

Diyabetik Nefropati, Retinopati ve Nöropatili Hastalarda Oksidatif Stres ve Serum Prolidaz Aktivitesi İlişkisi

The Relationship Between Oxidative Stress and Serum Prolidase Activity in Patients with Diabetic Nephropathy, Retinopathy and Neuropathy

Tuğba YILMAZ¹, Dilek TÜZÜN², Murat ŞAHİN², Metin KILINÇ³

¹ Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, Türkiye

² Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, Türkiye

³ Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, Türkiye

Özet

Amaç: Diyabetin mikrovasküler komplikasyonlarında oksidatif stresin belirteçlerini incelemek, prolidazın oksidatif stres göstergeleriyle ilişkisini incelemek, prolidazın prediktif değer olarak kullanılabilirliğini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmaya 112 tip 2 Diyabetes Mellitusu (DM) olan hasta ve 44 sağlıklı kontrol birey alındı. Hastaların ayrıntılı anamnezleri alınıp fizik muayeneleri yapıldı. Açlık plazma glukozu (APG), hemoglobin A1c (HbA1C), kreatinin, spot idrarda mikrototal protein düzeyleri bakıldı. Göz dibi muayenesi ile diyabetik retinopati varlığı araştırıldı. Nöropati varlığı açısından nörolojik muayeneleri yapıldı. Ayrıca tüm hastaların sabah alınan kan örneğinde oksidatif stres için katalaz (CAT), superoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), malondialdehit (MDA), nitrik oksit (NO), serum prolidaz aktivitesi ölçümü yapıldı.

Bulgular: Tip 2 DM olan hastaların 80'inde (%71.42) komplikasyon mevcut iken 41'inde (%28.58) komplikasyon yoktu. Açlık plazma glukozu diyabetik komplikasyonu olan grupta diğer gruplara anlamlı olarak yüksekti ($p<0.001$). HbA1c düzeyi diyabetik komplikasyonu olan grupta diğer gruplara anlamlı olarak yüksekti ($p<0.001$). Antioksidan stres belirteçleri (CAT, SOD, GPx) diyabetik komplikasyonlu grupta diğer gruplara göre daha düşük olarak saptanırken oksidatif stres belirteçleri (MDA, NO) komplikasyonlu grupta diğer gruplara göre daha yüksek olarak saptandı (p sırasıyla $p<0.001$, $p<0.001$). Prolidaz düzeyi diyabetik komplikasyonlu grupta diğer gruplara göre daha yüksek olarak saptandı ($p<0.001$).

Sonuç: Çalışmamızda serum prolidaz aktivitesinin ve oksidatif stres parametrelerinin, komplikasyonu olan diyabetik hastalarda, sağlıklı kontrol ve diyabetes mellituslu olup komplikasyonu olmayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı arttığı ve prolidaz ile oksidatif stres belirteçleri arasında pozitif korelasyon olduğu bulunması nedeniyle prolidaz aktivitesinin diyabetik hastalarda mikrokompplikasyonları belirlemede prediktif değeri olacağını düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Diyabet, Komplikasyon, Oksidatif stres, Prolidaz

Abstract

Objective: To examine the markers of oxidative stress in microvascular complications of diabetes, to examine the relationship of prolidase with oxidative stress indicators, to investigate the usability of prolidase as a predictive value.

Materials and Methods: 112 patients with type 2 diabetes mellitus (DM) and 44 healthy controls were included in the study. Detailed anamnesis of the patients was taken and physical examinations were performed. Fasting plasma glucose (FPG), hemoglobin A1c (HbA1C), creatinine, micrototal protein levels in spot urine were measured. Presence of diabetic retinopathy was investigated by fundus examination. Neurological examinations were performed for the presence of neuropathy. In addition, catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO), serum prolidase activities were measured for oxidative stress in the morning blood sample of all patients.

Results: Eighty (71.42%) patients with type 2 DM had complications, while 41 (28.58%) had no complications. Fasting plasma glucose was significantly higher in the diabetic complication group than in the other groups ($p<0.001$). The HbA1c level was significantly higher in the diabetic complication group than in the other groups ($p<0.001$). While antioxidant stress markers (CAT, SOD, GPx) were found to be lower in the diabetic complication group than in the other groups, oxidative stress markers (MDA, NO) were found to be higher in the complicated group than in the other groups ($p<0.001$, $p<0.001$, respectively). Prolidase level was found to be higher in the group with diabetic complications compared to the other groups ($p<0.001$).

Conclusion: We think that prolidase activity will have a predictive value in determining microcomplications in diabetic patients, since serum prolidase activity and oxidative stress parameters were found to be statistically significantly increased in diabetic patients with complications compared to healthy controls and those with diabetes mellitus but without complications, and there was a positive correlation between prolidase and oxidative stress markers.

Keywords: Complication, Diabetes, Oxidative stress, Prolidase

Yazışma Adresi: Tuğba YILMAZ, Kayseri Yolu, Avşar Kampüsü Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, 46100, Kahramanmaraş, Türkiye

Telefon: 05378333543 **e-mail:** tugba_yilmaz86@hotmail.com

ORCID No (Sırasıyla): 0000-0002-8975-2166, 0000-0002-6693-4928, 0000-0001-7969-9157, 0000-0002-1623-0201

Geliş tarihi: 03.03.2022

Kabul tarihi: 05.05.2022

DOI: 10.17517/ksutfd.1079948

GİRİŞ

Diyabetes mellitus (DM), insülin eksikliği ya da insülin etkisindeki defektler nedeniyle organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamadığı, sürekli tıbbi bakım gerektiren, kronik bir metabolizma hastalığıdır. Diyabetin akut ve kronik komplikasyonları mevcuttur. Kronik komplikasyonlar mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlardır. Mikrovasküler komplikasyonlar nefropati, retinopati, nöropati olarak sınıflandırılırken makrovasküler komplikasyonlar ise koroner arter hastalığı, periferik arter hastalıkları, serebrovasküler hastalıklar olarak sınıflandırılabilir (1).

Oksidatif stres, oksijene ihtiyaç duyan tüm canlı sistemlerde çeşitli basamaklarda meydana gelen doğal bir süreçtir. Bazı özel mekanizmalarla biyolojik sistemler tarafından bu stres kontrol altına alınır. Ancak kontrol mekanizmaları yetersiz olduğunda oksidatif hasar oluşur. Prooksidan ve antioksidanlar arasında bir denge vardır. Oksidatif stres bu dengenin prooksidan maddeler lehine kaymasıdır (2). Kardiyovasküler hastalıklar, ateroskleroz, nörolojik hastalıklar, astım, amfizem, hepatit, siroz, kronik böbrek yetmezliği, DM, romatoid artrit gibi romatolojik hastalıklar, preeklampsi, yaşlanma, kanser dahil olmak üzere birçok hastalık oksidatif stres ile ilişkilidir (3).

Kollajen, ekstraselüler matrixin (ESM) ana proteinlerinden biridir. ESM turnoverinin artışı; ateroskleroz ve endotelial disfonksiyonun progresyon patofizyolojisinde rol oynayabilir. Kollajen biyosentezindeki enzimlerden biri de prolidazdır. Prolidaz bir iminodipeptidazdır. Kollajen sentezi ve hücre büyümesinde rol alır. Kollajen yıkımının son basamağı prolidaz aracılığı ile olmaktadır. Prolidaz kollajen sentezi ve hücre gelişiminde rol alan prolinin dönüşümünde önemli rol oynamaktadır (4). Ek olarak oksidatif stres seviyeleri direkt olarak kollajen üretiminin inhibisyonu ile ilişkilidir. Prolidazın bu aşamada önemli bir hedef enzim olduğu düşünülmektedir (5).

Kronik hastalıklarda oksidatif stres ve serum prolidaz aktivitesinin ilişkisi bildirilmiştir. Bununla birlikte, DM veya diyabetik nefropatili (DN) hastalarda serum prolidaz aktivitesi ile ilgili sınırlı ve çelişkili bilgiler mevcuttur (6-8).

Diyabetik retinopati ile prolidaz aktivitesinin ilişkisi bizim bilgilerimize göre incelenmemiştir. Bu nedenle biz de bu çalışmada tip 2 DM in mikrovasküler komplikasyonları olan nefropati, retinopati ve nöropatide, prolidaz ve oksidatif stres belirteçlerinin ilişkisini incelemeyi ve DM' nin mikrovasküler komplikasyonlarında serum prolidaz aktivitesinin prediktif olarak kullanılıp kullanılmayacağını aydınlatmayı planladık.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı'nda prospektif olarak yapıldı. Çalışma öncesinde tüm hastalara çalışma ayrıntılarını içeren bilgilendirilmiş onam formu verildi ve rızası alınan hastalar çalışmaya dahil edildi. Çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun 07.05.2015 tarihli ve 12 sayılı kararı ile onaylandı.

Çalışma Dizayını ve Hastalar

Çalışmamıza, 2015-2016 yılları arasında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı poliklinik ve kliniğinde takip ve tedavisi yapılan hastalar dahil edildi. Çalışmaya tip 2 DM olan 112 hasta ve sağlıklı olan 44 birey alındı. Tip 2 (Diyabetes Mellitus) DM olan hastalar mikrovasküler komplikasyonlar yönünden de araştırıldı. Diyabetik nöropati tanısı, hastanın klinik semptom ve nörolojik muayenesi ile konuldu. Diyabetik retinopati tanısı için göz dibi muayenesi yapıldı. Diyabetik nefropati tanısı için spot idrar protein/kreatinin oranı ölçüldü. 300 mg/dl'nin üstü nefropati olarak kabul edildi.

Çalışmaya alınan bütün bireylerin: Açlık plazma glukozu (APG), kreatinin, Alanin transaminaz (ALT), düşük dansiteli lipoprotein (LDL), trigliserid (TG), HbA1c, tiroid stimüle edici hormon (TSH), serbest tiroksin (sT4), C-Reaktif Protein (CRP), Süperoksit Dismutaz (SOD), Glutasyon Peroksidaz (GPx), Katalaz (CAT), Malondialdehit (MDA), Nitrik Oksit (NO), Prolidaz seviyeleri ölçüldü.

Çalışmaya Kabul ve Dışlama Kriterleri

Çalışmaya 18 yaş üstü, tip 2 DM tanılı hastalar ve sağlıklı kontrol grubu dahil edildi. Karaciğer yetmezliği, hiperkortizolemi, hiperprolaktinemi, tiroid disfonksiyonu olanlar, gebeler ve laktasyon döneminde olan kadınlar çalışmaya dahil edilmedi. Ayrıca sigara kullananlar çalışma dışı bırakıldı. Kontrol grup: herhangi bir ek hastalığı olmayan 18 yaş üstü kadın ve erkek bireylerden oluşmaktaydı. Komplikasyonu olmayan tip 2 DM'li grup: diyabetin mikrovasküler komplikasyonlarından nefropati, retinopati ya da nöropatili olmayan, ek hastalığı bulunmayan tip 2 DM'li hastalardan oluşmaktaydı. Komplikasyonu olan tip 2 DM'li grup: diyabetin mikrovasküler komplikasyonlarından nefropati, retinopati, nöropatiden bir ya da daha fazlasına sahip tip 2 DM'li hastalardan oluşmaktaydı.

Laboratuvar Analiz

Hastaların glukoz, HbA1C, üre, kreatinin, total kolesterol, LDL, trigliserit, alanin aminotransferaz, TSH,

sT4, spot idrarda mikrototal protein düzeylerini içeren biyokimyasal ve hormonal parametreleri rutin laboratuvar yöntemleri ile çalışıldı. Ayrıca tüm hastaların sabah alınan kan örneğinde oksidatif stress için katalaz, SOD, GPx, MDA, NO, serum prolidaz aktivitesi tayini yapıldı.

Kreatin, alanin aminotransferaz, lipid profili (LDL, TG) biyokimya analizörü ve ticari kit (Siemens, Advia 1800 Chemistry System, Germany) kullanılarak spektrofotometrik metodla ölçüldü. HbA1c, High liquid pressure chromatography (HPLC) cihazı ve ticari kit (BioRad D-10 Hemoglobin Testing System, France) kullanılarak HPLC metoduyla ölçüldü. TSH, sT4 hormon analizörü ve ticari kit (Siemens, Advia Centaur XP System, Germany) kullanılarak kemiluminesans metodla Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarında ölçüldü.

İstatistik Analiz

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 16.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların ortalama standart sapma ($\text{ort} \pm \text{std}$) yanısıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında ANOVA testi, niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare testi kullanıldı. Parametreler arasındaki ilişkilerin incelenmesinde ise pearson korelasyon testi kullanıldı. P değeri ≤ 0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya 112 tip 2 DM olan hasta ve 44 sağlıklı birey alındı. Sağlıklı kontrol ve diyabetik hastalar yaş ve cinsiyet açısından karşılaştırıldıklarında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi. Tip 2 DM olan hastaların 80'inde (%71.42) komplikasyon mevcut iken 41'inde (%28.58) komplikasyon yoktu. Diyabetik komplikasyonu olan hastaların 32'sinde sadece diyabetik nöropati, 13'ünde sadece diyabetik nefropati, 3'ünde sadece diyabetik retinopati, 21'inde nefropati ve retinopati birlikteliği, 3'ünde nöropati ve nefropati birlikteliği, 1'inde retinopati ve nefropati birlikteliği, 1'inde retinopati, nöropati ve nefropati birlikteliği mevcuttu.

Gruplar biyokimyasal veriler açısından karşılaştırıldığında; Açlık plazma glukozu, HbA1c, kreatinin, CRP, spot idrarda protein ve trigliserid düzeyi, diyabetik komplikasyonu olan grupta diğer gruplara anlamlı olarak yüksekti ($p < 0.001$). LDL düzeyi; diyabetik komplikasyonu olan grupta diğer gruplara anlamlı olarak yüksekti ($p = 0.018$). TSH ve sT4 düzeyi açısından gruplar karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık izlenmedi (**Tablo 1**).

Gruplar oksidatif stres belirteçleri açısından karşılaştırıldığında; antioksidan stres belirteçleri (CAT, SOD, GPx) diyabetik komplikasyonlu grupta diğer gruplara göre daha düşük olarak saptanırken oksidatif stres belirteçleri (MDA, NO) komplikasyonlu grupta diğer gruplara göre daha yüksek olarak saptandı (sırasıyla $p < 0.001$, $p < 0.001$) Gruplar prolidaz açısından karşılaştırıldığında; prolidaz düzeyi komplikasyonlu grupta diğer gruplara göre daha yüksek olarak saptandı ($p < 0.001$) (**Tablo 2**), (**Şekil 1**).

Diyabetik komplikasyonlara göre oksidatif stres belirteçleri açısından alt grup analizi yapıldığında; katalaz seviyesi; nefropati ve nöropatisi birlikte olan grupta en düşük saptandı. Süperoksit dismutaz seviyesi; nefropati ve nöropatisi birlikte olan grupta en düşük saptandı. Glutasyon Peroksidaz Seviyesi; retinopati, nefropati ve nöropatisi birlikte olan grupta en düşük saptandı. Nitrik oksit seviyesi; nefropati ve nöropatisi birlikte olan grupta en yüksek saptandı. Malondialdehit seviyesi; retinopati ve nöropatisi birlikte olan grupta en yüksek saptandı. Diyabetik komplikasyonlara göre prolidaz açısından alt grup analizi yapıldığında; prolidaz seviyesi, diyabetik nöropati ve nefropatisi birlikte olan hastalarda en yüksek düzeyde bulundu (**Şekil 2**).

Prolidaz ile HbA1C arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı ($r = 0.484$; $p < 0.001$). Prolidaz ile APG arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı ($r = 0.301$; $p < 0.001$). Prolidaz ile CRP arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı ($r = 0.621$; $p < 0.001$). Katalaz ile Açlık plazma glukozu arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ($r = -0.477$; $p < 0.001$). HbA1c arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ($r = -0.579$; $p < 0.001$). Kreatinin arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ($r = -0.328$; $p = 0.025$). Spot protein arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ($r = -0.179$; $p = 0.025$). Süperoksit Dismutaz ile; Açlık plazma glukozu arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ($r = -0.413$; $p < 0.001$). HbA1c arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ($r = -0.528$; $p < 0.001$). Kreatinin arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ($r = -0.325$; $p < 0.001$). Glutasyon Peroksidaz ile; Açlık plazma glukozu arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ($r = -0.411$; $p < 0.001$). HbA1c arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ($r = -0.505$; $p < 0.001$). Kreatinin arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ($r = -0.337$; $p < 0.001$). Spot protein arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ($r = -0.202$; $p = 0.025$).

Kreatinin arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ($r = -0.325$; $p < 0.001$). Glutasyon Peroksidaz ile; Açlık plazma glukozu arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ($r = -0.411$; $p < 0.001$). HbA1c arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ($r = -0.505$; $p < 0.001$). Kreatinin arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ($r = -0.337$; $p < 0.001$). Spot protein arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ($r = -0.202$; $p = 0.025$).

Tablo 1. Grupların biyokimyasal verilere göre karşılaştırılması

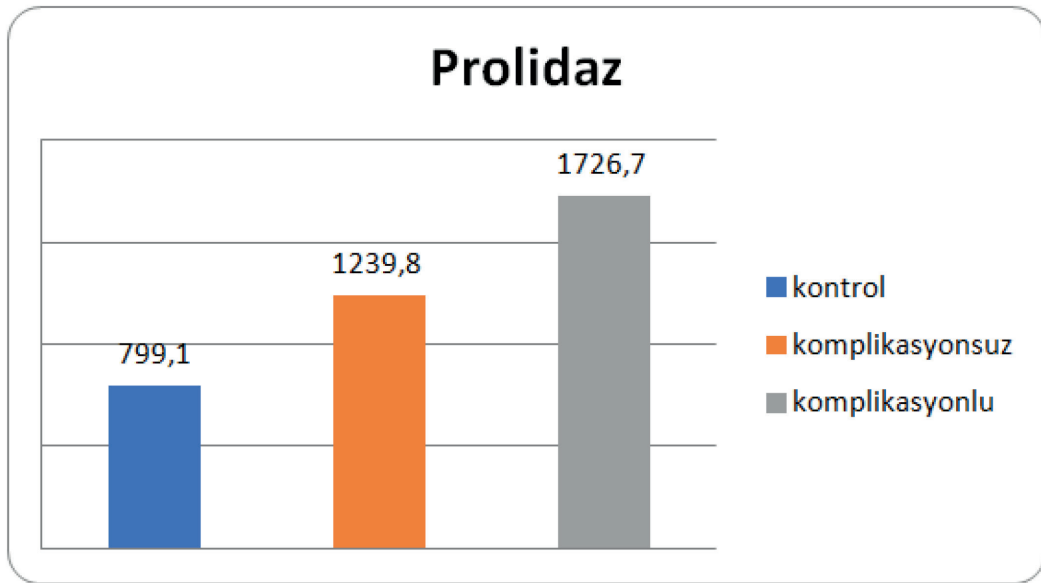
	Parametreler	Ortalama±Standart Sapma	p
Sağlıklı Kontrol	CRP	3.30± 0.19	<0.001
Dm Komp Yok		5.23±2.91	
Dm Komp Var		21.36±12.89	
Sağlıklı Kontrol	APG(mg/dl)	81.57±6.34	<0.001
Dm Komp Yok		150.50±36.40	
Dm Komp Var		164.10±56.21	
Sağlıklı Kontrol	Kreatinin(mg/dl)	0.72±.14	<0.001
Dm Komp Yok		0.72±.22	
Dm Komp Var		1.27±.96	
Sağlıklı Kontrol	ALT(U/L)	18.27±7.79	0.004
Dm Komp Yok		27.09±10.24	
Dm Komp Var		26.17±16.91	
Sağlıklı Kontrol	LDL(mg/dl)	99.33±32.64	0.018
Dm Komp Yok		115.19±33.15	
Dm Komp Var		117.07±28.75	
Sağlıklı Kontrol	TG(mg/dl)	91.93±51.44	<0.001
Dm Komp Yok		165.815±87.65	
Dm Komp Var		187.56±93.82	
Sağlıklı Kontrol	TSH(mUI/mL)	1.99±1.07	0.501
Dm Komp Yok		2.06±.67	
Dm Komp Var		1.88±.62	
Sağlıklı Kontrol	sT4(mUI/mL)	1.17±.12	0.775
Dm Komp Yok		1.20±.14	
Dm Komp Var		1.18±.15	
Sağlıklı Kontrol	HBA1C %	5.19±.37	<0.001
Dm Komp Yok		9.18±2.14	
Dm Komp Var		9.72±2.14	
Sağlıklı Kontrol	SpotPro (mg/dl)	67.83±26.96	<0.001
Dm Komp Yok		103.05±37.82	
Dm Komp Var		*1461.57±259.70	

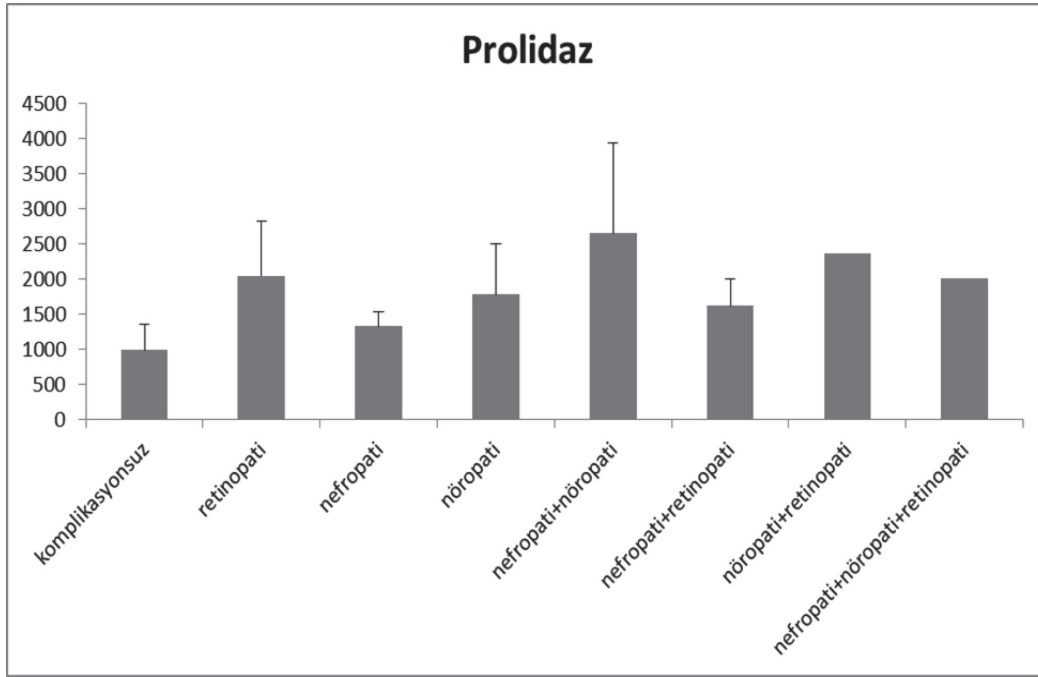
DM komp yok: Diyabetik komplikasyonu olmayan hasta grubu; DM komp var: Diyabetik komplikasyonu olan hasta grubu; CRP: C-Reaktif Protein; APG: Açlık plazma glukoz; ALT: Alanin aminotransferaz; LDL: Düşük dansiteli lipoprotein; TG: Trigliserid; TSH: Tiroid stimüle edici hormon; sT4, Serbest tiroksin; SpotPro; Spot idrarda protein. *Standart hata kullanılmıştır.

Tablo 2. Grupların oksidatif stres belirteçleri, prolidaz açısından karşılaştırılması

	Parametreler	n	Ortalama±Standart Sapma	p
Sağlıklı Kontrol	CAT	44	300.49±56.56	<0.001
Dm Komp Yok		32	181.12±56.03	
Dm Komp Var		80	66.82±75.91	
Sağlıklı Kontrol	SOD	44	95.55±40.76	<0.001
Dm Komp Yok		32	51.74±24.03	
Dm Komp Var		80	30.70±25.84	
Sağlıklı Kontrol	GPX	44	1.50±0.35	<0.001
Dm Komp Yok		32	1.30±0.28	
Dm Komp Var		80	0.65±0.27	
Sağlıklı Kontrol	NO	44	1.37±0.13	<0.001
Dm Komp Yok		32	1.64±0.06	
Dm Komp Var		80	2.57±0.93	
Sağlıklı Kontrol	MDA	44	20.31±5.55	<0.001
Dm Komp Yok		32	33.86±3.21	
Dm Komp Var		80	38.80±3.05	
Sağlıklı Kontrol	Prolidaz	44	799.11±261.46	<0.001
Dm Komp Yok		32	1300.88±292.16	
Dm Komp Var		80	1647.52±663.89	

DM komp yok: Diyabetik komplikasyonu olmayan hasta grubu; DM komp var: Diyabetik komplikasyonu olan hasta grubu; SOD Süperoksit Dismutaz, GPx: Glutasyon Peroksidaz, CAT: Katalaz, MDA: Malondialdehit, NO: Nitrik Oksit

**Şekil 1.** Grupların prolidaz açısından karşılaştırılması



Şekil 2. Prolidaz alt grup analizi

Nitrik Oksit ile; Açlık plazma glukozu arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir ilişki saptandı ($r=-0.309$; $p<0.001$). HbA1c arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir ilişki saptandı ($r=+0.462$; $p<0.001$). Kreatinin arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir ilişki saptandı ($r=+0.202$; $p<0.001$). Malondialdehit ile; Açlık plazma glukozu arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir ilişki saptandı ($r=+0.529$; $p<0.001$). HbA1c arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir ilişki saptandı ($r=+0.648$; $p<0.001$). Kreatinin arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir ilişki saptandı ($r=+0.292$; $p<0.001$).

TARTIŞMA

Prolidaz, dipeptitlerin karboksil terminal pozisyonundaki prolin veya hidroksprolini ayıran bir sitozolik egzopeptidazdır (9). Kalp, beyin, böbrek, bağırsak mukozası, rahim ve timus, gibi çeşitli organlarda ve plazmada bulunur. Prolidaz aktivitesinin böbrek, bağırsak mukozası ve eritrositlerde nispeten daha yüksek olduğu gösterilmiştir; karaciğer ve plazmada daha düşük bulunmuştur(10). Embriyonik gelişme, yara iyileşmesi, inflamasyon, karsinogenez, anjiyogenez, hücre göçü ve hücre farklılaşması gibi fizyolojik ve patolojik süreçlerde önemli rolleri vardır (11). Glomerüler bazal membranın en önemli bileşenlerinden biri tip 4 kollajendir. Prolidaz, prolin içeren ve çoğunlukla hidroksprolin ile zenginleştirilmiş olan tip 4 kollajenin turnoverında önemli bir rol oynamaktadır (12). Bazı klinik çalışmalarda prolidaz aktivitesinin arttığı bildirilmiş (13-15), bazılarında ise azaldığı bildirilmiştir (7,16-18).

Bununla birlikte, DM veya DN'li hastalarda serum prolidaz aktivitesi ile ilgili sınırlı ve çelişkili bilgiler mevcuttur (7,8,16). Diyabetik retinopati ile prolidaz aktivitesinin ilişkisi bizim bilgilerimize göre incelenmemiştir. Bu nedenle biz de bu çalışmada tip 2 DM nin mikrovasküler komplikasyonları olan nefropati, retinopati ve nöropatide, prolidaz ve oksidatif stres belirteçlerinin ilişkisini incelemeyi amaçladık.

Sayın ve arkadaşları, çalışmalarında tip 2 diyabetik nöropatik hastalarda prolidaz aktivitesi ile NO, MDA ve total antioksidan seviye (TAS) seviyeleri arasındaki ilişkileri incelemişlerdir. Diyabetik nöropati hastalarının serum prolidaz aktivitesi ve TAS düzeylerini sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak düşük, serum NO düzeyleri ve MDA düzeylerini ise diyabetik nöropati hastalarında kontrollerden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca prolidaz aktivitesi ile NO ve MDA düzeyleri arasında negatif korelasyon bulmuşlardır (19).Uzar ve arkadaşları diyabetik hastalarda yaptıkları çalışmalarında, serum prolidaz aktivitesini diyabetik nöropatilerde kontrol grubu ile karşılaştırdıklarında belirgin olarak yüksek bulmuşlardır. Bu çalışmada diyabetik hastalarda nöropati olsun ya da olmasın oksidatif stresin arttığı gösterilmiştir (8) Bizim çalışmamızda da prolidazın komplikasyonlarda, sağlıklı kontrol ve diyabetes mellituslu olup komplikasyonu olmayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı arttığı bulunmuştur. Ayrıca prolidaz aktivitesi, diyabetik nöropatisi olan diyabetiklerde komplikasyonu olmayan diyabetik hastalara göre daha yüksek bulunmuştur. Prolidaz ile antioksidan stres belirteçleri (CAT, SOD, GPx) arasında

istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon saptanırken oksidatif stres belirteçleri (MDA ve NO) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır.

Literatüre göre nefropatili hastalarda glomeruler bazal membran kalınlaşması ile mezengiyal artış meydana gelmektedir ve bunlar hastalığın ilerlemesiyle daha da belirginleşmektedir. Bunun nedeni olarak da bu dokularda kollajenin fazlaca birikmesi gösterilmektedir (20). Lijima ve arkadaşları ile Yagame ve arkadaşlarının ayrı ayrı yaptıkları çalışmalarda tip IV kollajenin üriner atılımının normoalbuminürik ve/veya sağlıklılarla karşılaştırıldığında mikroalbuminürik diyabetli hastalarda anlamlı olarak arttığını tespit etmişlerdir (21,22). Xu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada serum tip IV kollajen seviyesinin mikroalbuminürik diyabetlilerde artmış olduğu gösterilmiştir (23). Yine birçok çalışmada Tip III veya tip IV kollajenin serum konsantrasyonlarının insülin bağımlı olmayan diyabet ile ilişkili erken nefropatide prognostik bir belirteç olarak kullanılabilirliği gösterilmiştir (24-29). Ellis ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada tip I diyabetli hastalarda tip III kollajenin üriner atılımının diyabetik mikroalbuminüriklerde arttığını ve diyabetik nefropatide gösterge olarak kullanılabilirliğini göstermişlerdir (30).

Sabuncu ve arkadaşları diyabetik hastalarda yaptıkları çalışmada, mikroalbuminürik grupta prolidaz aktivitesini normoalbuminürik olanlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulmuşlardır. Prolidaz enzim aktivitesindeki bu yükseklik, mikroalbuminürik hastalarda kollajenin birikimiyle birlikte mikroanjiopatik patolojilerin ortaya çıktığını ve kollajenin metabolizmasının değişikliğe uğrayıp, yıkılıp yeniden sentez edilmesinin hızlandığını göstermektedir (31). Bizim çalışmamızda da diyabetik nefropatili olan hastalarda prolidaz düzeyi diyabetik ve komplikasyonu olmayan hastalara göre daha yüksek saptanmıştır. Prolidaz enzimi kollajen proteininin hem yıkımında hem de yeniden sentez edilebilmesi için prolin amino asitinin temin edilmesinde esas enzim olması itibarıyla artmış bulunmaktadır. Bununla birlikte prolidaz enzim aktivitesinin diyabet ve onun nefropati veya diğer komplikasyonlarının erken tanı ve klinik seyirlerinin takibi açısından rutin bir parametre olarak kullanılabilirliğini ortaya koyabilmek için daha kapsamlı ve detaylı ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Diyabetes mellitus, Amerika Birleşik Devletleri'nde de 20-74 yaş arasında körlüğün önlenabilir ve/veya tedavi edilebilir en önemli nedenlerinden biridir. Diyabetik hastaların kör olma olasılığı diyabetik olmayanlara göre 25 kat fazla olduğu için retinopati önemlidir. Tip 1 DM hastalarının hastalığın ikinci dekadında neredeyse tamamında, Tip 2 diyabetiklerinde %60'dan fazlasında

retinopati vardır (32). Literatürde diyabetik retinopati ve prolidaz arasındaki ilişki ile ilgili yayın bulunmamaktadır. Biz diğer mikrovasküler komplikasyonlar gibi retinopati ile de prolidaz arasındaki ilişkisini araştırdık. Sonuç olarak prolidaz aktivitesi, diyabetik nefropatili olan diyabetiklerde komplikasyonu olmayan diyabetik hastalara göre daha yüksek bulundu.

Oksidatif stresin oksidanlardaki bir artış ve / veya antioksidan kapasitesinde bir azalma olarak tanımlanabileceği çok iyi bilinmektedir ve çeşitli oksidanlar ve antioksidanlar oksidatif durum üzerine ilave etkilere sahiptir (33). Verma ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarında göre tip 2 DM de diyabetik nefropatiye ve son dönem böbrek yetmezliğine ilerledikçe oksidatif stres markerlerinin arttığını gözlemlemişlerdir. Ayrıca Tip 2 DM, diyabetik nefropati ve SDBY'de kronik yüksek kan şekeri ile oksidatif marker ile anlamlı korelasyon gösterdiğini belirtmişlerdir. Yine kreatin ve oksidatif stres markeri ile korelasyon saptamışlardır (34). Bizim çalışmamızda da kreatinin ile oksidan parametrelerle pozitif, antioksidan parametrelerle negatif korelasyon izlendi.

Kronik yüksek kan şekeri, Tip 2 DM'li hastalarda kronik oksidatif stresin neden olduğu glikoz toksisitesine yol açar (35,36). Susztak ve arkadaşları Tip 2DM ve diyabetik nefropatili hastalarda, oksijen serbest radikallerinin artan glikoz artışı ile arttığını ve bunun oksidatif strese neden olduğunu belirtmişlerdir (37). Bazı çalışmalarda da; artmış kreatinin düzeyinin Tip 2 DM'li hastalarda oksidatif stres yaratan artmış glukoz ile korele olduğunu gösterilmiştir (38).

Çalışmamızda da diyabetik hastalarda sağlıklı kontrol gruba göre oksidan parametreler artmış olarak bulundu. Bunların aksine diyabetik ve diyabetik komplikasyonu olan hastalarda sağlıklı kontrole ve komplikasyonu olmayan diyabetiklere göre antioksidan değerleri azalmış olarak izlendi. Glukoz ile oksidan parametrelerle pozitif, antioksidan parametrelerle negatif korelasyon izlendi.

Nitrik oksit, non kollajen metabolizmasının regulasyonunda rol oynadığı gösterilmiştir. Yüksek NO konsantrasyonları artmış kollajen biyosentezi ve modifikasyonu ile ilişkilidir. Prolidaz ve onun NO ile ilişkisi kollajen turnover düzenlenmesinde önemli rol oynuyor olabilir (39).

Aslan ve arkadaşları, NO ve ürünlerinin diyabetik nöropatili bireylerde belirgin olarak yüksek olduğu göstermişlerdir. Diyabet ve periferik sinirlerdeki metabolik değişiklikler NO üretiminde düşmeye ve sınırlara kan akımında azalmaya yol açıyor diye yorumlamışlardır (40). Bizim çalışmamızda da diyabetik hastalarda ve komplikasyonu olan diyabetik hastalarda NO yüksek düzeyde bulundu.

Sonuç olarak çalışmamızda serum prolidaz aktivitesinin ve oksidatif stres parametrelerinin, komplikasyonu olan diyabetik hastalarda, sağlıklı kontrol ve DM olup komplikasyonu olmayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı arttığı ve prolidaz ile oksidatif stres belirteçleri arasında pozitif korelasyon olduğu bulunması nedeniyle prolidaz aktivitesinin diyabetik hastalarda mikrokompikasyonları belirlemede prediktif değeri olacağını düşünmekteyiz. Ancak altta yatan mekanizmaların ve diyabetik komplikasyonu gelişiminde serum prolidaz aktivitesinin önemini anlamak için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çıkar Çatışması ve Finansman Beyanı: Bu çalışmada çıkar çatışması yoktur ve finansman desteği alınmamıştır.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti: Yazarlar makaleye eşit katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

Etik Onam: Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun 07.05.2015 tarihli ve 12 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

KAYNAKLAR

- Satman I, Yılmaz T, Sengul A, Salman S, Salman F, Uygur S, et al. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the Turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes Care*. 2002;25:1551-1556.
- Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am. J. Med.* 1991;91:31-38
- Pham-huy LA, He H, Pham-huy C. Free radicals, antioksidants in disease and health. *Int J Biomed Sci.* 2008;4(2):89-96.
- Hardenbergh PH, Munley MT, Bentel GC. Cardiac perfusion changes in patients treated for breast cancer with radiation therapy and doxorubicin: preliminary results. *Int J Rad Oncol Biol Phys.* 2001;49:1023-1028.
- Huang Y, Mironova M, M.F. Lopes-Virella M.F. Oxidized LDL stimulates matrix metalloproteinase-1 expression in human vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19(11):2640-2647.
- Eren MA, Torun AN, Tabur S, Ulas T, Demir M, Sabuncu T, et al. Serum prolidase activity in diabetic foot ulcers. *Acta Diabetol.* 2013;50:423-427.
- Altindag O, Erel O, Aksoy N, Selek S, Celik H, Karaoglanoglu M. Increased oxidative stress and its relation with collagen metabolism in knee osteoarthritis. *Rheumatol Int.* 2007;27:339-344.
- Uzar E, Tamam Y, Evliyaoglu O, Tuzcu A, Beyaz C, Acar A, et al. Serum prolidase activity and oxidative status in patients with diabetic neuropathy. *Neurol Sci.* 2012;32:875-880.
- Zanaboni G, Dyne KM, Rossi A. Prolidase deficiency: biochemical study of erythrocyte and skin fibroblast prolidase activity in Italian patients. *Haematologica.* 1994;79:13-18.
- Hui KS, Lajtha A. Prolidase activity in brain: Comparison with other organs. *J Neurochem.* 1978;30:321-327.
- McRae PA, Porter BE. The perineuronal net component of the extracellular matrix in plasticity and epilepsy. *Neurochem Int.* 2012;61:963-972.
- Levidiotis V, PowerDA. New insights into the molecular biology of the glomerular filtration barrier and associated disease. *Nephrology (Carlton).* 2005;10(2):157-166.
- Brosset B, Myara I, Fabre M, Lemonnier A. Plasma prolidase and prolinase activity in alcoholic liver disease. *Clin Chim Acta.* 1988;175:291-295.
- Myara I, Marcon P, Lemonnier A, Chatelier B, Mangeot M. Determination of prolinase activity in plasma. *Clin. Biochem.* 1985;18:220-223.
- Demirbag R, Yildiz A, Gur M, Yilmaz R, Elci K, Aksoy N. Serum prolidase activity in patients with hypertension and its relation with left ventricular hypertrophy. *Clin. Biochem.* 2007;40:1020-1025.
- Erbagci AB, Araz M, Erbagci A, Tarakcioglu M, Namiduru ES. Serum prolidase activity as a marker of osteoporosis in type 2 diabetes mellitus. *Clin Biochem.* 2002;35:263-268.
- Evrenkaya TR, Atasoyu EM, Kara M, Unver S, Gultepe M. The role of prolidase activity in the diagnosis of uremic bone disease. *Ren Fail.* 2006;28:271-274.
- Verma AK, Chandra S, Singh RG, Singh TB, Srivastava S, Srivastava R. Serum prolidase activity and oxidative stress in diabetic nephropathy and end stage renal disease: a correlative study with glucose and creatinine. *Biochem Res Int.* 2014;2014:291458.
- Sayın R, Aslan M, Kucukoglu ME, Luleci A, Atmaca M, Esen R et al. Serum prolidase enzyme activity and oxidative stress levels in patients with diabetic neuropathy. *Endocrine.* 2014;47:146-151.
- Myara I, Charpentier C, Lemonnier A. Optimal conditions for prolidase assay by proline colorimetric determination: Application to imminodipeptiduria. *Clin Chim Acta.* 1982;125:193-205.
- Iijima T, Suzuki S, Sekizuka K. Follow-up study on urinary type IV collagen in patients with early stage diabetic nephropathy. *J Clin Lab Anal.* 1998;12(6):378-382.
- Yagame M, Suzuki D, Jinde K. Significance of urinary type IV collagen in patients with diabetic nephropathy using a highly sensitive one-step sandwich enzyme immunoassay. *J Clin Lab Anal.* 1997;11(2):110-116.
- Xu X, Wu Z, Zhou Q. The role of determining the levels of serum kollagen type IV in diagnosing early diabetic nephropathy. *Ren Fail.* 2002;24:747-753.
- Matsumoto E, Matsumoto G, Bessho H, Kikuoka H, Nanjo K. Serum concentrations of intact type IV collagen in diabetics. *J Diabetic Complication.* 1991;5:189-190.
- Hayashi Y, Makino H, Shikata K, Haramoto T, Yamasaki Y, Kumagai I, et al. Increased concentrations of the basement membrane component type IV collagen in sera and urine of diabetics. *J Diabetic Complication.* 1991;5:195-196.
- Hayashi Y, Makino H, Ota Z. Serum and urinary concentrations of type IV collagen and laminin as a marker of microangiopathy in diabetes. *Diabetic Med* 1992;9:366-370.
- Tomono S, Kawazu S, Kato N, Ohno T, Utsugi T, Murata K. Clinical implications of serum levels of basement membrane components in diabetic patients with and without albuminuria. *J Diabetic Complication.* 1991;5:193-194.
- Okazaki R, Matsuoka K, Atsumi Y, Maruyama K, Matsuki H, Okazaki I. Serum concentrations of basement membrane proteins in NIDDM as a prognostic marker for nephropathy. *Diabetic Res Clin Pract.* 1995;27: 39-49.
- Ishimura E, Nishizawa Y, Shoji S, Mori H. Serum type III, IV collagens and timp in patients with type II diabetes mellitus. *Life Sci.* 1996;58:1331-1333.

30. Ellis D, Forrest K, Erbey J, & Orchard T.J. Urinary measurement of transforming growth factor- β and type IV collagen as new markers of renal injury: application in diabetic nephropathy. *Clinical Chemistry*. 1998;44,5:950–956.
31. Sabuncu T, Boduroglu O, Eren MA, Torun AN, Aksoy N. The Value of Serum Prolidase Activity in Progression of Microalbuminuria in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus. *J Clin Lab Anal*. 2016;30(5):557-562.
32. Way JM, Kaul K, Chopra M, Kohner EM, Chibber R. Pathophysiology of diabetic retinopathy. *ISRN Ophthalmol*. 2013;2013:343560.
33. Wayner DD, Burton GW, Ingold KU, Barclay LR, Locke S.J. The relative contributions of vitamin E, urate, ascorbate and proteins to the total peroxyl radical-trapping antioxidant activity of human blood plasma. *Biochim. Biophys Acta*. 1987;924:408–419.
34. Verma AK, Chandra S, Singh RG, Singh TB, Srivastava S, Srivastava R. Serum prolidase activity and oxidative stress in diabetic nephropathy and end stage renal disease: a correlative study with glucose and creatinine. *Biochem Res Int*. 2014;2014:291458.
35. Shah S, Iqbal M, Karam J, Salifu M, McFarlane SI. Oxidative stress, glucose metabolism, and the prevention of type 2 diabetes: pathophysiological insights. *Antioxidants and Redox Signaling*. 2007;9:911–929.
36. Robertson RP, Harmon JS. Diabetes, glucose toxicity, and oxidative stress: a case of double jeopardy for the pancreatic islet β cell. *Free Radical Biology and Medicine* 2006;41(2):177–184.
37. Susztack K, Raff AC, Schiffer M, Böttinger EP. Glucose induced reactive oxygen species cause apoptosis of podocytes and podocyte depletion at the onset of diabetic nephropathy. *Diabetes*. 2006;55(1):225–233.
38. Monnier L, Mas E, Ginet C. Activation of oxidative stress by acute glucose fluctuations compared with sustained chronic hyperglycemia in patients with type 2 diabetes. *Journal of the American Medical Association*. 2006;295:1681–1687.
39. Surazynski A, Liu Y, Milyk W, Phang JM. Nitric oxide regulates prolidase activity by serine/threonine phosphorylation. *J. Cell. Biochem*. 2005;96:1086–1094.
40. Aslan M, Sabuncu TA, Kocyigit A, Celik H, Selek S. Relationship between total oxidant status and severity of diabetic nephropathy in type 2 diabetic patients. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2007;17:734–740.