



**SAFRA KESESİ TAŞI BULUNAN DİYABETLİ HASTALARDA
OKSİDATİF STRES VE SERUM KOMPLEMAN PROTEİN DÜZEYLERİ**

Gözde ÇEBER

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ŞUBAT 2017

Gözde Çeber tarafından hazırlanan “Safra kesesi taşı bulunan diyabetli hastalarda oksidatif stres ve serum kompleman protein düzeyleri” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Gazi Üniversitesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Ayşe Başak ENGİN

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Başkan: Doç. Dr. Özlem Gülbahar

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye: Doç. Dr. Suna Sabuncuoğlu

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Tez Savunma Tarihi: 10/02/2017

Jüri üyeleri tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mustafa ASLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.



Gözde Çeber

10/02/2017

**SAFRA KESESİ TAŞI BULUNAN DİYABETLİ HASTALARDA
OKSİDATİF STRES VE SERUM KOMPLEMAN PROTEİN DÜZEYLERİ**

(Yüksek Lisans)

Gözde ÇEBER

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Şubat 2017

ÖZET

Safra kesesi taşı hastalığı riski; başta diyabet olmak üzere, kadın cinsiyeti olması ve diyet gibi çok sayıda faktöre bağlı olarak artmaktadır. Bu risk faktörleri arasında en önemli grubu diyabet ve bununla ilişkili sorunlar oluşturmaktadır. Safra kesesi taşı hastalığı olan hastalarda diyabet sıklığı, safra kesesi taşı olmayanlara nazaran 2,4 kat daha fazladır. Diyabetin safra kesesi taşı hastalığının ilerlemesi ve diyabet olmayan hastalara göre daha yüksek oranda belirti vermesi ve ameliyata gereksinim göstermesi konusu hala tartışılmaktadır. Oksidatif stres ve kronik inflamasyonun safra kesesi taşı ve diyabetin komplikasyonlarının oluşmasında önemli rolü bulunmaktadır. İnflamatuvar yanıtta kompleman sistemi ile diyabet arasında ilişki bulunduğu dair birçok bulgu vardır. Bu çalışmanın amacı, diyabet olmayan-safra kesesi taşı hastalığı olan (ND) olgularda inflamasyona bağlı oksidatif stresle, diyabetli-safra kesesi taşı hastalığı olan (D) olgulardaki protein oksidasyonu ile ortaya çıkan oksidatif stresin değerlendirilmesidir. Gazi Üniversitesi Hastanesi'ne başvuran ve çalışmaya alınma kriterlerine uygun 70 hasta randomize olarak araştırmaya dahil edildi. ND, D ve Kontrol grubunun vücut kitle indeksi hesaplandı, AST, ALT, alkalenfosfotaz, albumin, serum kreatinin, total bilirubin, kan glukoz, HbA1c, hemoglobin düzeyleri, nötrofil, monosit, lökosit ve lenfosit sayıları Gazi Üniversitesi Hastanesi Biyokimya ve Hematoloji laboratuvarlarında otomatize yöntemlerle ölçüldü. Safra kesesi taşı çapı ve safra kesesi duvar kalınlığı histopatolojik olarak Gazi Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı'nda değerlendirildi. Hastaların serumlarında 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) miktarı, kompleman bileşenleri C1q ve CD59 ELISA kiti, nitrit ve nitrat (NOx) düzeyleri ise Griess yöntemi ile ölçüldü. ND olgularda kontrollere göre NOx düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı artarken ($p<0,05$), 8-OHdG ve albümin düzeylerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmedi. Ancak, hem CD59, hem de C1q düzeylerinin oksidatif stresten etkilendiği tespit edildi. Kontrol grubuna göre D olgularda inflamasyona bağlı oksidatif streste NOx üretimindeki artış istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Ancak hiperglisemiye bağlı protein glikasyonu sonucu albümin-ilişkili antioksidan kapasitede azalma ($p<0,05$), hemoglobinde azalma ($p<0,05$), HbA1c'de artma ($p<0,05$), CD59 glikasyonu sonucu MAC oluşumunda artma ve C1q'da azalma hücre hasarında ve safra kesesi taşı hastalığının ilerlemesinde daha fazla etkilidir.

Bilim Kodu : 1021

Anahtar Kelimeler : safra kesesi taşı, diyabet, HbA1c, albümin, nitrik oksit, CD59, C1q, 8-hidroksideoksiguanozin, oksidatif stres

SayfaAdedi : 73

Danışman : Doç. Dr. Ayşe Başak ENGİN

OXIDATIVE STRESS AND SERUM COMPLEMENT PROTEIN LEVELS OF DIABETIC PATIENTS WITH GALLBLADDER STONE

(M. Sc. Thesis)

Gözde ÇEBER

GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

February 2017

ABSTRACT

The risk of gallbladder stone disease increases due to several factors, including, as the most prominent one, diabetes and related complications, in addition to female gender and diet status. The frequency of diabetes is 2,4 times higher in the gallbladder stone disease patients compared to the patients without gallbladder stone. The promotion of progressing of gallbladder stone disease by diabetes and more symptomatically proceeding with the increased urge for surgical operation of in these patients in comparison to the cases without diabetes is still under debate. Oxidative stress and chronic inflammation play important roles in the development of complications of gallbladder stone diseases and diabetes. There are several evidences regarding the association between diabetes and complement system activation in the inflammatory response. The aim of this study was to evaluate the inflammation related oxidative stress in the gallbladder stone disease patients without diabetes (ND) and the protein oxidation resultant oxidative stress in the diabetic gallbladder stone disease patients (D). The patients who admitted Gazi University Hospital and fill the inclusion criteria, were randomly included into the study. The body mass index of ND, D and control groups were calculated and their AST, ALT, alkaline phosphatase, albumin, serum creatinine, total bilirubin, blood glucose, HbA1c, hemoglobin levels, neutrophil, monocyte, leukocyte and lymphocyte counts were determined by automated methods in Gazi University Hospital Biochemistry and Hematology Laboratory. The gallbladder stone diameter, gallbladder wall thickness was histopathologically evaluated in Gazi University, Pathology Department. Serum 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG), complement components C1q and CD59 were measured by ELISA, while serum nitrite and nitrate (NOx) concentrations were determined by Griess method. Despite the statistically significant increase in NOx levels in ND patients ($p<0,05$), 8-OHdG and albumin did not alter. However, both CD59 and C1q concentrations were affected by oxidative stress. Compared to the controls, inflammation associated elevation in NOx synthesis was not statistically significant ($p>0,05$). On the other hand, as a result of protein glycation in hyperglycemia the decrease in album related antioxidant capacity and hemoglobin levels, increase in HbA1c and increment in MAC formation due to the glycation of CD59 and decline in C1q were more influential in the cell damage and progression of the gallbladder stone disease.

Science Code : 1021

Key Words : Gallbladder stone, diabetes, HbA1c, albumin, nitric oxide, CD59, C1q, 8-hydroxydeoxyguanosine, oxidative stress

Page Number : 73

Advisor : Assoc. Prof. Dr. Ayse Basak ENGIN

TEŞEKKÜR

Eğitimim süresince her aşamada yanımda olan, tez çalışmam sırasında kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici olan, hiçbir zaman sabır, özveri, destek ve hoşgörüsünü benden esirgemeyen, değerli danışmanım hocam Sayın Doç. Dr. Ayşe Başak Engin'e destekleri ve katkıları için,

Bu bilimsel çalışmanın gerçekleştirilmesini sağlayan Sayın Doç. Dr. Osman Kurukahvecioğlu, Sayın Doç. Dr. Özlem Gülbahar ve Sayın Derya Düzgören Şahindokuyucu'ya,

Çalışmam süresince her türlü desteği bana sunan ailem; annem Hatice Çeber, babam Necdet Çeber, ablam Görkem Çeber ve yeğenim Nil Uluşerbet'e, yol arkadaşım Mehmet Demiral'a,

Yüksek lisans eğitimim süresince her türlü deneyim ve katkıları için fakültemiz Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı'na,

En içten ve sonsuz teşekkürlerimle...

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Safra Kesesi.....	5
2.1.1. Safra kesesi anatomisi ve fizyolojisi.	5
2.1.2. Safra ve bileşenleri.....	6
2.1.3. Safra kesesi taşı	7
2.2. Diyabet	9
2.2.1. Diyabetin sınıflandırılması.....	10
2.2.2. Tip 2 diyabet tanısı.....	10
2.2.3. Patolojisi.....	11
2.3. Oksidatif Stres	12
2.3.1. 8-hidroksi deoksiguanozin	16
2.3.2. Nitrik oksit	17
2.4. Kompleman Sistemi.....	19
2.4.1. Serum kompleman bileşeni C1q	19

	Sayfa
2.4.2. Serum kompleman bileşeni CD59	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	23
3.1. Çalışma Grupları	23
3.1.1. Çalışmaya alınma kriterleri.....	23
3.1.2. Etik kurul onayı.....	23
3.2. Örneklerin Özellikleri	24
3.2.1. Örneklerin toplanması ve saklanması	24
3.2.2. Örneklerin demografik özellikleri.....	25
3.3. Uygulanan Yöntemler	26
3.3.1. Serum 8-hidroksideoksiguanozin miktarının ölçümü	26
3.3.2. Serum NOx miktarının ölçümü.....	29
3.3.3. Serum kompleman bileşeni C1q miktarının ölçümü.....	31
3.3.4. Serum kompleman bileşeni CD59 miktarının ölçümü.....	33
3.4. İstatistiksel Analiz	35
4. BULGULAR	37
4.1. Çalışma Grupları	37
4.1.1. Kontrol, diyabet olmayan safra kesesi taşı hastaları, diyabet olan safra kesesi taşı hastalarının çalışma gruplarına göre karşılaştırılması	37
4.1.2. Kontrol, diyabeti olmayan safra kesesi taşı hastaları, diyabeti olan safra kesesi taşı hastalarının çalışma gruplarının cinsiyet farklılıklarına göre karşılaştırılması	40
5. TARTIŞMA	45
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	55
KAYNAKLAR	57
EKLER.....	71

Sayfa

EK-1. Etik kurul onayı..... 72

ÖZGEÇMİŞ 73



ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Diyabet tanı kriterleri	11
Çizelge 2.2. Canlı sistemlerde reaktif türlerinin sınıflandırılması.....	12
Çizelge 3.1. ND, D, ve K çalışma gruplarının demografik özellikleri.....	25
Çizelge 3.2. Cinsiyet farklılıklarına göre ND, D ve K çalışma gruplarının demografik özellikleri.....	26
Çizelge 3.3. Reaktiflerin plakaya eklenmesi.....	28
Çizelge 4.1. Çalışma bulgularının ND, D ve K gruplarının arasında karşılaştırılması..	37
Çizelge 4.2. Çalışma bulgularının cinsiyet farklılıkları göz önüne alınarak ND, D ve K gruplarının arasında karşılaştırılması.....	40

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Admirand ve Small üçgen koordinat sistemi.....	8
Şekil 2.2. Guanin türleri.....	16



RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Safra kesesi	5
Resim 3.1. Çalışmaya katılan her birey için gönüllü anket formu	24



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklamalar

°C	Santigrat derece
μL	Mikrolitre
μM	Mikromolar
cc	Santimetreküp
cm	Santimetre
dL	Desilitre
g	Gram
kDa	Kilodalton
kg	Kilogram
M	Molar
m ²	Metrekare
mg	miligram
mL	Mililitre
N	Normal
ng	Nanogram
nm	Nanometre
pg	Pikogram
rpm	Birim zamandaki dönüş hızı

Kısaltmalar

Açıklamalar

8-OHdG	8-hidroksi deoksiguanozin
AChE	Asetilkolin esteraz
ADA	Amerikan Diyabet Derneği, ('The American Diabetes Association')

Kısaltmalar**Açıklamalar**

AGE	İleri glikasyon son ürünleri, ('advanced glycation end products')
AIDS	Kazanılmış bağışıklık yetmezlik sendromu, ('acquired immune deficiency syndrome')
ALT	Alanin transaminaz
AP	Alkalen fosfotaz
AST	Aspartat transaminaz
ATP	Adenozintrifosfat
B₀	Maksimum bağlanma
BMI	Vücut kitle indeksi, ('body mass index')
BUN	Kan üre nitrojeni, (blood urea nitrogen)
D	Diyabet olan ('diabetic'), semptomatik safra kesesi taşı hastalığı bulunan hastalar
DNA	Deoksiribonükleik asit
eNOS	Endotelial nitrik oksit sentaz
ER	Endoplazmik retikulum
GCD59	Glikozillenmiş CD59
GLUT-1	Glukoz taşıyıcısı 1
GLUT-2	Glukoz taşıyıcısı 2
GSH	İndirgenmiş glutatyon
HbA1c	Glikolizillenmiş hemoglobin
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein, ('high-density lipoprotein')
Hb	Hemoglobin
HIV	İnsan bağışıklık sistemi yetmezliği virüsü, ('human immunodeficiency virus')
HRP	Bayır turpu peroksidazı, ('horseradish peroxidase')
IDF	Uluslararası Diyabet Federasyonu, ('International Diabetes Federation')
Ig	İmmunoglobulin
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
K	Kontrol grubu

Kısaltmalar**Açıklamalar**

LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein, ('low-density lipoprotein')
MAC	Membran atak kompleksi, ('membran attack complex')
mRNA	Mesajcı ribonükleik asit
n	Gönüllü Sayısı
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotit
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat, indirgenmiş
ND	Diyabet olmayan ('non-diabetic'), semptomatik safra kesesi taşı hastalığı bulunan hastalar
NED	N-1-naftiletilediamin dihidroklorit
nNOS	Nöronal nitrik oksit sentaz
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
NOx	Nitrit+nitrat
NSB	Spesifik olmayan bağlanmalar, ('non specific bindings')
Ort	Ortalama
p	İstatistiksel olarak hesaplanan olasılık
RCS	Reaktif karbon türleri, ('reactive carbon species')
RNA	Ribonükleik asit
RNS	Reaktif nitrojen türleri, ('reactive nitrogen species')
ROS	Reaktif oksijen türleri, ('reactive oxygen species')
RSS	Reaktif sülfür türleri, ('reactive sulphur species')
SA	Sülfanilamid
SH	Standart Hata
SP	Streptavidin peroksidaz
Std	Standart
TA	Total aktivite
WHO	Dünya Sağlık Örgütü, ('World Health Organization')



GİRİŞ

Safra kesesi taşı hastalığı gastrointestinal bölgeyi etkileyen cerrahi girişime gerek duyulan sık rastlanan bir hastalıktır (Kim, Myung, S. S. Lee, S. K. Lee ve M. H. Kim, 2003; Schirmer, Winter ve Edlich, 2005). Safra kesesi taşı, safra tuzu ve fosfolipidlerden zengin safra içinde bilirubin veya kolesterol konsantrasyonunun çözünürlüğünün üzerinde olması sonucu oluşur (Grünhage, 2006). Dünya'daki erişkin nüfusunun ortalama %10-15'inde safra kesesi taşı bulunmaktadır (Koti, C. J. Davidson ve B. R. Davidson, 2015). Bu oran İsveç, Çekoslovakya gibi bazı ülkelerde, Amerikan yerlileri gibi bazı etnik guruplarda %50'lere kadar çıkmaktadır. Doğu Afrika ve bazı üçüncü dünya ülkelerinde %2-3'tür (Durgun, 2002). Türk toplumunda yapılan çalışmalara ilişkin veriler çok sınırlı olmakla birlikte safra kesesi taşı hastalığı sıklığı %10,5-15,4 dolayındadır (Beyler, 1998; Karayalçın, Genç, Karaca ve Özakşit, 2010).

Gastrointestinal sistem rahatsızlıkları arasında en yaygın olarak gözlemlenen safra kesesi taşı hastalığı yetişkinlerin ortalama %14'ünden fazlasını etkilemektedir. Amerika'da safra kesesi taşı hastalığı olanların doğrudan ve dolaylı yıllık maliyeti tahmini 16 milyar dolardır ve bu hastalığa sahip hastaların 800 000'den fazlası hastaneye yatırılmaktadır (Shen, Hsu ve Tung, 2015). Kolesistektomi operasyonları Dünya'da en fazla yapılan ameliyatlardan biridir. Sadece Amerika Birleşik Devletleri'nde yılda 500 000 adet kolesistektomi operasyonu yapılmaktadır. Ülkemizde net bir veri olmamakla beraber kolesistektomi operasyonları abdominal cerrahide önemli yere sahiptir. Bütün bu veriler safra kesesi taşının cerrahi harcamalardaki ekonomik etkisinin ne kadar önemli olduğunu göstermektedir (Kelly, Sarr ve Hinder, 2004).

Safra kesesi taşı hastalığının teşhisi tam olarak görüntüleme teknikleriyle olur. Ancak, laboratuvar testlerinden olan tam kan sayımı, karaciğer fonksiyon testleri, serum lipaz ve amilaz testleri, safra kesesi hastalığının tipi ve/veya eşlik ettiği komplikasyonları tespit edilmesinde yardımcı olur. En etkili tedavi ameliyat olduğu gibi, bazı ilaçlarla da tedavisi yapılmaktadır (Afamefuna ve Allen, 2013). Safra kesesi hastalıkları diyet, egzersiz ve beslenme gibi faktörlerden etkilendiği için hastaların safra kesesi hastalıklarında risklerinin azalması amacıyla sağlık alışkanlıklarını yaşam biçimlerine katmalarının teşvik edilmesi önemlidir (Afamefuna ve Allen, 2013).

Safra kesesi taşı, serbest radikaller ve inflamasyona bağlı olarak mukus membranın sekresyonu, absorbiyonunu etkileyerek, safra kesesi taşı hastalarının safra yolu fonksiyonlarında değişiklik olur. Safra kesesi taşı olan hastalarda lipid peroksidasyonuna bağlı toksik yıkım ürünlerinin ve reaktif oksijen türlerinin ('reactive oxygen species', ROS) arttığı gözlemlenmiştir. Mukozadaki oksidatif stresin safra kesesi taşı hastalıklarında rolü olduğu düşünülmektedir (Geetha, 2002).

Diyabet, dünya çapında en yaygın görülen kronik hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü'nün ('World Health Organization', WHO) son verilerine göre 422 milyon diyabet hastası bulunmaktadır ve 20 yıl sonra bu sayının iki katına çıkacağı öngörülmektedir (İnternet: World Health Organization, 2016). Obezitede görülen safra kesesi hipomotilitesi, biliyer kolesterol hipersekresyonu, hiperinsülinemi ve insülin direnci nedeniyle diyabet safra kesesi hastalıkları ile ilişkilidir (Bodmer, Brauchlic, Jick ve Meier, 2011). Safra kesesi taşları obez hastalarda normal kilolu olanlara göre 3-4 kat daha sık görülür. Vücut kitle indeksinin ('body mass index', BMI) safra kesesi hastalıkları ile doğrudan bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Safra kesesi taşları erkeklere oranla kadınlarda daha fazla görülür. Bu oranın doğum kontrol hapları ile bağlantılı olduğu düşünülse de henüz açıklığa kavuşturulmamıştır (Pacchioni ve diğerleri, 2000). Yapılan çalışmalar diyabet olan hastalarda safra kesesi taşı görülme sıklığının yüksek olabileceğini göstermesine rağmen bu durumun patogenezi tam olarak açıklanamamıştır. İnsüline bağımlı olmayan diyabette safra asidinin düşük konsantrasyonda bulunduğu ve safranin süpersaturasyonu gösterilmiştir. Diğer taraftan safra kesesi taşı hastalığının hiperinsülinemi ile ilişkili olduğu öne sürülmektedir. Kolesterolün safra kesesi taşının ve diyabetin meydana getirdiği safra yolu hipomotilitesinde benzer rolü olduğu düşünülmektedir (Guimaraes ve diğerleri, 2016).

Safra kesesi taşı ve safra kesesi kanseri arasında bağlantı olduğu öne sürülmektedir. Safra kesesi taşı olan hastalarda, safra kesesi taşı olmayan hastalara göre safra kesesi kanserinin görülme riski 4-5 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir (Lowenfels, Maisonneuve, Boyle ve Zatonski, 1999). Safra kesesi kanseri genellikle geç evrelerde teşhis edilen, 5 yıllık hayatta kalma oranının %10'un altında olduğu, yüksek mortaliteye sahip malign bir hastalıktır (Larsson ve Wolk, 2007). Safra kesesi kanseri, safra yolu maligniteleri arasında en sık görülen hastalıktır ve dünyada safra yolu kanserlerinin %80-95'ini temsil eder. Gastrointestinal sistem kanserleri arasında beşinci sıradadır (Rakic ve diğerleri, 2014).

Safra kesesi kanseri gelişme riskleri arasında etnik farklılık, genetik faktörler, yaşam tarzı ve enfeksiyonlar yer almaktadır (Stinton ve Shaffer, 2012). Safra kesesi taşı ve safra kesesi kanseri arasındaki ilişkinin, safra kesesi taşına bağlı kronik inflamasyon ve bölgesel mukozal irritasyona dayandığı düşünülmektedir (Hundal ve Shaffer, 2014).

Domeyer ve diğerleri (2008) tarafından 306 hastadan ameliyat sonrası elde edilen safra keselerinin duvarlarının histopatolojik incelemesi, hastaların %63,4'ünde hafif-orta, %36,6'sında ise şiddetli kronik inflamasyon olduğunu göstermiştir. Safra kesesi taşı, safra kesesi mukozasında akut inflamasyon, kronik inflamasyon, glandüler hiperplazi, granülomatoz inflamasyon, kolesterolozis, displazi ve kanser gibi farklı histopatolojik değişiklikler meydana getirebilir (Baig, Biswas, Das, Basu ve Chattopadhyay, 2002). İmmünohistokimyasal yöntemlerle, ROS tarafından oluşan, bir DNA baz modifikasyon ürünü olan 8-hidroksi deoksiguanozin'nin (8-OHdG) kronik kolesistitli safra kesesi mukozasında yaygın olarak bulunduğu gösterilmiştir (Seki ve diğerleri, 2002). Safra kesesi taşı sıklığı kontrol grubunda %20,8 iken diyabetli hastalarda %32,7 bulunmuştur (Chapman ve diğerleri, 1996). Tip 2 diyabetin varlığının safra kesesi taşı hastalığının, klinik seyrine, ameliyat öncesi ve sonrasında görülen morbidite ve mortalite oranlarına etkisi olduğu düşünülmektedir. Semptomatik safra kesesi taşı hastalığı olanlarda diyabet sıklığı, safra kesesi taşı olmayanlara nazaran 2,4 kat daha fazladır (De Santis ve diğerleri, 1997). İnflamatuvar yanıtın başlamasındaki ilk basamak olan doğal bağışıklık sisteminin bileşenlerinden olan kompleman sistemi proteinleri ile tip 2 diyabet arasında ilişki bulunduğu dair bulgular vardır. Diyabetin komplikasyonlarında hedef organlarda kompleman-aracılı doku hasarını arttığı düşünülmektedir.

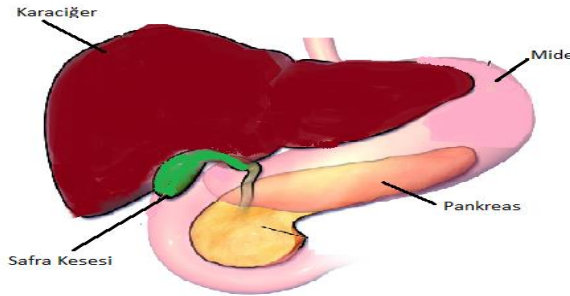
Çalışmanın amacı; diyabet olmayan-safra kesesi taşı hastalığı olan olgularda inflamasyona bağlı oksidatif stresle, diyabetli-safra kesesi taşı hastalığı olan olgulardaki protein oksidasyonuna bağlı oksidatif stres karşılaştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Safra Kesesi

2.1.1. Safra kesesi anatomisi ve fizyolojisi

Vücudun en büyük iç organı ve bezi olan karaciğer birçok karmaşık fonksiyona sahiptir. Karaciğerin en önemli fonksiyonlarından biri, normal düzeyi 600-1200 mL/gün olan safra salgısını salgılamaktır (Guyton ve Hall, 1996: 725). Safra kesesi, karaciğerden salgılanan safranın karaciğerin alt kısmında toplandığı torba şeklindeki bir organdır (Bkz. Resim 2.1.) Aynı zamanda safra için depo görevini yapan ve safrayı daha kıvamlı hale getiren bir organdır. Safra kesesi genellikle ince duvarlı olan ve karaciğerin alt yüzünde safra kesesi yatağına yerleşmiş, 35-50 cc hacminde torba şeklinde organdır. Periton, safra kesesini sararak karaciğere yapışmasını sağlar (Akçal, 2002).



Resim 2.1. Safra kesesi, (İnternet: Cancer.net Editoriel Board, 2016)

Karaciğerde bulunan hücrelerin yaklaşık %80'i hepatositlerden oluşmuştur ve hepatositler lobüller şekilde organize olmuştur. Hepatositlerin; glukonegenesis, yağ asidi oksidasyonu, aminoasit parçalanması, kolesterol üretimi, safra asidi salgılanması, glikoliz, lipogenesis gibi görevleri bulunmaktadır (Rui, 2014). Hepatositler en fazla iki hücreden meydana gelen sıralar oluştururlar. Bu sıralar arasında kanın aktığı aralığa sinüzoid adı verilir. Sinüzoidlerde portal ven ve hepatik arterden gelen kan akar ve santral vene dökülür. Hepatositler kandan bazı maddeleri alırlar ve bitişik hepatositler arasındaki kanaliküler mesafeye salgırlar (Önür ve Beyler, 2001). Her bir karaciğer hücresi aynı zamanda birçok safra kanalikülleri ile temas halindedir. Kanaliküller interlobüler safra yollarına dökülür ve bunlar da interlobüler safra kanalları ile birleşerek sağ ve sol hepatik kanalları

oluştururlar. Bu kanallar karaciğerin dışında birleşerek ana hepatik kanalı meydana getirirler (Ganong, 1995: 544). Hepatik kanaldan gelen safrayı alarak safra kanalına gönderen ve safra kesesinin bir boyunla açıldığı kanal olan sistik kanal, safra kesesine boşaltır. Hepatik kanal kese kanalıyla birleşerek ana safra yolunu oluşturur. Ana safra kanalı ise duodenuma açılır. Hepatositler tarafından salgılanan safra; hemen gereksinim duyulmuyorsa sistik kanal yolu ile safra kesesine yönelir, ya da yemek yenmesi ile safra kesesi kasılır oddi sfinkteri gevşer ve safra kesesinden doğrudan duodenuma dökülür (Guyton ve Hall, 1996: 725). Safra tuzlarının %95'i ince bağırsaktan absorbe olur. Bir kısmı ince barsağın başlangıç kısımlarından difüze olur, kalan kısmı ise terminal ileumda aktif transport ile geri emilir. Emilen safra tuzları portal ven ile karaciğere taşınarak hepatik hücrelere absorbe olur ve daha sonra safraya salgılanırlar (Ganong, 1995: 546). Bağırsaktan karaciğere olan bu geri dönüşüm yolağına enterohepatik dolaşım denilmektedir. Safra tuzlarının geri kalan %5'lik kısmı ise feçes ile atılır. Karaciğer bu kaybı önlemek için kolesterolden yeni safra tuzları sentezler (Guyton ve Hall, 1996: 726).

2.1.2. Safra ve bileşenleri

Safranın karmaşık yapısı vardır ve iki ana görevi bulunmaktadır. Safra asidi içeren safra; yağlı yiyeceklerin ve yağda eriyen vitaminlerin sindirilmesi ve emilmesinde büyük rolü vardır. Ayrıca birçok atık ürün safra içine salgılanarak feçes ile elimine edilir (İnternet: Bowen, 2001).

Safranın bileşenleri iki tip hücre tarafından sentezlenir. Hepatositler tarafından safra tuzu, kolesterol, lesitin ve safra pigmentleri, safra kanalındaki epitel hücreleri tarafından bikarbonattan zengin tuz çözeltileri sentezlenir. Safra organik ve inorganik bileşenlerden oluşan bir karışımdır. İçeriğinde 6 büyük bileşen vardır. Bu bileşenler safra tuzu, kolesterol, lesitin (fosfolipid), bikarbonat iyonları ve diğer tuzlar, safra pigmenti ve küçük miktarlardaki metabolik son ürünler ve eser metallerdir. Safra tuzu, kolesterol ve lesitin karaciğerde sentezlenir ve ince bağırsakta yağların çözünmesine yardımcı olur. Bikarbonat iyonları duodenumda asitleri nötralize eder. Diğerleri ise safra ve karaciğer tarafından kandan ayrılan ürünleri temsil eder (Vander ve diğerleri 1990: 589). Safra asitleri safranin %60'ından oluşurlar. Safra asitleri primer ve sekonder safra asidi olmak üzere ikiye ayrılır. Primer safra asitleri kolesterol tarafından sentezlenir. Bunlar kolik asit ve kenodeoksikolik asittir. Primer safra asitlerinin taurin ve glisin ile konjugasyonu sonucu primer safra tuzları

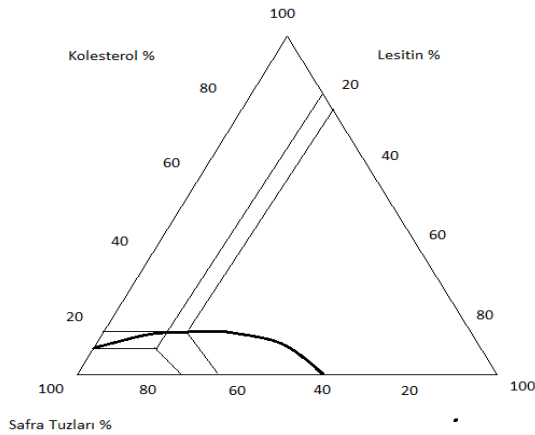
oluşur. Primer safra asitlerinin bağırsak bakterileri tarafından hidroksilasyon ile sekonder safra asitleri oluşur. Bunlar deoksikolik asit ve litokolik asittir. Bunların konjugasyonu ile sekonder safra tuzları oluşur (Önür ve Beyler, 2001).

Safra tuzları çok önemli göreve sahiptir. Yüzey gerilimini düşürürler, fosfolipidler ve monogliseridlerle konjuge olarak yağları, ince bağırsakta sindirim ve emilime hazırlamak için emülsiyon haline getirirler. Buna ilaveten amfipatiktirler. Dışta hidrofilik, içte hidrofobik çekirdek olmak üzere miçel adı verilen silindirik yapı oluşturma eğilimindedirler. Miçeller çözeltilerdeki yağların tutulmasında ve emildiklerinde epitel hücrelerinin fırça kenarlarına taşınmasında önemli rol oynarlar (Blitzer ve Boyer, 1982). Safra asidi sentezi, salgılanması ve bağırsaktan geri emilimi arasındaki dengenin korunmasının hayati önemi vardır ve fizyolojik fonksiyonların yerine gelebilmesi için homeostaz halinde bulunmalıdırlar (Alrefai ve Gill, 2007). Safra asitlerinin doğal deterjan yapısında olmaları dolayısıyla, birçok fizyolojik işlevde önemli rolleri bulunmalarına karşın aşırı derecede sitotoksiktirler. Bu sebeple safra asidinin metabolizasyonunun, enterohepatik dolaşımında ve serum konsantrasyonlarında belirli seviyede olması gerekmektedir (Nicolaou ve diğerleri, 2012). Amfipatik özellikleri dolayısıyla lipid membranlarında kuvvetli çözücü olmalarının yanı sıra bu özelliklerinden dolayı normalden yüksek konsantrasyonlarda bulunduklarında intraselüler ve ekstraselüler olarak sitotoksik etki gösterirler. Safra akışının engellenmesiyle safra asitleri hepatositlerde birikir. Safra asidi konsantrasyonları safra bağlama proteinlerinin kapasitesini geçtiğinde mitokondrideki hasardan dolayı apoptoz ve nekroza sebep olur (Hofmann, 1999).

2.1.3. Safra kesesi taşı

Safra kesesi taşlarının oluşumuna katılan ana elementler kolesterol, bilirubin ve kalsiyumdur. Bunların yanında protein, karbonhidrat, demir, fosfor, karbonat, mukus ve hücre artıkları gibi unsurları da içerir. Safra kesesi taşları safra tuzlarının bileşenlerinde meydana gelen dengesizlik sonucunda oluşabilir. Kolesterol taşları, pigment taşları ve karışık taşlar olmak üzere üç tip safra kesesi taşı bulunmaktadır (Lee, Keane ve Pereira, 2015). Admirand ve Small (1968), %90'ı su, %10'u kolesterol, safra tuzu ve fosfolipidlerden oluşan bir sistem içerisinde kolesterolün maksimum çözünürlüğünü üçgen bir koordinat sistemi ile göstermişlerdir. Bu sistemde safra oluşumunda temel olan üç madde (su, kolesterol ve lesitin) molar yüzde değerleri koordinat sistemine

yerleştirildiğinde kesişimleri bir nokta ile gösterilmektedir. Bu nokta üzerinden geçen eğriye ‘kolesterolün maksimum çözünürlük eğrisi’ denir. Safra kesesi taşı nedeniyle opere olan hastalarda safra bileşiminin eğri üzerinde çıktığı görülmüştür. Normal kişilerin safra bileşimi ise bu eğrinin altındadır (Bkz. Şekil 2.1.). Bazı safra kesesi taşı olgularında ise oluşum noktası, eğri altında kalmaktadır.



Şekil 2.1. Admirand ve Small üçgen koordinat sistemi, (Admirand ve Small, 1968)

Safra Kesesi Taşı Risk Faktörleri

Safra kesesi taşı oluşumunun birçok sebebi vardır. Yaş, cinsiyet, genetik yapılar değiştirilemez risk faktörlerindendir. Diyet, ilaç, fiziksel aktivite, hızlı kilo verme veya obezite gibi değiştirilebilir etmenler de mevcuttur (Shaffer, 2006). Yaş ilerledikçe, artmış kolesterol sekresyonu, azalmış safra asidi sekresyonu sebebiyle safra kesesi taşı varlığı artmaktadır (Chau, Tang, Siu, Ha ve Li, 2002). Kadınlarda erkeklere oranla daha fazla görülmektedir. Bunda östrojen ve progesteronun etkisi olduğu düşünülmektedir. Genetik olarak farklılık bulunmaktadır. Batı ülkelerinde kolesterol taşı sıklıkla görülmekle birlikte doğu ülkelerinde pigment taşı daha çok görülür (Lee ve diğerleri, 2015). Safra kesesi taşı hastalığında kolesterol ve yağdan zengin, düşük lif ağırlıklı beslenmenin büyük bir rolü bulunmaktadır. Ayrıca yapılan yanlış diyetlerle hızlı kilo verildiğinde karaciğer tarafından üretilen safra içeriğine daha çok kolesterol salınır. Böylece karaciğer ve safra tuzları arasındaki denge bozulur. Fazla olan kolesterol kristallere dönüşerek safra kesesi taşı oluşmasını sağlar (Njeze, 2013). Şişmanlık özellikle kadınlarda safra kesesi taşı oluşumunun ana risk faktörüdür. Bunun sebebi obezitenin safra içeriğindeki safra tuzu

miktarını azaltıp kolesterolün artmasına yol açmasıdır. Safra kesesi boşalması da yavaşlamış durumdadır (Hamulu, 1999).

Safra Kesesi Taşlarının Etyolojisi

Kolesterol Taşları

İçeriğinde safra tuzları, lesitin ve kolesterol bulunur. Kolesterol süpersaturasyonu, kolesterolün taş oluşumu için çekirdek meydana getirmesi ve safra kesesinin hipomotilitesi ile safra kesesi taşı oluşur (Marschall ve Einarsson, 2007). Kolesterol taşları formunda; sıvı kristaller kolesterol monohidrat kristallerine dönüştüğünde safra kesesi inflamasyona uğrar ve hipomotilite gözlemlenir. Ayrıca biliyer proteinler, çoğunlukla müsin proteinleri, kolesterolün taş oluşumu için çekirdek meydana getirmesini destekler. Biliyer immunoglobulinleri içeren diğer tüm proteinler çekirdek oluşumunu başlatabilir (Maurer ve diğerleri, 2007).

Pigment Taşları

Bilirubin proteinleri ve kalsiyum tuzlarından oluşmuştur, %20'si müsin glikoproteinidir. Siyah safra taşları bağlanmamış bilirubin sekresyon ve üretiminde artışla birlikte, safradaki iyonize kalsiyum konsantrasyonunun arttığı, safra tuzu sekresyonunun azaldığı ve safra kesesi motilitesinin bozulması ile oluşmaktadır (Donovan, 1999).

Safra kesesi taşı sonucu oluşan serbest radikaller ile inflamasyon artar, membrandaki mukus sekresyonu, absorpsiyonda değişim meydana gelir; safra kesesi fonksiyonlarında farklılaşma olur. Lipid peroksidasyonuna bağlı toksik yıkım ürünlerinin ve ROS'un serumda konsantrasyonlarının arttığı bildirilmiştir (Geetha, 2002).

2.2. Diyabet

Diyabet, dünya çapındaki bütün ölümlerin %5,2'sini kapsar ve mortalite oranına bakılırsa 5. sırayı almaktadır. Kronik bir hastalık olan diyabet şiddetli komplikasyonlarından dolayı kontrol altına alınmalıdır. Hastalığın tedavisinde sadece bireylerin veya ailelerin bütçeleri değil aynı zamanda sağlık sistemi içinde de belirli bütçe ayrılması gerekmektedir.

Diyabetin yıllık sağlık bütçesine etkisi toplam bütçenin %2,5 ile %15'ini oluşturmaktadır (American Diabetes Association, 2013). Diyabet; lipid, protein ve karbonhidrat metabolizmasındaki kronik bir bozukluktur. Hiperglisemi ve pankreastan salgılanan endojen insülinin aktivitesinin ve salgılanmasının yetersizliği ile karakterize metabolik bir hastalıktır. Yüksek kan şekeri (hiperglisemi) sonucunda klasik semptomlar olan poliüri (sıklıkla idrara çıkma), polidipsi (susuzluğun artışı), polifaji (açlıktaki artış) gözlemlenir (Aouacheri, Saka, Krim, Messaadia ve Maidi, 2015). Otoimmün hastalıkları, viral enfeksiyonları ve çevresel faktörleri de kapsayan bu hastalığın etyolojisi tam olarak tanımlanamamıştır. Eksojen insülin veya birçok ilaç diyabetin etkilerini kontrol altına almakla beraber; böbrek, retina, vasküler sistem, periferik sinirler ve deriyi etkiler. Bu durum hayat kalitesini etkilemektedir (Maritim, Sanders ve Watkins, 2003). Hiperglisemi ve diğer faktörler diyabet patogeneğinde önemli bir rol oynamakla beraber, hiperlipidemi ve oksidatif stresin de hastalığın komplikasyonlarında büyük rolü vardır (Kangralkar, Patil ve Bandivadekar, 2010).

2.2.1. Diyabetin sınıflandırılması

Diyabet aşağıdaki gibi sınıflandırılır.

- 1) Tip 1 Diyabet: Beta hücre yıkımı nedeniyle ve genellikle insülin yetersizliğine neden olur.
- 2) Tip 2 Diyabet: İnsülin direncine bağlı olarak insülin salgılanmasındaki bozukluk sebebiyle oluşur.
- 3) Gestasyonel Diyabet: Hamileliğin ikinci veya üçüncü trimesterinde teşhis edilir.
- 4) Diğer Sebeplerden Meydana Gelen Spesifik Diyabet: Örneğin; monojenik diyabet sendrom (neonatal diyabet gibi), ekzokrin pankreas hastalıkları (kistik fibrozis), ilaç veya kimyasalla indüklenmiş diyabet (HIV/AIDS tedavisi veya organ transplantasyonu sonrası) (American Diabetes Association, 2015).

2.2.2. Tip 2 Diyabet Tanısı

Herhangi bir risk faktörü olmayan ve BMI normal olan 40 yaş üstü erişkinlerin periyodik olarak Tip 2 diyabet açısından taranması önerilmektedir. Bunun dışında, BMI 25 kg/m² ve üzerinde olan kişilerde ve tip 2 diyabet açısından risk faktörü taşıyanlarda tip 2 diyabet taramasına herhangi bir yaşta başlanabilir (American Diabetes Association, 2014). Diyabet

veya prediyabet tanısı; açlık plazma glukozu, 2 saatlik oral glukoz tolerans testi ve glikozillenmiş hemoglobin (HbA1c) ölçümleri ile konur. HbA1c diyabet hastalığında tedavinin etkinliğini ölçmek, diyabet tanısı koymak için kullanılan bir kan tahlilidir. (Kurt, 2003). Açlık plazma glukozu için en az 8 saatlik bir açlık gerekmektedir. Rastlantısal plazma glukozu gıda alımına bağlı olmaksızın günün her saatinde ölçülebilir. Oral glukoz tolerans testi 75 g oral glukoz alımı ile yapılmalıdır. HbA1c ancak uluslararası standardize edilmiş yöntemlerle ölçüm yapıldığında tanı testi olarak kullanılabilir. Tek başına kullanılması önerilmez. Ayrıca anemi ve gebelik varlığında tanı testi olarak kullanılamaz. (Internet: Türkiye Diyabet Vakfı, 2015). (Çizelge 2.1.)

Çizelge 2.1. Diyabet tanı kriterleri (Internet: Türkiye Diyabet Vakfı, 2015)

Açlık plazma glukozu	≥ 126 mg/dl
Rastlantısal plazma glukozu + diyabet semptomları	≥ 200 mg/dl
Oral glukoz tolerans testi'nde 2. saatinde plazma glukozu	≥ 200 mg/dl
HbA1c	$\geq \%6,5$

2.2.3. Patolojisi

İnsülin, pankreasın langerhans adacıklarındaki beta hücrelerinden salgılanan peptid bir hormondur. Glukoz alımı, glukogenezis, lipogenezis, iskelet kaslarında ve yağlı dokularda protein sentezinden sorumlu anabolik hormondur. Plazma glukoz seviyesinin düzenlenmesinde önemli bir rolü vardır. Bu dengenin sağlanmasında glukagon, epinefrin, glukokortikoid ve büyüme hormonu gibi katabolik hormonlar da yardımcı olur. Normal fizyolojide, yükselmiş plazma glukoz seviyesi insülin salgılanmasını indükler. Glukoz beta hücrelerine difüze olur, glukoz taşıyıcısı 2 (GLUT-2) vasıtasıyla glikoliz yolağı aktive olur ve ATP seviyesi yükselir. Yükselen ATP seviyesi ATP duyarlı potasyum kanallarını kapatır ve beta hücre membranlarının depolarize olmasını stimüle eder. Voltaj bağımlı kalsiyum kapıları açılır, sitozolik kalsiyum yükselir ve insülin ekzositozu tetiklenir (Internet: Buppajarntham, 2014). Yiyecek alındığında, kandaki glukoz seviyesi yükselir.

Bu durum insülin salınımını stimüle ederek glukozun taşınması, biyotransformasyonu, yağlı ve kaslı dokularda depolanması sağlanır. Açlık durumunda kandaki glukoz beyin tarafından kullanılması için insüline bağımlı olmadan karaciğer tarafından temin edilir. Glukoz depolaması yanında insülin glukagon salgılanmasını engeller, düşen yağ asidi konsantrasyonu karaciğerdeki glukoz üretimini azaltır. Vücuttaki yetersiz insülin veya insülin direnci sonucunda glukozun dokulara alınması azalır. Böylece intrasellüler hipoglisemi ve ekstrasellüler hiperglisemi meydana gelir (Kangralkar ve diğerleri, 2010).

Tip 2 diyabet, beta hücrelerinin hasara uğraması sonucu insülin salgısının bozulması veya insülin direncine bağlı olarak insülinin aktivite gösterememesi nedeniyle insülin ve doku arasındaki regülasyonun bozulmasıyla ortaya çıkar. Birçok genetik bozukluğun yanında özellikle obezite ve çevresel faktörlerin de etkisi göz önünde bulundurulmalıdır (Ullah, A. Khan ve İ. Khan, 2015).

2.3. Oksidatif Stres

Serbest radikaller moleküler ya da atomik yörüngelerinde eşlenmemiş elektron bulunduran reaktif atom ve moleküllerdir. Bu reaktif ürünler fizyolojik veya patolojik reaksiyonlar sırasında oluşabilirler. Kendilerini nötralize etmek için, diğer maddelerden elektron alırlar. Oksijen ve nitrojen kaynaklı olabilirler. (Bkz. Çiz. 2.2.) (Portugala, Barackb, Ginsburgc ve Kohena, 2007).

Çizelge 2.2. Canlı sistemlerde reaktif türlerinin sınıflandırılması (Kozarski ve diğerleri, 2015)

ROS	$\cdot O_2^-$, $\cdot HO$, $\cdot ROO$, $\cdot RO$, $\cdot HOO$	H_2O_2 , $HOCl$, 1O_2
RNS	NO_2 , $\cdot NO$	NO_2 , $ONOO^-$, NO^- , $RONOO$
RCS	$\cdot R$, $\cdot RO$, $\cdot ROO$	
RSS	$\cdot RS$, $\cdot GS$, $GSSG^-$	

ROS: reaktif oksijen türleri; RNS: reaktif nitrojen türleri; RSS: reaktif sülfür türleri; RCS: reaktif karbon türleri

Normalde hücrelerde en büyük serbest oksijen radikali kaynağı olan mitokondriyal elektron transport zincirinde serbest radikaller oluşur. Mitokondri iç zarında yerleşmiş oksidatif fosforilasyon zinciri bileşenleri büyük oranda indirgendiği zaman mitokondriyal

süperoksit radikal üretimi artar. (Freeman ve Crapo, 1982) Vücutta fizyolojik ve patolojik koşullarda oluşan ROS, düşük seviyelerde ROS çeşitli moleküllerin kontrollü oksidasyonuna neden olur (Droge, 2002). Serbest radikaller nötrofil ve makrofajlar tarafından fizyolojik olarak üretilerek organizmaya giren patolojenlerin ortadan kaldırılmasında görev alırlar (Freitas, Gomes, Porto ve Fernandes, 2010). Bağışıklık sisteminin ve normal hücrelerin fonksiyonlarının devam edebilmesi için fizyolojik seviyede ROS gereklidir (Droge, 2002).

Organizmada serbest radikallerin oluşum ve ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde. Bu dengeye oksidatif denge denir. Oksidatif denge sağlandıkça organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşumunda artma ya da ortadan kaldırılmasında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur. Yani ROS'un aşırı veya yetersiz üretimi olduğunda hücrenin redoks durumu değişir. Bu durum oksidatif stres olarak tanımlanır ve serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki dengesizliği gösterir. Bu dengesizlik ile doku hasarı oluşur (Altan, Dinçel ve Koca, 2006). Serbest radikaller küçük boyutları ve yüksek enerjileriyle hücrel makromolekülleri okside edebilirler. Çok sayıda hücrel bileşenin kontrolsüz oksidasyonu ile oluşan oksidatif stres sonucu hücrelerde lipid peroksidasyonuna, protein oksidasyonuna, DNA mutasyon ve kırıklarına, sitotoksik etkilere ve sinyal iletilerinde bozulmaya neden olabilir (Portugala ve diğerleri, 2007; Eken, 2012).

ROS oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar antioksidan savunma sistemleri olarak bilinirler. Glutasyon, süperoksitdismutaz, E vitamini, C vitaminini örnek olarak verebiliriz (Derviş, 2011). Vücutta normal metabolizma sonucu oluşan süperoksit radikali ve H_2O_2 , süperoksitdismutaz ve glutasyon peroksidaz enzimleri kullanılarak ortadan kaldırılırlar (Konukoğlu ve Akçay, 1995). Glutasyon; glutamik asit, sistein ve glisinden oluşur. Önemli bir indirgeyici ajan ve antioksidandır. Hücrenin oksido-redüksiyon dengesini sürdürüp hücreleri endojen ve ekzojen kaynaklı oksidanların zararlı etkilerinden korumaktadır (Mitchell ve Russo, 1987). Redükte glutasyon ve glutasyon bağımlı enzimler hücreyi iç ve dış kaynaklı toksik bileşiklerden ve ROS'tan korur. Bu önemli reaksiyonlar ile membran lipidleri oksidasyona karşı korunmaktadır (Siems, Sommerurg ve Grune, 2000). Serbest radikallerin konsantrasyonundaki artış ve geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz olarak hücrel hasar meydana getirmesiyle indirgenmiş NAD^+ , GSH ve ATP

konsantrasyonundaki düşmeler hasarın büyümesine yol açar (Konukoğlu ve Akçay, 1995). Serbest radikallerin hasar verme özelliklerinden dolayı diyabet, iskemi reperfüzyon hasarı, kanser, yaşlanma, kas hastalıkları gibi birçok inflamatuvar hastalıklara yol açtığına dair çalışmalar bulunmaktadır. (Mittal, Siddiqui, Tran, Reddy ve Malik, 2014).

Safra kesesi taşı hastalarında, safra kesesi taşının serbest radikaller ile birleştiğinde mukus membrandaki inflamasyon, sekresyon ve absorpsiyonunda meydana gelen değişiklikler nedeni ile safra yolu fonksiyonlarının bozulduğu bilinmektedir. Lipit peroksidasyonu sonucu oluşan yıkılma ürünlerinin artması ve ROS'un plazmadaki seviyelerinin yükselmesi safra kesesi taşı hastalığında gözlemlenir (Geetha, 2002; Shengelia ve diğerleri, 2012). Yüksek kolesterol veya düşük safra asidi ve fosfolipid konsantrasyonları safranin litojenitesini tanımlar (Erpecum, 2011). Bu durum safra kesesi taşı ve eşlik eden kronik inflamasyonun, safra yolunda kanser gelişmesinde kritik bir rolü bulunduğundan dolayı çok önemlidir (Rakic ve diğerleri, 2014). Safra asidinin sitotoksik etkisi; oksidatif stres ve dolayısıyla apoptotik yolların uyarılması ile membran hasarı ile meydana gelir (Amaral, Viana, Ramalho, Steer ve Rodrigues, 2009). Toksik safra asidi oksidatif hasarı indükleyip reseptörleri aktive ederek hepatosit ölümüne neden olmaktadır. Endoplazmik retikulum (ER) stresi ile birlikte mitokondriyal fonksiyon bozukluğu oluşur. Oksidatif stres hepatositlerde safra tuzu oluşum mekanizmasını bozar. Mekanizma bozulması ile safra asidi miktarı artar. Safra asidi hücre membran bütünlüğünü bozar ve daha çok ROS oluşmasına neden olur. Böylece hepatositler apoptoza gider (Perez ve Briz, 2014).

Son çalışmalar bazı organlarda oluşan kronik inflamasyonun kanser gelişmesi ile bağlantılı olduğunu göstermektedir. Safra yolu kanserinde kronik kolesistit ile oluşan kronik inflamasyonun etkisi olduğu düşünülmektedir (Seki ve diğerleri, 2002). Kolesistit, safra yolunda akut veya kronik inflamasyon sonucunda oluşan ve safra kesesi taşının eşlik ettiği bir hastalıktır (Schirmer ve diğerleri (2005). Safra yolunda taş olan kolesistitli hastaların safra duvarına bakterilerin yapışması ile epitelyal hasarın derecesi paraleldir (Kosters ve Karpen, 2010). Mikrobiyal ürünler hepatositlerdeki proinflamatuvar sinyal yollarını indükleyerek safra akışının azalmasını sağlar. Hepatobiliyer taşıyıcıların baskılanması ile inflamatuvar yanıt oluşur (Aoki, Saso, Kato, Sugiyama ve Sato, 2008).

Oksidatif stresin, hiperglisemiden oluşan hücresel hasarda önemli rolü vardır. Yüksek glukoz seviyesi serbest radikallerin üretilmesini uyarmaktadır. Serbest radikaller ve

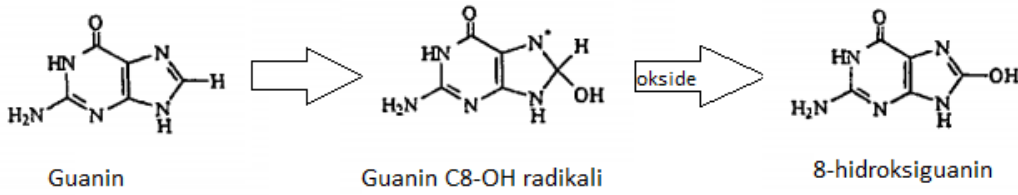
antioksidanlar arasındaki dengesizlik oksidatif stresin sonucu olarak ortaya çıkar (Tiwari, Pandey, Abidi ve Rizvi, 2013). Diyabetteki serbest radikaller, proteinlerin enzimatik olmayan yolla glikozillenmesi, glukozun oksidasyonu ve artan lipid peroksidasyonu hücresel işleyiş ve enzim hasarına sebep olduğu gibi, ayrıca artan insülin direnci de oksidatif strese neden olur (Maritim ve diğerleri (2003). Diyabette oksidatif stresin ana kaynağı mitokondridir. Mitokondride oksidatif fosforilizasyon devam ederken kullanılan oksijen sudan indirgenir ve oksijen serbest radikaline dönüşür. Önemli serbest radikallere örnek, $ONOO^-$, OH^- ve H_2O_2 'i verebiliriz (Moussa, 2008). İnsülin bildirimleri serbest radikaller tarafından 2 yolla düzenlenir. Bir taraftan insüline cevap olarak, fizyolojik fonksiyonların devamı için serbest radikaller üretilir. Diğer taraftan ise insülin direnci gelişmesinde önemli rolü vardır. Bu durumun diyabet gelişmesinde büyük etkisi bulunmaktadır. (Erejuwa, 2012).

Hiperglisemi aracılı ROS üretimi; glukozun otooksidasyonu ve süperoksit üretimi, proteinlerin glikasyonu ve ileri glikasyon son ürünlerinin (advanced glycation end-products, AGE) oluşumu ve poliol yolağı olarak başlıca üç mekanizma ile açıklanmaktadır (Bonnetfont-Rousselot, 2002). Kanda yüksek seyreden glukoz düzeyleri sonucu oluşan AGE'nin diyabetin komplikasyonlarının gelişiminde rol oynadığı düşünülmektedir (Singh, Barden, Mori ve Beilin, 2001) AGE'ler, proteinler, lipoproteinler ve/veya nükleik asitlerde bulunan azotlu grupların, indirgeyici şekerlerin karbonil grupları ile enzimatik olmayan yol ile glikasyonu sonucu oluşan heterojen bileşiklerdir. AGE oluşumunda diğer bir mekanizma ise diyabette artmış olan oksidatif strese bağlı olarak glukoz veya lipidlerin oksidasyonudur (Gradinarua, Borsaa, Ionescua ve Margina, 2013). AGE oluşumunda önemli diğer bir mekanizma ise poliol yolağıdır. Diyabete bağlı olarak ortaya çıkan yüksek miktarda glukozun bir kısmı önce sorbitole, sonrasında ise bir AGE ara ürünü olan 3-deoksiglukozon'a dönüşüp AGE oluşumuna katılmaktadır (Parmaksız, 2011). Ancak bu reaksiyonlarda NADPH ve glutatyonun tüketimine yol açtığından dolayı dolaylı olarak oksidatif stresin artmasına da neden olmaktadır (Gkogkolou ve Böhm, 2012). AGE oluşumunda etkili faktörler; proteinlerin yapım yıkım hızı, hiperglisemi derecesi ve çevresel oksidan stresin miktarı ve yaygınlığıdır (Nowotny, Jung, Höhn, Weber ve Grune, 2015). AGE formu normal metabolizmada bir miktar bulunmaktadır. Ancak dokularda ve dolaşımda yüksek düzeyde AGE bulunması patolojik bir durumdur. Proteinlere ya da hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanarak oksidatif stres ve inflamasyonu tetikler (Uribarri ve diğerleri, 2010). AGE ürünlerinin konsantrasyonu ve HbA1c değerinin diyabetin klinik

seyri ve patofizyolojisinde önemlidir. Buna iki değişken arasındaki plazma glukoz seviyeleri ve diyabet komplikasyonları ile ilişkisi olduğu düşünülmektedir (Leslie ve Cohen, 2009).

2.3.1. 8-hidroksi deoksiguanozin

Oksidatif stresin farklı mekanizmalar ile lipid, protein ve DNA gibi büyük moleküllerde hasara yol açtığı bilinmektedir. DNA'da ROS tarafından oluşan hasar; kanser, immün sistem hastalıkları ve dejeneratif hastalıklar gibi doku fonksiyonlarının bozulması ile ortaya çıkan hasarın başlıca sebebidir. Guanin DNA içerisinde en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip olduğu için serbest radikallerin etkilerine açıktır (Bkz. Şekil 2.2.) (Dizdaroğlu, Jaruga, Birincioğlu ve Rodriguez, 2002).



Şekil 2.2. Guanin ürünleri (Dizdaroğlu, Jaruga, Birincioğlu ve Rodriguez, 2002)

8-hidroksi guanin; ROS tarafından oluşan DNA hasarının büyük bir göstergesidir. Guanin, sitozin ve timin, adenin değişiminde hasar oluşmasını sağlar (Orimo, Mei, Boiteux, Tokuro ve Kasai, 2004). Guanine riboz halkası eklenmesi ile oluşan yapıya 8-hidroksiguanozin denmektedir. RNA'daki oksidatif hasarı tanımlar (Simms, Hudson, Mosior, Rangwala ve Zaher, 2014). Guanine deoksiriboz halkası eklenmesi ile oluşan yapıya ise 8-hidroksi deoksiguanozin (8-OHdG) yapısı denmektedir. Bu yapı ROS'un DNA'da yaptığı oksidatif baz hasar ürününden en sık karşılaşılan ve mutajenitesi en iyi bilinendir. ROS üretiminin artmasına sebep olan tüm etkenler, 8-OHdG oluşumuna yani oksidatif DNA hasarına katkıda bulunur. Doğrudan ROS miktarını ölçmek kısa ömürlerinden dolayı zordur. DNA hasarında ROS aktivitesinin en önemli göstergelerinden biri bu yapıdır. Eğer meydana gelen hasar onarılmazsa mutajenik hale gelir (Sova, Jukkola-Vuorinen, Pusitola, Kauppila ve Karihtalal, 2010).

Önceki çalışmalar kronik inflamasyon ve organlardaki kanserin yakın bir ilişkisi olduğunu göstermektedir. Bu bağlamda karsinojenik ve mutajenik oksidatif DNA hasarına daha fazla dikkat edilmesi gerekmektedir. Safra yolunda oluşan kronik inflamasyon safra yolu kanserindeki risk faktörlerinden biridir. Safra yolu kanserinin arka planında sıklıkla kronik kolesistit gözlemlenmektedir. 8-OHdG ekspresyonu aktif inflamasyon durumunda artmaktadır. Yapılan çalışmalarda safra yolu mukozasındaki inflamasyon ile 8-OHdG düzeylerinin ilişkili olduğu gösterilmiştir (Seki ve diğerleri, 2002). Tip 2 diyabet, artan lipid peroksidasyonu sebebiyle oluşan oksidatif stresle ilişkilidir. Diyabetli hastalarda normal hastalara göre daha fazla DNA hasarı olduğu ve 8-OHdG seviyesinin yüksek bulunduğu gözlemlenmiştir. Diyabetin sonuçlarından olan diyabetik nefropati ile serum 8-OHdG seviyesinin bağlantılı olduğu düşünülmektedir (Pan ve diğerleri, 2007).

Serbest radikallerin diyabette ortaya çıkan bütün komplikasyonların gelişmesinde önemli rolü bulunmaktadır. Ayrıca 8-OHdG düzeyleri, diyabetteki oksidatif DNA hasarının saptanmasında önemli bir belirteçtir (L. L. Wu, Chioud, Change ve J. T. Wu, 2004).

2.3.2. Nitrik oksit

Nitrik Oksit (NO), birçok organ ve dokuda bulunan ve fizyolojik olayları etkileyen, L-arjinin aminoasitinin NO sentaz (NOS) tarafından oluşan son ürünüdür. Vasküler homeostazın düzenlenmesi, nöronal iletim, mikrobiyal savunma ve immunomodulasyon gibi birçok alanda fonksiyonu vardır (Hon, Lee ve Khoo, 2002). Gen transkripsiyonu ve mRNA translasyonunu düzenler (Förstermann ve Sessa, 2012). Sağlıklı endotel hücrelerinde NO'nun yeterli düzeyde üretilmesinin önemli olduğu belirtilmiştir (Pierini ve Bryan, 2015). Santral sinir sistemindeki nöronlarda bulunan NO, birçok fizyolojik fonksiyonda nöromediatör olarak davranır. Hafızada, nöronal aktivite ve kan akışı arasındaki bağlantıda ve ağrının modulasyonunda rol alır. Periferik sinir sisteminde ise genitoüriner, solunum, sindirim düzenlenmesi ve nörolojik vazodilatasyona kadar birçok bölgede görevi bulunmaktadır. Ayrıca konak savunması ve tümör hücrelerinin, virüslerin bakterilerin ve diğer mikroorganizmalar tarafından oluşan immunolojik reaksiyonlarda da görevi vardır (N. Tuteja, Chandra, R. Tuteja ve Misra, 2004).

NOS tarafından sentezlenen NO'nun 3 farklı izoformu vardır (Förstermann ve Sessa, 2012). Bunlar; düşük miktarda üretilerek vasküler tonüsü ayarlayan endotelial izoform (eNOS),

yine düşük miktar üretilen sinaptik şekillenme ve nöronal iletimi düzenleyen nöronal izoform (nNOS) ve yüksek miktarda üretilerek, immün/inflamatuvar olaylarda rol alan ve hücre aracılı immün cevapta etkili bir bileşen olan indüklenebilir form (iNOS)'dur (Çekmen, Turgut, Törküz, Aydın ve Gözükara, 2001). nNOS ve eNOS izoenzimleri NO üretimi için Ca^{2+} kalmodulin kompleksine bağımlıdır, buna karşın iNOS bundan bağımsızdır. İndüklenebilir NOS, makrofajlarda NO üretir ve üretildiği hücreler için sitotoksik etkisi mevcuttur. Yüksek konsantrasyonda NO üretimi, hedef hücrelerdeki DNA'da hasara neden olur. Sadece mikroplar, virüsler veya tümör hücrelerine karşı değil, sağlıklı hücrelere karşı da toksiktir. İn vivo hücre ve doku hasarı ya NO'nin kendisi ya da NO ile O_2 'nin reaksiyona girmesi ile oluşan peroksintrit (ONOO^-) ile oluşur (Förstermann ve Sessa, 2012). Sitokin ve lipopolisakkaritlar; makrofajlar, hepatositler ve epitel hücreleri da dahil birçok hücre tiplerindeki iNOS ekspresyonunun indüklenmesiyle uyarılır. Hatta inflamasyon görülen dokulardaki NO üretimi ve iNOS ekspresyonu ile epitelyal hücreler malign şekle dönebilir ve bunun nedeninin NO'nin DNA'yı okside etmesi sonucu oluşan mutajenik değişiklikler oluşturması olduğu düşünülmektedir (Kitasato ve diğerleri, 2007).

Makrofajların inflamasyon ve oksidatif yanıtta büyük rolü vardır. Makrofajların NO üreterek gastrointestinal bölgedeki kasılabilirliğin bozulması ile meydana gelen patolojik durumlarda rolü olduğu ve safra yolu motilitesinin bozulmasında etkisi olduğu düşünülmektedir (Carotti ve diğerleri, 2010). Ayrıca NO ve ONOO^- hepatositlerin transkripsiyonunun düzenlenmesinde rol oynadığı bilinmektedir (Aoki ve diğerleri, 2008).

Diyabetin vasküler fonksiyon bozukluklarının patolojik mekanizmasının altında NO'nin azalması, ROS ve protrombik faktörlerin ve AGE üretiminin artması yatmaktadır (Lepedda ve diğerleri, 2016). Bozulmuş NO metabolizması tip 2 diyabette bulunmuştur. NO üretimi ile ilgili bu sonuçların insülün direnci dolayısıyla olduğu düşünülmektedir (Tessari ve diğerleri, 2010). Bütün kan damarlarının iç yüzeyindeki endotel hücreleri kan ve doku arasındaki kan akışında, dokunun beslenmesinde, tromboz ve koagülasyonda ve ayrıca lökositlerin sızmasında rol almaktadır. NO, ROS, prostoglandin ve endotelini de içeren birçok biyoaktif ürünleri üretir. NO damarları dilate eder ve endotelin kontrolünde olan vasküler gevşemede etkilidir (Beckman, Creager ve Libby, 2002). Tip 2 diyabette endotelial fonksiyon bozukluğunun patolojisinin birçok sebebi vardır. Bunlar oksidatif stres, dislipidemi ve hiperglisemidir. Yükselen glukoz seviyesi ROS oluşmasını sağlar ve böylece mitokondriyal fosforilasyon artar ve eNOS aktivite olur. Ancak, NO yetersiz kalır.

Hiperglisemi AGE oluşmasını artırır ve böylece damar yapısı ve fonksiyonları değişir (Woodman ve diğerleri (2005). NOS pH bağımlı bir enzimdir. Diyabet ile oluşan glikoliz ve ketoasidoz ile asidik durumdan NO üretimi azalır. Ayrıca kandaki glukoz hemoglobin ile bağlandığında oluşan HbA1c nitrotyol formundaki NO'ye bağlanır. Ve bu formdaki NO eritrositlerden kolay ayrılamaz. Plazmadaki ve kas hücrelerindeki NO sınırlanır. Sonuç olarak diyabetli hastalarda, NO üretiminin azalması ve NO'nun HbA1c'ye normalden daha fazla bağlanması ile NO metabolizmasının bozulması nedeniyle periferalnöropati oluştuğudüşünülmektedir (İnternet: Burke, 2015).

2.4. Kompleman Sistemi

Doğal bağışıklığın ve inflamasyonun en önemli bileşenlerindendir. Enfeksiyonla birlikte meydana gelen doku hasarından sonra, kompleman sistemi hızlıca patojenleri elimine edecek sinyalleri yollar (Jeanneau ve diğerleri, 2015). Kompleman sistemi konağın savunmasında, inflamatuvar olayların düzenlenmesinde önemli rolleri olan plazma proteinlerinden oluşur. 3 çeşit aktivasyon yolağı vardır. Alternatif ve lektin yolakları adı verilen antijenlerle antikor sunumu olmaksızın başlatılan iki yoldur. Klasik yolak ise antijenlere bağlanan belli antikor izotipleri tarafından başlatılır (Abbas ve Lichtman, 2007: 149). Aktive olmasıyla beraber; güçlü inflamatuvar mediyatörlerin üretimi, sitolitik membran atak kompleksi ('membran attack complex', MAC) oluşumu ve C3a, C5a gibi anafilotoksinler tarafından aşırı duyarlılık reaksiyonları oluşur (Ehrengruber, Geiser ve Deranleau, 1994).

2.4.1. Serum kompleman bileşeni C1q

Doğal bağışıklığın ilk önemli görevi; potansiyel patojenler ile ilişkili antijenlerin tanınmasıdır. İlk kompleman proteini olan C1'in alt ünitelerinden biri C1q'dur. C1q, immunoglobulinlere bağlanarak kompleman sisteminin klasik yolağını uyarır (Nicholsan-Weller ve Klickstein, 1999). C1q mitokondriyal permeabilite geçirgenlik porları ile ilişkilidir (Mcgee ve Baines, 2011). Kompleman bileşeni olan C1q'nun; memelilerin gelişim sürecinde işlevi korunmuştur ve doğal bağışıklığın bir ögesi olarak yabancı maddelere bağlanırlar. Doğal bağışıklığın ikinci önemli görevi ise konak hücre savunmasıdır. Doğal bağışıklık genel etki mekanizması olarak bazı moleküller aracılığı ile direkt öldürür ya da fagositoza yol açarak dolaylı yoldan öldürür. C1q; C1q reseptörleri

olarak adlandırılan lökositler üzerindeki reseptörlere bağlanarak süperoksit üretimini tetikleyerek doğrudan etki gösterebilmektedir. Konak hücre savunmasında dolaylı yoldan opsonin salınmasını ve diğer fagositoz yapan hücrelerin aktivasyonunu etkilemektedir. Doku hasarlarında ise C1q, genellikle hücre içi proteinlere bağlanır (Nicholsan-Weller ve Klickstein, 1999).

C1q; altı A, altı B, altı C zincirlerinden oluşan ve her zincirinde yaklaşık 225 aminoasit bulunan 420 kDa ağırlığında bir moleküldür. C1q'ya bağlı proteinlerden kalretikulin ve p33 normalde hücre içinde olmalarına rağmen, hücre yüzeyinde bulunurlarsa hücre hasarın göstergesi olurlar. 60kDa olan kalretikulin şaperon proteindir. 33kDa olan p33 ise mitokondriyal matriks proteinidir (Stuart ve diğerleri, 1996).

C1q'nun bağışıklık sistemi düzenlenmesinde, enfeksiyonda ve inflamasyonda önemli rolü vardır. Oluşan yanıtlar fagositozu, apoptoza giden hücrelerin artmasını, endotelial hücrelerin ve plateletlerin aktivasyonunu, T ve B hücrelerinin düzenlenmesini içerir (Vegh, Kew, Gruber ve Ghebrehiwet, 2006). Kalretikulin; endoplazmik retikulumun kalsiyum bağlayıcı proteini olarak bilinen bütün çekirdekli hücrelerde bulunan ve türler arasında korunan bir proteindir (Ghiran, Tyagi, Klickstein ve Nicholson-Weller, 2002). Hücredeki kalsiyum dengesini düzenler (Jalali, Aghasi, Yeganeh ve Mesaeli 2008). Şaperon görevi yapan kalretikulin öncelikle endoplazmik retikulumda bulunmaktadır. Membrana bağlı homolog kalneksin ile birlikte, çeşitli hücre içi bölümlere gönderilmeden önce ER'e girerek yeni glikoprotein sentezlenmesine yardım eder (Michalak, Groenendyk, Szabo, Gold ve Opas, 2009). Reseptörler ve kanallar dahil olmak üzere hücre yüzeyine sıralanmış proteinler kalretikulin için önemli bir substrattır. Apoptoza giden hücrelerin temizlenmesi, hücre adezyonu ve hücre göçü dahil olmak üzere çeşitli işlevlere aracılık eden kalretikulin, ER dışında hücre içinde birçok bölgede bulunur (Jiang, Dey ve Matsunami, 2014). Kalretikulinin fazla ekspresyonu sonucunda glikoprotein sentezinin artmasıyla birlikte safra kesesi taşı hastalarında kolesterolün arttığı gözlemlenmektedir (Zhang ve diğerleri, 2013). Ayrıca; kalretikulinin mRNA'daki glukoz taşıyıcısı 1 (GLUT-1)'de stabilizasyonu ve insülin reseptörlerinde tutulmasında rolü olduğu düşünülmektedir (Jalali ve diğerleri, 2008). Beta hücrelerinden salgılanan insülinin fonksiyon gösterememesi ve insülin direnci sonucunda hiperglisemi gelişir. Endoplazmik retikulum homeostazının insülin salgılanmasında önemli bir rolü vardır. ER dengesi bozulduğunda sinyal yollarını uyarır. ER içerisinde bulunan şaperon proteinler insülin duyarlılığını etkiler. ER'nin sitozolik

kalsiyum konsantrasyonunun düzenlenmesi ve insülin salgılanmasında önemli rolü olduğu düşünülmektedir (Mahmazi, Parivar, Rahnema, Ohadi, 2013). P33, aynı zamanda P32 olarak da bilinmektedir. P32'nin oksidatif fosforilasyonda önemli bir rolü bulunmaktadır. Öncelikle mitokondriyal matriks içinde bulunan bu protein, çekirdek, endoplazmik retikulum, golgi ve hücre yüzeyinde bulunmaktadır. Metabolik olarak aktif ve hızlı büyüyen dokularda hücre çoğalması, göçü ve adhezyonunda önemli bir rolü vardır. P32 ekspresyonunun değişmesi sonucu oluşan mitokondriyal fonksiyon bozukluğu oksidatif fosforilasyon ile glikoliz metabolizmasında bozukluklar meydana gelir (Matos ve diğerleri, 2014).

2.4.2. Serum kompleman bileşeni CD59

Kompleman aktivasyonu; sitotoksik olan MAC oluşmasında ve böylece kompleman aracılı doku hasarında etkilidir (Ghosh ve diğerleri, 2014). CD59, C9 polimerizasyonunu sınırlayan MAC formasyonunun spesifik inhibitörüdür. Memeli hücrelerindeki CD59, 18-20 kDA ağırlığında fosfatidilinozitol glikan bağlı glikoproteindir. CD59, sadece MAC formlarının inhibitörü değildir. MAC kanalı oluşmasını bloke ederek yeni MAC oluşmasını da engeller (Ghosh, Sahoo, Vaidya, Chorey ve Halperin, 2015).

Glikasyona uğramış ve glikolle okside olmuş proteinlere karşı gelişen otoantikorlar klasik kompleman yolunu aktive ederler. CD59 gibi kompleman düzenleyici proteinlerin ekspresyonun azalması veya glikasyonu sonucunda fonksiyonları bozulur ve kompleman aracılı hasarda artış olur. MAC aracılı hasarın artmasının diyabetin komplikasyonlarına etkisi olduğu düşünülmektedir (Ghosh ve diğerleri, 2015). HbA1c, diyabetin teşhisi ve takibi için çok önemlidir. Aslında, HbA1c'den ziyade, hiperglisemi aracılı glikozillenmenin etkisi vardır. Başka proteinlerin de hücre ve dokudaki glikozillenmiş seviyeleri arasında bir bağlantı gözlemlenmektedir. İnsan serum ve plazmasında glikozillenmiş CD59 (GCD59)'un diyabetin vasküler komplikasyonları ile bağlantısı olduğu tespit edilmiştir (Ghosh ve diğerleri (2014).

Bu nedenlerden dolayı; bu çalışmada, diyabet olmayan-safra kesesi taşı hastalığı olan olgularda inflamasyona bağlı oksidatif stresle, diyabetli-safra kesesi taşı hastalığı olan olgulardaki protein oksidasyonuna bağlı oksidatif stres karşılaştırılmıştır.



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Çalışma Grupları

Çalışmaya randomize olarak Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'na başvurmuş, diyabet olmayan ve semptomatik safra kesesi taşı tanısı konulmuş 26 hasta, diyabet olan ve semptomatik safra kesesi taşı tanısı konulmuş 14 hasta grubu toplandı. Bir patoloji tespit edilmemiş, yaş ve cinsiyet olarak çalışmamızdaki semptomatik safra kesesi taşı olan hasta grubuna benzer 30 kişi kontrol grubu olarak toplandı. Her hasta için vücut kitle indeksi, yaş, cinsiyet, ailesel safra kesesi taşı hastalığı, diyabet varlığı ve ailesel genetik hastalık varlığını kapsayan gönüllü anket formu dolduruldu. (Resim 3.1.)

3.1.1. Çalışmaya alınma kriterleri

Herhangi bir kanser geçmişi ve kanser hastalığı olmayan, otoimmün ve inflamatuvar hastalığı bulunmayan, oral olarak beslenebilen ve vücut kitle indeksi normal sınırlarından az olmayan gönüllü hastalar, kontrol (K) grubu çalışmaya alındı.

Semptomatik safra kesesi taşı tanısı alan ve diyabet olan çalışma grubu ('diabetic', D), semptomatik safra kesesi taşı tanısı alan ve diyabet olmayan bir çalışma grubu ('non-diabetic', ND) olmak üzere; kanser geçmişi ve kanser hastalığı olmayan, otoimmün ve inflamatuvar hastalığı bulunmayan, oral olarak beslenebilen ve vücut kitle indeksi normal sınırlarından az olmayan gönüllü hastalar test grubu olarak çalışmaya alındı.

3.1.2. Etik kurul onayı

Çalışma için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 454 karar numarası ile 22.09.2014 tarihli Etik Kurul onayı alındı (Ek 3.1.). Gönüllülerin Helsinki Deklarasyonu'na göre tüm haklarının korunduğu, çalışma hakkında bilgilendirildiği ve her türlü açıklamanın da içinde yer aldığı gönüllü anket formu düzenlendi (Resim 3.1.)

TARİH...../...../.....

GÖNÜLLÜ ANKET FORMU

TC No:

Dosya No:

Ad Soyad:

Tel:

Yaş:

Boy

Kilo

Tanı:

Safra kesesi taşı hastalığı süresi:

Diyabet tipi ve süresi (yıl):

Tedavi: Oral antidiyabetik (açıklayınız, adı, dozu, süresi)

İnsülin (açıklayınız, dozu, süresi)

Diğer düzenli alınan ilaçlar ve süreleri (Vitamin dahil):

Başka herhangi bir hastalığınız var mı, nedir? (kronik/genetik/diğerleri)

Aile bireylerinde kronik safra kesesi taşı hastalığı var mı?

Aile bireylerinden diyabeti olan var mı?

Aile bireylerinde genetik bir hastalık var mı, nedir?

Resim 3.1. Çalışmaya katılan her birey için gönüllü anket formu

3.2. Örneklerin Özellikleri

3.2.1 Örneklerin toplanması ve saklanması

Örneklerin toplanması ve saklanması sırasında kullanılan aletler

- Steril biyokimya kan alma tüpü
 - Santrifüj
 - -80 °C derin dondurucu
- Nüve
Sanyo

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Genel Cerrahi Kliniği'ne başvurup, yapılan çalışmaya katılan hastalardan örnekler toplandı. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Merkez Biyokimya Laboratuvarı'nda her gönüllüden alınan 1 adet kırmızı kapaklı biyokimya tüpünün 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmesiyle elde edilen serum kısımlara ayrıldı. Böylece her gönüllü için elde edilen serum analiz gününde kullanılmak üzere ışıktan korunarak -80 °C derin dondurucuda analiz gününe kadar saklandı. Toplanan örneklerin serumlarında 8-OHdG, NOx, C1q ve CD59 ölçümleri analiz protokollerine uygun olarak spektrofotometrik yöntemle yapıldı.

3.2.2. Örneklerin Demografik özellikleri

Çalışmaya dahil olan 70 gönüllünün yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksine gönüllü anket formu ile ulaşıldı. Ayrıca gönüllülerimizden aç karnına ve operasyon geçirenlerden operasyon öncesi olarak alınan kanlar tam biyokimya, hemogram ve HbA1c parametreleri çalışılmak üzere Gazi Üniversitesi Merkez Biyokimya Laboratuvarı ve Hematoloji Laboratuvarı'nda otomatize yöntemler yardımıyla ölçüldü. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı'na başvurmuş çalışma gruplarımızda bulunan semptomatik safra kesesi taşı tespit edilen bazı hastalara uzmanları tarafından kolesistektomi yapılmıştır. Safra kesesi taşı çapı ve safra kesesi duvar kalınlığı histopatolojik olarak Gazi Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı'nda değerlendirildi. Hastaların patoloji raporlarından safra kesesi taşı çapı ve safra kesesi duvar kalınlıklarına ulaşıldı. Çalışmaya katılan gönüllülerin ND, D ve K çalışma gruplarına göre demografik özellikleri çizelge 3.1.'deki gibidir.

Çizelge 3. 1. ND, D ve K çalışma gruplarının demografik özellikleri

	K (n=30)	ND (n=26)	D (n=14)
Yaş (yıl)	44,17 ± 2,34	45,77 ± 2,94	59,07 ± 2,25
BMI (kg/m²)	26,60 ± 1,00	27,64 ± 0,85	31,44 ± 1,45

K: kontrol çalışma grubu, ND: safra kesesi taşı olan diyabet olmayan çalışma grubu, D: safra kesesi taşı ve diyabet olan çalışma grubu, n: gönüllü sayısı, BMI: vücut kitle indeksi ('body mass index'), tüm sonuçlar Ort ± SH olarak belirtildi.

Çalışmaya katılan gönüllülerin ND, D, K çalışma gruplarının cinsiyet farklılıkları göz önünde bulundurularak elde edilen demografik özellikler çizelge 3.2.'deki gibidir.

Çizelge 3.2. Cinsiyet farklılıklarına göre ND, D ve K çalışma gruplarının demografik özellikleri

	K-Kadın (n=16) %53	K – Erkek (n=14) %47	ND – Kadın (n=18) %69	ND – Erkek (n=8) %31	D – Kadın (n=9) %64	D – Erkek (n=5) %36
Yaş (yıl)	43,31 ± 3,20	45,14 ± 3,55	47,67 ± 3,90	41,50 ± 3,64	56,78 ± 3,17	63,20 ± 1,85
BMI (kg/m²)	26,27 ± 1,62	26,97 ± 1,13	27,83 ± 1,05	27,21 ± 1,51	31,46 ± 2,24	31,39 ± 0,97

K: kontrol çalışma grubu, ND: safra kesesi taşı olan diyabet olmayan çalışma grubu, D: safra kesesi taşı ve diyabet olan çalışma grubu, n: gönüllü sayısı, BMI: vücut kitle indeksi ('body mass index'), tüm sonuçlar Ort ± SH olarak belirtildi

3.3. Uygulanan Yöntemler

Analiz gününe kadar -80 °C'de saklanan örneklerin serumlarında, analiz gününde Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde 8-OHdG, NOx, C1q ve CD59 ölçümleri analiz protokollerine uygun olarak spektrofotometrik yöntemle yapıldı.

3.3.1. Serum 8-hidroksi deoksiguanozin miktarının ölçümü

Bir oksidatif hasar belirteci olan 8-OHdG'nin serumdaki miktarını ölçmek için DNA/RNA Oksidatif Hasar ELISA Kiti (Cayman Chemical, USA) kullanılmıştır. Okside olmuş 3 guanin türü olan, DNA'dan elde edilen 8-OHdG, RNA'dan elde edilen 8-hidroksiguanozin, DNA ve RNA'dan elde edilen 8-hidroksi guanin türleri ölçülür. Rekabetçi bir ELISA Kiti olan bu kitte; sınırlı sayıdaki DNA/RNA oksidatif hasar antikörlerine karşı, oksidatif hasara uğramış bütün guanin türleri ve 8-OHdG-asetilkolinesteraz konjugatının rekabetine bağlıdır. Plaka analiz protokolüne göre inkübe edildikten sonra yıkanır, bağlanmamış reaktifler uzaklaştırılır. Ellman Reaktifi eklenerek sarı renk değişimi gözlemlenir. Spektrofotometrik olarak ölçümü yapılır (Pradelles, Grassi ve Maclouf, 1985). ELISA çalışması Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilimdalı Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

Kullanılan cihazlar

- | | |
|--------------------------|-------------------|
| • +4 C° buzdolabı | Arçelik |
| • ELISA plak okuyucu | Molecular Devices |
| • Orbital Karıştırıcı | IKA |
| • -80 C° derin dondurucu | Sanyo |
| • Vorteks | Labnet |

Örnek hazırlanması

-80 °C’de bulunan donmuş serum örnekleri analiz gününde oda sıcaklığında eritildi. Eriyen serumlar vortekslendi. Serumdaki DNA/RNA okside türlerini ölçmek için 1:25 oranında dilüe edildi.

Çözeltilerin hazırlanması

1. ELISA tampon hazırlanması: Konsantre olarak 10 mL olarak bulunan ELISA tamponu kit protokolüne göre 1:10 şeklinde seyreltilerek 50 mL çözelti hazırlandı.
2. Yıkama tamponu hazırlanması: Konsantre olarak 5 mL bulunan yıkama tampon çözeltisi kit protokolüne göre 1:400 seyreltilerek 1000 mL çözelti hazırlandı.
3. DNA/RNA oksidatif hasar ELISA standartı hazırlanması: Kitimizde şişesinde 300 ng/mL bulunan ELISA standartı kullanıldı. ELISA Standartı (EIA S): 300 ng/mL
 - Ana stok: 100µL EIA S + 900 µL distile su; 30 ng/mL
 - S1: 100 µL Ana stok + 900 µL EIA Tamponu; 3000 pg/mL
 - S2: 400 µL S1 + 500 µL EIA Tamponu; 1333 pg/mL
 - S3: 400 µL S2 + 500 µL EIA Tamponu; 592,6 pg/mL
 - S4: 400 µL S3 + 500 µL EIA Tamponu; 263,4 pg/mL
 - S5: 400 µL S4 + 500 µL EIA Tamponu; 117,1 pg/mL
 - S6: 400 µL S5 + 500 µL EIA Tamponu; 52,0 pg/mL
 - S7: 400 µL S6 + 500 µL EIA Tamponu; 23,1 pg/mL
 - S8: 400 µL S7 + 500 µL EIA Tamponu; 10,3 pg/mL

4. DNA/RNA oksidatif hasar asetilkolin (AChE) ‘tracer’ hazırlanması: Analiz yöntemine göre 96 kuyucuklu bir plak için, 100 dtn olan 1 şişe yeterlidir. 1 şişe AChE izleyici ELISA tamponu içerisinde 6 mL’ye seyreltilir.
5. DNA/RNA oksidatif hasar ELISA monoklonal antikor hazırlanması: Analiz yöntemine göre 96 kuyucuklu plak için, 100 dtn olan 1 şişe yeterlidir. 1 şişe DNA/RNA oksidatif hasar ELISA monoklonal antikor içerisine; 60µL boya eklendi ve ELISA tamponu içerisinde 6 mL’ye seyreltilir.
6. ELLMAN Reaktifi Hazırlanması: Işıktan korunan Ellman reaktifi analiz için kullanılmadan önce 20 ml distile suyla seyreltilir.

Analiz yöntemi

- Reaktiflerin plakaya eklenmesi: Çizelge 3.3.’e uygun olarak plakaya reaktifler eklendi. Plastik film tabakasıyla kaplanarak 4 °C’de 18 saat boyunca inkübe edildi.

Çizelge 3.3. Reaktiflerin plakaya eklenmesi

Kuyucuk	ELISA Tamponu	Standart/Örnek	Tracer	Antikor
Kör	-	-	-	-
TA	-	-	5 µL	-
NSB	100 µL	-	50 µL	-
B ₀	50 µL	-	50 µL	50 µL
Standart/Örnek	-	50 µL	50 µL	50 µL

TA: total aktivite; NSB: ‘non spesifik bindings’ spesifik olmayan bağlanmalar; B₀: maksimum bağlanma

- 18 saat boyunca inkübe edilen plak eritildi ve boşaltıldı. Her kuyucuğa 200 µL yıkama çözeltisi olacak şekilde 5 kez yıkandı. Kurutuldu.
- Her bir kuyucuğa 200 µL Ellman Reaktifi eklendi.
- TA kuyucuğuna 5 µL izleyici eklendi.
- Plastik film ile plaka kaplandı. Oda sıcaklığında orbital karıştırıcı ile 120 dakika karıştırıldı.
- 420 nm’de spektrofotometrik olarak ölçümü yapıldı.
- Örneklerin abdorbanları kullanılarak örneklerdeki 8-OHdG miktarı hesaplandı.

3.3.2. Serum NO_x miktarının ölçümü

NO, immunolojik, nöronal ve kardiyovasküler sistemler de dahil olmak üzere birçok biyolojik sistemi etkileyen ve fizyolojik iletili olan önemli bir moleküldür. NO'nun fizyolojik durumlarda etkili olması sonucu birçok patolojik olayda da etkili olduğu bilinmektedir (Dawson ve Dawson, 1995). NO'nın ömrü yarı saniye olduğu için ölçülmesi zordur. Bununla birlikte nitrit ve nitrat NO'nun oksidatif yolağındaki son ürünleridir. Griess reaktif sistemi, 1879 yılında Griess tarafından tanımlanan bir kimyasal diazolama reaksiyonudur. Sulfanilamid ve *N*-1-naftiletildiamin dihidroklorit (NED)'in asidik (fosforik asit) durumda 1:1 olarak dilüe edilmesi ile Griess reaktifi meydana gelir. Vanadyum III klorür eklenmesi enzimatik reaksiyon başlaması esasına dayanan NO_x ölçümü serumdaki nitrit ve nitrat miktarının spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Guistarini ve diğerleri, 2008). Steril ELISA kitinde yapılan bu çalışma, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilimdalı Laboratuvarında yapılmıştır.

Kullanılan Malzemeler

- | | |
|--------------------------|-----------------------------|
| • Steril ELISA kiti | |
| • +4 °C buzdolabı | Arçelik |
| • Hassas tartı | Shimadzu |
| • Santrifüj | Eppendorf |
| • +37 °C inkübatör | Termal Laboratuvar Aletleri |
| • ELISA plak okuyucu | Molecular Devices |
| • -80 °C derin dondurucu | Sanyo |
| • Vorteks | Labnet |

Kullanılan kimyasallar

- | | |
|-----------------------------------|-----------------------|
| • Etanol | Merck, Almanya |
| • Sülfanilamid (SA) | Sigma-Aldrich, Çin |
| • N-(1-naftil) etilendiamin (NED) | Sigma-Aldrich, A.B.D. |
| • Vanadyum (III) Klorür | Sigma-Aldrich, A.B.D. |
| • Fosforik asit | Merck, Almanya |

- | | |
|--------------------|------------------------|
| • Hidroklorik asit | Merck, Almanya |
| • Sodyum nitrat | Sigma-Aldrich, Almanya |
| • Sodyum nitrit | Sigma-Aldrich, Almanya |

Örnek hazırlanması

- -80 °C'de bulunan donmuş serum örnekleri analiz gününde oda sıcaklığında eritildi. Eriyen serumlar vortekslendi.
- Belirlenen ependorflara standart ve numunelerde 50 µL eklendi.
- Her bir ependorfa etanol'den 50 µL eklendi.
- 4 °C'de 30 dakika inkübe edildi.
- 14 000 rpm'de santrifüj edildi.
- Supernatan elde edildi.

Çözeltilerin hazırlanması

Griess reaktifi hazırlanması, 120 örnek üzerinden hesaplamalar yapılmıştır.

1. N-1-naftiletilediamin dihidroklorit (NED) hazırlanması: 0,1 N NED için; 4,8 mg tartılan NED, 4,8 mL distile suya tamamlandı.
 2. %5'lik fosforik asit çözeltisi içinde %1'lik sülfanilamit (SA): 48,5 mg SA tartılan SA, %5'lik fosforik asit çözeltisi içinde 4,8 mL'ye tamamlandı.
 3. %37'lik HCl asit içerisinde 0,05 M Vanadyum (III) Klorür hazırlanması: 80 mg tartılan vanadyum (III) klorür, 0,05 M %37'lik HCl 10 mL'ye tamamladık.
 4. Standart hazırlanması için 1 mg NaNO₃ 1000 mL içinde seyreltildi ve ana stok çözeltisi oluşturuldu. Stok çözeltisinden 17 µL alınıp, 1000 µL distile suya tamamlandı. Böylece Griess reaksiyonuna göre 200 µM NaNO₃ ana stok hazırlandı.
- Std 1: ana stok 500 µL + distile su 500 µl; 100 µM NaNO₃
 - Std 2: Std 1 500 µL + distile su 500 µL; 50 µM NaNO₃
 - Std 3: Std 2 500 µL + distile su 500 µL; 25 µM NaNO₃
 - Std 4: Std 3 500 µL + distile su 500 µL; 12,5 µM NaNO₃
 - Std 5: Std 4 500 µL + distile su 500 µL; 6,25 µM NaNO₃
 - Std 6: Std 5 500 µL + distile su 500 µL; 3,125 µM NaNO₃

Analiz yöntemi

- Elde edilen supernatanlar, belirlenen kuyucuklara 70 µL eklendi.
- İlave edilmeden önce 1:1 oranında NED:SA karıştırıldı ve Griess reaktifi elde edildi. Her bir kuyucuğa 70 µL Griess reaktifi eklendi.
- Hazırlanan Vanadyum Klorür çözeltisinden 70 µL her bir kuyucuğa eklendi.
- 37 °C’de 45 dakika inkübe edildi.
- 540 nm’de spektrofotometre ile ölçümü yapıldı.
- Örneklerin absorbanları kullanılarak örneklerdeki NO_x miktarı hesaplandı.

3.3.3. Serum kompleman bileşeni C1q miktarının ölçümü

Kompleman bileşeni olan C1q, kompleman sisteminin klasik yolağını aktive eder. Patojenin yüzeyindeki IgG veya IgM’nin Fc fragmentlerine bağlanarak savunma ve apoptotik hücre hacminde önemli rolü vardır. Lökosit ilişkili Ig için ligand görevi görür ve reseptörlerine bağlanarak immün hücre farklılaşmasını ve aktivasyonunu sınırlar (Son, Santiago-Schwarz, Al-Abed ve Diamond, 2012). Analizde insan serumunda C1q’yu sandviç ELISA esasına göre tespit eder. C1q’ya özgü poliklonal antikor ile kaplı olan mikrotiplere mevcuttur. Standart ve örneklerin içerisindeki C1q, C1q’ya özgü biotinlenmiş poliklonal antikor ve hareketsiz antikorlar tarafından sıkıştırılır. Bağlı olmayan antikorlar yıkandıktan sonra streptavidin-peroksidaz eklenir. Renk değişimi durdurulur ve spektrofotometrik yöntem ile ölçüm yapılır. Serumdaki kompleman C1q seviyesini ölçmek için, Assaymax İnsan C1q ELISA Kiti (Assaypro, ABD) kullanılmıştır. ELISA çalışması Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilimdalı Laboratuvarında yapılmıştır.

Kullanılan malzemeler

- | | |
|--------------------------|-------------------|
| • ELISA plak okuyucu | Molecular Devices |
| • -80 °C derin dondurucu | Sanyo |

Örnek hazırlanması

-80 °C’de bulunan donmuş serum örnekleri analiz gününde oda sıcaklığında eritildi. Eriyen serumlar vortekslendi. Serumdaki C1q seviyesini ölçmek için 1:100 000 oranında dilüe edildi.

Çözeltilerin hazırlanması

1. Konsantre ELISA dilüenti hazırlanması: Analiz gününe kadar soğukta saklanan çözücü içerisinde oluşan kristaller karıştırıldı ve çözüldü. Konsantre ELISA çözücüsü 1:10 oranında distile su ile seyreltildi.
 2. Biotinlenmiş insan C1q antikoru hazırlanması: Biotinlenmiş antikor 1:50 oranında ELISA çözücü ile seyreltildi. 5000 mL hazırlandı.
 3. Konsantre yıkama tamponu hazırlanması: Yıkama tamponu 1:20 oranında distile su ile seyreltildi.
 4. Streptavidin-Peroksidaz (SP) konjugatı hazırlanması: SP konjugatı 1:100 oranında ELISA çözücü ile seyreltildi. 5000 mL hazırlandı.
 5. Standart hazırlanması için, Kitimizde bulunan insan C1q standardı 40 ng’dır.
- P1: Standart(1 ml EIA ile seyreltildi) 400 µL; 40.00 ng/mL
 - P2: P1 100 µL + 300 µl EIA çözücü; 10.00 ng/mL
 - P3: P2 100 µL + 300 µl EIA çözücü; 2.500 ng/mL
 - P4: P3 100 µL + 300 µl EIA çözücü; 0,625 ng/mL
 - P5: P4 100 µL + 300 µl EIA çözücü; 0,156 ng/mL
 - P6: P5 100 µL + 300 µl EIA çözücü; 0,039 ng/mL
 - P7: 400 µL EIA çözücü; kör
 - P8: Standart (0,5 ml EIA ile seyreltildi) 400 µL; 80 ng/mL

Analiz yöntemi

- Hazırlanan insan C1q standartları ve örnekler her kuyucuğa 50 µL eklendi. Plastik bir film ile kaplandı ve oda sıcaklığında, ışıktan korunarak 2 saat inkübe edildi.

- Plak boşaltıldı. Yıkama çözeltisi her bir kuyucuğa 200 μ L eklenerek 5 kez yıkandı. Kurutuldu.
- Her kuyucuğa 50 μ L Biotinlenmiş İnsan C1q antikoru eklendi. Oda sıcaklığında, ışıktan korunarak 1 saat inkübe edildi.
- Plaka boşaltıldı. Yıkama çözeltisi her bir kuyucuğa 200 μ L eklenerek 5 kez yıkandı. Kurutuldu.
- Her bir kuyucuğa 50 μ L Streptavidin-Peroksidaz konjugatı eklendi. Oda sıcaklığında, ışıktan korunarak 30 dakika inkübe edildi.
- Plaka boşaltıldı. Yıkama çözeltisi her bir kuyucuğa 200 μ L eklenerek 5 kez yıkandı. Kurutuldu.
- Her bir kuyucuğa 50 μ L kromojen eklendi. Oda sıcaklığında, ışıktan korunarak 15 dakika inkübe edildi. Mavi renk oluştu.
- Her bir kuyucuğa 50 μ L stop çözeltisi eklendi. Renk maviden sarıya döndü.
- 450 nm ve 570 nm’de ölçümü spektrofotometrik olarak hemen yapıldı.
- Örneklerin absorbansı kullanılarak örneklerdeki C1q miktarı hesaplandı.

3.3.4. Serum kompleman bileşeni CD59 miktarının ölçümü

MAC inhibitör proteini olarak bilinen CD59’un serumdaki miktarını ölçmek için İnsan CD59 glikoproteini (CD59) ELISA Kiti (Hangzhou Biopharm, Çin) kullanıldı. Bu kit çift antikorlu sandviç ELISA prensibine bağlıdır. İnsan CD59 glikoprotein monoklonal antikoru ile kaplı mikropalakaya ilgili örnek ve standartlar eklendi. İnkübe edildi. Biotin ile etiketlenmiş CD59 glikoprotein antikoru ve Streptavidin-HRP ile kombine edilmiş CD59 glikoprotein antikoru eklendi. Bu işlemler devam ederken inkübe edildi, yıkandı bağlanmamış enzimler uzaklaştırıldı. Kromojen A ve B eklendi ve mavi renk gözlemlenir. Son olarak asit eklenerek maviden sarıya dönüşüm sağlanır ve 450 nm’de ölçüm sağlanır. ELISA çalışması Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilimdalı Laboratuvarında yapılmıştır.

Kullanılan Malzemeler

- | | |
|----------------------|-----------------------------|
| • +37 °C inkübatör | Termal Laboratuvar Aletleri |
| • ELISA plak okuyucu | Molecular Devices |

- -80 °C derin dondurucu Sanyo
- Vorteks Labnet

Örnek hazırlanması

-80 °C’de bulunan donmuş serum örnekleri analiz gününde oda sıcaklığında eritildi. Eriyen serumlar vortekslendi. Serumdaki CD59 seviyesini ölçmek için dilüe edilmedi.

Çözeltilerin Hazırlanması

1. Yıkama çözeltisi hazırlanması için, yıkama çözeltisi 1:30 oranında distile su ile seyreltildi.
2. Standart hazırlanması için kitimizde bulunan insan CD59 glikoproteini 2400 ng/L’dir ve 0,5 mL’dir. Standart çözücüsü ise 3 ml olarak bulunmaktadır.
 - Std 5: 120 µL Orijinal Standart + 120 µL Standart Çözücü; 1200 ng/L
 - Std 4: 120 µL Std5 + 120 µL Standart Çözücü; 600 ng/L
 - Std 3: 120 µL Std4 + 120 µL Standart Çözücü; 300 ng/L
 - Std 2: 120 µL Std3 + 120 µL Standart Çözücü; 150 ng/L
 - Std 1: 120 µL Std2 + 120 µL Standart Çözücü; 75 ng/L
 - Std 1-1: 120 µL Std1 + 120 µL Standart Çözücü; 37,5 ng/L

Analiz Yöntemi

- Hazırlanan CD59 standartları belirlenen kuyucuklara 50 µL eklendi. Ardından standart kuyucuklarına 50 µL Streptavidin-HRP eklendi.
- Serum örneklerinden belirlenen kuyucuklara 40 µL eklendi. Ardından 10 µL biotin ile etiketlenmiş CD59 antikoru eklendi. Son olarak 50 µL Streptavidin-HRP ilave edildi.
- +37 °C’de 60 dakika inkübe edildi.
- Mikroplaka boşaltıldıktan sonra yıkama çözeltisi ile her bir kuyucuğa 200 µL gelecek şekilde yıkama gerçekleştirildi. Bu işlem 5 kez yapıldı.

- K r için ayrılan kuyucuklar da dahil olmak üzere her bir kuyucuğa önce 50  L Kromojen A, sonra 50  L Kromojen B ilave edildi. +37  C’de 10 dakika inkübe edildi.
- K r için ayrılan kuyucuklar dahil olmak üzere her bir kuyucuğa 50  L stop çözeltisi eklendi.
- 15 dakika içerisinde 450 nm’de ölçümü yapıldı.
- Örneklerin absorbansları kullanılarak örneklerdeki CD59 miktarı hesaplandı.

3.4. İstatistiksel Analiz

Veriler SPSS 13.0 istatistik programıyla (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) değerlendirildi. Verilerin normal da ılıp da ılmadı ı Kolmogorov-Smirnov testi ile kontrol edildikten sonra iki bağımsız grup arasındaki ortalamaların farkı Mann Whitney U testi ile incelendi. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata (Ort $\pm$ SH) olarak verildi. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak alındı.



4. BULGULAR

Çalışmaya randomize olarak Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'na başvurmuş, araştırmaya dahil olma kriterlerine bağlı olarak toplam 70 hasta katılmıştır. K çalışma grubunda; semptomatik safra kesesi taşı hastalığı ve diyabet olmayan hastalardan, 16'sı kadın 14'ü erkek olmak üzere toplam 30 kişi bulunmaktadır. ND grubunda 18'i kadın, 8'i erkek olmak üzere toplam 26 hasta bulunmaktadır. D grubunda ise 9'u kadın, 5'i erkek olmak üzere toplam 14 hasta bulunmaktadır. Her çalışma grubunda bulunan hastalar için ayrı ayrı gönüllü anket formu düzenlendi (resim 3.1.). ND, D ve K çalışma grupları ayrı ayrı karşılaştırıldı.

Anket formundaki bilgilere göre çalışma gruplarındaki hastaların cinsiyet, yaş, vücut kitle indeksi, safra kesesi taşı hastalığı ve diyabet varlığı gibi demografik özelliklerine ulaşıldı. Hastaların safra kesesi taşı varlığı, ameliyat durumları, safra kesesi taşlarının büyüklükleri ve safra kesesi duvar kalınlıkları değerlendirildi. Rutin olarak bakılan tam biyokimya ve hemogramın yanı sıra, HbA1c parametreleri incelendi.

Ayrıca uygun saklama koşullarında saklanan çalışma gruplarının serumlarında CD59, C1q, 8-OHdG ve NO_x ölçümü yapıldı.

4.1. Çalışma Bulguları

4.1.1. Kontrol, diyabet olmayan safra kesesi taşı hastaları, diyabet olan safra kesesi taşı hastalarının çalışma gruplarına göre karşılaştırılması

Çalışmada bulunan ND, D ve K çalışma gruplarına ait çalışma bulguları çizelge 4.1.'de verildi.

Çizelge 4.1. Çalışma bulgularının ND, D ve K gruplarının arasında karşılaştırılması

	K (n=30)	ND (n=26)	D (n=14)
Yaş (yıl)	44,17±2,34	45,77±2,94	59,07±2,25*,**
BMI (kg/m ²)	26,60±1,00	27,64±0,85	31,44±1,45*,**

Çizelge 4.1. (devam) Çalışma bulgularının ND, D ve K gruplarının arasında karşılaştırılması

	K (n=30)	ND (n=26)	D (n=14)
HbA1c (%)	5,41 ± 0,09	5,65 ± 0,07	7,40 ± 0,81*,**
Hb (g/dL)	13,72 ± 0,29	13,58 ± 0,40	12,00 ± 0,54*,**
Nötrofil Sayısı (x10 ⁻³ /uL)	5,12 ± 0,37	5,43 ± 0,66	5,16 ± 0,39
Monosit Sayısı (x10 ⁻³ /uL)	0,84 ± 0,24	0,81 ± 0,28	1,18 ± 0,46
Lökosit Sayısı (x10 ⁻³ /uL)	8,25 ± 0,39	8,23 ± 0,65	8,16 ± 0,53
Lenfosit Sayısı (x10 ⁻³ /uL)	2,35 ± 0,16	1,94 ± 0,10	2,21 ± 0,15
BUN (mg/dL)	13,22 ± 1,04	11,47 ± 0,88	16,54 ± 2,32**
Albumin (g/dL)	4,51 ± 0,08	4,22 ± 0,13	3,98 ± 0,17*
Glukoz (mg/dL)	88,69 ± 2,07	93,81 ± 2,77	159,25 ± 23,49*,**
AST (U/L)	18,48 ± 0,99	26,25 ± 2,38*	21,06 ± 2,27
ALT (U/L)	19,66 ± 1,40	32,40 ± 6,79*	24,11 ± 3,17
AP (U/L)	62,77 ± 2,88	90,15 ± 6,37*	95,71 ± 21,42*
Kreatinin (mg/dL)	0,77 ± 0,03	0,73 ± 0,04	0,87 ± 0,09
Total Bilirubin (mg/dL)	0,45 ± 0,03	0,76 ± 0,15	1,12 ± 0,56
C1q (ng/ml)	431,35 ± 87,50	255,29 ± 63,48	194,01 ± 73,34
CD59 (ng/mL)	3,78 ± 0,76	3,35 ± 0,64	2,63 ± 1,11*
8-OHdG (pg/ml)	1579,48 ± 28,32	1626,26 ± 42,49	1647,95 ± 54,38
NOx (µM)	172,05 ± 12,06	221,93 ± 18,34*	211,00 ± 26,28
Taş Çapı (cm)		0,91 ± 0,12	1,87 ± 0,49
Kese Duvar Kalınlığı (cm)		0,38 ± 0,08	0,30 ± 0,03

n: gönüllü sayısı, K: kontrol, ND: diyabet olmayan safra kesesi taşı olan çalışma grubu ('non-diabetic'), D: diyabet ve safra kesesi taşı olan hasta grubu ('diabetic'), BMI: vücut kitle indeksi ('body mass index'), Hb: hemoglobin, BUN: kan üre azotu ('blood urea nitrogen'), AST: aspartat transaminaz, ALT: alanin transaminaz, AP: alkalin fosfat, 8-OHdG: 8- hidroksideoksiguanozin, NOx: nitrat+nitrit; tüm sonuçlar Ort ± SH olarak belirtildi. K-ND, K-D: *p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı fark, ND-D: **p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı fark,

Yaş ve BMI ortalamasına göre; D grubunda, K grubuna ve ND grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark görülmüştür ($p<0,05$). Ancak K ve ND grupları karşılaştırıldığında anlamlı bir değişim yoktur ($p>0,05$).

K ve ND gruplarının HbA1c düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemesine rağmen ($p>0,05$), D grubunda K grubuna ve ND grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksektir ($p<0,05$). K ve ND gruplarının Hb miktarlarında anlamlı bir fark yoktur ($p>0,05$). D grubunun Hb miktarı K ve ND gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır ($p<0,05$). Hastaların nötrofil, monosit, lökosit ve lenfosit sayıları K grubuna göre istatistiksel olarak farklı değildir ($p>0,05$). K ve ND grupları arasında kan üre nitrojeni (BUN) düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı değildir ($p>0,05$) ancak, D grubunda K ve aynı şekilde ND grubuna göre anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,05$). D grubunda albümin düzeyleri K grubundan istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktür ($p<0,05$), ND grubunda ise albümin miktarı K ve D gruplarından farklı değildir ($p>0,05$). D grubunda açlık kan şekeri diğer gruplardan anlamlı olarak yüksektir ($p<0,05$). Beklendiği şekilde ND grubunun kan glukoz düzeyleri K grubundan farklı değildir ($p>0,05$). AST ve ALT konsantrasyonları ND grubunda sağlıklı gönüllülerden yüksek olmasına rağmen ($p<0,05$), D grubundan farklı değildir ($p>0,05$). Diğer taraftan D ve K grupları karşılaştırıldığında AST ve ALT parametrelerinde anlamlı bir değişim yoktur ($p>0,05$). ND grubu ve D grubunun AP miktarları K grubuna göre anlamlı olarak yüksektir ($p<0,05$). Ancak ND ve D gruplarının AP düzeyleri birbirinden farksızdır ($p>0,05$). K, ND ve D gruplarının kreatinin ve total bilirubin düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0,05$). C1q ve 8OHdG miktarlarında K, ND ve D gruplar arasında anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0,05$). CD59 miktarının D grubunda K grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı gözlemlendi ($p<0,05$), ancak ND ve K grubu, ND ve D grubu kendi aralarında karşılaştırıldığında anlamlı bir değişim bulunmamaktadır ($p>0,05$). ND grubunda NOx miktarı K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yükselmiştir ($p<0,05$). Ancak D grubu K grubu ile ve aynı zamanda ND grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark görülmemiştir ($p>0,05$). ND ve D hasta gruplarında safra kesesi taşı çapı ve safra kesesi duvar kalınlığı D grubunda artmış olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşamamıştır ($p>0,05$).

4.1.2. Kontrol, diyabeti olmayan safra kesesi taşı hastaları, diyabeti olan safra kesesi taşı hastalarının çalışma gruplarının cinsiyet farklılıklarına göre karşılaştırılması

Çalışmada ND, D ve K olarak adlandırılan çalışma gruplarının cinsiyet farklılıkları göz önünde bulundurularak elde edilen bulgular çizelge 4.2'deki gibidir.

Çizelge 4.2. Çalışma bulgularının cinsiyet farklılıkları göz önüne alınarak ND, D ve K gruplarının arasında karşılaştırılması

	K-Kadın (n=16) % 53	K – Erkek (n=14) % 47	ND – Kadın (n=18) % 69	ND – Erkek (n=8) % 31	D – Kadın (n=9) % 64	D – Erkek (n=5) % 36
Yaş (yıl)	43,31 ± 3,20	45,14 ± 3,55	47,67 ± 3,90	41,50 ± 3,64	56,78 ± 3,17 **	63,20 ± 1,85 **,***
BMI (kg/m²)	26,27 ± 1,62	26,97 ± 1,13	27,83 ± 1,05	27,21 ± 1,51	31,46 ± 2,24**	31,39 ± 0,97 **
HbA1c (%)	5,35 ± 0,09	5,48 ± 0,17	5,67 ± 0,10**	5,59 ± 0,09	8,03 ± 1,22**,***	6,26 ± 0,35
Hb (g/dL)	13,25 ± 0,35	14,26 ± 0,44	12,66 ± 0,42	15,65 ± 0,17*,**	12,24 ± 0,46	11,57 ± 1,34 ***
Notrofil Sayısı (x10⁻³/uL)	4,43 ± 0,33	5,91 ± 0,64*	5,94 ± 0,92	4,27 ± 0,39	4,98 ± 0,49	5,48 ± 0,71
Monosit Sayısı (x10⁻³/uL)	0,46 ± 0,02	1,29 ± 0,48*	0,55 ± 0,05	1,40 ± 0,92	0,81 ± 0,33	1,85 ± 1,18
Lokosit Sayısı (x10⁻³/uL)	7,59 ± 0,45	9,01 ± 0,62	8,71 ± 0,91	7,15 ± 0,43 **	8,04 ± 0,69	8,37 ± 0,91
Lenfosit Sayısı (x10⁻³/uL)	2,46 ± 0,21	2,21 ± 0,26	2,01 ± 0,12	1,76 ± 0,19	2,27 ± 0,20	2,10 ± 0,25
BUN (mg/dL)	11,30 ± 0,83	15,41 ± 1,89*	9,98 ± 0,72	14,81 ± 1,94*	11,86 ± 1,47	24,98 ± 3,71 *,***,***
Albumin (g/dL)	4,48 ± 0,07	4,53 ± 0,14	4,18 ± 0,18	4,33 ± 0,19	4,18 ± 0,17	3,63 ± 0,30 **

	K-Kadın (n=16) % 53	K – Erkek (n=14) % 47	ND – Kadın (n=18) % 69	ND – Erkek (n=8) % 31	D – Kadın (n=9) % 64	D – Erkek (n=5) % 36
Glukoz (mg/dL)	86,09 ± 2,06	91,65 ± 3,68	91,97 ± 3,52	97,96 ± 4,20	160,78 ± 28,12 **	156,50 ± 46,59
AST (U/L)	17,78 ± 1,05	19,29 ± 1,77	22,81 ± 1,69 **	33,98 ± 6,15 **	21,43 ± 3,03	20,40 ± 3,72
ALT (U/L)	16,57 ± 1,08	23,20 ± 2,46	21,79 ± 2,18 **	56,25 ± 19,80 *	22,29 ± 2,70 **	27,40 ± 7,80
AP (U/L)	59,25 ± 4,41	66,79 ± 3,41	88,28 ± 6,57 **	94,38 ± 15,20	74,56 ± 3,37 **	133,80 ± 59,75
Kreatinin (mg/dL)	0,71 ± 0,04	0,84 ± 0,03 *	0,62 ± 0,02	0,98 ± 0,03 *,**	0,66 ± 0,05	1,26 ± 0,08 *,**,***
Total Bilirubin (mg/dL)	0,39 ± 0,04	0,52 ± 0,06	0,46 ± 0,07	1,40 ± 0,36 *,**	0,54 ± 0,09	2,16 ± 1,54
C1q (ng/mL)	482,84 ± 141,66	372,51 ± 98,17	244,11 ± 72,32	280,45 ± 134,38	221,90 ± 106,86	143,81 ± 82,83
CD59 (ng/mL)	4,87 ± 1,09	2,53 ± 0,96 *	3,73 ± 0,83	2,50 ± 0,96	3,73 ± 1,64	0,65 ± 0,15 **
8-OHdG (pg/ml)	1571,60 ± 37,97	1588,48 ± 43,81	1599,65 ± 56,37	1686,11 ± 53,38	1594,49 ± 79,41	1744,18 ± 24,62
NOx (µM)	179,64 ± 17,04	163,37 ± 17,35	237,40 ± 24,37	187,11 ± 20,23	234,13 ± 37,47	169,36 ± 23,61
Taş Çapı (cm)			0,86 ± 0,14	1,02 ± 0,28	1,58 ± 0,49	2,60 ± 1,40
Kese Duvar Kalınlığı			0,33 ± 0,04	0,51 ± 0,25	0,32 ± 0,04	0,25 ± 0,05

n: gönüllü sayısı, K: kontrol, ND: diyabet olmayan semptomatik safra kesesi taşı olan çalışma grubu ('non-diabetic'), D: diyabet ve semptomatik safra kesesi taşı olan hasta grubu ('diabetic'), BMI: vücut kitle indeksi ('body mass index'), Hb: hemoglobin, BUN: kan üre azotu ('blood urea nitrogen'), AST: aspartat transaminaz, ALT: alanin transaminaz, AP: alkalen fosfat, 8-OHdG: 8- hidroksideoksiguanozin, NOx: nitrat+nitrit; tüm sonuçlar Ort ± SH olarak belirtildi. K-Kadın ve K-Erkek, ND-Kadın ve ND-Erkek, D-Kadın ve D-Erkek: *p<0.05; istatistiksel olarak anlamlı fark; K-Kadın ve ND- Kadın, K-Kadın ve D-Kadın:**p<0.05; istatistiksel olarak anlamlı fark; K-Erkek ve ND-Erkek, K-Erkek ve D-Erkek:**p<0.05; istatistiksel olarak anlamlı fark; ND-Kadın ve D-Kadın, ND-Erkek ve D-Erkek: ***p<0.05; istatistiksel olarak anlamlı fark.

D-kadın, K-kadın ile ve D-erkek K-erkek ile yaş ve BMI ortalamasına göre karşılaştırıldığında anlamlı bir fark vardır ($p<0,05$). Bununla birlikte K, ND ve D grupları cinsiyet farklılıklarına göre kendi çalışma grupları arasında yaş ve BMI'leri farklı değildir ($p>0,05$). D-erkek grubunun yaş ortalaması ND-erkek grubuna göre yüksektir ($p<0,05$), ancak BMI'leri farklı değildir ($p>0,05$).

HbA1c düzeyleri kadın hastalarda K-kadın grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmıştır ($p<0,05$). Erkek hastalarda ise erkek kontrollere göre aynı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). Hb düzeyleri ND-erkek grubunda kadınlara göre anlamlı şekilde yüksektir ($p<0,05$), aynı zamanda ND-erkek grubu K-erkek grubunda da anlamlı şekilde yüksektir ($p<0,05$). Ancak D-erkek grubunda ND-erkek grubuna göre Hb ortalamasında anlamlı bir azalma vardır ($p<0,05$). Nötrofil, monosit ve lenfosit sayılarında cinsiyet farklılıkları göz önüne alınarak yapılan karşılaştırmalarda herhangi bir değişim bulunmamaktadır ($p>0,05$). Bununla birlikte lökosit sayısı ortalamasına göre sadece ND-erkek grubu ile K-erkek grubu karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşüktür ($p<0,05$). BUN ortalaması incelendiğinde; K-erkek grubunda K-kadın grubuna göre, D-erkek grubunda ise D kadın grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür ($p<0,05$). Ancak ND erkek ve ND-kadın grupları arasında anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p>0,05$). D-erkek grubunda ise hem ND-erkek grubuna göre hem de K-erkek grubuna göre BUN ortalaması karşılaştırıldığında anlamlı olarak artış vardır ($p<0,05$). Albumin düzeyleri cinsiyet farklılıkları göz önüne alınarak karşılaştırıldığında sadece D-erkek grubunda K-erkek grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. Diğer gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0,05$). Açlık kan şekeri diyabetli kadınlarda kadın kontrollere göre istatistiksel anlamlı düzeyde yüksek olmakla beraber ($p<0,05$), diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim yoktu ($p>0,05$). AST düzeyleri ND-kadın grubunda K-kadınlara göre ND-erkek grubunda ise K-erkeklere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksektir ($p<0,05$). Diğer gönüllü grupların AST miktarları arasında anlamlı fark görülmemiştir ($p>0,05$). Kadın ND ve D gruplarında ALT düzeyleri kadın K grubuna göre anlamlı olarak artmıştır ($p<0,05$). Ayrıca ND-kadın grubunda AST miktarları, ND-erkek grubuna göre anlamlı şekilde düşmüştür ($p<0,05$). ND ve D gruplarındaki kadın hastaların AP düzeyleri K-kadın grubundan anlam olarak yüksektir ($p<0,05$). Her çalışma grubundaki kadın ve erkekler karşılaştırıldığında kreatinin düzeylerinin erkeklerde kadınlara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu gözlenirken ($p<0,05$), hasta gruplarının kreatinin düzeyleri kontrollere göre daha yüksek olduğu ($p<0,05$), ND-erkek grubunda D-

erkek grubuna göre daha düşük olduğu tespit edildi ($p<0,05$). C1q düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p>0,05$). D-erkek grubunun CD59 düzeyleri K-erkek çalışma grubuna göre anlamlı olarak düşüktür ($p<0,05$). 8OHdG ve NOx düzeylerinde cinsiyet farklılıklarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir ($p>0,05$). ND ve D gruplarında cinsiyet farklılıklarına göre safra kesesi taşı çapı ve safra kesesi duvar kalınlığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).





5. TARTIŞMA

Safra kesesi taşı hastalığı riski; başta diyabet olmak üzere, kadın cinsiyeti olması, genetik, diyet, obezite, oral kontraseptif veya hormon kullanımı gibi çok sayıda faktöre bağlı olarak artmaktadır (Friedrich, Völzke, Hampe, Lerch ve Jørgensen, 2009; İnternet: Afdhal, Chopra ve Travis, 2016) Bu risk faktörleri arasında en önemli grubu diyabet ve bununla ilişkili sorunlar oluşturmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalarda diyabet olmayan hastalarda safra kesesi taşı gelişme sıklığı %13,8 - %20,8 iken, diyabet olan hastalarda bu oranın %24,8 - %32,7'ye çıktığı saptanmıştır, ancak patogenezi hala tartışılmaktadır (Chapman ve diğerleri, 1996; Pagliarulo ve diğerleri, 2004). Belirti veren safra kesesi taşı ile birlikte tip 2 diyabet bulunması her yaş grubunda rastlanma olasılığı yüksek bir sağlık sorunudur (Liu C.M., Tung, Liu J.H., Lee ve Chou, 2004). Semptomatik safra kesesi taşı hastalığı olan hastalarda diyabet sıklığı, safra kesesi taşı olmayanlara nazaran 2,4 kat daha fazladır (De Santis ve diğerleri, 1997). Diyabetli hastalarda belirti veren safra kesesi taşı nedeniyle ameliyat oranı diyabet olmayan olgulara nazaran yaklaşık 1,5 kat daha fazladır (Liu C. M. ve diğerleri, 2012). Her yıl diyabetli hastaların %3,56'sında safra kesesi taşı oluşmaktadır (Tung ve diğerleri, 2006) Ancak, diyabetin safra kesesi taşı hastalığının ilerlemesi ve diyabet olmayan hastalara göre daha yüksek oranda belirti vermesi ve ameliyata gereksinim göstermesi konusu hala tartışılmaktadır.

48 116 diyabet olmayan hasta ile, 60 734 diyabet hastası incelendiğinde, semptomatik safra kesesi taşının, hem diyabet olmayan, hem de diyabeti olan hasta gruplarında daha çok kadınlarda ortaya çıktığı anlaşılmıştır (Liu C. M. Ve diğerleri, 2012). Bizim çalışmamızda da, Gazi Üniversitesi Hastanesi'ne başvuran ve randomize olarak seçilen, diyabet olmayan safra kesesi taşı hastalığı bulunanlarda kadın/erkek oranı 2,25, safra kesesi taşı hastalığına ek olarak diyabet tanısı alan grupta kadın/erkek oranı 1,8 bulunmuştur. Chavez-Tapia ve diğerleri 399 diyabet olmayan semptomatik safra kesesi taşı hastalığı olan grupta kadın/erkek oranını 2,0 olarak bulmuşlar (Chavez-Tapia ve diğerleri, 2012), Tung ve diğerleri ise 281 tip 2 diyabet ve safra kesesi taşı hastalığı olan grupta kadın/erkek oranını 1,32 olarak saptamışlardır (Tung ve diğerleri, 2006). Bizim hem diyabet olmayan-semptomatik safra kesesi taşı hastalığı olan hem de diyabetli-semptomatik safra kesesi taşı hastalığı olan çalışma gruplarımızda, sınırlı sayıda hasta bulunmasına rağmen, kadın/erkek oranı geniş hasta serilerinde elde edilen oranlarla benzerlik göstermektedir.

Diyabetli-semptomatik safra kesesi taşı hastalığı bulunan grupta hesap edilen ortalama BMI hem kontrol grubundan ($p<0,003$), hem de diyabet olmayan-semptomatik safra kesesi taşı hastalığı olan gruptan ($p<0,011$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir. BMI'e göre insanlar $18,5 - 24,9 \text{ kg/m}^2$: normal, $25,0 - 29,9 \text{ kg/m}^2$: aşırı kilolu, $30,0 - 34,9 \text{ kg/m}^2$: sınıf 1-obezite, $35,0 - 39,9 \text{ kg/m}^2$: sınıf 2-obezite, 40 kg/m^2 ve üstü: sınıf 3-obezite olmak üzere beş farklı kategoride yer alırlar (Dixon, Zimmet, Alberti ve Rubino, 2011). Bizim çalışmamızda, kontrol ve diyabet olmayan-semptomatik safra kesesi taşı hastalığı gruplarında yer alan hastalar aşırı kilolu kategorisinde, diyabetli-semptomatik safra kesesi taşı hastalığı bulunan grupta yer alan hastalar ise BMI: $31,44 \pm 1,45$ ortalama ile obez kategoride yer almaktadır.

WHO tarafından önerilen kriterlere göre; diyabet veya insülin direncinden birisine ilaveten, hipertansiyon, hipertrigliseridemi, yüksek yoğunluklu lipoprotein ('high density lipoprotein', HDL) kolesterol düzeyinde azalma, santral obezite (BMI'nın 30 kg/m^2 'nin üzerinde olması) ve mikroalbuminürinin 20 µg/dakika 'nın üzerinde olması gibi koşullardan iki veya daha fazlasının birlikte bulunması, metabolik sendrom olarak değerlendirilmektedir (Mathieu, Pibarot ve Després, 2006). Türkiye'de 767 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada, metabolik sendrom sıklığı, Uluslararası Diyabet Federasyonu ('International Diabetes Federation', IDF) kriterlerine göre erkeklerde %23,1, kadınlarda %33,5 bulunmuştur. Kadın/erkek oranı 1,45'tir (Gündogan ve diğerleri, 2009) Metabolik sendromun WHO tarafından önerilen kriterlerinden beşinin bir arada olmasının, diyabetli-semptomatik safra kesesi taşı hastalığı riskini 4 kat artırdığı gösterilmiştir. Bu beş kriteri bir arada bulunduran kadınlarda ise diyabetli-semptomatik safra kesesi taşı hastalığı, metabolik sendrom olmayanlara nazaran 5 kat fazladır (Chen L.Y. ve diğerleri, 2012). Obezitede kolesterol sentezinin fazla olması, safrada kolesterol yoğunluğunu artırmaktadır (Bouchier, 1998: 503-516). Bu nedenle BMI ile safra kesesi taşı oluşum hızının doğru orantılı olduğu ileri sürülmektedir (Tung ve diğerleri, 2006). Aslında, safra kesesi fonksiyonu ve safra asidi metabolizması safra kesesi taşı oluşumunda iki önemli faktördür (Smelt, 2010). Diyabet ve insülin direnci, safra kesesi motilitesini ve kasılma gücünü etkileyerek safra kesesi taşı oluşumunu hızlandırır. Diyabette safra kesesi motilite bozukluğu HDL kolesterol düzeyinin azalması, trigliserid ve düşük yoğunluklu lipoprotein ('low-density-lipoprotein', LDL) düzeyinin artması ile açıklanmaktadır (Tran ve diğerleri, 2003; Berr, Pratschke, Fischer ve Paumgartner, 1992). Diyabette lipid metabolizmasında meydana gelen bu bozulma ile birlikte karaciğer kolesterol sentezi artar, safranin

kolesterolle supersaturasyonuna sebep olarak safra tuzu metabolizmasını değiştirir ve kolesterolün kristalize olarak çökmesine yol açar (Wang, Cohen ve Carey, 2009). Bizim çalışmamızda da diyabetli-semptomatik safra kesesi taşı hastalığı bulunan grupta yer alan olgularda safra kesesinden elde edilen taşların ortalama çapının, diyabet olmayan semptomatik safra kesesi taşı hastalığı bulunan olgulara nazaran daha büyük olması, Wang ve diğerlerinin bulgularını desteklemektedir. D grubundaki ortalama taş çapı ND grubuna göre yaklaşık %106 oranında büyüktür. Ancak, her iki grup arasındaki safra kesesi taşı çaplarının istatistiksel bakımdan anlamlı düzeye erişmemesi safra kesesi taşı olan diyabetli olguların sayısının artırılmasındaki zorluğa bağlı olduğu düşünülmektedir.

Bu nedenle diyabette semptomatik safra kesesi taşı hastalığı riskinin artması, hipertansiyon ve hiperlipidemi olasılığının artmasına bağlanmaktadır (Liu C.M ve diğerleri, 2012). Diyabetli hastalarda kan şekeri kontrol altında olduğunda safra kesesi boşalması diyabet olmayan bireylerden farklı değildir. Tedavisi yeterli olmayan hiperglisemik diyabet hastalarında glukotoksisiteye bağlı olarak safra kesesi kasılması ve boşalması anlamlı biçimde azalmıştır (De Boer ve diğerleri, 1994). Diyabette önemli sorunlardan biri olan hiperglisemi ve karaciğer insülin direnci, karaciğerde insülin reseptörlerinin duyarlılığının bozulması sonucu olup başlıca iki mekanizma ile safra kesesi taşı oluşumunu etkiler. Birincisi; safra yapısına giren kolesterolün taşıyıcısı olan Abcg5 ve Abcg8'in gen ekspresyonunu artırır. İkincisi; safra asidi sentezini sağlayan gen ekspresyonunu azaltır, kolesterol-lesitin-safra asidi dengesini değiştirir ve safra kesesi taşı oluşumuna uygun koşulları meydana getirir (Biddinger ve diğerleri, 2008). Diyabet hastalarında hiperglisemi aynı zamanda vagal-kolinerjik inhibisyonla safra kesesi kasılmasını ve boşalmasını azaltarak safra kesesi taşı oluşumunda etkili olur (De Boer, Masclee ve Lamers, 1992). Bizim çalışmamızda, diyabetli-semptomatik safra kesesi taşı hastalığı bulunan grupta ortalama açlık kan şekeri düzeyi $159,25 \pm 23,49$ mg/dL olup, hem kontrol grubunun ($p<0,001$), hem de diyabet olmayan-semptomatik safra kesesi taşı hastalığı bulunan grubun ($p<0,005$) ortalama kan şekeri düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksektir.

Safra kesesi taşı bulunan hastaların plazmasında ROS üretimi ve lipid peroksitlerin yıkım ürünleri artmaktadır. Bu hastaların safra kesesi mukozasında, konjuge dienlerin artmasına ek olarak plazma glutatyon, katalaz ve süperoksit dismutaz düzeylerinin azaldığı saptanmıştır. Safra kesesi duvarındaki kronik inflamasyona ilaveten safra tuzlarının

emilmesi ve sekresyonundaki değişiklikler safra kesesi taşı oluşumunda etkili faktörlerdir (Geetha, 2002). Glutasyonun %40'tan fazla azalması hücreleri oksidatif hasara duyarlı hale getirir (Ebrahimi, Fijalkowski, Cano ve Handa, 2013). Kolesterol kristalleri hem klasik hem de alternatif kompleman yollarını aktive ederek TNF-alfa, IL-1beta ve IL-6 serbestleşmesine yol açar. Monosit ve granüositler kolesterol kristallerine cevap olarak kompleman aracılı ROS üretimi ve inflamazom aktivasyonu yaparlar (Samstad ve diğerleri, 2014).

Çalışmamızda diyabet olmayan-semptomatik safra kesesi taşı hastalığı bulunan grubun ortalama plazma NOx düzeyi kontrol grubuna nazaran istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0,035$). Aslında oksidatif stress, ROS ve RNS ile meydana gelen doku hasarını ifade eder. Süperoksitler, hidrojen peroksit üretimi için süperoksit dismutazla reaksiyona girme hızından daha büyük bir hızla nitrik oksitle reaksiyona girer. NO, hücrede nanomolar düzeyde yüksek konsantrasyonda üretildiği durumlarda, süperoksitdismutazla yarışarak süperoksitle reaksiyona girer ve peroksinitritleri üretir (Li ve Shah AM, 2004; Montezano ve Touyz, 2012). Zhou ve diğerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diyabet olmayan-semptomatik safra kesesi taşı bulunan hastalarda plazma NO ve eritrosit lipoperoksit düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulmuşlardır (Zhou ve diğerleri, 2000). Yüksek plazma glukoz konsantrasyonu NOS aktivitesini ve NO sentezini (nitrat + nitrit) azaltmaktadır (Ding, Vaziri, Coulson, Kamanna ve Roh, 2000). Nitekim tip 2 diyabet bulunan hastalarda NOS ekspresyonunun diyabet olmayan hastalara nazaran azaldığı gösterilmiştir (Safiah Mokhtar ve diğerleri, 2013). Dzugkoev ve diğerleri deneysel koşullarda oluşturulmuş diabetes mellitus'un oksidatif stresi artırmasına rağmen kanda total NO konsantrasyonunu azalttığını göstermişlerdir (Dzugkoev, Metel'skaya ve Dzugkoeva, 2013). Aslında, NO ve süperoksit sitoplazma içinde bir denge halindedir (Rubbo, Darley-USmar, Freeman, 1996). NO sentez hızı NO'nin oksidan veya antioksidan etkisi için bir ölçüdür (Rubbo ve diğerleri, 1995). Süperoksit radikallerle serum nitrit düzeyi arasındaki korelasyon NO'nin antioksidan etkisini gösterir (Zunic, Colic, Vuceljic, 2009). İmmünohistokimyasal yöntemlerle reaktif oksijen radikalleri tarafından sentezlenen bir DNA baz modifikasyon ürünü olan 8-OHdG, safra kesesi taşı hastalığında safra kesesi mukozasında yaygın olarak bulunduğu gösterilmiştir (Seki ve diğerleri, 2002). Bu bulgu safra kesesi epitel hücrelerinde oksidatif DNA hasarının varlığını ortaya koymaktadır. Mukozada görülen DNA hasarı safra kesesi taşı hastalığı ile safra kesesi karsinoması arasında bir ilişkinin bulunduğu biçiminde

yorumlanmaktadır (Seki ve diğ erleri, 2002). Ancak, incelediğ imiz kaynaklarda kronik safra kesesi taşı hastalığı bulunan olgularda epitelyal DNA hasarının varlığının bilinmesine rağmen, varsayılan oksidatif strese karş ın sistemik antioksidan cevap olup olmadığına ilişkin bir veriye rastlanmıştır. Bizim  alışmamızda ND ve D olgularda serum 8-hidroksideoksiguanozin düzeyleri kontrol grubuna nazaran istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte ND grupta %3 oranında D grubunda ise yaklaşık %4,5 oranında artmıştır. Bu değ erlerin taş hastalığı bulunan safra kesesi mukozasında daha yüksek olması beklenmektedir. Ayrıca hem D hem de ND gruplarda kontrollere nazaran protein oksidasyon oranının yüksek olduğu dikkate alındığında, serumda antioksidan kapasite ile radikallerin süpürüldüğü göz önünde bulundurularak serum 8-hidroksi deoksiguanozin düzeylerinin anlamlı biçimde artması beklenmemektedir.

Her iki çalışmanın sonuçları da, bizim bulgularımızı desteklemektedir. Bizim  alışmamızdaki diyabetli hasta grubunda elde edilen ortalama NOx değ eri hem kontrol grubundan hem de diyabet olmayan gruptan farklı değildir. Ancak hem diyabetli, hem de diyabet olmayan grupta, safra kesesi taşı hastalığı nedeni ile NOx değ erlerinde artma beklenirken, NOx değ eri sadece diyabet olmayan grupta kontrollerden yüksek bulunmuştur ($p<0,035$). Tip 2 Diyabetli-safra kesesi taşı hastalığı bulunan grupta, karboniller serbest amino grupları ile reaksiyona girerek glikasyona ve hüresel hasara yol açar. Protein oksidasyonunda primer neden NO değildir (Sing, Barden, Mori T ve Beilin L, 2001). Diyabetli hastalarda diyabet olmayan-safra kesesi taşı hastalığı bulunan gruba nazaran NOx değ erlerinde azalma saptanmış, ancak bu azalma anti-diyabetik tedavi almama ve safra kesesi taşı bulunma  n şartı ile randomize olarak çalışmaya alınan olgu sayısının artırılmasındaki büyük zorluk nedeni ile istatistiksel bakımdan anlamlı düzeye erişememiştir.

Obez-tip 2 diyabet, diyabet olmayan obez ve obez olmayan tip 2 diyabetli hastaların mitokondrilerinde kontrol grubuna göre daha fazla ROS üretildiği ve mitokondriyal ROS üretiminin mitokondriyal antioksidan enzimlerde azalma ile birlikte olduğu gösterilmiştir. Ancak, antioksidan kapasitede en fazla azalmanın obez-tip 2 diyabet hasta grubunda olduğu anlaşılmıştır (Chattopadhyay ve diğ erleri, 2015).

Protein karbonilasyonu, proteinlerin enzimatik olmayan oksidatif post-translasyonel modifikasyonu olup, oksidatif strese maruziyetin belirtici olarak kullanılmaktadır. Obezite

veya tip 2 diyabette oksidatif stresin artması kompleman ve antioksidan kapasiteyi destekleyen birçok proteinin karbonilasyonuna sebep olur (Bollineni, Fedorova, Blüher ve Hoffmann, 2014) Diyabette proteinlerin aminoasit yan zincirlerinin ROS ile oksidasyonu sonucu ortaya çıkan oksidasyon ürünleri arasında yer alan glikasyon son ürünleri, albümin, HbA1c, C1q ve CD59 tanı ve tedavide son derece önemlidir (Madian ve Regnier, Mart 2010, Ağustos 2010; Roohk ve Zaidi, 2008; Ghosh ve diğerleri, 2014). Obezite veya kronik safra kesesi taşına bağlı inflamasyon bulunan hastalarda reaktif oksijen ve nitrojen radikallerinin meydana getirdiği doku hasarı son derece iyi bilinmektedir. Ancak, obez-diyabetli-safrakesesi taşı hastalığı ile birlikte bulunan olgularda ortaya çıkan oksidatif stresin sebep olduğu protein oksidasyonu konusundaki bulgular son derece kısıtlıdır. Bizim çalışmamızda; safra kesesi taşı hastalığında diyabetin protein oksidasyonu aracılığı ile doku hasarına katkı mekanizması tartışılmıştır.

Oksidatif stresle protein oksidasyonu başlıca altı yolla meydana gelir, bunlardan üç tanesi önemlidir; 1. Sistein oksidasyonu ile proteinler arasında disülfid bağlarının oluşması, 2. Okside aminoasitlerin yan zincirleri üzerinde karbonil grupları arasında “Schiff bazı” oluşumu, 3. Karbonile glikasyon son ürünü (AGE) ve bir diğer proteinler arasında “Schiff bazı” oluşumu (Madian ve Regnier, Ağustos 2010). Glikasyon, diyabet hastalarında doku hasarına sebep olan en önemli mekanizmadır. Glikasyon, glukozun proteinlerin amino grupları ile “Schiff bazı” oluşumudur. Glikasyondan etkilenen amino grubu proteinin aktif bölgesinde ise, glikasyona uğrayan protein işlevini kaybeder. Hemoglobinin beta zincirindeki valin ve lizinin amino grupları glikasyona uğradığında HbA1 olur ve 2,3-difosfogliserata cevabı azalırken oksijene afinitesi artar ve doku oksijenasyonu azalır. Hipoksiye bağlı doku hasarı gelişir (McDonald, Bleichman, Bunn ve Noble, 1979; John, 1997). Birçok diyabet organizasyonu ve Amerikan Diyabet Derneği (‘The American Diabetes Association’, ADA) diyabet hastalarında glisemik kontrol için HbA1c’nin eşik değerinin %6,5’tan az olmasını önermektedir (American Diabetes Association, 2010). Diyabet hastalarının takibinde ve diyabete bağlı kronik komplikasyonların azaltılması için glisemik kontrolün sağlanmasında “altın standart” HbA1c’dir (Lapolla, Traldi ve Fedele, 2005). HbA1c’nin eritrositlerin ortalama ömür sürelerinden daha fazla süre stabil durumda bulunması ve HbA1c düzeyinin zaman içinde ortalama glukoz konsantrasyonuna bağlı olması nedeni ile glikasyon ürünü olarak HbA1c ölçümleri, ölçüm yapılmadan önceki 4-6 hafta süresince yüksek glukoz maruziyetini yansıtır. HbA1c değerleri önceki 4-8 hafta içindeki glukoz düzeyleri ile lineer korelasyon gösterir. Bu zaman periyodundan sonra

HbA1c düzeyinin azalması diyabet hastasının kan glukoz değerlerinde düzelmeyi yansıtır (Schwartz, 1995; Larsen, 1997). Bizim çalışmamızda, diyabetli-safra kesesi taşı olan olgularda ortalama HbA1c düzeyleri hem kontrol grubuna ($p<0,000$), hem de diyabet olmayan-safra kesesi taşı hastalığı olan olgulara ($p<0,001$) göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Bu bulgular, diyabetli-safra kesesi taşı olan olgularda diyabete yeni tanı konulduğunu veya tedavi ile kontrol altına alınmadığını ortaya koymaktadır. Bu hastalarda, ortalama Hb değerlerinin hem kontrol grubuna ($p<0,008$), hem de diyabet olmayan-safra kesesi taşı hastalığı olan olgulara ($p<0,020$) göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunması, glikasyona uğrayan Hb'nin işlevini kaybettiğini ve doku oksijenasyonunun azaldığını göstermektedir.

Hb glikasyonunda olduğu gibi diğer serum proteinlerinin glikasyonu da kronik yüksek glukoz konsantrasyonu ile orantılıdır (McDonald ve Davis, 1979). Proteinlerin enzimatik olmayan glikasyonu veya “Maillard” reaksiyonu olarak isimlendirilen süreç, kronik hiperglisemiye bağlı olarak diyabetin kronik komplikasyonlarının gelişmesine sebep olan değişiklikleri yansıtır (Brownlee, Cerami ve Vlassara, 1998). “Maillard” reaksiyonu erken evre, ara evre ve geç evre olmak üzere üç aşamada meydana gelir. Erken evrede glukoz veya fruktoz, pentoz, galaktoz ve mannoz gibi diğer redüktif şekerler, proteinler, nükleik asitler, ve lipidlerin serbest amino grupları ile reaksiyona girerek “Schiff bazı” denilen stabil olmayan bir “aldimin” bileşiği meydana getirirler. “Schiff bazı” daha sonra “Amadori ürünü” denilen stabil bir ketoamine dönüşür. Ara evrede oksidasyon ve dehidrasyon reaksiyonları ile “Amadori ürünü”, glioksal, metilglioksal, deoksiglukozonlar gibi çeşitli karbonil bileşiklere parçalanır. Bunlar şekerlerden daha reaktif bileşiklerdir ve proteinlerin amino grupları ile tekrar reaksiyona girerler (Lapolla, Traldi ve Fedele, 2005). Plazma konsantrasyonunun ve reaktivitesinin yüksek olması nedeni ile metilglioksal en önemli *in vivo* karbonildir (Thornalley, 1996). Geç evrede bu karbonillerin serbest amino grupları ile tekrar reaksiyona girmesi ile AGE denilen suda erimeyen ve geri-dönüşsüz bileşikler meydana gelir. Bunlar proteinler üzerinde birikir; çapraz bağlanarak özel hücrel reseptörlerle etkileşerek veya intrasellüler glikasyona sebep olarak hasara yol açarlar (Sing, Barden, Mori ve Beilin, 2001). İnsan serum albumini yaklaşık 30-50 g/L olup, insan total serum veya plazma proteinlerinin %60'ını oluşturur. 585 aminoasit, 17 disülfid zincirinden meydana gelen bir polipeptittir. Albuminin N-terminal ucu ve 59 lizin molekülü erken evrede glikasyona uğrayan potansiyel bölgeleridir. Ayrıca, N-terminali ve 59 lizin boyunca bulunan 24 arjinin amino asiti de oksidatif strese maruz kalır. Glikasyona

uğramış albümin kronik ilerleyici diyabet komplikasyonları bakımından önemlidir. Diyabeti hastalarda potansiyel glikasyon bölgelerinin oksidatif strese maruz kalarak serbest radikal süpürme kapasitesinin azaldığı gösterilmiştir (Neelofar, Arif, Alam ve Ahmad, 2016). Uzun süreli hiperglisemi albüminin enzimatik olmayan glikasyonuna yol açarak insan serum albümininin anti-oksidan özelliğini ortadan kaldırmaktadır (Raghav, Ahmad ve Alam, 2016). Bizim çalışmamızda, diyabet olmayan-safra kesesi taşı hastalığı olan olgularda kontrollere oranla serum albümin düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olmasa da bir miktar azalma olmuştur. Serum albümin düzeyindeki bu azalma diyabetli-safra kesesi taşı hastalığı olan olgularda kontrollere oranla istatistiksel olarak anlamlı düzeye erişmiştir ($p<0,002$). Ancak, diyabet olmayan-safra kesesi taşı hastalığı olan olgularla diyabetli-safra kesesi taşı hastalığı olan olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın görülmemesi, safra kesesi taşı hastalığı nedeni ile üretilen oksidatif strese karşı albüminin antioksidan kapasite sağlaması olarak yorumlanmıştır. İnsan serum albümininin yarılanma ömrü 12-21 gün olduğundan, stabil olmayan glukoz konsantrasyonu gösteren, hemolitik anemisi bulunan sık kan transfüzyonu yapılan veya polimorfik hemoglobin olan diyabet hastalarında diyabet izlenme belirteci olarak HbA1c yerine glikasyona uğramış serum albümin düzeylerinin ölçülmesi önerilmektedir (Roohk ve Zaidi, 2008; Guerin-Dubourg, Catan, Bourdon ve Rondeau, 2012; Bry, Chen ve Sacks, 2001). Bizim bütün olgularımızda vücut-kitle indeksinin aşırı kilolu veya sınıf 1. obez olması ve malnütrisyonu sebep olan ek hastalıklarının bulunmaması neden ile glikasyon sonucu ortaya çıkan albümin eksikliği, doğrudan çalışma gruplarının serum albümin düzeyleri arasındaki fark dikkate alınarak tartışılmıştır. Glikasyon sonucu meydana gelen “Amadori” ürünleri serum albümin ölçümlerinde, yapısal albümin eksikliği olarak ortaya çıkmaktadır.

Klinik bulgular, diyabette ortaya çıkan komplikasyonlarla kompleman sisteminin özellikle de kompleman düzenleyici protein CD59’un son derece yakın ilgisi bulunduğunu göstermektedir (Ghosh ve diğerleri, 2014; Acosta ve diğerleri, 2000). Kompleman aktivasyonu, sitotoksik, por meydana getirerek doku hasarına sebep olan MAC oluşumu ile sonuçlanır. MAC’ın hücre membranına integrasyonu ile serbestleşen sitokinler, inflamasyon, trombüs oluşumu ve hücre proliferasyonuna yol açar (Qin ve diğerleri, 2004). CD59 memeli hücre yüzeylerinde yaygın olarak eksprese edilen bir kompleman düzenleyici proteindir. CD59, MAC oluşumunu özgün olarak inhibe ederek hücrenin kendisini kompleman aracılı hasardan korur (Meri S1 ve diğerleri, 1990). Diyabette CD59’un glikasyon sonucu enzimatik olmayan inhibisyonu MAC birikimi ile sonuçlanır

(Qin ve diğerleri, 2004). CD59 ile HbA1c arasında pozitif bir korelasyon olup, diyabetli hastanın tanı ve izlenmesinde önemlidir. Çok geniş diyabetli olgu serilerinde CD59'un glikasyonla inaktivasyonunun istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı gösterilmiştir (Ghosh ve diğerleri, 2014) Bizim çalışmamızda, diyabetli-safra kesesi taşı hastalığı olan olgularda, plazma glukoz düzeyinde kontrollere oranla istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır ($p<0,001$). Diyabet olmayan-safra kesesi taşı hastalığı olan olguların ortalama plazma glukoz düzeyi, diyabetli-safra kesesi taşı hastalığı olan olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı olarak düşüktür ($p<0,005$). Buna karşılık, ortalama CD59 düzeyinde ise sadece diyabetli-safra kesesi taşı hastalığı olan olgularda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma vardır ($p<0,036$). Bu sonuç, diyabetli-safra kesesi taşı hastalığı olan olgularda CD59'un glikasyona uğradığını açıkça göstermektedir. Ancak, diyabet olmayan-safra kesesi taşı hastalığı olan olgularla diyabetli-safra kesesi taşı hastalığı olan olgular arasında CD59 düzeyleri bakımından bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Bu sonuç, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da diyabet olmayan-safra kesesi taşı hastalığı olan olgularda CD59 düzeyinin bir miktar düştüğünü göstermektedir. Nitekim kontrollere göre $p=0,440$ iken diyabetli gruba göre $p=0,212$ olarak bulunmuştur.

Safra kesesi taşı oluşumunda; safrada kolesterol süpersaturasyonu, kolesterolün taş oluşumu için çekirdek meydana getirmesi ve safra kesesi motilitesinde azalma olmak üzere başlıca üç faktör rol oynar. Bu faktörlerin tümü immün ve inflamatuvar cevapların meydana gelmesinde etkilidir (Lyons ve Wittenburg, 2006). Aslında safra kesesi taşı hastalığında inflamasyon safrada kolesterol kristallerinin ve safra kesesi taşının oluşması ile birlikte meydana gelen bir süreçtir (Rege ve Prystowsky, 1998). Buna ek olarak safra kesesi duvarında oksidatif strese karşı antioksidan cevap tüketilmiştir (Xiao, Amaral, Biancani ve Behar, 2005). Antioksidan kapasitenin önemli bölümünü oluşturan glutatyonda azalma hücre redoks dengesini değiştirerek komplemanların transkripsiyonel aktivasyonuna sebep olur. Sonuçta, kompleman düzenleyici CD46, CD55 ve CD59 azalmasına sebep olarak kompleman aktivasyonu yapar (Wang ve diğerleri, 2014). Bu durum, oksidatif strese genel bir cevaptır (Thurman ve diğerleri, 2009). CD59'da azalma MAC oluşumunu artırır (Thimmulappa ve diğerleri, 2006). Buna karşılık, C1q (kompleman 1q bağlayıcı protein) mitokondriyal permeabilite transizyon porlarının temel yapısıdır ve hücreyi oksidatif strese karşı korur. C1q da azalma oksidatif strese bağlı hücre ölümünü artırır (McGee ve Baines, 2011). Bizim çalışmamızda, diyabet olmayan-safra kesesi taşı hastalığı olan olgularda inflamasyona bağlı, diyabetli-safra kesesi taşı hastalığı

olan olgularda ise hem inflamasyon hem de hiperglisemi ve protein glikasyonu ile sonuçlanan oksidatif stres meydana gelmektedir. C1q düzeyi diyabet olmayan-safra kesesi taşı hastalığı olan olgularda kontrollere göre 1,7 kat azalmış, diyabetli-safra kesesi taşı hastalığı olan olgularda ise 2,2 kat azalmıştır. Bu sonuçlar, diğer bulgularımızı desteklemektedir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Bu çalışmada, diyabet olmayan-safra kesesi taşı hastalığı olan olgularda inflamasyona bağlı oksidatif stresle, diyabetli-safra kesesi taşı hastalığı olan olgulardaki protein oksidasyonuna bağlı oksidatif stres karşılaştırılmıştır. Semptomatik safra kesesi taşı hastalığı olanlarda diyabet sıklığının, safra kesesi taşı olmayanlara nazaran 2,4 kat daha fazla olduğu dikkate alındığında oksidatif stresin kompleman sistemine etkilerinin safra kesesi taşı hastalığının ilerlemesine etkisi irdelenmiştir.
2. Diyabet olmayan-safra kesesi taşı hastalığı olan olgularda inflamasyona bağlı oksidatif strese reaktif oksijen ve nitrojen radikallerinin üretimi önceliklidir. Oksidatif stresin şiddeti, albümin-ilişkili antioksidan kapasitesinde bir azalma meydana getirmez. Ancak hem CD59, hem de C1q düzeyleri bu oksidatif stresten etkilenir.
3. Diyabetli-safra kesesi taşı hastalığı olan olgularda inflamasyona bağlı oksidatif streste NO üretimi daha az etkilidir, hiperglisemiye bağlı protein glikasyonu sonucu albümin-ilişkili antioksidan kapasitede azalma, hemoglobinde azalma, HbA1c'de artma, CD59 glikasyonu sonucu MAC oluşumunda artma ve C1q'da azalma hücre hasarında ve safra kesesi taşı hastalığının ilerlemesinde daha fazla etkilidir.
4. Yaptığımız kaynak taramalarına göre diyabetli-safra kesesi taşı hastalığı olan olgularda meydana gelen oksidatif stresin kompleman sistemi aracılığı ile doku hasarı ve hastalığın ilerlemesine etkisine ilişkin başka bir çalışmaya rastlanmamıştır.
5. Bu ön çalışmanın olgu sayısı artırılarak diyabetli-safra kesesi taşı hastalığında daha etkin anti-diyabetik veya antioksidan tedavi girişimleri yapılabilir.



KAYNAKLAR

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H. (2007). *Temel İmmünoloji*. (Çev. Y. Camcıoğlu ve G. Deniz). İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık, 149.
- Acosta, J., Hettinga, J., Flückiger, R., Krumrei, N., Goldfine, A., Angarita, L., Halperin, J. Molecular basis for a link between complement and the vascular complications of diabetes. *Proceedings of The National Academy of Sciences of USA*, 97(10), 5450-5455.
- Admirand, W. H., Small, D. M. (1968). The Physicochemical Basis of Cholesterol Gallstone Formation in Man. *The Journal of Clinical Investigation*, 47, 1043-1052.
- Afamefuna, S., Allen, S. N. (2013). Gallbladder disease: pathophysiology, diagnosis, and treatment. *US Pharmacist*, 38(3), 33-41.
- Akçal, T. (2002). Akut ve Kronik Kolesistit. *İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Eğitim Sempozyumu Hepatobilier Sistem ve Pankreas Hastalıklarında sunuldu*, 28, 141-147.
- Alrefai, W. A., Gill, R. K., (2007). Bile acid transporters: structure, function, regulation and pathophysiological implications. *Pharmaceutical Research*, 24(10), 1803-1823.
- Altan, N., Dinçel, A. S., Koca, C. (2006). Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Turkish Journal of Biochemistry*, 31(2), 51-56.
- Amaral, J. D., Viana, R. J. S., Ramalho, R. M., Steer, C. J., Rodrigues, C. M. P. (2009). Bile acids: regulation of apoptosis by ursodeoxycholic acid. *Journal of Lipid Research*, 50 (9), 1721-1721.
- American Diabetes Association. (2010). Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*, 33, 11-61.
- American Diabetes Association. (2013). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 36(1), 67-74.
- American Diabetes Association. (2014). Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*, 37(1), 70-97.
- American Diabetes Association. (2015). Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*, 38(1), 8-16.
- Aoki, K., Saso, N., Kato, S., Sugiyama, Y., Sato, H., (2008). Nitric oxide and peroxynitrite regulate transporter transcription in rat liver slices. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 31(10), 1882-1887.
- Aouacheri, O., Saka, S., Krim, M., Messaadia, A., Maidi, I. (2015). The investigation of the oxidative stress-related parameters in type 2 diabetes mellitus. *Canadian Journal of Diabetes*, 39(1), 44-49.

- Baig, S. J., Biswas, S., Das, S., Basu, K., Chattopadhyay, G. (2002). Histopathological changes in gallbladder mucosa in cholelithiasis: correlation with chemical composition of gallstones. *Tropical Gastroenterology*, 23, 25-27.
- Beckman, J. A., Creager, M. A., Libby, P., (2002). Diabetes and atherosclerosis epidemiology, pathophysiology and management. *The Journal of the American Medical Association*, 287(19), 2570-2581.
- Berr, F., Pratschke, E., Fischer, S., Paumgartner, G. (1992). Disorders of bile acid metabolism in cholesterol gallstone disease. *Journal of Clinical Investigation*, 90(3), 859-868.
- Beyler, A. R. (1998). Dispepsili Hastalarda Safra Taşı Sıklığı ve Operasyon Oranı. *The Turkish Journal of Gastroenterology*, 9(3), 257-258.
- Biddinger, S.B., Haas, J.T., Yu, B.B., Bezy, O., Jing, E., Zhang, W., Unterman, T.G., Carey, M. C., Kahn, C.R. (2008). Hepatic insulin resistance directly promotes formation of cholesterol gallstones. *Nature Medicine*, 14(7), 778-782.
- Blitzer, B. L., Boyer, J. L. (1982). Cellular mechanism of bile formation. *Gastroenterology*, 82, 346-357.
- Bodmer, M., Brauchli, Y. B., Jick, S. S., Meirer, C. R. (2011). Diabetes mellitus and the risk of cholecystectomy. *Digestive and Liver Disease*, 43, 742-747.
- Bollineni, R.C., Fedorova, M., Blüher, M., Hoffmann, R. (2014). Carbonylated plasma proteins as potential biomarkers of obesity induced type 2 diabetes mellitus. *Journal of Proteome Research*, 13(11), 5081-5093.
- Bonnefont-Rousselot, D. (2002). Glucose and reactive oxygen species. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 5 (5), 561-568.
- Bouchier, I.A.D. (1998). Gallstones: formation and epidemiology. In L.H. Blumgart (Ed.), *Surgery of the Liver and Biliary Tract*. Edinburgh, Churchill livingstone, pp. 503-516.
- Brownlee, M., Cerami, A., Vlassara, H. (1988). Advanced glycosylation end products and the biochemical basis of diabetic complications. *The New England Journal Of Medicine*, 318, 1315-1321.
- Bry, L., Chen, P.C., Sacks, D.B. (2001). Effects of hemoglobin variants and chemically modified derivatives on assays for glycohemoglobin. *Clinical Chemistry*, 47(2), 153-163.
- Carotti, S., Guarino, M. P. L., Cicala, M., Perrone, G., Alloni, R., Segreto, F., Rabitti, C., Morini, S., (2010). Effect of ursodeoxycholic acid on inflammatory infiltrate in gallbladder muscle of cholesterol gallstone patients. *Neurogastroenterolgy and Motility*, 22(8), 866-872.

- Chapman, B. A., Wilson, I. R., Frampton, C.M., Chisholm, R. J., Stewart, N. R., Eager, G. M., Allan, R. B. (1996). Prevalence of gallbladder disease in diabetes mellitus. *Digestive Diseases and Sciences*, 41(11), 2222-2228.
- Chattopadhyay, M., Khemka, V.K., Chatterjee, G., Ganguly, A., Mukhopadhyay, S., Chakrabarti, S. (2015). Enhanced ROS production and oxidative damage in subcutaneous white adipose tissue mitochondria in obese and type 2 diabetes subjects. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 399(1-2), 95-103.
- Chau, C. H., Tang, C. N., Siu, W. T., Ha, J. P. Y., Li, M. K. W., (2002). Laparoscopic cholecystectomy versus open cholecystectomy in elderly patients with acute cholecystitis: retrospective study. *Hong Kong Medical Journal*, 8, 394-399.
- Chavez-Tapia, N. C., Kinney-Novelo, I. M., Sifuentes-Renteria, S. E., Torres-Zavala, M., Castro-Gastelum, G., Sanchez-Lara, K., Paulin-Saucedo, C., Uribe, M., Mendez-Sanchez, N. (2012). Association between cholecystectomy for gallstone disease and risk factors for cardiovascular disease. *Annals of Hepatology*, 11(1), 85-89.
- Chen, L.Y., Qiao, Q.H., Zhang, S.C., Chen, Y.H., Chao, G.Q., Fang, L.Z. (2012). Metabolic syndrome and gallstone disease. *World Journal of Gastroenterology*, 18(31), 4215-4220.
- Çekmen, M., Turgut, M., Türköz, M., Aygün, D., Gözükar, E. M., (2001). Nitric oxide (NO) and nitric oxide synthase (NOS): physiologic and pathologic characteristics. *Türkiye Klinikleri Pediatri Dergisi*, 10(4), 226-235.
- Dawson, T.M., Dawson, V.L. (1995). Nitric oxide: Actions and pathological roles. *The Neuroscientist*, 1, 7-18.
- De Boer, S.Y., Masclee, A.A., Lam, W.F., Lemkes, H.H., Schipper, J., Fröhlich, M., Jansen, J.B., Lamers, C.B. (1994). Effect of hyperglycaemia on gallbladder motility in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*, 37(1), 75-81.
- De Boer, S.Y., Masclee, A.A., Lamers, C.B. (1992). Effect of hyperglycemia on gastrointestinal and gallbladder motility. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 194, 13-18.
- De Santis, A., Attili, A. F., Ginanni Corradini, S., Scafato, E., Cantagalli, A., De Luca, C., Pinto, G., Lisi, D. (1997). Gallstones and diabetes: a case-control study in a free-living population sample. *Hepatology*, 25(4), 787-790.
- Derviş, E. (2011). Oral antioksidanlar. *Dermatoz*, 2(1), 263-267.
- Ding, Y., Vaziri, N.D., Coulson, R., Kamanna, V.S., Roh, D.D. (2000). Effects of simulated hyperglycemia, insulin and glucagon on endothelial nitric oxide synthase expression. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 279(1), 11-17.
- Dixon, J. B., Zimmet, P., Alberti, K.G., Rubino, F. (2011). International diabetes federation taskforce on epidemiology and prevention. Bariatric surgery: an IDF

- statement for obese type 2 diabetes. (2011). *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia and Metabologia*, 55(6), 367-382.
- Dizdaroğlu, M., Jaruga, P., Birincioğlu, M., Rodriguez, H. (2002). Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free Radical Biology and Medicine Journal*, 32 (11), 1102-1115.
- Domeyer, P.J., Sergeantanis, T. N., Zagouri, F., Tzilalis, B., Mouzakioti, E., Parasi, A., Nonni, A., Mariolis, A., Androulakis, G., Zografos, G. C. (2008). Chronic cholecystitis in elderly patients. Correlation of the severity of inflammation with the number and size of the stones. *In Vivo*, 22, 269-272.
- Donovan, J. M., (1999). Physical and metabolic factors in gallstone pathogenesis. *Gastroenterology Clinics of North America*, 28(1), 70-97.
- Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Review*, 82, 47-95.
- Durgun, A.V. (2002). Safra Taşları. *Hepato-Bilier Sistem ve Pankreas Hastalıkları Sempozyum Dizisi*, 28, 129-140.
- Dzugkoev, S.G., Metel'skaya, V.A., Dzugkoeva, F.S. (2013). Effects of endogenous regulators of endothelial NO synthase on nitric oxide homeostasis and blood serum lipoproteins during experimental diabetes mellitus. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 156(2), 205-208.
- Ebrahimi, K.B., Fijalkowski, N., Cano, M., Handa, J.T. (2013). Decreased membrane complement regulators in retinal pigmented epithelium contributes to age-related macular degeneration. *The Journal of Pathology*, 229(5), 729-742.
- Ehrengruber, M. U., Geiser, T., Deranleau, D. A., (1994). Activation of human neutrophils by C3a and C5a. Comparison of the effects on shape changes, chemotaxis, secretion and respiratory burst. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 346(2-3), 181-184.
- Eken, A., (2012). Rat, kan ve doku örneklerinde oksidatif stres parametreleri, küçük deney hayvanlarından rat. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*, 59-73.
- Erejuwa, O. O., (2012). Oxidative stress in diabetes mellitus: is there a role for hypoglycemic drugs and/or antioxidants?. In V. Lushchak (Eds.) *Oxidative Stress and Diseases*, Intech, pp. 217-246.
- Erpecum, K. J. V., (2011). Pathogenesis of cholesterol and pigment gallstones: an update. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, 35, 281-287.
- Förstermann, U., Sessa, W. C., (2012). Nitric oxide synthases: regulation and function. *European Heart Journal*, 33, 829-837.
- Freeman, B. A., Crapo, J. D. (1982). Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Laboratory Investigation*, 47, 412-426.

- Freitas, M., Gomes, A., Porto, G., Fernandes, E., (2010). Nickel induces oxidative burst, NF- κ B activation and interleukin-8 production in human neutrophils. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 15(8), 1275-1283.
- Friedrich, N., Völzke, N., Hampe, J., Lerch, M. M., Jorgensen, T. (2009). Known risk factors do not explain disparities in gallstones prevalence between Denmark and Northeast Germany. *The American Journal of Gastroenterology*, 104, 85-95.
- Ganong, W. F. (1995). *Ganong tıbbi fizyoloji*. (Onaltıncı baskı). İstanbul: Barış Kitapevi, 544.
- Ganong, W. F. (1995). *Ganong tıbbi fizyoloji*. (Onaltıncı baskı). İstanbul: Barış Kitapevi, 546.
- Geetha, A. (2002). Evidence for oxidative stress in the gall bladder mucosa of gallstone patients. *Journal of Biochemistry, Molecular Biology and Biophysics*, 6(6), 427-432.
- Ghiran, I., Tyagi, S.R., Klickstein, L. B., Nicholson-Weller, A., (2002). Expression and function of C1q receptors and C1q Binding Proteins at the cell surface. *Immunobiology*, 205, 407-420.
- Ghosh, P., Sahoo, R., Vaidya, A., Chorey, M., Halperin, J. A., (2015). Role of complement and complement regulatory proteins in the complications of diabetes. *Endocrine Reviews*, 36(3), 272-288.
- Ghosh, P., Vaidya, A., Sahoo, R., Goldfine, A., Herring, N., Bry, L., Chorev, M., Halperin, J. A. (2014). Glycation of the complement regulatory protein CD59 is a novel biomarker for glucose handling in humans. *The Journal of Endocrinology and Metabolism*, 99(6), 999-1006.
- Gkogkolou, P., Böhm, M., (2012). Advanced glycation end products, key players in skin aging?. *Dermato-Endocrinology*, 4(3), 259-270.
- Gradinaru, D., Borsaa, C., Ionescu, C., Margina, D., (2013). Advanced oxidative and glycoxidative protein damage markers in the elderly with type 2 diabetes. *Journal of Proteomics*, 92, 313-322.
- Grünhage, F. (2006). Pathogenesis of gallstones: a genetic perspective. *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology*, 20(6), 997-1015.
- Guerin-Dubourg, A., Catan, A., Bourdon, E., Rondeau, P. (2012). Structural modifications of human albumin in diabetes. *Diabetes and Metabolism*, 38(2), 171-178.
- Guimaraes, S. V. D., Gomes, H. L. E., Oliveiral, C. G., Chiacchiol, M. F. S. R., Souza, F. M., Oliveira, D. S., Cerqueira, R. L., Junior, J. J. C. D., Rocha, D. R. T. W., Arbex, A. K. (2016). Prevalence of cholelithiasis in patients with type 2 diabetes and obesity in a basic family health centre in Irecê, Northeastern Brazil. *Open Journal of Endocrine and Metabolic Diseases*, 6, 38-42.

- Guistarini, D., Rossi, R., Milzani, A., Dalle-Donne, I., (2008). Nitrite and nitrate measurement by griess reagent in human plasma: evaluation of interferences and standardization. *Methods in Enzymology*, 440, 380-361.
- Guyton, A. C., Hall, J. E. (1996). *Textbook of medical physiology Guyton&Hall* (9. Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 725.
- Guyton, A. C., Hall, J. E. (1996). *Textbook of medical physiology Guyton&Hall* (9. Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 726.
- Gündogan, K., Bayram, F. Capak, M., Tanrıverdi, F., Karaman, A., Öztürk, A., Altunbaş, H., Gökce, C., Kalkan, A., Yazıcı, C. (2009). Prevalence of metabolic syndrome in the Mediterranean region of Turkey: evaluation of hypertesion, diabetes mellitus, obesity and dyslipidemia. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, 7, 427-434.
- Hamulu, F. (1999). Obezite Komplikasyonları., C. Yılmaz (editör). *Obezite ve tedavisi*. Birinci baskı. İstanbul. Mart Matbaacılık Sanatları LTD., s. 43-52.
- Hofmann, A. F. (1999). Bile acids: the good, the bad and the ugly. *News in Physiological Sciences*, 14, 24-29.
- Hon, W. M., Lee, K. H., Khoo, H. E. (2002). Nitric oxide in liver diseases; friend, foe or just passerby?. *Annals of The New York Academy of Sciences*, 962, 275-295.
- Hundal, R., Shaffer, E. A., (2014). Gallbladder cancer: epidemiology and outcome. *Clinical Epidemiology*, 6, 99-109.
- İnternet: Afdhal, N. H., Chopra, S., Travis, A. C. (2016). Epidemiology and risk factors for gallstones. URL: <http://www.uptodate.com/contents/epidemiology-of-and-risk-factors-for-gallstones>, Son Erişim Tarihi: 05.01.2017
- İnternet: Assaypro. Human Complement C1q ELISA Kit. URL: http://assaypro.com/pdf/EC1101_1.pdf, Son Erişim Tarihi: 30.05.2016.
- İnternet: Bowen, R. (2001). Secretion of bile and the role of bile acids in digestion. URL: <http://www.vivo.colostate.edu/Hbooks/pathphys/digestion/liver/bile.html>, Son Erişim Tarihi: 04.07.2016
- İnternet: Burke, Thomas. (2015). Nitric oxide and its role in health and diabetes. URL: <http://www.diabetesincontrol.com/wp-content/uploads/2015/10/nitric-oxide.pdf>, Son Erişim Tarihi: 21.06.2016
- İnternet: Cancer.net Editoriel Board. (2016). Bile duct anatomy. URL: http://www.cancer.net/sites/cancer.net/files/vignette/bile_duct_large.jpg, Son Erişim Tarihi: 02.07.2016
- İnternet: Saranya Buppajarntham. (2014). Insulin. URL: <http://emedicine.medscape.com/article/2089224-overview>, Son Erişim Tarihi: 30.06.2016.

- İnternet: Türkiye Diyabet Vakfı. (2015). Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi 2015. URL: <http://www.turkdiab.org/diyabet%20rehberi%20baski%202015.pdf>, Son Erişim Tarihi: 30.06.2016.
- İnternet: World Health Organization. (2016) Global Report on Diabetes. URL: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204871/1/9789241565257_eng.pdf, Son Erişim Tarihi: 04.07.2016
- Jalali., S., Aghasi., M., Yeganeh., B., Mesaeli., N., (2008). Calreticulin regulates insulin receptro expression and its downstream PI3 Kınase/Akt signalling pathway. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1783, 2344-2351.
- Jeanneau, C., Rufas, P., Rombouts, C., Giraud, T., Dejou, J., About, I., (2015). Can pulp fibroblasts kill cariogenic bacteria? Role of complement activation. *Journal of Dental Research*, 94(12), 1765-1772.
- Jiang, Y., De., S., Matsunami, H., (2014). Calreticulin: roles in cell-surface protein expression. *Membranes*, 4, 630-641.
- John, W. G. (1997). Glycated haemoglobin analysis. *Annals of Clinical Biochemistry*, 34, 17-31.
- Kangralkar, V. A., Patil, S. D., Bandivadekar, R. M. (2010). Oxidative stress and diabetes: a review. *International Journal of Pharmaceutical Applications*, 1, 38-45.
- Karayağın, R., Genç, V., Karaca, A.S., Özakışit, G. (2010). Prevalence of cholelithiasis in a Turkish population sample of postmenopausal women. *Turk Journal of Gastroenterology*, 21(4), 416-420.
- Kelly, K. A., Sarr, M. G., Hinder, R. A. (Editors). (2004). *Mayo Clinic Gastrointestinal Surgery*, İstanbul: Nobel Kitap Evleri, 225-245.
- Kim, I. S., Myung, S.J., Lee, S. S., Lee, S. K., Kim, M. H. (2003). Classification and nomenclature of gallstone revisited. *Yonsei Medical Journal*, 44(4), 561-570.
- Kitasato, A., Tajima, Y., Kuroki, T., Tsutsumi, R., Adachi, T., Mishima, T., Kanemats, T., (2007). Inflammatory ctokines promote inducible nitric oxide synthase-mediated DNA damage in hamster gallbladder epithelial cells. *World Journal of Gastroenterology*, 13(47), 6397-6384.
- Konukoğlu, D., Akçay, T. (1995). Glutasyon metabolizması ve klinik önemi. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 15, 214-218.
- Kosters, A., Karpen, S. J. (2010). The role of inflammation in cholestasis: clinical and basic aspects. *Seminars in Liver Diseases*, 30(2), 186-194.
- Koti, R.S., Davidson C.J., Davidson, B.R. (2015). Surgical management of acute cholecystitis. *Langenbecks Archives of Surgery*, 400, 403-419.

- Kozarski, M., Klaus, A., Jakovljevic, D., Todorovic, N., Vunduk, J., Petrovic, P., Niksic, M., Vrvic, M. M., Griensven, L. V. (2015). Antioxidants of edible mushrooms. *Molecules*, 20, 19489-19525.
- Kurt, İ. (2003). Glikolize hemoglobin (HbA1c) ölçümü ve diabetes mellitusun uzun dönemli glisemik kontrolünde kullanılması. *Gülhane Tıp Dergisi*, 45 (4), 387-395.
- Lapolla, A., Traldi, P., Fedele, D. (2005). Importance of measuring products of non-enzymatic glycation of proteins. *Clinical Biochemistry*, 38(2), 103-115.
- Larsen, M.L. (1997). The clinical usefulness of glycated haemoglobin in diabetes care evaluated by use of a medical technology assessment strategy. *Danish Medical Bulletin*, 303-315.
- Larsson, S. C., Wolk, A. (2007). Obesity and the risk of gallbladder cancer: a meta-analysis. *British Journal of Cancer*, 96, 1457-1461.
- Lee, J. Y., Keane, M. G., Pereira, S. (2015). Diagnosis and treatment of gallstone disease. *Practitioner* 259 (1783), 15-19.
- Lepedda, A. J., Lobina, O., Rocchiccioli, S., Nieddu, G., Ucciferri, N., Muro, P., Idini, M., Nguyen, H. Q. T., Guarino, A., Spirito, R., Formato, M., (2016). Identification of differentially expressed plasma proteins in atherosclerotic patients with type 2 diabetes. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 1056(8727), 1-7.
- Leslie, R. D. G., Cohen, R. M., (2009). Biologic variability in plasma glucose, hemoglobin a1c and advanced glycation end products associated with diabetes complications. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 3(4), 635-643.
- Li, J.M., Shah, A.M. (2004). Endothelial cell superoxide generation: regulation and relevance for cardiovascular pathophysiology. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 287, 1014-1030.
- Liu, C. M., Hsu, C. T., Li, C. Y., Chen, C. C., Liu, M. L., Liu, J. H. (2012). A population-based cohort study of symptomatic gallstone disease in diabetic patients. *World Journal of Gastroenterology*, 18(14), 1652-1659.
- Liu, C.M., Tung, T. H., Liu, J.H., Lee, W.L., Chou, P. A. (2004). A community-based epidemiologic study on gallstone disease among type 2 diabetics in Kinmen, Taiwan. *Digestive Diseases*, 22(1), 87-91.
- Lowenfels, A. B., Masionneuve, P., Boyle, P., Zatonski, W. A. (1999). Epidemiology of gallbladder cancer. *Hepatogastroenterology*, 46(27), 1529-1532.
- Lyons, M. A., Wittenburg, H. (2006). Susceptibility to cholesterol gallstone formation: evidence that LITH genes also encode immune-related factors. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1761(10), 1133-1147.
- Madian, A. G., Regnier, F. E. (2010). Profiling carbonylated proteins in human plasma. *Journal of Proteome Research*, 9(3), 1330-1343.

- Madian, A. G., Regnier, F. E. (2010). Proteomic identification of carbonylated proteins and their oxidation sites. *Journal of Proteome Research*, 9(8), 3766-3780.
- Mahmazi., S., Parivar., K., Rahnema., M., Ohadi., M., (2013). Calreticulin novel mutations in type 2 diabetes mellitus. *International Journal of Diabetes in Developing Countries*, 33(4), 219-225.
- Maritim, A. C., Sanders, R., Watkins, J. B., (2003). Diabetes, oxidative stress and antioxidants: a review. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 17(1), 24-38.
- Marschall, H. U., Einarsson, C. (2007). Gallstone disease. *Journal of Internal Medicine*, 261(6), 529-542.
- Mathieu, P., Pibarot, P., Despres, J.P. (2006). Metabolic syndrome: the danger signal in atherosclerosis. *Journal of Vascular Health and Risk Management*, 2, 285-302.
- Matos, P., Horn., J. A., Beards., F., Lui., S., Desforjes., M., Harris., L. K., (2014). A role for the mitochondrial-associated protein p32 in regulation of trophoblast proliferation. *Molecular Human Reproduction*, 20(8), 745-755.
- Maurer, K. J., Rao, V. P., Ge, Z., Rogers, A. B., Oura, T. J., Carey, M. C., Fox, J. G. (2007). T-Cell function is critical for urine cholesterol gallstone formation. *Gastroenterology*, 133(4), 1304-1315.
- McDonald, J.M., Davis, J.E. (1979). Glycosylated hemoglobins and diabetes mellitus. *Human Pathology*, 10, 279-291.
- McDonald, M.J., Bleichman, M., Bunn, H.F., Noble, R.W. (1979). Functional properties of the glycosylated minor components of human adult hemoglobin. *The Journal of Biological Chemistry*, 254(3), 702-707.
- McGee, A.M., Baines, C.P. (2011). Complement 1q-binding protein inhibits the mitochondrial permeability transition pore and protects against oxidative stress-induced death. *Biochemical Journal*, 433(1), 119-125.
- Meri, S., Morgan, B.P., Davies, A., Daniels, R.H., Olavesen, M.G., Waldmann, H., Lachmann, P.J. (1990). Human protectin (CD59), an 18,000-20,000 MW complement lysis restricting factor, inhibits C5b-8 catalysed insertion of C9 into lipid bilayers. *Immunology*, 71(1), 1-9.
- Michalak., M., Groenendyk., J., Szabo., E., Gold., L. I., Opas., M., (2009). Calreticulin, a multi-process calcium-buffering chaperone of the endoplasmic reticulum. *Biochemical Journal*, 417, 651-666.
- Montezano, A.C., Touyz, R.M. (2012). Reactive oxygen species and endothelial function: role of nitric oxide synthase uncoupling and NOx family nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidases. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 110(1), 87-94.

- Moussa, S. A., (2008). Oxidative stres in diabetes mellitus. *Romanian Journal of Biophysics*, 18(3), 225-236.
- Neelofar, K., Arif, Z., Alam, K., Ahmad, J. (2016). Hyperglycemia induced structural and functional changes in human serum albumin of diabetic patients: a physico-chemical study. *Molecular Biosystems*, 12(8), 2481-2489.
- Nicholsan-Weller, A., Klickstein, L. B., (1999). C1q-binding proteins and C1q receptors. *Current Opinion in Immunology*, 11, 42-46.
- Nicolaou, M., Andress, E. J., Zolnercijs, J. K., Dixon, P. H., Williamson, C., Linton, K. J. (2012). Canalicular ABC transporters and liver disease. *Journal of Pathology*, 226(2), 300-315.
- Njeze, G.E. (2013). Gallstones. *Nigerian Journal of Surgery*, 19(2), 49-55.
- Nowotny, K., Jung, T., Höhn, A., Weber, D., Grune, T., (2015). Advanced glycation end products and oxidative stres in type 2 diabetes mellitus. *Biomolecules*, 5, 194-222.
- Orimo, H., Mei, N., Boiteux, S., Tokura, Y., Kasai, H., (2004). Analysis of 8-hydroxyguanine relased from dna by the form amidopyrimidine dna glycosylase (fpg) protein: a reliable method to estimate cellular oxidative stress. *Journal of Radiation Research*, 45(3), 455-460.
- Önür, N. D. B., Beyler, A. R. (2001). Safra asitleri metabolizması. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 54(1), 65-76.
- Pacchioni, M., Nicoletti, C., Caminiti, M., Calori, G., Curci, V., Camisasca, R., Pontiroli, A.E. (2000). Association of obesity and type II diabetes mellitus as a risk factor for gallstones. *Digestive Diseases and Sciences*, 45(10), 2002-2006.
- Pagliarulo, M., Fornari, F., Fraquelli, M., Zoli, M., Giangregorio, F., Grigolon, A., Peracchi, M., Conte, D. (2004). Gallstone disease and related risk factors in a large cohort of diabetic patients. *Digestive and Liver Disease*, 36(2), 130-134.
- Pan, H. Z., Chang, D., Kuang, H., Feng, L. G., Lu, M., Xu, F., (2007). Oxidative damage to DNA and its relationship with diabetic complications. *Biomedical and Enviromental Sciences*, 20, 160-163.
- Parmaksız, İ. (2011). Diyaber komplikasyonlarında ileri glikasyon son ürünleri. *Marmara Medical Journal*, 24 (3), 141-148.
- Perez, M. J., Briz, O. (2014). Bile acid induced cell injury and protection. *World Journal of Gastroenterology*, 15 (14), 1677-1689.
- Pierini, D., Bryan, N. S., (2015). Nitric oxide availability as a marker of oxidative stress. *Methods in Molecular Biology*. 1208, 63-71.

- Portugala, M., Barak, V., Ginsburgc, I., Kohena, R. (2007). Inter play among oxidants, antioxidants and cytokines in skin disorder: present status and future considerations. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 61(7), 412-422.
- Pradelles., P., Grassi., J., Maclouf., J., (1985). Enzyme immunoassays of eicosanoids using acetylcholine esterase as label: an alternative to radioimmunoassay. *Analytical Chemistry*, 57(7), 1170-1173.
- Qin, X., Goldfine, A., Krumrei, N., Grubissich, L., Acosta, J., Chorev, M., Hays, A. P., Halperin, J. A. (2004). Glycation inactivation of the complement regulatory protein CD59: a possible role in the pathogenesis of the vascular complications of human diabetes. *Diabetes*, 53(10), 2653-2661.
- Raghav, A., Ahmad, J., Alam, K. (2016). Impact of glycation on structural and antioxidant function of human serum albumin: Relevance in diabetic complications. *Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews*, 10(2), 96-101.
- Rakic, M., Patrlj, L., Kopljar, M., Kliceck, R., Kolovrat, M., Loncar, B., Zeljko and Busic. (2014). Gallbladder cancer. *Hepatobiliary Surgery and Nutrition*, 3(5), 221-226.
- Rege, R. V., Prystowsky, J. B. (1998). Inflammation and a thickened mucus layer in mice with cholesterol gallstones. *Journal of Surgical Research*, 74(1), 81-85.
- Roohk, H. V., Zaidi, A. R. (2008). A review of glycated albumin as an intermediate glycation index for controlling diabetes. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 2(6), 1114-1121.
- Rubbo, H., Darley-USmar, V., Freeman, B. A. (1996). Nitric oxide regulation of tissue free radical injury. *Chemical Research in Toxicology*, 9, 809-820.
- Rubbo, H., Parthasarathy, S., Barnes, S., Kirk, M., Kalyanaraman, B., Freeman, B. A. (1995). Nitric oxide inhibition of lipoxxygenase-dependent liposome and low-density lipoprotein oxidation: termination of radical chain propagation reactions and formation of nitrogen containing oxidized lipid derivatives. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 324, 15-25.
- Rui, L. (2014). Energy metabolism in the liver. *Comprehensive Physiology*, 4(1), 177-197.
- Safiah Mokhtar, S., Vanhoutte, P.M., Leung, S.W.S., Imran Yusof, M., Wan Sulaiman, W.A., Zaharil Mat Saad, A., Suppian, R., Ghulam Rasool, A.H. (2013). Reduced expression of prostacyclin synthase and nitric oxide synthase in subcutaneous arteries of type 2 diabetic patients. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 231(3), 217-222.
- Samstad, E.O., Niyonzima, N., Nymo, S., Aune, M.H., Ryan, L., Bakke, S.S., Lappergard, K.T., Brekke, O.L., Lambris, J.D., Damas, J.K., Latz, E., Mollnes, T.E., Espevik, T. (2014). Cholesterol crystals induce complement-dependent inflammasome activation and cytokine release. *The Journal of Immunology*, 192(6), 2837-2845.
- Schirmer, B. D., Winters, K. L., Edlich, R. F., (2005). Cholelithiasis and cholecystitis. *Journal of Long-Term Effects of Medical Implants*, 15 (3), 329-338.

- Schwartz, J.C. (1995). The role of glycohemoglobin and other proteins in diabetes management. *Diabetes Reviews*, 3(2), 269-287.
- Seki, S., Kitada, T., Yamada, T., Sakaguchi, H., Nakatani, K., Onoda, N., Satake, K. (2002). Immunohistochemical detection of 8-hydroxydeoxyguanosine, a marker of oxidative DNA damage, in human chronic cholecystitis. *Histopathology*, 40, 531-535.
- Seki, S., Kitada, T., Yamada, T., Sakaguchi, H., Nakatani, K., Onoda, N., Satake, K. (2002). Immunohistochemical detection of 8-hydroxydeoxyguanosine, a marker of oxidative DNA damage in human chronic cholecystitis. *Histopathology*, 40, 531-535.
- Shaffer, E. A. (2006). Epidemiology of gallbladder stone disease. *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology*, 20(6), 981-996.
- Shen, H.-J., Hsu, C.-T., Tung, T.-H. (2015). Economic and medical benefits of ultrasound screenings for gallstone disease. *World Journal of Gastroenterology*, 21(11), 3337-3343.
- Shengelia, M., Intskirveli, N., Gogebashvili, N. (2012). Inflammatory markers of gallstones disease in menopausal women. *Georgian Medical News*, 208-209):52-5.
- Siems, W. G., Sommerurg, O., Grune, T. (2000). Erythrocyte free radical and energy metabolism. *Clinical Nephrology*, 53, 9-17.
- Simms, C. L., Hudson, B. H., Mosior, J. W., Rangwala, A. S., Zaher, H. S., (2014). An active role for the ribosome in determining the fate of oxidized mRNA. *Cell Reports*, 9, 1256-1264.
- Sing, R., Barden, A., Mori, T., Beilin, L. (2001). Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia*, 44, 12-146.
- Singh, R., Barden, A., Mori, T., Beilin, L. (2001). Advanced glycation-end products: a review. *Diabetologia*, 45(2), 293.
- Smelt, A. H. (2010). Triglycerides and gallstone formation. *Clinica Chimica Acta*, 411(21-22), 1625-1631.
- Son, M., Santiago-Schwarz, F., Al-Abed, Y., Diamond, B., (2012). C1q limits dendritic cell differentiation and activation by engaging LAIR-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(46), 3160-3167.
- Sova, H., Jukkola-Vuorinen, A., Pusitola, U., Kauppila, S., Karihtalal, P., (2010). 8-Hydroxydeoxyguanosine: a new potential independent prognostic factor in breast cancer. *British Journal of Cancer*, 102, 1018-1023.
- Stinton, L. M., Shaffer, E. A. (2012). Epidemiology of gallbladder disease: cholelithiasis and cancer. *Gut and Liver*, 6(2), 172-187.

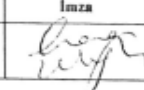
- Stuart, G. R., Lynch, N. J., Lu, J., Geick, A., Moffatt, B. E., Sim, R. B., Schwaeble, W. J., (1996). Localisation of the C1q binding site within C1q receptor/calreticulin. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 397, 245-249.
- Tessari, P., Cecchet, D., Cosma, A., Vettore, M., Coracina, A., Million, R., Iori, E., Puricelli, L., Avogaro, A., Vedovato, M., (2010). Nitric oxide synthesis is reduced in subjects with type 2 diabetes and nephropathy. *Diabetes*, 59, 2152-2159.
- Thimmulappa, R.K., Lee, H., Rangasamy, T., Reddy, S.P., Yamamoto, M., Kensler, T.W., Biswal, S. (2006). Nrf2 is a critical regulator of the innate immune response and survival during experimental sepsis. *The Journal of Clinical Investigation*, 116(4), 984-995.
- Thornalley, P.J. (1996). Advanced glycation and the development of diabetic complications. Unifying the involvement of glucose, methylglyoxal and oxidative stress. *The Journal of Endocrinology and Medicine*, 3, 149-166.
- Thurman, J.M., Renner, B., Kunchithapautham, K., Ferreira, V.P., Pangburn, M.K., Ablonczy, Z., Tomlinson, S., Holers, V.M., Rohrer, B. (2009). Oxidative stress renders retinal pigment epithelial cells susceptible to complement-mediated injury. *The Journal of Biological Chemistry*, 284(25), 16339-16347.
- Tiwari, B. K., Pandey, K. B., Abidi, A. B., Rizvi, S. I., (2013). Review article: Markers of oxidative stress during diabetes mellitus. *Hindawi Publishing Corporation Journal of Biomarkers*, 1-8.
- Tran, K.Q., Goldblatt, M.I., Swartz-Basile, D.A., Svatek, C., Nakeeb, A., Pitt, H.A. (2003). Diabetes and hyperlipidemia correlate with gallbladder contractility in leptin-related murine obesity. *Journal of Gastrointestinal Surgery*, 7(7), 857-862.
- Tung, T. H., Ho, H. M., Shih, H. C., Chou, P., Liu, J. H., Chen, V. T., Chan, D. C., Liu, C. M. (2006). A population-based follow-up study on gallstone disease among type 2 diabetics in Kinmen, Taiwan. *World Journal of Gastroenterology*, 12(28), 4536-4540.
- Tuteja, N., Chandra, M., Tuteja, R., Misra, M. K., (2004). Nitric oxide as a unique bioactive signaling Messenger in physiology and pathophysiology. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 4, 227-237.
- Ullah, A., Khan, A., Khan, I. (2015). Diabetes mellitus and oxidative stress – a concise review. *Saudi Pharmaceutical Journal*, xxx, 1-7.
- Uribarri, A., Woodruff, S., Goodman, S., Cai, W., Chen, X., Pyzik, R., Yong, A., Striker, G. A., Vlassara, H., (2010). Advanced glycation end products in food and a practical guide to their reduction in the diet. *Journal of the American Dietetic Association*, 110(6), 911-916.
- Vander, A. J., Sherman, J. H., Luciano, D. S. (1990). *Human physiology the mechanism of body function*. (Sixth edition). New York: McGraw-Hill, 589.

- Vegh., Z., Kew., R. R., Gruber., B. L., Ghebrehiwet., B., (2006). Chemotaxis of human monocyte-derived dendritic cells to complement component C1q is mediated by the receptors gC1qR and cC1qR. *Molecular Immunology*, 43, 1402-1407.
- Wang, D.Q., Cohen, D.E., Carey, M.C. (2009). Biliary lipids and cholesterol gallstone disease. *The Journal of Lipid Research*, 50, 406-411.
- Wang, L., Kondo, N., Cano, M., Ebrahimi, K., Yoshida, T., Barnett, B.P., Biswal, S., Handa, J.T. (2014). Nrf2 signaling modulates cigarette smoke-induced complement activation in retinal pigmented epithelial cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 70, 155-166.
- Woodman, R. J., Chew, G. T., Watts, G. F., (2005). Mechanisms, significance and treatment of vascular dysfunction in type 2 diabetes mellitus: focus on lipid-regulating therapy. *Drugs*, 65(1), 31-74.
- Wu, L. L., Chioud, C. C., Change, P., Wu, J. T., (2004). Urinary 8-OHdG: a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics. *Clinica Chimica Acta*, 339, 1-9.
- Xiao, Z.L., Amaral, J., Biancani, P., Behar, J. (2005). Impaired cytoprotective function of muscle in human gallbladders with cholesterol stones. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 288(3), 525-532.
- Zhang., D., Xiang., J., Wang., L., Xu., Z., Sun., L., Zhou., F., Zha., X., Ca., D., (2013). Comparative proteomic analysis of gallbladder bile proteins related to cholesterol gallstones. *Plus One Journal*, 8(1), e54489.
- Zhou, J.F., Chen, P., Yang, J.L., Zhu, Y.G., Peng, C.H., Wu, Y.L. (2000). Oxidative stress before and after operation in patients with cholecystitis containing gallstone. *Biomedical and Enviromental Sciences*, 13(4), 254-262.
- Zunic, G., Colic, M., Vuceljic, M. (2009). Nitrate to nitrite molar ratio is inversely proportional to oxidative cell damages and granulocytic apoptosis at the wound site following cutaneous injury in rats. *Nitric Oxide*, 20, 264-269.



EKLER

EK-1. Etik kurul onayı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU GİRİŞİMSSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR KARAR FORMU							
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUNUN ADI	Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu					
	AÇIK ADRES	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası 06500 Beşevler/Ankara					
	TELEFON	0312 202 69 58					
	FAKS	0312 202 46 73					
	E-POSTA	tipetikkurul@gazi.edu.tr					
BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Safrakesesi taşı bulunan diyabetli hastalarda serum kompleman protein düzeyi, indolamin-2,3- dioksijenaz aktivitesi ve OGG1 Ser326Cys, XRCC1 Arg399Gln, XPCLys939Gln, XPD Lys751Gln ve p53 Arg72Pro gen polimorfizmleri					
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Ayşe Başak ENGİN					
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI /UZMANLIK ALANI/ BULUNDUĞU MERKEZ	Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi					
	DESTEKLEYİCİ (Varsa)						
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Kan, idrar, doku, radyolojik görüntü gibi biyokimya,mikrobiyoloji, patoloji ve radyoloji kolleksiyon materyalleriyle veya rutin muayene tetkik tahlil ve tedavi işlemleri sırasında (önceden) elde edilmiş materyallerle yapılacak araştırmalar- Tanımlamaya yönelik olarak genetik materyalde yapılacak araştırmalar(gen tedavisi klinik araştırmaları dışında kalan)-Bireysel Araştırma Projesi - TÜBİTAK					
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐		
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Ver.No	Dili			
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	22.08.2014	0.1	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐			
	AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU	22.08.2014	0.1	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐			
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı			Açıklama			
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒					
	BIYOLOJİK MATERİYAL TRANSFER FORMU	☐					
	DİĞER	☐					
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 454	Toplantı tarihi: 22.09.2014					
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve "bütçesi dışında" uygun bulunmuş olup araştırmanın dosyasında belirtilen merkez/merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına G.Ü.Klinik Araştırmalar Etik Kurulu üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir. Etik Kurulun kararı, projenin bütçesi TÜBİTAK tarafından kabul edildiği takdirde yürürlüğe girecek olup, TÜBİTAK kararının Kurulumuza bildirilmesi gerekmektedir.						
GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU							
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik (13.04.2013),Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelikte Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik (25.06.2014), İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu						
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof.Dr.Canan ULUOĞLU						
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile İlişki	Katılım *	İmza	
Prof.Dr.Canan ULUOĞLU BAŞKAN	Tıbbi Farmakoloji A.D	G.Ü.T.F	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐		



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : Çeber, Gözde
 Uyruğu : T. C.
 Doğum tarihi ve yeri : 19.11.1986 / Kayseri
 Medeni hali : Bekar
 Telefon : 05548752370
 Faks : -
 e-mail : ecz.g.ceber@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji	Devam Ediyor
Lisans	Gazi Üniversitesi Eczacılık	Ocak 2009
Lise	Sami Yangın Anadolu Lisesi	Haziran 2004

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
Mart 2009-Devam Ediyor	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi	Eczacı

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Çeber, G., Engin, A. B., Kurukahvecioğlu, O., Gülbahar, Ö., Uyar-Göçün, P., Engin, A. (2015). Oxidative Stress and liver injury in chronic cholelithiasis. "9th Congress of the Turkish Society of Toxicology with the participation of the Hellenic Society of Toxicology, October 21-24, 2015". *Toksikoloji Bülteni, Turkheltox Toxicology Congress Abstract Book*, 32.

Hobiler

Bisiklet sürmek, basketbol oynamak, seyahat etmek



GAZİ GELECEKTİR..