DM öncesi-DM sonrası, DM sonrası-tedavi sonrası, DM öncesi-tedavi sonrası) ortaya çıktığı saptandı (Wilcoxon testi ile tümü için $z = -2,521$, $p = 0,012$) (Tablo 8, şekil 5).

Tablo 8. ALA, melatonin ve kontrol grubunda DM öncesi, DM sonrası ve tedavi sonrası ortalama hız değerlerinin karşılaştırılması ve anlamlılık değerleri (p değeri)

	DM öncesi (m/sn)	DM sonrası (m/sn)	Tedavi sonrası (m/sn)	p*
ALA	82,90	48,23	67,56	0,001 [^]
Melatonin	73,26	51,92	74,01	0,002 ^{^^}
Kontrol	69,21	50,32	47,00	0,000 ^{^^^}

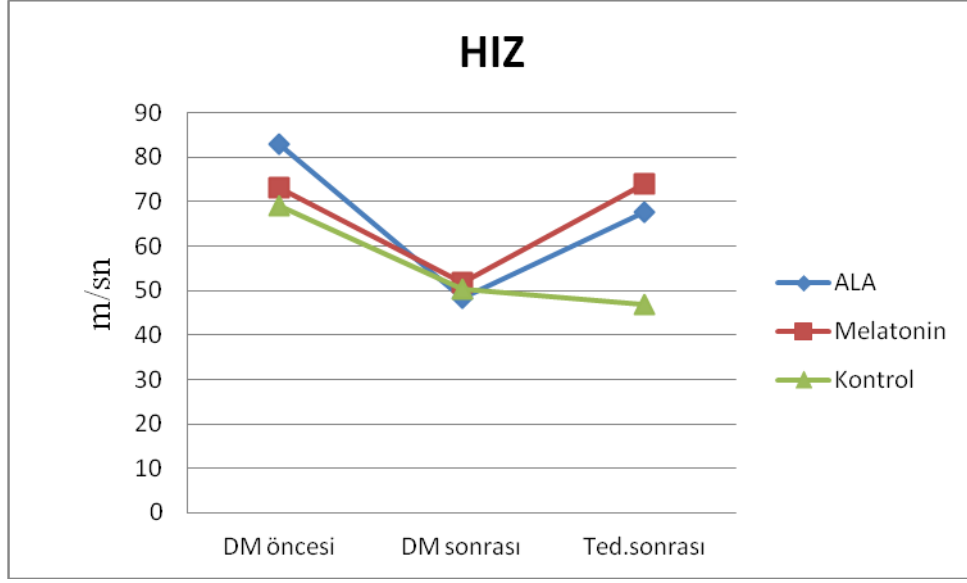
DM: Diabetes mellitus, ALA: Alfa lipoik asit

*Friedman varyans analizi

[^] Wilcoxon testi, DM öncesi-DM sonrası ($p = 0,012$) ve DM sonrası- tedavi sonrasında ($p = 0,012$) istatistiksel olarak anlamlı fark

^{^^} Wilcoxon testi, DM öncesi-DM sonrası ($p = 0,012$) ve DM sonrası-tedavi sonrasında ($p = 0,012$) istatistiksel olarak anlamlı fark

^{^^^} Wilcoxon testi, DM öncesi-DM sonrası ($p = 0,012$), DM sonrası-tedavi sonrası ($p = 0,012$), DM öncesi-tedavi sonrasında ($p = 0,012$) istatistiksel olarak anlamlı fark



Şekil 5. ALA, melatonin ve kontrol grubunda DM öncesi, DM sonrası ve tedavi sonrasında ortalama hız değerleri

Her Üç Grubun DM Öncesi, DM Sonrası ve Tedavi Sonrası Ortalama Distal Latans Değerlerinin Karşılaştırılması

Alfa lipoik asit grubunun DM öncesi (1,16 msn), DM sonrası (1,18 msn) ve tedavi sonrası (1,14 msn) ortalama distal latans değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (Friedmann varyans analizi ile $p=0,417$) (Tablo 9).

Melatonin grubunun DM öncesi (0,99msn), DM sonrası (1,08 msn) ve tedavi sonrası (1,07 msn) ortalama distal latans değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Friedmann varyans analizi ile $p=0,053$) (Tablo 9).

Kontrol grubunun ise DM öncesi (1,01 msn), DM sonrası (1,09 msn) ve tedavi sonrası (1,11 msn) ortalama distal latans değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (Friedmann varyans analizi ile $p=0,003$). Grup içi ikili analizlerde ortalama distal latans değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı farklılığının DM öncesi ve DM sonrası değerlerde olduğu tespit edildi (Wilcoxon testi ile $z= - 2,524$, $p=0,012$) (Tablo 9).

Tablo 9. ALA, melatonin ve kontrol grubunda DM öncesi, DM sonrası ve tedavi sonrası ortalama distal latans değerlerinin karşılaştırılması ve anlamlılık değerleri (p değeri)

	DM öncesi (msn)	DM sonrası (msn)	Tedavi sonrası (msn)	p*
ALA	1,16	1,18	1,14	0,417
Melatonin	0,99	1,08	1,07	0,053
Kontrol	1,01	1,09	1,11	0,003 [^]

DM: Diabetes mellitus ALA: Alfa lipoik asit

*Friedman varyans analizi

[^] Wilcoxon testi, DM öncesi ve DM sonrasında (p=0,012) istatistiksel olarak anlamlı fark

Her Üç Grubun DM Öncesi, DM Sonrası ve Tedavi Sonrası Ortalama Proksimal Latans Değerlerinin Karşılaştırılması

Alfa lipoik asit grubunun DM öncesi (1,37 msn), DM sonrası (1,44 msn) ve tedavi sonrası (1,48 msn) ortalama proksimal latans değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (Friedmann varyans analizi ile p=0,001). Grup içi ikili analizlerde ortalama proksimal latans değerlerinde ortaya çıkan istatistiksel olarak anlamlı farklılığının DM öncesi ve DM sonrası değerlerden kaynaklandığı tespit edildi (Wilcoxon testi ile z= - 2,527, p=0,012) (Tablo 10).

Melatonin grubunun DM öncesi (1,27 msn), DM sonrası (1,41 msn) ve tedavi sonrası (1,43 msn) ortalama proksimal latans değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (Friedmann varyans analizi ile p=0,007). Grup içi ikili analizlerde ortalama proksimal latans değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı farklılığının DM öncesi ve DM sonrası değerlerden kaynaklandığı tespit edildi (Wilcoxon testi ile z= - 2,521, p=0,012) (Tablo 10).

Kontrol grubunun DM öncesi (1,25 msn), DM sonrası (1,37 msn) ve tedavi sonrası (1,38 msn) ortalama proksimal latans değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (Friedmann varyans analizi ile $p=0,004$). Grup içi ikili analizlerde ortalama proksimal latans değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı farklılığının DM öncesi ve DM sonrası değerlerden kaynaklandığı tespit edildi (Wilcoxon testi ile $z= - 2,524$, $p=0,012$) (Tablo 10).

Tablo 10. ALA, melatonin ve kontrol grubunda DM öncesi, DM sonrası ve tedavi sonrası ortalama proksimal latans değerlerinin karşılaştırılması ve anlamlılık değerleri (p değeri)

	DM öncesi (msn)	DM sonrası (msn)	Tedavi sonrası (msn)	p*
ALA	1,37	1,44	1,48	0,001 [^]
Melatonin	1,27	1,41	1,43	0,007 ^{^^}
Kontrol	1,25	1,37	1,38	0,004 ^{^^^}

DM: Diabetes mellitus, ALA: Alfa lipoik asit

*Friedman varyans analizi

[^] Wilcoxon test, DM öncesi-DM sonrası ($p=0,012$) istatistiksel olarak anlamlı fark

^{^^} Wilcoxon test, DM öncesi-DM sonrası ($p=0,012$) istatistiksel olarak anlamlı fark

^{^^^} Wilcoxon test, DM öncesi-DM sonrası ($p=0,012$) istatistiksel olarak anlamlı fark

Her Üç Grubun DM Öncesi, DM Sonrası ve Tedavi Sonrası Ortalama P1 Latansı Değerlerinin Karşılaştırılması

Alfa lipoik asit grubunun DM öncesi (12,41 msn), DM sonrası (13,41 msn) ve tedavi sonrası (15,36 msn) ortalama P1 değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (Friedmann varyans analizi ile $p=0,000$). Grup içi ikili analizlerde ortalama P1 değerlerinde ortaya çıkan istatistiksel olarak anlamlı

farklılığının her üç değerde de (DM öncesi-DM sonrası, DM sonrası-tedavi sonrası, DM öncesi-tedavi sonrası) ortaya çıktığı tespit edildi (Wilcoxon testi ile tümü için $z=-2,521$, $p=0,012$).

Melatonin grubunun DM öncesi (12,23 msn), DM sonrası (13,13 msn) ve tedavi sonrası (13,63 msn) ortalama P1 değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (Friedmann varyans analizi ile $p=0,001$). Grup içi ikili analizlerde ortalama P1 değerlerinde ortaya çıkan istatistiksel olarak anlamlı farklılığının hem DM öncesi-DM sonrası hem de DM öncesi-tedavi sonrası değerlerde ortaya çıktığı tespit edildi (Wilcoxon testi ile tümü için $z=-2,521$, $p=0,012$).

Kontrol grubunun DM öncesi (12,16 msn), DM sonrası (13,20 msn) ve tedavi sonrası (13,86 msn) ortalama P1 değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (Friedmann varyans analizi ile $p=0,001$). Grup içi ikili analizlerde ortalama P1 değerlerinde ortaya çıkan istatistiksel olarak anlamlı farklılığının hem DM öncesi-DM sonrası hem de DM öncesi-tedavi sonrası değerlerde ortaya çıktığı tespit edildi (Wilcoxon testi ile sırasıyla $z=-2,521$, $p=0,01$; $z=-2,524$, $p=0,012$).

Her üç Grubun DM Öncesi, DM Sonrası ve Tedavi Sonrası Ortalama N1 Değerlerinin Karşılaştırılması

Alfa lipoik asit grubunun DM öncesi (16,94 msn), DM sonrası (19,05 msn) ve tedavi sonrası (22,57 msn) ortalama N1 değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (Friedmann varyans analizi ile $p=0,000$). Grup içi ikili analizlerde ortalama N1 değerlerinde ortaya çıkan istatistiksel olarak anlamlı farklılığının her üç değerde de (DM öncesi-DM sonrası, DM sonrası-tedavi sonrası, DM öncesi-tedavi sonrası) ortaya çıktığı tespit edildi (Wilcoxon testi ile tümü için $z=-2,521$, $p=0,012$).

Melatonin grubunun DM öncesi (17,74 msn), DM sonrası (19,29 msn) ve tedavi sonrası (19,74 msn) ortalama N1 değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel

olarak anlamlı farklılık saptandı (Friedmann varyans analizi ile $p=0,008$). Grup içi ikili analizlerde ortalama N1 değerlerinde ortaya çıkan istatistiksel olarak anlamlı farklılığının DM öncesi ile DM sonrası değerlerde ortaya çıktığı tespit edildi (Wilcoxon testi ile $z=-2,521$, $p=0,012$).

Kontrol grubunun DM öncesi (16,63 msn), DM sonrası (18,10 msn) ve tedavi sonrası (19,22 msn) ortalama N1 değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (Friedmann varyans analizi ile $p=0,000$). Grup içi ikili analizlerde ortalama N1 değerlerinde ortaya çıkan istatistiksel olarak anlamlı farklılığının her üç değerinde de (DM öncesi-DM sonrası, DM sonrası-tedavi sonrası, DM öncesi-tedavi sonrası) ortaya çıktığı tespit edildi (Wilcoxon testi ile tümü için $z=-2,521$, $p=0,012$).

Gruplar Arası Karşılaştırmalar

Her Üç Grupta DM Öncesi Elektrofizyolojik Değerlerinin Karşılaştırılması

Alfa lipoik asit, melatonin ve kontrol grubunun DM öncesi ortalama distal latans değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (Kruskal-Wallis yöntemi ile $p=0,007$). Gruplar arası ikili analizlerde istatistiksel olarak anlamlı farklılığının ALA ve melatonin ile ALA ve kontrol grubu arasındaki değerlerden kaynaklandığı tespit edildi (Mann Whitney U testi ile sırasıyla $z=-2,688$, $p=0,007$; $z=-2,737$, $p=0,006$) (Tablo 11).

Alfa lipoik asit, melatonin ve kontrol grubunun DM öncesi ortalama proksimal latans, amplitüd, hız, P1 ve N1 değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (Kruskal-Wallis yöntemi ile sırasıyla $p=0,069$, $p=0,164$, $p=0,105$, $p=0,943$, $p=0,066$) (Tablo 11).

Tablo 11. ALA, melatonin ve kontrol grubunda DM öncesi elektrofizyolojik değerlerin ortalamalarının karşılaştırılması ve anlamlılık değerleri (p değeri)

	ALA	Melatonin	Kontrol	p*
Distal latans	1,16	0,99	1,01	0,007 [^]
Proksimal latans	1,37	1,27	1,25	0,069
Amplitüd	29,83	30,48	24,60	0,164
Hız	82,90	73,26	69,21	0,105
P1	12,41	12,23	12,16	0,943
N1	16,94	18,85	16,47	0,066

DM: Diabetes mellitus ALA: Alfa lipoik asit

*Kruskal Wallis varyans analizi

[^] Mann Whitney U, ALA-Melatonin grubu (p=0,007) ve ALA-kontrol grubu (p=0,006) istatistiksel olarak anlamlı fark

Her Üç Grupta DM Sonrası Elektrofizyolojik Değerlerinin Karşılaştırılması

Alfa lipoik asit, melatonin ve kontrol grubunun DM sonrası bakılan ortalama proksimal latans, distal latans, amplitüd, hız, P1 ve N1 değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (Kruskal-Wallis yöntemi ile sırasıyla p=0,470, p=0,466, p=0,365, p=0,854, p=0,937, p=0,277) (Tablo 12).

Tablo 12. ALA, melatonin ve kontrol grubunda DM sonrası ortalama elektrofizyolojik değerlerin karşılaştırılması ve anlamlılık değerleri (p değeri)

	ALA	Melatonin	Kontrol	p*
Distal latans	1,18	1,08	1,09	0,470
Proksimal latans	1,63	1,39	1,37	0,466
Amplitüd	23,85	25,98	21,40	0,365
Hız	48,23	51,92	50,32	0,854
P1	13,41	13,13	13,20	0,937
N1	19,19	19,78	18,10	0,277

DM: Diabetes mellitus ALA: Alfa lipoik asit

Her Üç Grupta Tedavi Sonrası Elektrofizyolojik Değerlerinin Karşılaştırılması

Alfa lipoik asit, melatonin ve kontrol grubunun tedavi sonrası ortalama amplitüd değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (Kruskal Wallis yöntemi ile $p=0,000$). Gruplar arası ikili analizde istatistiksel olarak anlamlı farklılığın ALA ve kontrol grubu ile melatonin ve kontrol grubu arasından kaynaklandığı tespit edildi (Mann Whitney U testi ile tümü için $z=-3,363$, $p=0,001$) (Tablo 12). Gruplar arası ikili analizde ALA ile melatoninin arasında tedavi sonrası ortalama amplitüd değerleri açısından anlamlı farklılık saptanmadı (Mann Whitney U testi ile $z= -0,210$, $p=0,834$) (Tablo 13).

Alfa lipoik asit, melatonin ve kontrol grubunun tedavi sonrası ortalama hız değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak oldukça anlamlı saptandı (Kruskal Wallis yöntemi ile $p=0,001$). Gruplar arası ikili analizde istatistiksel olarak bu farklılığın ALA ve kontrol grubu ile melatonin ve kontrol grubu arasından kaynaklandığı tespit edildi (Mann Whitney U testi ile sırasıyla $z=-2,890$, $p=0,004$, $z=-$

3,361, $p=0,001$) (Tablo 12). Gruplar arası ikili analizde ALA ile melatoninin arasında tedavi sonrası ortalama hız değerleri açısından anlamlı farklılık saptanmadı (Mann Whitney U testi ile $z= -0,525$, $p=0,600$) (Tablo 13).

Alfa lipoik asit, melatonin ve kontrol grubunun tedavi sonrası ortalama P1 değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (Kruskal Wallis yöntemi ile $p=0,004$). Gruplar arası ikili analizde bu farklılığın ALA ve melatonin ile ALA ve kontrol grubu arasından kaynaklandığı tespit edildi (Mann Whitney U testi ile $z=-3,055$, $p=0,002$; $z=-2,577$, $p=0,010$) (Tablo 13).

Alfa lipoik asit, melatonin ve kontrol grubunun tedavi sonrası ortalama N1 değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (Kruskal Wallis yöntemi ile $p=0,041$). Gruplar arası ikili analizde bu farklılığın en yakın değer olan ALA ve kontrol grubu arasından kaynaklandığı tespit edildi (Mann Whitney U testi ile $z=-2,100$, $p=0,018$) (Tablo 13).

Tablo 13. ALA, melatonin ve kontrol grubunda tedavi sonrası ortalama elektrofizyolojik değerlerin karşılaştırılması ve anlamlılık değerleri (p değeri)

	ALA	Melatonin	Kontrol	p*
Distal latans	1,14	1,07	1,08	0,596
Proksimal latans	1,60	1,43	1,38	0,254
Amplitüd	45,98	45,77	18,15	0,000 [^]
Hız	67,56	74,01	47,0	0,001 ^{^^}
P1	15,36	13,63	13,86	0,004 ^{**}
N1	22,57	19,74	19,22	0,041 [¥]

ALA: Alfa lipoik asit

*Kruskal Wallis varyans analizi

[^] Mann Whitney U, ALA-kontrol grubu (p=0,001) ve melatonin-kontrol grubu (p=0,001) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark

^{^^} Mann Whitney U, ALA-kontrol grubu (p=0,004) ve melatonin-kontrol grubu (p=0,001) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark

^{**} Mann Whitney U, ALA-melatonin grubu (p=0,002) ve ALA-kontrol grubu (p=0,010) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark

[¥] Mann Whitney U, ALA-kontrol grubu (p=0,018) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark

TARTIŞMA

Bu çalışmada başlangıçta 30 sıçan alınması planlanmasına rağmen DM sonrası beş sıçan diabetik komplikasyonlar nedeniyle kaybedildi. Gruplar arası farklılık olmaması amacıyla bir sıçan da çalışmadan çıkarılarak 24 sıçan ile çalışmaya devam edildi. Deneysel diabet oluşturulan benzer çalışmalara bakıldığında çalışmalarda STZ dozunun yüksek verilmesi, hiperglisemik koma, diabet sonrası enfeksiyonlara yatkınlık, aşırı kilo kaybı gibi nedenlerle sıçanların kaybedildiği belirtilmiştir (80).

Diabetes mellitus öncesi ve DM sonrası vücut ağırlığı ölçülen sıçanların ALA grubunda ortalama vücut ağırlığının DM öncesi 314,75 g'dan DM sonrası 279,25 g'a düştüğü, melatonin grubunda 287,25 g'dan 259,12 g'a, kontrol grubunda ise 311,88 g'dan 280,75 g'a düştüğü saptandı. Diabette hücrelere glukoz girişi olmadığından hücreler enerji üretimi için ihtiyaç duydukları glukozu protein ve yağları yıkarak elde etmektedir. Dolayısıyla hücrelerde alternatif enerji yolları olan lipolizis ve glukoneogenez devreye girmektedir. Bu da vücut ağırlığında azalmaya neden olmaktadır. Bu nedenle kilo kaybı diabette en sık rastlanan bulgulardandır (41,48,75,81). Literatürde birçok deneysel diabet çalışmasında sıçanlarda kilo kaybının ortaya çıktığı bildirilmiştir. Stevens ve arkadaşlarının deneysel diabetik periferik nöropati oluşturdukları çalışmada sıçanlarda belirgin kilo kaybının özellikle diabet oluşturduktan altı hafta sonra ortaya çıktığı (44), Skalska ve arkadaşlarının deneysel diabet oluşturdukları çalışmada ise diabet geliştikten on hafta sonra sıçanlarda kilo kaybının olduğu gösterilmiştir (48). Bizim çalışmamızda da bu çalışmalarda olduğu gibi DM sonrası kilo kaybının olduğu gözlenmiştir. Fakat tedavi sonrası sıçanlarda vücut ağırlığı ölçülmediğinden ALA ve melatoninin diabetin neden olduğu kilo kaybına etkisi değerlendirilememiştir.

Alfa lipoik asit, melatonin ve kontrol grubunun grup içi ortalama amplitüd değerlerindeki değişime bakıldığında her üç grupta da DM sonrası amplitüd değerlerinde düşme vardı. Amplitüd değerlerindeki azalma aksonal hasar, kilo kaybı nedeniyle kas kitlesinin azalmasına bağlı kayıtlanan değerlerin azalması ya da hiperglisemiye bağlı metabolik olaylar ve vasküler yetmezlik sonucu aksonal

transportun engellenmesine bağlı gelişebilir. Aksonal transport için mikrotübüllerin tübülünleri gerekmektedir (24). Hiperglisemiye ikincil oluşan metabolik yollardaki bozukluklar aksonal transport için gerekli olan tübülünlerin glikasyonuna neden olarak aksonal transportu yavaşlatıp, amplitüd düşüklüğüne yol açmış olabilir.

Yapılan birçok morfolojik çalışmada deneysel diabet sürecinde sinir liflerinin sayıca azaldığı, deneysel diabet oluşturduktan bir ay sonra yavaş ilerleyen aksonal atrofi ve vasküler dejeneratif değişiklikler olduğu gösterilmiştir (82). Aksonal atrofi için zaman gerektiğinden çalışmamızda DM oluşturduktan bir ay sonra bakılan amplitüd değerlerindeki düşmeden aksonal hasarın sorumlu olmadığı söylenebilir.

Çalışmamızda ALA grubunda tedavi sonrası ortalama amplitüd değerlerinde artış gözlemlendi. Diabet patogenezinde rolü olan metabolik ve vasküler anormallikler aksonal transportun yavaşlamasına, yavaş ilerleyen aksonal hasara ve sonrasında sinir lifi kaybına yol açmaktadır. Alfa lipoik asit de, güçlü bir antioksidan olup yapılan çeşitli deneysel çalışmalarla diabetik nöropati tedavisinde etkili olduğu ortaya konulmuştur (61). Vasküler anormallikler sinir iskemisini ve hipoksisini içermekte olup Stevens ve arkadaşları ile Nagamatsu ve arkadaşları ALA'nın oksidatif stresi azalttığını ve sinir kan akımını arttırdığını saptamışlardır (44,83). Diabetik nöropati patogenezinin tetikleyicisi hiperglisemidir. Alfa lipoik asit aynı zamanda plazma membranında bulunan glukoz transport 4 aracılığıyla hücrelere glukoz alımını artırarak kan şekeri regülasyonunda görev almaktadır. Dolayısıyla diabetik nöropatinin esas patogenezinde rol oynayan hipergliseminin düzelmesine de katkıda bulunmaktadır (83,84). Bizim çalışmamızda ALA grubunda tedavi sonrası ortalama amplitüd değerlerinde artış ALA'nın hem hiperglisemiye düzeltici etkisi hem de nöropatinin patogenetik süreçlerine olan etkisi ile ortaya çıkmış olabilir. Ancak bu çalışmada sıçanların tedavi sonrası glukoz değerlerine bakılmadığı için asıl mekanizmayı ortaya koymak mümkün değildir.

Diabet oluştuktan bir ay sonra paranodal aksoglyal bileşkedeki ve Ranvier düğümündeki iyon kanallarındaki değişiklikler ile sinir lifinde yavaş ilerleyen aksonal atrofi gibi geri dönüşümlü değişiklikler meydana geldiği gösterilmiştir. Çalışmamızda da ALA tedavisi diabetik nöropati geliştikten bir ay sonra

verildiğinden, sinir lifindeki bahsi geçen geri dönüşümlü hasar mekanizmaları üzerinde de etkili olmuş olabilir. Çalışmamızda ALA tedavisi diabetik nöropati geliştikten hemen sonra verilip, geç dönemdeki etkisine bakılmadığından nöropatinin geç dönemlerine olan etkisiyle ilgili yorum yapılamamakla beraber ALA tedavisinin diabetik nöropati tanısı konulduktan hemen sonra başlandığında nöropatiyi yavaşlatabileceği söylenebilir. Çalışmamızın sonuçlarına benzer şekilde alfa lipoik asit ve esansiyel yağ asiti olan gamma linolenik asitin kombine tedavisinin diabetik sıçanlarda periferik ve santral sinir sistemi üzerine olan etkisine bakılan bir çalışmada kombine tedavinin diabetik nöropatinin yaptığı patolojik değişiklikleri ilk altı haftada en belirgin şekilde etkilediği bildirilmiştir. Diabet oluştuktan 16 hafta sonra ise sinir lifinde ve kapillerlerde geri dönüşümsüz değişiklikler meydana geldiğinden bu tedavilerin geç dönemlerde etkisiz olduğu gösterilmiştir (82).

Tüm bu etki mekanizmalarına bakarak çalışmamızda ALA grubunda tedavi sonrası anlamlı amplitüd artışının ALA'nın kan glukoz düzeyini etkilemesi, sinir kan akımını arttırması, oksidatif hasar ve hipoksiyi önleyip diabetik nöropati patogenezindeki anormal metabolik yolakların oluşmasını engelleyerek aksonal transportdaki artışı sağlamasına bağlı olduğu söylenebilir. Amplitüd azalmasının diğer bir nedeni olan aksonal hasarın diabetik nöropati geliştikten bir ay sonra yavaş geliştiği ve sinir yenilenme sürecinin ortalama 1mm/gün olduğu düşünüldüğünde hem akson hasarının gelişmesi için sürenin kısa olması hem de iki haftalık tedavi sürecinde akson rejenerasyonunu güç olması nedeniyle aksonal patolojinin bu süreçteki olası rolünü oldukça azaltmaktadır.

Çalışmamızda melatonin grubunda da tedavi sonrası ortalama amplitüd değerlerinde artış gözlemlendi. Melatonin, ALA gibi güçlü bir antioksidandır. Fakat sinir fonksiyonundaki ve antioksidan mekanizmasındaki etkisi diabetik sıçanlarda henüz netlik kazanmamıştır (15).

Deneysel diabetik nöropatide sinir kan akımının azaldığı, bunun hem endotel hasarına bağlı hem de damarda vazodilatasyonun bozulmasına bağlı olduğu gösterilmiştir (10). Sinir kan akımında azalma ATP duyarlı iyon pompalarındaki

yetmezliğe ve membran istirahat potansiyelinde bozulmaya neden olarak sinir iletiminde defekte yol açmaktadır. Negi ve arkadaşları melatonin ile PARP inhibitörü olan nikotinamik asitin diabetik sıçanlarda periferik sinir sistemi üzerindeki etkisini değerlendirdikleri çalışmada melatoninin sinir kan akımını arttırdığını saptamışlardır. Böylece sinir kan akımının artmasıyla ATP'ye duyarlı iyon pompasının tekrar fonksiyon kazanarak aksonal transportun arttırabileceğini belirtmişlerdir. (15).

Hiperglisemi sonrası oksidatif stresin indüklenmesi aldoz redüktaz, protein kinaz c ve heksominaz aktivitesinde artışa yol açıp, paranodal aksogial bileşkedeki ve Ranvier düğümündeki iyon kanallarındaki değişiklikler, sinir lifinde aksonal hasar gibi erken değişiklikler meydana getirmektedir. Melatonin de antioksidan etkisiyle metabolik yollardaki bu anormallikleri önleyip aksonal transporttaki blokajı ortadan kaldırarak amplitüd değerlerindeki düzelmeyi sağlamış olabilir. ALA grubunda olduğu gibi melatonin tedavisi alan grupta amplitüd değerlerindeki artışın aksonal rejenerasyondan çok, vasküler ve metabolik yollardaki anormallikleri düzeltmesine bağlı olduğu düşünülmüştür. Literatürde melatoninin sinir ileti çalışmalarında amplitüd değerleri üzerine etkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamış olup bizim çalışmamız bu konudaki ilk çalışmadır.

Çalışmamızda kontrol grubunda sıçanlara iki hafta boyunca günde bir kez SF verilmişti. Tedavi sonrası amplitüd değerlerine baktığımızda ortalama amplitüd değerlerinde düşmenin olduğu gözlemlendi. Bu durum diabetik nöropati sürecinin devam etmesi nedeniyle ön planda aksonal transporttaki yavaşlamayı ve az da olsa süre gelen progresif aksonal hasarı gösteren ve kontrol grubu için beklediğimiz bir sonuç olmuştur.

Alfa lipoik asit, melatonin ve kontrol grubunun grup içi ortalama hız değerlerindeki değişime bakıldığında DM sonrası her üç grubun da ortalama hız değerlerinde düşme saptandı. Deneysel periferik diabetik nöropatide sinir iletim hızında bozukluğunun, sinir kan akımında azalma, hipergliseminin neden olduğu oksidatif stres ve anormal yağ asidi metabolizması gibi çoklu metabolik bozukluklara

bağlı olarak ortaya çıkabildiği birçok çalışmada gösterilmiştir. Literatürde diabetik nöropatide hızda gözlenen düşüş sık tartışılmıştır. Distal simetrik sensorimotor polinöropatideki görüş, hızdaki düşüşün myelinli liflerdeki aksonal kayıba bağlı olduğu yönünde olmasına rağmen bizim çalışmamızda olduğu gibi yapılan birçok çalışmada hızdaki düşüş çok belirgin olup bu durum tek başına aksonal hasar ile açıklanamamaktadır. Dolayısıyla aksonal dejenerasyon ile birlikte segmental demyelizasyonun da birlikte olduğu düşünülebilir. Nitekim yapılan son çalışmalarda DSPN’de hızdaki düşüşün hem aksonal dejenerasyon, hem segmental demyelizasyon hem de iyon kanallarındaki hasara (Na-K ATPaz aktivitesinde azalma) bağlı geliştiği görüşü ön planda olmuştur. Çalışmamızda DM sonrası amplitüd ve hızdaki düşüş oranlarına bakıldığında hızdaki düşüşün daha belirgin olduğu görülmektedir. Diabetik nöropatinin erken evrelerinde paranodal demyelizasyon, myelinli liflerin kaybı ve yavaş ilerleyen aksonal dejenerasyon olduğundan (74,85), DM sonrası hızdaki düşüşten ön planda paranodal demyelizasyon ve myelin kaybı sorumlu olabilir görüşündeyiz.

Alfa lipoik asit grubunda tedavi sonrası ortalama hız değerlerinde belirgin artış gözlemlendi. Diabetik nöropati patogenezinde en önemli hipotezlerden biri vasküler teoridir. Yapılan çalışmalarda, diabetik nöropatide kapiller endotel hücrelerinde şişme, damar duvarının kalınlaşması ve kapiller lümenin fibrin veya agregasyona uğramış plateletlerle oklüzyonu gösterilmiştir. Ayrıca NO yapımında azalma, eikozanoid yapımında anormallikler ve oksidatif yolunda artış, endonöral mikrovaskülarizasyonda vazokonstriksiyona ve sinir hipoksisine neden olmaktadır. Vasküler hipotezdeki tüm bu basamaklar nöron fonksiyonunda bozulmaya yol açarak sadece amplitüd değerlerinde düşmeye değil aynı zamanda sinir ileti hızlarında da azalmaya yol açıyor gibi gözükmektedir.

Deneysel çalışmalarda ALA’nın antioksidan özelliğiyle sinir hücrelerini oksidatif hasara karşı koruduğu, NO yapımındaki azalmayı engelleyerek vazokonstriksiyonu önlediği ve dolayısıyla sinir kan akımını arttırdığı gösterilmiştir (10,20,74). Literatürde ALA’nın deneysel diabetik nöropati üzerine olan etkisini inceleyen birçok çalışma bulunmaktadır. Çalışmamızın sonuçlarına benzer şekilde

Biessels ve arkadaşlarının ALA ve gamma linoleik asitin kombine tedavisinin periferik diabetik nöropati üzerine olan etkilerini değerlendirdiği bir çalışma sonucunda 16 haftalık tedavi boyunca ilk sekiz hafta tibial motor sinir ileti hızı düzelme eğilimindeyken 16 haftanın sonunda bu düzelmenin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur (82). Cameron ve arkadaşları da sıçanlarda deneysel diabet oluşturduktan altı hafta sonra iki hafta boyunca ALA tedavisi vermiş ve tibial motor sinir ileti hızında düzelme saptamışlardır. Yine aynı çalışmada ALA tedavisi sonrası sinir kan akımında da artış olduğu tespit edilmiştir (9). Literatürde bizim çalışmaması desteklemeyen çalışma da mevcuttur. Nagamatsu ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ALA'nın distal digital duysal sinirlerdeki ileti defisitini düzeltmesine rağmen tibial motor sinir ileti hızını düzetmediğini saptamışlardır. Nagamatsu ve ark. sinir kan akımında artışa rağmen tibial motor sinir ileti hızlarında düzelme olmamasını sadece tibial motor liflere özgü olan kalıcı bir iskemi sonucu olabileceği şeklinde açıklamışlardır (83). Bizim çalışmamızda ise geç dönem elektrofizyolojik çalışmalar yapılmamıştır ancak erken dönem etkileri ALA'nın kan akımını arttırıcı etkisi ve Na-K ATPaz kanalları üzerine olan düzeltici etkisi ile ortaya çıkmış olabilir.

Çalışmamızda melatonin grubunda tedavi sonrası ortalama hız değerlerinde artış saptandı. Melatoninin nöroprotektif etki mekanizması henüz netliğe kavuşmasa da çok iyi bir antioksidan olduğu, peroksinitrit seviyelerinde azalmaya yol açtığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (15). Diabetik nöropatide hızdaki azalmanın nedenlerinden biri sinir kan akımının bozulması ve sinir membranındaki pompaların çalışmaması ve dolayısıyla iletimin azalmasıdır. Bizim çalışmamızda da melatonin grubunda ortalama motor sinir ileti hızlarındaki artış, melatoninin NO ile süperoksidin reaksiyon ürünü olan ve oksidatif doku hasarına neden olarak NO yararlanımını azaltan peroksinitrit seviyesini azaltması, NO miktarını arttırarak ortaya çıkardığı vazodilatasyon etkisinin artması ve indirek olarak sinir membranında hipoksiyi önlemesi ile açıklanabilir (15). Literatürde deneysel diabetik nöropati üzerine melatonin yapmış olduğu biyokimyasal değişiklikler sıkça araştırılmasına rağmen elektrofizyolojik etkisine bakılan sadece iki çalışma bulundu. Bu iki çalışma da Nagi ve arkadaşları tarafından yapılmış olup her ikisinde de deneysel diabet

oluşturduktan altı hafta sonra 3 ve 10 mg/ kg dozunda iki hafta süreyle melatonin verilmiştir. Çalışma sonucunda doza bağlı olarak tibial motor sinir ileti hızının arttığı saptanmıştır. Aynı çalışmada bakılan biyokimyasal belirteçlerden peroksinitritin de tedavi sonrası azaldığı gösterilmiştir (15,51). Her iki çalışmada da elektrofizyolojik incelemelerde sadece sinir ileti hızları dikkate alınmış, amplitüd değişiklikleri ile ilişkili bir yorum yapılmamıştır. Dolayısıyla melatoninin diabetik nöropati üzerindeki etkilerinin kesin mekanizmaları ortaya koymak için farklı elektrofizyolojik verilerle birlikte farklı kimyasal maddelerin konsantrasyonlarının karşılaştırılması çok daha faydalı olabilir.

Çalışmamızda kontrol grubunda SF sonrası diabetik nöropati süreci devam ettiği için ortalama hız değerlerindeki düşüşün devam ettiği görüldü. Tedavisiz bir diabetik nöropati sürecinde myelin yıkımı ve sinir iskemisi süregeldiği için bu sıçanlarda ortalama hız değerlerindeki düşüşün devam etmesi beklediğimiz bir sonuçtur.

Alfa lipoik asit, melatonin ve kontrol grubunun her üçünde de DM sonrası ortalama distal latans değerlerinde uzama olmasına rağmen sadece kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlıydı. Melatonin grubunda ise istatistiksel olarak anlamlılık değerine yakın bulundu. Diabetes mellitusda distal latanslarda uzama segmental demiyelizasyona bağlı olarak iletim süresinin uzaması sonucu ortaya çıkabilir. Çalışmamızda bazı ortalama değerler arasında diğer elektrofizyolojik verilerle uyumlu olabilecek anlamlı farkların ortaya çıkmaması sıçanların anatomik yapıları nedeniyle mesafenin çok kısa olması ve farklılığı ortaya koyabilecek kadar büyük örneklem grubumuzun olmaması ile açıklanabilir. Örneğin alfa lipoik asit grubunda tedavi sonrası ortalama distal latans değerlerinde düşme olmasına rağmen istatistiksel olarak anlam kazanmamıştır. Aslında başlangıçta tutarsızmış gibi görünen bu bulgu, sinir lifinde miyelin kaybının olduğu bu süreçte uyarı daha kısa bir mesafeyi katettiği için uzama distal latans değerlerine yansımayıp, istatistiksel anlam kazanmamış olabilir.

Alfa lipoik asit, melatonin ve kontrol grubunun DM sonrası ortalama proksimal latans değerlerinde belirgin uzama saptandı. Bilindiği gibi miyelin iletinin hızlı olmasını sağlamaktadır. Dolayısıyla miyelin kaybının olması uyarı verildikten sonra yanıtın ortaya çıkması için geçen süreyi uzatmaktadır.

Alfa lipoik asit ve melatonin grubunda tedavi sonrası ortalama proksimal latans değerlerinin tedaviyle kısalmadığı, latans değerlerinde uzamanın devam ettiği görüldü. Literatüre bakıldığında ALA ile yapılan deneysel çalışmalarda hız ve amplitüd değerleri bakılmasına rağmen proksimal ve distal latans değerleriyle ilgili bulguya rastlanmadı. Hem proksimal hem de distal latans için bakılan mesafe çok kısa olduğundan tedavinin etkisi proksimal ve distal latans değerlerine yansımamış olabilir görüşündeyiz.

Alfa lipoik asit, melatonin ve kontrol grubu arasında DM öncesi elektrofizyolojik değerlerinde gruplar randomize seçilmesine rağmen ALA grubunun DM öncesi ortalama distal latans değerinin melatonin ve kontrol grubundan daha uzun olduğu saptandı, ortalama distal latanslar arasındaki bu fark istatistiksel olarak da anlamlıydı. Bu çalışmada olduğu gibi randomize kontrollü çalışmalarda başlangıç değer farklarının olması istatistiksel şans olarak tanımlanmakta ve farkın saptandığı değişken bir hastalığın seyrini etkileyen değişkenler olmadığı müddetçe istatistiksel analizlerin devamının yapılabileceği bildirilmektedir (86). Randomize edilmiş gruplar arasında başlangıç verilerinin farklı saptanmasının bir diğer nedeni randomizasyonun küçük örneklem grubuna sahip çalışmalarda daha az etkili olmasıdır (87). Ancak bizim çalışmamız bir hayvan deneyi çalışması olduğundan ve etik nedenlerle bu çalışmalarda kullanılan deney hayvanlarının mümkün olan en düşük sayıda tutulması önerildiğinden örneklem büyüklüğünün arttırılmasının da uygun olmadığı görüşündeyiz.

Çalışmamızda ALA, melatonin ve kontrol grubunun tedavi sonrası gruplar arası ortalama elektrofizyolojik değerlerinden amplitüd ve hız değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı.

Ortalama hız değerleri ALA ve melatonin grubunda artarken, kontrol grubunda beklenildiği üzere düşmenin devam ettiği görüldü. Alfa lipoik asit ile melatonin arasında hız değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Alfa lipoik asit ve melatonin her ikisi de güçlü birer antioksidandır. ALA'nın diabetik nöropatideki etki mekanizmaları hipergliseminin indüklediği oksidatif stresi azaltmak, hücrelere glukoz alımını artırarak aerobik glikolizi indüklemek, dolayısıyla da anormal metabolik yolların oluşumunu önlemek (sorbitol yolu gibi), NO miktarını artırarak sinir kan akımını artırmak ve NGF'yi uyurarak sinir lifi rejenerasyonunu sağlamaktır. Melatoninin ise sinir fonksiyonundaki etkisi henüz tam netlik kazanmasa da yapılan deneysel çalışmalarda ALA gibi hipergliseminin indüklediği oksidatif stresi azalttığı, endojen antioksidanlardan glutasyon ve süperoksit dismutaz aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir. Ayrıca NO düzeyini artırarak sinir kan akımını arttırdığı da gösterilmiştir. Görüldüğü gibi iki ajanın diabetik nöropati patogenezindeki etkiledikleri basamaklar çok benzerdir. Bizim çalışmamızda insanlarda diabetik nöropatide kullanımı kanıtlanmış ve onay almış olan ALA ile melatoninin deneysel diabet modelinde benzer etkiler gösterdiği ortaya koyulmuştur. Ayrıca deneysel diabet modelinde, diabetik nöropatinin elektrofizyolojik değişkenleri irdelendiğinde, melatoninin sıçanlarda tibial motor sinir amplitüdlerinde anlamlı artışa yol açtığını ortaya koyan ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır.

Alfa lipoik asit, melatonin ve kontrol grubunun grup içi ortalama P1 ve N1 latans değerlerine bakıldığında her üçünde de DM sonrası ortalama P1 ve N1 latans değerlerinde belirgin uzama saptandı. Literatürde diabetik nöropatinin periferik sinir sistemine olan etkisini araştırmak amacıyla sinir ileti çalışmalarının oldukça sık kullanıldığı ancak özellikle santral sinir sistemine olan etkisini araştıran kortikal SEP çalışmalarına sık rastlanmadığı görülmektedir. Diabetik nöropatide kortikal seviyelere ulaşan bir retrograt hasar tanımlanmamakla birlikte patoloji preparatlarında periferik sinirlerdeki myelinli lif kaybı, sinir lif sayısında azalma, kalan aksonlarda segmental demyelizasyon ve remyelizasyon bulguları gibi benzer lezyonlar posterior köklerde ve spinal kordun posterior kolumnlarında da

gösterildiğinden bu bulgular diabetik nöropatinin proksimali de etkilediğinin bir göstergesi olabilir.

Diabet seyri boyunca merkezi sinir sistemindeki (MSS) değişiklikler ayrıntılı araştırılmamakla birlikte son zamanlarda artan deliller diabetin MSS'yi etkilediği ve MSS'deki diabete bağlı değişikliklerin de duysal algı değişikliklerine katkıda bulunabileceği yönündedir.

DeneySEL DN'de SEP bulguları çok az bilinmekle beraber mevcut sonuçlar diabetin erken döneminde periferik sinir sistemiyle birlikte santral somatosensorial sistemde de değişikliklerin olduğunu göstermektedir.

Senoz ve arkadaşları STZ ile diabetik hale getirilmiş sıçanlarda asetilsalisilik asit (ASA) tedavisi ile SEP'de N1 (somatosensorial korteks) latansındaki değişimi inceledikleri çalışmada diabet oluşturulan grupta N1 latansının uzadığını saptamışlardır. Çalışmada diabet oluşturulduktan sonra 16 hafta boyunca 100 mg/kg ASA verilen grupta dördüncü haftadan itibaren SEP değerlerinde düzelmeye olduğu, sekizinci haftadan itibaren düzelmeye daha belirgin olduğunu göstermişlerdir. Beraberinde lipid peroksidasyon ürünü olan thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) düzeyine bakılan çalışmada TBARS seviyelerinin de ASA ile azaldığı tespit edilmiştir. Böylece çalışmada ASA'nın lipid peroksidasyonunu azaltarak diabetik nöropatide etkili olduğu ve N1 latansında düzelmeye saptandığı sonucuna varılmıştır (88).

Pırız ve arkadaşlarının DN oluşturulan sıçanlarda periferik sistem ve merkezi somatosensorial sistemdeki değişiklikleri araştırdıkları bir çalışmada diabet oluşturduktan sonra dördüncü haftada tibial sinir ileti hızının yavaşlamaya başladığını, somatosensorial korteksdeki uyarılmış potansiyel amplitüdünün ise sekizinci haftada azaldığını göstermişlerdir. Amplitüddeki azalmanın somatosensorial sinaptik geçişteki değişikliğe bağlı olabileceği fakat bakılan biyokimyasal belirteçlerle bunun presinaptik değil de postsinaptik geçişteki anormallığe bağlı olabileceğini düşünmüşlerdir. Nitekim postsinaptik bölgede bulunan GluR2/3AMPA subünitesinde azalma tespit edilerek amplitüddeki

azalmanın postsinaptik olduğuna dikkat çekmişlerdir. Amplitüd değerlerindeki azalmanın postsinaptik olduğunu gösteren diğer bir bulgu, diabetin dördüncü haftasında hem GluR2/3 seviyeleri hem de amplitüdü normal saptanırken sekizinci haftada her ikisinde de azalma tespit edilmiş olmasıdır. Aynı çalışmada uyarılmış potansiyel amplitüdü nukleus gracilis ve hipokampusden kayıtlamada normal saptanırken, somatosensorial korteksden kayıtlamada düşük saptanmıştır. Dolayısıyla bu çalışmada santral sinir sistemindeki değişikliklerin periferik sinir sisteminde sonra meydana geldiği ve değişikliklerin MSS'de tüm somatosensorial bölgeleri değil bazı spesifik bölgeleri etkilediği sonucuna varılmıştır (89).

Bizim çalışmamızda tüm tedavi grubunda diabet oluşturulduktan dört hafta sonra diabetik nöropatinin periferik sinir sistemi bulgularıyla eş zamanlı olarak P1 ve N1 ortalama latans değerlerinde uzama saptandı. Diabetes mellitus sonrası P1 ve N1'deki ortalama latans değerlerindeki uzamanın periferik sinirlerde olduğu gibi dorsal arka kök ya da spinal kordun posterior kolumnlarının myelin kaybına bağlı olabileceği ya da periferik iletinin uzamasına bağlı olarak santral iletimin de gecikebileceği görüşündeyiz. Bunun yanı sıra DM, MSS'de presinaptik ve postsinaptik iletimdeki nörotransmitter düzeyinde ya da reseptör sayısında ve yapısında değişikliğe neden olarak da iletimi geciktirmiş olabilir.

Deneysel diabet çalışmalarında DN'nin periferik sinir sisteminin MSS'den daha önce etkilediği gösterilmesine rağmen insan çalışmalarında ise SEP anormalliklerinin MSS'yi asemptomatik dönemde ve periferik sinir sistemi tutulumundan önce etkilediği gösterilmiştir.

Uzun ve arkadaşları semptomu ve periferik sinir sistemi tutulum bulguları olmayan tip 1 DM'li hastalarda santral nöropatiyi araştırdıkları bir SEP çalışmasında hastaların %36,1'inde SEP anormallikleri saptamışlardır (90). Yine Das ve arkadaşlarının yapıldığı çalışmada nörolojik muayenesi ve beyin görüntülemesi normal olan tip 2 DM hastalarda SEP latansları uzun saptanmıştır (91). Görüldüğü gibi DN'de santral sistemin hangi basamaklarda ve nasıl etkilendiğini gösterebilmek için sadece SEP latanslarının bakılması yeterli olmamaktadır. Beraberinde bazı biyokimyasal belirteçler ve patolojik incelemeler yapılabilirse santral sinir sisteminin

diabetik nöropatide etkilenme mekanizmalarını ortaya koyabilmenin daha kolay olabileceği görüşündeyiz.

Çalışmamızda ALA grubunda tedavi sonrası ortalama P1 ve N1 latans değerlerinde kısalma olmayıp uzamanın devam ettiği görüldü. ALA tedaviyle DN gelişmiş sıçanlarda amplitüd ve hız değerleri düzelmesine rağmen P1 ve N1 latanslarında düzelleme gözlenmemesi proksimalde yani santral sinir sisteminde gelişen olayların patofizyolojisinde ALA'nın etki etmediği farklı basamakların olabileceği ihtimalini de doğurmaktadır. Senoz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ASA'nın lipit peroksidasyonunu azaltarak N1 latanslarında düzelmeye olduğu sonucu çıkarılmışsa da çalışmamızda ALA da lipit peroksidasyonunu azaltmasına rağmen latans değerlerine anlamlı bir etkisi saptanmamıştır. Senoz ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ASA tedavisi 16 hafta boyunca verilmişken bizim çalışmamızda ALA tedavisi iki hafta verilmişti. Bu nedenle ALA ile tedavi süresini uzatarak SEP'deki değişim tekrar incelenmiş olsaydı daha kesin sonuçlar elde edilebilirdi.

Biz SEP çalışmalarında ortalama latans değerlerinin DM sonrası uzadığını saptadık. Bu durum DM'nin periferik sinir sistemini etkilediği gibi santral sinir sistemini de etkileyebileceğini düşündürdü. Birlikte kortikal kayıtlama ile elde edilen SEP latanslarındaki uzamanın periferik iletideki uzamanın bir yansıması mı yoksa medulla spinalis yada serebrumda DM'nin etkilediği farklı yollardaki patolojiyi mi yansıttığı ayırt edilememiştir. ALA ve melatonin tedavisi ile latans değerlerinde değişiklik olmayıp, bu durum MSS'de gelişen olayların patofizyolojisinde ALA ve melatoninin etki etmediği farklı basamakların olabileceği ihtimalini de doğurmaktadır. Bunun yanında tedavi süresi daha uzun tutularak da SEP'deki değişim tekrar incelenmiş olsaydı, farklı sonuçların elde edilebileceği görüşündeyiz.

Kontrol grubunda tedavi sonrası ortalama P1 ve N1 latanslarında uzamanın arttığı görüldü. Diabetes mellitusun MSS'yi etkilediği düşünülürse nöropati patogenezindeki süreçler devam ettiği için bu durum kontrol grubunda beklediğimiz bir sonuç olmuştur.

SONUÇ

Nöropati, DM'nin sık görülen ve yaşam kalitesini oldukça yakından ilgilendiren bir komplikasyonudur. Diabetik nöropati patogeneğinde hiperglisemiyle indüklenen oksidatif stres sonucu poliöl yolunda artış, PARP aktivasyonu, sinir büyüme faktörlerinde azalma, metabolik ara ürünlerin oluşumu, lipit peroksidasyonu, proteinlerin glikolizasyonu gibi metabolik anormalliklerle birlikte sinir kan akımında azalma ve periferik sinir sisteminde mikro iskemilerin oluşması rol oynamaktadır.

Alfa lipoik asit; hayvan ve insan çalışmaları sonucunda diabetik nöropati tedavisinde kullanılmaktadır. Melatoninin ise deneysel diabetik nöropatide sinir ileti hızını arttırdığı gösterilmekle birlikte diabetik nöropatide kullanımı ile ilişkili oldukça az sayıda çalışma vardır. Bu nedenle, çalışmamızda melatoninin nöropati üzerine olan etkisinin deneysel diabet oluşturulan sıçanlarda hem kontrol grubu hem de diabetik nöropatide kullanımı kanıtlanmış olan ALA grubu ile karşılaştırarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda ALA'nın diabetik nöropati geliştirilmiş sıçanlarda sinir ileti hızını ve amplitüd değerlerini arttırdığı saptanmış olup bu bulgular ALA'nın antioksidan etkisi sonucu diabetik nöropati patogeneğinde rol oynayan anormal metabolik yolları engellemesi, sinir kan akımını arttırması, Na-K ATPaz pompasını aktifleştirmesiye ilişkilendirilmiştir. Çalışmamızda kullanılan diğer kimyasal ajan melatoninin de ALA gibi diabetik nöropati geliştirilmiş sıçanlarda hem ileti hızını hem de amplitüd değerlerini arttırdığı saptanmıştır. Melatoninin bu etkisi antioksidan etkisi özelliği ile oksidatif hasarı önleyerek anormal metabolik yolları engelleyici ve sinir kan akımını arttırıcı yönüne bağlanmıştır.

ALA ve melatonin arasında elektrofizyolojik etki olarak istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. Bu çalışmanın sonuçları melatoninin de daha ileri klinik çalışmalar da benzer sonuçları ortaya koyarsa diabetik nöropatide kullanılabilmesi için yol gösterici olabilir.

Çalışmamızda ALA ve melatoninin kortikal tibial SEP çalışmalarında P1 ve N1 latans değerleri üzerinde anlamlı bir değişikliğe yol açmadığı saptandı. DM

sonrası SEP latans değerlerinin uzaması diabetin periferik sinir sistemi gibi MSS'yi de etkileyebileceğini dūşündürmüştür. Çalışmamızda kullanılan ajanlarla P1 ve N1 latans değerlerinde düzelme saptanmayıp, du durum diabetin MSS'de neden olduğu olayların patofizyolojisinde ALA ve melatoninin etki etmediği farklı basamakların olabileceği ile ilişkilendirilmiştir. Tedavi sonrası SEP latans değerlerinde değişiklik olmaması tedavinin süresi ile de ilişkili olabileceği düşünölmüştür.

Çalışmamız, deneysel diabetik nöropatide ALA ve melatoninin karşılaştırıldığı ve tibial SEP üzerine olan etkilerinin incelendiği ilk çalışma olup hem melatonin hem de ALA tedavisinin motor sinir ileti çalışmasında sinir iletimini anlamlı derecede hızlandırdığı ve amplitüd değerlerini anlamlı derecede yükselttiği gösterilmiştir. Böylece melatonin açısından diabetik nöropati tedavisine yeni bir ajanın eklenmesi konusunda bir adım atılmıştır.

KAYNAKLAR

- 1- American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 2011;34:62-9.
- 2- Diabetes Mellitus Çalışma ve Eğitim Grubu. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, Diabetes mellitus ve komplikasyonlarının tanı,tedavi ve izleme kılavuzu. Ankara: Miki Matbacılık;2011. Rapor No: ISBN: 978-605-4011-10-0
- 3- Brooks-Worrell B, Palmer JP. Is Diabetes mellitus a continuous spectrum? Clin Chem. 2011;57(2):158-61.
- 4- Picon AP, Ortega NR, Watari R, Sartor C, Sacco IC. Classification of the severity of diabetic neuropathy: a new approach taking uncertainties into account using fuzzy logic. Clinics 2012;67(2):151-6.
- 5- Tan E. Nöropatik ağrı, Siva ZO. Diyabetik nöropati ve ağrı. Ankara: Nobel Matbaası 2009:119-139.
- 6- Ertekin C. Diyabetik Nöropatiler. Santral ve Periferik EMG Anatomi-Fizyoloji-Klinik. İzmir: Meta matbaası 2006:211-28.
- 7- Brownlee M, Cerami A, Vlassara H. Advanced glycosylation end products in tissue and the biochemical basis of diabetic complications. N Engl J Med 1998;318:1315-21.
- 8- Jacob S, Henriksen EJ, Schiemann AL, Simon I, Clancy DE, Tritschler HJ, et al. Enhancement of glucose disposal in patients with type 2 diabetes by alpha-lipoic acid. Arzneimittelforschung 1995;45(8):872-4.

- 9- Cameron NE, Cotter MA, Horrobin DH, Tritschler HJ. Effects of alpha-lipoic acid on neurovascular function in diabetic rats: interaction with essential fatty acids. *Diabetologia* 1998;41(4):390-9.
- 10- Vallianou N, Evangelopoulos A, Koutalas P. Alpha-lipoic Acid and diabetic neuropathy. *Rev Diabet Stud.*2009;6(4):230-6.
- 11- Ford I, Cotter MA, Cameron NE, Greaves M. The effects of treatment with alpha-lipoic acid or evening primrose oil on vascular hemostatic and lipid risk factors, blood flow, and peripheral nerve conduction in the streptozotocin-diabetic rat. *Metabolism* 2001;50(8):868-75.
- 12- Zencirci SG, Bilgin MD, Yaraneri H. Electrophysiological and theoretical analysis of melatonin in peripheral nerve crush injury. *J Neurosci Methods* 2010;191:277-282.
- 13- Shokouhi G, Tubbs RS, Shoja MM, Hadidchi S, Ghorbanhaghjo A, Roshangar L, et al. Neuroprotective effects of high dose vs low dose melatonin after blunt sciatic nerve injury. *Childs Nerv Syst* 2008;24(1):111-7.
- 14- Negi G, Kumar A, Sharma S. Melatonin modulates neuroinflammation and oxidative stress in experimental diabetic neuropathy: effects on NF- κ B and Nrf2 cascades. *J Pineal Res.* 2011;50:124-131.
- 15- Negi G, Kumar A, Kaundal RK, Gulati A, Sharma S. Functional and biochemical evidence indicating beneficial effect of melatonin and

nicotinamide alone and in combination in experimental diabetic neuropathy. *Neuropharmacology* 2010;58:585-592.

16-Jameson JL. *Harrison's endocrinology*. Dragonfly Media Group, Pennsylvania 2006:283-331.

17-Raptis AE, Markakis KP, Mazioti MC, Raptis SA, Dimitriadis GD. What the radiologist needs to know about the diabetic patient. *Insights Imaging* 2011;2: 193-203.

18-Satman İ, İmamoğlu Ş, Yılmaz C. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği Diyabetes mellitus ve komplikasyonlarının tanı, tedavi ve izlem klavuzu. Ankara: Bayt bilimsel araştırmalar basın yayın ve tanıtım Ltd.Şti. 2009:15-28.

19-American Diabetes Association. Standarts of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care* 2012;35(1):11-63.

20-McIliduff CE, Rutkove SB. Critical appraisal of the use of alpha lipoic acid (thioctic acid) in the treatment of symptomatic diabetic polyneuropathy. *Ther Clin Risk Manag* 2011;7;377-385.

21-Shakher J, Stevens M. Update on the management of diabetic polyneuropathies. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2011;4:289-305.

- 22-Thomas PK and Tomlinson DR. Diabetic and hypoglycemic neuropathy. In Dyck PJ and Thomas PK(eds): Peripheral Neuropathy.W.B. Saunders Company, Philadelphia 1993;2:1219-50.
- 23-Macleod A, Sönksen P. Diabetic neuropathy. In: Shaw KM(ed): Diabetic Complication. John Wiley and Sons Ltd. 1996;123-47.
- 24-Ropper AH, Samuels MA. Adams and Victor's Principles of Neurology. Emre M,Çev. Ed, 9.Baskı, Ankara:Güneş Tıp Kitapevleri,2011:1277-2.
- 25-Canbek ŞO. Alfa lipoik asit kullanan diyabetik nöropatili hastalarda sinir ileti çalışmalarının değerlendirilmesi (Tıpta uzmanlık tezi). Düzce: Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi;2009.
- 26-Bradley WG, Daroff RB, Fenichel GM, Jankovic J. Neurology in Clinical Practice. Tan E, Özdamar SE, Çev. Ed, 5. Baskı, Ankara: Veri Medikal Yayıncılık, 2008:2308-3.
- 27-Llewelyn JG. The Diabetic Neuropathies:Types, Diagnosis and Manegement. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2003;74(2):15-9.
- 28-Tracy JA, Dyck PJB. The Spectrum of Diabetic Neuropathies. Phys Med Rehabil Clin N Am 2008;19(1):1-26.
- 29-Mijnhout GS, Alkhalaf A, Kleefstra N, Bilo HJ. Alpha lipoic acid: a new treatment for neuropathic pain in patients with diabetes? Neth J Med 2010;68(4):158-62.

- 30-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;33:2285-93.
- 31-Gries FA, Cameron NE, Low PA, Ziegler D, Thieme Thomas PK. Classification of the diabetic neuropathies. In: Textbook of Diabetic Neuropathy, Germany 2003:170-5.
- 32-Nacar A, Ömeroğlu S.Diyabetik Nöropatide Periferik Sinir Hücre Dışı Matriks Yapısı. Düzce Tıp Fakültesi Dergisi 2004;1:42-7.
- 33-Ko SH,Cha BY. Diabetic Peripheral Neuropathy in Type 2 Diabetes Mellitus in Korea. Diabetes Metab J 2012;36:6-12.
- 34-Öge AE, Baykan B. İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri 2011.
- 35-Ziegler D,Rathmann W,Dickhaus T et al. Prevalance of polyneuropaty in pre diabetes and diabetes is associated with abdominal obesity and macroangiopatyyhy. Diabetes Care 2008;31(3):464-9.
- 36-Lin KY, Ito A, Asagami T, Tsao PS, Adimoolam S. Et al.Impaired nitric oxide synthase pathway in diabetes mellitus: Role of asymmetric dimethylarginine and dimethylarginine dimethylaminohydrolase.Circulation 2002;106:987-92.

- 37-Al-Nimer MS, Al-Ani FS, Ali FS. Role of nitrosative and oxidative stress in neuropathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Neurosci Rural Pract* 2012;3(1):41-4.
- 38-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;297(3):620-8.
- 39-Matough FA, Budin SB, Hamid ZA, Alwahabi N, Mohamed J. The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic complications. *Sultan Qaboos Univ Med J* 2012;12(1):5-18.
- 40-Winkler G, Kempler P. Pathomechanism of diabetic neuropathy: background of the pathogenesis-oriented therapy. *Orv Hetil* 2010;151(24):971-81.
- 41-Stavniichuk R, Shevalye H, Hirooka H, Nadler JL, Obrosova IG. Interplay of sorbitol pathway of glucose metabolism, 12/15-lipoxygenase, and mitogen-activated protein kinases in the pathogenesis of diabetic peripheral neuropathy. *Biochem Pharmacol* 2012;83(7):932-40.
- 42-Hounsom L, Horrobin DF, Tritschler H, Corder R, Tomlinson DR. A lipoic acid-gamma linolenic acid conjugate is effective against multiple indices of experimental diabetic neuropathy. *Diabetologia* 1998;41(7):839-43.
- 43-Liani R, Halvorsen B, Sestili S, Handberg A, Santilli F, Vazzana N, et al. Plasma levels of soluble CD36, platelet activation, inflammation, and

oxidative stress are increased in type 2 diabetic patients. *Free Radic Biol Medicine* 2012;52(8):1318-24.

44-Stevens MJ, Obrosova I, Cao X, Van Huysen C, Greene DA. Effects of DL-alpha-lipoic acid on peripheral nerve conduction, blood flow, energy metabolism, and oxidative stress in experimental diabetic neuropathy. *Diabetes* 2000;49(6):1006-15.

45-Terzi M, Cengiz N, Onar MK. Diyabetik Nöropati. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2004; 21(1):39-49.

46-Erdoğan Ç. Diyabetik sıçanlarda aynı periferik sinir içerisindeki farklı çaplardaki liflerin iletim parametrelerinin incelenmesi (Tıpta uzmanlık tezi). *Denizli: Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi*;2008.

47-Gorson KC, Ropper AH. Additional causes for distal sensory polyneuropathy in diabetic patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006;77(3):354-8.

48-Tesfaye S, Selvarajah D. Advances in the epidemiology, pathogenesis and management of diabetic peripheral neuropathy. *Diabetes Metab Res* 2012;1:8-14.

49-Cvijanovic M, Ilin M, Slankamenac P, Horvat SB, Jovin Z. The sensitivity of electromyoneurography in the diagnosis of diabetic polyneuropathy. *Med Pregl* 2011;64(1-2):11-4.

50-Santiago S, Ferrer T, Espinosa ML. Neurophysiological studies of thin myelinated (A delta) and unmyelinated (C) fibers: application to peripheral neuropathies. *Neurophysiol Clin* 2000;30(1):27-42.

- 51-Basić-Kes V, Zavoreo I, Rotim K, Bornstein N, Rundek T, Demarin V. Recommendations for diabetic polyneuropathy treatment. *Acta Clin Croat* 2011;50(2):289-302.
- 52-Jameson JL. *Harrison's endocrinology*. Dragonfly Media Group, Pennsylvania 2006:283-331.
- 53-Öktem F, Ozguner F, Yilmaz HR, Uz E, Dündar B. Melatonin reduces urinary excretion of N-acetyl –b-D glucosaminidase, albumin and renal oxidative markers in diabetic rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006;33:95-101.
- 54-Rathur HM, Boulton AJ. Recent advances in the diagnosis and management of diabetic neuropathy. *J Bone Joint Surg Br* 2005;87(12):1605-10
- 55-Ziegler D, Nowak H, Kempler P, Vargha P, Low PA. Treatment of symptomatic diabetic polyneuropathy with the antioxidant alpha lipoic acid: a meta analysis. *Diabet Med* 2004;21:114-121.
- 56-Mitsui Y, Schmelzer JD, Zollman PJ, Mitsui M, Tritschler HJ, Low PA. Alpha-lipoic acid provides neuroprotection from ischemia-reperfusion injury of peripheral nerve. *J Neurol Sci* 1999;163(1):11-6.
- 57-Buse E, Zimmer G, Schopohl B, et al. Influence of alpha lipoic acid on intracellular glutathione in vitro and in vivo. *Arzneimittelforschung* 1992;42:829-831.

- 58-Kagan V, Serbinova E, Packer L. Antioxidant effects of ubiquinones in microsomes and mitochondria are mediated by tocopherol recycling. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;169:851-7.
- 59-Jacob S, Henriksen EJ, Tritschler HJ, et al. Improvement of insulin stimulated glucosedisposal in type 2 diabetes after repeated parenteral administration of thioctic acid. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1996;104:284-288.
- 60-Nickander KK, Mcphee BR, Low PA, Tritschler H. Alpha- lipoic acid: andioxidant potency against lipit peroxidation of neural tissues in vitro and implications for diabetic neuropathy. *Free Radic Biol Med* 1996;21:631-9.
- 61-Papanas N, Maltezos E, α -Lipoic acid, diabetic neuropathy, and Nathan's prophecy. *Angiology* 2012;63(2):81-3.
- 62-Pandi-Perumal SR, Srivinasan V, Maestroni GJ, Cardinali DP, Poeggeler B, Hardeland R. Melatonin: Nature's most versatile biological signal? *FEBS J* 2006;273(13):2813-38.
- 63-Chen CQ, Fichna J, Bashashati M, Li YY, Storr M. Distribution, function and physiological role of melatonin in the lower gut. *World J Gastroenterol* 2011;17(34):3888-98.
- 64-Reiter RJ, Tan DX, Terron MP, Flores LJ, Czarnocki Z. Melatonin and its metabolites: new findings regarding their production and their radical scabenging actions. *Acta Biochim Pol* 2007;54(1):1-9.
- 65-Topal T, Öter Ş, Korkmaz A. Melatonin ve kanserle ilişkisi. *Genel Tıp Derg* 2009;19(3):137-143.

- 66-Klepac N, Rudes Z, Klepac R. Effects of melatonin on plasma oxidative stress in rats with streptozotocin induced diabetes. *Biomed Pharmacother* 2006;60(1):32-5.
- 67-Reiter RJ, Parades SD, Manchester LC, Tan DX. Reducing oxidative/nitrosative stress: a newly-discovered genre for melatonin. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2009;44(4):175-200.
- 68-Mills E, Wu P, Seely D, Guyatt G. Melatonin in the treatment of cancer: a systematic review of randomized controlled trials and meta-analysis. *J Pineal Res* 2005;39(4):360-6.
- 69-Lenzen S. The mechanism of alloxan and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 2008;51(2):216-26.
- 70-İrer SV, Alper G. Deneysel Diyabet Modelleri. *Türk Klinik Biyokimya Derg* 2004;2(3):127-136.
- 71-Kanter M, Uysal H, Karaca T, Sagmanligil HO. Depression of glucose levels and partial restoration of pancreatic beta-cell damage by melatonin in streptozotocin-induced diabetic rats. *Arch Toxicol.*2006;80(6):362-9.
- 72-Ulugöl A. Ratlarda Nöropati Modelleri. *Journal of Clinical and Analytical Medicine* 2011:1-4.

- 73-Armagan A, Uz E, Yilmaz HR, Soyupek S, Oksay T, Ozcelik N. Effects of melatonin on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rat testis. *Asian J Androl* 2006;8(5):595-600.
- 74-Zangiabadi N, Asadi-Shekaari M, Sheibani V, Jafari M, Shabani M, Asadi AR, et al. Data fruiy extract is a neuroprotective agent in diabetic peripheral neuropathy in streptozotocin-induced diabetic rats: a multimodal analysis. *Oxid Med Cell Longev*.2011.
- 75-Cam M, Yavuz O, Guven A, Ercan F, Bukan N, Ustündag N. Protective effects of chronic melatonin treatment against renal injury in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Pineal Res* 2003;35(3):212-20.
- 76-Hounsom L, Horrobin DF, Tritschler H, Corder R, Tomlinson DR. A lipoic acid-gamma linolenic acid conjugate is effective against multiple indices of experimental diabetic neuropathy. *Diabetologia* 1998;41(7):839-43.
- 77-Maraschin Jde F, Murussi N, Vanessa Witter, Silveiro SP. Diabetes mellitus classification. *Arq Bras Cardiol* 2010;95(2):40-6.
- 78-Guneli E, Tugyan K, Ozturk H, Gumustekin M, Cilaker S, Uysal N. Effect of melatonin on testicular damage in streptozotocin-induced diabetes rats. *Eur Surg Res* 2008;40(4):354-60.
- 79-Guven A, Yavuz O, Cam M, Ercan F, Bukan N, Comunoglu C, Gokce F. Effects of melatonin on streptozotocin-induced diabetic liver injury in rats. *Acta Histochem* 2006;108(2):85-93.

- 80-Sayılan G. Streptozotosin ile diyabet geliştirilmiş sıçanlarda L-karnitin protein oksidasyonu üzerine etkisi (Yüksek lisans tezi). Edirne: Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı,2008.
- 81-Vardı N, Iraz M, Öztürk F, Uçar M, Gül M, Eşrefoğlu M, Otlu A. Deneysel Diyabetin Sıçan Böbreklerinde Meydana Getirdiği Histolojik Değişiklikler Üzerine Melatoninin İyileştirici Etkileri. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2005;12(3):145-152.
- 82-Bessels GJ, Smale S, Duis SE, Kamal A, Gispen WH. The effect of gamma-linolenic acid-alpha-lipoic acid on functional deficits in the peripheral and central nervous system of streptozotocin-diabetic rats. J Neurol Sci 2001;182(2):99-106.
- 83-Nagamatsu M, Nickander KK, Schmelzer JD, Raya A, Wittrock DA, Tritschler H, Low PA. Lipoic acid improves nerve blood flow, reduces oxidative stress, and improves distal nerve conduction in experimental diabetic neuropathy. Diabetes care 1995;18(8):1160-7.
- 84-Skalska S, Kucera P, Goldenberg Z, Stefek M, Kyselova Z, Jariabka P, et al. Neuropathy in a rat model of mild diabetes induced by multiple low doses of streptozotocin: effects of the antioxidant stobadine in comparison with a high-dose alpha-lipoic acid treatment. Gen Physiol Biophys 2010;29(1):50-8.
- 85-Karabay G, Zağyapan R, Take G. Streptozotosinle Oluşturulan Diabetin Sıçan Periferik Sinirleri Üzerine Etkisinin: Elektron Mikroskopik İncelenmesi. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2006;32(3):77-81.

- 86-Roberts C, Torgerson DJ. Understanding controlled trials: baseline imbalance in randomised controlled trials. *BMJ* 1999;319(7203):185.
- 87-Villar J, Carroli G. Methodological issues of randomized controlled trials for the evaluation of reproductive health interventions. *Prev Med* 1996;25(3):365-75.
- 88-Senoz S, Kutukcu Y, Aydin A, Yildiz O. A cetyl salicylic acid improves somatosensory evoked potentials in streptozotocin-diabetic rats. *Diabetes Res Clin Pract* 1999;46(3):191-6.
- 89-Piriz J, Torres-Aleman I, Nunez A. Independent alterations in the central and peripheral somatosensory pathways in rat diabetic neuropathy. *Neuroscience* 2009;160(2):402-11.
- 90-Uzun N, Uluduz D, Mikla S, Aydın A. Evaluation of asymptomatic central neuropathy in type 1 diabetes mellitus. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 2006;46(3):131-7.
- 91-Das T, Kundu S, Mazumdar AK, Mukhopadhyay SC. Studies on central nervous system function in diabetes mellitus. *J Indian Med Assoc* 2001;99(2):84-9.