

KARBONHİDRAT METABOLİZMASI BOZUKLUKLARINA BİYOKİMYASAL YAKLAŞIM**Mustafa ALTINIŞIK¹****ÖZET**

Sofra şekeri ve nişasta gibi bazı karbonhidratlar, dünyanın önemli bir bölümünde insan diyetinin en önemli kısmıdır. Karbonhidratların organizmada birçok fonksiyonu vardır. Kan şekeri olarak bilinen ve vücudun en önemli karbonhidratı olan glukoz, memeli dokularının en önemli yakıtıdır. Oniki saatlik açlıktan sonra normal kan glukoz düzeyi, %60-70 mg (3,3-3,9 mmol/L) arasındadır. Kan glukoz düzeyini düşürücü yönde etkili olan olaylar ile kan glukoz düzeyini yükseltici yönde etkili olan olaylar karbonhidrat metabolizmasını oluştururlar. Karbonhidrat metabolizmasındaki bozuklukların saptanması ve tedavi stratejilerinin belirlenmesinde, kan glukoz düzeyi ölçümü ve başka bazı biyokimyasal testlerin önemi büyüktür. Bu yazıda, karbonhidratlar ve karbonhidrat metabolizması hakkında genel bilgi verilecek ve sık karşılaşılan karbonhidrat metabolizması bozukluklarının tanısında kullanılan biyokimyasal testler tartışılacaktır.

Anahtar sözcükler: Karbonhidratlar, karbonhidrat metabolizma bozuklukları, kan glukoz düzeyi

Biochemical Approach to Carbohydrate Metabolism Disorders**SUMMARY**

Carbohydrates such as sugar and starch are an important component of human diet in world's most important part. There are several functions of carbohydrates in organism. Known as blood sugar, glucose is body's most important carbohydrate and is the most important fuel of mammalian tissue. After 12-hours of normal fasting blood glucose level is between 60-70 mg % (3,3-3,9 mmol/L). Events causing an increase and/or decrease in blood glucose levels are effective in reducing the event's direction and the direction of the blood glucose level in the amplifier effectively create the events of carbohydrate metabolism. Blood glucose level measurement and other biochemical tests are important in detecting disorders of carbohydrate metabolism and determining treatment strategies. In this review, I will give general information about the carbohydrates and their metabolism, and discuss biochemical tests used to diagnose common carbohydrate metabolism disorders.

Key words: Carbohydrates, carbohydrate metabolism disorders, blood glucose level

Karbonhidratlar

Karbonhidratlar, birden fazla hidroksil (-OH) grubu içeren alkollerin aldehit ya da keton türevleri veya bu türevlerin hidrolizi ile oluşan bileşiklerdir^{1,3}.

Karbonhidratlar, genellikle üç büyük sınıfa ayrılarak incelenirler: 1) Monosakkaritler 2) Disakkaritler 3) Polisakkaritler¹.

Monosakkaritler, bir veya daha fazla hidroksil gruplu ya da keton yapısında en basit karbonhidratlardır. Reaktif gruplarına göre; aldozlar (aldehit grubu içerenler), ketozlar (keton grubu içerenler) ve karbon zincirinin uzunluğuna göre; triozlar, tetrozlar, pentozlar, heksozlar, heptozlar diye sınıflandırılırlar. Doğada ve organizmada en yaygın bulunan monosakkaritler; trioz, pentoz ve heksozlardır. Heksozlardan en fazla bulunanları da glukoz, fruktoz, galaktoz ve mannozdur. Kan şekeri deyince, bir **aldoheksoz** olan glukoz anlaşılır^{1,3}.

Disakkaritler, İki monosakkaritin bir su kaybederek glikozidik bağla kovalent olarak bağlanması sonucu oluşmuş bileşiklerdir. En yaygın disakkaritler; maltoz, laktoz ve sukroz'dur^{1,3}.

Polisakkaritler, pek çok sayıda monosakkarit veya monosakkarit türevi molekülün art arda O-glikozidik bağları vasıtasıyla bağlanması suretiyle oluşmuş molekül yapısındaki karbonhidratlardır.

Polisakkaritler birbirlerinden zincirleri boyunca tekrarlayan monosakkarit ünitelerinin benzerliği, bu üniteleri bağlayan bağların tipi ve dallanma derecesi bakımından farklıdır. **Nişasta:** Bitki hücrelerindeki depo polisakkarittir. **Glikojen:** Hayvan hücrelerinin temel depo polisakkaritidir^{1,3}. Glikojen, özellikle karaciğerde ve kasta boldur; karaciğerin yaş ağırlığının %7'sini oluşturur.

Karbonhidrat metabolizması

Karbonhidratlar günlük diyetin büyük bir kısmını oluştururlar. Günde yaklaşık 300 g karbonhidrat alınır ki bunun büyük bir bölümünü nişasta (~160 g) ve sakkaroz (~120 g) oluşturmaktadır. Ayrıca bir miktar laktoz (~30 g) ve glukoz ile fruktoz (~10 g) da alınır.

Diyette bulunan polisakkaritler ve disakkaritlerdeki glikozidik bağlar sindirim kanalında özel glikozidazlarla parçalanır ve böylece karbonhidratlar sindirilirler^{3,4}.

Karbonhidratların sindiriminde etkili olan enzimler karbonhidratlardaki α ve β -glikozidik bağlarına ve şeker sayısına özeldirler. **Tükürük α -amilazı, pankreas α -amilazı ve ince bağırsak 1,6-glikozidazı** etkisiyle gerçekleşen karbonhidrat sindirimi sonunda ince bağırsak lümeni içinde maltoz,

¹Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, AYDIN, TÜRKİYE

izomaltoz, laktoz ve sakkaroz disakkaritleri ile glukoz, fruktoz ve galaktoz gibi monosakkaritler bulunur. Disakkaritler, ince bağırsak epitel hücresi zarında yerleşik uygun **disakkaridazlar** (**malta**, **izomaltaz**, **sakkaraz** ve **laktaz**) tarafından tutulurlar; geçiş sırasında hidrolizlenerek monosakkaritlere ayrılırlar ve böylece oluşan monosakkaritler ince bağırsak epitel hücresi içine ve oradan kana geçerler²⁻⁴.

Kan şekeri deyince sıklıkla glukoz anlaşılır. Vücutta bazı olaylar kana glukoz verici olurken bazı olaylar kandan glukoz alıcı olurlar. Kana glukoz veren olaylar; bağırsaktan karbonhidrat emilimi, glikojenoliz (glikojenden glukozun açığa çıkışı olayı), glukoneojenez (karbonhidrat olmayan prekürsörlerden hücre içinde glukoz biyosentezi)dir. Kandan glukoz alan olaylar; glukozun indirekt oksidasyonu [glukozun önce pirüvata dönüşümü (glikoliz) sonra pirüvatin anaerobik koşullarda laktata dönüşümü, aerobik koşullarda ise sitrik asit döngüsünde yıkılımı], glukozun direkt oksidasyonu (glukozun pentoz fosfat yolunda yıkılımı), glukozun glukuronik asit yolunda yıkılımı, glikojenez (glukozdan glikojen sentezi), liponeojenez (glukozun yağ asitlerine ve yağa dönüşümü), glukozdan diğer monosakkaritlerin ve kompleks karbonhidratların oluşumu, kan glukoz düzeyinin böbrek eşiği olan %160-180 mg'ı aştığı durumlarda idrarla glukoz atılımı (glukozüri)dir.

Normal kan glukozu düzeyi, 12 saatlik açlıktan sonra %60-70 mg (3,33,9 mmol/L) arasındadır (normoglisemi). Kana glukoz veren olaylarla kandan glukoz alan olaylar arasındaki denge ile kan glukoz düzeyi ayarlanmaktadır. Kan glukoz düzeyini düşürücü yönde etkili olan olaylar ile kan glukoz düzeyini yükseltici yönde etkili olan olaylar karbonhidrat metabolizmasını oluştururlar. Karbonhidrat metabolizmasının merkezinde glukoz bulunur.

Karbonhidrat metabolizması ve dolayısıyla kan glukoz düzeyinin düzenlenmesi, hormonlar tarafından yönetilir. Bu hormonlardan en önemlisi insüldür ve insüline karşıt etkiye sahip hormonlar (glukagon, epinefrin, büyüme hormonu, kortizol) ile diğer hormonlardır (tiroksin, somatostatin)^{1,2,5}.

İnsülin, pankreas Langerhans adacıklarının β -hücreleri tarafından üretilen bir proteindir. İnsan insülini, iki disülfür köprüsü ile birbirine bağlanmış, 51 amino asitten oluşan iki zincirden (A ve B zincirleri) oluşur ve A zincirinde 3. bir disülfür köprüsü daha bulunur. İnsülin sentezinde ilk oluşan yaklaşık 100 amino asitli preproinsülin enzimatik olarak parçalanarak proinsüline çevrilir. Proinsülin, insülin ve bağlayıcı peptid (C-peptid) içermektedir ve β -hücrelerinin golgi kompleksindeki sekretuar granüllerde depolanır. İnsülin ve C-peptid, portal dolaşıma eşit miktarlarda salgılanırlarsa da C-peptidin açlık konsantrasyonu, yarı ömrünün daha uzun olmasından dolayı insülin konsantrasyonlarından 5-

10 kat daha yüksektir. C-peptid biyolojik aktiviteden yoksundur, fakat insülinin yapısını sağlamak için zorunlu gibi görünmektedir. İnsülin, glukozun yağ ve kas hücrelerine alınımını uyarak depolanmak üzere glikojen ya da yağa çevrilmesini sağlayan, karaciğerde glukoz üretimini inhibe edip protein sentezini uyaran ve protein parçalanmasını inhibe eden anabolik bir hormondur^{1,2,5}.

İnsüline karşıt/zıt etkili düzenleyici hormonlar, kataboliktirler ve başlangıçta glikojenin glukozu parçalanmasını (glikojenoliz) artırarak ve sonra glukozun sentezini (glukoneojenez) uyarak hepatik glukoz üretimini artırılırlar. Düşük kan glukozuna vücudun başlangıçtaki yanıtı, glukagon ve epinefrin tarafından uyarılan glukoz üretiminde bir artıştır. Zamanla büyüme hormonu ve kortizol, glukoz mobilizasyonunu artırır ve glukoz kullanımını düşürür. Karaciğer tarafından glukoz üretiminin, hormonal faktörlerden bağımsız, çevre glukoz konsantrasyonunun ters bir fonksiyonu olduğu (glukoz otoregülasyonu) ileri sürülmektedir^{1,5}.

Glukoz metabolizmasını etkileyen diğer hormonlardan tiroksin, glikojenolizi uyarır ve mide boşalma hızı ile intestinal glukoz emilimini artırır. **Somatostatin**, büyüme hormonunu inhibe eden hormon olarak da bilinir; hipofiz bezinden büyüme hormonunun salınmasını inhibe eder, ek olarak pankreasın glukagon ve insülin sekresyonunu inhibe eder⁵.

Kan glukoz düzeyinde sapmalar ve nedenleri

Oniki saatlik açlıktan sonra normalde %60-70 mg (3,3-3,9 mmol/L) arasında (normoglisemi) olan kan glukozu düzeyi, fizyolojik/patolojik bazı nedenlerle değişmektedir^{2,5}.

Kan glukoz düzeyinde fizyolojik sapma nedenleri; beslenme, stres, egzersiz, bazal metabolizma değişiklikleri gibi nedenlerdir.

Yüksek karbonhidratlı bir yemekten sonra; kan glukozu yükselir ve yemekten sonraki 30 dakika ile 1 saat arasında 120-140 mg/dL (8 mM) düzeyine ulaşır. İnsülin düzeylerinin artıp glukagon düzeyinin düşmesiyle kan glukoz konsantrasyonu düşmeye başlar ve yemekten yaklaşık iki saat sonra açlık düzeyine döner. İnsülin, karaciğerde glikojen yıkılımını (glikojenoliz) inhibe eder, glikojen sentezini ve VLDL sentezini ise uyarır; istirahat halindeki kasta glukozun hücre içine girişini ve glikojen sentezini uyarır, yağ dokuda ise glukozun hücre içine girişini ve triaçilgliserol oluşumunu uyarır. **Yüksek proteinli yemekten sonra**; kan glukoz düzeyi değişmezken insülin ve glukagon salınması artar ve protein sentezi uyarılır. **Dört saatten uzun süren açlıkta**; insülin salımı azalır, büyüme hormonu, glukokortikoidler ve glukagonun oransal artışı nedeniyle glukoz düzeyi yükselir. Ayrıca lipolizin hızlanmasıyla kandaki serbest yağ asitleri artar ve bunlar glukozun kas hücreleri tarafından alınımını

azaltırlar. Sonuçta glukoz santral sinir sistemi için saklanır^{2,3}.

Stres durumu, adrenalın deşarjı ve glukokortikoid salıverilişinin artışı nedeniyle kan glukoz düzeyini artırır. Adrenalin, glikojenolizi uyarır. Glukokortikoidler de periferik dokularda glukoz alınımasını ve glikolizi azaltırlar.

Egzersiz, glukozun kullanılması ve insülin reseptörlerinin uyarılması ile kan glukoz düzeyini düşürür. Ancak şiddetli egzersizde adrenalın deşarjı nedeniyle kan glukoz düzeyi yükselir.

Bazal metabolizmanın düşük olduğu hallerde kan glukoz düzeyi yüksektir.

Bunlardan başka; kan şekeri düzeyi hematokrit değerinin düşük olduğu anemi ve hemodilüsyon durumlarında yüksek bulunur; polisitemi ve hemokonsantrasyon durumlarında ise düşük bulunur.

Kan glukoz düzeyinde patolojik sapmalar, hiperglisemi ve hipoglisemi olarak tanımlanır. Hiperglisemi ve hipoglisemi, çeşitli durumlarda ortaya çıkabilir.

Hiperglisemi, 8-12 saatlik açlıktan sonra serum glukoz düzeyinin %110 mg'dan yüksek olması durumu olarak tanımlanır. Hiperglisemi, kana glukoz sağlanmasında artış veya kan glukozunun kullanılmasında azalma ile ilgilidir. Hipergliseminin görüldüğü çeşitli patolojik durumlar şunlardır⁴:

Bazı hormonal bozukluklar: Diabetes mellitus, akut pankreatit, pankreas kisti, pankreas kanseri, hemokromatoz gibi insülinin azaldığı haller veya hipertiroidi, gigantizm ve akromegali, Cushing hastalığı ve sendromu, feokromasitoma gibi insülin antagonisti hormonların arttığı hallerde hiperglisemi saptanır.

Akut miyokard enfarktüsü: Stres nedeniyle adrenalın deşarjına bağlı olarak hiperglisemi saptanabilir.

Santral sinir sisteminde travma, tümör ve ansefalitler: Hipotalamik uyarı ile adrenalın salıverilişinin artışına bağlı olarak hiperglisemi saptanabilir.

Operasyon: Operasyondan 4-12 saat sonra hepatik glikojenolizin uyarılmasına bağlı olarak hiperglisemi saptanabilir.

Hamilelik: Östrojen, büyüme hormonu ve kortizol salıverilişinin artışı ile glukozun emilimi artar. Glukozun böbrek eşik değerinin düşmesiyle glukozüri görülebilir. Progesteron da insülini antagonize edebilir veya insülinin reseptörlere affinitesini azaltır.

Karaciğer hastalıkları: Kronik hepatitte glukoz, glikojen molekülüne bağlanamaz ve toklukta kan glukoz düzeyi aşırı yükselebilir.

İntravasküler glukoz veya intramüsküler ACTH uygulama: İV glukoz uygulama doğrudan kana glukoz sağlayan bir yoldur. ACTH, glukokortikoid salıverilişini uyarır; glukokortikoidler de periferik dokularda glukoz alınımasını ve glikolizi azaltırlar.

Hipoglisemi, serum glukoz düzeyinin %40 mg'dan düşük olması durumu olarak tanımlanır. Hipoglisemide temel neden, kana glukoz sağlanmasının azalması veya kan glukozunun kullanımının artmasıdır⁵. 12 saatlik açlıktan sonra saptanan hipoglisemi **açlık hipoglisemisi** olarak tanımlanır. Beslenmeden sonraki 2-6 saatlik zaman diliminde saptanan hipoglisemi ise **postprandial hipoglisemi** olarak tanımlanır. Ayrıca **çocukluk dönemi hipoglisemileri** de tanımlanmıştır^{1,4}.

Açlık hipoglisemileri, nedenlerine bağlı olarak çeşitli sınıflara ayrılabilir: İnsülin veya bazı ilaçların kullanılmasıyla ilgili açlık hipoglisemisi, insülin düzeyi artışı veya insülin antagonisti hormonların eksikliği ile ilgili açlık hipoglisemisi, Von Gierke hastalığında glukoz-6-fosfataz eksikliğine bağlı açlık hipoglisemisi, glikojen sentetaz eksikliğine bağlı açlık hipoglisemisi ve glukoneojenezde görevli enzimlerin eksikliklerine bağlı açlık hipoglisemileri tanımlanmıştır.

Postprandial hipoglisemiler, nedenlerine bağlı olarak çeşitli sınıflara ayrılabilir: Besinsel hipoglisemi (alimenter hipoglisemi), nörojenik hipoglisemi (fonksiyonel hipoglisemi), reaktif hipoglisemiler, alkol alımına bağlı hipoglisemi, genellikle beslenmeden 2-5 saat sonra ortaya çıkan idyopatik hipoglisemiler tanımlanmıştır.

Çocukluk dönemi hipoglisemileri, görüldüğü dönemler göre çeşitli olabilir: Neonatal dönem hipoglisemileri, erken bebeklik dönemi hipoglisemileri, bebeklik dönemi hipoglisemileri tanımlanmıştır. Açlıkta ve ateşli hastalıklarda substrat eksikliği nedeniyle de ketotik hipoglisemi gelişebilir; bebek yağlı diyetle beslendiğinde hipoglisemi ile birlikte ketoasidoz da görülür.

Karbonhidrat metabolizması bozuklukları

Karbonhidrat metabolizması bozuklukları; emilim bozuklukları, dönüşüm bozuklukları, depolanma bozuklukları, kullanım bozuklukları olmak üzere dört sınıfa ayrılır.

Karbonhidrat emilim bozuklukları, başlıca disakkaridaz yetmezlikleri (disakkariziler) ve diğer emilim bozukluklarıdır. Karbonhidrat emilim bozukluklarında gıda alımından kısa bir süre sonra görülen karında şişlik ve ağrı, gaz oluşumu ve şiddetli ishal karakteristiktir. Emilimi bozuk olan karbonhidrat bağırsak bakterileri tarafından metabolize edilince gaz oluşturur ki bunlardan biri akciğerler yoluyla atılan hidrojendir. Emilmeyen karbonhidratın bağırsakta birikimi su emilimini engeller, bağırsak içi basıncı artar ve ozmotik diyare olarak bilinen patlayıcı tarzda bir ishal biçimi ortaya çıkar⁶.

Disakkaridaz yetmezliklerinden **laktaz yetmezliği (süt intoleransı)** ile sukraz (sakkaraz) yetmezliği önemlidir; izomaltaz eksikliği ve maltaz eksikliği de tanımlanmıştır^{1,2}.

Diğer emilim bozuklukları; pankreatik amilaz eksikliği, bağırsak mukozası ve bağırsak motilitesi ile ilgili emilim bozukluklarıdır.

Karbonhidrat dönüşüm bozuklukları, fruktozun dönüşüm bozukluğu ve galaktozun dönüşüm bozukluğu ile ilgilidir.

Fruktozun dönüşüm bozukluğu ile ilgili karbonhidrat dönüşüm bozuklukları; diyetle fazla fruktoz alınması durumu, herediter fruktoz intoleransı ve fruktoz-1,6-bisfosfataz noksanlığı ve fruktokinaz eksikliğidir⁵. **Diyetle yüksek miktarda fruktoz alınması** durumunda kişilerde yağ asitlerinin sentezi, esterifikasyonu ve VLDL salınması artar; sonuçta, plazmada trigliserid ve LDL kolesterol düzeyleri yükselir. **Herediter fruktoz intoleransı,** aldolaz B (fruktoz-1-fosfat aldolaz) eksikliği ile ilgili, otozomal resesif kalıtım oldukça nadir bir hastalıktır. Bol meyve ve sakkaroz alımından 30-60 dakika sonra reaktif hipoglisemi gelişmesi ile karakterizedir. Organizmada fruktozun kullanılmaması nedeniyle hipoglisemi, hepatik ve renal bozukluklar ortaya çıkar. Hastalarda karaciğer ve proksimal tubuluslarda ortaya çıkan fruktoz-1-fosfat birikimi sonucu gelişen toksik tablo nedeniyle karaciğer yetmezliği ve Fanconi sendromu olarak bilinen böbrek hastalığı gelişir. Karaciğer bozukluğunun bir sonucu olarak, konjuge bilirubinün yükselmesi ile karakterize bir sarılık ve karaciğer enzimlerinde yükselme gözlenir. Bu hastaların idrarında redüktan madde olarak fruktoz bulunur ve Fanconi sendromu nedeniyle masif aminoasidüri görülür. Fruktozun glukozu dönüşmemesi hipoglisemi nedenidir ki hastalığın en önemli bulgusu hipoglisemidir; hastalara tanı amacıyla fruktoz yükleme testi yapılması ölümlerle sonuçlanabilecek ölçüde tehlikelidir. Çünkü, fruktozun kullanımı sırasında oluşup biriken fruktoz-1-fosfat, karaciğer fosforilazını inhibe ederek glikojenin glukozu dönüşümünü engeller. **Fruktoz-1,6-bisfosfataz noksanlığı,** esasında glukoneogenez ile ilgili bir bozukluktur. Glukoneogenezin işleyişi ciddi bir şekilde bozulur; normalde glukoneogenezde kullanılan laktik asidin birikmesiyle laktik asidoz tablosu gelişir. Hastalığın bir diğer önemli bulgusu hipoglisemidir. Hastalarda normal ölçüde glikojen varlığına rağmen hipogliseminin ortaya çıkışı, biriken fruktoz-1,6-bisfosfatın karaciğer fosforilazını allosterik olarak inhibe etmesine bağlıdır. Otozomal resesif olarak kalıtılan hastalığın klinik bulgularını fizik ve mental gerilik, hepatomegali oluşturur. **Fruktokinaz eksikliği,** esansiyel fruktozüriye neden olur³. Fruktozun idrarla atıldığı selim bir durumdur. Genellikle indirgeyici madde için idrar testi yapılırken tesadüfen saptanır.

Galaktozun dönüşüm bozukluğu ile ilgili karbonhidrat dönüşüm bozuklukları galaktozemilerdir. **Galaktozemiler,** galaktoz metabolizmasının üç önemli enziminden (galaktoz-1-fosfat üridil transferaz, galaktokinaz, üridil difosfagalaktoz-4-epimeraz) birinin eksikliğinin

sonucu olarak ortaya çıkarlar ve eksik olan enzim türüne göre üç tipe ayrılırlar⁵. **Tip-1 galaktozemi,** galaktoz-1-fosfat üridil transferaz eksikliği sonucu ortaya çıkar; galaktoz-1-fosfat birikimi sonucu genellikle yeni doğan bebeklerde uzamış sarılık, siroz ve ileri yaşta mental gerilik, Fanconi sendromu bulguları saptanır. Ayrıca, galaktozun lenste aldolaz redüktaz tarafından galaktile çevrilmesinden dolayı gelişen ozmotik şişme sonucu katarakt oluşur. Hastaların idrarında redüktif şeker vardır, ancak bu glukoz değildir. Kan glukozu normaldir, fakat hastalarda hipoglisemik konvulsiyonlara meyil vardır. Direkt bilirubin artmıştır, transaminazlar ve diğer karaciğer enzimleri yükselmiştir. Tanı amacıyla galaktoz yükleme testi yapılması hipoglisemik konvulsiyonlar nedeniyle tehlikeli olabilir. Eritrositlerde galaktoz-1-fosfat üridil transferaz ölçümü yapılarak kesin tanı konur. **Tip-2 galaktozemi,** galaktokinaz eksikliği sonucu ortaya çıkar; galaktoz-1-fosfat yerine galaktolün biriktiği ve bu yüzden karaciğer, böbrek, beyin gibi organlara ait değişikliklerin görülmediği hafif seyreden bir hastalıktır. **Tip-3 galaktozemi,** üridil difosfagalaktoz-4-epimeraz eksikliği sonucu ortaya çıkar; klinik bulguları tip 1 galaktozemide görülenlere benzer. Okul çağında okuma güçlüğü çeken ve nörolojik bozukluğu olan çocuklarda galaktozemi düşünülmelidir. Erken tanındığında süt kısıtlanarak mental gerilik önlenebilir.

Karbonhidrat depolanma bozuklukları; glikojen yapımında veya glikojen yıkımında görevli enzimlerin eksiklikleriyle ilgili olarak ortaya çıkan **glikojen depo hastalıkları (glikojenozlar)** ile hücre içinde kondroitin sülfat, dermatan sülfat, heparan sülfat, keratan sülfat gibi glikozaminoglikanların yıkımlarını gerçekleştiren 10 kadar lizozomal enzimin noksan oluşu sonucu ortaya çıkan **mukopolisakkaridozlar**dır.

Glikojen depo hastalıklarının (glikojenozlar) glikojen yapım bozukluğu ile ilgili olanlarından; glikojen sentaz noksanlığı ile dallandırıcı enzim noksanlığı (Tip IV glikojenoz, Andersen hastalığı) önemlidir. Glikojen yıkım bozukluğu ile ilgili olanlarından; glukoz-6-fosfataz noksanlığı (Tip I glikojenoz, Von Gierke hastalığı), lizozomal alfa glukozidaz noksanlığı (Tip II glikojenoz, Pompe hastalığı), dal kırıcı enzim noksanlığı (Tip III glikojenoz, Cori hastalığı), kas doku fosforilaz noksanlığı (Tip V glikojenoz, Mc Ardle sendromu), fosforilaz noksanlığı (Tip VI glikojenoz, Hers hastalığı), kas doku ve eritrosit fosfofruktokinaz noksanlığı (Tip VII glikojenoz, Tauri hastalığı), fosforilaz kinaz noksanlığı (Tip VIII glikojenoz, Tip IX^d) önemlidir. Bunlardan tip V glikojenoz ile tip VII glikojenoz kas dokusunu tutarlar, diğerleri karaciğeri tutarlar^{1,5}.

Mukopolisakkaridozlar, otozomal resesif veya sekse bağlı resesif olarak kalıtılırlar. Hücrelerde, ilgili glikozaminoglikanların ya kendileri ya da metabolik

parçalanma ürünleri birikir ve sonuçta iskelet sisteminde şekil bozuklukları, fizik ve mental gelişme geriliği, hepatomegali, kalp yetmezliği, işitme ve görme bozuklukları, kronik akciğer infeksiyonu gibi bozukluklar ortaya çıkar. Hastaların genel özelliği “çirkin çocuk” görünümüdür. Önemli mukopolisakkaridozlar ve sebep olan enzim eksikliği şunlardır:

Hunter sendromu: İdüronat-2-sülfataz eksikliği ile heparan ve dermatan sülfat birikimi

Hurler sendromu: Alfa-L-idüronidaz eksikliği ile heparan ve dermatan sülfat birikimi

Morquio sendromu: N-asetil-galaktozamin-6-sülfataz eksikliği ile keratan sülfat birikimi

Sanfilippo sendromu: Heparan-N-sülfataz eksikliği ile heparan sülfat birikimi

Maroteaux-Lamy sendromu: Aril sülfataz eksikliği ile dermatan sülfat birikimi

Karbonhidrat kullanım bozuklukları; diabetes mellitus ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz noksanlığıdır.

Diabetes mellitus (DM), karbonhidrat metabolizmasının, mutlak veya göreceli insülin yetersizliğine bağlı olarak oluşan, hiperglisemi ve glukozüri ile karakterize, lipid ve protein metabolizması bozukluklarını da içeren bir bozukluğudur. Poliüri, polidipsi, polifaji, kilo kaybı, görmede bulanıklık, hiperglisemi kontrol altına alınmadığında ketoasidozis ve koma diabetes mellitusun genel belirtileridir. Diabetes mellitusun çeşitli tipleri tanımlanmıştır^{1,5,7,9}:

Tip 1 diyabet (T1DM), insüline bağımlı DM veya juvenil başlangıçlı DM olarak bilinir, pankreasın β -hücrelerinin otoimmün yıkılımı sonucunda T1ADM, idiopatik (olasılıkla viral) yıkılımı sonucunda T1BDM ortaya çıkar, pankreasta insülin sentezi ve sekresyonu olmamaktadır.

Tip 2 diyabet (T2DM), insüline bağımlı olmayan DM veya erişkin başlangıçlı DM olarak bilinir, insüline direnç, yetersiz insülin sekresyonu veya bu ikisinin birlikte olması sonucunda ortaya çıkar, diyabetin en sık görülen formudur.

Diyabetin diğer spesifik tipleri (sekonder diyabet), nadir görülür, β -hücrelerinin fonksiyonunda genetik defekt, insülinin etkilerinde genetik defekt, ekzokrin pankreas hastalığı, endokrinopatiler, ilaç veya kimyasal etkisi, enfeksiyonlar gibi nedenlerle ortaya çıkar.

Gestasyonel diyabet (GDM), gebelikte başlayan veya ilk kez gebelik sırasında tanı alan diyabet tipidir, birinci derece akrabalarda diyabet öyküsü, obezite, ileri anne yaşı, glukozüri ve önceki gebelikte makrozomi (>4 kg bebek), polihidroamnios veya ölü doğum bulunması durumlarında ortaya çıkma riski yüksektir.

Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) noksanlığı, dünyadaki en yaygın herediter hastalıktır. Sekse bağlı bir geçiş gösterir ki X kromozomunda hastalıklı geni taşıyan erkek çocuğu mutlaka hastadır,

kadınlarda ise hastalık heterozigot bir genotipe sahiptir. G6PD noksanlığı, temelde bir hemolitik anemi tablosuna yol açar^{3,6}. Bu tablonun bulguları olarak; hastada halsizlik, zaman zaman ortaya çıkan hemolitik sarılık belirtileri, anemi ve hemoglobiniüri görülür. G6PD yetmezliğindeki temel biyokimyasal bozukluk, pentoz fosfat metabolik yolunda yeterli NADPH sentezlenememesidir ve bu olaya bağlı olarak redükte glutatyon (G-SH) sentezi de azalmıştır. G-SH noksanlığında da organizma oksidan saldırılara ileri derecede duyarlı duruma gelir ki bu durumda: Serbest oksijen radikallerinin inaktivasyonu bozulur, sonuçta H₂O₂ birikimine bağlı olarak; hemoglobin methemoglobine okside olur, hemoglobindeki tetramerik yapı bozulur ve hemoglobin çöker (Heinz cisimcikleri), S-S bağları nedeniyle eritrosit membran proteinleri bozulur, eritrosit membran lipidleri bozulur ve sonuçta eritrositler kolayca parçalanarak hemoliz olayı gerçekleşir^{3,6}. G6PD yetmezliği ile ilgili olarak; infeksiyonların, bakladaki vicine ve convicine maddelerinin ve bazı ilaçların organizmaya girmeleri halinde serbest radikal oluşturdukları, bir başka deyişle oksidan saldırı gerçekleştirdikleri ve hemolize neden oldukları iyi bilinmektedir.

Karbonhidrat metabolizması bozuklukları için testler

Karbonhidrat emilim bozukluklarından disakkaridaz eksikliği, ya bağırsak biyopsisi ve ince bağırsak mukozasından alınan biyopsi materyalinde direkt olarak disakkaridaz aktivitesini ölçerek veya ilgili şekerin yenmesinden sonra noninvaziv olarak nefes hidrojen atılımının artışı göstererek tanınabilir. **Laktaz yetmezliğinin belirlenmesi** için; laktaz tolerans testi, nefeste hidrojen ölçülmesi, dışkı pH'nın ölçülmesi, bağırsak biyopsi örneklerinde enzim çalışmaları önemlidir.

Laktaz tolerans testinde hastaya sıvı ortamda hazırlanmış 50 g laktaz verilir ve 30 dakika aralıklarla 4 kan örneği alınarak glukoz yükselmesi izlenir. Kan glukozu %30 mg ve daha fazla yükselmişse sonuç normaldir, %20-30 mg arasında yükselmişse sonuç şüphelidir, %20 mg'dan az yükselmişse laktaz yetmezliği kesindir.

Nefeste hidrojen ölçülmesi, bağırsakta gaz oluşumunu belirleme amacına yöneliktir.

Dışkı pH'mın 5,3'ten düşük olması laktaz yetmezliği için önemli bir tanı kriteridir.

Bağırsak biyopsi örneklerinde enzim çalışmalarıyla eksik disakkaridaz saptanabilir.

Karbonhidrat dönüşüm bozukluklarından herediter fruktoz intoleransının belirlenmesi için, hipoglisemi, konjuge bilirubinin yükselmesi ile karakterize bir sarılık ve karaciğer enzimlerinde yükselme gözlenmesi, hastaların idrarında redükten madde olarak fruktoz bulunması ve Fanconi sendromu nedeniyle masif aminoasidiüri görülmesi önemli bulgulardır. **Galaktozemilerin belirlenmesi** için, yeni

doğın bebeklerde uzamış sarılık, siroz, katarakt ve ileri yaşta mental gerilik, Fanconi sendromu bulguları saptanması; hastaların idrarında redüktif şeker saptanması, kan glukozunun normal olması, direkt bilirubin artmış, transaminazlar ve diğer karaciğer enzimlerinin yükselmiş olması önemlidir. Eritrositlerde galaktoz-1-fosfat üridil transferaz ölçümü yapılarak kesin tanı konur.

Karbonhidrat depolanma bozukluklarından glikojen depo hastalıklarının (glikojenozlar) belirlenmesi, klinik bulgular varlığında direkt olarak dokuda enzim defektinin gösterilmesi suretiyle olur. **Mukopolisakkaridozlarda tanı** amacıyla lökositlerde ve fibroblast kültürlerinde kusurlu enzim aranır. Korionik villus veya amniosit kültürleri, prenatal tanıda yararlıdır. 24 saatlik idrarda dermatan sülfat, heparan sülfat, keratan sülfat ve kondroitin sülfat ölçümleri de yararlı verilerdir.

Karbonhidrat kullanım bozukluklarından diabetes mellitus için laboratuvar testleri, tanı, tarama, izleme, prognozu belirleme amacıyla yapılır. Önerilen analizler: Glukoz, keton cisimleri, glikozile hemoglobin, genetik markerler, otoimmün markerler, mikroalbümin, potansiyel önemli çeşitli analitlerin tayinidir.^{1,5,7}

Diabetes mellitus için kan glukoz düzeyi analizi: Kanın, gece açlığından (en az 8 saat) sonra alınması ve hücresel elemanların 60 dakika içinde ayrılması gerekir. Analizin plazmada yapılması tavsiye edilmektedir. Referans değerleri; çocuklarda: 60-100 mg/dL (3,3-5,6 mmol/L), erişkinde: 74-106 mg/dL (4,1-5,9 mmol/L)'dir.

Analizin, diyabet tanısı ve yüksek risk gruplarında tarama için, güvenilir laboratuvarlarda yapılması gerekir. Diyabetin izlenmesi için, portabl ölçü cihazlarıyla muayenehanede ve hastanın kendisi tarafından ölçüm yapılabilir.

Diyabette tanı kriterleri: Semptomların varlığında; önceki yemeğin zamanına bakılmaksızın plazma glukozunun 200 mg/dL (11,1 mmol/L) olması, açlık plazma glukozunun (FPG) 126 mg/dL (7,0 mmol/L) olması, oral glukoz tolerans testi (OGTT) sırasında 2.saatteki plazma glukozunun 200 mg/dL (11,1 mmol/L) olmasıdır.⁷⁻⁹

Tip 2 diyabet için FPG ölçümü ile tarama, American Diabetes Association (ADA) tarafından, 45 yaşındaki asemptomatik kişilerde önerilmektedir. Sonuçlar <110 mg/dL (6,1 mmol/L) ise, test 3 yılda bir tekrarlanmalıdır.

Portabl ölçü cihazlarıyla hastanın kendisi tarafından kan glukozu analizi yapılarak diyabetin izlenmesi, insülin tedavisi uygulanan tip 1 diyabetli hastalarda tavsiye edilmektedir. Böyle hastalarda kan glukozu ölçümü günde en az üç kere yapılmalıdır.

Diabetes mellitus için oral glukoz tolerans testi (OGTT), tip 1 ve tip 2 diyabet tanısı için ADA tarafından artık önerilmiyor; WHO tarafından sınırlı kullanılması (FPG konsantrasyonu 110-126 mg/dL olduğunda) öneriliyor. ADA ve WHO, gestasyonel

diyabetin (GDM) tanısı için OGTT'ni önermektedirler. 3 gün boyunca kısıtlama olmadan diyet uygulamasından ve 8-14 saatlik gece açlığından sonra FPG ölçülür. 75 g (çocuklarda 1,75 g/kg vücut ağırlığı-75 g) glukoz, 250-300 mL suda olarak 5 dakika içinde yüklenir. Glukoz yüklemenden 2 saat sonra alınan kan örneğinde glukoz ölçülür. FPG 110-126 mg/dL (6,1-7,0 mmol/L) ve 2 saat sonraki PG<140 mg/dL (7,8 mmol/L) ise bozulmuş açlık glukozu tanımlanır; FPG <126 mg/dL (7,0 mmol/L) ve 2 saat sonraki PG 140-200 mg/dL (7,8-11,1 mmol/L) ise bozulmuş glukoz toleransı tanımlanır; FPG 126 mg/dL (7,0 mmol/L) ve 2 saat sonraki PG>200 mg/dL (11,1 mmol/L) ise diabetes mellitus tanımlanır.⁷⁻⁹

GDM tanısı için, 25 yaşından küçük, gebelikten önceki vücut ağırlığı normal olan, birinci derece akrabalarında diyabet olmayan, anormal glukoz tolerans öyküsü olmayan, kötü gebelik öyküsü olmayan gebeler GDM riski düşük kabul edilir ve bunlara OGTT yapılmaz. Belirli obez, önceki gebeliklerinde GDM kuşkusuna olan, glukozürisi olan, diyabetik aile öyküsü kesin olan gebeler GDM riski yüksek kabul edilir ve bunlara OGTT hemen yapılır. GDM riski orta derecede olan diğer gebelere gebeliğin 24-28. haftaları arasında OGTT yapılır. Tek basamakta tanı için 100 g veya 75 g glukoz ile OGTT yapılır. İki basamakta tanı için önce 50 g oral glukoz yüklemesi (açlık şart değil) yapılır ve 1 saat sonra glukoz ölçümü yapılır. 50 g glukoz yüklemenden 1 saat sonra ölçülen plazma glukoz konsantrasyonu 7,8 mmol/L (140 mg/dL) ise 100 g veya 75 g glukoz ile OGTT yapılır. Test sırasında ölçülen plazma glukoz düzeylerinin normal değerleri; açlıkta 95 mg/dL (5,3 mmol/L), 1.saatte 180 mg/dL (10 mmol/L), 2.saatte 155 mg/dL (8,6 mmol/L), 3.saatte (75 g glukoz yüklemeye yapılmaz) 140 mg/dL (7,8 mmol/L)'dir. Ölçülen glukoz konsantrasyonlarından iki veya daha fazlasının kriterlerle buluşması veya aşması durumunda GDM tanısı konur.⁹

Diabetes mellitus için idrarda glukoz arama: İdrarda semikantitatif glukoz testinin diyabetli hastaların izlenmesinde rutin olarak yapılması tavsiye edilmektedir. Çünkü idrar glukoz konsantrasyonu, plazma glukoz konsantrasyonunu doğru olarak yansıtmaz. İdrar glukozunun izlenmesi, kan glukozunu portabl ölçü cihazlarıyla kendi kendine izleyemeyen diyabetlilerde düşünülür.

Diabetes mellitus için keton cisimleri: Kanda ve idrarda keton cisimleri (asetoasetat, aseton ve β -hidroksibütirik asit), diyabetli hastalarda diyabetik ketoasidozun tanısı ve gidişinin izlenmesi için tayin edilir. Diyabetlilerde akut hastalık, stres, inatçı hiperglisemi [plazma glukozu>16,7 mmol/L (300 mg/dL)], gebelik, diyabetik ketoasidoz semptomları varlığında idrarda keton cisimi tayini yapılmalıdır.

Diabetes mellitus için glikozile hemoglobin (GHb, HbA_{1c}): GHb, bütün diabetes mellituslu hastalarda glisemik kontrolün derecesini belirlemek

için, en azından iki yılda bir rutin olarak ölçülmelidir. ADA önerilerine göre tedavide hedef, GHb konsantrasyonunun %7'nin altında tutulması ve GHb değeri >%8 ise, tedavi protokolünü yeniden değerlendirmektir. ADA, tarama veya tanı için GHb tayinini önermemektedir.

Diabetes mellitus için genetik markerler: Tip 1 diyabetin tanı ve izlenmesi için genetik markerlerin rutin ölçülmesinin değeri yok. T1ADM riskini göstermek için 6.kromozomdaki HLA ve 11. kromozomdaki INS genleri ile 2.kromozomdaki CTLA-4 geni tiplmeleri yararlı olabilir. Tip 2 diyabetli hastalarda rutin genetik testlerin değeri yok. Maturity onset diabetes of youth (MODY) hastalar ve akrabalarında mutasyonun ortaya çıkarılması teknik olarak mümkün fakat zor ve pahalıdır. Diyabet için genetik tarama, prognoz ve genetik danışma için yararlı olabilmekle birlikte genotip, fenotiple korele olmayabilir. Mutasyonların ortaya çıkarılması, periferik kan lökositlerinden ekstrakte edilen genomik DNA'da yapılır. Kan örnekleri EDTA'lı tüplere alınır ve DNA 3 gün içinde ayrılır.

Diabetes mellitus için otoimmün markerler: Adacık hücre sitoplazmik otoantikoları (ICAs), insülin otoantikoları (IAAs), glutamik asit dekarboksilaz otoantikoları (GADA), insülinoma ilişkili otoantikolar [IA-2A ve IA-2 (beta)A], T1ADM'lu hastaların %85-90'ında açlık hiperglisemisinin başlamasından önce saptanmaktadır. ICAs, genel popülasyondaki sıklığı en düşük olduğundan en spesifik çalışmadır, ancak çalışılması komplekstir ve pahalıdır. IAAs, sıklığı erişkinde düşük olduğundan tarama testi olarak kullanılabilir. IAA, ICA, GADA veya IA-2A'a ek olarak kullanılır. GADA ve IA-2A, otomatize de edilebildiğinden en iyi tarama testleridirler, ancak rutin tarama testleri olarak önerilmemektedirler. Beta hücre otoimmünitesi için sensitivite sırası ICA ~> GADA, IA-2A >> IAA; spesifite sırası ICA > IAA, GADA, IA-2A; pratiklik sırası GADA, IA-2A >> ICA (IAA) biçimindedir^{7,8}.

Diabetes mellitus için mikroalbüminüri: ADA, diyabetli erişkinlerde periyodik olarak triple idrarda albümin aramayı önermektedir. Strip testi negatif ise mikroalbüminüri testi yapılır. 24 saatlik idrarda 30-300 mg albümin mikroalbüminüri olarak tanımlanır, >300 mg albümin klinik mikroalbüminüri olarak tanımlanır. Mikroalbüminürinin prognostik anlamı vardır: Mikroalbüminüri tip 1 diyabetli hastaların %80'inde üriner albümin atılımı her yıl %10-20 artar ve 10-15 yılda klinik proteinüri gelişir. Bunların da çoğu (>%80) terminal döneme gider. Mikroalbüminüri tip 2 diyabetli hastaların %20-40'ında nefropati gelişir. Bunların yalnızca ~%20'si terminal döneme gider. Mikroalbüminüri tip 1 ve tip 2 diyabetli hastalarda kardiyovasküler hastalık riski de artmıştır. Yıllık mikroalbüminüri testleri için, 12 saatlik veya 24 saatlik idrar örneklerinde albümin konsantrasyonu tayini, spot idrar (tercihan sabah ilk

idrarı) örneklerinde albümin/kreatinin oranı tayini yapılır. Tedaviye yanıtı izlemede 12 veya 24 saatlik idrar örneklerinde albümin konsantrasyonu tayini tercih edilir. İşlenmemiş idrarda albümin, 4-20°C'de en az 1 hafta stabildir, -20 veya -80°C'de saklanabilir.

Diabetes mellitus için potansiyel önemli çeşitli analitlerden insülin, C-peptid, proinsülin, rutin testler olarak rolü olmayan testlerdir; araştırma amaçlı olarak ölçülürler, nadir vakalarda oral ilaçlara dönmeden önce mutlaka insülin gerektiren hastaları tanımak için ölçülürler. Amilin ve leptin de diabetes mellitusta araştırma amaçlı olarak ölçülen testlerdir. Amilin, bir pankreatik peptiddir. Besin alınmasına cevap olarak insülin ile birlikte salgılanır. Mide boşalmasını geciktirerek ve glukagon oluşmasını azaltarak glukoz metabolizmasının düzenlenmesine yardım eder. Leptin, adipoz dokuda sentezlenen proteindir. Hipotalamus yoluyla iştah ve enerji alımının düzenlenmesinde rol oynar. Genetik olarak obez farelerde leptin eksikliği olduğu halde birçok obez insanda leptin konsantrasyonu artmıştır. Diyabetli bütün erişkinlerde her yıl lipid profiline (plazma kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol ve trigliserid konsantrasyonu) bakılmalıdır. ADA'ya göre; LDL3,35 mmol/L (130 mg/dL), HDL0,90 mmol/L (35 mg/dL) [erkek] ve 1,15 mmol/L (45 mg/dL) [kadın], TG4,5 mmol/L (400 mg/dL) olan diyabetli hastalar koroner arter hastalığı (CAD) için yüksek risk grubunu oluşturmaktadır.

Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) noksanlığında tanı, klinik bulgular ve laboratuvar testleri yardımıyla kolayca konur. Yorgunluk, solukluk, taşikardi, nefes darlığı, sarılık, kırmızı veya siyah renkli idrar, ateş, büyümüş dalak, karın ağrısı ve kusma sıklılı görülen bulgulardır. Eritrositlerde G6PD aktivitesinin ölçülmesi kesin tanı için şarttır. Bunu dışında bir hemolitik anemi ve sarılık varlığını ortaya koyan retikülosit sayımı, bilirubin düzeyi ölçümü gibi testler tanıya yardımcı olur. Periferik yaymada Heinz cisimcikleri aranır.

Karbonhidrat metabolizması bozuklukları için yapılan testlerin prosedürleri

Vücut sıvılarında glukoz ölçümü

Kan glukozunu ölçmek için şimdi sıklıkla kullanılan tekniklerin hemen hepsi enzimattiktir; fotometrik veya oksidasyon-redüksiyon teknikleri gibi daha eski yöntemler nadiren kullanılmaktadır¹.

Örnek, toplama ve saklama

Birçok klinik laboratuvarında glukoz ölçümlerinin çoğunda plazma veya serum kullanılırken, glukozun bireysel monitorizasyonu için kullanılan yöntemlerin çoğu tam kan kullanır. Normal hematokriti olan kişilerde açlık kan glukoz konsantrasyonu plazma glukozundan %12-15 daha düşüktür.

Açlık sırasında kapiller kan glukoz konsantrasyonu venöz kandan sadece 2-5 mg/dL kadar yüksektir. Ancak glukoz yüklenmesi sonrası

kapiller kan glukoz konsantrasyonu aynı zamanda alınmış venöz kan örneklerinden 20-70 mg/dL daha fazladır.

Glikoliz, oda ısısında santrifüj edilmemiş normal kanda kan glukozunu saatte yaklaşık 5-10 mg/dL düşürür. İn vitro glikoliz hızı, lökositöz veya bakteriyel kontaminasyon varlığında daha fazladır.

Ayrıldığında, hemoliz olmamış steril serumda glukoz konsantrasyonu 25°C'de 8 saat, 4°C'de 72 saat süreyle dayanıklıdır.

Örneğe oda ısısında sodyum iyodoasetat veya sodyum florür eklenmesiyle glikoliz 3 gün boyunca inhibe olur ve glukoz konsantrasyonu kararlı olur.

Hekzokinaz yöntemiyle glukoz ölçümü

Referans yöntem olarak genel kabul görmüş, geliştirilmiş ve onaylanmış yöntemin ilkesi şöyledir: Glukoz, hekzokinaz ve Mg^{2+} varlığında, ATP ile fosforile olur. Oluşan glukoz-6-fosfat, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G-6-PD) ile nikotinamid-adenin dinükleotid fosfat ($NADP^+$) varlığında 6-fosfoglukonata okside olur. İndirgenen $NADP$ ($NADPH$) düzeyi, örnekteki glukoz düzeyi ile orantılıdır ve 340 nm'de absorpsiyon değeriyle ölçülür. Ölçümde mayadan kaynaklanan G-6-PD, kofaktör $NADP^+$ ile beraber; bakteriyel G-6-PD, kofaktör NAD^+ ile beraber kullanılır.

Prosedür, 0-500 mg/dL arasında doğrusaldır; 500 mg/dL'yi aşan glukoz konsantrasyonları izotonik NaCl ile seyreltilmeli ve tekrar ölçülmelidir. Mevcut hekzokinaz prosedürlerinde indikatör reaksiyonları gözlemlenebilir aralıkta absorpsiyon ölçümlerini mümkün kılan renkli ürünler oluşturur. Fenazin metosülfat (PMS) ve 2-(p-iyodofenil)-3-p-nitrofenil-5-feniltetrazolyum klorür (INT) gibi tetrazolyum bileşikleri içeren yükseltgenme-indirgenme sistemleri, reaksiyonda oluşan $NADPH$ ile reaksiyona girer. İndirgenmiş INT, 520 nm'de en fazla absorpsiyon vererek renklenir.

Glukoz oksidaz yöntemiyle glukoz ölçümü

Yöntemin ilkesi şöyledir: Glukoz oksidaz enzimi, glukozun glukonik asit ve hidrojen peroksit oksidasyonunu katalizler. Reaksiyon, peroksidaz ve o-dianisidin gibi kromojenik oksijen tutucusunun eklenmesiyle renkli bir bileşik oluşumuyla sonuçlanır. Glukoz oksidaz, β -D-glukoz için oldukça özgüdür. Çözeltide glukozun %36'sı α - ve %64'ü β -formlarında olduğundan tam reaksiyon α - formunun β - formuna mutarotasyonuna ihtiyaç gösterir. Ticari glukoz oksidazın bazıları reaksiyonu hızlandıran mutarotaz enzimini içerir. Peroksidazı içeren ikinci aşama glukoz oksidaz reaksiyonundan daha az özgündür; ürik asit, askorbik asit, bilirubin, hemoglobin, tetrasiklin ve glutatyon gibi çeşitli maddeler olasılıkla H_2O_2 için kromojenle yarışmaya girme suretiyle daha düşük değerler oluşturarak reaksiyonu reaksiyonu inhibe ederler.

Glukoz oksidaz yöntemleri BOS glukozu ölçümü için uygundur. İdrar peroksidaz reaksiyonunu

etkileyen maddeleri yüksek konsantrasyonlarda içerdiğinden glukoz oksidaz idrar ölçümlerinde kullanılmamalıdır.

Bazı cihazlarda, glukoz oksidaz içeren çözeltiye örnek eklendikten sonra oksijen tüketim hızını ölçen polarografik oksijen elektrodu bulunur. Bu ölçüm sadece glukoz oksidaz reaksiyonunu kullandığından peroksidaz aşamasında elde edilen etkileşimleri elimine eder. H_2O_2 'den oksijen oluşumunu önlemek için, H_2O_2 bazı glukoz oksidazlarda varolan katalaz yoluyla uzaklaştırılır. İşlem idrar, serum, plazma veya BOS örneklerine direkt olarak uygulanabilir; ancak, kan hücreleri oksijeni kullandığından tam kanda glukoz ölçümü için kullanılamaz.

Çoklu-tabakalı slayt kullanan otomatize kuru kimya analiz sistemlerinde glukoz, glukoz oksidaz yöntemiyle ölçülür. Özellikle insüline ihtiyaç duyan diyabetik hastalarda kan glukozunun bireysel monitorizasyonu (SMBG) için basit test strip'leri vardır. Strip yöntemlerinin çoğunda glukoz oksidaz-peroksidaz kromojen reaksiyonuyla renk oluşturan boya kullanılmaktadır. Kuru halde olan reaktifler bir deney stripinin ufak yüzeyinde birleştirilmekte ve ortaya çıkan renkler renk skalasıyla karşılaştırılarak gözle değerlendirilmekte veya özel bir ölçüm cihazı tarafından miktar olarak belirlenmektedir. Renk skalasıyla görsel okuma çoğu klinik koşullar için güvenilir değildir. Ticari olarak en az 20 farklı kan glukoz ölçüm cihazı vardır ki bunlar büyüklük, ağırlık, kalibrasyon yöntemi ve diğer özellikleri bakımından farklılıklar göstermektedirler. Kullanıcı değişkenliği ve hematokrit dahil pek çok faktör SMBG'nin doğruluğunu ve tekrarlanabilirliğini etkilemektedir. Bu ölçümler çok düşük (<60 mg/dL) ve çok yüksek (>500 mg/dL) glukoz konsantrasyonlarında güvenilir değildir. Tam kanın kullanıldığı test strip'leri, plazma veya serumdan %10-15 daha düşük glukoz konsantrasyonlarıyla sonuçlanmaktadır. Güvenilir SMBG performansı için yeterli eğitim çok önemlidir; amaç, 30-400 mg/dL glukoz konsantrasyonlarında %10'dan daha az değişkenlik elde etmektir.

Glukoz dehidrogenaz yöntemiyle glukoz ölçümü

Glukoz dehidrogenaz enzimi, glukozun glukonolaktone oksidasyonunu kataliz eder. Dengeye ulaşmak için gerekli olan zamanı kısaltmak için mutarotaz eklenir. Oluşan NADH miktarı glukoz konsantrasyonu ile orantılıdır. Reaksiyon sık kullanılan antikoagulanlardan ve serum içinde normal olarak bulunan maddelerden gelen etkileşimi göstermediğinden yüksek derecede özgüdür ve hekzokinaz yöntemiyle çok yakın sonuçlar elde edilmesini sağlar. Ancak, glukoz dehidrogenaz yöntemi ABD'nde yaygın olarak kullanılmamaktadır.

İdrarda total indirgeyici maddelerin ölçümü için kalitatif yöntem

Benedict'in kalitatif reaktifi, alkalin çözelti içinde sitratla birleştirilmiş bakır-2-iyonlarını içerir.

İndirgeyici maddeler, Cu^{2+} ı Cu^{+} a çevirerek sarı renkli CuOH veya kırmızı renkli Cu_2O oluştururlar. Prosedürün uygun bir adaptasyonu tablet şeklinde pazarlanmaktadır (Clinitest).

İdrardaki glukozun semikantitatif ölçümü

Çeşitli üreticilerin ticari amaçla piyasaya sürdükleri kağıt test stripleri (Clinistix, Diastix, Chemstrip) vardır. Bunların tümü, kromojenik bir ölçümde glukozu özgün enzim olan glukoz oksidazı kullanır. İdrarın H_2O_2 ile veya hipoklorit gibi kuvvetli okside edici bileşiklerle kontamine olması durumunda yalancı pozitif sonuçlar ortaya çıkabilir. Yalancı negatif sonuçlar ise ketonlar, askorbik asit ve salisilatlar gibi indirgeyici maddelerin büyük miktarlarda bulunması durumunda ortaya çıkabilir. Rutin incelemelerde strip testinin negatif sonucu genellikle idrar örneğinin glukoz bakımından negatif olduğu şeklinde yorumlanır.

İdrarda glukozun kantitatif ölçüm yöntemleri

Hekzokinaz ve glukoz dehidrogenaz yöntemleri en fazla doğruluk ve özgüllük için önerilmektedir.

Serumda keton cisimlerinin saptanması

Keton cisimlerinin kantitatif olarak tek tek belirlenmesi mümkün olmakla birlikte, bu yöntemler rutin testler olarak kullanılmazlar. Yarıkantitatif Acetest ve Ketostix sıklıkla kullanılmakla birlikte β -hidroksibütirata duyarlıdır. Bu nedenle, negatif bir nitroprusid test sonucunun ketoasidozu ekarte ettirmediği hatırlanmalıdır¹.

Acetest

Glisin, sodyum nitroprusid, disodyum fosfat ve laktozun bir karışımını içeren tabletlerle yapılır. Ayrıntılı prosedür, her tablet paketinin üreticisi tarafından sağlanmaktadır.

Ketostix

Tablet yerine reaktif bir stripin kullanıldığı nitroprusid testinin değişik bir şeklidir. Ketostix testi, litrede en az 50 mg asetoasetat içeren bir örnekte 15 saniye içinde pozitif bir reaksiyon verir. Aseton da reaksiyona girer, fakat duyarlılığı daha düşüktür.

İdrarda keton cisimlerinin saptanması

Acetest ve Ketostix, idrarda da keton cisimlerinin belirlenmesine uygundur. Testlerin duyarlılık ve özgüllüğü serumdaki gibidir¹.

Gerhardt testi, ferrik klorürün asetoasetatla reaksiyona girmesiyle şarap kırmızısı bir renk oluşturması esasına dayanmaktadır. Bu test spesifik değildir; salisilat, fenol ve antiprin gibi diğer bileşikler de aynı rengi vermektedir.

KAYNAKLAR

1. Carl AB, Edward RA. Tietz klinik kimyada temel ilkeler. Beşinci baskıdan çeviri. Aslan D, çeviri editörü. Palme Yayıncılık, Ankara, 2005:427-61
2. Smith C, Marks AD, Lieberman M. Marks' temel tıbbi biyokimyası, klinik yaklaşım. İkinci baskıdan çeviri. İnal ME, Atik U, Aksoy N, Haşimi A, çeviri editörleri. Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara, 2007:473-577.

3. Montgomery R, Conway TW, Spector AA, Chappell D. Biyokimya, olgu sunumlu yaklaşım. Altıncı baskıdan çeviri. Altan N, çeviri editörü. Palme Yayıncılık, Ankara, 2000:175-204.
4. Samir PD, Sana IP. Lexi-Comp's clinician's guide series, klinisyenler için laboratuvar tıbbi rehberi, pratik yaklaşımlar. Ulukaya E, çeviri editörü. Nobel & Güneş, 2004: 325-40.
5. Laker MF. Klinik biyokimya. Ulukaya E, çeviri editörü. Nobel & Güneş, 1998:1-20.
6. Champe PC, Harvey RA. Biyokimya. Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E, çeviri editörleri. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1997:111-55
7. Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK, McDonald JM, Parrott M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. Clinical Chemistry 2002;48:3; 436-72.
8. Rodriguez BL, Abbott RD, Fujimoto W, Waitzfelder B, Chen R, Masaki K, Schatz I, Petrovitch H, Ross W, Yano K, Blanchette PL, Curb JD; American Diabetes Association; World Health Organization. The American Diabetes Association and World Health Organization classifications for diabetes: Their impact on diabetes prevalence and total and cardiovascular disease. Diabetes Care 2002;25:6; 951-5.
9. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 2009;32(Supplement 1):S62-S67.

YAZIŞMA ADRESİ

Doç. Dr. Mustafa ALTINIŞIK
Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı, AYDIN, TÜRKİYE

E-Posta : maltinisik@adu.edu.tr

Telefon : 256.2253166

Geliş Tarihi : 15.08.2009

Kabul Tarihi : 17.08.2009