

# Tip 1 ve Tip 2 Diyabetik Hasta Serumlarında Oksidatif Stres ve Leptin Düzeylerinin İncelenmesi

## Oxidative Stress and Serum Leptin Levels in Patients with Type 1 and 2 Diabetes Mellitus

Cemile Koca\*

Nilgün Altan\*

Aylin Sepici Dincel\*

Funda Kosova\*

Duygu Şahin\*

Metin Arslan\*\*

Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Ankara

\*Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, \*\*Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı

Geliş tarihi: 29 Haziran 2009

Kabul tarihi: 09 Temmuz 2009

### ÖZET

**Amaç:** Çalışmamızda, tip 1 ve tip 2 diyabetin patogenezinde oksidatif stresin rolü ve leptinin olası etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

**Materyal ve Metod:** Denekler dört gruba ayrıldı; 20 tip 1 diyabet, 40 tip 2 diyabet, 10 genç kontrol (tip 1 diyabetin kontrolü), 10 yaşlı kontrol (tip 2 diyabetin kontrolü) dahil edildi. Ürik asit ve albumin düzeyleri serum örneklerinde otoanalizör ile, enerji homeostazı hormonu olan leptin düzeyleri Eliza yöntemi ile, serum bakır çinko düzeyleri atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile, antioksidan durumun göstergesi olarak süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi ve lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak malondialdehit (MDA) ve lipid hidroperoksit (ROOH) düzeyleri ile incelendi.

**Bulgular:** Çalışmamızda dikkat çekici sonuçlardan biri; tip 1 diyabet grubu kendi kontrol grubu ile kıyaslandığında, MDA ve ROOH değerlerinin anlamlı bir şekilde arttığı, SOD aktivitesinin anlamlı bir şekilde azaldığı gözlemlendi. Tip 2 diyabet grubu kendi kontrol grubu ile kıyaslandığında ise, ROOH değerlerinin anlamlı bir şekilde arttığı, MDA düzeylerindeki artışın istatistiksel olarak anlam ifade etmediği, SOD aktivitesinin anlamlı bir şekilde azaldığı gözlemlendi. Leptin düzeyleri açısından gruplar kendi kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı ancak tüm gruplarda leptin ile vücut kitle indeksi (VKİ) arasında güçlü bir ilişki olduğu görüldü.

**Sonuç:** Diyabet, leptin ve oksidatif stres üçlüsü arasındaki ilişki oldukça kompleks ve çözümünü zor bir problem gibi durmaktadır. Dolayısıyla ileride daha geniş hasta popülasyonu kullanarak ve daha fazla veri tabanı oluşturularak yapılacak çalışmaların konunun açığa kavuşmasında rol oynayabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Diyabet, oksidatif stres, leptin

### ABSTRACT

**Objective:** In this study, we aimed to evaluate the possible effects of leptin and oxidative stress on the pathogenesis of type 1 and type 2 diabetes mellitus.

**Material and Methods:** Subjects were assigned to four groups: type 1 diabetes group (n=20), type 2

diabetes group (n=40), young control (n=10; control group of type 1 diabetes), adult control (n=10; control group of type 2 diabetes). The uric acid and albumin levels were measured in serum samples by otoanalyzer, leptin; hormone for the energy homeostasis were determined by Elisa method, serum copper and zinc levels were determined by atomic absorption spectrophotometer, antioxidant status were determined by superoxide dismutase enzyme activities (SOD) and MDA and ROOH levels were measured for the markers of lipid peroxidation.

**Results:** One of the main findings of our recent study was that the increased levels of serum MDA and ROOH and the decreased levels of SOD levels were observed when type 1 diabetes group was compared with its control group. Also the statistically increased levels of ROOH, statistically not increased levels of MDA and statistically decreased levels of SOD were determined when the type 2 diabetes group was compared with its control group. There were not any statistical significant differences were observed in both groups for leptin levels when compared with their control groups. However there were a significant correlation between leptin levels and body mass indexes in all groups.

**Conclusion:** The observations in our study suggest the idea that the relationship between the diabetes leptin and oxidative stress seem to be a complex combination which is not easy to explain it by metabolic pathways. We need really increased number of patients and data to conclude on those relationships.

**Key Words:** Diabetes mellitus, oxidative stress, leptin

## GİRİŞ

Diabetes Mellitus dünyada yüksek mortalite ve morbidite riski taşıyan hastalıkların başında gelir (1). Diyabette görülen oksidatif stres, diyabetin ortaya çıkmasından ve hastalığın ilerlemesinden sorumlu tutulmaktadır (2). Yapılan çalışmalarda, deneysel olarak diyabet oluşturulan ratlarda ve diyabetik hastalarda artmış oksidatif stresin, aşırı reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi ve azalmış antioksidan savunma mekanizmasının bir sonucu olarak ortaya çıktığı bildirilmiştir (3).

Serbest oksijen radikallerine karşı savunmada, hücre içi antioksidan enzimler içerisinde süperoksit dismutaz (SOD) enziminin ilk basamak olabileceği düşünülmektedir (4). Diyabette uzamış hipergliseminin, SOD enziminin progresif glikasyonuna ve dolayısı ile aktivitesinde azalmaya yol açtığı düşünülmektedir (5,6). Buna ek olarak ROS'ların sinyal iletilicileri gibi davranarak, nükleer faktör kappa B (NF B) üzerinden, SOD gibi antioksidan enzimlerin gen ekspresyonunu azalttığı düşünülmektedir (7). Ekstraselüler sıvılarda ise oksidatif hasara karşı ilk savunmada özellikle ürik asit gibi düşük molekül ağırlıklı antioksidan moleküllerin aracılık yaptığı bilinmektedir (8). Albümin de yapıdaki sistein rezidüsünden dolayı peroksil radikalleri ile reaksiyona girme ve onları

nötralize etme kapasitesine sahiptir. Ayrıca kanda serbest yağ asidi transportunda görev yaptığı için, bu özelliği de antioksidan savunma için önemlidir (1).

Klasik antioksidanların yanı sıra diyabette eser elementlerin de önemli rolleri vardır. Bakır (Cu) ve çinko (Zn), SOD enzim aktivitesi için gerekli olup, diyetdeki eksikliklerinin lipid peroksidasyonu ile sonuçlandığı çalışmalarla gösterilmiştir (9). Diyabetik hastalarda Zn eksikliği sıklıkla tanımlanan bir tablo olmuştur (10) ve idrarla Zn atılımının sağlıklı bireylerden daha yüksek olduğu gösterilmiştir (11). Artmış Zn atılımının hipergliseminin bir sonucu olduğu düşünülmektedir. Antioksidan özelliklerinin yanı sıra Zn, insülin sentezi, depolanması, sekresyonu ve heksamerik yapı bütünlüğünün korunmasında görev aldığı için, eksikliğinde adacık hücrelerinden insülin salınımını etkileyeceği, bu durumun da tip 2 diyabetteki sorunları arttıracığı düşünülmektedir. Redoks-aktif bir metal olan Cu, oksidatif hasarı başlatabilme kapasitesine sahiptir. Yüksek konsantrasyonda lipidler, proteinler ve DNA'da oksidatif hasara yol açar. Ancak Cu-Zn SOD enziminin bir parçası olması dolayısıyla, optimal antioksidan savunma mekanizması için Cu'ya gereksinim vardır ve Cu konsantrasyonlarındaki düşüşlerin vücudun oksidatif stresle

baş edebilme gücünü azaltabildiği düşünülmektedir.

Leptinin glukoz homeostazında ve olasılıkla da genel obezite ile ilişkili metabolik sendromların (insülin direnci, tip 2 diyabet gibi) patogenezinde rol oynadığı araştırmacıların savları arasında yer almaktadır. Leptin hormonu, iştah ve enerji metabolizmasının düzenlenmesinin yanında birçok hormonla ilişkili olup, vücut homeostazının sağlanmasında çok önemli görevler üstlenmektedir. Bunun yanında son yıllarda yapılan çalışmalarda hem diyabetojenik hem de antidiyabetojenik özellikler gösterdiği ve serbest radikal üretimi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (12-14). Örneğin birçok çalışmada leptin tedavisinin normal ve diyabetik ratlarda insülin duyarlılığını artırdığı ve genetik obez farelerin (ob/ob fare) diyabetik fenotipini düzeltebildiği rapor edilmiştir (13). Diğer taraftan, bazı araştırmacılar leptinin insan karaciğer hücre kültürlerinde, izole rat adipositlerinde ve kas hücrelerinde insülinin etkilerini bozduğunu göstermişlerdir (12). Obez insanlarda leptin rezistansı nedeniyle leptinin hücrelerinde glukoz aracılı insülin sekresyonunu önleme özelliği ortadan kalkmakta ve ortaya çıkan kronik hiperinsülineminin insülin bağımsız diyabetin patogenezinde rol oynadığı bildirilmektedir (12,15).

Bu bilgiler ışığı altında çalışmamızda, tip 1 ve tip 2 diyabetin patogenezinde oksidatif stresin rolü ve diyabette arttığı düşünülen oksidatif stres tablosuna leptinin olası etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya katılan diyabet hastaları Gazi Üniversitesi Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Endokrinoloji polikliniğinde tedavisi ve takibi yapılan açlık kan şekeri düzeyi tam regüle edilememiş hastalar arasından seçildi. Sigara içen, ek hastalık öyküsü bulunan ve anti-

diyabetik ilaç dışında ilaç kullananlar çalışma dışında tutuldu. Tip 1 ve tip 2 diyabetik hasta yaş gruplarına uygun olarak iki kontrol grubu oluşturuldu. Kontrol grupları Check-up merkezine gelen kişiler ve Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı personeli arasından seçildi. Kontrol grupları, kronik hastalık öyküsü ve ilaç alım öyküsü olmayan sağlıklı bireylerden oluşturuldu.

20 tip 1 diyabet, 40 tip 2 diyabet, 10 genç kontrol (tip 1 diyabetin kontrolü), 10 yaşlı kontrol (tip 2 diyabetin kontrolü) çalışmaya dahil edildi. Tip 1 diyabet hastalarının tamamı insülin tedavisi altındaydı. Tip 2 diyabet hastalarında ise, 20 hasta insülin, 18 hasta oral antidiyabetik (OAD), 2 hasta ise insülin + OAD tedavisi almaktaydı.

## Numunelerin Toplanması

Hasta ve kontrol kanları bir gece açlık sonrası sabah saat 9-10 arası alındıktan sonra santrifüj edilerek (3500 rpm, 10 dak.), serumları ayrıldı. Serumlar birkaç numuneye bölünerek ependorflara konuldu ve -80°C'de saklanmak üzere çalışma gününe kadar muhafaza edildi.

## Yöntemlerin Uygulanması

### Serum Süperoksit Dismutaz (SOD)

#### Aktivi tesinin Ölçümü

Serum SOD aktivitesi ksantin, ksantin oksidaz (XO) ile  $O_2^-$  oluşturması ve oluşan  $O_2^-$ 'nin nitroblue tetrazolium (NBT) ile reaksiyonu sonucu meydana gelen renkli bileşiğin renk şiddetinin spektrofotometrede ölçülmesi esasına dayanan Sun ve ark.'nın (1988) metodu ile çalışıldı (16). Sonuçlar U/ml cinsinden verildi.

### Serum Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Ölçümü

Serum MDA düzeyleri, lipid peroksidasyon ürünü olan MDA'nın, tiobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girerek 532 nm'de maksimum absorbans veren renkli bir kompleks oluşturması esasına dayanan Mihara ve Uchiyama

Koca C. ve ark.

(1978)'nin metodu ile spektrofotometrik olarak çalışıldı (17). Sonuçlar, nmol MDA/ml olarak verildi.

### **Ferrous Oxidation/Xylenol Orange (FOX) Tayini**

Lipid hidroperoksit düzeyleri, Fe<sup>+2</sup>'nin asidik ortamda lipid hidroperoksitler (ROOH) tarafından okside edilerek Fe<sup>+3</sup>'e çevrilmesi ve oluşan Fe<sup>+3</sup>'ün xylenol orange ile kompleks yaparak 560 nm'de görünür ışık veren renkli bir bileşik oluşturması esasına dayanan Nourooz-Zadeh J'nin FOX metodu ile çalışıldı (18). Sonuçlar µM olarak hesaplandı.

### **Serum Leptin Düzeylerinin Ölçümü**

Assay Design'ın Human Leptin TiterZyme Enzyme Immunoassay (EIA) kiti ile Eliza cihazında ölçüm yapıldı. Sonuçlar ng/ml olarak verildi.

### **Serum Cu Düzeylerinin Ölçümü**

Serumlar TCA ile muamele edilerek vortekslendi ve santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlar 1/2 oranında ultra saf su ile dilue edilerek atomik absorpsiyon spektrofotometresinde analiz edildi (19,20). Sonuçlar µg/dl olarak verildi.

### **Serum Zn Düzeylerinin Ölçümü**

Serumlar TCA ile muamele edilerek vortekslendi ve santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlar 1/3 oranında ultra saf su ile dilue edilerek atomik absorpsiyon spektrofotometresinde analiz edildi (19). Sonuçlar µg/dl olarak verildi.

### **HbA<sub>1c</sub> Düzeylerinin Ölçümü**

HbA<sub>1c</sub> (%) ölçümü Spectra System SCM 1000 HPLC cihazında, Shimadzu SPD-10A VP UV dedektörü ile yapıldı.

### **Açlık Kan Şekeri (AKŞ), Ürik asit, Albümin Düzeylerinin Ölçümü**

Serumlar AEROSET-Abbott otoanalizöründe çalışıldı. Cihazla uyumlu kitler kullanıldı. AKŞ (mg/dl); glukoz oksidaz metodu ile,

ürük asit (mg/dl); ürikaz-peroksidaz sistemine dayalı metotla; albümin (g/dl) düzeyi ise bromkrosol yeşili ile oluşturduğu renkli bileşik üzerinden ölçüldü.

### **Sonuçların Analizi**

Verilerin istatistiksel analizi SPSS 11 programı kullanılarak yapıldı. Grupların karşılaştırılmasında Mann-Whitney U ve Kruskal Wallis istatistik programları kullanıldı. Sonuçlar ortalama ± standart sapma (ort ± SD) şeklinde verildi. P değeri 0.05'den küçük olan tüm sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## **BULGULAR**

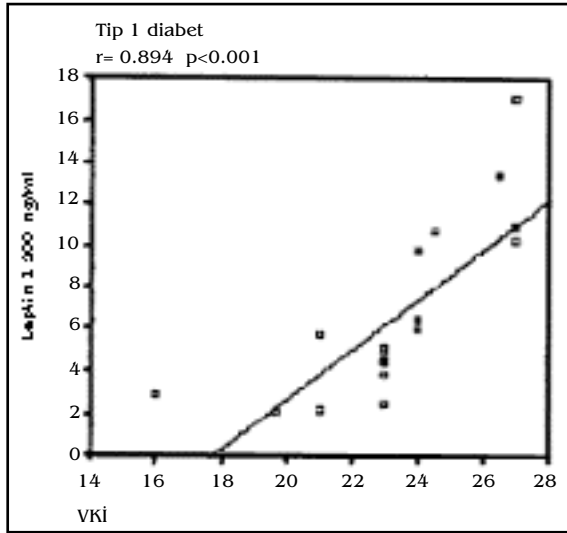
### **Çalışma Gruplarının Temel Karakteristik ve Biyokimyasal Özellikleri**

Tip 1 diyabet hastalarının yaşı, Tip 2 diyabet hastalarından anlamlı olarak düşüktür (sırasıyla; 25.50 ± 5.54 ve 53.68 ± 7.25 yıl). Her iki gruptaki diyabetik hasta serum AKŞ ve HbA<sub>1c</sub> düzeyleri kontrol gruplarına göre oldukça yüksek bulunmuştur (p<0.05, Tablo 1). Diyabetik hastalardaki yüksek HbA<sub>1c</sub> düzeyleri bu hastaların son haftalarda devamlı yüksek hiperglisemiye maruz kaldıklarını göstermektedir.

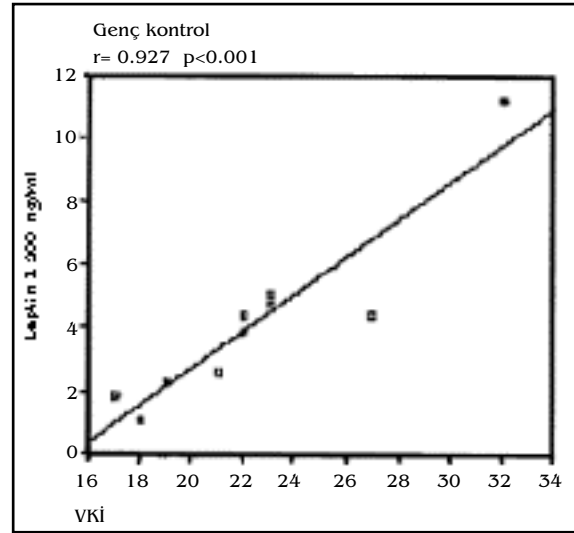
Hasta ve kontrol gruplarının serum leptin düzeyleri ve vücut kitle indeksleri (VKİ) arasında yüksek derecede pozitif ilişki bulunmuştur ancak diyabetik hasta grupları ile kendi kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. (Grafik 1, 2, 3, 4, Tablo 1).

### **Çalışma Gruplarının Serum Lipid Peroksidasyon Düzeyleri**

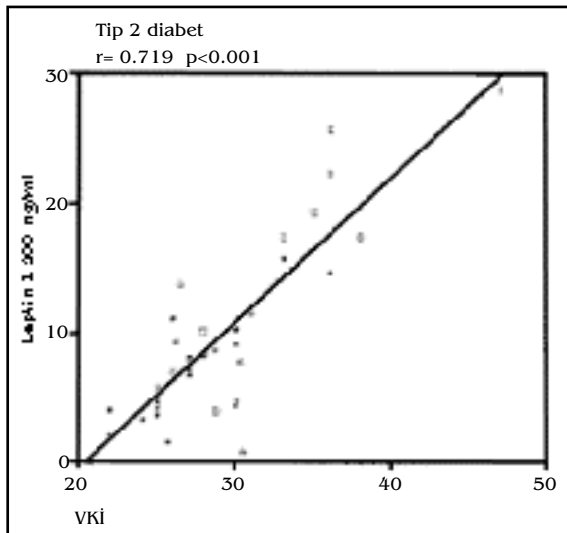
Tip 1 diyabet hastaları kendi yaş gruplarına uygun genç kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek serum ROOH ve MDA düzeylerine sahip oldukları görülmüştür (p<0.05, Tablo II). Benzer şekilde tip 2 diyabet hasta serum ROOH düzeylerinin yaşlı kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede



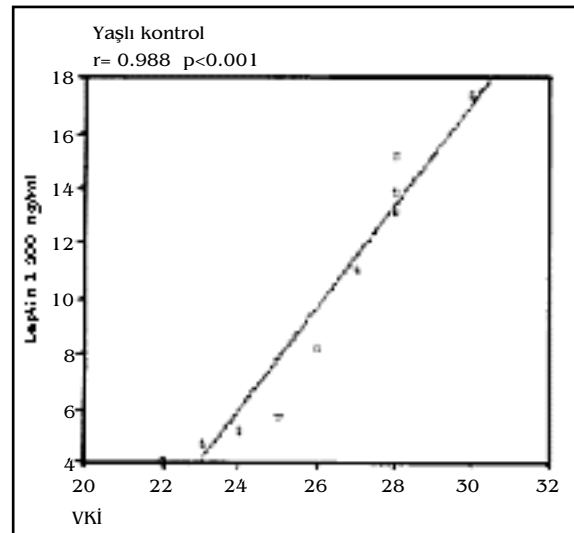
**Grafik 1.** Tip 1 diabet hastalarında VKİ, leptin ilişkisi.



**Grafik 2.** Genç kontrol grubunda VKİ, leptin ilişkisi.



**Grafik 3.** Tip 2 diabet hastalarında VKİ, leptin ilişkisi.



**Grafik 4.** Yaşlı kontrollerde VKİ, leptin ilişkisi.

**Tablo 1.** Tip 1 ve Tip 2 diabet hasta ve referans gruplarının demografik ve biyokimyasal profilleri (ort ± SD).

Parametreler	Genç Kontrol	Tip 1 Diabet	Yaşlı Kontrol	Tip 2 Diabet
Kişi Sayısı	10	20	10	40
Cinsiyet (K/E)	7/3	13/7	6/4	23/17
Yaş (yıl)	25.20 ± 3.85	25.50 ± 5.54	54.60 ± 5.91	53.68 ± 7.25
VK (kg/m <sup>2</sup> )	22.40 ± 4.42	23.33 ± 2.63	26.10 ± 2.55	28.92 ± 4.85*
Diabetin süresi (yıl)	-	6.90 ± 4.75	-	12.16 ± 6.62
HbA1C (%)	5.06 ± 0.68	8.88 ± 2.28*	5.47 ± 0.34	8.70 ± 1.68*
AKŞ (mg/dl)	83.90 ± 6.50	207.55 ± 72.79*	91.70 ± 10.07	197.20 ± 62.23*
Leptin (ng/ml)	4.17 ± 2.81	6.69 ± 4.05	9.87 ± 4.89	9.62 ± 6.38

\*P<0.05 Kendi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

**Tablo 2.** Tip 1 ve Tip 2 diabet hasta ve referans gruplarının oksidatif stres durumları (ort ± SD).

Parametreler	Genç Kontrol	Tip 1 Diabet	Yaşlı Kontrol	Tip 2 Diabet
ROOH (µM)	10.22 ± 3.09	16.02 ± 5.66*	10.06 ± 2.81	22.31 ± 9.04*
MDA (nmolMDA/ml)	4.22 ± 0.69	6.41 ± 1.59*	5.68 ± 1.35	7.38 ± 1.92
SOD (U/ml)	6.59 ± 2.20	3.80 ± 1.45*	6.22 ± 1.31	4.24 ± 1.56*
Cu (µg/dl)	128.12 ± 16.4	115.21 ± 22.4*	134.88 ± 10.7	123.42 ± 19.1
Zn (µg/dl)	95.10 ± 15.98	84.68 ± 20.7	98.74 ± 26.2	78.32 ± 19.1*
Ürik asit (mg/dl)	4.15 ± 1.40	3.21 ± 0.71	4.31 ± 1.25	3.55 ± 1.02
Albümin (g/dl)	4.56 ± 0.28	4.29 ± 0.39	4.50 ± 0.20	4.22 ± 0.45

\*P<0.05 Kendi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

yüksek oldukları gözlenirken, MDA düzeylerindeki artışın anlamlı olmadığı görülmektedir (Tablo 2).

### Çalışma Gruplarının Serum Antioksidan Durumları

Tip 1 ve tip 2 diyabet hasta grupları kendi yaş gruplarına uygun kontrol grupları ile karşılaştıklarında istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük serum SOD düzeylerine sahip oldukları görülmüştür (p<0.05, Tablo 2).

Serum Cu düzeylerinde, tip 1 diyabet grubunda kendi yaş gruplarına uygun genç kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenirken, tip 2 diyabet grubunda kendi yaşlı kontrolüne göre gözlenen azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Serum Zn düzeylerinde ise her iki diyabet grubunda kontrol gruplarına kıyasla azalma görülürken, bu azalma sadece tip 2 diyabet grubunda istatistiksel olarak anlamlıdır (Tablo 2).

Tip 1 ve 2 diyabette serum albümin ve ürik asit düzeylerinde her iki grupta kontrol gruplarına göre azalma gözlenmesine karşın bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlenmiştir (Tablo 2).

### TARTIŞMA

Deneyssel olarak diyabet oluşturulan ratlarda ve diyabetik hastalarda serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun önemli derecede arttığı gösterilmiş ve oksidatif stresin diyabet etiolojisinde ve ilerlemesinde

rolü olduğu bildirilmiştir (21). Uzamış oksidatif stresin ve antioksidan kapasitede görülen değişikliklerin, diyabetin kronik komplikasyonlarının ortaya çıkışı ile de ilişkili olduğu düşünülmektedir (22). Diyabet ve komplikasyonlarının patogenezinde rol oynayan artmış oksidatif stresin kaynağı olarak; kronik hiperglisemiye sekonder glukozun otooksidasyonu, sorbitol yolunun aktivitesi ve bu yolda NADPH tüketimi, proteinlerin progresif glikasyonu ve sonunda AGE oluşumu, hipergliseminin yol açtığı psödohipoksi hali, protein kinaz C'nin aktivasyonu, enerji metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan metabolik stres gibi çeşitli mekanizmalar gösterilmiştir (1,3,23,24). Bunlara ilave olarak hipergliseminin hem ROS üretimini arttırdığı hem de doğal antioksidan savunma mekanizmasını bozduğu bildirilmiştir (25).

Çalışmamızda, tip 1 ve tip 2 diyabet hastalarında oksidatif stres durumunu değerlendirmek üzere antioksidan enzim SOD, kofaktörleri Cu, Zn, hücre dışı antioksidanlar albümin ve ürik asit ile peroksidasyonun göstergesi olarak MDA ve organik hidroperoksidler incelendi. Oksidatif stres durumunun değerlendirilmesinin yanı sıra, leptinin karbohidrat metabolizmasındaki düzenleyici rolü, insülin direnci ve diyabetin etiolojisinde rol oynadığını öne süren çalışmalar nedeniyle serum leptin düzeylerinin de ölçümü yapıldı.

Birçok araştırmacı diyabetik hastalarda lipid peroksidasyon ürünlerinin arttığını bildirir

ken (1), bir kısmı da lipid peroksidasyonunda anlamlı bir artışın olmadığını bildirmişlerdir (26). Çalışmamızda Tip 1 diyabet grubunda lipid peroksidasyon ürünleri (ROOH, MDA) genç kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır. Tip 2 diyabet grubunda ise yaşlı kontrole göre ROOH'da anlamlı bir artış gözlenirken, MDA'daki artış anlamlı değildir. Sundaram ve ark. (9)'nın yapmış olduğu çok sayıda hastanın değerlendirilmesi açısından önemli olan, 467 tip 2 diyabet hastasının dahil olduğu çalışmada, hasta plazma ve eritrosit lipid peroksidasyonlarının anlamlı olarak yükseldiği bulunmuştur. Yapılan bir başka çalışmada Griesmacher ve ark. (27), tip 1 ve tip 2 diyabet gruplarında serum lipid peroksidasyon düzeylerini karşılaştırmışlar ve her iki grupta da serum lipid peroksidasyon düzeylerinin kontrol grubundan yüksek olduğunu bulmuşlardır.

Antioksidan enzimler içerisinde SOD enziminin serbest oksijen radikallerine karşı savunmada ilk basamak olabileceği ve hücreler ya da organizmalar oksidatif strese maruz kaldığında hemen indüklenebileceği düşünülmektedir (4). Genel olarak, yapılan çalışmalarda SOD aktivitesinin diyabette düştüğü (9,28-31) gözlenmekle birlikte değişmemiş (1,32) ya da artmış SOD aktiviteleri bildirilen çalışmalar da mevcuttur. SOD aktivitesinin başlangıçta artmasının,  $O_2^-$ 'nin artmış üretimine, daha sonraki düşmenin ise enzimin glikasyonuna ve/veya  $H_2O_2$  birikimine bağlı olabileceği düşünülmektedir (5,6). Bizim çalışmamızda tip 1 ve tip 2 diyabet grupları kendi kontrol grupları ile karşılaştırıldığında diyabetik SOD aktivitelerinin anlamlı olarak azaldığı bulunmuştur. Bulgularımızla paralel olarak, daha önce STZ/alloksan ile indüklenen diyabetik rat karaciğerinde yapmış olduğumuz çalışmalarda, redükte glutatyon, glutatyon peroksidaz, SOD ve katalaz gibi antioksidanların azaldığı bildirilmiştir (28-31,33). Bu çalışmada ise diğer antioksidan enzimlerin durumu bilinmemekle birlikte, azalmış SOD aktivitesinin artmış lipid peroksi dasyonunun bir sonucu olabileceği düşünülmek-

tedir. Buna ilave olarak SOD enziminin aktivitesi için gerekli olan Cu ve Zn düzeylerine bakıldığında, her iki diyabet grubunda da kendi kontrollerine kıyasla azalma gözlenmiştir. Tip 2 diyabet grubunda Zn düzeylerindeki anlamlı azalmaya daha yüksek lipid peroksidasyon düzeylerinin eşlik etmesi, Zn eksikliğinde özellikle bu hasta grubunda sorunların artacağı görüşünü desteklemektedir.

Serum SOD ölçümünün yanı sıra antioksidan kapasiteyi göstermek amacıyla serum ürik asit ve albümin düzeyleri de çalışılmıştır. Kendi kontrol gruplarına kıyasla tüm diyabet gruplarında, serum ürik asit ve albümin düzeylerinde azalma eğilimi olmasına karşın bu azalma istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildir. Azalmış serum ürik asit düzeylerinin diyabette renal tübüllerde glukoz nedeniyle artmış fraksiyonel atılımın bir sonucu olduğu düşünülmektedir.

Leptin üretiminde defekt görülen ob/ob farelerin diyabetik olmaları ve insülin direnci göstermeleri nedeniyle, leptinin glukoz homeostazında ve olasılıkla da genel obezite ile ilişkili metabolik sendromların (insülin direnci, tip 2 diyabet gibi) patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir. Bu çalışmada tip 1 diyabetik hasta grubunun leptin düzeyleri kontrol grubundan yüksek seyretmekle birlikte bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildir. Azar ve ark.(34)'nin yaptığı çalışma sonuçlarına göre tip 1 diyabette serum leptin düzeylerinin başlıca belirleyicilerinin cinsiyet ve vücut yağ kütlesi olduğu ifade edilmiştir. Soliman ve ark. (35)'nin yaptıkları bir başka çalışmada ise çocuklarda tip 1 diyabet ile serum leptin konsantrasyonları arasındaki ilişki incelenerek, yeni tanı almış tip 1 diyabetli çocuklarda serum leptin düzeylerinin normal çocuklardan anlamlı olarak düşük olduğu bulunmuştur. Bu çocuklarda insülin tedavisi başladıktan sonra leptin düzeylerindeki yükselmeye bağlı olarak, bu duruma kronik olarak yüksek serum insülin seviyelerinin neden olduğu düşünülmüştür. Tip 2 diyabet hastaları ile normoglisemik

kişilerin leptin konsantrasyonları arasında fark olup olmadığı hala tartışılan bir konudur, çünkü yapılan çalışmalar birbiri ile çelişkili sonuçlar açıklamaktadır (36). Çalışmalar arasındaki bu çelişkili sonuçların, hastaların yaşları, cinsiyetleri, beslenme alışkanlıkları, tedavilerindeki çeşitlilikler, vücut yağ kütlelerinin dağılımındaki farklılıklar, obezitelelerinin dereceleri gibi etkenler nedeniyle ortaya çıktığı düşünülmektedir (37). Bizim çalışmamızda hasta ve kontrol gruplarının serum leptin düzeyleri ile VKİ arasında kuvvetli korelasyon bulunmaktadır, ancak hem tip 1 hem de tip 2 diyabet hastaları ile sağlıklı bireyler arasında leptin düzeyleri yönünden fark olmadığı gösterilmiştir. Daha önce tarafımızdan yapılan ve yayın aşamasında olan bir çalışmamızda, deneysel olarak tip 1 diyabet oluşturulmuş rat serumlarında leptin düzeylerinin diyabet grubunda kontrole göre anlamlı derecede azalmış olduğu ve leptin düzeylerinin insülin düzeyleri ile ilintili olabileceği gösterilmiştir. Bu çalışmamızdaki sonuçlar da diyabetik hastalardaki leptin düzeylerinin, diyabetin süresi, şiddeti ve insülin düzeyleri ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarla leptinin serbest radikal üretimine katkısı olduğu düşünülmektedir. Yamagishi ve ark. (14), 2001 yılında yayınlanan çalışmalarında, ilk kez leptinin mitokondrial süperoksit üretimine neden olduğunu göstererek, hiperleptineminin obez diyabetik kişilerde aşırı ROS üretimi yoluyla ateroskleroz oluşumunu hızlandırdığını öne sürmüşlerdir. Görüldüğü gibi leptinin diyabetojenik mi, antidiyabetojenik mi olduğu yolundaki tartışmalara, diyabetin bazı komplikasyonlarına hiperleptineminin ROS aracılığıyla katkısı olduğu yolundaki hipotezler de eşlik etmeye başlamıştır. Çalışmamızda gruplarda leptin düzeyleri ile lipid peroksidasyonu, SOD aktivitesi ya da diyabetin göstergesi olan HbA1c arasında herhangi bir ilişki gösterilememiştir.

Sonuç olarak; diyabet, leptin, oksidatif stres üçlüsü arasındaki ilişki oldukça kompleks ve çözümü zor bir problem gibi durmaktadır

ve birbirleriyle çelişkili sonuçlar, sorunu daha da karmaşık bir hale getirmektedir. İleride daha geniş hasta popülasyonu kullanılarak ve daha fazla veri tabanı oluşturularak yapılacak çalışmalara gereksinim olduğu düşünülmektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Memisogulları R, Taysı S, Bakan E, Capaoglu I. Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus. *Cell Biochem Funct* 2003; 21: 91-296.
2. Pieper GM, Gross GJ. Oxygen free radicals abolish endothelium dependent relaxation in diabetic rat aorta. *Am J Physiol* 1988; 255: H825-H833.
3. Wollf SP, Dean RT. Glucose autooxidation and protein modification: the potential role of 'autooxidative glycosylation' in diabetes. *Biochem J* 1987; 245: 243-50.
4. Michiels C, Raes M, Toussaint O, Remacle J. Importance of Se-GPx, Catalase, Cu-Zn SOD for cell survival against oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 1994; 17: 235-48.
5. Arai K, Iizuka S, Tada Y, Oikawa K, Taniguchi N. Increase in the glycosylated form of erythrocyte Cu-Zn SOD in diabetes and close association of non-enzymatic glycosylation with enzyme activity. *Biochim Biophys Acta* 1987; 924: 292-6.
6. Kedziora-Kornatowska KZ, Luciak M, Blaszyk J, Pawlak W. Lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes in erythrocytes of patients with noninsulin dependent diabetes with or without diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 2829-32.
7. Wiernsperger NF. Oxidative stress as a therapeutic target in diabetes: revisiting the controversy. *Diabetes Metab* 2003; 29: 579-85.
8. Maxwell SRJ, Thomason H, Sandler D, Leguen C, Baxter MA, Thorpe GH et al. Antioxidant status in patients with uncomplicated IDDM and NIDDM. *Eur J Clin Invest* 1997; 27: 484-90.
9. Sundaram RK, Bhaskar A, Vijayalingam S, Viswanathan M, Mohan R, Shanmugasundaram KR. Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus with and without complications. *Clin Sci* 1996; 90: 255-60.
10. Bonnefont-Rousselot D, Bastard JP, Jaudon MC, Delattre J. Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes Metab* 2000; 26: 163-76.
11. Kaji M. Zinc in Endocrinology. *International Pediatrics* 2001; 16: 1-7.
12. Ceddia RB, Koistinen HA, Zierath JR, Sweeney G. Analysis of paradoxical observations on the association between leptin and insulin resistance. *FASEB J* 2002; 16: 1163-76.



13. Chinookoswong N, Wang JL, Shi ZQ. Leptin restores euglycemia and normalizes glucose turnover in insulin-deficient diabetes in the rat. *Diabetes* 1999; 48: 1437-92.
14. Yamagishi SI, Edelstein D, Du XL, Kaneda Y, Guzmán M, Brownlee M. Leptin induces mitochondrial superoxide production and monocyte chemoattractant protein-1 expression in aortic endothelial cells by increasing fatty acid oxidation via protein kinase A. *J Biol Chem* 2001; 276: 25096-100.
15. Seufert J, Kieffer TJ, Leech CA, Holz GG, Moritz W, Ricordi C, et al. Leptin suppression of insulin secretion and gene expression in human pancreatic islets: implications for the development of adipogenic diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 670-6.
16. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34: 497-500.
17. Mihara M, Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 1978; 86: 271-8.
18. Nourooz-Zadeh J. Ferrous ion oxidation in presence of xylenol orange for detection of lipid hydroperoxides in plasma. *Methods Enzymol* 1999; 300: 58-62.
19. Henry RJ, Cannon DC, Winkelman JW. *Clinical Chemistry; Principles and Technics*. Second edition. Harper&Row Publishers; 1974; p:699-705.
20. Unicam Atomic Absorbtion Spectrophometry Method. Manual; Unicam Ltd. United Kingdom, 1994.
21. Pitkänen OM, Martin JM, Hallman M, Akerblom HK, Sariola H, Andersson SM. Free radical activity during development of insulin-dependent diabetes mellitus in the rat. *Life Sci* 1992; 50: 335-9.
22. Van Dam PS, Van Asbeck BS, Erkelens DW, Marx JJ, Gispen WH, Bravenboer B. The role of oxidative stress in neuropathy and other diabetic complications. *Diabetes Metab Rev* 1995; 11: 181-92.
23. Lee AY, Chung SS. Contributions of polyol pathway to oxidative stress in diabetic cataract. *FASEB J* 1999; 13: 23-30.
24. Altan N, Dinçel AS, Koca C. Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres. *Turk J Biochem* 2006; 31: 51-6.
25. Obrosova IG, Van Huysen C, Fathallah L, Cao XC, Greene DA, Stevens MJ. An aldose reductase inhibitor reverses early diabetes-induced changes in peripheral nerve function, metabolism, and antioxidative defense. *FASEB J* 2002; 16: 123-5.
26. Kajanachumpol S, Komindr S, Mahaisiriyodom A. Plasma lipid peroxide and antioxidant levels in diabetic patients. *J Med Assoc Thai* 1997; 80: 372-7.
27. Griesmacher A, Kindhauser M, Andert SE, Schreiner W, Toma C, Knoebl P, et al. Enhanced serum levels of thiobarbituric-acid-reactive substances in diabetes mellitus. *Am J Med* 1995; 98: 469-75.
28. Altan N, Ongun CO, Hasanoğlu E, Engin A, Tuncer C, Sindel S. Effect of the sulfonylurea glyburide on superoxide dismutase activity in alloxan-induced diabetic rat hepatocytes. *Diabetes Res Clin Pract* 1994; 22: 95-8.
29. Nazaroglu NK, Sepici-Dincel A, Altan N. The effects of sulfonylurea glyburide on superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase activities in the brain tissue of streptozotocin-induced diabetic rat. *J Diabetes Complications* 2009; 23(3): 209-13.
30. Bukan N, Sancak B, Bilgihan A, Kosova F, Buğdayci G, Altan N. The effects of the sulfonylurea glyburide on glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase activities in the heart tissue of streptozotocin-induced diabetic rat. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2004; 26: 519-22.
31. Elmali E, Altan N, Bukan N. Effect of the sulphonylurea glibenclamide on liver and kidney antioxidant enzymes in streptozocin-induced diabetic rats. *Drugs R D* 2004; 5: 203-8.
32. Kesavulu MM, Rao BK, Giri R, Vijaya J, Subramanyam G, Apparao C. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in Type 2 diabetics with coronary heart disease. *Diabetes Res Clin Pract* 2001; 53: 33-9.
33. Altan N, Ongun CO, Elmali E, Kiliç N, Yavuz O, Cayci B. Effect of the sulfonylurea glyburide on glutathione and glutathione peroxidase activity in alloxan-induced diabetic rat hepatocytes. *Gen Pharmacol* 1994; 25: 875-8.
34. Azar ST, Salti I, Zantout MS, Shahine CH, Zalloua PA. Higher serum leptin level in women than in men with type 1 diabetes. *Am J Med Sci* 2002; 323: 206-9.
35. Soliman AT, Omar M, Assem HM, Nasr IS, Rizk MM, El Matary W, et al. Serum leptin concentrations in children with type 1 diabetes mellitus: relationship to body mass index, insulin dose, and glycemic control. *Metabolism* 2002; 51: 292-6.
36. Passaro A, Calzoni F, Zamboni PF, Manservigi D, Alberti L, Dalla Nora E, et al. Role of diabetes in influencing leptin concentration in elderly overweight patients. *Eur J Endocrinol* 2001; 145: 173-9.
37. Sivitz WI, Wayson SM, Bayless ML, Larson LF, Sinkey C, Bar RS, et al. Leptin and body fat in type 2 diabetes and monodrug therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 1543-53.

**Yazışma adresi:**

Dr. Nilgün Altan  
Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya  
Anabilim Dalı, Ankara  
Tel : 0.312 202 69 62  
E-posta : naltan@gazi.edu.tr