

Tip 2 Diyabetik Hastalarda Tedavi Öncesi ve Tedavi Sonrası Oksidan ve Antioksidan Durum

İhsan HALİFEOĞLU^{a,1}, Fikret KARATAŞ², Ramis ÇOLAK³, Halit CANATAN⁴, Selda TELO¹

¹ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı,

² Fırat Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü,

³ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı,

⁴ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, ELAZIĞ

ÖZET

Kan glukoz düzeyinin yüksek seyretmesine bağlı olarak diyabetik vasküler komplikasyonlar ve lipid peroksidasyonunun meydana geldiği çok sayıda çalışmada rapor edilmektedir. Bu çalışmanın amacı; tip 2 diyabetiklerde (DM) tedavi öncesi ve tedavi sonrası oksidatif durumu gözlemektir. 30 tip 2 diyabetik hastadan (19 erkek ve 11 kadın) sağlanan örneklerde serum açlık kan glukoz, malondialdehit (MDA), likopen, antioksidan vitaminler (A, E ve C), trigliserit, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol düzeyleri, eritrositte HbA1C ile süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktiviteleri tespit edildi. Tedavi sonrası dönemde kan glukoz düzeyindeki düşüşüne paralel olarak HbA1C, MDA ve trigliserit düzeylerinde anlamlı bir azalma gözlenirken; CAT, SOD, vitamin A ve vitamin E düzeylerinde anlamlı bir artış görüldü. GSH-Px, vitamin C, likopen, total kolesterol, LDL-kolesterol ve HDL-kolesterol düzeylerinde önemli bir değişiklik saptanmadı. Bu sonuçlar göstermektedir ki tip 2 diyabetik kişilerde, hiperglisemiye bağlı olarak gelişen oksidatif durum, diyabetin tedavi edilmesi ile normale dönebilmektedir. Hastalıkları konusunda ilgili hekimler tarafından eğitilmiş diyabetiklerin tedavileri daha kolay olacak, bu durumun da diyabetiklerin yaşam kaliteleri olumlu etkileyerek hem kişiye hem de ülkeye getireceği mali külfeti azaltacaktır. ©2005, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi

Anahtar kelimeler: Tip 2 diabetes mellitus, antioksidanlar, lipidler, malondialdehit

ABSTRACT

Oxidant and Antioxidant Status in Type 2 Diabetic Patients Before and After Therapy

Several studies reported that diabetic vascular complications and lipid peroxidation occur due to high blood glucose levels. Aim of the present study was to evaluate antioxidant status in type 2 diabetics (DM) before and after therapy. Levels of serum fasting glucose, malondialdehyde (MDA), lycopene, antioxidant vitamins (A, E, and C), triglycerid, total cholesterol, HDL- cholesterol, LDL- cholesterol, as well as erythrocyte HbA1C levels along with enzyme activity levels of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) ve glutathion peroxidase (GSH-Px) were determined in thirty type 2 diabetic patients (19 man, 11 woman). After treatment period, reduction in blood glucose levels was accompanied with significant reduction in levels of HbA1C, MDA and triglycerid whereas there was significant increase in levels of CAT, SOD, vitamin A ve vitamin E. There was no statistically significant changes in levels of GSH-Px, vitamin C, lycopene, total cholesterol, HDL- cholesterol, LDL- cholesterol. Present results indicate that oxidative status developed due to hyperglycemia can be normalized by treatment. Treatment of diabetics who are educated by their attending doctors regarding their sickness will be much easier, this will affect the quality of diabetics positively, as a result financial burden on individuals and country will be minimized. ©2005, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi

Key words: Type 2 diabetes mellitus, antioxidants, lipids, malondialdehyde

Diyabetes mellitus (DM) insülinin tamamen veya kısmi eksikliğine bağlı olarak gelişen ve yüksek kan şekeri (hiperglisemi) ile karakterize bir hastalıktır. İnsülin eksikliğinin yanı sıra insüline karşı gelişen direnç, diabetes mellitus gelişiminde rol oynamakta ve karbohidrat, lipid ve protein metabolizmasını da etkilemektedir (1-2). Toplumun %5-10'unda görülen ve hastaların %80'inden fazlasının 40 yaş üstü olduğu tip 2 diyabette, insülin salgısı normal veya normalden fazla olduğu halde, glukozun organizmaya alınması sonucu artan plazma glukoz düzeylerine insülin cevabında azalma olmaktadır (3). Kontrol altına alınmamış ve yüksek seyreden kan şekeri uzun vadede çeşitli komplikasyonların ortaya çıkmasına yol açmaktadır. Şişmanlık (obesite) sıkça tip-

2 ile birlikte olup kalp-damar hastalıkları, böbrek yetmezliği ile sonuçlanan nefropati, sinir sistemi hastalığı nöropati, körlüğe kadar götüren retinopati ve ayak ülserleri gibi uzun vade komplikasyonları sonucu felç, gangren veya koroner hastalıkların meydana gelmesi riskini artırmaktadır (4).

Oksidatif stres, diyabet ve diyabetin daha sonraki komplikasyonlarının patogeneğinde önemli görev alır. Enzimatik olmayan glikozilasyon, otooksidatif glikozilasyon, sorbitol yolu aktivitesi, antioksidan savunma sistemindeki çeşitli değişiklikler, hipoksi gibi nedenler diyabette oksidatif stresi artıran mekanizmalardır. Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ihtiva eden atom veya

^a Yazışma Adresi: Dr. İhsan Halifeoğlu, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, 23119 ELAZIĞ
Tel: 0424 2333555 / Faks: 0424 2388660 e-mail: ihalifeoglu@yahoo.com

moleküllerdir. Bu tip maddeler, ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktiftirler. Diyabetik kişilerin plazma ve dokularında lipid peroksidasyon ürünlerinde artış meydana gelmektedir (5). Diyabette serbest radikal oluşumunun arttığı ve radikal bağlayıcı sistemlerde azalma olduğu ileri sürülerek, diyabetiklerin antioksidanlara daha çok ihtiyaç gösterebileceği savunulmuştur (6,7). Serbest radikallerin diyabette etkin olduğunun belirtilmesi indirekt olarak bu hastalığın oluşumunu önleme ve tedavisinde radikal oluşumunu önleyici antioksidan vitaminlerin kullanılabilmesi düşüncesinin oluşmasına sebep olmuştur (3,8). Diyabette, proteinlerin enzimatik olmayan yollarla glikoz bağlanması (glikozilasyon) ve bunun diyabette artmış olması, glikozillenen proteinlerin oksidasyonu sonucu serbest radikaller meydana gelmektedir (3,9).

Metabolik stres sonucunda diyabetin komplikasyonları oluşmakta ve bu metabolik stres oksidatif olayların artmasına neden olmaktadır. Bu durum diyabet komplikasyonlarının gelişimini kolaylaştıran yapısal ve fonksiyonel hasarı oluşturmaktadır. Normalde çok düşük olan HbA1C düzeyinin kan konsantrasyonu, yüksek kan glukozu ile seyreden kişilerde total hemoglobinin %12 kadarına veya daha üzerine çıkabilmektedir. Ortalama eritrosit ömrü 120 gün olduğundan HbA1C düzeyleri son dört aylık süreyi kapsayacak şekilde dolaşımdaki kan şekeri düzeyi için iyi bir gösterge olmaktadır (10-12).

Reaktif oksijen türevlerinin vücutta meydana getirdiği hasarları önlemek üzere vücutta görev yapan savunma sistemlerine antioksidan savunma sistemleri adı verilir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Antioksidanlar doğal (endojen) ve eksojen kaynaklı antioksidanlar veya enzimatik olan ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar (5). Enzim kaynaklı antioksidanlara örnek olarak mitokondrial sitokrom oksidaz, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon-S-transferaz, hidroperoksidaz sayılabilir. Enzim olmayanların başında lipid fazda yeralan α -tokoferol (E vitamini), β -karoten ve suda çözünenler ise askorbik asit (C vitamini), melatonin, sistein, seruloplazmin, hemoglobin, bilirubin v.b sayılabilir (5,9,13). Likopeninde son yıllarda antioksidan kapasiteye sahip olduğu rapor edilmektedir (14). Süperoksit radikalleri enzimatik dismutasyonla temizlenirken, antioksidan olarak bilinen fakat enzim olmayan bileşikler de organizmada oksijen radikallerinin temizlenmesini sağlarlar. Bu kimyasal bileşiklerin en önemlileri A, E ve C vitaminleridir (15). Diyabette serbest radikal oluşumunun arttığı ve radikal bağlayıcı sistemlerde azalma olduğu ileri sürülerek, diyabetiklerin antioksidanlara daha çok ihtiyaç gösterebileceği savunulmuştur (6,7).

Bu çalışmada, tip 2 diyabetik kişilerde tedavi öncesi ve tedavi sonrası lipid peroksidasyonu ölçütü olan malondialdehit (MDA) ile antioksidan enzim ve vitaminlerin düzeylerinin tespit edilerek mukayesesinin yapılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmanın materyali, Fırat üniversitesi Tıp Merkezi Diyabet polikliniğine başvuran ve başka herhangi bir hastalığı olmayan diyabet tedavisi alan 19 erkek ve 11 kadından oluşan toplam 30 kişiden sağlandı. Tedavi öncesi alınan numuneler hemen Fırat Tıp merkezi Biyokimya laboratuvarında gerekli işleme tabi tutuldu. Aynı hasta grubunun kan glukoz düzeyi

regüle edilinceye kadar takip edildi ve HbA1c %9'un altına düşen hastalar tedavi sonrası grup olarak çalışmaya dahil edildi. Tedavi uygulaması ve takibi diyabet polikliniğine yürütüldü. Çalışma grubunu oluşturan diyabetlilerin çeşitli özellikleri Tablo 1'de görülmektedir.

Örneklerin Hazırlanması: Çalışmada kontrol ve hasta grubundaki kişilerden 10-12 saat açlıktan sonra venöz açlık kanları alındı. 2 ml heparinli tam kan hemen alt üst edilerek hemoglobin ve % HbA1C düzeylerinin tespit edilmesinde kullanıldı. Geri kalan 6 ml kanın 0.5 ml'si SOD tayini için heparinli tüpe alındı ve serum fizyolojik ile 3 defa 3000 rpm'de 10'ar dakika çevrilerek yıkandı ve hemolizat elde edildi. GSH-Px tayini için ise 0.05 ml heparinli kan kullanıldı. Katalaz ölçümü için ise EDTA'lı hemolizat hazırlandı. Antikoagülan içermeyen tüpteki kandan elde edilen serum ise glukoz, lipid parametreleri (trigliserit, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol), malondialdehit (MDA), antioksidan vitaminlerin (A, C, E) ve likopen düzeylerinin tespitinde kullanıldı. C vitamini tayini aynı gün yapıldı. Likopen, A ve E vitaminlerinin tayini için ise ayrılan serum porsiyonlara bölünerek ağzı kapaklı ependorf tüplere alındı ve en geç üç gün içerisinde çalışılmak üzere -70°C'de derin dondurucuda bekletildi.

Biyokimyasal ölçümler: Kan şekeri ölçümü: Kan şekeri ölçümleri, Randox firması tarafından üretilen glukoz-oksidad yöntemine göre geliştirilen ticari kit (Randox Laboratories Ltd., U.K.) kullanılarak OLYMPUS AU-600 otoanalizöründe yapıldı. Bu yöntemde Glukoz, havadaki oksijen varlığında glukoz oksidaz (GOD) enzimi tarafından enzimatik oksidasyona uğrar ve glukoz glikonik asit ile hidrojen peroksit (H₂O₂) meydana gelir. Oluşan H₂O₂ ise peroksidaz (POD) enzimi ile 4-aminofenazon ve fenol ayıraçları kullanılarak kırmızı-menekşe renkli bir bileşik olan quinoneimine oluşur. Bu renkli bileşiğin konsantrasyonu kan glukoz konsantrasyonu ile orantılıdır. Glukoz-oksidad yöntemi 400 mg/dl glukoz düzeyine kadar lineerdir.

Trigliserit ölçümü: Trigliserit ölçümü, Randox firması tarafından üretilen GPO-PAP yöntemine göre geliştirilen ticari kit (Randox Laboratories Ltd., U.K.) kullanılarak OLYMPUS AU-600 otoanalizöründe yapıldı. Bu yöntemde göre triaçilgliseroller (trigliseritler) lipaz enzimi ile enzimatik hidrolize uğratılır. Peroksidaz enziminin katalitik etkisiyle hidrojen peroksit, 4-aminofenazondan ve 4-klorofenolden indikatör madde olan quinoneimine oluşturulur. Oluşan bu renkli bileşiğin konsantrasyonu 520 nm'de tayin edilir. Bu yöntemle 1000 mg/dl'ye kadar trigliserit konsantrasyonu tayin edilebilir.

Kolesterol ölçümü: Kolesterol ölçümleri, Randox firması tarafından üretilen enzimatik end point yöntemine göre geliştirilen ticari kit (Randox Laboratories Ltd., U.K.) kullanılarak OLYMPUS AU-600 otoanalizöründe yapıldı. Bu metoda göre kolesterol enzimatik olarak hidroliz ve oksidasyon reaksiyonlarından sonra tayin edilir. Fenol ve peroksidaz varlığında indikatör madde olan quinoneimine, 4-aminoantipyrin ve hidrojen peroksitten oluşturulur. Oluşan renkli bileşiğin konsantrasyonu 540 nm'de tayin edilir.

HDL-Kolesterol ölçümü: HDL-Kolesterol ölçümleri, Randox firması tarafından üretilen ve magnezyum iyonlarının varlığında fosfotungustik asit ile çöktürme yöntemine göre geliştirilen ticari kit (Randox Laboratories Ltd., U.K.) kullanılarak OLYMPUS AU-600 otoanalizöründe yapıldı.

LDL-Kolesreol ölçümü: LDL-Kolesterol ölçümleri, Randox firması tarafından üretilen düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (LDL) izoelektrik noktasında (pH 5.04) heparin ile yüksek yoğunluklu lipoproteinlerin (HDL) çöktürülmesi yöntemine göre geliştirilen ticari kit (Randox Laboratories Ltd., U.K.) kullanılarak OLYMPUS AU-600 otoanalizöründe yapıldı. HDL çöktürüldükten sonra süpernetentta LDL fraksiyonu kalmakta ve bu sıvıdaki LDL-kolesterol konsantrasyonu enzimatik olarak tayin edilmektedir.

Glikolize hemoglobin (HbA1c) ve hemoglobin ölçümü: %HbA1c düzeyleri Roche (Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim, Germany) firmasının ticari kiti kullanılarak HITACHI-911 otoanalizörü ile tayin edildi. Kullanılan yöntem immunotürbidimetrik olup (Tina-quant), spesifik olarak sonuçlar elde edilmektedir. Bu yöntem ile %HbA1c düzeyi 4.8-6.0 normal kabul edilmekte ve 6.0'dan yukarı patolojik olarak değerlendirilmektedir. Hemoglobinin konsantrasyonları ise Drabkin yöntemi (16) kullanılarak ölçüldü.

MDA ölçümü: 0.3 mL serum örneği üzerine 0.5 M HClO₄'den 0.2 mL ilave edildi. Proteinlerin çöktürülmesinden sonra saf su ilave edilerek toplam hacim 1 mL'ye tamamlandı. Karışım 4500 devirde 5 dakika santrifüjlendikten sonra berrak kısmından 20 µL dikkatlice alınarak HPLC'de analizlendi. Technopak 10U C18 ters faz kolon (25 cm, 4.6 mm ID; 5µm particles) kullanıldı. Mobil faz 30 mmol KH₂PO₄ ve metanol karışımı (%65-%35, H₃PO₄ ile pH=4) olan ve akış hızı 1.5 ml/dk'ya ayarlanarak 254 nm'de HPLC'ye enjekte edildi. Değişik konsantrasyonlarda hazırlanmış olan stok 1,1,3,3-tetraetoksipropan (TEP) çözeltilerinin pik yükseklikleri ölçülerek çalışma grafiği çizildi. Çalışma grafiğinin doğru denklemi yardımıyla MDA miktarları belirlendi. Serum örnekleri 5 kat seyreltildiği için seyrelme katsayısı olan 5 ile çarpılarak MDA miktarları hesaplandı (17)

Eritrosit SOD ölçümü ve GSH-Px ölçümü: Randox firmasına ait ticari kitler (Randox Laboratories., Diamond Road, Crumlin, Co. Antrim, United Kingdom, BT29 4QY) kullanılarak her iki enzimin ölçümü yapıldı.

GSH-Px enzim aktivitesi ölçümü: Bu metod Paglia ve Valentine (18) tarafından geliştirilen yöntem esas alınmaktadır. Glutasyon peroksidad (GSH-Px), kumen peroksit (ROOH) varlığında indirgenmiş glutatyonun (GSH) yükseltgenmiş glutatyon (GSSG) dönüşümünü katalizler. Kümen peroksidin bulunduğu ortamda oluşan GSSG, glutasyon redüktaz (GR) ve NADPH yardımıyla GSH'a indirgenir. GSH-Px aktivitesi, NADPH'ın NADP⁺'ye yükselmesi sırasında absorbans farkının 340 nm'de okunması ile ölçülür.

SOD enzim aktivitesi ölçümü: Oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan süperoksit radikalleri dismutasyona uğratarak hidrojenperoksit ve moleküler oksijene dönüştürülür. Bu yöntemde, ksantin ve ksantin oksidaz kullanılarak oluşturulan süperoksit (O₂⁻) radikallerinin 2-[4-iyodofenil]-3-[4-nitrofenol]-5-feniltetrazolium klorür (p-iyodonitrozolium violet: INT) ile oluşturduğu kırmızı renkli formazon boyasının 505 nm dalga boyunda verdiği optik dansitenin okunması esas alınmaktadır. Örnekte bulunan SOD, süperoksit radikalini ortamdaki uzaklaştırarak formazon reaksiyonunu inhibe etmektedir. Sonuçta oluşan kırmızı renkteki azalmanın tespiti ile SOD aktivitesi ölçülmektedir. Kırmızı rengin şiddeti ile SOD aktivitesinin büyüklüğü arasında ters bir ilişki mevcuttur.

Eritrosit Katalaz ölçümü: Katalaz, katalitik aktivitesi ile hidrojen peroksidi suya ve moleküler oksijene çevirir. Katalaz

tayini için 240 nm dalga boyunda maksimum absorbans veren hidrojen peroksitin azalan absorbansı ölçülerek, katalaz aktivitesi hesaplandı (19).

Vitamin A, E ve likopen tayini: Derin dondurucudan alınan serum örnekleri çözüldükten sonra örneklerden 0.3'er ml bir tüplere alınarak üzerlerine 1 ml etanol ilave edilip proteinleri çöktürüldü. Daha sonra bunun üzerine 0.25 ml n-hekzan ilave edilerek vortekste karıştırıldı. Karışım 4000 devir/dk'da 3-4 dakika santrifüjlenerek üstteki hekzan fazı ayrılıp, her bir serum örneği için hekzanla ekstraksiyon işlemi en az iki defa tekrarlandı. Serum içindeki A ve E vitamininin tamamı hekzan fazına alınıp ayrılan hekzan fazı azot gazı altında kuruluğa kadar buharlaştırıldı (20). Daha sonra örnekler tekrar 0.2 ml metanolde çözülüp analize hazır hale getirilip ve HPLC'de (CECIL 1100 series Cambridge England) hareketli faz olarak metanol : asetonitril : kloroform (47:42:11) karışımı kullanıldı. Supelcosil LC-18 kolonunda (25 cm, 4.6 mm ID; 5µm particles) mobil fazın akış hızı 1 ml/dk olacak şekilde ayarlandı. Vitamin A (retinol) 326, vitamin E (a-tokoferol), 296 nm ve likopen ise 472 nm'lik dalga boylarında tayin edildi (21,22).

C Vitamini Tayini: Serumda C vitamini tayini için 0.15 ml serum üzerine proteinleri çöktürmek amacıyla 0.5 M perklorik asitten 0.15 ml ilave edilerek karıştırıcıda 1-2 dakika iyice karıştırıldı. Daha sonra üzerine toplam hacim 1.5 ml olacak şekilde 1.2 ml saf su ilave edilerek 4000 devirde 8 dk santrifüjlendi (21). Santrifüjlenen çözeltilerden üstteki süpernant HPLC'ye enjekte etmek için süzülerek ayrıldı. HPLC'de C-18 kolonunda, pH=4 olan fosfat tamponunu mobil faz olarak, 1 ml/dk akış hızına ayarlanıp 246 nm'de C vitamini (3.5 dk) pikleri alındı (24).

İstatistiksel analizler: Bu çalışmada sonuçlar aritmetik ortalama ± standart sapma olarak ifade edildi. İstatistiksel değerlendirmelerde SPSS-10 paket programı kullanıldı. Korelasyon testleri Pearson korelasyon testleri, tedavi öncesi ve tedavi sonrası gruplar arasındaki test için ise eşleşmiş (paired)-t testi kullanılarak yapıldı. p<0.05 değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Tablo 2 incelendiğinde görülmektedir ki; tedavi sonrası glukoz düzeyleri tedavi öncesine göre yaklaşık olarak %38, %HbA1c düzeyleri ise %20'lik istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmektedir (p<0.001).

Katalaz ve SOD düzeylerinde tedavi sonrası grupta artma tespit edildi ve bu artış sırası ile katalaz için %20 (p<0.005), SOD için de %81 (p<0.001) civarındadır. GSH-Px düzeylerinde ise anlamlı bir değişiklik gözlenmedi (p>0.05). Vitamin A ve vitamin E düzeylerindeki artış anlamlı görülmektedir. Tablo 2'den anlaşıldığı gibi vitamin A düzeyi tedavi sonrasındaki artış yaklaşık olarak %22 (p<0.007) ve vitamin E düzeyindeki artış ise %17 (p<0.022) civarındadır. Aynı kişilere ait likopen ve vitamin C düzeylerinde ise tedavi öncesi ve tedavi sonrası değerler arasında anlamlı bir değişiklik görülmemektedir (p>0.05). Tedavi sonrası trigliserit düzeyleri tedavi öncesine göre %15 (p<0.05) azalma gösterirken kolesterol düzeyindeki %7'lik azalma bir anlam ifade etmemektedir. HDL-kolesterol ve LDL-kolesterol düzeylerinde ise değişiklik gözlenmemektedir. Tablo 2'de de görüldüğü gibi tedavi öncesi ve tedavi sonrası hemoglobinin düzeyleri arasında bir değişiklik meydana gelmemiştir.

Tablo 1. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası grubu oluşturan diyabetli hastaların çeşitli özellikleri

Hasta sayısı (kişi)	30 (K:11, E:19)
Yaş (yıl)	53.38 ± 14.83
Boy (cm)	165.83 ± 9.3
Kilo (kg)	67.10 ± 7.12
Vücut kitle indeksi (kg/m ²)	24.5 ± 3.12
Diyabet yaşı (yıl)	12.83 ± 9.1
Komplikasyonu olan	14 (%47)
İnsülin kullanan	18 (%60)
Oral diabetik kullanan	4 (%13.3)
Herhangi bir ilaç almayan	8 (26.7)

Korelasyon analizlerinde baktığımızda; tedavi öncesi (TÖ) glukoz ile HbA1C arasında ileri derecede pozitif bir korelasyon vardır ($r=0.715$, $p=0.0001$). Bu korelasyon tedavi sonrası (TS) dönemde zayıflamaktadır ($r=0.330$, $p=0.075$). Tedavi öncesi MDA düzeyi ile glukoz ve likopen arasında görülen pozitif korelasyon ($r=0.388$, $p=0.034$) tedavi sonrasında görülmektedir. TÖ glikolize hemoglobinin (HbA1C) düzeyleri ile MDA arasında pozitif bir korelasyon mevcuttur ($r=0.401$, $p=0.028$). Tedavi sonrasında ise HbA1C ile MDA arasında anlamlı bir korelasyon görülmektedir ($r=0.170$, $p=0.369$). HbA1C düzeyleri ile LDL-kolesterol

düzeyleri arasında TÖ dönemde pozitif bir korelasyon varken bu korelasyona TS dönemde rastlanılmamaktadır ($r=0.24$, $p=0.901$). TÖ glukoz ile vitamin E arasında negatif bir korelasyon ($r=-0.499$, $p=0.005$) varken, TS dönemde bu korelasyon negatif olmasına rağmen zayıflamaktadır ($r=-0.235$, $p=0.211$). TÖ vitamin E ile MDA arasında negatif bir korelasyona ($r=-0.377$, $p=0.040$) ve TÖ vitamin E ile glukoz düzeylerinde görülen negatif korelasyona ($r=-0.499$, $p=0.005$) TS dönemde görülmektedir (Vitamin E-MDA $r=-0.189$, $p=0.318$ ve vitamin E-glukoz $r=-0.058$, $p=0.762$). TÖ dönemde CAT ile LDL-kolesterol arasında pozitif korelasyon ($r=0.530$, $p=0.003$) TS dönemde ortadan kalkmaktadır ($r=0.099$, $p=0.601$). TÖ dönemde SOD düzeyleri ile HDL-Kolesterol arasında pozitif bir korelasyon görülmektedir ($r=0.387$, $p=0.035$) ancak TS dönemde bu korelasyon negatif bir korelasyona dönüşmektedir ($r=-0.369$, $p=0.045$). TÖ dönemdeki vitamin A ile HDL-kolesterol arasında görülen pozitif korelasyona ($r=0.455$, $p=0.011$) TS dönemde zayıflamaktadır ($r=0.223$, $p=0.235$). TÖ dönemdeki trigliserit ile kolesterol arasında görülen güçlü korelasyon ($r=0.628$, $p=0.001$), TS dönemde de devam etmektedir ($r=0.600$, $p=0.001$). TÖ kolesterol ile LDL-kolesterol arasında ki pozitif korelasyon ($r=0.374$, $p=0.042$), TS dönemde daha da zayıflamaktadır ($r=0.230$, $p=0.210$).

Tablo 2. Tip 2 diyabetli kişilerde tedavi öncesi ve tedavi sonrası parametreler

Parametre	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	p değeri
Glukoz (mg/dl)	241.10 ± 41.96	149.43 ± 31.93	0.001
HbA _{1C} (%)	10.09 ± 1.98	8.11 ± 1.01	0.001
MDA (nmol/ml)	1.15 ± 0.46	0.89 ± 0.43	0.026
CAT (U/gHb)	78.07 ± 29.15	97.35 ± 19.60	0.005
SOD (U/gHb)	479.43 ± 129.44	867.52 ± 269.08	0.001
GSH-Px (U/gHb)	66.63 ± 8.49	68.52 ± 7.52	0.382
Likopen (ng/ml)	33.00 ± 9.65	29.43 ± 10.35	0.189
Vitamin A (µg/dl)	56.0 ± 18.0	72.0 ± 23.0	0.007
Vitamin E (µg/ml)	3.46 ± 1.18	4.17 ± 1.36	0.022
Vitamin C (µg/ml)	10.86 ± 4.03	11.82 ± 3.54	0.366
Trigliserid (mg/dl)	165.90 ± 78.63	140.70 ± 43.75	0.050
Kolesterol (mg/dl)	195.30 ± 50.70	180.80 ± 37.45	0.108
HDL-Kolesterol (mg/dl)	54.17 ± 16.21	56.67 ± 13.03	0.482
LDL-Kolesterol (mg/dl)	129.10 ± 34.20	130.23 ± 31.77	0.903
Hemoglobin (g/dl)	12.67 ± 1.41	12.71 ± 1.72	0.910

TARTIŞMA

Oksidatif stres ve onu izleyen doku hasarı sonucunda kronik hastalıklar ve hücre ölümü meydana gelmektedir (25). Farklı veriler içeren çalışmalar olsa da oksidatif stres tip 2 diyabetin etyolojisinde önemli rol oynar (26). Diyabette oksidatif stresin uzun süreli etkisinin vasküler komplikasyonlar ve insülin eksikliği üzerine etkisi hâlâ tartışılmaktadır. Hipergliseminin oksidatif hasarı teşvik edici etkisi üzerine içinde Schman fiber demiyelinizasyonu (27), glomerül lezyonlar (28) endotelial hücre hasarlarında önemli olan aterosklerotik plak oluşumu olan mikro- ve makroanjyopatik araştırmalar yapılmaktadır (29).

Bu çalışmamızda tip 2 diyabetik hastalarda; tedavi öncesi ve tedavi sonrası MDA, antioksidan enzim ve vitaminlerin konsantrasyonları ölçüldü ve karşılaştırıldı. Faure ve arkadaşları (30) ile Vantyghe ve arkadaşları (31) diabetes mellituslu yetişkinlerde düşük düzeyde metabolik dekompozisyon olsa bile MDA düzeyinin oksidatif stres sonucu arttığını rapor etmişlerdir (30,31). Seghrouchni ve arkadaşlarına (32) göre diabetik kişilerde TBARS düzeyi kontrole göre yüksek bulunmuştur. Aynı araştırmacılar insülin ile tedavi edildiği halde

diyabetik grubun TBARS düzeylerinin yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Aydın ve arkadaşları (26) diyabetik kişilerde, antidiyabetik ilaç kullanımından sonra da TBARS düzeyinin düşme göstermesine rağmen, kontrol grubuna göre yüksek seyrettiğini belirtmişlerdir. Bulgularımıza göre de tedavi sonrası dönemde MDA düzeyinin düştüğü görülmektedir. Buradan da oral antidiyabetik ilaç kullanan veya insülin enjeksiyonu sonucu glukoz düzeyi düşürülen kişilerde lipid peroksidasyonunun azalma gösterdiği anlaşılmaktadır. Yapılan bir çalışmada diyabetik kişilerde SOD ve GSH-Px düzeyleri kontrol grubundan daha yüksek bulunmuş ve insülin tedavisinden sonra ise SOD düzeyindeki artış devam ederken GSH-Px düzeyinde azalma meydana gelmiştir (32). TS dönemde SOD, GSH-Px ve CAT düzeylerinde kontrole göre belirgin düşme olduğu belirtilmektedir (26). Şekeroğlu ve arkadaşları (33) yaptıkları çalışmada diyetle tedavinin sonrasında diyabetik kişilerde kan şekeri normale döndüğünde serum MDA düzeyinde düşme, eritrosit SOD ve GSH-Px düzeylerinde ise artma olduğunu tespit etmişlerdir. Bizim çalışmalarımızda ise tedavi sonrasındaki dönemde TÖ döneme

göre eritrosit CAT ve SOD aktivitesinde artma gözlenirken GSH-Px düzeylerinde belirgin bir değişime görülmektedir.

Enzimatik olmayan antioksidan sistemlerin başında A, E ve C vitaminleri ile karotenoidler gelmektedir. Karotenoidler, konjuge çift bağ açısından oldukça zengindirler ve teorik olarak düzenli mono ve poli cis izomerleri oluşturabilmektedirler (34). Karotenoidler doğal renkli pigmentler olup sayıları 600'ün üzerindedir. Bunların yaklaşık olarak 24 kadarı insanlar tarafından gıdalar ile birlikte alınmaktadır (35,36). Bir karotenoid olan likopen, potansiyel bir antioksidan madde olup lipidleri, LDL-kolesterolü ve DNA'nın korunmasında serbest radikal temizleyicisi olarak görev yapmaktadır (35-40). Antioksidan savunma sistemlerinden olan antioksidan vitaminlerin (A, C ve E vitaminleri) miktarlarının tedavi öncesi dönemde azalmış olması, oksidatif reaksiyonlara verilen metabolik yanıtın göstergesidir. Tedavi sonrası dönemde bu antioksidan sistemlerdeki artış MDA düzeyinin azalmasına paralel olarak gerçekleşmektedir. Likopen düzeyinde ise anlamlı bir değişiklik görülmedi. Dolayısıyla bu konuda daha fazla çalışmalar yapılmasının gerekmektedir. Diyabetik hastaların diyetlerinde, başta antioksidan vitaminler olmak üzere bütün vitaminlerden günlük dozlarda bulunması, enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemlerinin daha iyi çalışabileceği düşüncesini güçlendirmektedir.

Sonuçlar

1. Kan şekeri düzeylerinin normal sınırlara yakın tutulması, antioksidan kapasiteyi artıracığından diyabete bağlı olarak gelişen diyabetik nöropati, kardiyovasküler hastalıklar, retinopati, nefropati, nefrotik sendrom gibi uzun dönemli komplikasyonların zararlı etkilerini azaltabilir ve önleyebilir.

KAYNAKLAR

1. Hasselbaink DM, Glatz JFC, Luiken JJFP, Roemen THM, Vusse GJV. Ketone bodies disturb fatty acid handling in isolated cardiomyocytes derived from control and diabetic rats. *Biochem J* 2003; 371: 753-760.
2. Abou-Seif MA, Youssef AA. Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients. *Clin Chim Acta* 2004; 346: 161-170
3. Cengiz M, Cengiz S. Tip 2 diyabetli hastalarda C vitamini uygulamasının eritrosit glutatyon ve HbA1C düzeyleri üzerine etkisi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi* 2000; 31: 211-215
4. Sacks DB. Carbohydrates. In: Burtis CA, Ashwood ER, Editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. Philadelphia. Saunders 1994; 928-1001
5. Akkuş, İ., Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza yayınları, Konya, (1995).
6. Cheesman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; 49:481-493
7. Langenstroer P, Pieper GM. Regulation of spontaneous EDRF rebase in diabetic rat aorta by oxygen free radical. *Am J Physiol* 1992; 263: 257-265
8. Ceriello A, Giugliano D, Quatraro A, Dello Russo P, Torello R. A preliminary note on inhibiting effect of *-tocopherol on protein glycation. *Diabet Metab* 1988; 14: 40-52

2. Diyet, diyabet tedavisinin vazgeçilmez bir parçası olup, medikal tedavi ile birlikte yürütülmelidir. Tip 2 diyabetlilerde bazen tedavinin tümünü de oluşturabilmektedir. Diyetle tedaviye diyabetik kişinin çok dikkatli olması gerekmektedir. Diyetle birlikte yeterli enzimatik olmayan antioksidanların (vitaminler) alınması, enzimatik savunma sistemlerine yardımcı olacak ve diyabetin komplikasyonlarının azaltılmasına yardımcı olacaktır.
3. Diyabetik kişilerin diyetin yanı sıra sigara içmemeleri, tansiyonu ve kan yağlarını normal değerlerde tutmaları, belirli bir egzersiz programı uygulamaları uzun süreli komplikasyonları önleyecek güçlü önlemlerdir.
4. Diyabetik kişinin son üç aylık kan şekeri göstergesi olarak HbA1c'nin %7,2'nin altında tutulması gerektiğinden, bu parametrenin iki ayda bir ölçülmesinin yararlı olacağı açıktır. Ancak bu çalışmaya katılan diyabetik kişilerin HbA1c düzeylerinin hedeflenen üst düzey olan %7,2'den yüksek olduğu tespit edildi.
5. HbA1c düzeylerinden anlaşıldığı gibi diyabetik kişilerin tedaviye yeteri kadar önem vermedikleri veya aksattıkları anlaşılmaktadır. Bu durumun önlenmesi için bu kişilerin eğitilmelerinin yararlı olacağı düşüncesindeyiz. Bunun için hekimlerin, dikkat edilmediği zaman hastanın uzun dönemde karşılaşılabileceği komplikasyonlar hakkında detaylı bilgi vermeleri büyük önem taşımaktadır.
6. Diyabetin tedavisi için toplum olarak bilgi sahibi olmak, tedaviye bilinçli yaklaşmak, diyabetik kişilerin yaşam kalitelerini olumlu etkileyecek ve kişiye dolayısıyla ülkeye getirecek mali külfeti azaltacaktır.

Açıklama Bu çalışmada, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) tarafından (Proje No: 601) desteklenmiştir.

9. Akgül E, İlhan N, İlhan N, Halifeoğlu İ. Tip II Diabetes mellitusta lipid peroksidasyonu ve eritrosit antioksidan enzim aktiviteleri. *Türk Biyokimya Dergisi* 1999; 3: 28-33
10. Davidson VL, Sittman DB. *Biyokimya*. Güner G (Çeviren). I. Baskı, İstanbul: Nobel, 2000
11. Akgül, E. Tip II diabetes mellituslu hastalarda oksidan ve antioksidan mekanizmaların incelenmesi. Uzmanlık Tezi. Elazığ: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim Dalı, 1996
12. Wolf SP, Dean RT. Glucose autoxidation and protein modification: The potential role of autoxidative glycosylation in diabetes *Biochem J* 1987; 245: 243-250
13. Granado F, Olmedilla B, Gil-Martinez E, Blanco I, Millan I, Rojas-Hidalgo E. Carotenoids, retinol and tocopherols in patients with insulin-dependent diabetes mellitus and their immediate relatives. *Clin Sci (Lond)* 1998; 94: 189-95
14. Rao VA, Agarwal S. Role of antioxidant lycopene in cancer and heart disease. *J Am Coll Nutr* 2000; 19: 563-569
15. Diplock AT. Antioxidant nutrients and disease prevention: An Overview. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 1895-1935
16. Fairbanks VF, Klee GG. Biochemical Aspects of Hematology. In: Burtis CA, Ashwood ER (editors). *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. Second edition, Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1994: 1974-2072

17. Karatas F, Karatepe M, Baysar A. Determination of free malondialdehyde in human serum by high performance liquid chromatography. *Anal Biochem* 2002; 311: 76-79.
18. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70: 158.
19. Aebi H. Catalase in vitro assay methods. *Methods Enzymol* 1984; 105: 121-126.
20. Çetinkaya N, Özcan, H. Investigation of seasonal variations in cow serum Retinol and β -Carotene by high performance liquid chromatographic method comp. *Biochem. Physiol* 1991;100: 1003-1008.
21. Catignani GL, Bieri JG. Simultaneous determination of retinol and alpha-tocopherol in serum or plasma by liquid chromatography. *Clin Chem* 1983; 29: 708-712.
22. Miller KW, Lorr NA, Yang CS. Simultaneous determination of plasma retinol, alpha-tocopherol, lycopene, alpha-carotene, and beta-carotene by high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem* 1984;138:340-345.
23. Tavazzi B, Lazzarino G, Di Pierro D, Giardina B. Malondialdehyde production and ascorbate decrease are associated to the reperfusion of the isolated postischemic rat heart. *Free Radic Biol Med* 1992; 75-78.
24. Cerhata D, Bauerova A, Ginter E. Determination of ascorbic acid in blood serum using high-performance liquid chromatography and its correlation with spectrophotometric (colorimetric) determination. *Ceska Slov Farm* 1994 Jul; 43: 166-168.
25. Baynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes* 1999 ; 48: 1-9.
26. Aydin A, Orhan H, Sayal A, Ozata M, Sahin G, Isimer A. Oxidative stress and nitric oxide related parameters in type II diabetes mellitus: effects of glycemic control. *Clin Biochem* 2001 Feb; 34: 65-70.
27. West IC. Radicals and oxidative stress in diabetes. *Radicals. Diabet Med* 2000; 17: 171-80.
28. Bendayan M. Immunocytochemical detection of advanced glycated end products in rat renal tissue as a function of age and diabetes. *Kidney Int* 1998; 54: 438-447.
29. Lopes-Virella MF, Virella G, Orchard TJ, Koskinen S, Evans RW, Becker DJ, Forrest KY. Antibodies to oxidized LDL and LDL-containing immune complexes as risk factors for coronary artery disease in diabetes mellitus. *Clin Immunol* 1999 Feb; 90: 165-172
30. Faure P, Corticelli P, Richard MJ, Arnaud J, Coudray C, Halimi S, Favier A, Rousset AM. Lipid peroxidation and trace element status in diabetic ketotic patients: influence of insulin therapy. *Clin Chem* 1993; 39: 789-793
31. Vantuyghem MC, Balduyck M, Zerimech F, Martin A, Douillard C, Bans S, Degand PM, Lefebvre J. Oxidative markers in diabetic ketoacidosis. *J Endocrinol Invest* 2000; 23: 732-6
32. Seghrouchni I, Draï J, Bannier E, Riviere J, Calmard P, Garcia I, Orgiazzi J, Revol A. Oxidative stress parameters in type I, type II and insulin-treated type 2 diabetes mellitus; insulin treatment efficiency. *Clin Chim Acta.* 2002; 321: 89-96
33. Sekeroglu MR, Sahin H, Dulger H, Algun E. The effect of dietary treatment on erythrocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and serum lipid peroxidation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Biochem* 2000; 33: 669-74
34. Hughes DA, Wright AJ, Finglas PM, Polley AC, Bailey AL, Astley SB, Southon S. Effects of lycopene and lutein supplementation on the expression of functionally associated surface molecules on blood monocytes from healthy male nonsmokers. *J Infect Dis.* 2000; 182 Suppl 1:S11-5
35. Clinton SK. Lycopene: chemistry, biology, and implications for human health and disease. *Nutr Rev* 1998; 5: 35-51
36. Di Mascio P, Kaiser S, Sies H. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch Biochem Biophys.* 1989;274:532-53
37. NJ, Sampson J, Candeias LP, Bramley PM, Rice-Evans CA. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Lett* 1996; 384: 240-242
38. Agarwal S, Rao AV. Tomato lycopene and low density lipoprotein oxidation: a human dietary intervention study. *Lipids* 1998; 33: 981-984.
39. Rao AV, Agarwal S. Bioavailability and in vivo antioxidant properties of lycopene from tomato products and their possible role in the prevention of cancer. *Nutr Cancer* 1998; 31: 199-203.
40. Pool-Zobel BL, Bub A, Muller H, Wollowski I, Rechkemmer G. Consumption of vegetables reduces genetic damage in humans: first result of a human intervention trial with carotenoid-rich foods. *Carcinogenesis* 1997; 18: 1847-1850.

Kabul Tarihi: 03.06..2005