



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2010: 24 (1): 05 - 10
http://www.fusabil.org

Ratlarda Diyabet Öncesi ve Sonrası Oksidan-Antioksidan Durum

Hatice AKKAYA¹
Sait ÇELİK²

¹Fırat Üniversitesi,
Fen-Edebiyat Fakültesi,
Kimya Bölümü,
Elazığ, TÜRKİYE

²Bingöl Üniversitesi,
Fen-Edebiyat Fakültesi,
Kimya Bölümü,
Bingöl, TÜRKİYE

Bu çalışmada, sağlıklı ve diyabetik ratlarda serbest radikaller ve antioksidan ilişkisinin araştırılması amaçlandı. Bunun için sağlıklı ve diyabet oluşturulmuş ratlarda Homosistein, Leptin, A, E, C vitamin düzeylerinin ve bazı lipid bileşenlerinin seviyeleri ile MDA belirlendi. Bu amaçla 10 haftalık, 20 adet sağlıklı ve 20 adet deneysel olarak diyabet oluşturulmuş ratda HCY, leptin, Vit A, E, C ve bazı lipid bileşenleriyle MDA çalışıldı. Diyabetik grupta, kontrol grubuna göre plazma MDA seviyesi artarken ($p<0.05$), HCY, leptin ve Vit C seviyelerinde azalma gözlemlendi ($p<0.05$). Vitamin A ve E seviyelerinde ise değişme 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 grubuna göre diyabetik grupta önemli derecede yüksek bulundu ($p<0.05$). Çalışmada elde edilen düşük homosistein düzeyi kardiyovasküler hastalıklar için risk taşımazken, düşük leptin düzeyi ile gelişen kilo artışının, serum kolesterol yüksekliğinin ve MDA düzeylerindeki artışın kalp hastalığı ve hipertansiyon gibi metabolik hastalıklara yol açacağı söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Diyabet, homosistein, leptin, Vit A, E, C, kolesterol, MDA.

Oksidan and Antioksidant Situation Before and After Diabets in Rat

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, Vitamin A, E, C levels and some lipid parameters levels with MDA in healthy and diabetes-induced rats. In this context, HCY, leptin, Vit A, E, C and some lipid parameters with MDA were evaluated in 10 weeks old 20 healthy and 20 rats with experimentally-induced diabetes. Plasma MDA levels were found to be significantly increase in diabetic group when compared to control group ($p<0.05$), but 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 and LDL found to be significantly high in diabetic group when compared to control group ($p<0.05$). In this study, low homocysteine levels have no risk for cardiovascular disease but it must be noted that increased weight after low leptin level, as well as high serum cholesterol levels and increased MDA levels have induced some metabolic disease e.g. heart disease and hypertension.

Keywords: Diabetes mellitus, homocystein, leptin, Vit A, E, C, cholesterol, MDA.

Geliş Tarihi : 18.04.2009
Kabul Tarihi : 19.11.2009

Giriş

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 enzimatik olmayan antioksidan defans sistemlerine sahiptir (1-5). 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 (1-5).

Diyabetli hastaların ölüm nedenleri arasında birinci sırada yer olan koroner kalp hastalığı (KKH) risk artışı glisemik kontrol, kan basıncı ve lipid metabolizmasındaki bozukluklarla ilişkili bulunmuştur (6). Sağlıklı kişilere göre diyabetik erkeklerde KKH, 2-3 kat sıklıkla görülürken diyabetik kadınlarda 5-6 kat sıklıkla görülmektedir (7). Yirmibirinci 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 önem taşımaktadır (8).

Yazışma Adresi Correspondence

Hatice AKKAYA
Fırat Üniversitesi
Fen-Edebiyat Fakültesi,
Kimya Bölümü,
Elazığ - TÜRKİYE

akarcay_@hotmail.com

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' in oksidan-antioksidan kapasitedeki etkisiyle, leptin ve lipid bileşenleri arasındaki ilişki incelenecektir.

Gereç ve Yöntem

F.Ü. Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM) 'dan 10 haftalık 40 adet erkek Wistar albino rat alınarak araştırma materyali oluşturuldu. Çalışmada kullanılan 10 haftalık ratlar, kontrol grubu ve diyabetli grup 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: Canlı ağırlıkları ve açlık kan glikoz düzeyleri Contour TS Glucometer ile ölçüldü. Daha sonra her bir rata 60 mg/kg dozunda streptozotocin fosfat-sitrat tamponunda (pH: 4.5) çözülürerek intraperitoneal olarak tek doz enjekte edilip, enjeksiyondan 48 saat sonra ratların tekrar açlık kan glikoz düzeyleri ölçüldü. Kan glikoz düzeyi 200 mg/dl üzerinde olan ratlar diyabetik olarak kabul edildi. Dört hafta sonunda 12 saatlik açlıktan sonra ratların abdominal kaviteleri eter anestezisi altında açılarak Vena cava caudalis' lerinden kan örnekleri yapılacak analizlere göre alındı.

Trigliserit Ölçümü: Ticari kit kullanılarak OLYMPUS AU-640 otoanalizöründe yapıldı. Oluşan renkli bileşik 520 nm'de okundu TG miktarı tayin edildi (9-11).

Kolesterol Ölçümü: Ticari kit kullanılarak OLYMPUS AU-640 otoanalizöründe yapıldı. Oluşan renkli bileşik 540 nm'de okundu kolesterol miktarı tayin edildi (12).

HDL-Kolesterol ölçümü: Ticari kit kullanılarak OLYMPUS AU-640 otoanalizöründe yapıldı. HDL-kolesterol miktarı, bir enzim kromojen sisteminin mevcudiyetinde belirlenir (13).

LDL-Kolesterol ölçümü: Ticari kit kullanılarak OLYMPUS AU-640 otoanalizöründe yapıldı. CHO/PAP sistemi vasıtasıyla LDL miktarı belirlenir (14).

Vitamin C ölçümü: Vitamin C ölçümleri, ticari test kitleri kullanılarak TERMO HPLC' de yapıldı. HPLC' de Bischoff Prontosil AQ 5µm kolonunda, 0.75 ml/dakika akış hızına ayarlanıp 254 nm' de Vitamin C pikleri alındı.

Vitamin A/E ölçümü: EDTA' li tüplere alınarak santrifüj edilip plazmaları ayrılan kanlar, ticari test kitleri kullanılarak TERMO HPLC' de yapıldı. 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 (15-16).

Homosistein (HCY) Ölçümü: Protein bağlı homosistein, serbest homosisteine ve o da enzimatik olarak S-adenosil -L-homosisteine (SAH) dönüşür (17).

İkincil 'rabbit anti-mouse' antikoruna, 'horse radish' peroksidaz eklenerek işaretlenir ve bu peroksidaz aktivitesi substrat eklendikten sonra spektrofotometrik olarak ölçülür. Absorbans (450 nm) numunedeki homosistein miktarıyla ters ilişkilidir. EDTA' li tüplere alınarak santrifüj edilip plazmaları ayrılan kanlar ticari test kitleri kullanılarak (Biotek Elx800) ELİSA ile yapıldı.

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 çözeltisi ilave edilir, oluşan rengin yoğunluğuyla hasta serumundaki leptin miktarı doğru orantılıdır (18).

Antikoagulan içermeyen tüplere alınarak santrifüj edilip serumları alınan kanlar, ticari test kitleri kullanılarak (Biotek Elx800) ELİSA ile değerlendirildi.

Plazmada Malondialdehid Düzeyinin Tayini: Plazmada Malondialdehid düzeylerinde meydana gelen değişimler Placer ve ark. (19)'dan modifiye edilen yöntemle göre spektrofotometrik olarak ölçüldü. EDTA' li 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.

Elde edilen veriler SPSS 16 istatistik programında değerlendirildi. Karşılaştırmalı analizlerde parametrik test varsayımları Levene testi ile değerlendirildi. Parametrik test varsayımlarının sağlandığı ikili karşılaştırmalarda bağımsız gruplar t testi (Tablo 1), parametrik test varsayımının sağlanmadığı durumlarda ise Mann Whitney U testi (Tablo 2) kullanıldı. Belirlenen veriler; ortalama değerler ($\bar{X} \pm S$) olarak Tablo 1 ve 2' de verildi.

Bulgular

Rat ağırlıkları deney başında, ortasında ve sonunda alınarak, kontrol grubu $\Sigma 168$, $\Sigma 229$, $\Sigma 269$ g diyabet grubu $\Sigma 170$, $\Sigma 195$, $\Sigma 230$ g olarak kaydedildi. Diyabet gruplarında plazma MDA düzeylerinin (1,33±0,22 nmol/ml) kontrol grubuna göre (0,94±0,13 nmol/ml) önemli düzeyde arttığı (p<0.05), diyabetik grubun plazma homosistein (HCY) aktivitelerinde (2,86±1,32 µmol/l) kontrol grubuna göre (5,38±1,22 µmol/l) önemli düşüş saptandığı (p<0.05), diyabetik grubun leptin aktivitelerinde (0,42±0,35ng/ml) kontrol grubuna göre (1,94±0,86 ng/ml) önemli düşüş olduğu (p<0.05) belirlendi. Vit C düzeylerinin ise diyabet gruplarında (3,04±1,17 mg/L) kontrol grubuna göre (7,59±0,95 mg/L) azaldığı saptanırken (p<0.05) plazma Vit A seviyelerinde kontrol grubu (0,27±0,06 mg/L) ile

diyabetik grup ($0,25 \pm 0,12$ mg/L) arasında fark görülmedi ($p > 0,05$). Plazma Vit E aktivitelerinde de kontrol grubu ($3,15 \pm 0,41$ mg/L) ile diyabetik grup ($4,71 \pm 1,88$ mg/L) arasında fark izlenmedi ($p > 0,05$). Ayrıca, kontrol grubunda ortalama kolesterol değeri $42,50 \pm 8,55$ mg/dl, ortalama trigliserid değeri $60,90 \pm 10,11$ mg/dl, ortalama LDL değeri $7,30 \pm 2,00$ mg/dl, ortalama VLDL değeri $12,6 \pm 2,67$ mg/dl olarak bulundu. Diyabet grubunda ortalama kolesterol değeri $69,80 \pm 8,92$ mg/dl, ortalama trigliserid değeri $91,90 \pm 10,57$ mg/dl, ortalama LDL değeri $11,70 \pm 4,97$ mg/dl, ortalama VLDL değeri $23,90 \pm 5,72$ mg/dl olarak bulundu. Kontrol grubunda ortalama HDL değeri $42,20 \pm 7,97$ mg/dl iken diyabetik grupta ortalama HDL değeri $23,60 \pm 4,60$ mg/dl olarak bulundu. Bu sonuçlar karşılaştırıldığında diyabetik gruptaki ortalama HDL değeri kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak düşük bulunurken ($p < 0,05$), ortalama kolesterol, trigliserid, LDL ve VLDL değeri kontrol grubuna göre diyabetik grupta yüksek bulundu ($p < 0,05$).

Tartışma

Homosistein yüksekliğinin, koroner kaynaklı hastalıklarda bağımsız bir risk faktörü olduğu ortaya çıkmıştır (7,8). Homosistein serbest radikal gibi davranarak LDL'yi oksitlemektedir (20). Hipo- ve hipertiroidili olgularda plazma homosistein düzeylerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmaların bir kısmı hipo- ve hipertiroidide plazma homosistein düzeylerinin değişmediğini savunurken bir kısım çalışma ise hipertiroidide plazma homosistein düzeylerinin arttığı belirtilmiştir (21, 22). Nedrebo ve ark. (21), kontrol grubuna göre hipertiroidili grupta plazma homosistein düzeylerinin istatistik açıdan değişmediğini bildirmelerine rağmen, hipertiroidili kardiyovasküler kaynaklı ölümlerden plazma homosistein düzeylerinin artmış olmasının katkıda bulunduğunu belirtmişlerdir. Farklı bir çalışmada (23) Tip 1 diabetik hastaların %35'inde homosistein seviyesi yükselmiştir ve bunlarda diyabetin yan etkileri olan retinal hasar, nefron hasarı ve kardiyovasküler hastalıklar gözlenmiştir. Bir diğer çalışmada Chico ve ark. (24), Tip 1 diyabetiklerde homosistein miktarının değişmediği, Tip 2 diyabetiklerde ise homosistein miktarının kontrole göre yüksek olduğu ve Tip 2 diyabetik hastalarda homosistein seviyesiyle vasküler hastalıklar arasında bir ilişki olduğu görülmüştür. Homosistein fazlalığında homosistein tiolakton ortaya çıkararak, LDL'nin apolipoproteinlerinde değişikliğe yol açar. Değişikliğe uğramış LDL'ler makrofajlarca fagosite edilirler ve köpük hücreleri ortaya çıkar ve bu da ateroskleroza zemin hazırlar (25). Robillon (26) ise, Tip 1 diyabetiklerde homosistein seviyesini kontrole göre düşük bulmuştur. Bulgularımızda ise diyabetik gruptaki homosistein seviyesi kontrole göre önemli derecede düşük bulunmuştur ($p < 0,05$) (Tablo 1). Bunun nedeni, transsülfürasyonda görevli enzim aktivitesinin yükselmesiyle (27) homosisteinin sisteine dönüşmesi olabilir.

Çalışmada leptin düzeyi kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur ($p < 0,05$) (Tablo 2). Düşük leptin düzeyi hipotalamik reseptörler üzerinden gıda alımının en güçlü

uyarıcısı olan NPY (Nöropeptid Y)' nin salınımını aktive eder, böylece iştahın artmasına, sempatik sinir sisteminin aktivitesinin azalmasına ve enerji harcanmasında düşüşe neden olur (28). Sonuç olarak kişide kilo artışı olur. İştah azaltıcı hormon MSH (melanosit uyarıcı hormon) düşük leptin düzeyinde inhibe olup, iştah artmasına neden olur (29). İştah azaltıcı bir başka hormon olan CRH (kortikotropin salgılatıcı hormon), düşük leptin düzeyinde salınımını azaltarak gıda alımında artışa neden olur (30, 31). Sonuç olarak, aşırı kilonun insan sağlığı üzerine - yüksek tansiyon ve aterosklerotik kalp hastalığı gibi olumsuz etkileri ortaya çıkar. Mantzoros ve arkadaşları (32) ile McGregor ve arkadaşlarının (33) yaptıkları benzer çalışmalarda Tip 2 DM hastalarındaki plazma leptin düzeylerinin diyabetik 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. Anormal vücut kilosunda leptin seviyesindeki yüksekliğin nedeni, leptin reseptöründeki olası bir defekt veya blokaj ile açıklanmaya çalışılmıştır (32, 27). Leptinin insülin salınımı üzerine olan etkisi, pankreasın β hücrelerinde ATP duyarlı K kanalını aktive ederek hücrenin pozitif yük kaybına neden olup, hücrenin uyarılabilirliğini azaltmaktadır, böylece hücre insülin salgılayamaz (29) ve diyabet gelişir. Ancak bu çalışmada 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 ciddi 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, koroner kalp hastalığı ve hipertansiyon gelişme riskini artırır. Bu risk nedeni homosistein düzeyindeki azalma değil, leptin düşüklüğünde sekonder olarak gelişen kilo artışıdır.

Ateroskerozu olan kişilerde yapılan bir çalışmada (34) lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan serum MDA düzeylerinin yükseldiği tespit edilmiştir. Çömlükçi ve ark. (35), yaptıkları çalışmada NIDDM' lu hastalarda HDL- kolesterol, LDL- kolesterol, apoA-1, apo-B, TG, Ip (a) seviyeleri araştırılmış, HDL kolesterol seviyeleri düşük, TG seviyeleri yüksek bulunmuşken, diğer parametrelerde ise anlamlı değişiklik tespit edilememiştir. Kolesterol, trigliserid, LDL ve VLDL düzeyleri kontrol grubunda diyabetik gruba göre anlamlı olarak düşük bulunurken (Tablo:1, 2), HDL düzeyinin ise anlamlı olarak ($p < 0,05$) yüksek olduğu görülmüştür (Tablo:1). Godin ve ark. (36), deneysel diyabetik ratlarda kolesterol ve trigliseridin belirgin olarak arttığını öne sürmüşlerdir. Diğer bir çalışmada ise (37) HDL'deki trigliserid seviyesinin %83 oranında arttığı saptanmıştır. Bunun nedeninin periferik doku hücre membranlarında, diyabetik hasara bağlı olarak lipoprotein metabolizmasının son ürünü şeklindeki lipid peroksitler

olduğu ileri sürülmüştür. Lipit peroksidlerin son ürünü olan MDA düzeylerinin diyabetik grupta yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Tablo:1). Özellikle iyi kontrol edilemeyen diyabette oksidatif aktivitenin artması serbest radikal oluşumunu arttırmak ta bu da proteinlerin non-enzimatik glikozillenmesinin artmasıyla glikozillenen proteinlerin oksidasyonu sonucu serbest radikal miktarını arttırmaktadır. Foddy ve ark. (38), aterosklerotik kişilerde serum MDA düzeylerinin anlamlı olarak arttığını saptamışlardır. Diyabetiklerde görülen en önemli komplikasyon olan KKH'nın önlenmesinde kişilerin antioksidan sistemlerinin önemli olduğu fikri güçlenmektedir. Diyabette serbest radikal oluşumunun artmasına karşılık radikal tutucu sistemlerde de azalma olduğu ileri sürülmektedir (20). Lipid peroksidasyonundaki artış uzun süreli komplikasyonların hazırlayıcı faktörü olabileceğinden diyabetin gelişmesini değerlendirmede faydalı bir kriterdir. Sonuç olarak koroner kalp hastalığında serum kolesterol yüksekliğine, MDA düzeylerinde artışa ve leptin seviyesinde 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 (20).

Tip 1 diyabetik hastalarda antioksidan statü parametrelerini inceleyen çalışmalardaki bulgular çelişki göstermektedir. Bazı çalışmalarda (39) antioksidan düzeylerinin arttığđı diğerlerinde ise (40) azaldığđı bildirilmiştir. Çalışmamızda C vitamini düzeyinin kontrol grubuna göre diyabetik grupta azaldığđı bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo:5). Diyabetik hastalarda poliol yolu aktivitesindeki artışa bağlı olarak NADPH ve NAD⁺ azalması ve hücrel redoks potansiyelinde değişiklikler ile sonuçlandığı bildirilmiştir (34, 40). 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 (34). Deneysel ve klinik diyabet çalışmalarda, askorbik asidin renal atılımdaki, yarı ömründeki ve hücrel alımdaki değişikliklerden dolayı vitamin C düzeyinin azaldığđı bildirilmiştir (34, 41, 42).

Bu çalışmada E vitamini istatistik olarak anlamlı olmasa da diyabet grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur ($p>0.05$) (Tablo:1). α tokoferol büyük oranda lipoproteinler ile taşınır. Geç dönem diyabetiklerde bulunduğumuz E vitamini yüksekliği hiperlipidemiyle ilgili olabilir. Asayama ve ark. (43) insüline bağımlı diabetes mellituslu (IDDM) hastalarda plazma ve doku E vitamin değerlerini yüksek saptamıştış.

A vitamini düzeyi ise istatistik olarak anlamlı olmasa da kontrol grubunda diyabetik gruba göre yüksek bulunmuştur ($p>0.05$) (Tablo:1). 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 (44). Celik ve ark. (45) diyabet ve komplikasyonlarının reaktif oksijen türleriyle ilişkisinde antioksidan savunma sistemini değiştirebileceğini vurgulamışlardır. Dolayısıyla diyabette serbest radikal üretiminin artmasına ve radikal bağlayıcı sistemlerde azalma olmasına bağlı olarak diyabetiklerin antioksidanlara daha çok ihtiyaç duyduğu söylenebilir. Ayrıca Tip 1 ve Tip 2 diyabette 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 hastalığđı ve hipertansiyon gibi metabolik hastalıklara yol açacağı unutulmamalıdır.

Tablo 1. Çalışma gruplarında analizi yapılan parametrelerin ortalamaları ve istatistiki analiz sonuçları

Parametre	Kontrol ($\bar{X} \pm S$)	Diyabet ($\bar{X} \pm S$)
MDA (nmol/ml)	0.94 \pm 0.13	1.33 \pm 0.22*
Kolesterol (mg/dl)	42.50 \pm 8.55	69.80 \pm 8.92*
Trigliserid (mg/dl)	60.90 \pm 10.11	91.90 \pm 10.57*
HDL (mg/dl)	42.20 \pm 7.97	23.60 \pm 4.60*
Vit C (mg/L)	7.59 \pm 0.95	3.04 \pm 1.17*
Vit A (mg/ L)	0.27 \pm 0.06	0.25 \pm 0.12-
Vit E (mg/ L)	3.15 \pm 0.41	4.71 \pm 1.88-
HCY (μ mol/ L)	5.38 \pm 1.22	2.86 \pm 1.32*

* : $p<0.05$

- : $p>0.05$

Tablo 2. Çalışma gruplarında analizi yapılan parametrelerin ortalamaları ve istatistiki analiz sonuçları

Parametre	Kontrol ($\bar{X} \pm S$)	Diyabet ($\bar{X} \pm S$)
LDL (mg/dl)	7.30 \pm 2.00	11.70 \pm 4.97*
VLDL (mg/dl)	12.6 \pm 2.67	23.90 \pm 5.72*
Leptin (ng/ml)	1.94 \pm 0.86	0.42 \pm 0.35*

* : p<0.05 - : p>0.05

Kaynaklar

- Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL. Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocrine Reviews* 2004; 25: 612-628.
- Memisogullari R, Taysi S, Bakan E, Capoglu I. Antioxidant Status and Lipid Peroxidation in Type II Diabetes Mellitus. *Cell Biochem Func* 2003; 21: 291-296.
- Sacks DB. Diabetes mellitus. In: Burtis CA, Ashwood ER, (Editors). *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. Philadelphia: WB Saunders Co 1999; 766-776.
- Cherubini A, Ruggiero C, Polidori MC, Mecocci C. Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radical Biology & Medicine* 2005; 39: 841-852.
- Memisogullari R, Bakan E. Levels of ceruloplasmin, transferrin, and lipid peroxidation in the serum of patients with Type 2 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Its Complications* 2004; 18: 193-197.
- Carlson LA, Rosenhamer G. Reduction of mortality in the stockholm ischemia heart disease secondary prevention study by combined treatment with clofibrate and nicotinic acid. *Acta Med Scand* 1988; 223: 405-418.
- Sansoy S. Risk Faktörleri ve hiperlipidemi tedavisinde klavuz kurallar, *Türkiye Klinikleri Journal of Cardiology Hiperlipidemi Özel Sayısı* 2000; 13: 33-40.
- Challem J, Dolby V. Homocysteine: The Secret killer, the real cause of heart disease and stroke, *Good Healty Pub* 1997; 13-21.
- Jacobs NJ. Microbial oxidation of protoporphyrinogen, an intermediate in heme and chlorophyll biosynthesis. *Van Denmark P.J. Arch Biochem Biophys* 1980; 88: 250-255.
- Koditschek LK, Umbreit WW. Alpha-glycerophosphate oxidase in streptococcus faecium F 24: *J Bacteriol* 1969; 98: 1063-1068.
- Trinder P. Determination of blood glucose using an oxidase-peroxidase system with a non-carcinogenic chromogen. *Ann Clin Biochem* 1969; 6: 24-27.
- Allain CC, Poon LS, Chan CSG, Richmond W. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem*, 1974; 20: 470-475.
- Ehret W, Heil W, Schmitt Y, Topfer G, et al. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples; *WHO/DIL/LAB/* 1999; Rev.2/26pp.
- Mikl YA. Homoneous assay for the selective measurement of LDL cholesterol in serum. *Enzymatic selective protection method. Clin Lab* 1999; 45: 398-401.
- Sushil KJ, Mc Coy B, Wise R. Vitamin E and hypercoagulability of neonatal blood. *Clin Chem Acta* 1994; 225; 97-103.
- Comstock GW, Alberg AJ., Helzlouer KJ. Reported effects of long-term freezer storage on concentrations of retinol, β - carotene, and α - tocopherol in serum or plasma summarized. *Clin Chem* 1993; 39(6): 1075-1078.
- Sundrehagen E. Axis Biochemicals ASA. Enzymatic assay for homocysteine and a kit therefor. EP 623174/US5631127.
- Considine RV, Sinha MK, Heinman ML, et al. Serum immunoreactive leptin concentrations in normal weight and obese humans. *New England J Med* 1996; 334: 292.
- Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of products of lipid peroxidation in biochemical systems. *Anal Biochem* 1966; 16, 359-364.
- Köseoğlu MH, Fadıloğlu M, Çelik Y, Güneri S. Koroner kalp hastalığında serum malondialdehid düzeylerinde oluşan değişiklikler, *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 1999; 77-88.
- Nedrebo BG, Ericsson UB, Nygard O. Plasma total homocysteine levels in hyperthyroid and hyperthyroid patients. *Metabolism* 1998; 47: 89-93.
- Demirbas B, Özkaya M, Cakal E. Plasma homocystein levels in hyperthyroid patients. *Endocr J* 2004; 51: 121-125.
- Hofman MA. Hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction in IDDM. *Diabetes Care* 1997; 20; 1880-1886.
- Chico A, Perez A, Cordoba A, Arcelus R, Carreras G. Plasma homocysteine is related to albumin excretion rate in patients with diabetes mellitus, *Diabetologia* 1998; 41: 684-693.
- Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *Jama* 1995; 274: 1049-1057.
- Robillon JF, Canivet B, Candito M, et al. Type 1 diabetes mellitus and homocysteine. *Diabetes Metab* 1994; 20: 494-496.
- Wing RR, Koeske R, Epstein LH, et al. Long-term effects of modest weight loss in type 2 diabetic patients. *Arch Intern Med* 1987; 147: 1749-1753.
- Schwartz MW, Seeley RJ. Neuroendocrine responses to starvation and weight loss. *N Engl J Med* 1997; 336: 1802-1811.

29. Harwey J, Mc Kenna F, Herson PS, Spanswick D, Ashford LJ. Leptin activates ATP-sensitive potassium channels in rat insulin-secreting cell line, CRI-G1. *J Physiol* 1997; 504: 527-535.
30. Serafinowicz A, Kukula TC, Shaibani T, Baczkowska JS, Sadowska A. Homocysteine and lipid peroxidation products: important atherosclerosis risk factors in renal allograft recipients. *Transplantation Proceedings* 2000; 32: 1367-1368.
31. Itateyama E, Chiba S, Skata T, Yoshimatsu H. Hypothalamic neuronal histamine in genetically obese animals: its implication of leptin action in the brain. *Exp Biol (Maywood)* 2003; 228 (10): 1132-1137.
32. Mantzoros CS, Moschos S, Avramopoulos I, et al. Leptin concentrations in relation to body mass index and the tumor necrosis factor-system in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 3408-3413.
33. McGregor GP, Desaga JF, Ehlenz K, et al. Radioimmunological measurement of leptin in plasma of obese and diabetic human subjects. *Endocrinology* 1996; 137: 1501-1504.
34. Sinclair AJ. Free radical mechanisms and vascular complication of diabetes mellitus. *Diabetes Rev* 1939; 1 (2): 7-10
35. Çömllekçi A, Biberöğlu S, Kozan O, et al. Correlation between serum lipoprotein(a) and angiographic coronary artery disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Intern Med* 1997; 242: 449-454.
36. Godin DV, Wohaieb SA, Garnett ME, Goumeniouk, AD. Antioxidant enzyme alterations in experimental and clinical diabetes, *Molecular and Cellular Biochemistry* 1998; 84: 223-231.
37. Anderson R, Theron AJ, Ras GJ. Cysteine and dapsone of the increased extrasellular and intracellular generation of reactive oxidants by activated phagocytes from cigarette smokers. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135(5): 1027-1032.
38. Foody JM, Milberg JA., Pearce GL., Sprecher DL. Lipoprotein (a) associated with coronary artery disease in older women: age and gender analysis. *Atherosclerosis* 1999; 153: 445-451.
39. Griesmacher A, Kindhauser M, Andert SE, Schreiner W., et al. Enhanced Serum levels of thiobarbituric acid - reactive substances in diabetes mellitus. *Am J Med* 1995; 98: 469-475.
40. Giugliano D, Ceriello A. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes care* 1996; 19: 257-267.
41. Nerup J, Mandrup-Poulsen T, Helwuist S, et al. On the pathogenesis of IDDM. *Diabetologia* 1994; 37: 82-89.
42. McLennan SV, Heffernan S, Wright L, Rae C, et al. Changes in hepatic glutathione metabolism in diabetes, *Diabetes* 1991; 40, 344-348.
43. Asayama K, Nakane T, Uchida N, Dobashi K, Nakazawa S. Serum antioxidant status in streptozotocin-induced diabetic rat. *Horm Metab Res* 1994; 26: 313-315.
44. Diplock AT. Antioxidant nutrients and disease prevention: An overview. *Am J Clin Nutr* 1991; 53:1895-1935.
45. Celik S, Akkaya H. Total Antioxidant Capacity, Catalase and Superoxide Dismutase on Rats Before and After Diabetes. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 2009; 8(8): 1503-1508.