

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
BİYOKİMYA ve KLİNİK BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**TİP 2 DİABETES MELLİTUS'LU HASTALARDA  
SERUM LEPTİN DÜZEYLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ramazan KOCABAŞ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Mehmet TARAĞÇIOĞLU

Gaziantep – 2003

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER .....	I
ÖNSÖZ .....	III
KISALTMALAR .....	IV
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ .....	V
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Diabetes Mellitus .....	3
2.1.1. Diabetes Mellitus'un Tanı kriterleri .....	3
2.1.2. Diabetes Mellitus'un Fizyopatolojisi .....	4
2.1.3. Diabetes Mellitus'un Sınıflandırılması .....	6
2.1.3.1. Tip 1 Diabetes Mellitus .....	6
2.1.3.2. Tip 2 Diabetes Mellitus .....	7
2.1.3.3. Gestasyonel Diabetes Mellitus .....	9
2.1.4. Diabetes Mellitus Komplikasyonları .....	9
2.2. Obezite .....	10
2.2.1. Obezitenin Sınıflandırılması ve Tipleri .....	10
2.2.2. Obezite ve Tip 2 Diabetes Mellitus .....	12
2.2.3. Yağ Dokusu ve Tip 2 Diabetes Mellitus .....	12
2.3. Leptin .....	14
2.3.1. Leptinin Yapısı .....	14
2.3.2. Leptinin Sentezi ve Yıkımı .....	15
2.3.3. Leptinin Biyolojik Fonksiyonları .....	17
2.3.4. Leptin ve Tip 2 Diabetes Mellitus .....	19
3. MATERYAL VE METOD .....	21
3.1. Tip 2 Diyabetli Hasta Grubu ve Kontrol Grubunun Seçilmesi ....	21
3.2. Kan Örneklerinin Alınması ve Saklanması .....	21
3.3. Kullanılan Alet ve Malzemeler .....	22
3.4. Yöntemler .....	23
3.4.1. Glukoz ölçümü .....	23
3.4.2. Total Kolesterol ölçümü .....	23
3.4.3. Trigliserit ölçümü .....	24
3.4.4. HDL Kolesterol ölçümü .....	25
3.4.5. Ürik asit ölçümü .....	26

3.4.6. Kreatinin ölçümü .....	27
3.4.7. Üre ölçümü .....	27
3.4.8. Hemoglobin A <sub>1c</sub> ölçümü .....	28
3.4.9. İnsülin ölçümü .....	30
3.4.10. C-peptid ölçümü .....	30
3.4.11. Leptin Ölçümü .....	31
3.4.12. LDL Kolesterol düzeyinin hesaplanması .....	34
3.4.13. Vücut kütle indeksinin hesaplanması .....	35
3.4.13. İstatistiksel Analizler .....	35
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>37</b>
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>53</b>
<b>6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER .....</b>	<b>58</b>
<b>7. ÖZET .....</b>	<b>60</b>
<b>8. İNGİLİZCE ÖZET .....</b>	<b>61</b>
<b>9. KAYNAKLAR .....</b>	<b>62</b>

## ÖNSÖZ

Tez çalışmalarımnda ve uzmanlık eğitimimde maddi ve manevi desteğini esirgemeyen tez danışmanım sayın hocam Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU'na en içten duygularıyla teşekkür ediyorum.

Hasta grubunun seçilmesinde ve tez çalışmalarımnda yardımlarını esirgemeyen Endokrinoloji Bilim Dalı öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Ersin AKARSU'ya çok teşekkür ediyorum.

Uzmanlık eğitimimde ve yetişmemde emeği geçen çok değerli hocalarıma içtenlikle teşekkür ediyorum.

Kan örneklerin alınmasında ve testlerin çalışılmasında emeği geçen biyokimya laboratuvarımızın kıymetli elemanlarına teşekkürü bir borç bilirim.

**KISALTMALAR**

ELİSA: Enzyme linked immunosorbent assay

GAD : Glutamik asit dekarboksilaz

ICA : Adacık hücre antikoru

IL-6 : İnterlökin-6

LADA : Latent immün diyabet

PAI-1 : Plazminojen aktivatör inhibitör-1

PEG : Polietilen glikol

TNF : Tümör nekrozis faktör

## TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
<b>Tablo 1:</b> Diabetes Mellitus tanısında kullanılan kriterler .....	3
<b>Tablo 2:</b> Diabetes Mellitus'un sınıflandırılması ve diğer hiperglisemik durumlar .....	6
<b>Tablo 3:</b> Vücut kütle indeksine göre obezitenin sınıflandırılması .....	11
<b>Tablo 4:</b> Leptin eksikliği veya leptin direnci ile ilişkili durumlar .....	18
<b>Tablo 5 :</b> Grupların genel verileri .....	37
<b>Tablo 6:</b> Çalışma grubunda leptin ve diğer testlerin ortalama değerleri .....	38
<b>Tablo 7:</b> Obez ve obez olmayan olgularda ortalama vücut kütle indeksleri	43
<b>Tablo 8:</b> Obez ve obez olmayan olgularda ortalama serum leptin düzeyleri	44
<b>Tablo 9:</b> Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda obez ve obez olmayan erkek ve kadınlarda ortalama vücut kütle indeksleri .....	45
<b>Tablo 10:</b> Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda obez ve obez olmayan erkek ve kadınlarda yaş ortalamaları ve olgu sayıları .....	45
<b>Tablo 11:</b> Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda obez ve obez olmayan erkek ve kadınlarda ortalama serum leptin düzeyleri .....	47
<b>Tablo 12:</b> Erkeklerde serum leptin düzeyleri için lineer regresyon analizi ...	47
<b>Tablo 13:</b> Kadınlarda serum leptin düzeyleri için lineer regresyon analizi ...	48
<b>Tablo 14:</b> Tip 2 diyabetlilerde alt grupların ortalama diyabet süreleri .....	48
<b>Tablo 15:</b> Tip 2 diyabetlilerin tedavi şekline göre serum leptin düzeyleri .....	49
<b>Tablo 16:</b> Tip 2 diyabet grubunda kronik diyabet komplikasyonları olan olguların diyabet alt gruplarına göre dağılımı .....	49
<b>Tablo 17:</b> Retinopatisi olan ve olmayan olgularda serum leptin düzeyleri ...	50

<b>Tablo 18:</b> Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda trigliserit yüksekliği olan ve olmayan olguların ortalama serum leptin düzeyleri .....	51
<b>Tablo 19:</b> Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda total kolesterol yüksekliği olan ve olmayan olguların ortalama serum leptin düzeyleri .....	52
<b>Tablo 20:</b> Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda menopozu olan ve olmayan olguların ortalama serum leptin düzeyleri .....	52

\*\*\*

<b>Şekil 1:</b> Yağ Dokusundan Salgılanan Hormonlar ve Diğer Faktörler .....	13
<b>Şekil 2:</b> Leptin Sentezinin Düzenlenmesi .....	16
<b>Şekil 3:</b> Tip 2 diyabet ve kontrol grubunun ortalama serum leptin düzeyleri	39
<b>Şekil 4:</b> Tip 2 diyabet ve kontrol grubunun ortalama serum insülin düzeyleri .....	39
<b>Şekil 5:</b> Tip 2 diyabet ve kontrol grubunun ortalama serum C-peptid düzeyleri .....	40
<b>Şekil 6:</b> Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda ortalama serum glukoz düzeyleri .....	41
<b>Şekil 7:</b> Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda ortalama HbA <sub>1c</sub> düzeyleri .....	41
<b>Şekil 8:</b> Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda lipit profili .....	42
<b>Şekil 9:</b> Obez ve obez olmayan olgularda ortalama serum leptin düzeyleri	44
<b>Şekil 10:</b> Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda obez ve obez olmayan erkek ve kadınlarda ortalama serum leptin düzeyleri .....	46

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tip 2 diabetes mellitus tüm dünyada ve ülkemizde çok yaygın olarak görülen bir karbonhidrat metabolizması hastalığıdır. Hastalığın seyri sırasında ortaya çıkan akut ve kronik komplikasyonlar, dünyada her yıl binlerce kişinin ölümüne sebep olmaktadır. Tip 2 diyabetin tedavisindeki temel hedef, başarılı bir diyabet kontrolü ile akut ve kronik komplikasyonları önlemek ve hastalara yüksek bir yaşam kalitesi sağlamaktır (1).

Tip 2 diabetes mellitus ve obezite arasında sıkı bir ilişki vardır. Tip 2 diyabet olgularının yaklaşık % 80'i obezdir (1). Belki de obezite insidansının tüm dünyada artmasının bir sonucu olarak tip 2 diyabet insidansı da giderek artış göstermektedir. Obezitenin tipi ve derecesine göre tip 2 diyabet riski de artış gösterir. Tip 2 diyabet ve diğer sağlık riskleri, obezitenin santral tipinde daha yüksek oranda görülmektedir (2).

Tip 2 diyabetteki temel patolojik bozukluk insülin direncidir. İnsülin direnci; normal insülin düzeylerinde dokuların insüline cevabındaki azalma olarak tanımlanır (3). İnsülin direnci, tip 2 diyabetlilerde ve diyabeti olmayan obez bireylerde görülmektedir. Obezite insülin direncini arttırmaktadır (2).

Enerji alımının tüketilen enerjiden fazla olması obezite ile sonuçlanmaktadır. Obezite vücut yağının miktarındaki artış ile karakterizedir. Vücudun ihtiyaçlarından fazla olan enerji trigliserit şeklinde yağ dokusunda depolanmaktadır (4,5). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, yağ dokusunun sadece bir depo bir organı olmadığı ve metabolizmanın düzenlenmesinde aktif bir rol oynadığı tespit edilmiştir. Yağ dokusundan salgılanan bir hormon olan leptinin keşfiyle, yağ dokusunun endokrin rolünün de olduğu açığa çıkmıştır. Yağ dokusundan salgılanan leptin, adiponektin, tümör nekrozis faktör- $\alpha$  ve interlökin-6 gibi bir takım hormon ve sitokinler karbonhidrat metabolizmasının potansiyel düzenleyicileri olarak kabul edilmektedirler. Ayrıca, bu faktörlerin periferik dokulardaki insülin duyarlılığını



etkiledikleri ve obezite ile ilişkili hastalıkların patogenezinden sorumlu olabilecekleri genel kabul görmektedir (6-11).

Leptin yağ dokusundan salgılanan peptid yapılı bir hormondur. Yağ dokudaki leptin sentezi hormonlar başta olmak üzere (insülin, östrojen) daha bir çok faktörden etkilenmektedir. Leptinin temel fonksiyonu, hipotalamus yoluyla gıda alımını ve enerji tüketimini düzenlemektir. Ayrıca leptin; immün sistem, damar gelişimi, otonom sinir sistemi, adrenal bez, over, pankreas adacık hücreleri, hipofiz bezi ve kemik iliği üzerinde de santral ve periferik etkilere sahiptir. Leptinin glukoz metabolizması ve insülin etkilerinde de düzenleyici fonksiyonları olduğu kabul edilmektedir (12-14).

Bu çalışmada, obez ve obez olmayan tip 2 diabetes mellituslu hastalardaki serum leptin düzeyleri sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldı. Ayrıca serum leptin düzeylerinin glisemik kontrol parametreleri ile olan ilişkisi değerlendirildi.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. DİABETES MELLİTUS

Diabetes mellitus; insülinin kısmen ya da tamamen eksikliği veya insülin direnci sonucu ortaya çıkan, kendini hiperglisemi ile belli eden, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozukluklarıyla karakterize, metabolik ve endokrin bir hastalıktır (1).

#### 2.1.1. Diabetes Mellitus'un Tanı kriterleri

Diabetes mellitus tanısında kullanılan kriterler Tablo 1'de verilmiştir. Bu tanı kriterleri, Ulusal Diyabet Bilgi Grubu ve Dünya Sağlık Örgütü tarafından belirlenmiştir. Tablo 1'de belirtilen kriterlerden herhangi birisinin olması diabetes mellitus tanısı için yeterlidir. Ancak, tanıda kullanılan kriterin farklı bir günde doğrulanması gerekir (15).

Tablo 1 : Diabetes Mellitus tanısında kullanılan kriterler \*

- 
- Klasik diyabet semptomları (sık idrar çıkartma, çok su içme ve açıklanamayan kilo kaybı) ile beraber herhangi bir zamanda ölçülen plazma glukozunun  $\geq 200$  mg/dL olması
  - En az 8 saat kalori alımının olmadığı bir açlıktan sonra venöz kandan ölçülen plazma glukozunun  $\geq 126$  mg/dL olması
  - 75 gram saf glukoz ile yapılan oral glukoz tolerans testinde 2. saat plazma glukozunun  $\geq 200$  mg/dL olması
- 

\* Bu kriterlerden herhangi birisinin olması ve farklı bir günde doğrulanması tanı için yeterlidir.

### 2.1.2. Diabetes Mellitus'un Fizyopatolojisi

Karbonhidrat metabolizması insan vücudunun temel enerji kaynağı olan glukozu sağlamaktadır. Vücuttaki glukozu tüketen temel organ, beyindir. Toplam vücut glukozunun yaklaşık % 50-60'ı beyin tarafından kullanılmaktadır (16). Splanik yatak, eritrositler ve diğer parankimal organlar total glukozun yaklaşık % 20-25'ni kullanmaktadırlar (17). Toplam vücut glukozunun %10-20'si iskelet kası tarafından, %1-5'i de yağ dokusu tarafından kullanılmaktadır (18).

Karbonhidratların sindirimi ve glukozun emilmesinden sonra, glukoz vücudun ihtiyaçlarına göre iki yol izler. Glukoz ya karbondioksit ve suya çevrilerek enerji olarak kullanılır ya da depo edilir. Bu depolama karaciğer ve kas dokusunda glikojen (glikojenezis), yağ dokusunda ise trigliserit şeklinde olur (3).

Kısa süreli bir açlıkta, kan glukozunun aşırı düşüşü, karaciğerde depolanan glikojenin yıkımı ve glukozun açığa çıkması ile (glikojenolizis) önlenmektedir. Karaciğerde, glikojenden glukoz sentezi için gerekli olan glukoz 6-fosfataz enzimi bulunmaktadır. Bu enzim çok az bir miktarda böbreklerde de bulunur. İskelet kasında bu enzim olmadığı için kas glikojeninin kan glukoz konsantrasyonuna doğrudan bir katkısı yoktur (3).

Kırkiki saati aşmış uzun süreli açlıkta, glukoz üretiminin tamamı amino asitler, gliserol ve laktat gibi karbonhidrat olmayan maddelerden sağlanmaktadır (glukoneogenezis) (3).

Vücudun karbonhidrat ihtiyacı ve karbonhidrat alımındaki geniş dalgalanmalara rağmen kan glukoz konsantrasyonu dar sınırlar içinde sürdürülmektedir. Glukoz konsantrasyonundaki bu düzenlenme; başta insülin olmak üzere glukagon, adrenalin, kortizol ve büyüme hormonu ile sağlanmaktadır. İnsülin, kan glukoz konsantrasyonunu düşürürken diğer hormonlar yükseltmektedirler (3).

İnsülin, pankreasın  $\beta$ -hücreleri tarafından üretilen 51 amino asitlik bir proteindir. İnsülinin molekül ağırlığı 6000 daltondur. Pankreas  $\beta$ -hücrelerinde insülin sentezi preproinsülin ile başlar. Daha sonra preproinsülininden proinsülin, proinsülininden de insülin sentezlenir ve bu sırada C-peptid de açığa çıkar (3).

İnsülin anabolik bir hormondur; kas ve yağ hücrelerinin glukoz alımını uyarır ve glukozun bu hücrelerde glikojen veya yağ şeklinde depolanmasını sağlar. Kantitatif olarak insülin aracılı glukoz tüketiminin en önemli bölgesi iskelet kasıdır. İnsülin, protein sentezini uyarır ve protein yıkımını baskılar. Ayrıca insülin karaciğerdeki glukoz üretimini de baskılar (3).

Glukoz, amino asitler, pankreas ve sindirim sistemi hormonları (glukagon, gastrin, sekretin, pankreozimin, gastrointestinal polipeptid) ile bazı ilaçlar (sülfonilüre,  $\beta$ -adrenerjik agonistler) insülin salgısını uyarmaktadırlar. Hipoglisemi, somatostatin ve bazı ilaçlar ( $\alpha$ -adrenerjik agonistler,  $\beta$ -blokerler, fenitoin, diazoksid, fenotiyazinler ve nikotinic asit) insülin salgısını baskılamaktadırlar (3).

İnsülin için temel hedef organlar; karaciğer, iskelet kası ve yağ dokusudur. Bu organların insüline karşı cevaplarında farklılıklar görülmektedir. Örneğin; insülin kas ve yağ hücrelerine glukozun girişini özel glukoz taşıyıcı (GLUT4) ile uyarırken, karaciğer hücrelerinde böyle bir etkisi görülmemektedir (3).

Normal glukoz tüketimi; pankreastan olan insülin salgısına, insülinin periferik dokularda glukozun hücre içine girişini arttırmasına ve karaciğerde glukoz üretimini baskılamasına bağlıdır. Normalde glukoz alınmasıyla insülin salgısı artar, glukagon salgısı azalır ve endojen glukoz üretimi baskılanır (3). Tip 2 diyabette, yemek sonrası plazma glukagon konsantrasyonunun baskılanması ve glukozla uyarılmış insülin salgısı genellikle körelmiştir (19).

İnsülin sağlıklı bireylerde pulsatil bir şekilde salgılanmaktadır. Pankreastaki glukoz ile uyarılmış insülin salgısı iki fazda açığa çıkar. Birinci faz insülin salgısı; intravenöz glukozdan 1-2 dakika sonra başlar ve 10 dakika içinde sonlanır. İkinci faz insülin salgısı ise birinci fazdan hemen sonra başlar ve kan glukoz konsantrasyonu normal sınırlara düşünceye kadar devam eder. İkinci faz yaklaşık 60-120 dakika sürmektedir. İlerlemiş  $\beta$ -hücre fonksiyonu yetersizliğinde, glukozla karşı olan birinci faz insülin cevabı kaybolmuştur. Fakat; glukagon veya amino asitler gibi diğer uyarıcılar bu cevabı ortaya çıkarabilirler. Tip 2 diyabetli hastaların çoğunda, ikinci faz insülin salgısı korunmuş olmakla beraber birinci fazdaki her iki cevap ve normal pulsatil insülin salgısı kaybolmuştur. Bunun tersine tip 1 diyabetli hastalarda her iki fazda da insülin cevabı çok azdır veya yoktur (3).

### 2.1.3. Diabetes Mellitus'un Sınıflandırılması

Diabetes mellitus'un sınıflandırılması ve diğer glukoz intoleransı durumları Tablo 2'de özetlenmiştir (3). Daha önceden tip 1 diyabet insüline bağımlı diyabet, tip 2 diyabet ise insülininden bağımsız diyabet olarak adlandırılırdı. Dünya Sağlık Örgütü, insüline bağımlı ve bağımsız diyabet terimleri yerine tip 1 ve tip 2 diyabet terimlerinin kullanılmasını öngörmüştür (15).

Tablo 2 : Diabetes Mellitus'un sınıflandırılması ve diğer hiperglisemik durumlar

<b>Diabetes Mellitus</b>	<b>Diğer Hiperglisemik Durumlar</b>
❖ Tip 1 diabetes mellitus <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Otoimmün</li> <li>▪ İdiopatik</li> </ul>	❖ Bozulmuş glukoz toleransı
❖ Tip 2 diabetes mellitus	❖ Bozulmuş açlık glukozu
❖ Gestasyonel diabetes mellitus	❖ Diyabetin diğer spesifik tipleri

#### 2.1.3.1. Tip 1 Diabetes Mellitus

Tüm diabetes mellitus olgularının yaklaşık % 5-10'unu tip 1 diyabetli hastalar teşkil eder. Tip 1 diyabet, genellikle çocukluk ve ergenlik döneminde ortaya çıkar. Tip 1 diyabet yaklaşık % 75 oranında 30 yaşından önce başlamakla beraber herhangi bir yaşta da ortaya çıkabilir. Hastaların vücut ağırlığı genellikle normal sınırların altındadır. Hastalık genellikle ani başlangıç gösterir. Pankreasın  $\beta$ -hücrelerinin yıkımı nedeniyle tip 1 diyabetli hastalarda insülin eksikliği vardır. Hiperglisemi ve ketoasidoz semptomları sık görülür. Bu hastalarda yaşamın devamı ve diyabetik komanın önlenmesi için mutlak insülin tedavisi gerekmektedir.  $\beta$ -hücrelerindeki yıkım genellikle otoimmün mekanizmalar yoluyla olmaktadır (3), tanı konulduğunda hastaların % 65-90'nında adacık hücre antikoru tespit edilebilir (20). Bazı hastalarda otoimmüniteden bağımsız idiyopatik  $\beta$ -hücre yıkımı da görülebilmektedir (3).

### 2.1.3.2. Tip 2 Diabetes Mellitus

Bütün diabetes mellitus olgularının yaklaşık % 90'ı tip 2 diyabetlilerden meydana gelir. Tip 2 diyabetlilerin dünya çapındaki sayısı 2000 yılında yaklaşık 160 milyon olup, 2010 yılında 215 milyona yükseleceği tahmin edilmektedir (21). Tip 2 diyabet, erişkin yaşta ve genellikle de 40 yaşından sonra ortaya çıkar. Bununla beraber hastalık daha erken yaşlarda başlayabilir. Belki de obezite insidansının artmasının bir sonucu olarak tip 2 diyabetin başlangıç yaşı giderek düşmektedir (22).

Tip 2 diyabette insülinin hem salgısında hem de etkilerinde bozukluk vardır (23,24). Tip 2 diabetes mellitusta, periferik dokularda insülin ile uyarılmış glukoz kullanımı bozulmuş olup, pankreasta rezidüel insülin salgısı bulunmaktadır. Bununla beraber tip 2 diyabetlilerde serum insülin düzeyleri normal, azalmış veya artmış olabilir. Normal glukoz toleransından tip 2 diyabete geçiş, vücut ağırlığındaki artışla ilişkilidir. Ayrıca buna; insülinle uyarılmış glukoz kullanımındaki azalma, intravenöz glukozu karşı akut insülin salgısındaki azalma ve bazal endojen glukoz üretimindeki artış eşlik eder. İnsülin etkilerindeki bu değişiklikler insülin direnci olarak tanımlanır. Tip 2 diyabetteki patolojik sürecin temelini insülin direncinin oluşturduğu düşünülmektedir (3). Tip 2 diyabetin ortaya çıkmasında insülin direncinin ön gösterge olduğu farklı etnik gruplarda gösterilmiştir (25).

Tip 2 diyabette, glukoneogenesis artarken glikojenoliz hızının değişmediği bulunmuştur (26,27). Tip 2 diabetes mellitustaki açlık hiperglisemisinden glukoneogenezisteki artışın sorumlu olduğu düşünülmektedir. Bununla beraber tip 2 diyabetli hastalarda glikojenolizis baskılanmadıkça, açlık plazma glukoz konsantrasyonunun düşürülmesi için glukoneogenezisin baskılanması yeterli olmamaktadır (28). Diabetes mellitustaki kronik hiperglisemi, glukoz kullanımında insülin direncini arttırmaktadır. Bu fenomen insülin etkisine glukoz toksisitesi olarak da bilinir (29).

Akut diyabet semptomları ve diyabetik koma; tip 2 diyabette, tip 1 diyabete oranla daha seyrek görülmektedir (3).

Tip 2 diyabetliler genellikle diyet ve oral antidiyabetik ilaçlar ile tedavi edilirler, bazen de insülin tedavisi gerektirmektedirler (3).

Tip 2 diyabet, hipergliseminin yanında hiperlipidemi ile de karakterizedir ve bu durum koroner arter hastalığı riskini 4 kat veya daha yüksek oranda arttırmaktadır (30).

Tip 2 diyabet ve obezite birbiriyle yakından ilişkilidir ve sadece kilo kaybının sağlanması hiperglisemiye genellikle iyiye götürür. Tip 2 diyabetli hastaların en az % 80'i fazla kiloludur ve obezite tip 2 diyabette tipik bir bulgudur. Tip 2 diyabetteki obezite, sıklıkla santral tiptedir. Tip 2 diyabetlilerin çoğunluğu insüline dirençli ve obez olmakla beraber, bir kısmı non-obez, nispeten insüline duyarlı ve kısmi insülin eksikliğine sahiptirler (1).

Tip 2 diyabetin ortaya çıkmasında ikinci en önemli risk faktörü, fiziksel aktivitedeki azalmadır. Orta derecede fiziksel aktivite alışkanlığı olan erkeklerdeki diyabet riski, aynı özelliklere sahip (yaş, vücut kütle indeksi ve diğer risk faktörleri) fiziksel olarak aktif olmayan erkeklere göre çok daha azdır (31). Fiziksel aktivite insülin duyarlılığını arttırmaktadır. Bu nedenle fiziksel aktivite, diyabetin önlenmesi için temel bir mekanizma olabilir (32). Tuomilehto ve arkadaşları (33) bozulmuş glukoz toleransı olan olgularda diyet ve egzersiz gibi yaşam stilindeki değişikliklerin diyabet riskini %58 azalttığını, ayrıca diyabet insidansındaki azalmanın yaşam stilindeki değişiklikler ile doğrudan ilişkili olduğunu göstermişlerdir.

Tip 2 diyabetin patogenezinde, otoimmün mekanizmaların rolü pek olmamakla beraber, yetişkinlerde latent immün diyabet olarak adlandırılan (LADA) diyabetin yavaş gelişen otoimmün tipi, tip 2 diyabetin bir alt grubu olarak kabul edilmektedir (34). Adacık hücre antikorlarının varlığı (adacık hücre antikoru = ICA, glutamik asit dekarboksilaz antikor = GAD-antikor) varlığı, tip 2 diyabetli hastalarda insülin bağımlılığı için bir belirleyicidir (35). LADA tip diyabetik hastalar, genellikle tip 2 diyabetin klinik özelliklerine sahiptirler. Fakat, bu hastalarda beta hücrelerinin progresif otoimmün yıkımı sonucu tam insülin eksikliği görülebilir. Bu hastalar genellikle birkaç yıl içinde insülin tedavisine ihtiyaç gösterirler (36).

Tip 2 diyabetin genetik özellikleri çok kompleks olup, tek majör gen defekti bulunmamaktadır ve tip 1 diyabetteki HLA genlerinden tamamen farklıdır. Bununla beraber, tip 2 diyabetlilerde bir takım genomik bölgelerde örneğin; 1, 7,11 ve 20. kromozomlarda görülen ilginç replikasyonlar ayrıntılı araştırmalar gerektirmektedir.

Fiziksel aktivite ve diyet gibi yaşam şekli ile ilgili faktörler, diyabete karşı hassas fenotiplerin ortaya çıkışında çok önemli rol oynamaktadırlar (37).

Tip 2 diyabette genellikle çoklu gen bozukluğu olmakla beraber (37), gençlerde erken başlangıç gösteren ve MODY tip diyabet olarak adlandırılan tip 2 diyabetin nadir görülen bu formunda tek gene bağlı otozomal dominant geçiş görülebilmektedir. MODY tip diyabete şimdilik 5 gendeki mutasyonların sebep olduğu bilinmektedir. Bu genlerde; hepatosit nüklear faktör-4 alfa (MODY 1), glukokinaz (MODY 2), hepatosit nüklear faktör-1 alfa (MODY 3), insülin promotor faktör-1 (MODY 4) ve hepatosit nüklear faktör-1 beta (MODY 5) kodlanmıştır. Bu genler, insülin salgısında bir takım bozukluklara sebep olmaktadır. MODY tip diyabetliler, klasik tip 2 diyabetliler gibi, genellikle diyet ve oral antidiyabetik ilaçlar ile tedavi edilirler ve uzun süreli insülin tedavisi gerektirmezler (38).

#### **2.1.3.4. Gestasyonel Diabetes Mellitus**

Gebelik, normalde artmış insülin direnci ile ilişkilidir. Bu direnç özellikle de gebeliğin 2. ve 3. trimestirinde görülür. Gestasyonel diyabet gelişen gebelerde, normal glisemi artmış insülin salgısı ile sürdürülür (3).

Birinci derece yakınlarda diyabet bulunması, ileri gebelik yaşı ve obezite gestasyonel diyabet gelişimi için önemli risk faktörleridir. Ayrıca hastalarda ölü doğum veya iri bebek doğurma öyküsü olabilir. Gestasyonel diyabeti olanlarda, doğumdan sonraki 15 yıl içinde, %60 oranında diabetes mellitus gelişme riski vardır (3).

#### **2.1.4. Diabetes Mellitus Komplikasyonları**

Diyabet süresince akut ve kronik bir takım komplikasyonlar ortaya çıkabilmektedir. Diyabetik ketoasidoz ve non-ketotik hiperosmolar sendrom gibi akut diyabet komplikasyonları tip 1 diyabette daha sık görülmektedir. Diyabetin kronik komplikasyonları, tip 2 diyabette daha sık görülür. Diyabetin kronik



komplasyonları arasında mikroanjyopati, makroanjyopati, nöropati, ayak ülserleri, dermatopatiler ve enfeksiyonlar bulunmaktadır. Mikroanjyopati diyabete özgü olup, küçük arterleri tutar ve klinikte retinopati ve/veya nefropati şeklinde ortaya çıkar. Makroanjyopati; büyük arterlerde aterosklerotik değişikliklerle karakterizedir ve klinikte; koroner, serebral ve periferik arter hastalığı olarak ortaya çıkar. Nöropati; motor, sensöriyal, kraniyal ve otonomik sinir tutulumu şeklindedir. Diyabetik ayak ülserleri; mikroanjyopati, nöropati ve ateroskleroz veya bunların kombinasyonları sonucu ortaya çıkar (30, 39).

## **2.2. OBEZİTE**

Obezite, vücut yağ oranında anormal artış olarak tanımlanır. Obezite sadece kozmetik bir problem değil, aynı zamanda önemli bir sağlık problemi olarak kabul edilmektedir.

Dünya çapındaki epidemiyolojik veriler, obezite sıklığının gittikçe arttığını göstermektedir. Obezite sıklığındaki bu artış muhtemelen fiziksel aktivitenin azalması ve kötü yeme alışkanlığından kaynaklanmaktadır (4).

Obezite, kalori alımı ve enerji tüketimi arasındaki dengenin bozulmasının bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Bu dengeyi bozan sebepler tam olarak anlaşılammakla beraber, fizyolojik, genetik ve çevresel faktörlerin rol aldığı kabul edilmektedir (5).

### **2.2.1. Obezitenin Sınıflandırılması ve Tipleri**

Genel olarak, vücut yağ oranının erkeklerde % 25, kadınlarda ise % 35'den fazla olması, obezite olarak kabul edilir (5).

Vücut yağ oranı ölçümlerindeki zorluklar nedeniyle pratikte, vücut ağırlığının boy ile olan ilişkisi (vücut kütle indeksi), obezitenin derecesinin sınıflandırılmasında en çok kullanılan kriterdir. Vücut kütle indeksine göre obezitenin sınıflandırılması Tablo 3'de gösterilmiştir (4).

Tablo 3 : Vücut kütle indeksine göre obezitenin sınıflandırılması

Kategori	Vücut Kütle İndeksi (kg/m <sup>2</sup> )
Zayıf	< 18.5
Normal	18.5 – 24.9
Kilolu	25.0 – 29.9
Obezite	≥ 30
Sınıf – I	30.0 – 34.9
Sınıf – II	35.0 – 39.9
Sınıf – III	≥ 40

Tipik olarak obez bir erişkinde, vücut ağırlığı standartları aşmaktadır. Bununla beraber, vücut kütle indeksi ideal sınırlar içinde olan bireyler yüksek yağ oranına sahipse obez olarak kabul edilirler. Bunun tersine, geniş kas kütesinden dolayı vücut kütle indeksi ideal sınırları aşan bireyler obez kabul edilmez. Bir kişi için belirlenen ağırlık sınırlarının ortalama değeri, o kişi için en uygun vücut ağırlığıdır. Yapılan çalışmalarda, fazla kilolu veya normalden hafif olan bireylerde mortalite riskinin arttığı gösterilmiştir (5).

Obez bireylerde vücuttaki yağ dağılımının tipi, santral (abdominal veya erkek tipi obezite) veya periferik (gluteofemoral veya kadın tipi obezite) tipte olabilir. Viseral yağ dokusunun yüksek lipolitik aktivitesinden dolayı santral tip obezitede sağlık riskleri daha belirgindir (5).

### 2.2.2. Obezite ve Tip 2 Diabetes Mellitus

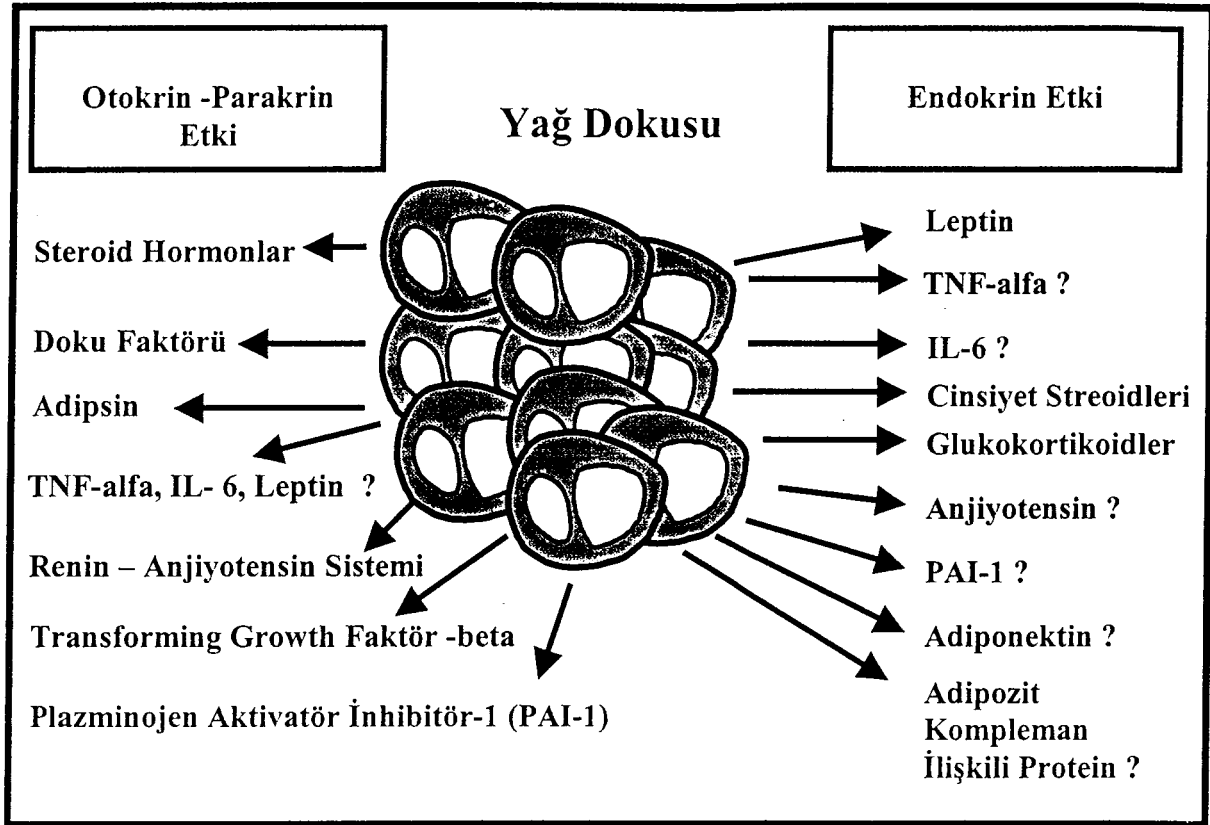
Obezite; insülin direnci, tip 2 diabetes mellitus, hiperlipidemi ve koroner kalp hastalığının gelişimine katkıda bulunmaktadır. Tip 2 diyabete zemin hazırlayan faktörlerden belki de en önemlisi obezitedir (40-42).

Obez bireylerin, obez olmayanlara oranla 2-10 kat daha yüksek tip 2 diyabet riski altında oldukları rapor edilmiştir (43). Obezite ile ilgili diyabet riski 20-45 yaş grubunda daha yüksektir ve bu yaş grubundaki obez bireyler 3.8 kat daha fazla risk altındadırlar (44). Obezite süresi ve vücut kütle indeksindeki artışla orantılı olarak tip 2 diyabet riski de artmaktadır (45). Obezite ile ilgili tip 2 diyabet riskindeki artış, daha çok santral tip obezite ile ilişkilidir (2).

### 2.2.3. Yağ Dokusu ve Tip 2 Diabetes Mellitus

Vücudun en geniş yakıt deposu, yağ dokusudur. Yağ dokusunda enerji trigliserit şeklinde depo edilmektedir. Bu enerji, şiddetli açlık gibi bazı durumlarda hızlı bir şekilde kullanılabilir. Bu enerjinin kullanımı, diğer doku ve organlardan gelen hormonal sinyaller ile düzenlenmektedir. Bu hormonlar içinde; insülin (pankreas), glukokortikoidler (adrenal bez) ve katekolaminler (sempatik sinir sistemi) bulunmaktadır (7-11).

Şimdiye kadar yağ dokusu hücrelerinin enerji dengesinde pasif bir rolü olduğu kabul edilirdi. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda, yağ dokusu hücrelerinden sentezlenen peptid yapılı bir hormon olan leptinin keşfiyle, yağ dokusunun endokrin fonksiyonlarının da olduğu ve enerji dengesinde çok önemli bir rol oynadığı açığa çıkmıştır (7-11). Ayrıca yağ dokusundan salgılanan bir takım faktörlerin obezite ile ilişkili hastalıkların patogenezinden sorumlu oldukları kabul edilmektedir. Yağ dokusundan salgılanan hormonlar ve diğer faktörler Şekil 1'de özetlenmiştir (46).



Şekil 1 : Yağ dokusundan salgılanan hormonlar ve diğer faktörler

Yağ dokusundan salgılanan serbest yağ asitleri, periferik dokularda insülin etkilerini azaltmaktadırlar. Ayrıca yağ dokusundan sentezlenen leptin, adiponektin, tümör nekrozis faktör- $\alpha$ , adipsin, plazminojen aktivatör inhibitör-1, interlökin-6, transforming growth faktör- $\beta$  ve anjiyotensinojen gibi bir takım hormon ve sitokinler (Şekil 1) glukoz metabolizmasının potansiyel düzenleyicileri olarak kabul edilmektedirler (7-11).

İnsülin direnci; hedef dokuların (yağ dokusu, karaciğer, kas dokusu) insüline normal cevabındaki yetersizlik olarak tanımlanır. Bu direnç, moleküler düzeyde insülinin reseptörlerine bağlanmasından sinyal iletim yoluna kadar herhangi bir yerde görülebilir. Obezite ile ilişkili insülin direncinde, karaciğerde glukoz üretimi artmış olup, periferik dokularda da insülin ile uyarılmış glukoz kullanımında azalma

vardır. Obezite ve insülin direnci arasındaki yüksek korelasyondan dolayı, insülin direncinin patogeneğinde yağ dokusunun belirgin bir rol oynadığı açıktır (3,47).

Obezite ile ilişkili insülin direnci; total yağ dokusu miktarına ve yağ dokusunun dağılım şekline bağlıdır. Viseral ve derin subkutanöz yağ dokuları insülin direnci ile ilişkili olan yağ dokularıdır. Yağ dokusunda yağların yıkımı sonucu ortaya çıkan serbest yağ asitlerinin fazlalığının, tip 2 diyabet ile ilişkili olduğu kabul edilmektedir. Serbest yağ asitleri, oksijen kullanımı için glukoz ile yarışır ve Randle döngüsünde glikoliz enzimlerini inhibe ederek tüm vücudun glukoz tüketimini baskırlar. Serbest yağ asitleri, karaciğerin insülin alımını bozar ve karaciğerden artmış glukoz sentezine de katkıda bulunurlar. Ayrıca leptin, tümör nekrozis faktör- $\alpha$ , rezistin, adiponektin ve interlökin-6 gibi yağ dokusundan salgılanan faktörlerin periferik dokulardaki insülin duyarlılığını etkiledikleri, tip 2 diyabet ve obezite ile ilgili hastalıkların patogeneğinden sorumlu olabilecekleri düşünülmektedir (47).

### **2.3. LEPTİN**

Leptin yağ dokusundan salgılanan bir hormondur, santral sinir sistemi ve periferik organlar arasında beslenme durumunun bir sinyali olarak görev alır. Leptin, 1994 yılında Zhang ve arkadaşları tarafından obezite geninin bir ürünü olarak keşfedildi (6). Leptinin biyolojik aktivitesinin yokluğunun hayvanlarda obezite ile sonuçlandığının gösterilmesiyle insan obezitesinin tedavisinde leptinin potansiyel kullanımı üzerine geniş araştırmalar yapıldı. Ayrıca obezite ile ilgili hastalıkların araştırılmasında leptin, yeni bir patofizyolojik belirteç olarak göz önünde bulunduruldu (12).

#### **2.3.1. Leptinin Yapısı**

Leptin, 167 amino asitten ibaret bir peptid olup, amino terminal ucundaki 21 amino asitlik kısım sinyal peptid olarak tanımlanır. Leptinin mikrozomlar içine

translokasyonunu takiben sinyal peptid molekülden ayrılır ve leptin kan dolaşımına salgılanır. Dolaşımdaki leptin 146 amino asitlik bir peptittir ve 14.000-16.000 dalton molekül ağırlığına sahiptir. İnsan leptini, fare ve rat leptini ile % 83-84 homoloji göstermektedir. Leptinin kristal yapısı dörtlü heliks yapısı ile uzun zincirli helikal yapıli sitokin ailesine (interlökin-6, interlökin-12) benzemektedir (13).

### 2.3.2. Leptinin Sentezi ve Yıkımı

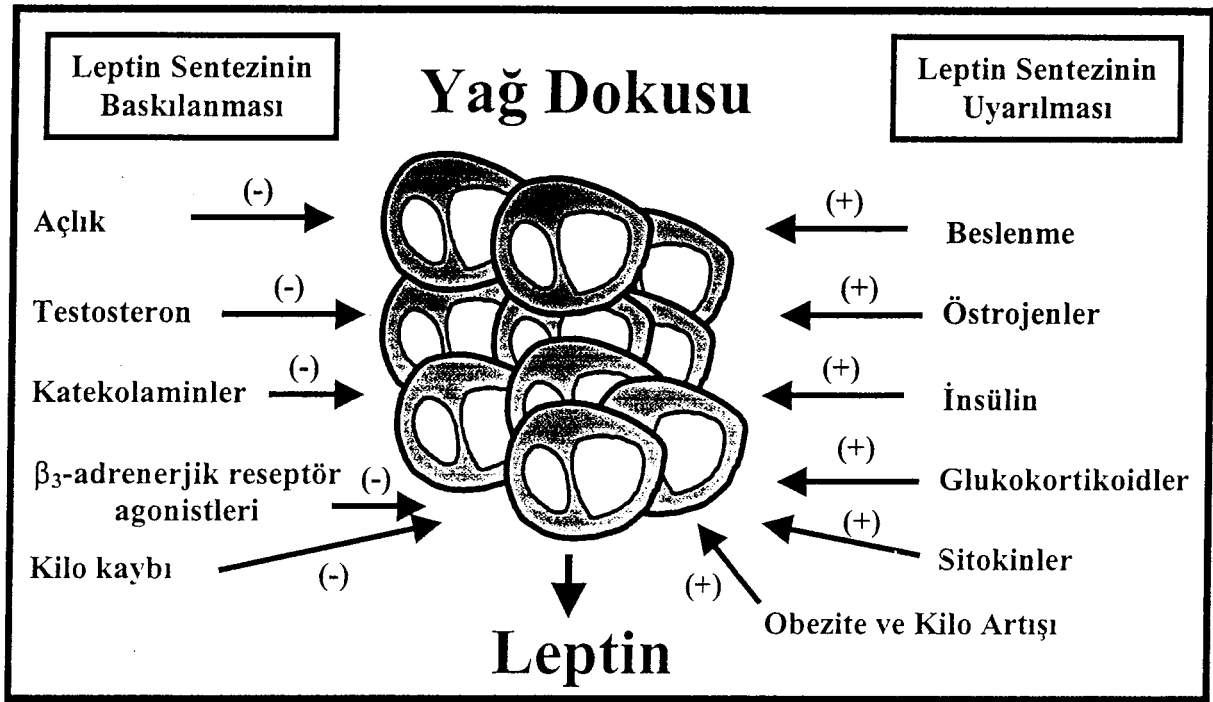
Leptin obezite geninin bir ürünüdür. Leptin geni (ob gen) 3 ekzon ve 2 introndan ibarettir ve insanlarda 7. kromozom (7q31.3) üzerinde bulunmaktadır. Bu gen 3.5 kb'lık bir mRNA içinde kopyalanmış olup 167 amino asitlik pro-hormon olan leptini kodlamaktadır. Leptin geni transkripsiyonu ve translasyonu; yağ dokusunda, plasentada ve sindirim sisteminde görülmektedir. Leptin, normal vücut ağırlığında, vücut kütle indeksi ve vücut yağ yüzdesinden çok, yağ kütlesi ile daha iyi bir korelasyon gösterir.

Dolaşımdaki leptin konsantrasyonu, yağ dokusundaki leptin mRNA'sı miktarı ile doğrudan ilişkilidir. Buna ilave olarak, diğer metabolik ve endokrin faktörler yağ hücrelerindeki leptin geni transkripsiyonun düzenlenmesine katkıda bulunmaktadırlar. İnsülin, hayvanlarda leptin mRNA'sının önemli bir düzenleyicisidir, fakat bu etki insanlarda açık olarak bilinmemektedir.  $\beta_3$ -adrenerjik reseptör agonistleri, leptin mRNA'sının düzeylerini azaltırlar. Kadın cinsiyet hormonlarından 17- $\beta$ -östradiol, leptin mRNA'sının üretimini uyarmaktadır (12-14).

Plazma leptin konsantrasyonu vücut yağ miktarı ile korelasyon göstermekle beraber, cinsiyetin de leptin düzeylerine önemli bir etkisi vardır. Aynı yağ miktarına sahip kadınlar, erkeklere göre 2 kat daha yüksek leptin düzeylerine sahiptirler. Cinsiyetler arasında leptin düzeylerindeki farklılığın cinsiyet hormonları, insülin, büyüme hormonu, katekolaminler, vücut yağ dağılımı ve primer genetik etkilerden kaynaklandığı kabul edilmektedir (48).

Enerji alımında ve büyüme-gelişmedeki değişiklikler serum leptin konsantrasyonlarını etkileyebilir (14). İnsan ve hayvan çalışmalarında, kilo kaybının leptin düzeylerini azalttığı, kilo artışının ise plazma leptin

konsantrasyonunu önemli derecede arttırdığı tespit edilmiştir. Yağ dokusundaki yağ miktarı artışı da leptin üretimini artırır (49). Ayrıca plazma leptin konsantrasyonları, metabolik hormonlar ve vücudun enerji ihtiyaçlarından da etkilenmektedir. Yağ dokusunda leptin sentezini arttıran ve baskılayan faktörler Şekil 2'de özetlenmiştir (12-14).



Şekil 2 : Leptin Sentezinin Düzenlenmesi

İnsan leptini, beyaz yağ dokusu hücrelerinden sirkadiyen ve pulsatil bir tarzda salgılanmaktadır. Leptin salgısı noktürnal bir artış gösterir (14,50). Plasentada da en az yağ dokusundaki kadar leptin sentezi gerçekleşir. Leptinin, fetüs için bir büyüme faktörü olarak veya anneden fetüse beslenme durumunun bir sinyali olarak fonksiyon görebileceği belirtilmiştir (51).

İnsan leptinin plazma yarılanma ömrü  $24.9 \pm 4.4$  dakikadır. Obezlerde ve vücut ağırlığı normal olan bireylerde leptinin plazma yarılanma ömrü aynıdır.

Dolaşımda leptinin bu kısa yarı ömrü başlıca glomerüler filtrasyon aracılı renal klirense bağlıdır (52).

### 2.3.3. Leptinin Biyolojik Fonksiyonları

Leptin, yağ hücresinden beyine metabolik durumu aktaran bir sinyaldir. Leptin hipotalamus, damar gelişimi, otonom sinir sistemi, adrenal bez, over, pankreas adacık hücreleri, hipofiz bezi ve kemik iliği üzerinde santral ve periferik etkilere sahiptir (12). Bu etkiler leptinin ilgili organlardaki spesifik reseptörlerine bağlanması ile ortaya çıkar (12,53).

Leptinin temel fonksiyonu, vücut ağırlığını düzenlemektir. Leptin obezite karşıtı bir hormondur. Leptin hipotalamustaki reseptörleri üzerinden nöropeptid Y gibi iştah artırıcı peptitlerin sentezini baskılayarak gıda alımını kısıtlamakta ve enerji tüketimini arttırmaktadır (54). Leptinin beyinde etki gösterebilmesi için kan beyin engelini geçmesi ve hipotalamustaki hedeflerine ulaşması gerekmektedir. Leptinin beyine geçişi, doyurulabilir özel taşıyıcı bir sistem ile sağlanmaktadır (55).

Periferik leptin konsantrasyonlarındaki dakikalık dalgalanmalar, hipotalamus-hipofiz-over ve hipotalamus-hipofiz-adrenal bez akslarını etkilemektedir. Bu da leptinin davranış, stres ile ilişkili endokrin fonksiyon ve üreme üzerinde düzenleyici bir etkiye sahip olabileceğini göstermektedir. Nöroendokrin fonksiyonun düzenlenmesinde leptin önemli bir role sahiptir. Hipotalamus-hipofiz-adrenal aksın fonksiyonlarının düzenlenmesine leptin katkıda bulunmaktadır. Plazma leptin konsantrasyonları ile adrenokortikotropik hormon düzeyleri arasında ters bir ilişki vardır. Leptin, böbreklerde ve adrenal bezde sempatik sinir sistemi aktivitesini arttırmaktadır. Leptin üremede de anahtar bir role sahiptir. Leptin geni eksikliği olan hipogonadizmli yetişkinlerde üreme sisteminin olgunlaşması leptin tedavisi ile uyarılabilir. Hipotalamus-hipofiz-over aksının hormonları ve leptin arasında dinamik bir ilişki vardır. Menstrüel siklusun orta ve geç foliküler fazı sırasında plazma leptin konsantrasyonları LH ile uyumlu bir artış göstermektedir. Geceleri serum leptin ve östradiol düzeylerinde uyumlu bir artış izlenir. Böylece leptin ve hipotalamus-hipofiz-over aksının hormonları arasındaki bu kapalı ilişki, beslenme durumu ve üreme fonksiyonu arasındaki bağlantıyı sağlar (12,56).



Ayrıca leptinin damar gelişimini ve hematopoezisi uyarıcı fonksiyonlarının da olduğu gösterilmiştir. Sindirim sisteminde de leptin reseptörleri vardır, ancak leptinin sindirim sistemindeki rolü açık değildir (13). Leptinin pankreas adacık hücrelerinde insülin salgısını düzenleyici etkileri de vardır (57).

Leptin, gıda alımını sınırlayan ve enerji tüketimini arttıran obezite karşıtı bir hormon olmasına rağmen, obezlerde leptin düzeyleri daha yüksektir (58). Leptinin sentezi, salgılanması, dolaşımda taşınması, kan beyin engelini geçişi, reseptörlerine bağlanması veya sinyal iletim yolundaki bozukluklar nedeniyle, leptinin beklenen etkileri görülmemekte ve sonuçta obezite ortaya çıkmaktadır. Leptin geni eksikliği veya leptin reseptör bozukluğunun, hayvanlarda obeziteye sebep olduğu tespit edilmiştir. Ancak şimdiye kadar sadece birkaç obez insanda leptin reseptörü veya leptin geninde bir bozukluk tanımlanmıştır. Bununla beraber insanlarda obez kişilerin çoğu yüksek leptin düzeylerine sahiptirler. Böylece insan obezitesi leptin direncinin bir sonucu olabilir (59). Leptin eksikliği veya leptin direnci ile ilişkili durumlar Tablo 4'de gösterilmiştir (60).

Tablo 4 : Leptin eksikliği veya leptin direnci ile ilişkili durumlar

- 
- Hiperfaji
  - Obezite
  - Diyabet ve insülin direncine duyarlılık
  - Büyümenin gecikmesi
  - Hipotiroidizm
  - Vücut ısısında azalma
  - Enerji tüketiminde azalma
  - İmmün fonksiyonlarda azalma
  - İnfertilite
  - Plazma glukokortikoid düzeylerinde artış
  - Kemik gelişiminin bozulması
-

İnsanlarda leptin molekülü veya leptin reseptöründeki mutasyonların; çocuklarda obeziteye, yetişkinlerde ise morbid obezite ve hipogonadizme sebep olduğu rapor edilmiştir. Leptin mutasyonu veya leptin eksikliği olan kişiler, biyosentetik insan leptini ile tedaviden fayda görürlerken, leptin reseptör mutasyonu olanlarda bu tedavinin faydası görülmemiştir (61,62).

#### **2.3.4. Leptin ve Tip 2 Diabetes Mellitus**

Bullo ve arkadaşları (63) yağ dokusundan salgılanan C-reaktif protein, tümör nekrozis faktör- $\alpha$  ve leptin gibi faktörlerin düşük düzeyde sistemik bir inflamasyona sebep olduklarını ve obezite ile ilişkili hastalıkların patogenezinden sorumlu olabileceklerini savunmuşlardır. Leptin periferik dokuların insülin duyarlılığını etkileyebilir. Leptinin pankreas adacık hücrelerindeki insülin salgısını baskıladığı rapor edilmiştir (64). Leptinin, glukoz metabolizmasını ve insülin etkilerini düzenleyici etkileri olduğu tespit edilmiş olmakla beraber bu düzenleme mekanizması tam açık değildir (65). De Courten ve arkadaşları (66) cinsiyet ve vücut ağırlığındaki değişikliklerden bağımsız olarak, hiperleptinemi ile insülin direnci arasında pozitif korelasyon bulmuşlardır. Donahue ve arkadaşları (67) diyabeti olmayan kadın ve erkeklerde, insülin aracılı glukoz kullanımı ile serum leptin konsantrasyonu arasında anlamlı bir negatif korelasyon bulmuşlar ve leptinin insülin direnci ile ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir. Clement ve arkadaşları (68) aşırı obez tip 2 diyabetlilerde, diyabet kontrolü iyi olmayan olguların iyi olanlara oranla daha düşük serum leptin düzeylerine sahip olduklarını ve serum leptin düzeylerinin açlık plazma glukozu ile negatif korelasyon gösterdiğini tespit etmişlerdir. Diyabet kontrolü iyi olmayan aşırı obez tip 2 diyabetlilerde leptin düzeylerindeki düşüklüğün insülin eksikliği ile ilişkili olduğunu ve obezite ile ilişkili sağlık sorunlarına katkıda bulunabileceğini belirtmişlerdir. Haque ve arkadaşları (69) serum leptin düzeyleri ve vücut kütle indeksindeki artışın insülin direnci ile kuvvetli ilişkisi olduğunu tespit etmişler ve obezitede leptin düzeylerindeki artışın insülin direnci ve tip 2 diyabet gelişimine katkıda bulunabileceğini savunmuşlardır. Wellhoener ve arkadaşları (70) plazma insülin ve glukoz düzeylerinin leptin

salgısının majör düzenleyicileri olduğunu ve leptin salgısının glukoz metabolizması ile yakından ilişkili olduğunu desteklemişlerdir.

Tip 2 diyabet ve obezite arasında kuvvetli ilişki vardır. Ülkemizde ve özellikle de bölgemizde, tip 2 diyabet ve obezite insidansı yüksektir. Leptin, obezite geninin bir ürünü olup obezite ile ilgili hastalıklarda potansiyel patofizyolojik bir faktör olarak kabul edilmektedir. Bu çalışma, tip 2 diabetes mellituslu hastalarda ve sağlıklı kontrol grubunda serum leptin düzeylerinin glisemik kontrol ve obezite ile olan ilişkisini değerlendirmek amacıyla yapıldı.

### 3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada, tip 2 diabetes mellituslu hastalarda ve sağlıklı kontrol grubunda serum leptin, insülin, C-peptid, total kolesterol, HDL kolesterol, trigliserit ve glukoz düzeyleri ile HbA<sub>1c</sub> ölçümleri yapıldı.

Çalışma öncesinde, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu'ndan etik kurul izni alındı ve çalışmaya dahil edilen bütün bireylere çalışma hakkında bilgi verildi.

#### 3.1. Tip 2 Diabetes Mellitus'lu Hastalar ve Kontrol Grubunun Seçilmesi

Çalışmaya, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrinoloji Bilim Dalı tarafından tip 2 diabetes mellitus tanısıyla izlenen 40-60 yaş arası 56'sı erkek, 62'si kadın olmak üzere toplam 118 hasta dahil edildi. Kontrol grubu olarak, 40-60 yaş arası herhangi bir hastalığı olmayan 40'ı erkek , 42'si kadın toplam 82 kişi seçildi. Serum leptin düzeyleri böbrek fonksiyonlarından etkilendiğinden dolayı, diyabetli hastalarda idrarda albümin atılımı normal olanlar (idrarda albümini <30 mg/gün) çalışmaya dahil edildi (71). Koroner, serebral ve periferik arter hastalığı olan tip 2 diyabetliler makroanjyopatili olarak kabul edildi (30,39).

#### 3.2. Kan Örneklerinin Alınması ve Saklanması

Kan örnekleri alınmadan önce, bütün katılımcıların 10-12 saat aç kalması sağlandı. Standardizasyonu sağlamak amacıyla, kanlar oturur pozisyonda antekubital venden alındı. Alınan kanlar leptin, insülin, C-peptid, total kolesterol,

HDL kolesterol, trigliserit ve glukoz ölçümlerinde kullanılacak serum örneklerini elde etmek için antikoagülan madde içermeyen tüplere, HbA<sub>1c</sub> ölçümünde kullanılacak tam kan örnekleri için ise K<sub>3</sub>EDTA'lı tüplere aktarıldı. Antikoagülansız tüplere alınan kan örneklerinin pıhtılaşması için, tüpler oda ısısında yaklaşık 15-30 dakika bekletildi. Tüplerdeki kanların pıhtılaşmasını takiben serum elde etmek için 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj işlemi yapıldı. Elde edilen serum örneklerinden leptin, insülin, C-peptid, total kolesterol, HDL kolesterol, trigliserit ve glukoz ölçümleri aynı gün yapıldı. Serum leptin düzeylerinin ölçümü için 0.5 mL serum örneği plastik serum saklama tüplerine konuldu ve analiz zamanına kadar -60 °C'da saklandı. HbA<sub>1c</sub> ölçümleri, tam kan örneklerinden günlük yapıldı.

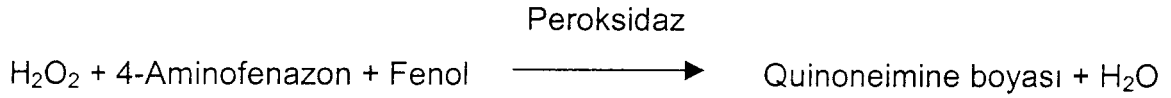
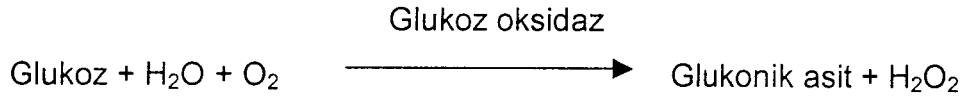
### 3.3. Kullanılan Alet ve Malzemeler

- Ayarlanabilir otomatik pipet
- Vakumlu muhtelif antikoagülansız tüpler
- Vakumlu tam kan tüpü
- Serum saklama tüpü
- Santrifüj (Eppendorf)
- Biyokimya otoanalizörü (Roche-Hitachi MODULAR Analytics, Tokyo, Japonya)
- Hormon otoanalizörü (Elecsys 2010, Tokyo, Japonya)
- Hormon otoanalizörü (Immulate One, DPC, Los Angeles)
- HbA<sub>1c</sub> otoanalizörü (DCA 2000, Bayer, A.B.D)
- Mikroplate sallayıcısı
- Strip yıkayıcı (ELx 50 Auto Strip Washer, Bio-Tek)
- Mikroplate okuyucu (ELx 800 Universal Microplate Reader, Bio-Tek)

### 3.4. Yöntemler

#### 3.4.1. Glukoz ölçümü

Serum glukoz konsantrasyonları, Roche marka ticari kit kullanarak biyokimya otoanalizöründe glukoz oksidaz yöntemiyle ölçüldü. Yöntemle ilgili reaksiyonların özeti şu şekildedir:

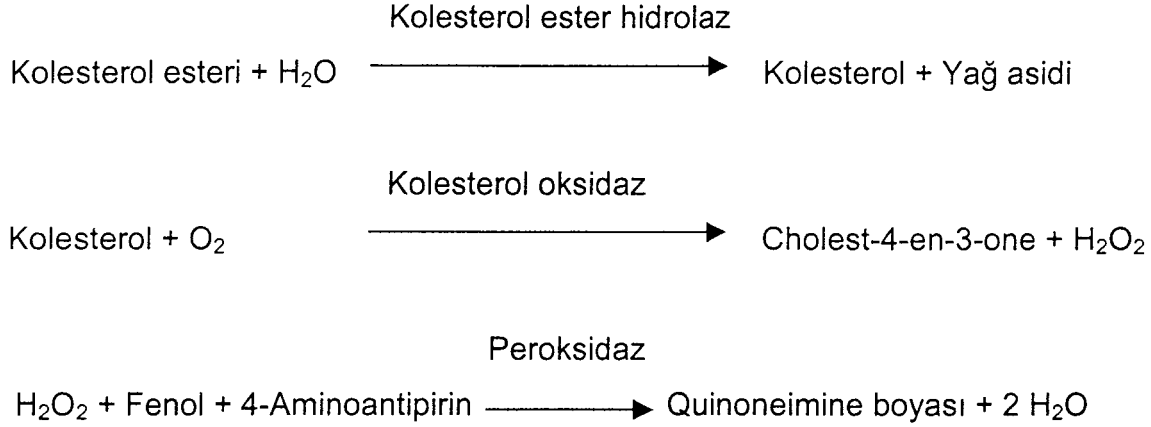


Bu reaksiyonlar sonrasında açığa çıkan hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) konsantrasyonu glukoz konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Ortamdaki hidrojen peroksit, peroksidaz enzimi ile renkli bir bileşik olan quinoneimine boyasına çevrilir ve renk yoğunluğu spektrofotometrik olarak ölçülür. Glukoz oksidaz yöntemi, 300 mg/dL glukoz konsantrasyonuna kadar linearite göstermektedir (72).

#### 3.4.2. Total Kolesterol ölçümü

Serum total kolesterol düzeyleri, Roche marka ticari kit kullanarak biyokimya otoanalizöründe enzimatik-kolorimetrik yöntemle ölçüldü.

Serum total kolesterol düzeylerinin ölçülmesi ile ilgili reaksiyonların özeti şu şekildedir:



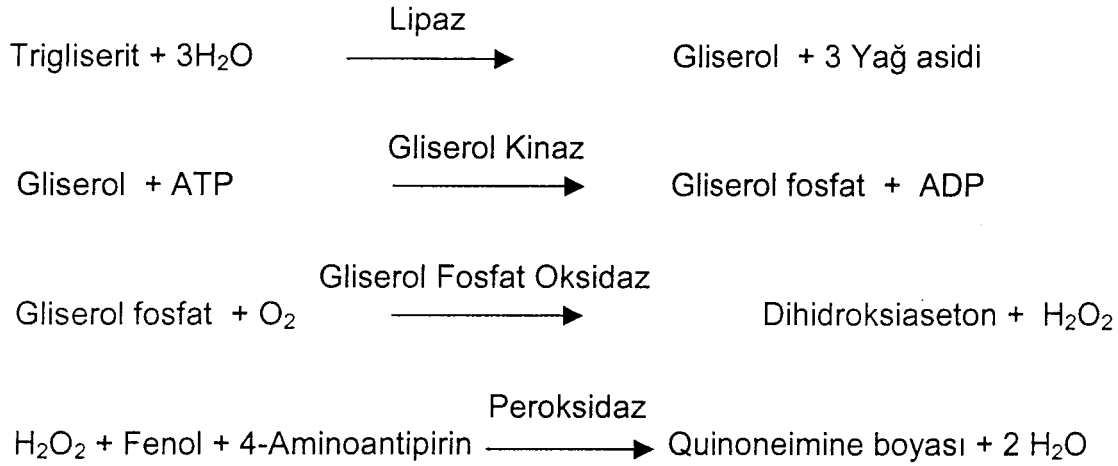
Enzimatik total kolesterol ölçüm yöntemlerinde; serumda bulunan kolesterol esterleri, kolesterol ester hidrolaz enzimi ile serbest kolesterole çevrildikten sonra serbest kolesterol, kolesterol oksidaz enzimi ile yıkıma uğratılır. Bu reaksiyon sırasında total kolesterol konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak hidrojen peroksit açığa çıkmaktadır. Ortamdaki hidrojen peroksit, peroksidaz enzimi ile renkli bir bileşiğe döner ve bu bileşiğe ait renk spektrofotometrik olarak ölçülür. Bu ölçüm yöntemi yaklaşık 600-700 mg/dL kolesterol konsantrasyonuna kadar linearite göstermektedir (73).

### 3.4.3. Trigliserit ölçümü

Serum trigliserit düzeyleri, Roche marka ticari kit kullanarak biyokimya otoanalizöründe enzimatik-kolorimetrik yöntemle ölçüldü.

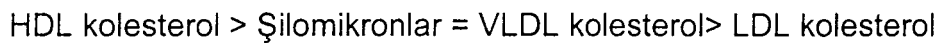
Bütün enzimatik trigliserit ölçüm yöntemlerinde ilk basamak, trigliseritlerin lipaz enzimi ile gliserol ve yağ asitlerine yıkılması ile başlar. Daha sonra gliserol, gliserol kinaz enzimi ile gliserolfosfata çevrilir. Bu reaksiyon sırasında açığa çıkan hidrojen peroksit konsantrasyonu trigliserit konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Ortamdaki hidrojen peroksit, peroksidaz enzimi ile renkli bir bileşik olan quinoneimine çevrilir ve renk spektrofotometrik olarak ölçülür. Enzimatik trigliserit

ölçüm yöntemleri, 700 mg/dL trigliserit konsantrasyonuna kadar linearite göstermektedir (73). Yöntemle ilgili reaksiyonların özeti şu şekildedir:



#### 3.4.4. HDL-Kolesterol ölçümü

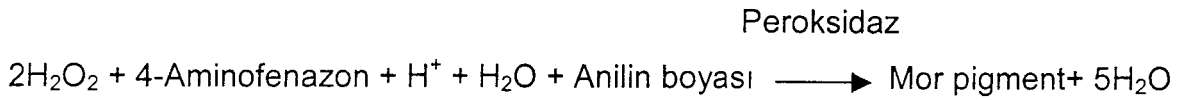
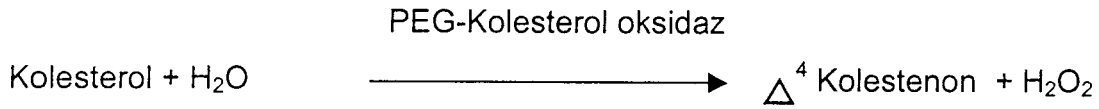
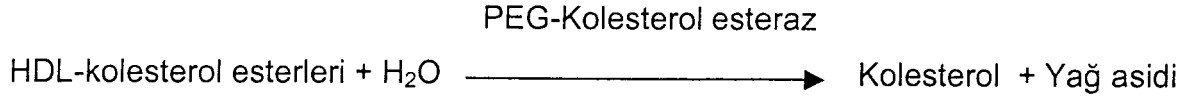
Serum HDL kolesterol düzeyleri, Roche marka ticari kit kullanarak biyokimya otoanalizöründe homojen enzimatik-kolorimetrik metot ile ölçüldü. Polietilen glikol ile modifiye edilmiş kolesterol esteraz ve kolesterol oksidaz enzimleri (PEG-modifiye enzimler) ile dekstran sülfat ve sülfatlanmış alfa-şilodekstrin kombinasyonun kullanıldığı bu yöntemde, HDL kolesterol direkt olarak ölçülmektedir. PEG-modifiye enzimlerin kolesterol alt gruplarına ait katalitik aktivitesi yüksekte düşüğe doğru şöyledir:



Ölçümün ilk basamağında serum örneği magnezyum sülfat, dekstran sülfat ve sülfatlanmış alfa-şilodekstrin içeren alkali bir tampon çözelti ile muamele edilir. Tamponun ilavesi ile PEG-modifiye enzimlere dirençli olan kolesterol fraksiyonları (LDL, VLDL ve şilomikronlar) suda çözünabilir kompleksler haline gelir. Daha sonra PEG-modifiye enzimlerin ilavesiyle HDL kolesterol yıkıma uğrar ve sonuçta açığa çıkan hidrojen peroksit renkli bir bileşiğe çevrilerek spektrofotometrik ölçüm



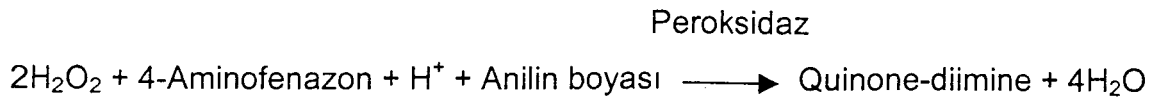
yapılır. Magnezyum sülfat, dekstran sülfat ve sülfatlanmış alfa-şilodekstrin içeren alkali tampon çözeltiye serumun ilave edilmesinden sonraki reaksiyonların özeti şu şekildedir:



Serumdaki HDL kolesterol konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak, tüm reaksiyon sonunda açığa çıkan bileşiğe ait renk yoğunluğu spektrofotometrik olarak ölçülür ve konsantrasyon tayini yapılır (74-76).

### 3.4.5. Ürik asit ölçümü

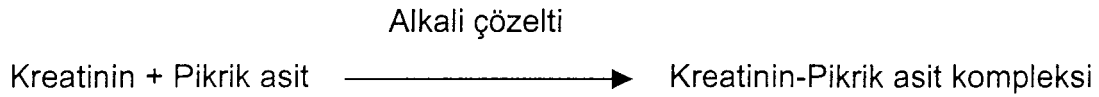
Serum ürik asit düzeyleri, Roche marka ticari kit kullanılarak biyokimya otoanalizöründe enzimatik-kolorimetrik yöntemle ölçüldü. Yöntemle ilgili reaksiyonların özeti şu şekildedir:



Bu reaksiyon sırasında açığa çıkan hidrojen peroksit konsantrasyonu ürik asit konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Ortamdaki hidrojen peroksit, peroksidaz enzimi ile renkli bir bileşik olan quinone-diimine çevrilir ve ortaya çıkan renk yoğunluğu spektrofotometrik olarak ölçülür (77).

### 3.4.6. Kreatinin ölçümü

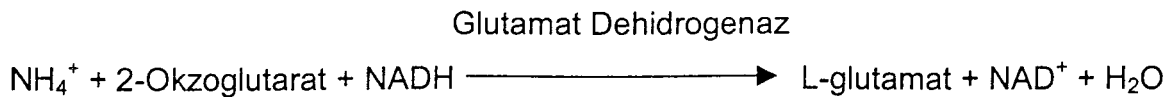
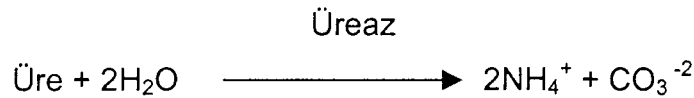
Serum kreatinin düzeyleri, Roche marka ticari kit kullanılarak, biyokimya otoanalizöründe kinetik-kolorimetrik yöntemle ölçüldü. Yöntemle ilgili reaksiyon şu şekildedir:



Alkali bir ortamda, pikrik asit ilavesiyle kreatinin sarı-portakal renkli bir komplekse döner. Bu komplekse ait renk yoğunluğu spektrofotometrik olarak ölçülür (78).

### 3.4.7. Üre ölçümü

Serum üre düzeyleri, Roche marka ticari kit kullanılarak biyokimya otoanalizöründe enzimatik yöntemle ölçüldü. Serum üre düzeylerinin ölçümü ile ilgili reaksiyonların özeti aşağıdaki gibidir:



Üreaz enzimi ile ürenin yıkılması sonucu ortaya çıkan amonyak miktarı üre konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Daha sonra, amonyak ve 2-okzoglutarat, glutamat dehidrogenaz enzimi ile NADH varlığında L-glutamata çevrilir. Reaksiyon sırasında tüketilen NADH miktarı, amonyak konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. NADH absorbansındaki azalma 340 nm dalga boyunda okunarak konsantrasyon tayini yapılır (79).

### 3.4.8. Hemoglobin A<sub>1c</sub> ölçümü

Hemoglobin A<sub>1c</sub> (HbA<sub>1c</sub>) düzeyleri, HbA<sub>1c</sub> otoanalizöründe Bayer marka ticari kit kullanılarak, lateks aglütinasyonun inhibisyonu metoduyla ölçüldü (80). Ölçüm prosedüründe, öncelikle total hemoglobin ve HbA<sub>1c</sub> düzeyleri ölçülür, daha sonra HbA<sub>1c</sub> yüzdesi hesaplanır.

#### 3.4.8.1. Total hemoglobin ölçümü

Total hemoglobin ölçüm yöntemi ile ilgili reaksiyonların özeti şu şekildedir:

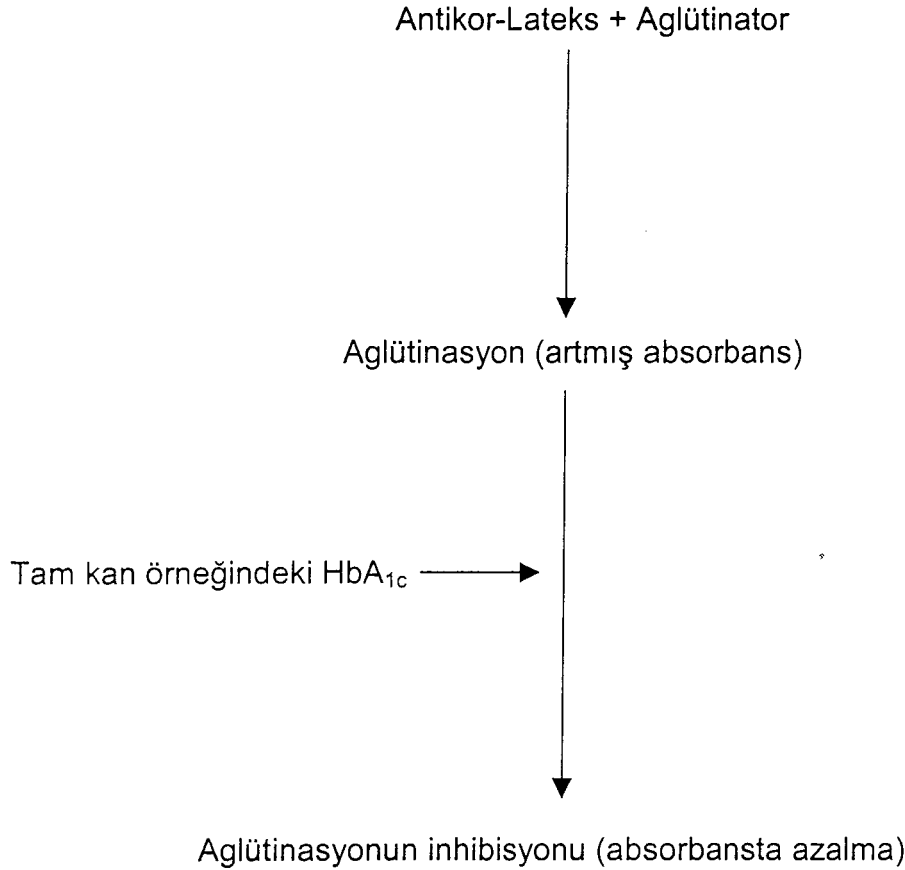
Hemoglobin + Potasyum ferrik siyanür  $\longrightarrow$  Methemoglobin

Methemoglobin + Tiyosiyanat  $\longrightarrow$  Tiyosiyano-methemoglobin kompleksi

Total hemoglobin ölçümünde, potasyum ferrik siyanür ile hemoglobin methemoglobine oksitlenir. Ortama tiyosiyanat ilavesi ile tiyosiyano-methemoglobin kompleksi meydana gelir. Reaksiyon sırasında ortaya çıkan tiyosiyano-methemoglobin miktarı hemoglobin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Bu komplekse ait renk yoğunluğu 531 nm'de ölçülerek konsantrasyon tespit edilir.

### 3.4.8.2. HbA<sub>1c</sub> ölçümü

Lateks aglütinasyonunun inhibisyonu ile HbA<sub>1c</sub> ölçümüne ait reaksiyonlar şu şekildedir:



Lateks aglütinasyonunun inhibisyonu, immünometrik bir ölçüm yöntemidir. HbA<sub>1c</sub> ölçümlerinde bu metot yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Aglütinasyon yapıcı olarak HbA<sub>1c</sub>'nin immünolojik olarak aktif kısmının çoklu kopyalarını içeren sentetik bir polimer kullanılır. Bu aglütinotör, lateks boncuklar üzerine yapıştırılmış olan anti- HbA<sub>1c</sub> monoklonal antikorlarını bağlayarak aglütinasyona sebep olur. Bu aglütinasyon sonrası ortama ışık saçılır ve ortamın absorbanısında artış meydana gelir. Daha sonra bu ortama tam kan örneği ilave edilir. Tam kan örneğindeki HbA<sub>1c</sub>, lateks üzerindeki antikor ile yarışmaya girer ve aglütinasyon baskılanır.

Aglütinasyonun baskılanması ile reaksiyon ortamının absorbansı da hızlı bir şekilde düşer. Reaksiyon süresince absorbanstaki bu artış ve azalma 531 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak tespit edilir. Aglütinasyonun baskılanması ile ortaya çıkan absorbans azalması, tam kan örneğindeki HbA<sub>1c</sub> konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

### 3.4.9. İnsülin ölçümü

Serum insülin düzeyleri Roche marka ticari kit ile hormon otoanalizöründe elektrokemilüminesans yöntemle ölçüldü (81). Elektrokemilüminesans yöntemi ile serum insülin düzeylerinin ölçümünde sandviç prensibi kullanılmaktadır. Serumdaki insülin, önce biotin ve ruthenium ile işaretli iki ayrı monoklonal insülin spesifik antikör ile sandviç tarzında bağlanır ve ortaya çıkan kompleks daha sonra streptavidin işaretli mikropartiküllerin ilavesi ve biotin-streptavidin etkileşimi ile katı bir faza bağlanır. Bu reaksiyon karışımındaki mikropartiküller daha sonra ölçüm kuyucuğunda bir elektrot ile manyetik olarak yakalanır. Bağlanmamış maddelerin yıkanmasından sonra elektroda voltaj uygulanır ve ortaya çıkan kemilüminesans emisyon bir detektör ile ölçülür.

### 3.4.10. C-peptid ölçümü

Serum C-peptid düzeyleri Diagnostic Products Corporation (DPC) marka ticari kit ile hormon otoanalizöründe kemilüminesans yöntemle ölçüldü (81). Kemilüminesans yöntemi ile serum C-peptid düzeylerinin ölçümünde kompetitif immunassay prensibi kullanılmaktadır (poliklonal anti-C-peptid antikörler). Ölçümler sırasında kite ait değişkenlik katsayıları; ölçüm içinde % 6.2 – 8.0, ölçümler arasında ise % 5.3 – 13 arasındadır. Kitin en düşük ölçüm sınırı ise 0.3 ng/mL'dir.

### 3.4.11. Leptin Ölçümü

Serum leptin düzeyleri enzyme linked immunosorbent assay (ELİSA) yöntemi ile ölçüldü (81). Ölçümler için Diagnostic Systems Laboratories (DSL) marka ticari leptin kiti kullanıldı (İnsan Leptin ELİSA, Katalog No: DSL-10-23100, Üretici Firma: Diagnostic Systems Laboratories, Inc. Webster, Texas, USA).

İnsan Leptin ELİSA kiti, enzimatik olarak güçlendirilmiş iki basamaklı sandviç tip immünassay prensibiyle çalışmaktadır. Ölçümde; standartlar, kontroller ve serum veya plazma örnekleri, insan anti-leptin antikoruna ile kaplanmış mikrotitrasyon kuyucuklarında inkübasyona tabi tutulur. İnkübasyondan sonra yıkama yapılır. Yıkama sonrasında kuyucuklar, bu kez yabancu peroksidaz enzimiyle (horseradish peroxidase) işaretli başka bir insan anti-leptin antikor ile muamele edilir. İkinci bir inkübasyon ve yıkama basamağından sonra, kuyucuklara ilgili enzimin substratı olan tetrametilbenzidin konulur ve bir süre beklenir. Daha sonra reaksiyonu durdurmak için asidik bir çözelti eklenir. Substratın enzimatik yıkımının derecesi, çift dalga boyunda (450 ve 620 nm) absorbans ölçümüyle tespit edilir. Ölçülen absorbans, serumdaki leptin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. İnsan leptin standartları ile çizilen standart eğri grafiğinden çalışılan örneklerin leptin konsantrasyonları hesaplanır.

Kitin, en küçük ölçüm sınırı 0.05 ng/mL'dir. Ölçümlerdeki değişkenlik katsayısı ölçüm içinde % 1.5 ile % 6.2 arasında, ölçümler arasında ise % 3.3 ile % 4.9 arasında değişmektedir.

#### 3.4.11.1. İnsan Leptin ELİSA kitinin İçeriği

##### 3.4.11.1.1. İnsan Anti-Leptin antikor ile kaplanmış mikrotitrasyon kuyucukları

Bir mikropate içinde 96 kuyucuk bulunur. Bu kuyucukların iç yüzeyleri insan anti-leptin antikorları kaplanmıştır. 2-8 °C'da, nemden korunarak son kullanma tarihine kadar saklanabilir.

#### **3.4.11.1.2. İnsan leptin standartları**

0, 0.5, 2.5, 10, 25 ve 50 ng/mL konsantrasyonlarında rekombinant insan leptini içerirler. Açılmamış şişeler 2-8 °C'da son kullanma tarihine kadar bozulmadan kalır. Açılmış şişeler, 2-8 °C'da en fazla 3 hafta saklanabilir, -20 °C'da ise son kullanma tarihine kadar saklanabilir.

#### **3.4.11.1.3. İnsan leptin kontrol serumları**

Düşük ve yüksek konsantrasyonda insan leptini içerirler. Açılmamış şişeler 2-8 °C'da son kullanma tarihine kadar bozulmadan kalır. Açılmış şişeler, 2-8 °C'da en fazla 3 hafta saklanabilir, -20 °C'da ise son kullanma tarihine kadar saklanabilir.

#### **3.4.11.1.4. İnsan leptin antikor-enzim konjugat konsantresi**

Bu konsantre, yabanturpu peroksidazı ile işaretli insan anti-leptin antikorunu içermektedir. 2-8 °C'da son kullanma tarihine kadar saklanabilir. Testin çalışma aşamasında insan leptin antikor-enzim konjugat konsantresi, ölçüm tamponu ile 51 kat sulandırılır ve bekletilmeden kullanılması gerekir.

#### **3.4.11.1.5. Ölçüm Tamponu**

Protein içeren bir tampondur. 2-8 °C'da son kullanma tarihine kadar saklanabilir.

#### **3.4.11.1.6. Tetrametilbenzidin kromojen çözeltisi**

Hidrojen peroksitli sitrat tamponu içinde tetrametilbenzidin içeren bir çözeltidir. 2-8 °C'da son kullanma tarihine kadar saklanabilir.

#### **3.4.11.1.7. Yıkama çözeltisi konsantresi**

İyonik olmayan bir deterjan ve tuz tamponu içermektedir. Çalışma sırasında deiyonize su ile 25 kat sulandırılır. 2-8 °C'da son kullanma tarihine kadar saklanabilir.

### 3.4.11.1.8. Reaksiyonu Durdurucu Çözelti

0.2 Molar konsantrasyonunda sülfürik asit içerir. 2-8 °C'da son kullanma tarihine kadar saklanabilir.

### 3.4.11.2. Örneklerin toplanması ve çalışma için hazırlanması

Venöz kandan elde edilen açlık serum veya plazma örnekleri leptin ölçümleri için elverişlidir. Örnekler 2-8 °C'da en fazla 7 gün bekleyebilir, daha uzun süre saklamak gerekiyorsa -20 °C'da veya daha aşağısında saklanmalıdır. Örneklerin bir defadan fazla dondurulup çözündürülmesinden kaçınılmalıdır. Belirgin hemoliz veya lipemi bulunan örnekler kullanılmamalıdır. Çalışma öncesinde dondurulmuş örneklerin oda ısısında çözünmesi beklenir ve ölçümlere başlamadan önce çözünmüş örnekler iyice karıştırılır.

### 3.4.11.3. Leptin Ölçüm Basamakları

Ölçümlerin yapılacağı ortamda, sigara içilmemeli, parfüm sıkılmamalı ve bir şey yiyip içilmemelidir. Her çalışmada mutlaka bir standart eğri çizilmelidir. Ölçüm basamakları şu şekildedir:

1. Bütün kitler ve örneklerin sıcaklığının oda ısısına (~ 25 °C) gelmesi beklenir ve daha sonra nazik bir şekilde alt-üst edilerek iyice karıştırılır.
2. Mikroplate'te kullanılacak mikrotitrasyon kuyucukları işaretlenir.
3. Standartlar, kontroller ve örneklerden uygun kuyucuklara 25 mikrolitre pipetlenir.
4. Yarı otomatik bir pipet ile 100 mikrolitre Ölçüm tamponu eklenir.
5. Orbital düzlemde karıştırma yapan bir karıştırıcı üzerinde mikrotitrasyon kuyucukları 500 – 700 rpm'de oda ısısında (~25 °C) 2 saat bekletilir.
6. Otomatik bir mikroplate yıkayıcı ile mikroplate 5 defa yıkanır ve yıkama sonrası emici bir kağıt ile mikroplate kurutulur.



7. Antikor-Enzim Konjugat çözeltisi hazırlanır: Antikor-Enzim Konjugat Konsantresinden 240 mikrolitre alınır ve 12 mL ölçüm tamponu ile karıştırılır.
8. Her kuyucuğa yarı otomatik bir pipetle 100 mikrolitre Antikor-Enzim Konjugat Çözeltisi eklenir.
9. Orbital düzlemde karıştırma yapan bir karıştırıcı üzerinde mikrotitrasyon kuyucukları 500 – 700 rpm'de oda ısısında (~25 °C) 1 saat bekletilir.
10. Otomatik bir mikroplate yıkayıcı ile mikroplate 5 defa yıkanır ve yıkama sonrası emici bir kağıt ile mikroplate kurutulur.
11. Her kuyucuğa, yarı otomatik bir pipet ile 100 mikrolitre tetrametilbenzidin kromojen çözeltisi eklenir.
12. Orbital düzlemde karıştırma yapan bir karıştırıcı üzerinde mikrotitrasyon kuyucukları 500 – 700 rpm'de oda ısısında (~25 °C) 10 dakika bekletilir. Bu bekleme süresi içinde, kuyucukların direkt güneş ışığına maruz kalmaması gerekir.
13. Her kuyucuğa, yarı otomatik bir pipet ile 100 mikrolitre reaksiyonu durdurucu çözelti eklenir.
14. Kuyucuklar içindeki çözeltinin absorbansı, mikroplate okuyucu ile 450 ve 620 nm dalga boylarında okunur.

#### **3.4.12. LDL Kolesterol düzeyinin hesaplanması**

LDL kolesterol düzeylerinin tespitinde en sık kullanılan dolaylı yöntemde; total kolesterol, HDL kolesterol ve trigliserit ölçümü yapılır ve LDL kolesterol hesaplanır. VLDL kolesterol konsantrasyonu [Trigliserit]/5 faktörü ile hesaplandı. Bu faktörün esası VLDL'deki trigliserit/kolesterol oranına dayanmaktadır. Daha sonra total kolesterolden HDL kolesterol ve VLDL kolesterolün çıkarılması ile LDL kolesterol düzeyleri hesaplandı. Bu formül Friedewald ve arkadaşları tarafından bulunmuş ve Friedewald denklemi olarak adlandırılmıştır. Friedewald denklemi şu şekildedir:

$$\text{LDL Kolesterol} = \text{Total Kolesterol} - [\text{HDL Kolesterol} + (\text{Trigliserid} / 5)]$$

Friedewald denklemi, trigliserit konsantrasyonu 400 mg/dL'nin altında olduğu zaman geçerlidir. Trigliserit konsantrasyonu 400 mg/dL'nin üzerinde olan örneklerde şilomikronlar, şilomikron kalıntıları ve VLDL kalıntıları da bulunduğu için [Trigliserit]/5 faktörü uygulanamaz; çünkü, bu partiküllerin hepsi normal VLDL'ye göre daha yüksek trigliserit/kolesterol oranına sahiptirler. Bu yüzden trigliserit konsantrasyonu 400 mg/dL'nin üzerinde olan olgularda LDL kolesterol düzeyleri hesaplanmadı (73,82).

### 3.4.13. Vücut kütle indeksinin hesaplanması

Çalışmaya dahil edilen bütün bireylerde boy ve ağırlık ölçümleri standart mezüre ve baskül ile yapıldıktan sonra vücut kütle indeksleri (28) aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\text{Vücut Kütle İndeksi} = \frac{\text{Vücut Ağırlığı (kg)}}{[\text{Boy (m)}]^2}$$

### 3.4.14. İstatistiksel Analizler

Verilerin kaydı ve istatistiksel analizlerde; Microsoft Excel, SPSS ve MedCalc istatistik programları kullanıldı. Sonuçlar ortalama ve standart sapma şeklinde verildi. Diyabet ve kontrol grubunun karşılaştırılmasında iki ortalama arasındaki farkın önemliliği "bağımsız t testi" ile değerlendirildi. Çalışma grubuna dahil edilen bireyler cinsiyet ve vücut kütle indekslerine göre alt gruplarda ayrıldıktan sonra, alt gruplar arasında parametrelerin karşılaştırılması ANOVA testi ile yapıldı. Çalışma gruplarında serum leptin düzeylerinin dağılımının homojenitesi Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Leptin ve diğer parametreler arasındaki korelasyonlar Pearson korelasyonu analizi ve parsiyel korelasyon analizi ile değerlendirildi. Leptin ile korelasyon gösteren parametrelerde leptin

düzeylelerini belirleyen bağımsız değişkenleri tespit etmek için lineer regresyon analizi yapıldı. Tüm istatistiksel değerlendirmelerde 0.05'den küçük p değeri istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Bu çalışmaya, tip 2 diabetes mellitus tanısıyla izlenen 40-60 yaş arası 56'sı erkek, 62'si kadın olmak üzere toplam 118 hasta dahil edildi. Kontrol grubu olarak, 40-60 yaş arası herhangi bir hastalığı olmayan 40'ı erkek , 42'si kadın toplam 82 kişi seçildi. Çalışma grubunda kadın ve erkek dağılımı Tablo 5'de gösterilmiştir. Gruplar arasında kadın ve erkek dağılımının farklılık gösterip göstermediği Ki-Kare testi ile değerlendirildi ve istatistiksel açıdan fark gözlenmedi ( $p>0.05$ ).

Grupların vücut kütle indeksi ortalamaları ve standart sapmaları; tip 2 diyabetli grupta  $29.3 \pm 3.7$  kg/m<sup>2</sup>, kontrol grubunda ise  $28.4 \pm 3.9$  kg/m<sup>2</sup> olarak bulundu. Yaş ortalamalarının dağılımı ise tip 2 diyabetli grupta  $52.7 \pm 5.0$  yıl, kontrol grubunda ise  $48.5 \pm 5.4$  yıl olarak tespit edildi. Grupların vücut kütle indeksi ve yaş ortalamaları Tablo 5'de gösterilmiştir.

Tablo 5 : Grupların genel verileri

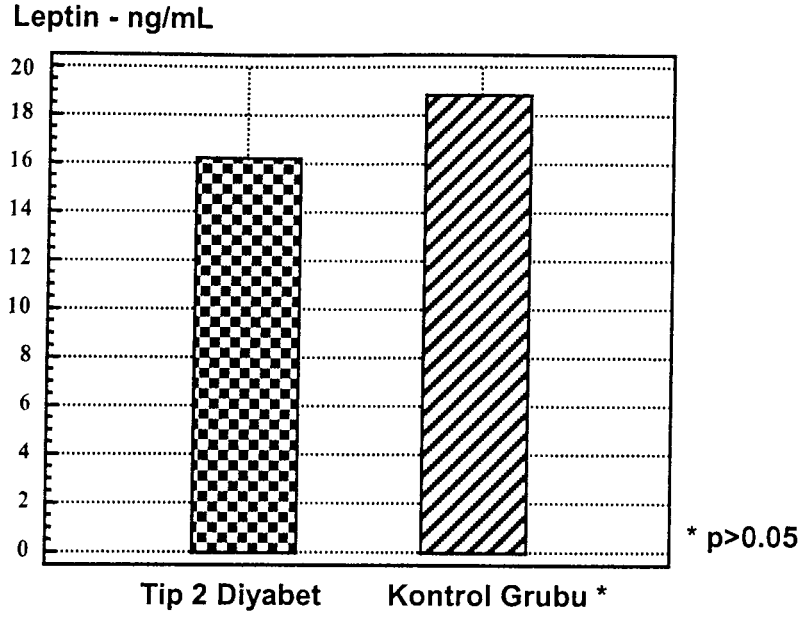
	Tip 2 Diyabet	Kontrol Grubu	p
Yaş (yıl)	$52.7 \pm 5.0$	$48.5 \pm 5.4$	$< 0.05$
Cinsiyet (Erkek / Kadın)	56 / 62	40 / 42	...
Vücut Kütle İndeksi (kg/m <sup>2</sup> )	$29.3 \pm 3.7$	$28.4 \pm 3.9$	$> 0.05$
Diyabet Süresi (yıl)	$7.7 \pm 5.6$	....	....

Tip 2 diyabetli hastalarda ve kontrol grubunda serum leptin, insülin, C-peptid, total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol, trigliserit, glukoz, üre, kreatinin ve ürik asit düzeyleri saptandı. Tam kan örneklerinden HbA<sub>1c</sub> düzeyleri belirlendi. Çalışılan testlerin ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6: Çalışma grubunda leptin ve diğer testlerin ortalama değerleri

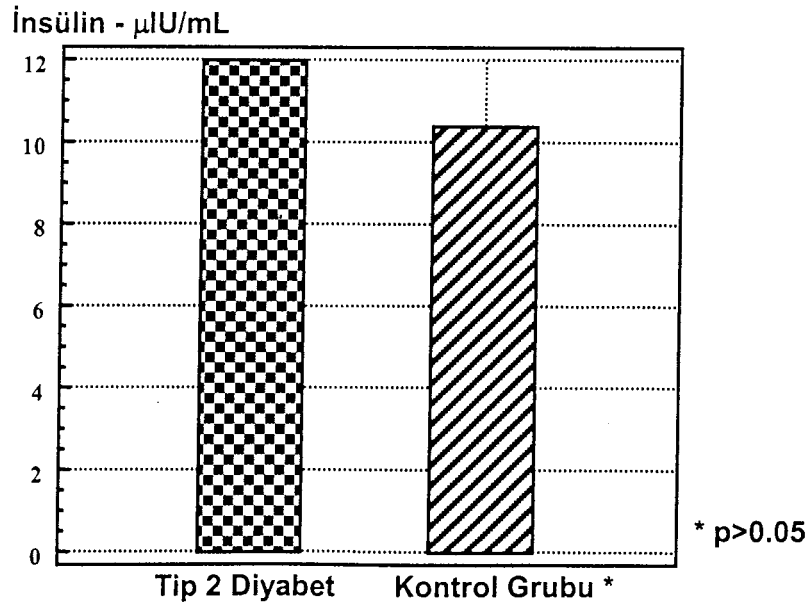
Test	Birim	Tip 2 Diyabet	Kontrol Grubu	p
Leptin	ng/mL	16.2 ± 12.0	18.8 ± 15.1	> 0.05
Glukoz	mg/dL	176.2 ± 69.3	88.5 ± 9.4	<0.001
HbA <sub>1c</sub>	%	8.5 ± 2.0	5.6 ± 0.5	< 0.001
İnsülin	µIU/mL	12.0 ± 6.4	10.4 ± 5.6	> 0.05
C-peptid	ng/mL	2.1 ± 1.0	1.9 ± 0.7	> 0.05
Total Kolesterol	mg/dL	206.7 ± 39.3	193.0 ± 32.6	< 0.05
HDL Kolesterol	mg/dL	42.4 ± 10.6	45.2 ± 11.1	> 0.05
LDL Kolesterol	mg/dL	124.8 ± 33.2	118.4 ± 28.3	> 0.05
Trigliserit	mg/dL	241.4 ± 189.8	150.6 ± 74.1	< 0.001
Kreatinin	mg/dL	0.77 ± 0.22	0.71 ± 0.15	< 0.05
Üre	mg/dL	31.0 ± 8.6	28.5 ± 6.7	< 0.05
Ürik Asit	mg/dL	5.1 ± 1.3	5.1 ± 1.1	> 0.05

Ortalama serum leptin düzeyleri; tip 2 diyabetli grupta  $16.2 \pm 12.0$  ng/mL, kontrol grubunda ise  $18.8 \pm 15.1$  ng/mL olarak bulundu. Serum leptin düzeyleri, tip 2 diyabetlilerde daha düşük olmakla beraber istatistiksel açıdan kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık göstermediği tespit edildi ( $p > 0.05$ ). Tip 2 diyabet ve kontrol grubunun ortalama serum leptin düzeyleri Tablo 6 ve Şekil 3'de gösterilmiştir.



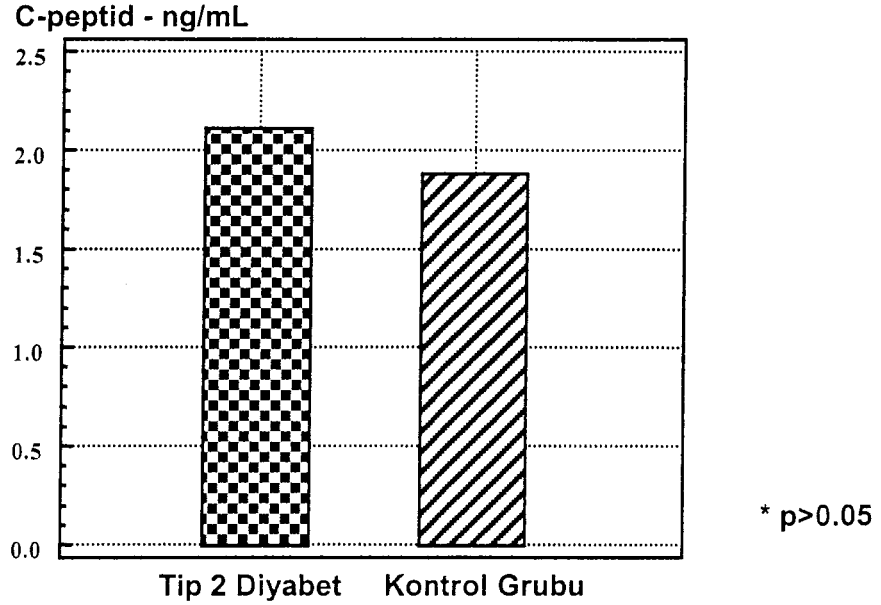
Şekil 3: Tip 2 diyabet ve kontrol grubunun ortalama serum leptin düzeyleri

Serum insülin düzeyleri, tip 2 diyabetli grupta  $12.0 \pm 6.4 \mu\text{U/mL}$ , kontrol grubunda ise  $10.4 \pm 5.6 \mu\text{U/mL}$  olarak tespit edildi. Serum insülin düzeylerinin gruplar arasında farklılık göstermediği tespit edildi ( $p>0.05$ , Şekil 4).



Şekil 4: Tip 2 diyabet ve kontrol grubunun ortalama serum insülin düzeyleri

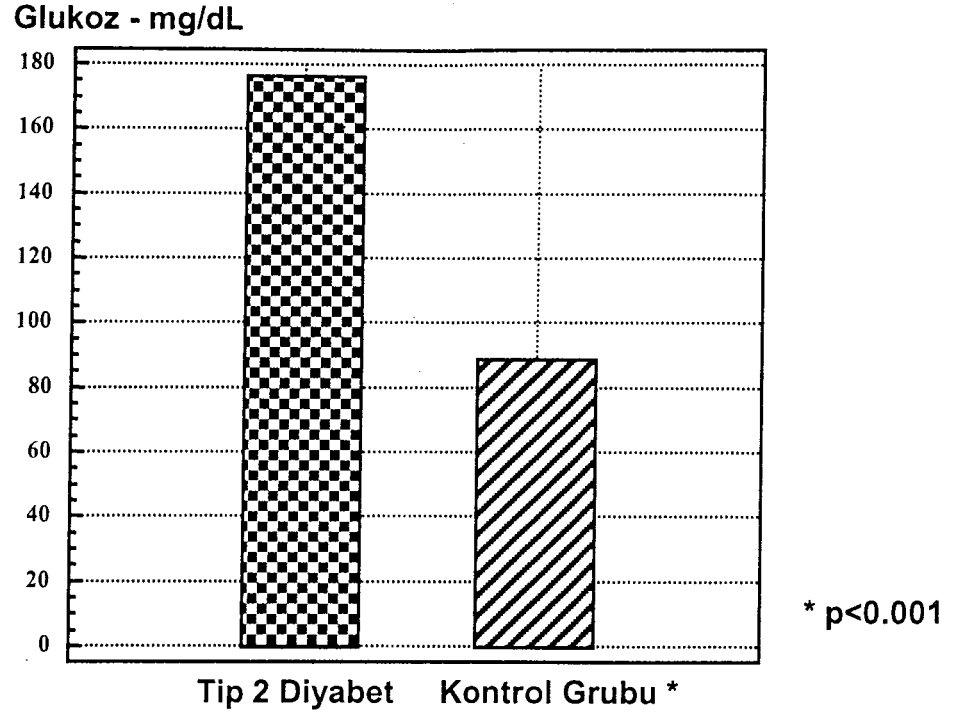
Tip 2 diyabet grubunda serum C-peptid düzeyleri  $2.1 \pm 1.0$  ng/mL, kontrol grubunda ise  $1.9 \pm 0.7$  ng/mL olarak tespit edildi. Serum C-peptid düzeyleri tip 2 diyabetlilerde, kontrol grubuna göre daha yüksek olmakla beraber istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlenmedi ( $p>0.05$ ). Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda ortalama serum C-peptid düzeyleri Şekil 5'de ve Tablo 6'da gösterilmiştir.



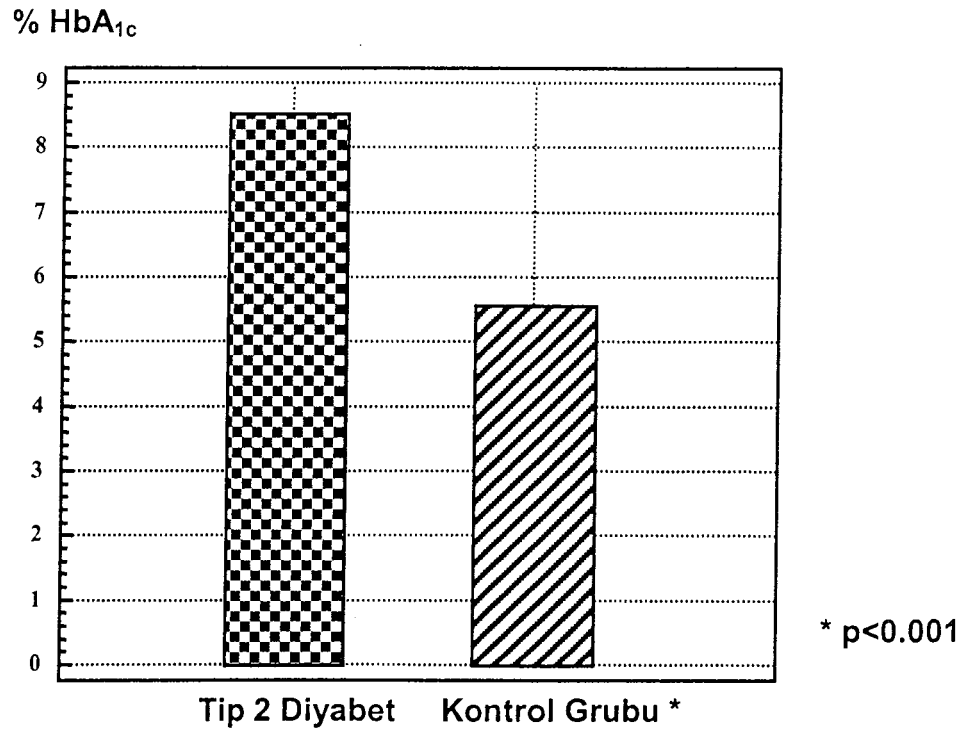
Şekil 5: Tip 2 diyabet ve kontrol grubunun ortalama serum C-peptid düzeyleri

Serum glukoz düzeyleri; tip 2 diyabetli grupta  $176.2 \pm 69.3$  mg/dL, kontrol grubunda ise  $88.5 \pm 9.4$  mg/dL olarak tespit edildi. Serum glukoz düzeyleri beklenildiği gibi tip 2 diyabetlilerde istatistiksel açıdan anlamlı derecede daha yüksek bulundu ( $p<0.001$ ). Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda ortalama serum glukoz düzeyleri Şekil 6'da ve Tablo 6'da gösterilmiştir.

Ortalama HbA<sub>1c</sub> düzeyleri; tip 2 diyabet grubunda  $\% 8.5 \pm 2.0$  kontrol grubunda ise  $\% 5.6 \pm 0.5$  olarak bulundu. İstatistiksel olarak tip 2 diyabet ve kontrol grubu arasında HbA<sub>1c</sub> düzeylerinde önemli bir farklılık görüldü ( $p<0.001$ ). Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda ortalama HbA<sub>1c</sub> düzeyleri Şekil 7'de ve Tablo 6'da gösterilmiştir.



Şekil 6: Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda ortalama serum glukoz düzeyleri

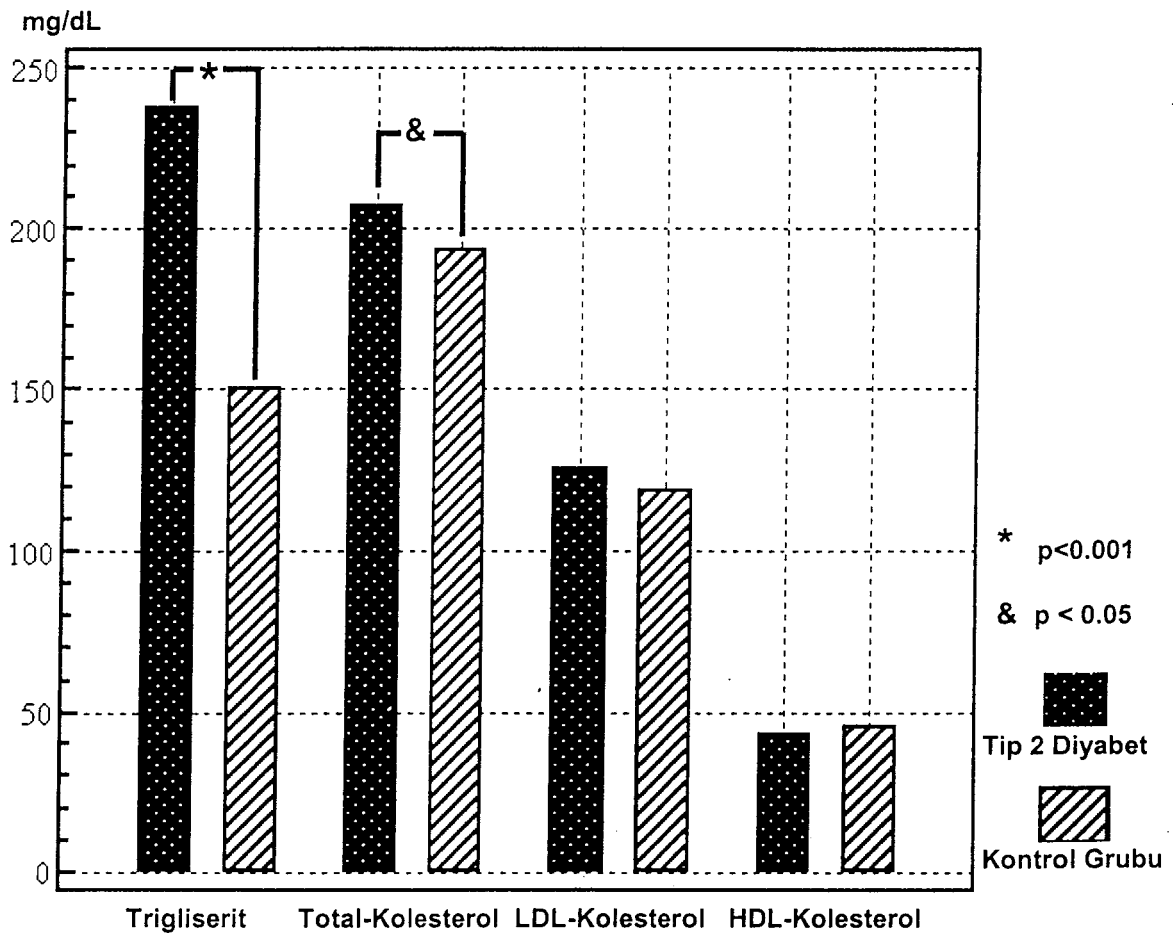


Şekil 7: Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda ortalama HbA<sub>1c</sub> düzeyleri



Serum total kolesterol düzeyleri; tip 2 diyabet grubunda  $206.7 \pm 39.3$  mg/dL, kontrol grubunda ise  $193.0 \pm 32.6$  mg/dL olarak tespit edildi. Tip 2 diyabetlilerde serum total kolesterol düzeylerinin, kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu ( $p < 0.01$ , Şekil 8).

Serum HDL kolesterol düzeyleri; tip 2 diyabet grubunda  $42.4 \pm 10.6$  mg/dL, kontrol grubunda ise  $45.2 \pm 11.1$  mg/dL olarak tespit edildi. Tip 2 diyabetlilerde serum HDL kolesterol düzeyleri kontrol grubuna göre daha düşük olmakla beraber istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlenmedi ( $p > 0.05$ , Şekil 8).



Şekil 8: Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda lipit profili

Serum LDL kolesterol düzeyleri; tip 2 diyabet grubunda  $124.8 \pm 33.2$  mg/dL, kontrol grubunda ise  $118.4 \pm 28.3$  mg/dL olarak bulundu. Gruplar arasında ortalama serum LDL kolesterol düzeylerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlenmedi ( $p>0.05$ , Şekil 8).

Serum trigliserit düzeyleri; tip 2 diyabetli grupta  $241.4 \pm 189.8$  mg/dL, kontrol grubunda ise  $150.6 \pm 74.1$  mg/dL olarak bulundu. Serum trigliserit düzeylerinin tip 2 diyabetlilerde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğu gözlemlendi ( $p<0.001$ , Şekil 8).

Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda, serum ürik asit düzeyleri; sırasıyla  $5.1 \pm 1.3$  ve  $5.1 \pm 1.1$  mg/dL olup gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlenmedi ( $p>0.05$ ).

Tip 2 diyabet grubu ve kontrol grubunun serum kreatinin düzeyleri; sırasıyla  $0.77 \pm 0.22$  ve  $0.71 \pm 0.15$  mg/dL olarak bulundu.

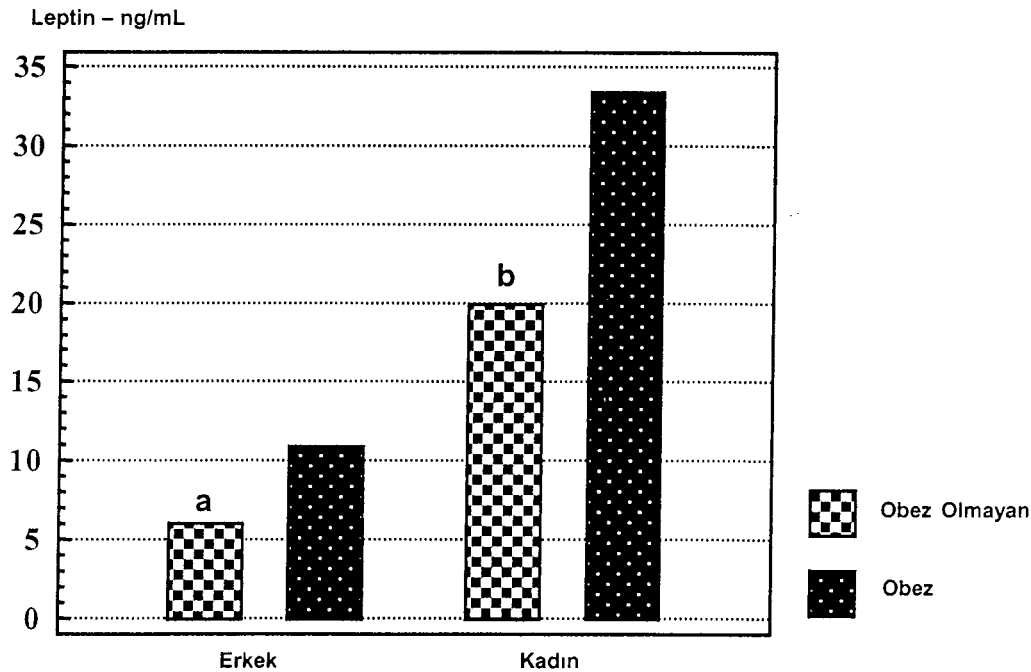
Tip 2 diyabet grubu ve kontrol grubunun serum üre düzeyleri; sırasıyla  $31.0 \pm 8.6$  ve  $28.5 \pm 6.7$  mg/dL olarak bulundu.

Serum leptin düzeylerinin cinsiyet ve vücut kütle indeksi ile olan ilişkisi değerlendirildi. Vücut kütle indeksi  $\geq 30$  olan bireyler obez, diğerleri ise obez olmayan olarak kabul edildi. Erkek ve kadın olguların sayısı ve ortalama vücut kütle indeksleri Tablo 7'de verilmiştir.

Tablo 7: Obez ve obez olmayan olgularda ortalama vücut kütle indeksleri

Kategori	Erkek	Kadın
	Vücut Kütle İndeksi (kg/m <sup>2</sup> )	Vücut Kütle İndeksi (kg/m <sup>2</sup> )
Obez Olmayan	$26.3 \pm 2.5$ (n= 68)	$26.8 \pm 2.5$ (n= 54)
Obez	$32.1 \pm 2.1$ (n= 28)	$33.0 \pm 2.0$ (n= 50)

Serum leptin düzeyleri; obez olmayan erkeklerde  $6.0 \pm 3.4$  ng/mL, obez erkeklerde ise  $10.9 \pm 3.8$  ng/mL olarak bulundu. Obez erkeklerde serum leptin düzeylerinin 1.8 kat daha yüksek olduğu tespit edildi ( $p < 0.001$ , Şekil 9, Tablo 8). Ortalama serum leptin düzeyleri; obez olmayan kadınlarda  $19.9 \pm 7.9$  ng/mL olarak, obez kadınlarda ise  $33.4 \pm 12.8$  ng/mL olarak bulundu. Obez kadınlarda serum leptin düzeylerinin 1.7 kat daha yüksek olduğu tespit edildi ( $p < 0.001$ ; Şekil 9, Tablo 8). Vücut kütle indeksleri eşleştirildiğinde, kadınların yaklaşık 3 kat daha yüksek serum leptin düzeylerine sahip oldukları ( $p < 0.001$ , Şekil 9, Tablo 8) bulundu.



a. Obez erkekler ve kadınlara göre  $p < 0.001$     b. Obez kadınlar ve erkeklere göre  $p < 0.001$

Şekil 9: Obez ve obez olmayan olgularda ortalama serum leptin düzeyleri

Tablo 8: Obez ve obez olmayan olgularda ortalama serum leptin düzeyleri

Kategori	Leptin (ng/mL)		p
	Erkek	Kadın	
Obez Olmayan	$6.0 \pm 3.4$	$19.9 \pm 7.9$	$< 0.001$
Obez	$10.9 \pm 3.8$	$33.4 \pm 12.8$	$< 0.001$
p	$< 0.001$	$< 0.001$	

Cinsiyet ve vücut kütle indeksinin serum leptin düzeylerine olan anlamlı etkisinden dolayı, tip 2 diyabet ve kontrol grubundaki erkekler ve kadınlar kendi aralarında obez-obez olmayan alt gruplara ayrıldı. Alt gruplara ait ortalama vücut kütle indeksleri Tablo 9'da, yaş ortalamaları ve olgu sayıları ise Tablo 10'da gösterilmiştir. Alt gruplarda serum leptin düzeylerinin dağılımının homojenitesi Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Serum leptin düzeylerinin gruplar içinde homojen dağılım gösterdiği tespit edildi ( $p>0.05$ ).

Tablo 9: Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda obez ve obez olmayan erkek ve kadınlarda ortalama vücut kütle indeksleri

Kategori	Vücut Kütle İndeksi (kg/m <sup>2</sup> )		p
	Tip 2 Diyabet	Kontrol Grubu	
Obez Olmayan Erkek	26.7 ± 2.3 n= 41	25.8 ± 2.6 n= 27	> 0.05
Obez Erkek	31.9 ± 2.2 n= 15	32.3 ± 2.1 n= 13	> 0.05
Obez Olmayan Kadın	27.2 ± 2.1 n= 29	26.4 ± 2.8 n= 25	> 0.05
Obez Kadın	33.3 ± 2.2 n= 33	32.5 ± 1.5 n= 17	> 0.05

Tablo 10: Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda obez ve obez olmayan erkek ve kadınlarda yaş ortalamaları ve olgu sayıları

Kategori	Tip 2 Diyabet		Kontrol Grubu		p *
	Yaş (yıl)	n	Yaş (yıl)	n	
Obez Olmayan Erkek	54.3 ± 5.0	41	48.2 ± 5.2	27	< 0.05
Obez Erkek	52.4 ± 5.8	15	48.9 ± 5.6	13	> 0.05
Obez Olmayan Kadın	52.2 ± 4.7	29	47.6 ± 5.7	25	< 0.05
Obez Kadın	51.4 ± 4.4	33	50.0 ± 4.9	17	> 0.05

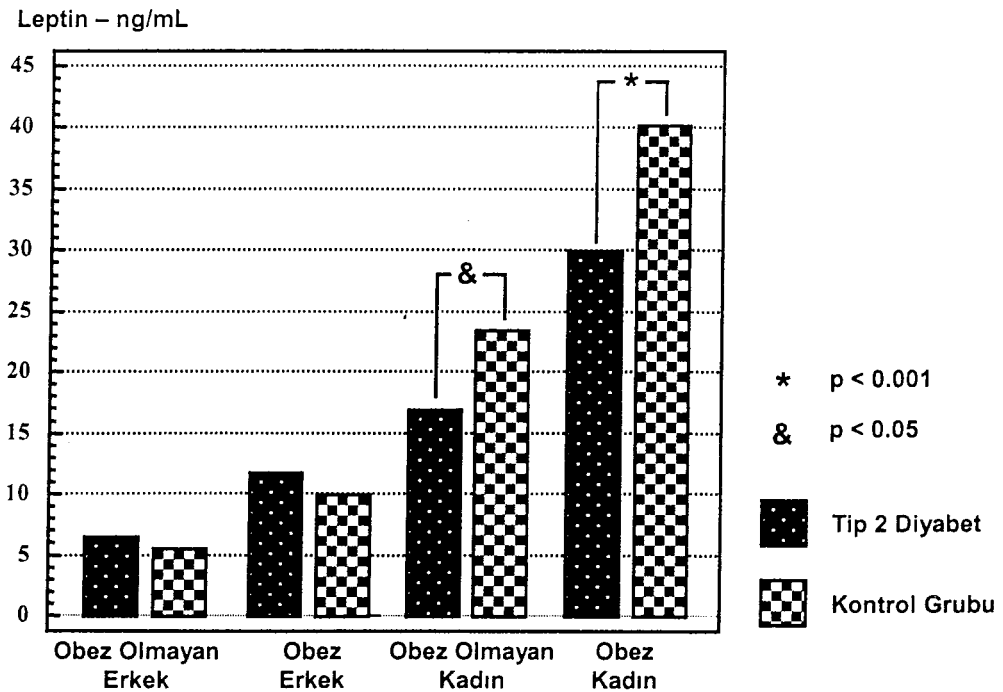
\* Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda yaşlar arası fark

Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda, obez olmayan olgularda yaş farkı gözlemlendiği için vücut kütle indeksi ve cinsiyet eşleştirilerek leptin ile yaş arasındaki korelasyon değerlendirildi. Leptin ile yaş arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir korelasyon tespit edilmedi ( $r = -0.07$ ,  $p > 0.05$ ).

Obez olmayan erkeklerde tip 2 diyabet ve kontrol grubunun ortalama serum leptin düzeyleri; sırasıyla  $6.4 \pm 3.3$  ng/mL ve  $5.6 \pm 3.6$  ng/mL olarak bulundu. Tip 2 diyabet ve kontrol grubundaki obez olmayan erkeklerin serum leptin düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ( $p > 0.05$ , Şekil 10, Tablo 11).

Obez erkeklerde ise tip 2 diyabet ve kontrol grubunun serum leptin düzeyleri; sırasıyla  $11.7 \pm 3.7$  ng/mL ve  $10.0 \pm 3.8$  ng/mL olarak bulundu. Tip 2 diyabet ve kontrol grubundaki obez erkeklerin serum leptin düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ( $p > 0.05$ , Şekil 10, Tablo 11).

Obez olmayan kadınlarda tip 2 diyabet ve kontrol grubunun serum leptin düzeyleri; sırasıyla  $16.8 \pm 5.8$  ng/mL ve  $23.4 \pm 8.5$  ng/mL olarak bulundu. Tip 2 diyabet ve kontrol grubundaki obez olmayan kadınların serum leptin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ( $p < 0.05$ , Şekil 10, Tablo 11).



Şekil 10: Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda obez ve obez olmayan erkek ve kadınlarda ortalama serum leptin düzeyleri

Obez kadınlarda ise tip 2 diyabet ve kontrol grubunun serum leptin düzeyleri; sırasıyla  $29.9 \pm 12.0$  ng/mL ve  $40.2 \pm 11.6$  ng/mL olarak tespit edildi. Tip 2 diyabet ve kontrol grubundaki obez kadınların serum leptin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edildi ( $p < 0.001$ , Şekil 10, Tablo 11).

Tablo 11: Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda obez ve obez olmayan erkek ve kadınlarda ortalama serum leptin düzeyleri

Kategori	Leptin (ng/mL)		p
	Tip 2 Diyabet	Kontrol	
Obez Olmayan Erkek	$6.4 \pm 3.3$	$5.6 \pm 3.6$	$> 0.05$
Obez Erkek	$11.7 \pm 3.7$	$10.0 \pm 3.8$	$> 0.05$
Obez Olmayan Kadın	$16.8 \pm 5.8$	$23.4 \pm 8.5$	$< 0.05$
Obez Kadın	$29.9 \pm 12.0$	$40.2 \pm 11.6$	$< 0.001$

Erkek ve kadınlarda leptinin, diğer parametreler ile olan korelasyonları vücut kütle indeksi ve yaş eşleştirilerek değerlendirildi. Erkeklerde serum leptin düzeyleri ile insülin düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon bulundu ( $r=0.25$ ,  $p < 0.05$ ). Erkeklerde leptinin diğer parametreler ile korelasyon göstermediği tespit edildi. Erkeklerde serum leptin düzeylerini etkileyen bağımsız değişkenleri tespit etmek için lineer regresyon analizi yapıldı. Lineer regresyon analizinde, erkeklerde serum leptin düzeylerini belirleyen bağımsız değişkenin vücut kütle indeksi olduğu tespit edildi ( $t=5.12$ ,  $p < 0.001$ , Tablo 12).

Tablo 12: Erkeklerde serum leptin düzeyleri için lineer regresyon analizi

Bağımsız Değişkenler	t	p
Vücut Kütle İndeksi	5.12	$< 0.001$
Yaş	1.77	0.081
İnsülin	1.49	0.140

Kadınlarda serum leptin düzeyleri ile HbA<sub>1c</sub> ( $r = -0.32$ ,  $p < 0.01$ ) ve serum glukoz düzeyleri ( $r = -0.33$ ,  $p < 0.01$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir korelasyon tespit edildi. Ancak diyabetli kadınlarda yaş ve vücut kütle indeksi eşleştirilerek korelasyon analizi yapıldığında, leptinin glukoz ve HbA<sub>1c</sub> ile korelasyon göstermediği tespit edildi. Lineer regresyon analizinde kadınlarda serum leptin düzeylerini belirleyen bağımsız değişkenin vücut kütle indeksi olduğu tespit edildi ( $t = 7.56$ ,  $p < 0.001$ , Tablo 13). Kadınlarda serum leptin düzeylerinin diğer parametreler ile korelasyon göstermediği tespit edildi.

Tablo 13: Kadınlarda serum leptin düzeyleri için lineer regresyon analizi

<b>Bağımsız Değişkenler</b>	<b>t</b>	<b>p</b>
Vücut Kütle İndeksi	7.56	<b>&lt; 0.001</b>
Glukoz	- 1.09	0.277
Yaş	- 0.81	0.419
HbA <sub>1c</sub>	- 0.52	0.604

Tip 2 diyabetlilerde ortalama diyabet süresi  $7.7 \pm 5.6$  yıl olarak bulundu. Obez ve obez olmayan erkek ve kadın diyabetlilerin ortalama diyabet süreleri Tablo 14'de gösterilmiştir. Diyabet süresi ile serum leptin düzeyleri arasındaki korelasyon değerlendirildi. Diyabet süresi ve serum leptin düzeyleri arasında bir ilişki saptanmadı ( $r = 0.17$ ,  $p > 0.05$ ).

Tablo 14: Tip 2 diyabetlilerde alt grupların ortalama diyabet süreleri

<b>Kategori</b>	<b>Diyabet Süresi (yıl)</b>	<b>n</b>
Obez Olmayan Erkek	$8.2 \pm 5.8$	41
Obez Erkek	$3.9 \pm 4.9$	15
Obez Olmayan Kadın	$7.8 \pm 5.1$	29
Obez Kadın	$8.7 \pm 5.7$	33
<b>Genel</b>	<b><math>7.7 \pm 5.6</math></b>	<b>118</b>

Tip 2 diyabetlilere verilen tedavi şekline göre serum leptin düzeyleri değerlendirildi. İstatistiksel karşılaştırma için yeterli sayısı olan alt gruplarda insülin tedavisi ve oral antidiyabetik tedavi alan hastalar arasında serum leptin düzeyleri açısından farklılık tespit edilmedi ( $p>0.05$ , Tablo 15).

Tablo 15: Tip 2 diyabetlilerin tedavi şekline göre serum leptin düzeyleri

Kategori	Tedavi	n	Leptin (ng/mL)	p
Obez Olmayan Erkek	Oral Antidiyabetik	29	6.3 ± 2.9	> 0.05
	İnsülin	12	6.7 ± 4.3	
Obez Erkek	Oral Antidiyabetik	14	12.1 ± 3.5	...
	İnsülin	1	6.4	
Obez Olmayan Kadın	Oral Antidiyabetik	20	16.6 ± 5.9	> 0.05
	İnsülin	9	17.3 ± 5.9	
Obez Kadın	Oral Antidiyabetik	21	26.4 ± 9.0	> 0.05
	İnsülin	12	36.2 ± 14.7	

Tip 2 diyabet grubunda, kronik diyabet komplikasyonları olan olguların alt gruplara göre dağılımı Tablo 16'da verilmiştir.

Tablo 16: Tip 2 diyabet grubunda, kronik diyabet komplikasyonları olan olguların alt gruplara göre dağılımı

Kategori	n	Retinopati	Nöropati	Makroanjyopati
		n	n	n
Obez Olmayan Erkek	41	16	6	5
Obez Erkek	15	2	1	2
Obez Olmayan Kadın	29	14	3	1
Obez Kadın	33	17	2	3
<b>Toplam</b>	<b>118</b>	<b>49</b>	<b>12</b>	<b>11</b>

Kronik diyabet komplikasyonlarından sadece retinopatisi olan olguların sayısı istatistiksel değerlendirme için yeterli olduğundan, diğer diyabet komplikasyonları ve hipertansiyonu olan olgularda serum leptin düzeyleri değerlendirmeye alınmadı.



Obez olmayan erkeklerde retinopatisi olan ve olmayan olgularda serum leptin düzeyleri sırasıyla  $6.4 \pm 3.7$  ve  $6.4 \pm 3.1$  ng/mL olarak bulundu ( $p>0.05$ ). Obez erkeklerde retinopatisi olanların sayısı çok az olduğu için değerlendirilmeye alınmadı. Obez olmayan kadınlarda retinopatisi olan ve olmayan olguların ortalama serum leptin düzeyleri sırasıyla  $15.9 \pm 6.5$  ve  $17.7 \pm 5.2$  ng/mL olarak bulundu ( $p>0.05$ ). Obez kadınlarda ise retinopatisi olan ve olmayan olguların ortalama serum leptin düzeyleri sırasıyla  $33.4 \pm 13.7$  ve  $26.3 \pm 9.3$  ng/mL olarak bulundu ( $p>0.05$ ). Değerlendirilmeye alınan retinopatili olgularda serum leptin düzeylerinin anlamlı bir farklılık göstermediği tespit edildi ( $p>0.05$ ). Retinopatisi olan ve olmayan olgularda ortalama serum leptin düzeylerinin dağılımı Tablo 17'de verilmiştir.

Tablo 17: Retinopatisi olan ve olmayan olgularda serum leptin düzeyleri \*

Kategori	Retinopati	n	Leptin (ng/mL)	p
Obez Olmayan Erkek	(+)	16	$6.4 \pm 3.7$	> 0.05
	(-)	25	$6.4 \pm 3.1$	
Obez Erkek	(+)	2	$6.7 \pm 0.4$	...
	(-)	13	$12.4 \pm 3.4$	
Obez Olmayan Kadın	(+)	14	$15.9 \pm 6.5$	> 0.05
	(-)	15	$17.7 \pm 5.2$	
Obez Kadın	(+)	17	$33.4 \pm 13.7$	> 0.05
	(-)	16	$26.3 \pm 9.3$	

\* (+) Retinopati var, (-) Retinopati yok

Trigliserit yüksekliği olan ve olmayan olgularda, serum leptin düzeyleri değerlendirildi. Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda, cinsiyet ve vücut kütle indeksleri eşleştirildiğinde, trigliserit yüksekliği olan ve olmayan olgularda serum leptin düzeylerinin anlamlı bir farklılık göstermediği tespit edildi ( $p>0.05$ ). Tip 2 diyabet ve

kontrol grubunda, trigliserit yüksekliği olan ve olmayan olguların ortalama serum leptin düzeyleri Tablo 18’de verilmiştir.

Tablo 18: Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda trigliserit yüksekliği olan ve olmayan olguların ortalama serum leptin düzeyleri

Kategori	Leptin (ng/mL)					
	Tip 2 Diyabet			Kontrol Grubu		
	Trigliserit > 200 mg/dL	Trigliserit ≤ 200 mg/dL	p	Trigliserit > 200 mg/dL	Trigliserit ≤ 200 mg/dL	p
Obez Olmayan Erkek	5.7 ± 2.8 (n = 15)	6.8 ± 3.6 (n = 26)	> 0.05	7.6 ± 2.6 (n = 7)	4.7 ± 3.6 (n = 20)	> 0.05
Obez Erkek	11.3 ± 3.6 (n = 11)	12.7 ± 4.5 (n = 4)	> 0.05	8.2 ± 3.7 (n = 4)	10.8 ± 3.8 (n = 9)	> 0.05
Obez Olmayan Kadın	15.1 ± 4.5 (n = 8)	17.5 ± 6.2 (n = 21)	> 0.05	27.1 ± 4.1 (n = 3)	22.9 ± 8.9 (n = 22)	...
Obez Kadın	30.3 ± 11.8 (n = 15)	29.6 ± 12.8 (n = 18)	> 0.05	32.2 ± 11.4 (n = 2)	41.2 ± 11.6 (n = 15)	...

Total kolesterol yüksekliği olan ve olmayan olgularda serum leptin düzeyleri değerlendirildi. Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda, cinsiyet ve vücut kütle indeksleri eşleştirildiğinde, total kolesterol yüksekliği olan ve olmayan olgularda serum leptin düzeylerinin anlamlı bir farklılık göstermediği tespit edildi ( $p>0.05$ ). Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda, total kolesterol yüksekliği olan ve olmayan olguların ortalama serum leptin düzeyleri Tablo 19’de verilmiştir.

Çalışma grubunda, menopoz ile leptin ilişkisi değerlendirildi. Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda menopozda olan ve olmayan kadınlar arasında serum leptin düzeylerinin anlamlı bir farklılık göstermediği tespit edildi ( $p>0.05$ ). Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda menopozu olan ve olmayan olguların ortalama serum leptin düzeyleri Tablo 20’de verilmiştir. Vücut kütle indeksi ve yaş eşleştirildiğinde, serum leptin düzeyleri ve menopoz süresi arasında korelasyon bulunmadı ( $r = -0.01$ ,  $p>0.05$ ).

Tablo 19: Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda total kolesterol yüksekliği olan ve olmayan olguların ortalama serum leptin düzeyleri

Kategori	Leptin (ng/mL)					
	Tip 2 Diyabet			Kontrol Grubu		
	T. Kolesterol > 200 mg/dL	T. Kolesterol ≤ 200 mg/dL	p	T. Kolesterol > 200 mg/dL	T. Kolesterol ≤ 200 mg/dL	p
Obez Olmayan Erkek	6.0 ± 2.6 (n = 18)	6.7 ± 3.9 (n = 23)	> 0.05	6.4 ± 3.7 (n = 5)	5.2 ± 3.6 (n = 22)	> 0.05
Obez Erkek	10.3 ± 2.6 (n = 5)	12.3 ± 4.1 (n = 10)	> 0.05	11.8 (n = 1)	9.8 ± 3.9 (n = 12)	> 0.05
Obez Olmayan Kadın	17.6 ± 6.4 (n = 20)	15.2 ± 4.2 (n = 9)	> 0.05	23.1 ± 8.9 (n = 13)	23.6 ± 8.5 (n = 12)	> 0.05
Obez Kadın	29.5 ± 11.1 (n = 18)	30.5 ± 13.7 (n = 15)	> 0.05	44.2 ± 11.4 (n = 7)	37.3 ± 11.5 (n = 10)	> 0.05

Tablo 20: Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda menopoza olan ve olmayan olguların ortalama serum leptin düzeyleri \*

Kategori	Leptin (ng/mL)					
	Tip 2 Diyabet			Kontrol		
	Menopoz (+)	Menopoz (-)	p	Menopoz (+)	Menopoz (-)	p
Obez Olmayan	15.4 ± 5.6 (n = 12)	18.1 ± 5.7 (n = 18)	> 0.05	22.1 ± 7.8 (n = 10)	24.2 ± 9.2 (n = 15)	> 0.05
Obez	34.7 ± 15.6 (n = 13)	27.3 ± 8.4 (n = 21)	> 0.05	40.4 ± 9.4 (n = 9)	39.9 ± 14.4 (n = 8)	> 0.05

\* (+) Menopoz var, (-) Menopoz yok

## 5. TARTIŞMA

Tip 2 diabetes mellitus, tüm dünyada yaygın olarak görülen metabolik bir hastalıktır (1). Tip 2 diyabetteki temel patolojik bozukluk, insülin direncidir. İnsülin direnci; normal insülin düzeylerinde dokuların insüline cevabındaki azalma olarak tanımlanır. İnsülin direnci, tip 2 diyabetlilerde ve diyabeti olmayan obez bireylerde görülmektedir (3). Obezite insülin direncini artırmaktadır ve tip 2 diyabetin gelişimine katkıda bulunmaktadır (47). Tip 2 diyabet vakalarının yaklaşık % 80'nin obez olması, obezite ve tip 2 diyabet ilişkisini desteklemektedir (40-42). Obezite vücut yağ oranındaki artış olarak tanımlanır. Yağ dokusu, vücudun ihtiyaçlarından fazla olan enerjinin trigliserit şeklinde depolandığı bir organ olarak kabul edilmektedir (4,5). Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda, yağ dokusunun sadece bir depo organı olmadığı ve metabolizmanın düzenlenmesinde aktif bir rol oynadığı tespit edilmiştir. Yağ dokusundan salgılanan bir hormon olan leptinin keşfiyle yağ dokusunun endokrin rolü de olduğu açığa çıkmıştır (Şekil 1). Yağ dokusundan salgılanan leptin ve interlökin-6 gibi bir takım hormon ve sitokinlerin karbonhidrat metabolizmasının potansiyel düzenleyicileri olduğu kabul edilmektedir. Ayrıca bu faktörlerin periferik dokulardaki insülin duyarlılığını etkiledikleri ve obezite ile ilişkili hastalıkların patogenezinde sorumlu olabilecekleri genel kabul görmektedir (6-11).

Çalışmamızda, serum leptin düzeylerinin erkeklerde ve kadınlarda vücut kütle indeksi ile pozitif bir korelasyon gösterdiği bulundu ( $r=0.524$ ,  $p<0.001$ ). Ayrıca, serum leptin düzeyleri kadınlarda erkeklere göre çok daha yüksekti ( $p<0.001$ ). Obez erkekler, obez olmayan erkeklere oranla yaklaşık 1.8 kat ( $p<0.001$ ), obez kadınlar ise obez olmayan kadınlara oranla yaklaşık 1.7 kat daha yüksek leptin düzeylerine sahipti ( $p<0.001$ ). Kadınlardaki serum leptin düzeyleri erkeklere oranla yaklaşık 3 kat daha yüksekti ( $p<0.001$ ). Bu bulgulara göre; serum leptin düzeylerini belirleyen birinci faktörün cinsiyet, ikincisinin ise vücut kütle

indeksi olduğu söylenebilir. Yapılan bir çok araştırmada, serum leptin düzeylerinin vücut kütle indeksi ile pozitif korelasyon gösterdiği, leptin düzeylerinin obez bireylerde obez olmayanlara oranla daha yüksek olduğu ve kadınların benzer vücut kütle indeksine sahip erkeklere oranla daha yüksek serum leptin düzeylerine sahip oldukları tespit edilmiştir (58,83-87).

Cinsiyet ve vücut kütle indeksinin serum leptin düzeylerine olan anlamlı etkisinden dolayı, tip 2 diyabet ve kontrol grubundaki erkekler ve kadınlar kendi aralarında obez ve obez olmayan alt gruplara ayrıldı (Tablo 9). Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda, obez olmayan olgularda yaş farkı görüldüğünden dolayı (Tablo 10) leptinin yaşla olan ilişkisi değerlendirildi, serum leptin düzeyleri ile yaş arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı ( $r = -0.07$ ,  $p > 0.05$ ). Yapılan çalışmalarda, yaşın serum leptin düzeylerine anlamlı bir etkisinin olmadığı bulunmuştur (88-90). Bununla beraber, Ostlund ve arkadaşları (86) 60 yaş üzerindeki olgularda serum leptin düzeylerinin azaldığını bulmuşlar ve yaşın plazma leptin düzeylerinin sekonder düzenleyicisi olabileceğini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamıza 60 yaş üzeri bireyler dahil edilmemiştir.

Obez olmayan erkeklerde, tip 2 diyabet ve kontrol grubunun ortalama serum leptin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ( $p > 0.05$ ). Aynı şekilde obez erkeklerde de tip 2 diyabet ve kontrol grubunun serum leptin düzeyleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık görülmedi ( $p > 0.05$ ; Tablo 11, Şekil 10). Yapılan bir çok araştırmada tip 2 diyabetli erkeklerdeki serum leptin düzeylerinin sağlıklı erkeklere oranla farklılık göstermediği tespit edilmiştir (66,68,91-93). Abdelgadir ve arkadaşları (94) ise tip 2 diyabetli erkeklerde leptin düzeylerinin daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda ise obez ve obez olmayan tip 2 diyabetli erkeklerdeki serum leptin düzeylerinin sağlıklı erkeklere oranla hafif yüksek olduğu, ancak bu yüksekliğin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi.

Erkeklerde serum leptin düzeyleri ile serum insülin düzeyleri arasında ( $r = 0.25$ ,  $p < 0.05$ ) pozitif bir korelasyon bulundu. Okumura ve arkadaşları (88) da obez olmayan tip 2 diyabetli erkeklerde yaptıkları çalışmada, serum leptin düzeyleri ile insülin arasında pozitif bir korelasyon bulmuşlardır. Yine bir kısım araştırmacılar da benzer sonuçlar elde etmişlerdir (66,95). Saladin ve arkadaşları

(96) gıda alımı ve insülin enjeksiyonunun leptin geni sentezini arttırdığını bulmuşlar ve insülinin direkt olarak yağ doku hücrelerinden leptin sentezini arttırabileceğini savunmuşlardır. Lee ve arkadaşları da (97) insülinin yağ dokusu hücrelerinde leptin geni sentezini ve leptin salgısını arttırdığını göstermişlerdir. Çalışmamızda serum leptin düzeylerinin insülin ile pozitif korelasyon göstermesi, insülinin leptin sentezini arttırıcı etkisini desteklemektedir. Erkeklerde serum leptin düzeylerini belirleyen bağımsız değişkenleri tespit etmek için lineer regresyon analizi yapıldı. Erkeklerde, serum leptin düzeylerini belirleyen bağımsız değişkenin vücut kütle indeksi olduğu tespit edildi ( $t= 5.12$ ,  $p<0.001$ ; Tablo 12). Bu verilere göre, tip 2 diyabetli erkeklerdeki serum leptin düzeylerinin sağlıklı erkeklere oranla farklılık göstermediği ve serum leptin düzeylerinin daha çok vücut kütle indeksi ile ilişkili olduğu söylenebilir.

Kadınlardaki serum leptin düzeyleri karşılaştırıldığında; non-obez kadınlarda tip 2 diyabet ve kontrol grubunun serum leptin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardı ( $p<0.05$ ). Obez kadınlarda da aynı şekilde, tip 2 diyabet ve kontrol grubunun ortalama serum leptin düzeyleri istatistiksel açıdan anlamlı farklılık gösteriyordu ( $p<0.001$ ). Obez ve obez olmayan tip 2 diyabetli kadınlar, sağlıklı kontrol grubuna oranla daha düşük serum leptin düzeylerine sahipti. Tip 2 diyabetli kadınlardaki leptin düzeylerindeki düşüklük, özellikle de obez kadınlarda daha belirgindi (non-obez kadınlarda  $p<0.05$ , obez kadınlarda  $p<0.001$ ; Tablo 11, Şekil 10). Yapılan bir çok çalışmada, tip 2 diyabetli kadınlardaki serum leptin düzeylerinin benzer vücut kütle indeksine sahip sağlıklı kadınlara oranla farklılık göstermediği bulunmuştur (69,89,91,92). Abdelgadir ve arkadaşları (94) ise tip 2 diyabetli kadınlarda leptin düzeylerinin daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir.

Kadınlarda serum leptin düzeyleri ile glukoz ( $r= -0.33$ ,  $p<0.01$ ) ve HbA<sub>1c</sub> ( $r= -0.32$ ,  $p<0.01$ ) düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon vardı. Ancak korelasyon analizi, tip 2 diyabet ve kontrol grubundaki kadınlarda ayrı ayrı uygulandığında, serum leptin düzeylerinin glukoz ve HbA<sub>1c</sub> ile korelasyon göstermediği bulundu. Yapılan lineer regresyon analizinde kadınlarda serum leptin düzeylerini belirleyen bağımsız değişkenin vücut kütle indeksi olduğu tespit edildi ( $t=7.56$ ,  $p<0.001$ ; Tablo 13). Bir kısım çalışmalarda (91,98), serum leptin düzeyleri

ile HbA<sub>1c</sub> düzeyleri arasında bir korelasyon bulunmamıştır. Moriya ve arkadaşları ise (99) serum leptin düzeyleri ile HbA<sub>1c</sub> ve serum glukoz düzeyleri arasında negatif bir korelasyon tespit etmişler ve HbA<sub>1c</sub> düzeylerinin serum leptin düzeylerini belirleyen bağımsız bir parametre olduğunu ileri sürmüşlerdir. Yine aynı araştırmada, kronik hipergliseminin veya iyi kontrol edilmemiş diyabetin, serum leptin düzeylerini düşürücü etkisi olabileceği savunulmuştur. Ancak bu araştırmacılar, diyabetli grupta serum leptin düzeyleri ile HbA<sub>1c</sub> ve serum glukoz düzeyleri arasındaki korelasyonu değerlendirmemişlerdir. Çalışmamızda, tip 2 diyabetli kadınlar ile sağlıklı kadınlar arasındaki leptin düzeylerindeki farklılığın obez grupta daha belirgin olması, ayrıca çalışma grubundaki kadınlarda leptin ile HbA<sub>1c</sub> ve serum glukoz düzeyleri arasında görülen negatif korelasyonun tip 2 diyabetli kadınlarda tespit edilmemesi; serum leptin düzeylerinin glisemik kontrolden çok obezite ile ilişkili olduğunu desteklemektedir.

Tip 2 diyabetli kadınlardaki düşük serum leptin düzeyleri, tip 2 diyabetteki metabolik veya endokrin değişikliklere bağlı olabilir. Tasaka ve arkadaşları (100) leptin salgısındaki düzenlenmenin diyabetik olgularda değişebileceğini vurgulamışlardır. Liu ve arkadaşları (101) ise tip 2 diyabetli olgularda yaptıkları çalışmada, insülin direncindeki ve obezitedeki artışın, normal leptin salgında azalmaya sebep olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda tip 2 diyabetli kadınlardaki düşük serum leptin düzeyleri, normal leptin salgısının tip 2 diyabetli kadınlarda azalabileceğini desteklemektedir.

Diyabetli kadınlardaki düşük serum leptin düzeyleri, tip 2 diyabetli olgular ve sağlıklı bireyler arasındaki vücut yağ dağılımındaki farklılıklardan da kaynaklanabilir. Çünkü, tip 2 diyabetli olgularda yağ birikimi; subkutanöz yağ dokudan çok viseral (omental) yağ dokuda görülmektedir (102). Vücuttaki leptin üretimi ise viseral yağ dokuya oranla subkutanöz yağ dokuda daha fazladır (37,103). Minocci ve arkadaşları (104) subkutanöz yağ dokusu miktarının, serum leptin düzeylerinin önemli bir belirleyicisi olduğunu ve viseral yağ dokusunun serum leptin düzeylerine önemli bir etkisinin olmadığını bulmuşlardır. Banerji ve arkadaşları (105) ise serum leptin düzeylerinin, viseral yağ dokudan çok subkutanöz yağ doku miktarı ile korelasyon gösterdiğini tespit etmişlerdir. Çalışmamızda; tip 2 diyabetli kadınlarda, özellikle de obez olgulardaki düşük

serum leptin düzeylerin, gruplar arasındaki vücut yağ dağılımı farklılıklarından kaynaklanabileceği kanısındayız.

Diyabetli olgularımızda, diyabet süresi ve serum leptin düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $r= 0.17$ ,  $p>0.05$ ). Diyabet süresinin serum leptin düzeylerini etkilemediği söylenebilir.

Asakawa ve arkadaşları (106) diyabetik retinopatisi olan ve olmayan olguların, serum leptin düzeylerinin farklılık göstermediğini bulmuşlardır. Çalışmamızda, retinopatisi olan ve olmayan olgular arasında, ortalama serum leptin düzeylerinde farklılık tespit edilmedi ( $p>0.05$ , Tablo 17). Bulgularımız, serum leptin düzeylerinin diyabetik retinopati ile ilişkili olmadığına işaret etmektedir.

Tip 2 diyabette lipit metabolizması bozulmuştur ve ateroskleroza eğilim vardır. Tip 2 diyabetlilerdeki lipit metabolizması bozukluğunun en çarpıcı bulgusu serum trigliserit yüksekliğidir (18,107-111). Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda trigliserit yüksekliği olan ve olmayan olguların serum leptin düzeylerinin anlamlı bir farklılık göstermediği bulundu ( $p>0.05$ , Tablo 18). Ayrıca total kolesterol yüksekliği olan ve olmayan olgularda serum leptin anlamlı bir farklılık göstermediği tespit edildi ( $p>0.05$ , Tablo 19). Yapılan çalışmalarda da (112-114) benzer sonuçlar elde edilmiştir. Serum trigliserit ve total kolesterol düzeylerindeki artışın, serum leptin düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde etkilemediği söylenebilir.

Yapılan çalışmalarda (89,115,116) menopozda olan ve olmayan olgular arasında, serum leptin düzeylerinin farklılık göstermediği tespit edilmiştir. Çalışmamızda da benzer şekilde, ortalama serum leptin düzeylerinin menopozda olan ve olmayan olgular arasında farklılık göstermediği bulundu ( $p>0.05$ , Tablo 20). Menopozun, serum leptin düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı derecede etkilemediği söylenebilir.

Sonuç olarak, serum leptin düzeylerinin başlıca cinsiyet ve vücut kütle indeksine bağlı olduğu, tip 2 diyabetli kadınlardaki düşük leptin düzeylerinin vücut yağ dağılımı farklılıklarından kaynaklandığı ve serum leptin düzeylerinin ile glisemik kontrol arasında anlamlı bir ilişkinin olmadığı kanısına varıldı.



## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Serum leptin düzeylerinin erkek ve kadınlarda vücut kütle indeksi ile pozitif bir korelasyon gösterdiği tespit edildi. Vücut kütle indeksindeki artış ile orantılı olarak serum leptin düzeyleri de artmaktadır.
2. Kadınların, erkeklere oranla yaklaşık 3 kat daha yüksek serum leptin düzeylerine sahip oldukları bulundu. Cinsiyet, serum leptin düzeylerini belirleyen önemli bir faktördür.
3. Serum leptin düzeyleri ile yaş arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı. Yaşın serum leptin düzeylerine anlamlı bir etkisinin olmadığı söylenebilir.
4. Tip 2 diyabetli erkeklerde, serum leptin düzeylerinin sağlıklı erkeklere oranla farklılık göstermediği tespit edildi. Erkeklerde, tip 2 diyabet varlığının serum leptin düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı derecede etkilemediği söylenebilir.
5. Tip 2 diyabetli kadınlardaki serum leptin düzeyleri, sağlıklı kadınlara oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulundu. Leptin düzeylerindeki farklılığın, özellikle de obez kadınlarda daha belirgin olduğu tespit edildi. Kadınlarda, tip 2 diyabet ve kontrol grubu arasındaki leptin düzeylerindeki farklılık, tip 2 diyabetli olgular ve sağlıklı bireyler arasındaki vücut yağ dağılımı farklılıklarından kaynaklanabilir. Ayrıca tip 2 diyabetteki metabolik veya endokrin değişikliklere bağlı olarak, normal leptin salgısı tip 2 diyabetli kadınlarda bozulmuş olabilir.

6. Menopozu olan ve olmayan kadınlarda serum leptin düzeylerinin anlamlı farklılık göstermediği tespit edildi. Menopozun serum leptin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe yol açmadığı söylenebilir.
7. Tip 2 diyabetlilerde ortalama diyabet süresi  $7.7 \pm 5.6$  yıl olarak bulundu. Diyabet süresi ve serum leptin düzeyleri arasında bir ilişki saptanmadı. Diyabet süresinin, serum leptin düzeylerini etkilemediği söylenebilir, ancak 20 yıl gibi daha uzun süreli diyabet olgularında serum leptin düzeylerinin araştırılması, leptin ile diyabet süresi arasında ilişki olup olmadığını daha iyi göstereceği kanısındayız.
8. Tip 2 diyabetlilere verilen tedavi şekline göre serum leptin düzeyleri değerlendirildiğinde; insülin tedavisi ve oral antidiyabetik tedavi alan hastalar arasında serum leptin düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermediği tespit edildi. İnsülin tedavisi veya oral antidiyabetik tedavinin serum leptin düzeylerini anlamlı ölçüde değiştirmedeği söylenebilir.
9. Diyabetik retinopatisi olan ve olmayan olgular arasında ortalama serum leptin düzeylerinde farklılık tespit edilmedi. Serum leptinin düzeylerinin diyabetik retinopatiden bağımsız olduğu söylenebilir.
10. Serum trigliserit seviyeleri yüksek olan ve olmayan olgular arasında serum leptin düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği bulundu. Hipertrigliserideminin serum leptin düzeylerine anlamlı bir etkisinin olmadığı kanısına varıldı.
11. Serum total kolesterol düzeyi yüksek olan ve olmayan olgular arasında serum leptin düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği bulundu. Hiperkolesteroleminin serum leptin düzeylerine anlamlı bir etkisinin olmadığı kanısına varıldı.

## 7. ÖZET

Tip 2 diyabet ve obezite arasında kuvvetli bir ilişki vardır. Yağ dokusundan salgılanan bir takım faktörlerin obezite ile ilgili hastalıkların patogenezinin sorumlu oldukları kabul edilmektedir. Leptin, yağ dokusu hücrelerinden salgılanan ve obezite ile ilişkili bir hormondur. Bununla beraber obez ve obez olmayan tip 2 diyabetli olgularda, serum leptin düzeyleri ve glisemik kontrol arasındaki ilişki hakkında çok az bilgi vardır. Bu çalışma, tip 2 diyabetli hastalarda ve sağlıklı kontrol grubunda, serum leptin düzeylerini araştırmak ve leptinin glisemik kontrol parametreleri ile olan ilişkisini değerlendirmek amacıyla yapıldı.

Çalışmaya, 118 tip 2 diyabetli (56 erkek, 62 kadın) ve 82 sağlıklı (40 erkek, 42 kadın) kişi dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen olgulardan 10-12 saatlik açlık sonrası kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinden serum leptin, C-peptid, insülin, total kolesterol, HDL kolesterol, trigliserit ve glukoz düzeyleri ile HbA<sub>1c</sub> düzeyleri ölçüldü. Leptin ölçümleri ELİSA yöntemiyle, insülin ve C-peptid ölçümleri ise kemilüminesans yöntemle yapıldı. HbA<sub>1c</sub> ölçümleri immünolojik yöntemle yapıldı. Total kolesterol, HDL kolesterol, trigliserit ve glukoz ölçümleri ise rutin biyokimyasal yöntemlerle yapıldı. İstatistiksel analizler için SPSS ve MedCalc istatistik programları kullanıldı.

Çalışmaya dahil edilen tüm olgularda, serum leptin düzeylerinin vücut kütle indeksi ile pozitif korelasyon gösterdiği tespit edildi ( $r=0.524$ ,  $p<0.001$ ). Serum leptin düzeylerinin kadınlarda, erkeklere oranla daha yüksek olduğu bulundu ( $p<0.001$ ). Tip 2 diyabetli erkeklerde, serum leptin düzeylerinin sağlıklı erkeklere oranla farklılık göstermediği tespit edildi ( $p>0.05$ ). Tip 2 diyabetli kadınlardaki serum leptin düzeylerinin sağlıklı kadınlara oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük olduğu bulundu. Tip 2 diyabet ve kontrol grubunda, kadınlar arasındaki leptin düzeylerindeki farklılığın, özellikle de obez kadınlarda daha belirgin olduğu tespit edildi (non-obez kadınlarda  $p<0.05$ , obez kadınlarda  $p<0.001$ ).

Sonuç olarak, serum leptin düzeylerinin başlıca cinsiyet ve vücut kütle indeksine bağlı olduğu ve serum leptin düzeyleri ile glisemik kontrol arasında anlamlı bir ilişkinin olmadığı kanısına varıldı. Tip 2 diyabetli kadınlardaki düşük leptin düzeyleri vücut yağ dağılımı farklılıklarından kaynaklanabilir.

Anahtar Kelimeler: Leptin, tip 2 diabetes mellitus, obezite.

## 8. SUMMARY

There is a strong relationship between type 2 diabetes mellitus and obesity. Numerous substances secreted from the adipocytes are generally accepted responsible for pathogenesis of obesity-associated diseases. Leptin is a protein hormone, secreted by adipocytes and is associated with obesity. However, little is known about the relationship between glycemic control and serum leptin levels in obese and non-obese type 2 diabetic patients. The present study, we measured serum leptin levels in patients with type 2 diabetes mellitus and healthy control group, and examined the association of serum leptin levels and glycemic control.

A total of 118 (56 men and 62 women) consecutive type 2 diabetes patients and 82 healthy control subjects (40 men and 42 women) were studied. Blood samples were drawn for determination of HbA<sub>1c</sub>, serum leptin, insulin, C-peptide, total cholesterol, HDL cholesterol, triglyceride and glucose levels after an overnight fast of 10-12 hours. Serum leptin concentrations were measured by ELISA kits for human leptin. Plasma insulin and C-peptide levels were measured by chemiluminescent immunoassay. The measurement of HbA<sub>1c</sub> was performed by immunoassay. The measurements of serum total cholesterol, HDL cholesterol, triglyceride and glucose levels were performed by routine clinical methods. Statistical analyses were performed using SPSS and MedCalc statistical programs.

Serum leptin levels correlated positively with body mass index in the whole study group ( $r=0.524$ ,  $p<0.001$ ). Serum leptin concentrations were higher in females than males ( $p<0.001$ ). There was no difference in serum leptin levels between type 2 diabetic males and healthy males ( $p>0.05$ ). Fasting serum leptin levels were significantly lower in type 2 diabetic females compared to the healthy females. This difference was more significant in obese females ( $p<0.001$ ) than non-obese females ( $p<0.05$ ).

As a result, plasma leptin levels are chiefly dependent on the body mass index and gender, and have no special relation to glycemic control. The lower leptin levels in type 2 diabetic females can be explained by the difference in fat distribution between type 2 diabetic patients and the non-diabetic subjects.

Key Words: Leptin, type 2 diabetes mellitus, obesity.

## 9. KAYNAKLAR

1. İliçin G, Ünal S, Biberöđlu K, Akalın S, Süleymanlar G: Temel İç Hastalıkları. Cilt-2 eki. Güneş Kitabevi Ltd. Şti, Ankara, 1997:2-30.
2. Dowse GK, Zimmet PZ, Gareeboo H, George K, Alberti MM, Tuomilehto J, et al. Abdominal obesity and physical inactivity as risk factors for NIDDM and impaired glucose tolerance in Indian, Creole, and Chinese Mauritians. *Diabetes Care* 1991; 14:271-282.
3. Burtis CA, Ashwood ER: *Tietz Textbook Of Clinical Chemistry*. Third edition. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1999:754-772.
4. Katsilambros N. New developments in obesity. *Eur J Intern Med* 2000; 11:65-74.
5. Dickey RA, Bartuska DG, Bray GW, Callaway CW, Davidson ET, Feld S, et al. AACE/ACE Position statement on the prevention, diagnosis and treatment of obesity. *Endocr Pract* 1998; 4:297-330.
6. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994,372:425-432.
7. Mohamed-Ali V, Pinkney JH, Coppack SW. Adipose tissue as an endocrine and paracrine organ. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998; 22:1145-1158.
8. Ahima RS, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocrinol Metab* 2000; 11:327-332.
9. Ailhaud G. Adipose tissue as an endocrine organ. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000; 24 Suppl 2:S1-3.

10. Trayhurn P, Beattie JH. Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ. *Proc Nutr Soc* 2001; 60:329-339.
11. Prins JB. Adipose tissue as an endocrine organ. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2002; 16:639-651.
12. Sweeney G. Leptin signalling. *Cell Signal* 2002; 14:655-663.
13. Prolo P, Wong ML, Licinio J. Leptin. *Int J Biochem Cell Biol* 1998; 30:1285-1290.
14. Auwerx J, Staels B. Leptin. *Lancet* 1998; 351:737-742.
15. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003; 26:S5-20.
16. Huang SC, Phelps ME, Hoffman EJ, Sideris K, Selin CJ, Kuhl DE. Noninvasive determination of local cerebral metabolic rate of glucose in man. *Am J Physiol* 1980; 238:E69-E82.
17. DeFronzo RA, Gunnarsson R, Bjorkman O, Olsson M, Wahren J. Effects of insulin on peripheral and splanchnic glucose metabolism in noninsulin-dependent (type II) diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1985; 76:149-155.
18. DeFronzo RA, Jacot E, Jequier E, Maeder E, Wahren J, Felber JP. The effect of insulin on the disposal of intravenous glucose. Results from indirect calorimetry and hepatic and femoral venous catheterization. *Diabetes* 1981; 30:1000-1007.
19. DeFronzo RA, Ferrannini E, Hendler R, Felig P, Wahren J. Regulation of splanchnic and peripheral glucose uptake by insulin and hyperglycemia in man. *Diabetes* 1983; 32:35-45.
20. Sabbah E, Savola K, Kulmala P, Veijola R, Vähäsalo P, Karjalainen J, et al. Diabetes-associated autoantibodies in relation to clinical characteristics and natural course in children with newly diagnosed type 1 diabetes. The

- Childhood Diabetes In Finland Study Group. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:1534-1539.
21. Amos AF, McCarty DJ, Zimmet P. The rising global burden of diabetes and its complications: estimates and projections to the year 2010. *Diabet Med* 1997; 14Suppl 5:S1-85.
  22. American Diabetes Association. Type 2 diabetes in children and adolescents. *Diabetes Care* 2000; 23:381-389.
  23. DeFronzo RA, Ferrannini E, Simonson DC. Fasting hyperglycemia in non-insulindependent diabetes mellitus: contributions of excessive hepatic glucose production and impaired tissue glucose uptake. *Metabolism* 1989; 38:387-395.
  24. Kelley D, Mokan M, Veneman T. Impaired postprandial glucose utilization in noninsulin- dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 1994; 43:1549-1557.
  25. Vauhkonen I, Niskanen L, Vanninen E, Kainulainen S, Uusitupa M, Laakso M. Defects in insulin secretion and insulin action in non-insulin-dependent diabetes mellitus are inherited. *Metabolic studies on offspring of diabetic probands. J Clin Invest* 1998; 101:86-96.
  26. Magnusson I, Rothman DL, Katz LD, Shulman RG, Shulman GI. Increased rate of gluconeogenesis in type II diabetes mellitus. A <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance study. *J Clin Invest* 1992; 90:1323-1327.
  27. Consoli A, Nurjhan N, Capani F, Gerich J. Predominant role of gluconeogenesis in increased hepatic glucose production in NIDDM. *Diabetes* 1989; 38:550-557.
  28. Puhakainen I, Koivisto VA, Yki-Järvinen H. No reduction in total hepatic glucose output by inhibition of gluconeogenesis with ethanol in NIDDM patients. *Diabetes* 1991; 40:1319-1327.
  29. Rossetti L. Glucose toxicity: the implications of hyperglycemia in the pathophysiology of diabetes mellitus. *Clin Invest Med* 1995; 18:255-260.

30. Kaplan LA, Pesce AJ, Kazmierczak SC. *Clinical Chemistry*. Fourth edition. Mosby, St. Louis, 2003: 590-595.
31. Perry IJ, Wannamethee SG, Walker MK, Thomson AG, Whincup PH, Shaper AG. Prospective study of risk factors for development of non-insulin dependent diabetes in middle aged British men. *BMJ* 1995; 310:560-564.
32. DeFronzo RA, Sherwin RS, Kraemer N. Effect of physical training on insulin action in obesity. *Diabetes* 1987; 36:1379-1385.
33. Tuomilehto J, Lindström J, Eriksson J, Hämäläinen H, Ilanne-Parikka P, Keinänen-Kiukaanniemi S, et al. Finnish Diabetes Prevention Study Group: Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med* 2001; 344:1390-1392.
34. Tuomi T, Groop LC, Zimmet PZ, Rowley MJ, Knowles W, Mackay IR. Antibodies to glutamic acid decarboxylase reveal latent autoimmune diabetes mellitus in adults with a non-insulin-dependent onset of disease. *Diabetes* 1993; 42:359-362.
35. Turner R, Stratton I, Horton V, Manley S, Zimmet P, Mackay IR, et al. UKPDS 25: autoantibodies to islet-cell cytoplasm and glutamic acid decarboxylase for prediction of insulin requirement in type 2 diabetes. UK Prospective Diabetes Study Group. *Lancet* 1997; 350:1288-1293.
36. Torn C, Landin-Olsson M, Ostman J, Schersten B, Arnqvist H, Blohme G, et al. Glutamic acid decarboxylase antibodies (GADA) is the most important factor for prediction of insulin therapy within 3 years in young adult diabetic patients not classified as Type 1 diabetes on clinical grounds. *Diabetes Metab Res Rev* 2000; 16:442-447.
37. McCarthy M, Mensel S. The genetics of type 2 diabetes. *Br J Clin Pharmacol* 2001; 51:195-199.
38. Winter WE, Nakamura M, House DV. Monogenic diabetes mellitus in youth. The MODY syndromes. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1999; 28:765-785.



39. Andreoli TE, Bennet JC, Carpenter CJ, Plum F, Smith LH. Cecil Essentials Of Medicine. Üçüncü edisyon (Çev. S Çalangu, S Gündoğdu, T Paker, N Paker, A Siva, M Şişmanoğlu, M Tuzcu, S Tuzcu, U Ülkü). Yüce Yayınları A.Ş, İstanbul, 1995:513-523.
40. Ohlson LO, Larsson B, Svardsudd K, Welin L, Eriksson H, Wilhelmsen L, et al. The influence of body fat distribution on the incidence of diabetes mellitus. 13.5 years of follow-up of the participants in the study of men born in 1913. *Diabetes* 1985; 34:1055-1058.
41. Knowler WC, Pettitt DJ, Saad MF, Bennett PH. Diabetes mellitus in the Pima Indians: incidence, risk factors and pathogenesis. *Diabetes Metab Rev* 1990; 6:1-27.
42. Chen KW, Boyko EJ, Bergstrom RW, Leonetti DL, Newell-Morris L, Wahl PW, et al. Earlier appearance of impaired insulin secretion than of visceral adiposity in the pathogenesis of NIDDM. 5-Year follow-up of initially nondiabetic Japanese-American men. *Diabetes Care* 1995; 18:747-753.
43. Bethesda MD. Report of the National Commission on Diabetes to the Congress of United States. US Department of Health, Education and Welfare, United States National Commission on Diabetes. 1975.
44. Van Itallie TB. Health implications of overweight and obesity in the United States. *Ann Intern Med* 1985; 103:983-988.
45. Everhart JE, Pettitt DJ, Bennett PH, Knowler WC. Duration of obesity increases the incidence of NIDDM. *Diabetes* 1992; 41:235-240.
46. Misra A, Vikram NK. Clinical and pathophysiological consequences of abdominal adiposity and abdominal adipose tissue depots. *Nutrition* 2003; 19:457-466.
47. Steppan CM, Lazar MA. Resistin and obesity-associated insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab* 2002; 13:18-23.
48. Horlick MB, Rosenbaum M, Nicolson M, Levine LS, Fedun B, Wang J, et al. Effect of puberty on the relationship between circulating leptin and body composition. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:2509-2518.

49. Rosenbaum M, Nicolson M, Hirsch J, Murphy E, Chu F, Leibel RL. Effects of weight change on plasma leptin concentrations and energy expenditure. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:3647-3654.
50. Licinio J, Mantzoros C, Negrao AB, Cizza G, Wong ML, Bongiorno PB, et al. Human leptin levels are pulsatile and inversely related to pituitary-adrenal function. *Nat Med* 1997; 3:575-579.
51. Masuzaki H, Ogawa Y, Sagawa N, Hosoda K, Matsumoto T, Mise H, et al. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nat Med* 1997; 3:1029-1033.
52. Klein S, Coppack SW, Mohamed-Ali V, Landt M. Adipose tissue leptin production and plasma leptin kinetics in humans. *Diabetes* 1996; 45:984-987.
53. Houseknecht KL, Portocarrero CP. Leptin and its receptors: regulators of whole-body energy homeostasis. *Domest Anim Endocrinol* 1998; 15:457-475.
54. Stephens TW, Basinski M, Bristow PK, Bue-Valleskey JM, Burgett SG, Craft L, et al. The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. *Nature* 1995; 377:530-532.
55. Maresh GA, Maness LM, Zadina JE, Kastin AJ. In vitro demonstration of a saturable transport system for leptin across the blood-brain barrier. *Life Sci* 2001; 69:67-73.
56. Ahima RS, Saper CB, Flier JS, Elmquist JK. Leptin regulation of neuroendocrine systems. *Front Neuroendocrinol* 2000; 21:263-307.
57. Ceddia RB, William WN Jr, Carpinelli AR, Curi R. Modulation of insulin secretion by leptin. *Gen Pharmacol* 1999; 32:233-237.
58. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996; 334:294-295.

59. Jequier E, Tappy L. Regulation of body weight in humans. *Physiol Rev* 1999; 79:451-80.
60. Gullicksen PS, Della-Fera MA, Baile CA. Leptin-induced adipose apoptosis: Implications for body weight regulation. *Apoptosis* 2003; 8:327-335.
61. Clement K, Vaisse C, Lahlou N, Cabrol S, Pelloux V, Cassuto D, et al. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature* 1998; 392:398-401.
62. Strobel A, Issad T, Camoin L, Ozata M, Strosberg AD. A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity. *Nat Genet* 1998; 18:213-215
63. Bullo M, Garcia-Lorda P, Megias I, Salas-Salvado J. Systemic inflammation, adipose tissue tumor necrosis factor, and leptin expression. *Obes Res* 2003; 11:525-531.
64. Houseknecht KL, Baile CA, Matteri RL, Spurlock ME. The biology of leptin: a review. *J Anim Sci* 1998; 76:1405-1420.
65. Muoio DM, Lynis Dohm G. Peripheral metabolic actions of leptin. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2002; 16:653-666.
66. de Courten M, Zimmet P, Hodge A, Collins V, Nicolson M, Staten M, et al. Hyperleptinaemia: the missing link in the metabolic syndrome? *Diabet Med* 1997; 14:200-208.
67. Donahue RP, Prineas RJ, Donahue RD, Zimmet P, Bean JA, De Courten M, et al. Is fasting leptin associated with insulin resistance among nondiabetic individuals? The Miami Community Health Study. *Diabetes Care* 1999; 22:1092-1096.
68. Clement K, Lahlou N, Ruiz J, Hager J, Bougneres P, Basdevant A, et al. Association of poorly controlled diabetes with low serum leptin in morbid obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1997; 21:556-561.

69. Haque Z, Rahman MA. Serum leptin levels in female patients with NIDDM. *J Coll Physicians Surg Pak* 2003; 13:130-134.
70. Wellhoener P, Fruehwald-Schultes B, Kern W, Dantz D, Kerner W, Born J, et al. Glucose metabolism rather than insulin is a main determinant of leptin secretion in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:1267-1271.
71. Sharma K, Considine RV. The Ob protein (leptin) and the kidney. *Kidney Int* 1998; 53:1483-1487.
72. Trinder P. Determination of blood glucose using 4-amino phenazone as oxygen acceptor. *J Clin Pathol* 1969; 22:246.
73. Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. Third edition. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1999:839-843.
74. Sugiuchi H, Uji Y, Okabe H, Irie T, Uekama K, Kayahara N, et al. Direct measurement of high-density lipoprotein cholesterol in serum with polyethylene glycol-modified enzymes and sulfated alpha-cyclodextrin. *Clin Chem* 1995; 41:717-723.
75. Huang YC, Kao JT, Tsai KS. Evaluation of two homogeneous methods for measuring high-density lipoprotein cholesterol. *Clin Chem* 1997; 43:1048-1055.
76. Cobbaert C, Zwang L, Ceriotti F, Modenese A, Cremer P, Herrmann W, et al. Reference standardization and triglyceride interference of a new homogeneous HDL-cholesterol assay compared with a former chemical precipitation assay. *Clin Chem* 1998; 44:779-789.
77. Duncan PH, Gochman N, Cooper T, Smith E, Bayse D. A candidate reference method for uric acid in serum. I. Optimization and evaluation. *Clin Chem* 1982; 28:284-290.
78. Vasiliades J. Reaction of alkaline sodium picrate with creatinine: I. Kinetics and mechanism of formation of the mono-creatinine picric acid complex. *Clin Chem* 1976; 22:1664-1671.

79. Sampson EJ, Baird MA. Chemical inhibition used in a kinetic urease/glutamate dehydrogenase method for urea in serum. *Clin Chem* 1979; 25:1721-1729.
80. John WG. Hemoglobin A1c measurement: new precise immunoassay method involving latex particle agglutination. *Clin Chem* 1996; 42:1874-1875.
81. Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. Third edition. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1999:205-224.
82. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18:499-502.
83. Ostlund R.E.Jr, Wang J.W, Klein S, Gingerich R. Relation between plasma leptin concentration and body fat, gender, diet, age, and metabolic covariates. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:3909-3913.
84. Havel PJ, Kasim-Karakas S, Dubuc GR, Mueller W, Phinney SD. Gender differences in plasma leptin concentrations. *Nat Med* 1996; 2:949-950.
85. Hickey MS, Israel RG, Gardiner SN, Considine RV, McCammon MR, Tyndall GL, et al. Gender differences in serum leptin levels in humans. *Biochem Mol Med* 1996; 59:1-6.
86. Ostlund RE Jr, Yang JW, Klein S, Gingerich R. Relation between plasma leptin concentration and body fat, gender, diet, age, and metabolic covariates. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:3909-3913.
87. Ongphiphadhanakul B, Rajatanavin R, Chanprasertyothin S, Piaseu N, Chailurkit L. Serum leptin concentrations in relation to body fat, gender, sex hormones and metabolic covariates in Thais. *J Med Assoc Thai* 1999; 82:862-867.
88. Okumura T, Taniguchi A, Nagasaka S, Sakai M, Fukushima M, Kuroe A, et al. Relationship of regional adiposity to serum leptin level in nonobese Japanese type 2 diabetic male patients. *Diabetes Metab* 2003; 29:15-18.

108. Temelkova-Kurktschiev T, Hanefeld M, Leonhardt W. Small dense low-density lipoprotein (LDL) in non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM). Impact of hypertriglyceridemia. *Ann N Y Acad Sci* 1997;827:279-286.
109. Lewis GF, Steiner G. Hypertriglyceridemia and its metabolic consequences as a risk factor for atherosclerotic cardiovascular disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Metab Rev* 1996; 12: 37-56.
110. Vogelberg KH, Grimm K, Gries FA. Hypertriglyceridemia in insulin dependent diabetes mellitus with peripheral vascular disease. *Horm Metab Res Suppl* 1985; 15:90-94.
111. Schonfeld G. Hypertriglyceridemia in noninsulin dependent diabetes mellitus. *Semin Thromb Hemost* 1988; 14:184-188.
112. Misra A, Arora N, Mondal S, Pandey RM, Jaikhani B, Peshin S, et al. Relation between plasma leptin and anthropometric and metabolic covariates in lean and obese diabetic and hyperlipidaemic Asian Northern Indian subjects. *Diabetes Nutr Metab* 2001;14:18-26.
113. Haluzik M, Fiedler J, Nedvidkova J, Ceska R. Serum leptin levels in patients with hyperlipidemias. *Nutrition* 2000; 16:429-433.
114. Haluzik M, Fiedler J, Nedvidkova J, Ceska R. Serum leptin concentrations in patients with combined hyperlipidemia: relationship to serum lipids and lipoproteins. *Physiol Res* 1999; 48:363-368.
115. Douchi T, Iwamoto I, Yoshimitsu N, Kosha S, Nagata Y. Leptin production in pre- and postmenopausal women. *Maturitas* 2002; 42:219-223.
116. Hadji P, Hars O, Bock K, Sturm G, Bauer T, Emons G, et al. The influence of menopause and body mass index on serum leptin concentrations. *Eur J Endocrinol* 2000;143:55-60.