

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DİYABET ÖNCESİ VE SONRASI RATLARDA OKSİDAN-
ANTİOKSİDAN KAPASİTENİN VE KARDİYOVASKÜLER RİSK
FAKTÖRLERİNİN DEĞİŞİMİ**

DOKTORA TEZİ

Hatice AKKAYA

Tez Yöneticisi

Prof. Dr. Sait ÇELİK

ELAZIĞ–2009

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının bütün aşamalarında benden destek ve ilgisini esirgemeyen; bilgi ve engin tecrübelerinden yararlandığım Hocam Sayın Prof. Dr. Sait ÇELİK'e sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Deney aşaması boyunca sağlamış olduğu laboratuvar imkânları için Sayın Doç. Dr. Seval YILMAZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca maddi ve manevi desteklerinden dolayı anne ve babama, kardeşlerime, yeğenime, Yrd.Doç.Dr. Bünyamin ATICI'ya ve özellikle varlığıyla bana güç katan sevgili kızım Öyküm'e ve eşime sonsuz teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Hatice AKKAYA

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	II
İÇİNDEKİLER	III
TABLolar LİSTESİ.....	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VII
KISALTMALAR	VIII
ÖZET	X
ABSTRACT	XI
1. GİRİŞ	1
1.1. Diabetes Mellitus	1
1.1.1 Tip 1 Diabetes Mellitus (İnsülin Bağımlı Diabetes Mellitus: IDDM).....	2
1.1.2 Tip 2 Diabetes Mellitus (İnsüline Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus)	2
1.2. İnsülin Biyokimyası	2
1.3. Homosistein.....	3
1.4. Leptin	4
1.5. Serbest Radikaller	5
1.6. Serbest Radikallerin Kaynakları.....	5
1.6.1. İntrasellüler Kaynaklar.....	5
1.6.2. Biyolojik Kaynaklar.....	5
1.7. Oksidatif Streste Rol Oynayan Serbest Radikaller.....	6
1.7.1. O_2^- Süperoksit Radikali	6
1.7.2. H_2O_2 (Hidrojen Peroksit)	6
1.7.3. OH (Hidroksil Radikali)	7
1.7.4. NO (Nitrik Oksid)	8
1.7.5. Geçiş Metalleri.....	8
1.8. Antioksidan Savunma Sistemleri	9
1.9. Deneysel Diyabet ve Serbest Radikaller	11
1.9.1. Hiperglisemi Aracılı ROS Üretimi	12
1.9.1.1. Glukozun Oto-oksidasyonu ve Süperoksit Üretimi	12
1.9.1.2. Proteinlerin Glikasyonu ve AGE (ilerlemiş glikasyon son ürünleri) Oluşumu..	13
1.9.1.3. Poliol Yolu	13
1.10. Diyabet ve Kardiyovasküler Risk Faktörleri.....	14
2. MATERYAL VE METOD.....	16
2.1. Hayvan Materyalleri.....	16
2.2. Kan Örneklerinin Alınması	16

2.3. Katalaz Aktivitesinin Tayini	17
2.4. SOD Aktivitesinin Tayini	18
2.5. Plazmada Lipid Peroksidasyon (MDA) Düzeyinin Tayini	20
2.6. Total Antioksidan Kapasite (TAC) Ölçümü	21
2.7. Lipid Parametrelerinin Ölçümü.....	22
2.7.1. Trigliserit Ölçümü.....	22
2.7.2. Kolesterol Ölçümü	22
2.7.3. HDL-Kolesterol Ölçümü.....	22
2.7.4. LDL-Kolesterol Ölçümü	23
2.8. Vitamin C Ölçümü	23
2.9. Vitamin A/E Ölçümü	24
2.10. Homosistein (HCY) Ölçümü	24
2.11. Leptin Ölçümü	25
2.12. İstatistik Değerlendirme	25
3. BULGULAR.....	26
3.1. Diyabet Grubuna Ait Açlık Kan Glukoz Değerleri.....	26
3.2. Kontrol ve Diyabet Gruplarının HCY (µmol/l) Düzeylerine İlişkin Bağımsız Gruplar T Testi Sonuçları	27
3.3. Kontrol ve Diyabet Gruplarının Leptin (ng/ml) Düzeylerine İlişkin Mann Whitney U Testi Sonuçları	28
3.4. Kontrol ve Diyabet Gruplarının MDA (nmol/ml) Düzeylerine İlişkin Bağımsız Gruplar T Testi Sonuçları	28
3.5. Kontrol ve Diyabet Gruplarının Kolesterol (mg/dl) Düzeylerine İlişkin Bağımsız Gruplar T Testi Sonuçları	29
3.6. Kontrol ve Diyabet Gruplarının Trigliserit (mg/dl) Düzeylerine İlişkin Bağımsız Gruplar T Testi Sonuçları	29
3.7. Kontrol ve Diyabet Gruplarının HDL (mg/dl) Düzeylerine İlişkin Bağımsız Gruplar T Testi Sonuçları	30
3.8. Kontrol ve Diyabet Gruplarının LDL (mg/dl) Düzeylerine İlişkin Mann Whitney U Testi Sonuçları	30
3.9. Kontrol ve Diyabet Gruplarının VLDL (mg/dl) Düzeylerine İlişkin Mann Whitney U Testi Sonuçları	31
3.10. Kontrol ve Diyabet Gruplarının Vit A (mg/l) Düzeylerine İlişkin Bağımsız Gruplar T Testi Sonuçları	31

3.11. Kontrol ve Diyabet Gruplarının Vit E (mg/lt) Düzeylerine İlişkin Bağımsız Gruplar T Testi Sonuçları	32
3.12. Kontrol ve Diyabet Gruplarının Vit C (mg/lt) Düzeylerine İlişkin Bağımsız Gruplar T Testi Sonuçları	32
3.13. Kontrol ve Diyabet Gruplarının SOD (U/ml) Aktivitesine İlişkin Bağımsız Gruplar T Testi Sonuçları	33
3.14. Kontrol ve Diyabet Gruplarının Katalaz (k/gHb) Aktivitesine İlişkin Mann Whitney U Testi Sonuçları	33
3.15. Kontrol ve Diyabet Gruplarının TAC (mmol Trolox Equiv./L) Düzeylerine İlişkin Mann Whitney U Testi Sonuçları.....	34
4. TARTIŞMA	35
5. SONUÇ.....	40
KAYNAKLAR	41
ÖZGEÇMİŞ.....	54

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Endojen Antioksidanlar	10
Tablo 2. Katalaz Aktivitesinin Ölçümü	18
Tablo 3. Süperoksid Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Ölçümü	20
Tablo 4. Vitamin A/E Ölçümü	24
Tablo 5. Deney Gruplarına Ait Açlık Kan Glukoz Değerleri	26
Tablo 6. Homosistein düzeylerinin guplara göre istatistiksel karşılaştırılması.....	27
Tablo 7. Leptin düzeylerinin guplara göre istatistiksel karşılaştırılması.....	28
Tablo 8. MDA düzeylerinin guplara göre istatistiksel karşılaştırılması	28
Tablo 9. Kolesterol düzeylerinin guplara göre istatistiksel karşılaştırılması	29
Tablo 10. Trigliserit düzeylerinin guplara göre istatistiksel karşılaştırılması	29
Tablo 11. HDL düzeylerinin guplara göre istatistiksel karşılaştırılması	30
Tablo 12. LDL düzeylerinin guplara göre istatistiksel karşılaştırılması	30
Tablo 13. VLDL düzeylerinin guplara göre istatistiksel karşılaştırılması.....	31
Tablo 14. Vitamin A düzeylerinin guplara göre istatistiksel karşılaştırılması	31
Tablo 15. Vitamin E düzeylerinin guplara göre istatistiksel karşılaştırılması	32
Tablo 16. Vitamin C düzeylerinin guplara göre istatistiksel karşılaştırılması	32
Tablo 17. SOD enzim aktivite düzeylerinin guplara göre istatistiksel karşılaştırılması.....	33
Tablo 18. Katalaz enzim aktivite düzeylerinin guplara göre istatistiksel karşılaştırılması	33
Tablo 19. TAC düzeylerinin guplara göre istatistiksel karşılaştırılması	34

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Serbest radikallerin oluşumu ve enzimatik detoksifikasyonu	7
Şekil 2. Kontrol ve diyabet grubuna ait ağırlık ölçümleri.....	26

KISALTMALAR

·OH	: Hidroksil Radikali
AGE	: İlerlemiş Glikasyon Son Ürünleri
ALX	: Alloksan
ATP	: Adenozin Tri Fosfat
CAT	: Katalaz
CHE	: Kolesterol Esteraz
CHO	: Kolesterol Oksidaz
CuCl₂	: Bakırklorür
DM	: Diabetes Mellitus
DNA	: Deoksiribonükleik asit
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HCY	: Homosistein
HDL	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
HOCI	: Hipoklöröz asit
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IDDM	: İnsüline Bağımlı Diabetes Mellitus
KKH	: Koroner Kalp Hastalığı
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
LOOH	: Lipit Peroksit
MDA	: Malondialdehit
Na₂EDTA	: Disodyum Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
NADPH	: İndirgenmiş Nikotin Amid Adenin Dinükleotid Fosfat
NBT	: Nitro Blue Tetrazolium
NH₄-2SO₄	: Amonyum Sülfat

NIIDM	: İnsüline Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus
NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrikoksit Sentaz
NPY	: Nöropeptid Y
O₂⁻	: Süperoksit Radikali
PKC	: Proteinkinaz C
ROS	: Reaktif Oksijen Türevleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz
STZ	: Streptozotosin
TAC	: Total Antioksidan Kapasite
TBA	: Tiyobarbitürik Asit
TBARS	: Tiyobarbitürik Asit Analiz Maddesi
VKi	: Vücut Kitle İndeksi
VLDL	: Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein
VİT A	: Vitamin A
VİT C	: Vitamin C
VİT E	: Vitamin E

ÖZET

Doktora Tezi

DİYABET ÖNCESİ VE SONRASI RATLARDA OKSİDAN-ANTIOKSİDAN KAPASİTENİN VE KARDİYOVASKÜLER RİSK FAKTÖRLERİNİN DEĞİŞİMİ

Hatice AKKAYA

Fırat Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

2009, Sayfa: XIII+54

Diabetes mellitus insülin sekresyonunun, etkisinin veya her ikisinin bozukluğu sonucu hiperglisemi ile karakterize edilen metabolik bir hastalıktır. Oksidatif stres, diyabet ve diyabetin daha sonraki komplikasyonlarının patogeneğinde önemli rol oynar. Bu çalışmamızda, sağlıklı ve diyabetik ratlarda serbest radikaller ve antioksidan ilişkisinin araştırılması amaçlandı. Bunun için sağlıklı ve diyabet oluşturulmuş ratlarda Homosistein, Leptin, TAC, bazı antioksidan enzim seviyeleri ile A, E, C vitamin düzeylerinin ve bazı lipid bileşenlerinin seviyeleri belirlendi. Diyabetik grupta, kontrol grubuna göre plazma MDA seviyesi artarken ($p<0.05$), SOD, CAT, TAC, HCY, leptin ve Vitamin C seviyelerinde azalma gözlemlendi ($p<0.05$). Vitamin A ve E seviyelerinde ise değişim olmadığı belirlendi ($p>0.05$). Ayrıca, HDL diyabetik grupta kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak düşük bulunurken ($p<0.05$), kolesterol, trigliserid, LDL ve VLDL de kontrol grubunda diyabetik gruba göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0.05$). Sonuç olarak, SOD ve CAT' ın düşük bulunması, oksidatif strese karşı koruyucu sistemin zayıfladığını, TAC düzeyinin de diyabetin izlenmesinde yararlı olabileceğini göstermektedir. Düşük leptin düzeyiyle gelişen kilo artışının kalp hastalığı ve hipertansiyon gibi metabolik hastalıklara yol açabileceği unutulmamalıdır.

Anahtar Kelimeler: Diabetes mellitus, Antioksidan enzimler, MDA, VİT A, VİT E, VİT C, Homosistein, Leptin, Lipid parametreleri, Rat.

ABSTRACT

PhD Thesis

THE CHANGING OF CARDIOVASCULAR RISK FACTORS AND OXIDANT-ANTIOXIDANT CAPACITY ON RATS BEFORE AND AFTER DIABETES

Hatice AKKAYA

Firat University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

2009, Pages: XIII+54

Diabetes mellitus is a group of metabolic diseases characterized by hyperglycemia resulting from defects in insulin secretion, insulin action or both. Oxidative stress has an important role on diabetes and pathogenesis of the further complications of diabetes. In this study, we aimed to investigate correlation between free radicals and antioxidants in healthy and diabetic rats. For this purpose, we assessed Homocystein, Leptin, TAC, some antioxidant enzyme levels with Vitamin A, E, C levels and some lipid parameters levels in healthy and diabetes-induced rats. Plasma MDA levels were found to be significantly increase in diabetic group when compared to control group ($p<0.05$), but SOD, CAT, TAC, HCY, leptin and vit C levels found to be significantly low in diabetic group when compared to control group ($p<0.05$). No difference was observed between the control group and diabetic group in plasma Vit A and Vit E levels. HDL was found to be significantly low in diabetes group when compared to control group ($p<0.05$), but cholesterol, triglyceride, LDL and VLDL found to be significantly low in control group when compared to diabetic group ($p<0.05$). In conclusion, decrease of SOD and CAT in monitored diabetes demonstrates that protective system against oxidative stress is impaired and TAC level may be functional for monitoring diabetes. It must be noted that increased weight after low leptin levels have induced some metabolic disease e.g. heart disease and hypertension.

Key Words: Diabetes mellitus, Antioxidant enzymes, MDA, VIT A, E, C, Homocysteine, Leptin, Lipid parameters, Rat.

1. GİRİŞ

Diyabet, kronik metabolik bir bozukluk olduğu gibi aynı zamanda da artmış bir oksidatif stres durumudur. Diyabette artmış serbest radikaller lipidler, proteinler ve nükleik asitlerle etkileşerek membran bütünlüğünün kaybına, proteinlerde yapısal veya fonksiyonel değişikliklere ve genetik mutasyonlara yol açmaktadır. Organizma bu zararlı radikallerin etkisiyle başa çıkabilmek için bazı enzimatik ve non enzimatik antioksidan defans sistemlerine sahiptir (1, 2, 3, 4, 5). Ayrıca diyabette eksojen antioksidanlar verilerek serbest radikallerin etkileriyle başa çıkılabilir (1). Oksidatif stres, serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki dengenin serbest radikaller lehine bozulmasıdır. Bunun da diyabetin makro ve mikrovasküler komplikasyonlarına neden olduğu pek çok araştırmacı tarafından vurgulanmaktadır (6, 2, 3, 4, 5).

Diabetes Mellitus' li hastaların ölüm nedenleri arasında birinci sırada yer olan koroner kalp hastalığı (KKH) risk artışı glisemik kontrol, kan basıncı ve lipid metabolizmasındaki bozukluklarla ilişkili bulunmuştur (7). KKH, sağlıklı kişilere göre diyabetik erkeklerde 2-3 kat sıklıkla görülürken diyabetik kadınlarda 5-6 kat sıklıkla görülmektedir (8). 21. yüzyılın hastalığı olan diyabet, günden güne önemli bir kesimi gerek ölüm gerekse hastalık açısından etkilemektedir. Diyabetik hastaların komplikasyonlarının erken dönemde tespit edilmesi ve buna göre tedavinin yapılması komplikasyonların önlenmesi açısından büyük olanaklar sağlamaktadır (9).

1.1. Diabetes Mellitus

Diyabet, sistemik bir hastalık olup pankreastan tam ya da kısmi insülin salınımının yetersizliği veya salınan insüline hücreler reseptörlerin cevapsızlığı sonucu oluşan bir hastalıktır. Diyabette değişmeyen ve evrensel olan bulgu hiperglisemidir.

Kan şekerinin uzun süre yüksek olarak devam etmesi çeşitli bozukluklara neden olmakta ve komplikasyonlar ortaya çıkmaktadır. Akut komplikasyonlar arasında en önemlisi diyabetik ketoasidoz ve hiperosmolar non-ketonemik komadır. Ayrıca laktik asidoz ve hipergliseminin kontrolü sırasında oluşan hipoglisemi de akut komplikasyonlar arasında sayılabilmektedir (10).

Hayvanlarda streptozotosin ve alloxan gibi diyabetojenik ajanlar ile travma, cerrahi uygulama esnasında pankreas β hücrelerinin zarar görmesi sonucu da Diabetes mellitus oluşmaktadır (11).

Diyabetin değişik sınıflamaları vardır. Bu sınıflama;

1.1.1 Tip 1 Diabetes Mellitus (IDDM)

1.1.2 Tip 2 Diabetes Mellitus (NIDDM) olarak yapılmaktadır (10).

1.1.1 Tip 1 Diabetes Mellitus (İnsülin Bağımlı Diabetes Mellitus: IDDM)

Diabetes mellitus' un bu tipinde, pankreasın langerhans adacıklarının β hücrelerinde gelişen harabiyete bağlı olarak insülin salgılanma bozukluğu meydana gelmektedir (12). Tip 1 diyabet, genellikle 30 yaşından önce ve tipik olarak 13-19 yaş arası dönemde başlayan ve sonuçta endojen insülin kaybıyla sonuçlanan; vasküler ve nörolojik komplikasyonlar ile karakterize bir diyabet türüdür (13). Tip 1 diabette pankreasın insülin rezervi çok az ve kanda insülin düzeyi çok düşük olarak bulunmaktadır. Diyabetik komplikasyonlar yüzünden Tip 1 diabette yaşam süresi kısa olup, küçük damar hasarına bağlı komplikasyonlar bu tip diabette daha sık görülmektedir (14).

1.1.2 Tip 2 Diabetes Mellitus (İnsüline Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus: NIDDM)

Genelde orta yaş grubunda başlayan Tip 2 diyabetin uzunca bir süre farkına varılmayabilir. Tip 1 diyabete göre pankreasın insülin rezervi nisbeten iyidir ve bir süre böyle devam edebilir; ancak zamanla azalış gösterir. Kan insülin düzeyleri de normale yakındır; ancak zamanla düşer. Bu tip diabette dışarıdan verilen eksojen insüline karşı direnç vardır (14).

1.2. İnsülin Biyokimyası

Langerhans' ın β hücrelerinden salgılanan insülin birbirine iki adet disülfid bağı ile tutunmuş 21 aminoasitli A ve 30 aminoasitli B zincirlerinden oluşmuş bir polipeptittir. Plazmadaki yarı ömrü ortalama olarak ancak 6 dakika olan insülin, 10-15 dakika içinde dolaşımdan ayrılmaktadır. Kullanım dışı kalan insülin başlıca karaciğerde, daha az olarak da böbrekte parçalanmaktadır (15).

İnsülinin en önemli etkisi karbonhidrat metabolizması üzerinde olmaktadır. Beslenme ile birlikte kan dolaşımına karışan karbonhidratlar, insülin mevcudiyetinde tüm vücut dokularınca (özellikle karaciğer, kas ve yağ dokusunda) hızla alınmakta, depolanmakta ve kullanılmaktadırlar. Beyin dokusu, diğer dokulardan farklı olarak glukozu insülin aracılığı

olmadan direkt bir şekilde kullanılmaktadır. Beyin dokusu için kan glukoz değerinin kritik değerin üzerinde tutulması çok önemlidir (15).

İnsülin, vücut dokularında glukoz kullanımını arttırarak bir tür ‘yağ koruyucusu’ gibi fonksiyon görmektedir. Karaciğerde yağ asidi sentezini arttıran insülin, yağ dokusunda da benzer şekilde etki göstermektedir. İnsülin eksikliğinde yağ metabolizması her yönüyle hızlanmakta ve bu olay diyabette, insülin salgısı çok düştüğünde daha da belirginleşmektedir (15).

Karbonhidrat ve yağların yanı sıra proteinler de sindirim sonrasında dokularda depo edilmektedir. İnsülin salgısı minimum seviyeye indiğinde protein depolanması tamamıyla durmakta ve protein katabolizmasında artış gözlenmektedir. Protein sentezinde duraklamanın yaşandığı ve fazlaca aminoasitin plazmaya boşaldığı bu durum, ağır diyabetin en ciddi etkilerden biri olarak diyabetik hastalarda gözlenmektedir (15).

Diyabetik hastaların komplikasyonlarının erken dönemde tespit edilmesi ve buna göre tedavinin yapılması komplikasyonların önlenmesi açısından büyük olanaklar sağlamaktadır. Bununla ilgili olarak son yıllarda homosistein düzeylerinin de bir anlamı olabileceği ifade edilmektedir (9).

1.3. Homosistein

Homosistein, serbest radikaller gibi etki gösteren ve son yıllarda oksidatif sisteme dahil olduğu kabul edilen, protein yapısına girmeyen bir amino asittir (16). Homosistein, metiyonin metabolizması sırasında oluşan, proteinlerin yapısına girmeyen, vücutta metiyoninden sentez edilen esansiyel bir aminoasit olup; remetilasyon ve transsülfürasyon olmak üzere başlıca iki yol ile metabolize olmaktadır. Remetilasyon döngüsünde kofaktör olarak vitamin B₁₂ ’ yi kullanan metiyonin sentaz enzimi görev almaktadır. Bu enzimin varlığında homosistein folik asitten metil grubu alarak metiyonin’ e dönüşmektedir. Diğer yol olan transsülfürasyon döngüsünde ise kofaktör olarak vitamin B₆ ’ yi kullanan sistation-β sentaz enzimi görev almaktadır. Bu enzimin varlığında homosistein, sistation’ a daha sonra da yine vitamin B₆ varlığında sistein’ e ve α-ketobütirat’ a dönüşerek metabolize olmaktadır (17).

Homosisteinin 15μmol / l üzerindeki serum değerlerinin myokard enfarktüsü geçirme riskini 3-4 kat artırdığı belirtilmiştir (9). Homosisteinin ana etkisi serbest radikal gibi davranıp LDL’ yi okside etmektedir. Bu durum kanın koagüle olmasına neden olarak intimada yağlı (köpüksü) hücrelerin oluşumunu arttırmakta ve ateroskleroza zemin hazırlamaktadır (18). Chico

ve arkadaşları (19), DM' li hastalarda homosistein düzeylerini kontrol grubuna oranla yüksek bulmuşlardır. Bazı araştırmacılar, komplikasyonlu NIDDM' lu hastalarda homosisteinin anlamlı olarak yükseldiğini saptamışlardır (20, 21). Birçok çalışma, plazma homosistein düzeyleri ile Vit B12, Vit B6 ve folatın serum düzeyleri arasında negatif bir korelasyon varlığını göstermiştir (22). Yine serumdaki yüksek homosistein düzeyinin fizyolojik endotel koruyucu bir faktör olan NO salınımını bozduğu açıklanmıştır (23). Ayrıca insülin ile leptin arasında doğrudan olmasada anlamlı bir ilişki mevcuttur (24).

1.4. Leptin

Leptin ilk kez 1994 yılında Zhang ve ekibi tarafından tanımlanmıştır (25). Şişmanlık karşıtı hormon olarak da bilinir (26). Leptin, 167 aminoasitten oluşan bir proteindir. Leptin geni 7. kromozomun uzun kolunun 3. bölgesinde (7q31) bulunmaktadır. 15000 baz çifti içeren bir DNA yapısına sahiptir (27, 28).

Leptin, başlıca yağ dokusu hücrelerinden salgılanan bir hormon olup (Leptin'in esas salınım yeri beyaz yağ dokusudur), çok az esmer yağ dokusundan salgılanır. Hipotalamus düzeyinde etki ederek iştahı azaltmaktadır (29). İnsanlarda kilo kaybından sonra leptin konsantrasyonu azalmaktadır. Azalan leptin düzeyi hipotalamusta NPY reseptörlerini artırarak gıda alımını artırır ve enerji tüketimini azaltır. Kilo alımında ise artan leptin konsantrasyonu hipotalamusa etki eder (30). Enerji tüketimini artırarak, kilo artışına engel olmaktadır. Açlık durumunda dolaşımdaki leptin düzeyi azalırken, karbonhidratlı beslenen sıçanlarda leptin düzeyindeki artış bu ilişkiyi açıklamaktadır (24). Bu da göstermektedir ki, leptin sadece hiperglisemi veya yüksek enerji varlığında insülin uyarımına bir cevap olarak üretilmektedir (24, 31, 32). Pankreasın beta hücrelerinde leptin reseptörlerinin bulunması leptinin negatif feedback yolu ile insülin sentezine etki ettiğini göstermektedir (24). Serum leptin düzeyi ile yağ dokusu hacmi arasında pozitif korelasyon mevcuttur (33). Düşük kalorili diyet programlarında serum leptin seviyelerinde de akut azalmalar tespit edilmiştir. Leptin, yağ asidi sentezinde hız sınırlayıcı bir enzim olan asetil ko-A karboksilaz aktivitesi üzerine inhibitör etkilidir. Böylece yağ asidi ve trigliserid sentezini azaltıp, lipid oksidasyonunu artırarak yağ depolanmasını azaltır (34, 35).

1.5. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, hücre metabolizması sırasında oluşan biyokimyasal reaksiyonlarla ortaya çıkan, dış yörüngelerinde çiftlenmemiş elektron içeren ve stabil olmayan moleküllerdir (36).

1.6. Serbest Radikallerin Kaynakları

1.6.1. İntrasellüler Kaynaklar

1. Mitokondriyal elektron transport sistemi (37, 38)
2. Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri (39)
3. Peroksizomlar; Oksidazlar, flavoproteinler
4. Plazma membranı: Lipoksijenaz, prostoglandin sentetaz, fagositlerde NADPH oksidaz, lipit peroksidasyonu
5. Enzimler ve proteinler: Ksantin oksidaz, triptofan dioksigenaz, hemoglobin
6. Oksidatif stres yapıcı durumlar: Kan akımının azalmasına bağlı olarak dokunun beslenme bozukluğu, travma, zehirlenme (38).

1.6.2. Biyolojik Kaynaklar

1. Radyasyon
2. Sigara içimi
3. Ultrason
4. Hava kirliliği
5. Alışkanlık yapan maddeler: Alkol ve uyuşturucular (38).

1.7. Oksidatif Streste Rol Oynayan Serbest Radikaller

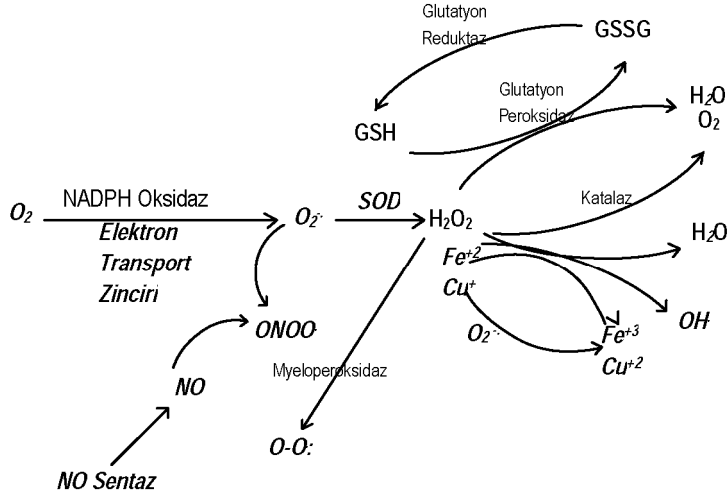
1.7.1. $O_2^{\cdot-}$ Süperoksit Radikali

Süperoksit radikali moleküler oksijenin indirgenmesinde ara basamaktır ve oluştuğu yerden fazla uzağa diffüze olamaz. Bu radikalin moleküler düzeyde önemli özelliği, sekonder olarak ürettiği radikallerdir. Doğal oksijen molekülünün başka bir molekülden elektron almış hali olan $O_2^{\cdot-}$ mitokondriyal elektron transfer zincirinde redükte nikotinamid adenin dinükleotid (NADH)'i okside nikotinamid adenin dinükleotid (NAD^+)'a okside olması ile üretilir (Şekil 1.1). Ayrıca pek çok oksidaz tarafından da üretilir. $O_2^{\cdot-}$ genel olarak anyon şeklinde tarif edildiği halde, ortamın pH' sına bağlı olarak protonlanarak katyon haline dönüşebilir. Bu durumda perhidroksi radikali ($HO_2^{\cdot}$) ismini alır. Süperoksid, bir serbest radikal olmakla birlikte, kendisi direkt olarak fazla zarar vermez. Asıl önemli olan, H_2O_2 kaynağı ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksid, nötrofillerin bakteri öldürücü aktivitesi, apoptozis, inflamasyon ve vasküler fonksiyonların regülasyonu gibi yararlı etkilere sahiptir. Azalmış süperoksid düzeyleri, bakteriyel enfeksiyonlara artmış bir yatkınlığa yol açabilir. Artmış süperoksid düzeyleri ise süperoksid dismutaz (SOD) enzimi ile hidrojen peroksid (H_2O_2) ve oksijene dönüştürülerek azaltılır. Böylece hücrel süperoksid düzeyleri sıkı kontrol altındadır. Süperoksid, aşırı yükselmiş glukoz tarafından bozulduğu durumlarda gerçekleşir. Bu da diyabetin komplikasyonlarına neden olur. ATP sentezi inhibe edilir ve elektron transport zinciri yavaşlar (1, 2, 4, 5, 40, 41).

1.7.2. H_2O_2 (Hidrojen Peroksid)

Doğal oksijen molekülü başka bir molekülden iki elektron almışsa peroksid oluşur. Peroksid molekülü iki H molekülü ile birleşirse H_2O_2 oluşur. H_2O_2 süperoksidin SOD ile dismutasyonu sonucu veya spontan olarak da üretilebilmektedir. H_2O_2 aslında radikal değildir. Ancak üretildiği bölgede kalan süperoksidin aksine membranları geçen, sitozole diffüze olan ve uzun ömürlü bir oksidan olarak bilinir. Bu nedenle süperoksidin ulaşamadığı membranla korunan yapılara kolaylıkla ulaşabilir. Burada süperoksidle reaksiyona girerek en reaktif ve zarar verici radikal olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir. Hidrojen peroksid başka bir şekilde de serbest Fe^{+2} ile reaksiyona girerse demir okside olurken hidroksil

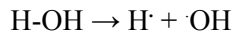
radikali oluşur (Şekil 1.1). Bu da doku hipoksisi ve endotel hasarına yol açabilen vazodilatasyon kaybına neden olur. Bu reaktif oksijen türü de bakterilere karşı lökosit defansının diğer bir komponentidir (1, 2, 3, 4, 5, 40, 41).



Şekil 1. Serbest radikallerin oluşumu ve enzimatik detoksifikasyonu

1.7.3. $\cdot OH$ (Hidroksil Radikali)

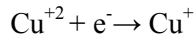
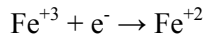
Hidroksil, bilinen en reaktif radikaldır. Amino asitler, nükleik asitler, organik asitler, fosfolipidler ve şekerler gibi biyokimyasal maddelerin bir çoğuyla reaksiyona girebilir. Tek atom halinde ve bir elektronu eksik olan oksijen ile H^+ 'in birleşmesinden oluşur. Gamma radyasyona maruz kalan dokularda da hidroksil radikali oluşabilir. Alınan enerji hücre suyu tarafından absorbe edilir ve sudaki oksijen-hidrojen kovalent bağının parçalanmasına neden olur. Böylece hidrojen ve oksijen üzerinde dış orbitalde tek elektron kalır ve iki radikal oluşur. Hidroksilin yarılanma ömrü çok kısadır ve pek çok molekülden H atomu çıkarılmasını sağlar (1, 4, 40,41).



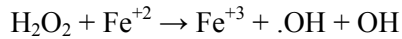
1.7.4. NO (Nitrik Oksid)

NO, nitrik oksid sentaz (NOS) olarak bilinen sitozolik bir enzimin aktivitesi ile oluşur. Vasküler tonusun regülasyonunda guanilat siklazı aktive eden NO major rol oynar. Oksijen bağlanan bölgeye kompetitif bağlanarak direkt olarak sitokrom oksidazın inhibisyonu ile hücre solunumu düzenler. NO bazı durumlarda bir antioksidan gibi davranır ve organizmayı lipid peroksidasyonundan korur. Bununla birlikte süperoksid düzeylerinin arttığı durumlarda süperoksitle reaksiyona girer ve bir prooksidan olan peroksinitrit oluşturur (6,42). Diyabette görülen endotel fonksiyon bozukluklarından (tartışmalı olmakla birlikte) endoteldeki nitrik oksid üretiminin azalması sorumlu tutulmaktadır. (3, 42, 43, 44, 45). Ancak diyabette NO'nin artmış olduğunu rapor eden araştırmacılar da vardır (46).

1.7.5. Geçiş Metalleri



gibi bir elektronun alınması ve verilmesi durumlarında bu serbest metal iyonları radikal reaksiyonunu hızlandırır. Metal iyonları lipid peroksidasyonu esnasında rol oynarlar. Oluşmuş lipid hidroperoksitlerin parçalanmalarını ve lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonunu katalize eder. Böylece daha az zararlı olan radikalleri daha zararlı hale getirirler. Fenton reaksiyonu olarak bilinen reaksiyonda Fe^{+2} iyonlarının H_2O_2 'i indirgeyip $\cdot\text{OH}$ oluşturabildikleri bilinmektedir (2, 5, 40, 47).



Seruloplazminin Fe^{+2} 'ni Fe^{+3} 'e oksitler ve Fe^{+3} 'ün transferrine bağlanmasını kolaylaştırır. Seruloplazminin antioksidan aktivitesi: Ferroksidaz aktivitesi, askorbat oksidaz alınması ve verilmesi aktivitesi, oksijen radikali temizleyici aktivitesi ve GSH-bağımlı peroksidaz aktivitesi şeklinde 4 yolla olur (5, 47). Transferrin de H_2O_2 'den demir iyonu bağımlı hidroksil oluşumunu inhibe eder. Yapılan çalışmalarda diyabetli hastalarda serum seruloplazmin düzeylerinin artmış ve transferin düzeylerinin azalmış olduğu rapor edilmektedir (2, 5, 47). Diyabette serum seruloplazmin düzeyleri, serbest radikal reaksiyonlarını ve lipid peroksidasyonunu hızlandırabilen yüksek serbest Fe^{+2} 'ye cevap olarak artmış olabileceği

vurgulanmaktadır. Hidroksil oluşumunu azaltan transferin düzeylerinin diyabette azalmış olması diyabetteki oksidatif strese önemli katkı yapar. Ayrıca seruloplazmin ve transferin arasında sağlıklı kişilerde negatif bir korelasyon olduğu, ancak diyabette bu korelasyonun bozulduğu da vurgulanmaktadır (2).

1.8. Antioksidan Savunma Sistemleri

Serbest oksijen radikalleri dokularda oluşur, DNA, proteinler, karbonhidratlar ve lipidlere hasar verebilir. Bu potansiyel tehlike oluşturan reaksiyonlar prooksidanları uzaklaştıran ve serbest radikalleri tutan enzimatik ve non-enzimatik antioksidan sistemler tarafından kontrol edilir. Antioksidan savunmada karotenoidler, vitamin E ve C, tioller gibi bazı biyolojik bileşikler önemli rol oynar. Oksidatif stres prooksidan-antioksidan dengesinde prooksidanlar yönünde bir kaymayı yansıtır (48, 49, 50).

Antioksidanlar 4 farklı mekanizma ile oksidanlar etkisizleştirirler (4, 40, 51, 52, 53, 54, 55).

1. Scavenging (temizleme) etkisi: Oksidanları zayıf bir moleküle çevirme şeklinde olan bu etki enzimler tarafından yapılır.
2. Quencher (baskılama) etkisi: Oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirme şeklinde olan bu etki vitaminler ve flavonoidler tarafından yapılır.
3. Onarma etkisi
4. Zincir koparma etkisi: Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleyen ağır metaller şeklinde olan bu etki hemoglobin, seruloplazmin ve E vitamini tarafından yapılır.

Prooksidan Ajanlar:

Oksidatif denge= (UV, iyonize radyasyon, sigara, çeşitli kimyasal vs.) / Koruyucu Antioksidanlar (desferrioksamin, katalaz vs.) + Zincir Kıran Antioksidanlar (Vitamin A, C, E vs.)

Oksidatif stres= Artmış prooksidan ajanlar ve /veya Azalmış antioksidan ajanlar

Antioksidanlar serbest radikallerin oluşumunu önleyerek veya zincir kırarak görev yaparlar. Birinci kategoride metal şelatörler, SOD, katalaz ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) vardır. İkinci kategoride lipid fazlı, zincir kıran ajanlar; alfa tokoferol, ubikinon, retinoik asit, beta karoten ve glutatyon, ürat gibi suda eriyen maddeler vardır (48, 56, 57).

Ökaryotik hücreler, yüksek reaktif serbest oksijen radikalleri ile mücadele durumundadırlar (58). Fizyolojik koşullar altında, bu savunma mekanizmaları ile hücrede serbest radikal konsantrasyonunda düşük sabit durum sağlanır ve aktiviteleri çok ince şekilde regüle edilmiştir. Optimal koruma bu enzimler arasında uygun denge varlığında sağlanır (58, 59).

Tablo 1. Endojen Antioksidanlar

Ajan	Etkileri
Enzimatik antioksidanlar	
Sitokrom oksidaz sistem	Hücredeki oksijenin %95-96' sını detoksifiye eder
SOD	Süperoksit anyonunu detoksifiye eder
Katalaz	Hidrojen Peroksiti detoksifiye eder.
GPx	Hidrojen Peroksiti detoksifiye eder.
Nonenzimatik antioksidanlar	
Lipid fazı	
α -tokoferol	Vitamin E
β -karoten	Vitamin A prekürsörü
Su Fazı	
Askorbik asit	Vitamin C
Ürat	$O_2^{\cdot-}, OH^{\cdot}$ tutar
Sistein	$O_2^{\cdot-}, OH^{\cdot}$ tutar
Albumin	LOOH, HOCl' i tutar
Bilirubin	$O_2^{\cdot-}, OH^{\cdot}$ tutar
Seruloplazmin	SOD' a benzer mekanizma
Transferin	Dolaşan demiri bağlar
Laktoferrin	Dolaşan demiri bağlar
Ferritin	Doku demirini bağlar

Enzimatik antioksidan korumanın rölatif eksikliğine rağmen, ekstrasellüler sıvılar özellikle aktive fagositik hücreler nedeniyle O_2^- ve H_2O_2 e maruz kalırlar. Ekstrasellüler sıvılarda diğer antioksidanlar (transferin, albumin, seruloplazmin, haptoglobin,  reaz, Vit E, glukoz) görev yapar (60) (Tablo 1.1) (61).

1.9. Deneyssel Diyabet ve Serbest Radikaller

Diyabetin ortaya çıkışında oksidasyonun rolü olduğuna dair bulguların çoğu deneyssel diyabette kullanılan iki ilaç olan allokstan ve streptozotosin (STZ) ile yapılan çalışmalardan elde edilmiştir. Bu kimyasal maddelerin her ikisi de oksidan madde meydana getirerek Langerhans adacıklarının selektif olarak tahrip ederler. Hücre tarafından yeterli miktarda tutulan allokstan, askorbat ve tiollerle reaksiyona girerek onların antioksidan etkilerini engeller ve oksidanların üretimi ile beta hücre hasarına neden olur. STZ' nin etki mekanizması ise daha az anlaşılmıştır. Ancak STZ' nin uygun olmayan NO cevapları meydana getirdiği, NO cevabının neden olduğu adacık hücre yıkımının artmasının diyabeti oluşturduğu düşünülmektedir. Diabetes Mellitusun başlangıcında sıklıkla pankreas adacık hücrelerinde inflamasyon vardır ve bu inflamasyonda fagositlerden salınan serbest radikaller önemli rol oynar. Sitokinler de beta hücrelerinde serbest radikallerin oluşumuna yol açarlar (62, 63, 64, 65). STZ-diyabet insüline bağımlı tip 1 diyabet için bir deneyssel model olarak karakterize edilir ve endojen kronik stresin örneğini sağlar (66, 67). STZ- diyabette ilerlemiş yapısal ve fonksiyonel anormalliklerin hem periferel hem de merkezi sinir liflerinde meydana geldiği tanınlanmıştır (68, 69).

Oksidatif stres, diyabetik komplikasyonlar ve diyabetin altında yatan bir mekanizma olarak değerlendirilir. Serbest radikaller sürekli olarak  evre uyarılarıyla etkileşim ve normal metabolik prosesin sonucu olarak vücutta üretilir. Fizyolojik şartlar altında antioksidanların büyük bir bölümü canlı ortamda serbest radikal üretiminin olumsuz etkilerine karşı vücudu korur (70). Oksidatif stres, radikal üretimi ve radikal yok edici sistem arasındaki bir dengesizlikten kaynaklanır. Örneğin; serbest radikal üretiminin yükselmesi veya antioksidan aktivitesinin düşmesi ki her iki durumda da oksidatif stres meydana gelebilir. Diyabetlilerde protein glikasyonu ve glukoz otoksidasyonu sonradan lipid peroksidasyonunu katalizleyen serbest radikaller üretebilir (71, 72). Bunların yanı sıra diyabetlilerde antioksidan savunma sisteminin bozuklukları gösterilmiştir; antioksidan enzimlerde değişiklik, bozulmuş glutatyon mekanizması ve azalmış askorbik asit seviyeleri görülmektedir (73, 74, 75, 28). Ancak canlı ortamda yüksek oksidatif stres asla açık olarak gösterilememiştir. Tiyobarb t rik asit analiz maddesi (TBARS) kullanılarak hayvan ve insan modelinde yapılan çalışmalarla diyabetik

yapıda lipoproteinler ve membranlarda lipid peroksidasyonunun yükselmiş olduğu gösterilmiştir (76).

Oksidatif strese sebep olan serbest radikal gruplarından biri reaktif oksijen türleri (ROS)'dir. ROS diyabetlilerde yükselir. Bunun ana kaynakları glukoz otooksidasyonunun ve metabolitlerin dahil olduğu metaboliklerdir. Bunların yanısıra ilerlemiş glikasyon, değişken prostanoid üretimi ve anormal veya etkisiz mitokondriyal fonksiyon vardır (77). Periferik sinirler için ROS direkt olarak nöronları ve schwann hücrelerini tahrip edebilir ve diyabetle birlikte antioksidan savunma mekanizmalarını tehlikeye atar. Bu yüzden diyabetik ratlarda siyatik sinir lipid peroksidasyonu yükselmiştir ve süperoksit dismutaz seviyeleri (SOD) ve glutatyonun indirgenmiş formu (GSH), glutatyon peroksidaz ve redüktazda bir değişiklik olmamasına rağmen azalmıştır.

Oldukça önemli bir metabolik düzensizlik olarak bilinen ve hiperglisemi ile karakterize edilen diyabet olgularında serbest radikal oluşumunda artış olmaktadır. Diyabette serbest radikal üretiminin arttığı ve radikal bağlayıcı sistemlerde azalma olduğu ileri sürülmüştür. Bu gelişmeler diyabet komplikasyonlarının patogeneğinde serbest radikallere olan ilgiyi arttırmıştır (78).

1.9.1. Hiperglisemi Aracılı ROS Üretimi

Hiperglisemi aracılı ROS üretimi başlıca üç mekanizma ile açıklanmaktadır (79).

1.9.1.1. Glukozun Oto-oksidasyonu ve Süperoksit Üretimi

Bir geçiş elementinin varlığında glukoz, reaktif ketoaldehitlere ve süperoksit anyonuna çevrilir. Reaksiyonlar zinciri, süperoksit radikalinin hidrojen peroksit üzerinden son derece reaktif olan hidroksil radikali oluşturmaya sonuclanır. Hücre içi glukoz oksidasyonu NADH'nın açığa çıkmasına yol açar. NADH solunum zincirinde oksidatif fosforilasyon yolu ile ATP üretimi için gerekli enerjiyi sağlamak üzere kullanılır. Solunum zincirindeki bu reaksiyon sırasında süperoksit radikali açığa çıkar. Yüksek glukoz konsantrasyonu varlığında bu yolla süperoksit radikal üretimi artar. Mitokondri solunum zinciri başlıca hücre içi ROS üretim kaynağıdır. Normal solunum zinciri olayları sırasında sürekli olarak süperoksit radikali oluştuğu

düşünülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, diabetteki patolojilerin birçoğunun artmış mitokondriyal ROS üretimi ile ilintili olduğunu göstermektedir (79, 80, 81).

1.9.1.2. Proteinlerin Glikasyonu ve AGE (ilerlemiş glikasyon son ürünleri) Oluşumu

Proteinler yüksek glukoz konsantrasyonları ile karşılaştıklarında, glukoz bir enzimin aracılığına gereksinim duymadan proteine bağlanarak kontrolsüz glikasyon reaksiyonlarına neden olur. Glikasyona uğramış protein, moleküler oksijene bir elektron vererek serbest oksijen radikali oluşumuna neden olur (82). Glukoz ve proteinlerin amino grupları arasında kendiliğinden gelişen enzimatik olmayan glikasyon reaksiyonları yoluyla önce Schiff bazları, sonrasında daha stabil olan Amadori ürünleri oluşur. Amadori ürünlerinin oluşumundan sonra ileri glikasyon son ürünleri (AGE) meydana gelir. AGE'ler, endotelin-1 aracılığıyla kan damarı kasılmasını artırarak endotel hasarına yol açtığı gibi, kompleks biyokimyasal mekanizmalarla serbest radikal üretebilme kapasitesine de sahiptirler. Yine AGE'lerin toksik etkileri arasında; proteinlerin yapılarını ve fonksiyonlarını değiştirebilmeleri, kendi reseptörleri ile oksidatif stresi indükleyebilmeleri ve sonuçta nükleer faktör kapa B (NFkB) gibi redoks duyarlı transkripsiyon faktörlerini aktive etmeleri ve ilgili genlerin (prokoagülant doku faktörü endotelin -1, adezyon molekülü, VCAM- 1 gibi) ekspresyonlarının artışı bulunmaktadır (83, 84). Araştırmalar AGE'lerin, reseptör aracılı mekanizma ile serbest radikal üretimini uyarmasının yanı sıra, artmış serbest radikallerin de hücre içi AGE oluşumunu arttırdığını göstermektedir (85). Giardino ve arkadaşları (86), hücre içi AGE oluşumu ile lipid peroksidasyonu arasında sıkı bir ilişki olduğunu, lipid peroksidasyonunun önlenmesi ile AGE oluşumunun da önlendiğini bildirmişlerdir. Diabetik nefropati oluşturulan ratlara AGE inhibitörleri verildiğinde glisemik kontrolde herhangi bir değişiklik olmaksızın albüminürinin önlenmediği gösterilmiştir (87). Yapılan çalışmalarda AGE ve serbest radikallerin, protein kinaz C (PKC)'yi aktive ettiği gösterilmiştir. Aktive olan PKC'nin, vasküler kan akımını, damar geçirgenliğini, hücre dışı matriks bileşenlerini ve hücre büyümesini etkileyerek vasküler komplikasyonların patogeneğinde rol aldığı öne sürülmektedir (88, 89, 90).

1.9.1.3. Poliol Yolu

Yüksek glukoz konsantrasyonu, poliol yolu ile sorbitol üretimine neden olur. Bu yoldaki aldoz redüktaz enzim aktivitesi için NADPH kullanıldığından hücre içi NADPH

tüketilir. Okside glutatyonun redükte forma çevrilebilmesi ve nitrik oksit (NO) sentezi için NADPH gereklidir. Bu nedenle sorbitol yolunun aktif olması ve sonuçta NADPH'ın yokluğu hücrenin antioksidan kapasitesinin sınırlanması anlamına gelmektedir (91). Redükte glutatyonun ve vazodilatasyonda görev yapan NO sentezinin azalması diyabetin vasküler komplikasyonlarının ortaya çıkışında rol oynar (92). Vazodilatör mediatörlerin kaybı endonöronal kan akımının azalmasına dolayısıyla endonöronal hipoksi veya iskemiye yol açmaktadır. Bu olayın sonucunda nöronal hücre, schwann hücrelerde hasar meydana gelmektedir (93, 94).

Glukozun sorbitol yolu ile fruktoza ve sorbitola çevrilmesinin bir sonucu olarak hücrede miyoinozitol düzeylerinde azalma ve bunun sonucunda da Na-K ATP-az enzim aktivitesinde düşme olduğu gözlenmiştir ki bu enzim aktivitesi sinir iletim hızı için önem taşımaktadır (95, 96).

Sorbitolun kendisi bir doku toksini gibi hareket eder. Bu nedenle retinopati, nöropati, katarakt, nefropati ve kalp hastalığı patogenezinde rolü olduğu düşünülmektedir (97, 98).

1.10. Diyabet ve Kardiyovasküler Risk Faktörleri

DM' li hastaların ölüm nedenleri arasında birinci sırada yer olan koroner kalp hastalığı (KKH) risk artışı glisemik kontrol, kan basıncı ve lipid metabolizmasındaki bozukluklarla ilişkili bulunmuştur (7). KKH, sağlıklı kişilere göre diyabetik erkeklerde 2-3 kat sıklıkla görülürken diyabetik kadınlarda 5-6 kat sıklıkla görülmektedir (8). 21. yüzyılın hastalığı olan diyabet, günden güne önemli bir kesimi gerek mortalite gerekse morbitide açısından etkilemektedir. Diyabetik hastaların komplikasyonlarının erken dönemde tespit edilmesi ve buna göre tedavinin yapılması komplikasyonların önlenmesi açısından büyük olanaklar sağlamaktadır. KKH riskini belirlemede biyokimyasal olarak total kolesterol, HDL, LDL, VLDL kolesterol, trigliserid düzeyleri çalışılırken özellikle son yıllarda homosistein düzeylerinin de bir anlamı olabileceği ifade edilmektedir (9). KKH etiyolojisinde hiperhomosisteinemisinin rolü araştırılmış ve sadece amino asit metabolizma bozukluğu olan bireylerde değil, koroner kaynaklı hastalıklarda da bağımsız bir risk faktörü olduğu ortaya çıkarılmıştır (9, 8). Metiyonin metabolizması enzim defektleri olan bireylerde homosistein birikimi olduğu ve KKH riskinin en az iki kat arttığı bildirilmiştir (99).

Ateroskleroza olan kişilerde yapılan bir çalışmada lipid peroksidasyon son ürünlerinden olan serum MDA düzeylerinin yükseldiği tespit edilmiştir (100). Aterosklerozun

gelişmesinde hipertansiyon, sigara gibi risk faktörleri yanında antioksidan kapasitenin de oldukça önem kazandığı belirlenmiştir. Kuzey ve Güney Avrupa ülkelerinde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda bir antioksidan olan serum vitamin E düzeylerinin koroner kalp hastalıkları mortalitesi ile kan basıncı ve kolesterol düzeylerinden daha fazla ilişkili olduğu saptanmıştır (18).

Günümüzde NCEP (National Cholesterol Education Programme- Ulusal Kolesterol Programı)'ın oluşturduğu ATP III (Adult Training Panel III- Erişkin Tedavi Programı III) Klavuzu'nun 2001 yılında yayımlanması sonrası TEKHARF çalışması ışığında KAH korunma ve tedavi klavuzu Türk Kalp Derneği (TKD) tarafından 2002 yılında yayınlanmış, 2004 yılında "Güncelleme Raporu" hazırlanarak klasik major risk faktörleri belirlenmiştir:

- 1- Yaş (45 yaş üzeri erkek; 55 yaş üzeri kadın veya erken menapoz)
- 2- Aile öyküsü (55 yaş üzeri erkek; 65 yaş üzeri kadın birinci derece akrabalarda KAH öyküsü)
- 3- Sigara içiciliği
- 4- HT (140/90 mmHg veya antihipertansif kullanıyor olmak)
- 5- Diabetes Mellitus (DM); günümüzde risk faktörü olarak değil KAH eşdeğeri sayılmaktadır
- 6- Yüksek serum total kolesterolunun (200 mg/dl üzerinde) olması
- 7- LDL kolesterolün 100 mg/dl üzerinde olması
- 8- Serum yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) kolesterol 40 mg/dl altında ise
- 9- Obesite
- 10- Stres
- 11- Sedanter yaşam

NCEP-ATP III klavuzlarında KAH eşdeğeri kabul edilen DM, TKD (Türk Kalp Derneği) klavuzunda da aynı şekilde değerlendirilmiştir (101). Sıklıkla çoklu risk faktörleriyle ilişkili DM, 10 yıl içinde yeni KAH açısından yüksek risk oluşturmakta, ayrıca DM'lu hastalardan Myokard Enfarktüsü (MI) geçirenler, kısa ve uzun dönemde yüksek mortalite oranlarına sahip olmaktadır (102).

Bu çalışmada diyabet ve komplikasyonlarında oksidatif stresin rolü, antioksidanların bu stresle başa çıkabilmedeki etkisi, KKH yönünden bir risk faktörü olan homosisteinin ve lipid peroksidasyonu ürünü olan MDA' nın oksidan-antioksidan kapasitedeki etkisiyle, leptin ve lipid bileşenleri arasındaki ilişki değerlendirilecektir. Ayrıca TAC, CAT ve SOD değerleri arasındaki korelasyonla, DM' un izlenmesinde TAC'ın yararlı olup olmayacağı irdelenecektir.

2. MATERYAL VE METOD

2.1. Hayvan Materyalleri

FÜDAM (F.Ü. Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi)'dan 10 haftalık 40 adet erkek Wistar albino rat alınarak araştırma materyalleri oluşturulmuştur.

Çalışmada kullanılan 10 haftalık ratlar, kontrol grubu (20 rat) ve diyabetli grup (20 rat) olmak üzere 2 gruba ayrıldı.

1. Grup: Kontrol grubu olup, canlı ağırlıkları alındı. Her rata intraperitoneal (i.p) olarak tek doz 1 ml fosfat-sitrat tamponu (pH: 4.5) verildi.
2. Grup: Bu gruba 20 adet rat ayrıldı, canlı ağırlıkları alınıp, açlık kan glukoz düzeyleri Contour TS glucometer ile ölçüldü. Daha sonra her bir rata 60 mg/kg dozunda streptozotosin fosfat-sitrat tamponunda (pH: 4.5) çözülürülerek intraperitoneal olarak tek doz enjekte edildi, enjeksiyonundan 48 saat sonra ratların tekrar açlık kan glukoz düzeyleri ölçüldü. Kan glukoz düzeyi 200 mg/dl üzerinde olan ratlar diyabetik olarak kabul edildi.

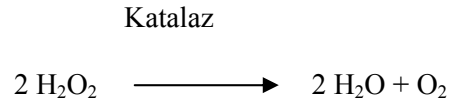
2.2. Kan Örneklerinin Alınması

Altı hafta sonunda 12 saatlik açlıktan sonra ratların karın boşlukları eter anestezisi altında açılarak Vena cava caudalis' lerinden alınan kan örnekleri SOD, CAT, MDA, homosistein, Vit A, E analizleri için EDTA' lı, Vit C için heparinli, leptin, total antioksidan kapasite ve total kolesterol, trigliserid, HDL, LDL gibi lipid parametreleri için antikoagulan içermeyen tüplere alındı.

2.3. Katalaz Aktivitesinin Tayini

Enzim aktivite tayinlerinde ya azalan substrat miktarı ya da meydana gelen ürün miktarı ölçülerek, enzimlerin aktiviteleri saptanmaktadır. Eritrosit katalaz aktivitesini ölçmek için Aebi (1933) metodu kullanılmıştır.

Katalaz aşağıdaki tepkimeye göre H₂O₂'in yıkımını katalize eder.



H₂O₂' in katalaz tarafından yıkım hızı, H₂O₂' in 240 nm dalga boyunda ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak spektrofotometrik olarak ölçülür.

Metodun Ayıraçları:

50 mM Fosfat Tamponu (pH: 7.0)

30 mM Hidrojen Peroksit: 0.34 ml %30' luk H₂O₂, fosfat tamponu ile 100 ml' ye tamamlanır.

Tayinin Yapılışı;

EDTA' lı kan örnekleri santrifüj edilerek plazmaları alındı. Plazması ayrılan EDTA' lı kan örnekleri serum fizyolojik ile 3 kez yıkandıktan sonra eritrositler 1:5 oranında distile su ile sulandırıldı. Daha sonra dilüe edilmiş kan örnekleri 1: 100 oranında fosfat tamponu ile tekrar dilüe edildi ve böylece, CAT ölçümünde kullanacağımız numunelerimiz ölçülmeye hazır hale getirildi.

Aşağıdaki çalışma prosedüründe gösterildiği şekil ve sırayla yapıldı.

Tablo 2. Katalaz Aktivitesinin Ölçümü

	Kör (ml)	Örnek (ml)
Fosfat Tamponu	1	–
Hidrojen Peroksit	–	1
Hemolizat	2	2

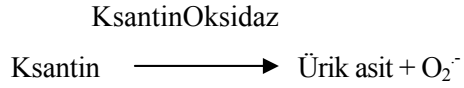
Daha sonra spektrofotometrede (Shimadzu OPI-2), 240 nm de test tüplerinin absorbansları kaydedildi.

Birimi k/gHb olarak ifade edilirken, enzim aktivitesi bazen katal olarak ifade edilir. 1 katal enzim aktivitesi, optimal koşullarda 1 saniyede 1 mol substratı değiştiren enzim etkinliğini ifade eder ki bu da 6×10^7 IU enzim aktivitesine denktir.

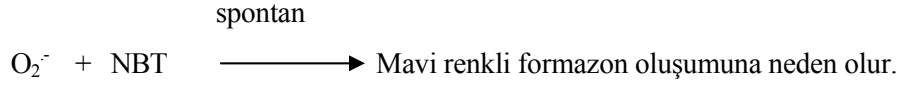
2.4. SOD Aktivitesinin Tayini

Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi Sun ve arkadaşlarının metodu (104) ile tayin edildi.

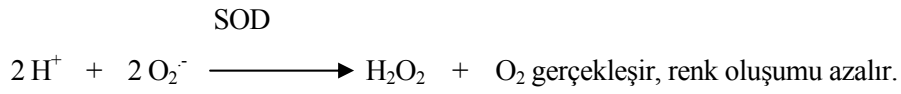
Bu metotta SOD aktivitesi, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksitin nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgemesi esasına dayanır. Oluşan Süperoksit radikalleri NBT'yi indirgeyerek renkli formazon oluşturur. Bu kompleks 560 nm'de maksimum absorbans verir. Enzimin olmadığı ortamda bu indirgeme meydana gelip mavi-mor renk oluşmaktadır. Ortamda SOD olduğunda ise NBT indirgenmesi olmayıp mavi-mor renk meydana gelmemekte ve enzim miktar ve aktivitesine bağlı olarak açık renk oluşmaktadır.



Ortamda SOD'ın bulunmaması durumunda;



Ortamda SOD varlığında ise;



Kullanılan Reaktifler:

1) Assay Reaktifi: Aşağıdaki şekilde hazırlanır.

a- 0.3 mmol/L ksantin

b- 0.4 mmol/L Na₂EDTA

c- 150 mikromol NBT

d- 400 mmol/L Na₂CO₃

e- 1 g/L bovine serum albumin (BSA)

Hazırlanan bütün çözeltiler karıştırılarak koyu renkli bir şişede ve +4 °C'de saklanır.

2)-Ksantin oksidaz (167 U)

3)- CuCl₂ (0.8 mol/L)

4)- 2 M (NH₄-2SO₄)

5)- Kloroform/etanol çözeltisi

Kloroform ile etanol karıştırılarak hazırlanır. Bu çözelti serumların ekstraksiyonu işleminde kullanılır.

Tayinin yapılışı;

EDTAlı kan 5000g' de 10 dakika santrifüj edildi. Plazma ayrıldı. Eritrositler 4 kez serum fizyolojik ile yıkanarak santrifüj edildi. Hemolizata önceden hazırladığımız kloroform/etanol çözeltisinden ilave edildi. Ardından karışım iyice vortekslendikten sonra + 4 °C', 5000 g'de 20 dakika santrifüj edildi. Böylece, SOD ölçümünde kullanacağımız numunelerimiz ölçülmeye hazır hale getirildi.

Daha sonra aşağıdaki çalışma prosedüründe gösterildiği şekil ve sırayla yapıldı.

Tablo 3. Süperoksid Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Ölçümü

		Kör tüpü	Test küveti
Assey reaktifi	(ml.)	2,15	2,15
Numune	(mL)	—	2,15
Bidistile su	(mL)	0,1	...
Ksantin oksidaz	(mikrolt)	50	50

Şemadaki gibi hazırlanan tüpler 25°C de 20 dakika inkübe edildi. Ardından tüm tüplere (kör ve test küvetine) 1,2 ml CuCl₂ eklenerek reaksiyon durduruldu. Daha sonra spektrofotometre (Shimadzu OP1-2), 560 nm de test tüplerinin absorbanları kaydedildi.

2.5. Plazmada Lipid Peroksidasyon (MDA) Düzeyinin Tayini

Plazmada Malondialdehid (MDA) düzeylerinde meydana gelen değişimler Placer ve arkadaşları (105)'dan modifiye edilen yöntemle göre spektrofotometrik olarak ölçülür. Üç veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonunda Tiobarbitürik asit (TBA) ile ölçülebilen MDA meydana gelmektedir. Yağ asidi peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, TBA ile reaksiyona girerek pembe renkli bir kompleks oluşturur. Oluşan bu pembe renk 532 nm'de okunur.

Tayinin yapılışı;

EDTA' lı tüplere alınarak elde edilen plazmadan 0,25 ml alınarak üzerine 2.25 ml renk ayırıcı (TBA ve % 10'luk triklorasetik asit) ilave edildi. Karışım 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj

edilerek 20 dakika kaynar su banyosunda bekletildi ve 532 nm’ de spektrofotometrede köre karşı okundu.

2.6. Total Antioksidan Kapasite (TAC) Ölçümü

Farklı antioksidanların serum ya da plazma konsantrasyonları, laboratuarlarda ayrı ayrı ölçülebilir fakat bu ölçümler zaman harcayan, ağır bir çalışma isteyen, maliyetli ve komplike teknikler gerektirmektedir. Total antioksidan kapasitesi ölçülen bir numune, total antioxidant capacity (total antioksidan kapasite) (TAC) (106), total antioxidant activity (total antioksidan aktivite) (TAA) (107), total antioxidant power (total antioksidan güç) (TAOP) (108), total antioxidant status (total antioksidan durum) (TAS) (109), total antioxidant response (total antioksidan cevap) (110) ya da benzeri şekillerde adlandırılır.

Numunedeki antioksidanlar koyu mavi-yeşil ABTS radikal rengini, renksizliğe doğru azaltır. Numunenin total antioksidan seviyesiyle ilişkili olarak bu değişim 660 nm absorbansda okunur. Bir vitamin E analogu olan, uluslararası adı Trolox Equivalent olarak adlandırılan standart solusyonu ile kalibre edilir.

İçeriği:

Analiz Tamponu (Ayıraç 1) = 100 ml

Renkli ABTS Radikal Solusyonu (Ayıraç 2) = 25 ml

Standart 1 (0.0 mmol Trolox Equiv./L) Solution = 5 ml

Standart 2 (1.5 mmol Trolox Equiv./L) Solution = 5 ml

Tayinin Yapılışı;

Antikoagulan içermeyen tüplere alınıp santrifüj edilerek alınan serumlar, aşağıdaki çalışma prosedüründe gösterildiği sırayla 660 nm absorbansda (Shimadzu OPI-2) okunarak yapıldı.

*800 µl Ayıraç 1 + 50 µl standart 1 (ve numune) = Standart 1’ in 1.absorbansı

*800 µl Ayıraç 1 + 50 µl standart 1 + 125 µl Ayıraç 2 ve 37 C° 5 dakika inkübasyon= Standart 1’ in 2.absorbansı

*800 µl Ayıraç 1 + 50 µl standart 2 = Standart 2’ nin 1.absorbansı

*800 µl Ayıraç 1 + 50 µl standart 2 + 125 µl Ayıraç ve 37 C° 5 dakika inkübasyon= Standart 2' nin 2. absorbansı

2.7. Lipid Parametrelerinin Ölçümü

Antikoagülan içermeyen tüpteki kandan elde edilen serumla lipid miktarları (trigliserit, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol) otoanalizörde ölçüldü.

2.7.1. Triglicerit Ölçümü

Trigliserit ölçümü, Olympus firması tarafından üretilen ticari kit kullanılarak OLYMPUS AU-640 otoanalizöründe yapıldı. Bu yöntemle göre trigliseritler lipaz enzimi ile enzimatik hidrolize uğratılır. Peroksidaz enziminin katalitik etkisiyle hidrojen peroksit, 4-aminofenazondan ve 4-klorofenolden indikatör madde olan kinonimin (kırmızı) oluşturulur. Oluşan bu son renkli bileşiğin konsantrasyonu 520 nm'de tayin edilir (111, 112, 113).

2.7.2. Kolesterol Ölçümü

Kolesterol ölçümü, Olympus firması tarafından üretilen ticari kit kullanılarak OLYMPUS AU-640 otoanalizöründe yapıldı. Bu metoda göre kolesterol enzimatik olarak hidroliz ve oksidasyon reaksiyonlarından sonra tayin edilir. Fenol ve peroksidaz varlığında indikatör madde olan kinonimin (kırmızı), 4- aminoantipirin ve hidrojen peroksitten oluşturulur. Oluşan renkli bileşiğin konsantrasyonu 540 nm'de tayin edilir (114).

2.7.3. HDL-Kolesterol Ölçümü

HDL-Kolesterol ölçümleri, Olympus firması tarafından üretilen ticari kit kullanılarak OLYMPUS AU-640 otoanalizöründe yapıldı. Bu metoda göre R1' deki (testteki reaktif) anti insan-β-lipoprotein antikoru HDL dışındaki apolipoproteinlere (LDL, VLDL, şilomikronlar)

bağlanır. Oluşan antijen-antikor kompleksleri, R2 (testteki reaktif) eklendiğinde enzim reaksiyonlarını bloke eder. HDL-kolesterol miktarı, bir enzim kromojen sisteminin mevcudiyetinde belirlenir (115).

2.7.4. LDL-Kolesterol Ölçümü

HDL-Kolesterol ölçümleri, Olympus firması tarafından üretilen ticari kit kullanılarak OLYMPUS AU-640 otoanalizöründe yapıldı. Bu metoda göre R1' deki koruyucu bir ajan, LDL' yi enzimatik reaksiyondan korur. LDL olmayan tüm lipoproteinler (HDL, VLDL, CM) kolesterol esteraz (CHE) ve kolesterol oksidazla (CHO) reaksiyon vasıtasıyla parçalanır. Bu reaksiyonla açığa çıkan hidrojen peroksit R1' de ki katalaz tarafından parçalanır. R2 eklendiğinde, koruyucu reaktif sodyum azid tarafından inaktive edilen LDL ve katalazdan ayrılır. Artık, CHO/PAP sistemi vasıtasıyla LDL miktarı belirlenebilir (116).

2.8. Vitamin C Ölçümü

Vitamin C oksidasyona karşı çok duyarlı olduğundan, heparinli tüplere konarak laboratuara getirilen kan örnekleri hemen çalışılmak üzere plazmaları ayrıldı, Vitamin C ölçümleri, İmmun Diagnostik tarafından hazırlanan kitler kullanılarak aşağıdaki sırayla TERMO HPLC' de yapıldı.

*1.5 ml reaksiyon tüpüne 200 µl kalibratör, numune ya da kontrol + 200 µl çöktürme ayracı ilave edilir

*iyice karıştırılır ve 10 dakika 2-8 C° de inkübasyon edilir

*10 dakika 10.000 x g santrifüj yapılır

*20 µl süpernatant HPLC' ye enjekte edilir

HPLC' de Bischoff Prontosil AQ 5µm kolonunda, 0.75 ml/dakika akış hızına ayrılarak 254 nm' de Vitamin C pikleri alındı.

2.9. Vitamin A/E Ölçümü

EDTA' lı tüplere alınarak santrifüj edilip plazmaları ayrılan kanlar, İmmün Diagnostik tarafından hazırlanan kitler kullanılarak aşağıdaki sırayla TERMO HPLC' de yapıldı.

Tablo 4. Vitamin A/E ölçümü (*1.5 ml reaksiyon tüpüne)

STANDART	Numune, CTRL (kontrol)1 ve CTRL2
250 µl standart	250 µl numune ya da CTRL1, CTRL2
+ 50 µl iç standart solusyon	+ 50 µl iç standart solusyon
+ 250 µl sulandırma solusyonu	
+ 250 µl çökteltici solusyon	+ 500 µl çökteltici solusyon

İyice karıştırılır. 2-8 C⁰ de 30 dakika bekletilir ve 10.000 g' de 10 dakika santrifüj edilir ve 100 µl süpernatant HPLC' ye enjekte edilir.

HPLC' de Nucleosil C18; 10µm kolonunda, 0.8-1.2 ml/dakika akış hızına ayarlanıp 325 nm' de Vitamin A, 300 nm' de Vitamin E pikleri alındı (117, 118).

2.10. Homosistein (HCY) Ölçümü

Protein bağlı homosistein, serbest homosisteine ve o da enzimatik olarak S-adenosil -L- homosisteine (SAH) dönüşür (119). Enzim (SAH-hidrolaz), kanda bulunan homosisteinin L formu için spesifiktir. Takip eden katı-faz enzim immünolojik duyarlılığı, mikrotitre tabakasının monoklonal anti-SAH antikoruna bağlanmak için, duvarlara bağlı hareketsiz SAH ve numunede ki SAH arasındaki yarışa bağlıdır. Daha sonra ikincil 'rabbit anti-mouse' antikor, 'horse radish' peroksidaz eklenerek işaretlenir ve bu peroksidaz aktivitesi substrat eklendikten sonra spektrofotometrik olarak ölçülür. Absorbans (450 nm), numunedeki homosistein konsantrasyonuyla ters ilişkilidir.

EDTA' lı tüplere alınarak santrifüj edilip plazmaları ayrılan kanlar, Axis tarafından hazırlanan kitler kullanılarak (Biotek Elx800) ELİSA' da yapıldı.

2.11. Leptin Ölçümü

Leptin ELİSA kiti, sandviç prensibine dayalıdır. Mikrotitre tabakası, leptin molekülündeki tek antijenik kısma karşı duyarlı olan monoklonal antikorla kaplanmıştır. Büyük leptin molekülü içeren hasta numuneleri, ‘rabbit anti Leptin’ antikoruyla kaplanmış tabakada inkübe edilir ve sandviç kompleksi oluşturulur. İnkübasyondan sonra bağlanmamış materyal yıkanır ve bağlanmış leptinin tespiti için ‘anti rabbit’ peroksidaz eklenir. Substrat solusyonu ilave edilir, oluşan rengin yoğunluğuyla hasta serumundaki leptin konsantrasyonu orantılıdır (29, 120, 121).

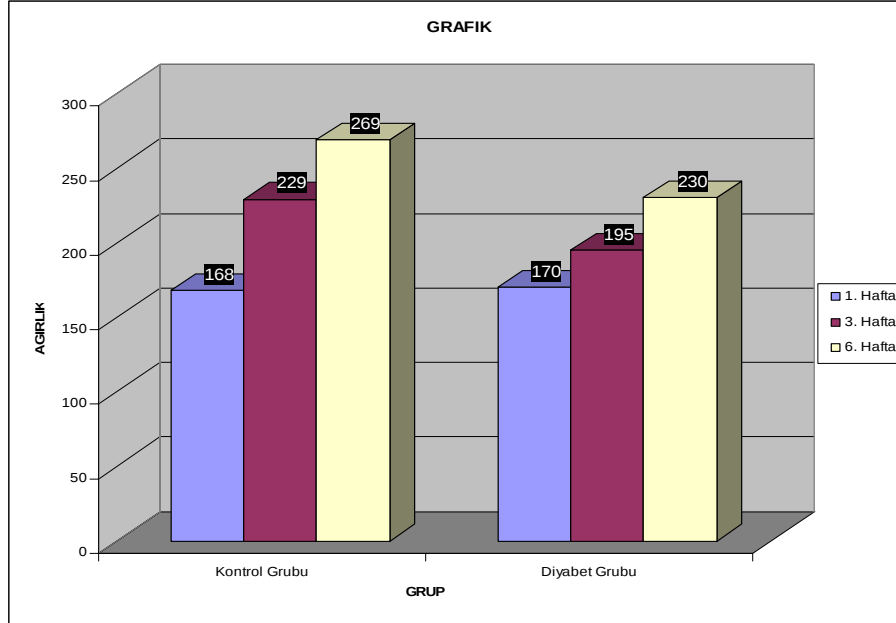
Antikoagulan içermeyen tüplere alınarak santrifüj edilip serumları alınan kanlar, DRG Diagnostics tarafından hazırlanan kitler kullanılarak (Biotek Elx800) ELİSA da yapıldı.

2.12. İstatistik Değerlendirme

Elde edilen veriler SPSS 16 istatistik programında değerlendirilmiştir. Karşılaştırmalı analizlerde parametrik test varsayımları levene testi ile değerlendirilmiştir. Parametrik test varsayımlarının sağlandığı ikili karşılaştırmalarda bağımsız gruplar t testi kullanılmıştır. Parametrik test varsayımının sağlanamadığı durumlarda ise Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Sonuçların tümünde $p < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edilmiştir. Öncelikle levene testi sonuçlarına göre parametrik test varsayımları belirlenmeye çalışılmış ve buna göre anlamlı farklılığın bulunduğu analizlerde Mann Whitney U testi, diğer analizlerde ise parametrik bir test olan bağımsız gruplar t testi sonuçlarına göre yorum yapılmıştır.

3. BULGULAR

Çalışmada kullanılan ratların ağırlıkları deney başında ve üçer hafta arayla ortasında ve sonunda alınmıştır, buna göre alınan değerlerin ortalamaları ile oluşan grafik aşağıdaki gibidir.



Şekil 2. Kontrol ve diyabet grubuna ait ağırlık ölçümleri

3.1. Diyabet Grubuna Ait Açlık Kan Glukoz Değerleri

Diyabetik gruptaki ratların ilk önce açlık kan glukoz değerleri ölçülmüştür. STZ enjeksiyonundan 48 saat sonra tekrar açlık kan glukoz değerleri kaydedilmiş, bunlardan 200 mg/ dl' nin üzerinde olanlar diyabetik kabul edilmiş, bu değer altındakilere ise tekrar STZ enjeksiyonu yapılmış ve yeniden bu hayvanlarda kan glukoz değerleri ölçülmüştür.

Tablo 5. Deney Gruplarına Ait Açlık Kan Glukoz Değerleri

Kontrol Grubu (mg/dl)	Deney Grubu	
	Deney Öncesi (mg/dl)	Deney Sonrası (mg/dl)
69	86	414
84	84	499
97	89	422

90	82	502
104	73	334
81	80	388
70	75	418
92	62	311
77	66	492
60	76	390
71	75	310
85	49	<600
99	66	<600
93	72	542
84	82	467
107	61	<600
74	66	310
95	66	436
63	55	501
80	54	348

Deney gruplarına ait kan glukoz değerleri Tablo 5’de verilmiştir. Deney grubuna ait kan glukoz değerleri deney öncesi ve sonrası olarak tabloda aktarılmıştır. Deney sonrası gruba ait bazı ratların kan glukoz değerleri 600 mg/dl üzerinde olduğu tespit edilmiştir.

3.2. Kontrol ve Diyabet Gruplarının HCY (μmol/lt) Düzeylerine İlişkin Bağımsız Gruplar T Testi Sonuçları

Tablo 6. Homosistein düzeylerinin gruplara göre istatistiksel karşılaştırılması

Gruplar	N	$\bar{X}$	SS	Sd	Leven	An. D.	MVU	An D.	t	An. D.
Kontrol	10	5.38	1.22	18	0.092	0.765	-	-	4.44	0.000*
Diyabet	10	2.86	1.32							

*P <0.05

Levene değeri (yanındaki An.D. değeri) $P > 0.05$ olduğu için Bağımsız Gruplar T testi uygulanmıştır. Buna göre Sig. (2-tailed) değeri olan t yanındaki An.D. değerimiz $P < 0.05$ olduğu için kontrol ve deney gruplarında anlamlı bir farklılık vardır.

3.3. Kontrol ve Diyabet Gruplarının Leptin (ng/ml) Düzeylerine İlişkin Mann Whitney U Testi Sonuçları

Tablo 7. Leptin düzeylerinin gruplara göre istatistiksel karşılaştırılması

Gruplar	N	$\bar{X}$	SS	sd	Leven	An. D.	MVU	An D.	T	An. D.
Kontrol	6	1.94	0.86	10	8.60*	0.015	0.000	.004*	-	-
Diyabet	6	0.42	0.35							

* $P < 0.05$

Levene değeri (yanındaki An.D. değeri) $P < 0.05$ olduğu için Bağımsız Gruplar T testi uygulayamayız ancak parametrik olmayan Mann Whitney U Testi uygulayabiliriz. Buna göre MVU değeri yanındaki Asymp. Sig. (2-tailed) değeri olan An.D. değeri $p < 0.05$ olduğu için kontrol ve deney gruplarında anlamlı bir farklılık vardır.

3.4. Kontrol ve Diyabet Gruplarının MDA (nmol/ml) Düzeylerine İlişkin Bağımsız Gruplar T Testi Sonuçları

Tablo 8. MDA düzeylerinin gruplara göre istatistiksel karşılaştırılması

Gruplar	N	$\bar{X}$	SS	sd	Leven	An. D.	MVU	An D.	t	An. D.
Kontrol	10	0.94	0.13	18	4.04	0.06	-	-	-4.79	0.000*
Diyabet	10	1.33	0.22							

* $P < 0.05$

Levene değeri (yanındaki An.D. değeri) $P > 0.05$ olduğu için Bağımsız Gruplar T testi uygulanmıştır. Buna göre Sig. (2-tailed) değeri olan t yanındaki An.D. değerimiz $P < 0.05$ olduğu için kontrol ve deney gruplarında anlamlı bir farklılık vardır.

3.5. Kontrol ve Diyabet Gruplarının Kolesterol (mg/dl) Düzeylerine İlişkin Bağımsız Gruplar T Testi Sonuçları

Tablo 9. Kolesterol düzeylerinin guplara göre istatistiksel karşılaştırılması

Gruplar	N	$\bar{X}$	SS	sd	Leven	An. D.	MVU	An D.	t	An. D.
Kontrol	10	42.50	8.55	18	0.191	0.667	-	-	-6.98	0.000*
Diyabet	10	69.80	8.92							

*P < 0.05

Levene değeri (yanındaki An.D. değeri) $P > 0.05$ olduğu için Bağımsız Gruplar T testi uygulanmıştır. Buna göre Sig. (2-tailed) değeri olan t yanındaki An.D. değerimiz $P < 0.05$ olduğu için kontrol ve deney gruplarında anlamlı bir farklılık vardır.

3.6. Kontrol ve Diyabet Gruplarının Triglicerit (mg/dl) Düzeylerine İlişkin Bağımsız Gruplar T Testi Sonuçları

Tablo 10. Triglicerit düzeylerinin guplara göre istatistiksel karşılaştırılması

Gruplar	N	$\bar{X}$	SS	sd	Leven	An. D.	MVU	An D.	t	An. D.
Kontrol	10	60.90	10.11	18	0.643	0.433			-6.69	0.000*
Diyabet	10	91.90	10.57							

*P < 0.05

Levene değeri (yanındaki An.D. değeri) $P > 0.05$ olduğu için Bağımsız Gruplar T testi uygulanmıştır. Buna göre Sig. (2-tailed) değeri olan t yanındaki An.D. değerimiz $P < 0.05$ olduğu için kontrol ve deney gruplarında anlamlı bir farklılık vardır.

3.7. Kontrol ve Diyabet Gruplarının HDL (mg/dl) Düzeylerine İlişkin Bağımsız Gruplar T Testi Sonuçları

Tablo 11. HDL düzeylerinin gruplara göre istatistiksel karşılaştırılması

Gruplar	N	$\bar{X}$	SS	sd	Leven	An. D.	MVU	An D.	t	An. D.
Kontrol	10	42.20	7.97	18	3.37	0.083	-	-	6.39	0.000*
Diyabet	10	23.60	4.60							

* $P < 0.05$

Levene değeri (yanındaki An.D. değeri) $P > 0.05$ olduğu için Bağımsız Gruplar T testi uygulanmıştır. Buna göre Sig. (2-tailed) değeri olan t yanındaki An.D. değerimiz $P < 0.05$ olduğu için kontrol ve deney gruplarında anlamlı bir farklılık vardır.

3.8. Kontrol ve Diyabet Gruplarının LDL (mg/dl) Düzeylerine İlişkin Mann Whitney U Testi Sonuçları

Tablo 12. LDL düzeylerinin gruplara göre istatistiksel karşılaştırılması

Gruplar	N	$\bar{X}$	SS	sd	Leven	An. D.	MVU	An D.	t	An. D.
Kontrol	10	7.30	2.002	18	6.34*	0.021	22.50	.036*	-	-
Diyabet	10	11.70	4.97							

* $P < 0.05$

Levene değeri (yanındaki An.D. değeri) $P < 0.05$ olduğu için Bağımsız Gruplar T testi uygulayamayız ancak parametrik olmayan Mann Whitney U Testi uygulayabiliriz. Buna göre

MVU değeri yanındaki Asymp. Sig. (2-tailed) değeri olan An.D. değeri $p < 0.05$ olduğu için kontrol ve deney gruplarında anlamlı bir farklılık vardır.

3.9. Kontrol ve Diyabet Gruplarının VLDL (mg/dl) Düzeylerine İlişkin Mann Whitney U Testi Sonuçları

Tablo 13. VLDL düzeylerinin gruplara göre istatistiksel karşılaştırılması

Gruplar	N	$\bar{X}$	SS	sd	Leven	An. D.	MVU	An D.	t	An. D.
Kontrol	10	12.6	2.67	18	9.71*	0.006	3.500	.000*	-	-
Diyabet	10	23.90	5.72							

*P < 0.05

Levene değeri (yanındaki An.D. değeri) $P < 0.05$ olduğu için Bağımsız Gruplar T testi uygulayamayız ancak parametrik olmayan Mann Whitney U Testi uygulayabiliriz. Buna göre MVU değeri yanındaki Asymp. Sig. (2-tailed) değeri olan An.D. değeri $p < 0.05$ olduğu için kontrol ve deney gruplarında anlamlı bir farklılık vardır.

3.10. Kontrol ve Diyabet Gruplarının Vit A (mg/lt) Düzeylerine İlişkin Bağımsız Gruplar T Testi Sonuçları

Tablo 14. Vitamin A düzeylerinin gruplara göre istatistiksel karşılaştırılması

Gruplar	N	$\bar{X}$	SS	sd	Leven	An. D.	MVU	An D.	T	An. D.
Kontrol	6	0.27	0.06	10	0.6	0.457	-	-	0.29	0.772
Diyabet	6	0.25	0.12							

*P < 0.05

Levene değeri (yanındaki An.D. değeri) $P > 0.05$ olduğu için Bağımsız Gruplar T testi uygulanmıştır. Buna göre Sig. (2-tailed) değeri olan t yanındaki An.D. değerimiz $P > 0.05$ olduğu için kontrol grubu deney grubuna göre artmış olsada iki grup arasında anlamlı bir farklılık yoktur.

3.11. Kontrol ve Diyabet Gruplarının Vit E (mg/lit) Düzeylerine İlişkin Bağımsız Gruplar T Testi Sonuçları

Tablo 15. Vitamin E düzeylerinin gruplara göre istatistiksel karşılaştırılması

Gruplar	N	$\bar{X}$	SS	sd	Leven	An. D.	MVU	An D.	T	An. D.
Kontrol	6	3.15	0.41	10	2.72	0.130	-	-	-1.97	0.077
Diyabet	6	4.71	1.88							

* $P < 0.05$

Levene değeri (yanındaki An.D. değeri) $P > 0.05$ olduğu için Bağımsız Gruplar T testi uygulanmıştır. Buna göre Sig. (2-tailed) değeri olan t yanındaki An.D. değerimiz $P > 0.05$ olduğu için iki grup arasında anlamlı bir farklılık yoktur.

3.12. Kontrol ve Diyabet Gruplarının Vit C (mg/lit) Düzeylerine İlişkin Bağımsız Gruplar T Testi Sonuçları

Tablo 16. Vitamin C düzeylerinin gruplara göre istatistiksel karşılaştırılması

Gruplar	N	$\bar{X}$	SS	sd	Leven	An. D.	MVU	An D.	t	An. D.
Kontrol	6	7.59	0.95	10	.45	.518	-	-	7.36	0.000*
Diyabet	6	3.04	1.17							

* $P < 0.05$

Levene değeri (yanındaki An.D. değeri) $P > 0.05$ olduğu için Bağımsız Gruplar T testi uygulanmıştır. Buna göre Sig. (2-tailed) değeri olan t yanındaki An.D. değerimiz $P < 0.05$ olduğu için kontrol ve deney gruplarında anlamlı bir farklılık vardır.

3.13. Kontrol ve Diyabet Gruplarının SOD (U/ml) Aktivitesine İlişkin Bağımsız Gruplar T Testi Sonuçları

Tablo 17. SOD enzim aktivite düzeylerinin gruplara göre istatistiksel karşılaştırılması

Gruplar	N	$\bar{X}$	SS	sd	Leven	An. D.	MVU	An D.	t	An. D.
Kontrol	12	3.92	0.61	22	0.114	0.739	-	-	9.39	0.000*
Diyabet	12	1.48	0.66							

* $P < 0.05$

Levene değeri (yanındaki An.D. değeri) $P > 0.05$ olduğu için Bağımsız Gruplar T testi uygulanmıştır. Buna göre Sig. (2-tailed) değeri olan t yanındaki An.D. değerimiz $P < 0.05$ olduğu için kontrol ve deney gruplarında anlamlı bir farklılık vardır.

3.14. Kontrol ve Diyabet Gruplarının Katalaz (k/gHb) Aktivitesine İlişkin Mann Whitney U Testi Sonuçları

Tablo 18. Katalaz enzim aktivite düzeylerinin gruplara göre istatistiksel karşılaştırılması

Gruplar	N	$\bar{X}$	SS	sd	Leven	An. D.	MVU	An D.	t	An. D.
Kontrol	20	9.52	1.88	38	5.34*	0.03	61.00	.000*	-	-
Diyabet	20	7.20	1.04							

* $P < 0.05$

Levene değeri (yanındaki An.D. değeri) $P < 0.05$ olduğu için Bağımsız Gruplar T testi uygulayamayız. Ancak parametrik olmayan Mann Whitney U Testi uygulayabiliriz. Buna göre MVU değeri yanındaki Asymp. Sig. (2-tailed) değeri olan An.D. değeri $p < 0.05$ olduğu için kontrol ve deney gruplarında anlamlı bir farklılık vardır.

3.15. Kontrol ve Diyabet Gruplarının TAC (mmol Trolox Equiv./L) Düzeylerine İlişkin Mann Whitney U Testi Sonuçları

Tablo 19. TAC düzeylerinin gruplara göre istatistiksel karşılaştırılması

Gruplar	N	$\bar{X}$	SS	sd	Leven	An. D.	MVU	An D.	t	An. D.
Kontrol	16	2.36	0.47	30	7.91*	0.009	16.00	.000*	-	-
Diyabet	16	1.34	0.13							

* $P < 0.05$

Levene değeri (yanındaki An.D. değeri) $P < 0.05$ olduğu için Bağımsız Gruplar T testi uygulayamayız ancak parametrik olmayan Mann Whitney U Testi uygulayabiliriz. Buna göre MVU değeri yanındaki Asymp. Sig. (2-tailed) değeri olan An.D. değeri $p < 0.05$ olduğu için kontrol ve deney gruplarında anlamlı bir farklılık vardır.

4. TARTIŞMA

21. yüzyılın hastalığı olan diyabet, günden güne önemli bir kesimi gerek ölüm gerekse hastalık açısından etkilemektedir. Diyabetik hastaların komplikasyonlarının erken dönemde tespit edilmesi ve buna göre tedavinin yapılması komplikasyonların önlenmesi açısından büyük olanaklar sağlamaktadır (9).

Homosistein yüksekliğinin, koroner kaynaklı hastalıklarda bağımsız bir risk faktörü olduğu ortaya çıkmıştır (9, 8). Homosistein serbest radikal gibi davranarak LDL' yi oksitlemektedir (18). Hipo ve hipertiroidi olgularda plazma homosistein düzeylerinin belirlenmesine yönelik pek çok çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmaların bir kısmı hipo ve hipertiroidide plazma homosistein düzeylerinin değişmediğini savunurken bir kısım çalışmada ise hipertiroidide plazma homosistein düzeylerinin arttığı belirtilmiştir (122,123). Nedrebo ve arkadaşları (122), sağlıklı kontrol grubuna göre hipertiroidili hastalarda plazma homosistein düzeylerinin istatistiksel açıdan değişmediğini bildirmelerine rağmen, hipertiroidili kardiyovasküler kaynaklı ölümlerden plazma homosistein düzeylerinin artmış olmasının etkili olabileceğini belirtmişlerdir.

Farklı bir çalışmada Tip 1 diabetik hastaların %35'inde homosistein seviyesi yükselmiştir ve bunlarda diyabetin komplikasyonları olan retinal hasar, nefron hasarı ve kardiyovasküler hastalıklar gözlenmiştir (124).

Bir diğer çalışmada Chico ve arkadaşları (19), Tip 1 diyabetiklerde homosistein konsantrasyonunun değişmediği, Tip 2 diyabetiklerde ise homosistein konsantrasyonunun kontrole göre yüksek olduğu ve Tip 2 diyabetik hastalarda homosistein seviyesiyle vasküler hastalıklar arasında bir ilişki olabileceğini belirtmişlerdir (19).

Homosistein fazlalığında homosistein tiolakton ortaya çıkarak, LDL' nin apolipoproteinlerinde değişikliğe yol açar. Değişikliğe uğramış LDL' ler makrofajlarca fagosit edilirler ve köpük hücreleri ortaya çıkar ve bu da ateroskleroza zemin hazırlar (125).

Robillon (127) ise, Tip 1 diyabetiklerde homosistein seviyesini kontrole göre düşük bulmuştur. Bulgularımızda da diyabetik gruptaki homosistein seviyesi kontrole göre düşük bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo: 3.2). Bunun nedeni, transsülfürasyon enziminin yükselmesiyle (128) homosisteinin sisteine dönüşmesi olabilir.

Çalışmamızda leptin düzeyi kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo:3.14). Düşük leptin düzeyi hipotalamik reseptörler üzerinden gıda alımının en güçlü

uyarıcısı olan NPY (Nöropeptit Y)'nin salınımını aktive eder, böylece iştahın artmasına, sempatik sinir sisteminin aktivitesinin azalmasına ve enerji harcanmasında azalışa neden olur (129). Sonuç olarak kişide kilo artışı olmaktadır. İştah azaltıcı hormon MSH (melanosit uyarıcı hormon) düşük leptin düzeyinde inhibe olmakta ve iştahın artışına neden olmaktadır (130). İştah azaltıcı bir başka hormon olan CRH (kortikotropin salgılatıcı hormon), düşük leptin düzeyinde salınımını azaltarak gıda alınımında artışa neden olur (128, 130). Sonuç olarak, aşırı kilonun insan sağlığı üzerine yüksek tansiyon ve aterosklerotik kalp hastalığı gibi olumsuz etkileri ortaya çıkmaktadır.

Mantzoros ve arkadaşları (131) ile McGregor ve arkadaşlarının (132) yaptıkları benzer çalışmalarda Tip 2 DM hastalarındaki plazma leptin düzeylerinin diabetik olmayan ve aynı VKİ (Vücut Kitle İndeksi)' ne sahip kişilerden farklı olmadığı, leptin seviyesinin VKİ ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Ayrıca insülin ve oral antidiyabetik tedavi alanlar arasında leptin düzeyleri açısından anlamlı bir fark görülmediği de bildirilmiştir (131, 132). Anormal vücut kilosunda leptin seviyesindeki yüksekliğin nedeni, leptin reseptöründeki olası bir defekt veya blokaj ile açıklanmaya çalışılmıştır (132, 133). Leptinin insülin sekresyonu üzerine olan etkisi, pankreasın β hücrelerinde ATP duyarlı K kanalını aktive ederek hücrenin pozitif yük kaybına neden olup, hücrenin uyarılabilirliğini azaltmasıdır, böylece hücre insülin salgılayamamakta (129) ve diyabet gelişmektedir. Ancak bizim çalışmamızda oluşan diyabetin nedeni, leptinden bağımsız olarak β hücrelerinde meydana gelen harabiyet sonucu insülin salgılanamamasıdır.

Her ne kadar kontrol grubuna göre diyabetik grupta kilo kaybı olsada deneyin başından sonuna kadar diyabetik grupta da bir kilo artışı gözlenmiştir. Kontrol grubuna göre diyabetik grupta bu azalışın olması da çok normaldir. Çünkü ratlara uygulanan STZ ile meydana gelen bir tahribat söz konusudur. Dolayısıyla çalışmada ortaya çıkan düşük leptin sonucu gelişen kilo artışı ile ortaya çıkabilecek, koroner kalp hastalığı ve hipertansiyon gelişme riski artabilir. Bu risk nedeni homosistein düzeyinde ki azalma değil, leptin düşüklüğünde sekonder gelişen kilo artışıdır.

Ateroskleroza olan kişilerde yapılan bir çalışmada lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan serum MDA düzeylerinin yükseldiği tespit edilmiştir (100). Çömlekçi ve arkadaşları (134), yaptıkları çalışmada NIDDM' lu hastalarda HDL- kolesterol, LDL- kolesterol, apoA-1, apo-B, TG, lp (a) seviyeleri araştırılmış, HDL kolesterol seviyeleri düşük, TG seviyeleri yüksek bulunmuştur.

Diyabetli hastalarda kan yağlarının oranlarında ve düzeylerinde insan sağlığını bozacak şekilde değişiklikler meydana gelmesi, kardiyovasküler hastalıklar için bir risk faktörüdür. Düşük HDL kolesterol konsantrasyonu ve yükselmiş küçük yoğunluklu LDL kolesterol partikül

konsantrasyonu, diyabetik dislipidemisinin temel karakteristik özelliğidir. Diyabetli hastalarda hiperkolesterolemi yaygın değildir fakat, serum kolesterol seviyesinin fonksiyonu gibi koroner kalp hastalığından ölüm oranı artmıştır (22).

Godin ve arkadaşları (63), deneysel diyabetik ratlarda kolesterol ve trigliseridin belirgin olarak arttığını öne sürmüşlerdir. Diğer bir çalışmada ise HDL'deki trigliserid seviyesinin %83 oranında arttığını saptamışlardır. Bunun nedeninin periferik doku hücre membranlarında, diyabetik hasara bağlı olarak lipoprotein metabolizmasının son ürünü şeklindeki lipid peroksitler olduğu ileri sürülmüştür (38).

Bulgularımızda kolesterol, trigliserid, LDL ve VLDL düzeylerinin kontrol grubunda diyabetik gruba göre anlamlı olarak düşük olduğu ($p<0.05$) (Tablo:3.5, 3.6, 3.8, 3.9), HDL düzeyinin ise anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü ($p<0.05$) (Tablo:3.7).

Lipit peroksitlerin son ürünü olan MDA düzeylerinin ise diyabetik grupta yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Tablo: 3.4). Özellikle iyi kontrol edilemeyen diyabette oksidatif aktivitenin artması serbest radikal oluşumunu arttırmak da, bu da proteinlerin non-enzimatik glikozillenmesinin artmasıyla glikozillenen proteinlerin oksidasyonu sonucu serbest radikal miktarını arttırmaktadır.

Diyabetiklerde major olarak ortaya çıkan KKH' nın önlenmesinde kişilerin antioksidan sistemlerinin önemli olduğu fikri güçlenmektedir. Diyabette serbest radikal oluşumunun artmasına karşılık radikal tutucu sistemlerde de azalma olduğu ileri sürülmektedir (18). Lipid perosidasyonundaki artış uzun süreli komplikasyonların hazırlayıcı faktörü olabileceğinden diyabetin gelişmesini değerlendirmede faydalı bir kriterdir.

Sonuç olarak koroner kalp hastalığında serum kolesterol yüksekliğine, MDA düzeylerinde ki artış ve leptin seviyesinde ki azalışa bağlı olarak sekonder gelişen kilo artışı eşlik etmektedir.

Aterosklerozun gelişmesinde hipertansiyon, sigara gibi risk faktörleri yanında antioksidan kapasitenin de oldukça önem kazandığı belirlenmiştir. Kuzey ve Güney Avrupa ülkelerinde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda bir antioksidan olan serum vitamin E düzeylerinin koroner kalp hastalıkları mortalitesi ile kan basıncı ve kolesterol düzeylerinden daha fazla ilişkili olduğu saptanmıştır (18).

Tip 1 diyabetik hastalarda antioksidan statü parametrelerini inceleyen çalışmalardaki bulgular çelişki göstermektedir. Bazı çalışmalarda antioksidan düzeylerinin arttığı diğerlerinde ise azaldığı bildirilmiştir (135,136). Çalışmamızda C vitamini düzeyinin kontrol grubuna göre diyabetik grupta azaldığı bulundu ($p<0.05$) (Tablo.3.12). Diyabetik hastalarda poliol yolu

aktivitesindeki artış NADPH ve NAD⁺ azalması ve hücrel redoks potansiyelinde değişiklikler ile sonuçlandığı bildirilmiştir (135,137). Bu durum hücre içi GSH eksikliğine yol açar ve serbest radikal temizleyici aktivitenin engellenmesi ile hücrelerin artmış oksidatif stres ile mücadelesini azaltır. Geç dönem diyabetiklerde saptanan GSH eksikliğine bağlı olarak askorbatın dehidroaskorbattan rejenere olamaması askorbat seviyesinin düşüklüğünün nedeni olabilir (139). Deneysel ve klinik diyabet çalışmalarında, askorbik asidin renal atılımdaki, yarı ömründeki ve hücrel alımdaki değişikliklerden dolayı vitamin C düzeyinin azaldığı bildirilmiştir (137, 138, 74).

Bu çalışmada E vitamini istatistiksel olarak anlamlı olmasa da diyabet grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur ($p>0.05$) (Tablo:3.11). α tokoferol büyük oranda lipoproteinler ile taşınır. Geç dönem diyabetiklerde bulduğumuz E vitamini yüksekliği hiperlipidemiyle ilgili olabilir. Asayama ve arkadaşları (139) insüline bağımlı diabetes mellituslu (IDDM) hastalarda plazma ve doku E vitamin değerlerini yüksek saptamıştır.

A vitamini düzeyi ise istatistiksel olarak anlamlı olmasa da kontrol grubunda diyabet grubuna göre yüksek bulunmuştur ($p>0.05$) (Tablo:3.10). Süperoksit radikalleri enzimatik dismutasyonla temizlenirken, antioksidan olarak bilinen fakat enzim olmayan bileşiklerde organizmada oksijen radikallerinin temizlenmesini sağlarlar. Bu kimyasal bileşiklerden en önemlilerinin A, E ve C vitaminleri olduğu rapor edilmiştir (140). Dolayısıyla diyabette serbest radikal üretiminin artmasına ve radikal bağlayıcı sistemlerde azalma olmasına bağlı olarak diyabetiklerin antioksidanlara daha çok ihtiyaç duyduğu söylenebilir.

Bu çalışmada diyabetik grupta ortalama SOD, CAT ve TAC düzeyleri, kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo:3.13, 3.14, 3.15). Literatürde yer alan çalışmalarda diyabetiklerde SOD aktivitesinin arttığı, azaldığı veya değişmediği ile ilgili bulgular vardır (91).

Saxena ve arkadaşları (141), diyabetik ratlarda CuZnSOD aktivitesini düşük bulmuşlardır. Nath ve arkadaşları (142) ise diyabetik grup ile kontrol grubu SOD'lerinin farklı olmadıklarını belirtmişlerdir.

Tip 1 diyabetiklerde insülin yetersizliğinde β oksidasyonunun artmasına bağlı olarak hidrojenperoksit oluşumunun arttığı bilinmektedir (59). Hidrojenperoksidin doku SOD aktivitesini indüklemesine bağlı olarak erken dönem Tip 1 diyabetiklerde kontrol grubuna göre yüksek SOD aktivitesi saptanmıştır (143). Güzel ve arkadaşları (144) geç dönem diyabetiklerde gözledikleri SOD aktivitesindeki azalmanın hiperglisemiye bağlı aşırı enzim tüketiminin sonucu olabileceğini belirtmişlerdir. Kaji ve arkadaşları (145), Tip 2'li diyabetik kadın hastalarda, kontrol grubuna göre SOD aktivitesinde farklılık saptamamışlardır.

Merzouk ve arkadaşları (146), SOD aktivitesini Tip 2 diyabetlilerde kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde düşük bulduklarını ancak, Tip 1 diyabetiklerde bu durumu saptamadıklarını bildirmişlerdir.

Wu ve arkadaşları (147) diyabetik ratlarla deneysel olarak yaptıkları çalışmada, diyabetik rat böbrek dokusunda SOD, POD (Peroksidaz) ve CAT aktivitelerinin 8. ve 16. haftalarda anlamlı şekilde azaldığını bulmuşlardır. Araştırmacılar bu değişikliklerin, yüksek glikozla indüklenen böbrekteki antioksidasyon değişiklikleriyle ilişkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Sözmen ve arkadaşları (51) Tip 2 diyabetiklerde yaptıkları çalışmada, SOD aktivitesinde kontrole kıyasla anlamlı bir fark saptamamışlardır.

Tiedge ve arkadaşları (148, 149) süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin salınımlarının ve antioksidan kapasitenin pankreas adacık hücrelerinde, karaciğer, böbrek, iskelet kası ve yağ dokusu gibi diğer dokularla kıyaslandığında en düşük düzeyde olduğunu belirtmişlerdir.

Türkalp ve arkadaşları (150), diyabetik grupta ortalama TAC düzeyi ile kontrol grubunda anlamlı fark olmadığını gözlemlemişlerdir.

Diyabetik olmayan hiperkolesterolemik hastalarda insülin rezistansı ve plazma TAC seviyeleri ile β -karoten ve γ -tokoferol arasında ters bir ilişki olduğu gözlenmiştir (151). Dosso ve arkadaşları (152), NIDDM' li hastalarda daha düşük TAC değerleri belirlemişlerdir. 75 yaşında erkek ketoasidozis IDDM' li hastanın serum biyokimyasal analizinde α -tokoferol ve β -karoten düzeyleri azalmışken, TAC seviyesi normal bulunmuştur (153).

47 yaşında NIDDM' li hastanın lipid peroksidasyon seviyesi, sağlıklı yaşlılarından ve gençlerden daha yüksek saptanırken, GSH ve TAC seviyeleri ise sağlıklı gençlere göre daha az bulunmuştur (154).

Tip 2 diyabetik hastalarda yüksek lipid peroksidasyon ve SOD düzeyleri ile düşük TAC seviyeleri ve antioksidan enzim seviyeleri gözlenmiştir (155, 156).

Perifer damar tutulumu olan diyabetik hastalarda lipid peroksidasyon seviyesi ve ilerlemiş glikasyon ürünleri artarken, plazma TAC seviyesi azalmıştır (157).

Koroner arter hastası Tip 1 diyabetik hastalarda TAC seviyesi, vasküler hasarı bulunmayan Tip 1 diyabetik hastalardan daha düşük bulunmuştur (158).

Tip 1 diyabetik çocuklarda kan lipid peroksidasyon seviyesi yüksekken, TAC ve GSH seviyeleri daha düşük bulunmuştur (159).

5. SONUÇ

Diyabetik ratlarda görülen düşük TAC seviyelerinin takibi, diyabet ve komplikasyonlarının izlenmesi için bir parametre olarak değerlendirilebilir. Araştırmalar sonucunda, normal sınırlar içerisinde vücut ağırlığı ve egzersiz ile artan antioksidan kapasite diyabetten koruyucu bir strateji olarak düşünülebilir.

Ayrıca tip 1 ve tip 2 diyabetde homosistein seviyesiyle ilgili olarak farklı sonuçlar çıkmaktadır. Düşük homosistein düzeyi kardiyovasküler hastalıklar için risk taşımazken, düşük leptin düzeyiyle gelişen kilo artışının, serum kolesterol yüksekliğinin ve MDA düzeylerindeki artışın kalp hastalığı ve hipertansiyon gibi metabolik hastalıklara yol açacağı unutulmamalıdır.

KAYNAKLAR

1. Vincent A.M., Russell J.W., Low P., Feldman E.L., 2004, Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocrine Reviews*; 25: 612-628.
2. Memisogullan R., Taysi S., Bakan E., Capoglu I., 2003, Antioxidant Status and Lipid Peroxidation in Type II Diabetes Melhtus. *Cell Biochem Func.*; 21: 291-296.
3. Sacks D.B., 1999, Diabetes Melhtus. In: Burtis CA, Ashwood ER, (Ed). *Tietz Texbook of clinical chemistry*. Philadelphia: WB Saunders Co; 766-776.
4. Cherubini A., Ruggiero C., Polidori M.C., Mecocci C., 2005, Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radical Biology & Medicine*; 39: 841 – 852.
5. Memişoğullan R., Bakan E., 2004, Levels of ceruloplasmm, transferrm, and lipid peroxidation in the serum of patients with Type 2 diabetes melhtus. *Journal of Diabetes and Its Complications*; 18: 193- 197.
6. Wahl P., Ziegler R. and Nawroth P.P., 1997, Advanced glycation end product-induced activation of NF-kappaB is suppressed by alpha-lipoic acid in cultured endothelial cells. *Diabetes*; 46(9), 1481-1490.
7. Carlson L.A., Rosenhamer G., 1988, Reduction of mortality in the stokholm iskemia heart disease secondry prevention study by combined treatment with clofibrate and nicotinic acid. *Acta Med. Scand*; 223: 405-418.
8. Sansoy S., 2000, Risk Faktörleri ve hiperlipidemi tedavisinde klavuz kurallar, *Türkiye Klinikleri Journal of Cardiology Hiperlipidemi Özel Sayısı*; 13: 33-40.
9. Challem J., Dolby V., 1997, Homocysteine: The Secret killer, the real cause of heard disease and stroke, *Good Healty Pub.*; 13-21.
10. Çorakcı A., 1998, Dislipidemiler. *Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği Yayınları*; 2;37-47.
11. Üstündağ B., 1996, Deneysel Diabetes Mellitus Oluşturulmuş Ratlarda Renin-Anjiotensin- Aldosteron Sisteminin İncelenmesi. *Uzmanlık Tezi*, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Elazığ.
12. Beales P.E., Williams A.J.K., Albertini M.C. and Pozzilli P., 1994, Vitamin E Delays Diabetes Onset in the Non-Obese Diabetic Mouse. *Horm. Metab. Res.*; 26; 450-52.
13. Rodger W., 1991. İnsülin-Dependent (Type 1) Diabetes Mellitus. *Can. Med. Assoc. J.*; 145 (10); 1227-37.

14. Akgül E., 1996, Tip 2 Diabetes Mellituslu Hastalarda Oksidan ve Antioksidan Mekanizmaların İncelenmesi. Uzmanlık Tezi, Uzmanlık Tezi, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Elazığ.
15. Guyton A.C., MD and Hall J.E., 1996, İnsülin, Glukagon ve Diabetes Mellitus. Tıbbi Fizyoloji. Dokuzuncu Baskı. Editör: Çavuşoğlu, H. (W. B. Saunders Company). Yüce Yayın, Nobel Tıp Kitabevi, Bölüm; 2, 78: 16, 971-83..
16. Stampfer M.J., Osborn J.A., Jaraki M., 1993. Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. J Clin Invest; 91: 308-318.
17. Hajjar K.A. 2001, Homocysteine: a sulphurous fire. J Clin Invest; 107; 663-664.
18. Köseoğlu M.H., Fadiloğlu M., Çelik Y., Güneri S., 1999, Koroner kalp hastalığında serum malondialdehid düzeylerinde oluşan değişiklikler, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi; 77-88.
19. Chico A., Perez A., Cordoba A., Arcelus R., Carreras G.. 1998, Plasma homocysteine is related to albumin excretion rate in patients with diabetes mellitus, Diabetologia; 41: 684-693.
20. Hoogeveen E.K., Kostense P.J., Beks P.J., Mackaay A.J., Jakops C., Bouter L.M., 1998, Hyperhomocysteinemia is associated with an increased risk of cardiovascular disease, especially in non-insulin dependent diabetes mellitus, J. Am, Card.; 18: 133-138.
21. Lentz S.R., Sobey C.G., Piegors D.J., Bhopatkar M.Y., Faraci F.M., Malinow M.R., 1996, Vascular dysfunction in monkeys with diet-induced hyperhomocysteinemia. J. Clin Invest; 98: 24-29.
22. Mooradian A.D., 2009, Dyslipidemia in type 2 diabetes mellitus. Nat Clin Pract Endocrinol Metab. Mar;5(3):150-9.
23. Nehler M.R., Taylor J., Porter J.M., 1997, Homocysteinemia as a risk factor for atherosclerosis: a review, Cardiovascular Surgery; 5: 559-567.
24. Remesar X., Rafecas J., Fernandez-Lopez A., Alemany M., 1997, Leptin. Med Res Rev: 17: 225-234.
25. Zhang Y., Proenca R., Maffei M., Barone M., Leopold L., Freidman J., 1994, Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature; 372:425.

26. Philips D.F., 1998, Leptin passes safety test, but effectiveness varies. JAMA; 280:869-870.
27. Banks W.A., 2003 Is obesity a disease of the blood-brain barrier? Physiological, pathological and evolutionary considerations. Curr Pharm Des.; 9: 801
28. Young I.S., Torney J.J., Trimble E.R., 1992, The effect of ascorbate supplementation on oxidative stress in the streptozotocin diabetic rats, Free radical Biology and Medicine; 13, 41-46
29. Considine R.V., Sinha M.K., 1996 Feb, Serum Immunoreactive-Leptin Concentrations in Normal Weight and Obese Humans, The New England Journal of Medicine; 1;334(5):292-5.
30. Girard J., 1997, Is leptin the link between obesity and insulin resistance Diab Metab.; 23:16-24
31. Saladin R., De-Vos P., Guerre- Millo M., Leturque A., Girard J., Steals B., Auwerx J., 1995 Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration. Nature; 377: 527-529.
32. Kolaczynski J.W., Nyce M.R., Considine R.V., Bolden G., Nolan J.J., Henry R., Mudalier S.R., Olefsky J., Caro J.F., 1996, Acute and chronic effects of insulin on leptin production in humans studies in vivo and in vitro. Diabetes; 45: 699-701.
33. Hia M.M., Davis J.W., Rosa P.D., Yates A.J., and Wasnich R.D., 1996, A multicentre study of the influence of fat and lean mass on bone mineral content. Am J Clin Nut.; 64:354.
34. Collins S., Kuhn C.M., Petro A.E., Swick A.G., Chrnyk B.A., and Surwit R.S., 1996, Role of leptin in fat regulation. Nature; 380:677.
35. Lau R., Blinn W.D., Bonen A., Dyck D.J., 2001, Stimulatory effects of leptin and muscle contraction on fatty acid metabolism are not additive. Am J Physiol Endocrinol Metab; 281:122.
36. Van L.F., 1993, Free radicals. Analytical Chemistry; 65: 12-15.
37. Ak H., Dingiloğlu N.T., Habif S., Kültürsay H., Bayındır O. and Onat T., 1996, Plasma lipid peroxides, vitamin E, superoxide dismutase and glutathione alterations in coronary atherosclerosis. Turk. J. Med. Sci.; 26:11-15.
38. Anderson R., Theron A.J., Ras G.J. 1987, Cysteine and dapsone of the increased

- extracellular and intracellular generation of reactive oxidants by activated phagocytes from cigarette smokers. *Am Rev Respir Dis.*; 135 (5): 1027-32.
39. Cheeseman K.H., Slater T.F., 1993, An introduction free radical biochemistry. *Br. Med. Bull*; 49 (3): 481-93.
 40. Young I.S., Woodside J.V., 2001, Antioxidants in health and disease. *J. Clm. Pathol.*, 54:176-186.
 41. Sözmen E.Y., 2002, Yaşlanma Biyokimyası. In Onat T, Emerk K, Sözmen EY (Eds) insan Biyokimyası, Palme Yayıncılık, Ankara pp; 665-674.
 42. Pratic'o D., 2005, Antioxidants and endothehum protection. *Atherosclerosis*; 181: 215-224.
 43. Alper G., Onat T., Emerk K., Sözmen E.Y., (eds), 2002, İnsan Biyokimyası. Ankara, Palme Yayıncılık, pp: 248-257.
 44. Ostenson C.,G, 2001, The pathophysiology of type 2 diabetes melhtus: an overview. *Acta Physiologica Scandmavica*; 171: 241- 247.
 45. Akçay F., Aksoy H., Memişoğullan R., 2002, Effect of breast-feeding on concentration of nitric oxide in breast milk. *Ann Clin Biochem*; 39: 68-69.
 46. Abou-Seif M.A., Youssef A., 2004, Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients. *Climca Chimica Acta*; 346, 161-170.
 47. Daimon M., Hama K., Susa S., Kimura M., Yamatam K., Ohnuma H., Manaka H., Kato T., 1998, Hyperglycerma is a factor for an increase in serum ceruloplasm in type 2 diabetes. *Diabetes Care*; 21: 1525-1528.
 48. Basaga H.S., 1990, Biochemical aspects of free radicals. *Biochem Cell Biol.*; 68: 989-998.
 49. Poli G., 1993, Liver damage due tofree radicals. *British Med Bulletin*; 49: 604-620.
 50. Rangan U., Bulkley G.B., 1993. Prostpects for treatment of free radical-mediated tissue injury. *Br Med Bull*; 49 (3); 700-18.
 51. Sözmen E.Y., Sözmen B., Delen Y., Onat T., 2001, Catalase/superoxide dismutase (SOD) and catalase/paraaxonase (PON) ratios may implicate poor glycemic control. *Arch Med Res*; 32(4): 283-7.
 52. Taysi S., Gul M., San R.A., Akçay F., Bakan N., 2002, Oxidant/antioxidant status in serum of patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Chem Lab Med.*; 40: 684-688.

53. Taysi S., Kocer I., Memisogulları R., Kiziltunc A., 2002, Serum oxidant/antioxidant status in patients with Behcet's disease. *Ann Clin Lab Sci.*; 32(4):377-82.
54. Taysi S., Polat F., Gul M., San RA, Bakan E, 2002, Lipid peroxidation, some extracellular antioxidants, and antioxidant enzymes in serum of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology International*; 21 (5): 200-204.
55. Habif S., Turgan N., Mutaf I., et al, 1997, Plasma catalase, glutathione peroxidase and selenium levels in adult diabetic patients. *Tr J Med Sci.*; 27: 139-141.
56. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. 1989, Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods in Enzymology* Vol. 186: 1-17.
57. Michiels C., Raes M., Toussaint O., Remacle J., 1994. Importance of Se-glutathion peroxidase, caralase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxgative stres. *Free Radic Biol Med.*;17(3): 235-48.
58. Metin S., Gökmen S.S., Ayhan M.S., Aygıt A.C., Gülen Ş., 2002, Streptozotocin ile diyabet oluşturulmuş ratlarda doku arginaz aktivitesi ve ornitin düzeyindeki değişiklikler. *Türk Biyokimya Dergisi*; Cilt: 27, Sayı: 4, Sayfa: 129-134.
59. Wohaieb S.A., Godin D.V., 1987, Alterations in free radical tissue-defense mechanisms in streptozocin-induced diabets in rat. Effect of insulin treatment. *Diabetes*; 36 (9:1014–17).
60. Halliwell B., Borish E.T., Pryor W.A. 1987, Oxygen radicals and human disease. *Annals of internal Med.*; 107: 526-45.
61. Fridovich I., 1983, Superoxide radical : an endogenues toxicant. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*; 23: 239-57.
62. Wollf S.P., 1993, Diabetes Mellitus and fre radicals, *Br Med Bull*; 49, 642-652.
63. Godin D.V., Wohaieb S.A., Garnett M.E., Goumeniouk, AD., 1998, Antioxidant enzyme alterations in experimental and clinical diabetes, *Molecular and Cellular Biochemistry*; 84, 223-231.
64. Marklund S.L., Hagglof B., 1984, Plasma EC- superoxide dismutase activity in insulin-dependent diabetic children, *Clinica Chimica Acta*; 142, 299-305.
65. Hagglöf B., Marklund S.L., Holmgren G., 1983, CuZn Superoxide dismutase, Mn Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in lymphocytes and erythrocytes in insulin dependent diabetic children. *Acta Endocrinologica*; 102: 235-9.

66. Scribner K.A., Akana S.F., Walker C.D., Dalman M.F., 1993, Streptozotocin-diabetic rats exhibit facilitated adrenocorticotropin responses to acute stress, but normal sensitivity to feedback by corticosteroids, *Endocrinology*; 133, 2667-2674.
67. Scribner K.A., Walker C.D., Cascio C.S., Dallman M.F., 1991, Chronic streptozotocin diabetes in rats facilitates the acute stress response without altering pituitary or adrenal responsiveness to secretagogues, *Endocrinology*; 129, 99-108.
68. Birrell A.M., Heffernan S.J., Ansell A.D., McLennan S., Church D.K., Gillin A.G., Yue D.K., 2000, Functional and structural abnormalities in the nerves of type 1 diabetic baboons: aminoguanidine treatment does not improve nerve function, *Diabetologia*; 43, 110-116.
69. Sima A.A., Sugimoto K., 1999, Experimental diabetic neuropathy: an update, *Diabetologia*; 42, 773-788.
70. Packer L., 1993, The role of antioxidative treatment in diabetes mellitus, *Diabetologia*; 36, 1212-1213.
71. Mullarkey C.J., Edelstein D., Brownlee L., 1990, Free radical generation by early glycation products: a mechanism for accelerated atherogenesis in diabetes, *Biochemical and Biophysical Research Communications*; 173, 932-939.
72. Baynes J.W., 1991, Role of oxidative stress in the development of complications in diabetes *Diabetes*; 40, 405-412.
73. Strain J.J., 1991, Disturbances of micronutrient and antioxidant status in diabetes, *Proc Nutr Soc.*, 50, 591-604.
74. McLennan S.V., Heffernan S., Wright L., Rae C., Fisher E., Yue D.K., Turtle J.R., 1991, Changes in hepatic glutathione metabolism in diabetes, *Diabetes*; 40, 344-348.
75. Jennings P.B., Chirico S., Jones A.F., Lunee J., Barnett A.H., 1987, Vitamin C metabolites and microangiopathy in diabetes mellitus. *Diabetes Research*; 6, 151-154.
76. Velazquez B., Winocour P.H., Kesteven P., Alberti K.G.M.M., Lakey M.F., 1991, Relation of lipid peroxides to macrovascular disease in type 2 diabetes, *Diabetic Medicine*; 8, 752-758.
77. MacRury S.M., Gordon D., Wilson R., Bradley H., Gemmel C.G., Paterson J.R., Rumley A.G., MacCuish A.C., 1993, A comparison of different methods of assessing free radical diabetes and peripheral vascular disease, *Diabetic Medicine*; 10, 331-335.

78. Ganong W.F., 1995, Tıbbi Fizyoloji.16. baskı. Editör: Doğan. A. Barış Kitabevi, İstanbul. Bölüm; 19, 365-386.
79. Brownlee M., 2001, Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. Nature; 414(6865), 813-820.
80. Green K., Brand M.D., Murphy M.P., 2004, Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. Diabetes 53 (Supplement 1); 110-118.
81. Altan N., Yiğit Ş., Elmalı E., Malhatun E., Rota S., Kılıç N., 1997, Effects of the Sulfonylurea Glyburide on Superoxide Dismutase in Streptozotocine-Induced Diabetic Rat Muscle. General Pharmacology; 28(5), 795-96.
82. Gillery P., Monboisse J.C., Maquart F.X., Borel J.P. 1988, Glycation of proteins as a source of superoxide. Diabetes; 14(1), 1114-1120.
83. Bierhaus A., Chevion S., Chevion M., Hofmann M., Quehenberger P., Illmer T., Luther T., Berentshtein E., Tritschler H., Muller M., 1997, Advanced glycation end product-induced activation of NF-kappaB is suppressed by alpha-lipoic acid in cultured endothelial cells. Diabetes;46(9):1481-90
84. Eidland A., Sebekova K., Schinzel R., 2001, Advanced glycation end products and the progressive course of renal disease. American Journal of Kidney Diseases; 38 (4), S100-106.
85. Giardino I., Edelstein D., Brownlee M., 1996, Bcl-2 expression or antioxidants prevent hyperglycemia-induced formation of intracellular advanced glycation end products in bovine endothelial cells. The Journal of Clinical Investigation; 97(6), 1422-1428.
86. Giardino I., Fard A.K., Hatchell D.L., Brownlee M., 1998, Amino guanidine inhibits reactive oxygen species formation, lipid peroxidation and oxidant-induced apoptosis. Diabetes; 47(7), 1114- 1120.
87. Soulis T., Cooper M.E., Sastra S., Thallas V., Panagiotopoulos S., Bjerrum O.J., Jerums G., 1997, Relative contributions of advanced glycation and nitric oxide synthase inhibition to amino guanidine- mediated renoprotection in diabetic rats. Diabetologia; 40(10), 1141-1151.
88. Chappey O., Dosquet C., Wautier M.P., Wautier J.L., 1997, Advanced glycation end products, oxidant stress and vascular lesions. European Journal of Clinical Investigation; 27(2), 97-108.

89. Koya D., King G.L., 1998, Protein kinase C activation and the development of diabetic complications. *Diabetes*; 47(6), 859-66.
90. Way K.J., Katai N., King G.L., 2001, Protein kinase C and the development of diabetic vascular complications. *Diabetic Medicine*; 18 (12), 945-959.
91. Maritim A.C., Sanders R.A., Watkins III J.B., 2003, Diabetes, oxidative stress and antioxidants: Review. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*; 17(1), 4-38.
92. Das K., Chainy G.B.N., 2001, Modulation of rat liver mitochondrial antioxidant defense system by thyroid hormone. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*; 1537(1), 1-13.
93. Cameron N.E., Cotter M.A., 1995, Neurovascular dysfunction in diabetic rats: potential contribution of autooxidation and free radicals examined using transition metal chelating agents. *Journal of Clinical Investigation*; 96(2), 1159-1163.
94. Cameron N.E., Cotter M.A., 1997, Metabolic and vascular factors in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Diabetes* 46 (Supplement 2); 31-37.
95. Greene D.A., Lattimer S.A., Sima A.A.F., 1987, Sorbitol, phosphoinositides and sodium-potassium-ATPase in the pathogenesis of diabetic complications. *The New England Journal of Medicine*; 316 (10), 599-606.
96. Greene D.A., Sima A.A.F., Alberts J.W., Pfeifer M.A., 1990, Diabetic neuropathy. In *Diabetes Mellitus Theory and Practice* (4th ed) Rifkin H, Porte D (Eds), Elsevier, New York, NY
97. Bukan N., Sancak B., Bilgihan A., Kosova F., Buğdaycı G., Altan N., 2004, The effects of the sulfonylurea glyburide on glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase activities in the heart tissue of streptozotocin-induced diabetic rat. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*; 26(7), 519-22.
98. Karasu Ç., Öztürk Y., Altan N., Yıldızoğlu N., İkizler C., Altan V.M., 1990, Thyroid Hormones Mediated Effect Of Insulin On Alloxan Diabetic Rat Atria. *General Pharmacology*; 21(5), 735- 740.
99. Kang S.S., Passen E., Ruggie E., Wong P.W.K., Sora H., 1993, Thermolabl defect of methylen tetrahydrofolate reductase in coronary artery disease. *Circulation*; 37: 47-53.
100. Serafinowicz A., Kukula T.C., Shaibani T., Baczowska J.S., Sadowska A., 2000, Homocysteine and lipid peroxidation products: important atherosclerosis risk factors in renal allograft recipients. *Transplantation Proceedings*; 32: 1367-1368.

101. Jamrozik K., 2001, Risk factors and lifestyle interventions. . In: Crawford M.H., DiMarco JP., Paulus W.J., editors. Cardiology 1st ed. USA. Elsevier Science Limited; p. 1.3.1-5
102. Bottcher M., Falk E., 1999, Pathology of the coronary arteries in smoker and nonsmokers. J Cardiovasc Risk; 6: 299-302.
103. Aebi H.,1984, Catalase. In vitro. Methods in Enzymology; 105:121-6.
104. Sun Y., Oberley L.W., Li Y.A, 1988, Simple method for clinical assay of superoxide dismutase. Clin Chem; 34: 497–500.
105. Placer Z.A., Cushmann L.L., Johnson B.C., 1966, Estimation of products of lipid peroxidation in biochemical systems. Anal Biochem; 16, 359-364.
106. Erel O., 2004, Apr., A novel autamated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. Clin Biochem; 37 (4): 277-85.
107. Koracevich D., Koracevich G., Djordjevic V., Andrejevic S., Cosic V., 2001, Method for measurement of antioxidant activity in human fluids. J Clin Pathol.; 54 (5): 356-61.
108. Benzie I.F., Strain J.J., 1996, The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of ‘antioxidant power’ : the FRAP assay. Anal Biochem; 239: 70 -6.
109. Aycicek A., Iscan A., Erel O.,Akcali M, Selek S., 2006, Total antioxidant/oxidant status in meningism and meningitis. Pediatr Neurol.; 35 (6): 382-6.
110. Erel O., 2004 Feb., A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. Clin Biochem37 (2): 112-9.
111. Jacobs N.J., Microbial oxidation of protoporphyrinogen, an intermediate in heme and chlorophyll biosynthesis. Van Denmark P.J., 1980, Arch Biochem Biophys; 88: 250-55.
112. Koditschek L.K., Umbreit W.W., 1969, Alpha-glycerophosphate oxidase in streptococcus faecium F24: J Bacteriol; 98:1063-68.
113. Trinder P., 1969, Determination of blood glucose using an oxidase-peroxidase system with a non-carcinogenic chromogen. Ann Clin Biochem; 6: 24-27.
114. Allain C.C., Poon L.S., Chan C.S.G., Richmond W., 1974, Enzymatic determination of total serum cholasterol. Clin Chem.; 20: 470-75.
115. Ehret W.,Heil W., Schmitt Y., Topfer G., Wisser H., Zawta B., et al. 1999, Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples; WHO/DIL/LAB/ Rev.2/26pp.

116. Mikl Y., 1999, A homoneous assay for the selective measument of LDL cholesterol in serum. Enzymatic selective protection method. Clin Lab.; 45:398-401.
117. Sushil K.J., Mc Coy B., Wise R., 1994, Vitamin E and hpercoagulability of neonatal blood. Clin Chem Acta; 225; 97-103.
118. Comstock G.W., Alberg A.J., Helzlouer K.J., 1993, Reported effects of long-term freezer storage on concentrations of retinol, β - carotene, and α - tocopherol in serum or plasma summarized. Clin Chem.; 39/6; 1075-78.
119. Sundrehagen E., Axis Biochemicals ASA. Enzymatic essay for homocysteine and a kit therefor. EP 623174/US5631127.
120. Guillaume M., Björntorp P., 1996, Obesity in Children, Environmental and Genetic Aspects, Horm. Metab. Res.; 28; 573-81.
121. Yan G.T., Hao X.H., Xue H. and Lu Y.P. 2002, Establishment of a highly sensitive leptin RIA and detection of increased leptin levels in hyperlipidemia and pregnancy. J immunoassay Immunochem; 23: 317.
122. Nedrebo B.G., Ericsson U.B., Nygard O., 1998, Plasma total homocysteine levels in hyperthyroid and hyperthyroid patients. Metabolism; 47: 89-93.
123. Demirbas B., Özkaya M., Cakal E., 2004, Plasma homocystein levels in hyperthyroid patients. Endocr J.; 51: 121-125.
124. Hofman M.A., 1997, Hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction in IDDM. Diabetes Care; 20; 1880-6.
125. Boushey C.J., Beresford S.A., Omenn G.S., Motulsky A.G., 1995, A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. Jama; 274: 1049-1057.
126. Robillon J.F., Canivet B., Candito M., Sadoul J.L., Jullien D., Morand P., Chambon P., Freychet P., 1994, Type 1 diabetes mellitus and homocysteine. Diabetes Metab; 20: 494-6.
127. Wijekoon E.P., Brosnan M.E., Brosnan J.T., 2007, Homocysteine metabolism in diabetes. Biochemical Society Transactions Volume 35, part 5.
128. Schwartz M.W., Seeley R.J., 1997, Neuroendocrine responses to starvation and weight loss. N Engl J Med; 336: 1802-1811.

129. Harwey J., Mc Kenna F., Herson P.S., Spanswick D., Ashford L.J., 1997, Leptin activates ATP-sensitive potassium channels in rat insulin-secreting cell line, CRI-G1. *J physiol*; 504: 527-535.
130. Itateyama E., Chiba S., Skata T., Yoshimatsu H., 2003 Hypothalamic neuronal histamine in genetically obese animals: its implication of leptin action in the brain. *Exp Biol (Maywood)*; 228 (10): 1132-1137.
131. Mantzoros C.S., Moschos S., Avramopoulos I., Kaklamani V., Liolios E., Doulgerakis D.E., Griveas I., Katsilambros N., Flier J.S., 1997, Leptin concentrations in relation to body mass index and the tumor necrosis factor- α system in humans. *J Clin Endocrinol Metab.*; 82: 3408-3413.
132. McGregor G.P., Desaga J.F., Ehlenz K., Fischer A., Heese F., Hegele A., Lammer C., Peiser C., 1996, Radioimmunological measurement of leptin in plasma of obese and diabetic human subjects. *Endocrinology*; 137: 1501-1504.
133. Wing R.R., Koeske R., Epstein L.H., Nowalk M.P., Gooding W., Becker D., 1987, Long-term effects of modest weight loss in type 2 diabetic patients. *Arch Intern Med*; 147: 1749- 1753.
134. Çömlekçi A., Biberoglu S., Kozan O., Bahçeci O., Ergene O., Kinay O., Güner O., 1997, Correlation between serum lipoprotein(a) and angiographic coronary artery disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Intern Med*; 242: 449-454.
135. Giugliano D., Ceriello A. 1996, Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes care*; 19: 257-267.
136. Griesmacher A, Kindhauser M, Andert SE, Schreiner W, Tomo C, Kroebl P, Pietschmann P, Prager R, Schnack C, Schernthaner G, Mueller M. 1995, Enhanced Serum levels of thiobarbituric acid - reactive substances in diabetes mellitus. *Am J Med.*; 98: 469-475.
137. Sinclair A.J., 1939, Free radical mechanisms and vascular complication of diabetes mellitus. *Diabetes Rev.*; 1; 2: 7-10
138. Nerup J., Mandrup-Poulsen T., Helwuist S., Andersen H.U., Pociot F., Reimers J.I., Cuartero B.G., Karlsen A.E., Bjerre U., Lorenzen T., 1994, On the pathogenesis of IDDM. *Diabetologia*; 37: 82-89.
139. Asayama K., Nakane T., Uchida N., Dobashi K., Nakazawa S., 1994, Serum antioxidant status in streptozotocin-induced diabetic rat. *Horm Metab Res*; 26: 313-315.
140. Diplock A.T., 1991, Antioxidant nutrients and disease prevention: An overview. *Am J*

Clin Nutr.; 53:1895-1935.

141. Saxena A.K., Srivastava P., Kale R.K., Baquer N.Z., 1993, Impaired antioxidant status in diabetic rat liver. *Biochem Pharmacol* ; 45(3): 539-42.
142. Nath N., Chari S.N., Rathi A.B., 1987, Superoxide dismutase in polymorphonuclear leukocytes. *Diabetes*; 33: 586-9.
143. Subrahmanyam V., Mantha Marion P., Jawahar K., Kailash P., 1993, Antioxidant enzymes in hypercholesterolemia and effects of vitamin E in Rabbits. *Atherosclerosis*; 101:135-144.
144. Güzel S., Seven A., Civelek S., Salman S., Satman İ., Burçak G., 2001 *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*; 32 (4).
145. Kaji H., Kurasaki M., Ito K., 1985, Increased lipoperoxide value and glutathione peroxidase activity in blood plasma of type 2 diabetic women. *Klin Wochenschr*; 63: 765-8.
146. Merzouk S., Hichami A., Madani S., Merzouk H., Berrouguet A.Y., Prost J., Moutairou K., Chabane-Sari N., Khan N.A., 2003, Antioxidant status and levels of different vitamins determined by high performance liquid chromatograph diabetic subjects with multiple complications. *Gen Physiol Biophys*; 22(1): 15-27.
147. Wu J, Han X, Zhou J. 1999, Relationship between nitric oxide and oxygen free radicals in different duration of diabetes in rat kidney. *Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao*; 24(6): 543-5.
148. Tiedge M., Lortz S., Drinkgern J., Lenzen S., 1997, Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidative defense status of insulin-producing cells. *Diabetes*; 46, 1733-1740.
149. Tiedge M., Lortz S., Munday R., Lenzen S., 1998, Complementary action of antioxidant enzyme in the protection of bioengineered insulin-producing RIN m5f cells against the toxicity of reactive oxygen species. *Diabetes*; 47(10), 1578-1585.
150. Türkalp I., Şahinoğlu S., Özkazanç D., 2003, *Kartal Eğitim Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi Cilt XIV* : 1.
151. Shin M-J., Park E., Lee J.H., Chung N., 2006, Relationship between insulin resistance and lipid peroxidation and antioxidant vitamins in hypercholesterolemic patients. *Ann Nutr Metab*. 50: 115- 120.
152. Dosoo D.K., Rana S.V., Offe-Amoyaw K., Tete-Donkor D., and Maddy S.Q., 2001, Total

- antioxidant status in non-insulin-dependent diabetes mellitus patients in Ghana. *West Afric J Med*. 20: 184-180.
153. Johnston J.D. and Miller N.J., 1998, Temporal changes of serum antioxidant concentrations in a patient with diabetic ketoacidosis. *Clin Chem*. 44:2217-2219.
 154. Nuttall S.L., Dunne F., Kendall M.J., Martin U., 1999, Ageindependent oxidative stress in elderly patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *QJM*. 92:33-38.
 155. Jandric-Balen M., Bozikov V., Bozikov J., Metelko Z., Jandric I. and Romic Z., 2004, Impact of glycemic control on antioxidant enzyme activity in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetol Croatica*. 33:131-135.
 156. Rani H.S, Madhavi G., Rao V.R., Sahay B.K., Jyothy A., 2005, Risk factors for coronary heart disease in type 2 diabetes mellitus. *Indian J Clin Biochem*. 20:75-80.
 157. Lapolla A., Piarulli F., Sartore G., Ceriello A., Ragazzi E., Reitano R., Baccarin L., Laverda B., Fedele D., 2007, Advanced glycation end products and antioxidant status in type 2 diabetic patients with and without peripheral artery disease. *Diabet Care*. 30:670-676.
 158. Valabhji J., McColl A.J., Richmond W., Schachter M., Rubens M.B., Elkeles R.S., 2001, Total Antioxidant Status and Coronary Artery Calcification in Type 1 Diabetes. *Diabet Care*. 24:1608- 1613.
 159. Varvarovská J., Racek J., Stozický F., Soucek J., Trefil L., Pomaha R., 2003, Parameters of oxidative stress in children with type 1 diabetes mellitus and their relatives. *J Diab Complicat*. 7-10.

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Elazığ’ da doğdum. İlk, orta ve liseyi Elazığ, Batman, K.Maraş ve Ş. Urfa illerinde tamamladım. 1997 yılında Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümüne girip, 2001 yılında bu bölümden mezun oldum. 2002 (Şubat)-2004 (Temmuz) yılında Fırat Üniversitesi, Kimya Bölümünde Yüksek Lisansımı tamamladım. 2004 (Eylül) yılında doktora eğitimime başladım. Evli ve bir çocuk annesiyim.

Hatice AKKAYA

ELAZIĞ–2009