

**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TİP 2 DİYABET TANISI ALAN HASTALARDA İLK ALTI
AYLIK TEDAVİNİN OKSİDATİF STRES VE CARBOHYDRATE
DEFİCİENT TRANSFERRİN (CDT) ÜZERİNE ETKİSİ**

Bio. Keriman ÖZUĞUR

**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Tülay KÖKEN**


Tez No:2007- 021


AFYONKARAHİSAR 2007

KABUL VE ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Biyokimya Anabilim Dalı
Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 08/06/2007



Doç. Dr. Tülay KÖKEN
ÜYE


Yrd. Doç. Dr. Ahmet KAHRAMAN
ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Temir Ali DEMİR
ÜYE



Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Keriman ÖZUĞUR'un "Tip 2 Diyabet Tanısı Alan Hastalarda İlk Altı Aylık Tedavinin Oksidatif Stres ve Carbohydrate Deficient Transferin (CDT) Üzerine Etkisi" başlıklı tezi 15/06/2007 günü saat 14:00'da lisansüstü eğitim ve öğretim sınav yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir:


Doç. Dr. Yavuz DEMİR
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Tezimin yürütülmesi ve yapılmasında emeği geçen, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan değerli tez hocam, Biyokimya Anabilimdalı Başkanı Sayın Doç. Dr. Tülay KÖKEN'e, tez konusunun belirlenmesinde ve tez çalışmalarımın planlanmasında emeği geçen değerli hocam Doç. Dr. Mustafa SERTESER'e ve yüksek lisans eğitimim boyunca yetişmemde emeği geçen değerli hocam, Yrd. Doç. Dr. Ahmet KAHRAMAN'a, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Serap DEMİR'e teşekkür ederim.

Sevgisiyle beni mutlu eden biricik kızıma, bugünlere gelmemde bana olağanüstü gayretiyle her zaman her konuda destek olan aileme ve sevgili eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin numune toplama aşamasında bana yardımcı olan İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda görev yapan Dr. Türkan PAŞALI KİLİT'e, istatistiksel değerlendirmede bana yardımcı olan Patoloji Anabilim Dalı'nda görev yapan Dr. Nevin TOPAK' a ve tezimin çalışmasında bana yardımcı olan Biyokimya Anabilim Dalı'nda görev yapan Arş.Grv. Funda KARABAĞ'a teşekkür ederim.

Ayrıca AKÜ Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında çalışan çok değerli tekniker ve asistan arkadaşlarıma bana verdikleri destekten dolayı teşekkür ederim.

Bio. Keriman ÖZÜĞÜR
AFYONKARAHİSAR 2007

İÇİNDEKİLER

Kabul Ve Onay	II
Önsöz	III
İçindekiler	IV
Simgeler Ve Kısaltmalar	VII
Şekiller Dizini	X
Tablolar Dizini	XI
ÖZET	XIII
SUMMARY	XIV
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. DİABETES MELLİTUS	2
2.1.1.Tanım	2
2.1.2. Epidemiyolojisi	2
2.1.3. Sınıflaması	3
2.1.4. Tanı	3
2.1.5. Diabetes Mellitus'un Fizyopatolojisi	4
2.1.6. Glikoz Hemostaz'ının Düzenlenmesi	5
2.1.6.1. Kana Glukoz Veren metabolik Olaylar	5
2.1.6.2. Kandan Glukoz Alan Metabolik Olaylar	5
2.1.6.3. Kan Glukoz Düzeyinin Kontrolü	6
2.1.7. İnsülin Rezistansı	9
2.1.8. Tip 2 Diyabette İnsülin Sekresyon Bozuklukları	11
2.1.9. Diabetes Mellitus komplikasyonları	13
2.1.10. Diyabet ve Hipertansiyon	14
2.1.11. Diyabet ve Dislipidemi	15
2.2.SERBEST RADİKALLER	16
2.2.1. Biyolojik Sistemlerde Oluşan Reaktif Oksijen Ürünleri	16
2.2.1.1. Süperoksit Radikali	17
2.2.1.2. Hidroksil Radikali	19

2.2.1.3. Singlet Oksijen	19
2.2.1.4. Hidrojen Peroksit	19
2.2.1.5. Nitrik Oksit	19
2.2.1.6. Peroksinitrit	20
2.2.2. Serbest Radikallerin Etkileri	20
2.2.2.1. Mebran Lipidleri Üzerine Olan Etkileri	20
2.2.2.2. Proteinler Üzerine Olan Etkileri	21
2.2.2.3. Karbohidratlar Üzerine Olan Etkileri	21
2.2.2.4. Nükleik Asit Üzerine Olan Etkileri	21
2.3. ANTİOKSİDANLAR	22
2.3.1. İntraselüler Antioksidan Komponentler	22
2.3.1.1. Süperoksit Dismutaz	23
2.3.1.2. Katalaz	23
2.3.1.3. Glutasyon Peroksidaz	23
2.3.1.4. Glutasyon Redüktaz	24
2.3.1.5. Redükte Glutasyon	24
2.3.2. Membran Antioksidanları	25
2.3.3. Ekstraselüler Antioksidanlar	25
2.4. DİABETES MELLİTUS VE OKSİDATİF STRES	27
2.5. İNSÜLİN DİRENCİNDE İLAÇ TEDAVİSİ	31
2.6. KARBOHİDRATTAN YOKSUN TRANSFERRİN	34
3. MATERYAL VE METOD	37
3.1. MATERYAL SAĞLANMASI	37
3.2. METODLAR	39
3.2.1. Serum MDA Düzeyinin Ölçümü	39
3.2.2. Serum Protein Karbonil Grup Tayini	40
3.2.3. Serum SH Gruplarının Tayini	41
3.2.4. NO Düzeyinin Ölçümü	41
3.2.5. % CDT TIA Düzeylerinin Ölçümü	43
3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	45
4. BULGULAR	46
4.1. MDA DÜZEYLERİ	46

4.2. KARBONİL DÜZEYLERİ	47
4.3. SH DÜZEYLERİ	48
4.4. NO DÜZEYLERİ	49
4.5. %CDT DÜZEYLERİ	50
4.6. GLUKOZ DÜZEYLERİ	51
4.7. İNSÜLİN DÜZEYLERİ	52
4.8. FRUKTOZAMİN DÜZEYLERİ	53
4.9. HbA1c DÜZEYLERİ	54
4.10. İNSÜLİN DİRENCİ DÜZEYLERİ	55
4.11.KORELASYONLAR	56
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇ	64
KAYNAKLAR	65

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADA	: American Diabetes Association (Amerikan Diyabet Birliği)
ALT	: Alanin Aminotransferaz
AR	: Aldoz Redüktaz
AST	: Aspartat Aminotransferaz
CAT	: Katalaz
·CCl₃	: Triklorometil Radikali
CDT	: Carbohydrate Deficient Transferin
DM	: Diabetes Mellitus
DNA	: Deoksiribonükleikasit
DNP	: 2,4-dinitrofenilhidrazin
DTNB	: 5,5'-ditiobis (2-nitrobenzoik asit)
ECLIA	: Elektro Kemiluminesas İmmunoassay
ELISA	: Enzym Linked Sorbend İmmunoassay
FDA	: Food and Drug Administration
Fe²⁺	: Demir İyonu
GLUT 4	: Glukoz Transporter 4
GSH	: Redükte Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
GSSG	: Okside Glutasyon
GSSGR	: Glutasyon Redüktaz
H	: Hidrojen
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HbA1c	: Hemoglobin A1c
HDL	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
HO₂·	: Perhidroksi Radikali
HOMA-IR	: İnsülin Direncinin Değerlendirilmesinde Homeostazis Modeli
JNC	: Joint National Committee (Birleşik Ulusal Komite)
IDL	: Ara Dansiteli Lipoprotein
IFG	: Bozulmuş Açlık Glukozu
IGT	: Bozulmuş Glukoz Toleransı

AGE	: İleri Glikozilasyon Son Ürünleri
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
Lp (a)	: Lipoprotein a
M	: Molar
MDA	: Malondialdehit
NCEP-ATP III	: National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III (Ulusal Kolesterol Eğitim Programı-Yetişkin Tedavi Paneli III)
NO	: Nitrik Oksit
NO₂	: Nitrojen Dioksit
O₂⁻	: Singlet Oksijen
O₂^{-•}	: Süperoksit Anyon Radikali
OGTT	: Oral Glikoz Tolerans Testi
OH[•]	: Hidroksil Radikali
ONOO⁻	: Peroksinitrit
PPAR-γ	: Nükleer Peroxisome Proliferator Activated Recepttor-gamma
PUFA	: Çoklu Doymamış Yağ Asiti
RCOs	: Reaktif Karbonil Bileşikleri
RNA	: Ribonükleik Asit
RO[•]	: Alkoksil Radikali
ROO⁻	: Peroksil Radikali
ROS	: Reaktif Oksijen Ürünleri
RS[•]	: Thyl Radikali
SH	: Sülfhidril
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TBA	: Tiyobarbitirik Asit
TBARS	: Tiyobarbitürik Asit Reaktif Ürünleri
TCA	: Trikloroasetikasit
TNF-α	: Tumor Necrosis Factor- α
TT	: Total Transferrin
TURDEP	: Türkiye Diyabet Epidemiyolojisi Projesi
UKPDS	: İngiltere Prospektif Diyabet Çalışması

VLDL	: Çok Düşük Dansiteli lipoprotein
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
XO	: Ksantin Oksidaz
4-HNE	: 4-hidroksinonenal

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.6.a Kana glukoz veren ve kandan glukoz alan metabolik olaylar	6
Şekil 2.1.6.b Kan glukoz düzeyinin normal düzeyde tutulması	8
Şekil 2.4.1. Diabetes mellitus'da artmış oksidatif stresin mekanizması	28
Şekil 2.4.2. Antioksidan sistemler	29
Şekil 2.5.1. PPAR- γ 'nın vasküler fizyolojideki merkezi rolü	33
Şekil 4.1.1. Aylara göre grupların MDA düzeyleri	46
Şekil 4.2.1. Aylara göre grupların karbonil düzeyleri	47
Şekil 4.3.1. Aylara göre grupların SH düzeyleri	48
Şekil 4.4.1. Aylara göre grupların NO düzeyleri	49
Şekil 4.5.1. Aylara göre grupların % CDT düzeyleri	50
Şekil 4.6.1. Aylara göre grupların glukoz düzeyleri	51
Şekil 4.7.1. Aylara göre grupların insülin düzeyleri	52
Şekil 4.8.1. Aylara göre grupların fruktozamin düzeyleri	53
Şekil 4.9.1. Aylara göre grupların HbA1c düzeyleri	54
Şekil 4.10.1 Aylara göre grupların insülin direnci düzeyleri	55

TABLolar DİZİNİ

TABLO – 2.1.3.1	3
Diabetes mellitus'un tipleri ve anormal glukoz metabolizmasının diğer kategorileri	
TABLO – 2.1.4.1	4
Diabetes mellitus ve bozulmuş glukoz regölasyonu tanı kriterleri	
TABLO – 2.1.7.1	10
NCEP-ATP III kriterleri	
TABLO – 2.2.1.a	17
Sık karşılaşılan radikaller, simgeler ve kimlikleri	
TABLO – 2.3.3.1	27
Ekstraselüler antioksidanlar ve özellikleri	
TABLO – 4.1.1	46
Grupların MDA düzeylerinin karşılaştırılması	
TABLO – 4.2.1	47
Grupların karbonil düzeylerinin karşılaştırılması	
TABLO – 4.3.1	48
Grupların SH düzeylerinin karşılaştırılması	
TABLO – 4.4.1	49
Grupların NO düzeylerinin karşılaştırılması	

TABLO – 4.5.1	50
Grupların % CDT düzeylerinin karşılaştırılması	
TABLO – 4.6.1	51
Grupların glukoz düzeylerinin karşılaştırılması	
TABLO – 4.7.1	52
Grupların insülin düzeylerinin karşılaştırılması	
TABLO – 4.8.1	53
Grupların fruktozamin düzeylerinin karşılaştırılması	
TABLO – 4.9.1	54
Grupların HbA1c düzeylerinin karşılaştırılması	
TABLO – 4.10.1	55
Grupların insülin direnci düzeylerinin karşılaştırılması	

ÖZET**Tip 2 Diyabet Tanısı Alan Hastalarda İlk Altı Aylık Tedavinin Oksidatif Stres Ve Carbohydrate Deficient Transferrin (CDT) Üzerine Etkisi**

Diabetes mellitus (DM), endojen insülinin mutlak veya göreceli eksikliği veya periferik etkisizliği sonucu ortaya çıkan kronik, progresif bir hastalıktır. İnsülin direnci; eksojen ve endojen insülinin etkilerine biyolojik yanıtın bozukluğu anlamına gelir ve tip 2 DM'nin patofizyolojisindeki temel sebeplerden biridir.

Bu çalışmanın amacı rutin alkol alımının bir göstergesi olarak kullanılan Carbohydrate deficient transferinin (CDT) yeni bir parametre olarak DM izleminde kullanılıp kullanılmayacağını araştırılmasıdır.

Çalışmaya, Tip 2 DM tanısı konulan 15 kişiden hasta grubu (70 yaşın altında; 9 kadın, 6 erkek), sağlıklı gönüllü 15 kişiden de (70 yaşın altında; 9 kadın, 6 erkek) kontrol grubu oluşturuldu. Çalışmaya alınan hastalara metformin (2 gr/gün) veya roziglitazon (8 mg/gün) tedavisi uygulandı.

Hastaların tedavi öncesi, tedavi başladıktan sonra 3. ay, 6. ay kan örnekleri alındı. Hasta ve kontrol grubundan alınan tüm kan örneklerinden malondialdehid (MDA), protein karbonil, sülfidril (SH) grupları, nitrik oksit (NO), % CDT, glukoz, insülin, fruktozamin, HbA1c ve düzeyleri ölçüldü ve insülin dirençleri hesaplandı.

Yapılan çalışmalar sonucunda DM' li hastalarda kontrol grubuna göre artmış MDA, NO, glukoz, fruktozamin, HbA1c ve insülin direnci düzeyleri gözlemlendi. Tedavi öncesi serum sülfidril ve karbonil düzeyleri, 3.ay'da ve 6.ay'da belirgin bir düşüş göstermesine rağmen kontrol grubu ile anlamlı bir fark gözlenmedi. Diabetik hastaların % CDT ve insülin düzeylerinde anlamlı bir fark gözlenmedi

Bu sonuçlara göre, diyabette lipid peroksidasyonunun arttığı ve antioksidan mekanizmaları etkilediği görüldü. Oksidatif stresin azalma sebebinin tedavi sonrası hipergliseminin azalmasından mı yoksa antioksidan özellikleri olan antidiyabetik ilaçların kullanımından mı kaynaklandığını bize düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: CDT, Tip 2 DM, oksidatif stres.

SUMMARY

The Effect of Diabet Treatment on Oxidative Stres and Carbohydrate-Deficient Transferrin (CDT) in Diabetic Patients

Diabetes mellitus (DM) is a chronic, progressive disease come out as a result of the absolute or the relative lack of endogenous insulin or ineffectiveness of it. Insulin resistance means the defect in the biological response to the effects of exogenous or endogenous insulin and it is one of the main reasons in the pathophysiology of type 2 DM. Metformin and rosiglitazone show their main antidiabetic effects by reducing insulin resistance.

The objective of this study is investigating whether CDT used as an indicator of alcohol intake may be used as a new parameter in the follow-up of Diabetes Mellitus (DM).

For this purpose, the patient group including fifteen patients (under 70 years old; 9 female, 6 male) with Type II DM and the control group including fifteen healthy volunteer (under 70 years old; 9 female, 6 male) were included in the study. Metformin (2 g/day) or rosiglitazon (8 mg/day) treatments were applied for the patients included in the study.

Blood samples were drawn from the patients before the treatment, 3 and 6 months after the beginning time of the treatment. In all the blood samples of the patient and the control groups, Malondialdehyde (MDA), protein carbonyl, sulfhydryl (SH) groups, nitric okside (NO), CDT %, glucose, fructose amine, HbA1c levels were measured and insulin resistances were calculated.

As a result of the studies performed, in the patients with DM increased MDA, NO, glucose, fructose amine, HbA1c and insulin resistance levels were observed when compared with the control group. Although serum sulfhydryl and carbonyl levels showed a prominent decrease in the 3th and the 6th months before the treatment, no significant difference was observed between the patient and the control groups. No significant difference was observed in the CDT % and the insulin levels of the diabetic patients.

According to these results, in diabetes it was seen that lipid peroxidation was increased and this affected the antioxidant mechanisms. This made us think whether the reason of the decrease in the oxidative stress was due to the decrease of hyperglycemia after the treatment or due to the intake of antidiabetic drugs with antioxidant properties.

Key words: CDT, Type II DM, oxidative stress.

1. GİRİŞ

Diabetes mellitus (DM), endojen insülinin mutlak veya göreceli eksikliği veya periferik etkisizliği sonucu ortaya çıkan kronik hiperglisemi, karbohidrat, protein ve yağ metabolizmasında bozukluk, kapiller membran değişiklikleri ve hızlanmış ateroskleroz ile seyreden kronik, progresif bir hastalıktır (1). Tip 2 DM' un fizyopatolojisinde yer alan periferik insülin direnci, gerek diyabetik aterosklerotik komplikasyonların gelişmesinde, gerekse metabolik sendromun oluşmasında en önemli neden olarak görülmektedir (2). Bu nedenle Tip 2 DM patofizyolojisinde anahtar rol oynayan insülin rezistansının tedavisinde günümüzde insülin rezistansına etkili olan biguanidler (metformin) ve tiazolidindion grubu ilaçlar (roziglitazon, pioglitazon) kullanılmaktadır.

CDT diğer belirleyicilere göre daha yeni bir belirleyicidir ve dünya çapında henüz çok az kullanılmaktadır. CDT son 20 yıldır alkol alımının biyokimyasal bir belirteci olarak kullanılmaktadır. CDT demir bağlayan, polipeptid olan transferrinin bir izoformudur. Öncelikle transferrini inceleyecek olursak; transferrin 679 aminoasitli bir polipeptid zinciri taşıyan 80 kilodaltonluk, demir (Fe) bağlayan, karaciğerde sentezlenip metabolize edilen Fe taşıyan ve serumda yüksek miktarda bulunan, daha az olarak BOS ve amniyotik sıvıda bulunan glikoproteindir.

Bu çalışmada, yeni tanı alan hastalarda DM' nin oksidatif stres parametreleri üzerine etkisini, rutin olarak kullanılan fruktozamin, HbA1c ve insülin düzeyleri ile CDT arasında bir ilişki olup olmadığının araştırılmasını ve rutin olarak alkol alımının bir göstergesi olarak kullanılan CDT'nin yeni bir parametre olarak Diabetes Mellitus'un izleminde kullanılıp kullanılamayacağını araştırılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diabetes Mellitus

2.1.1. Tanım

Diabetes Mellitus, pankreas β hücresinden insülinin sekresyonunda ve/veya insülinin periferik hücrelere etkisinde meydana gelen bozukluklar sonucu ortaya çıkan, karbohidrat yağ ve protein metabolizmalarını etkileyen, ağır komplikasyonlara neden olan, hiperglisemi ile karakterize bir grup metabolizma hastalığıdır. Son yıllarda bir dizi metabolik bozukluğu içine alan bir sendrom olarak da ifade edilmektedir.(3-6)

2.1.2. Epidemiyoloji

Dünyada 150 milyon civarında diyabet hastasının olduğu ve önümüzdeki on yıl içerisinde bunun iki katına çıkabileceği hesaplanmaktadır. Bu artış özellikle tip 2 DM prevalansının artışına bağlıdır. DM insidansı ve prevalansının dramatik olarak artması genetik faktörler yanında, yaşam süresinin uzaması, obezite ve fiziksel inaktivitenin önemli bir sonucudur.

Diyabet insidansı farklı etnik gruplar ve ülkeler arasında farklılık göstermekle beraber, genellikle tip 2 diyabet ortalama %5-10, tip 1 diyabet ise %0.5-1 civarındadır. Ülkemizde yapılan Türkiye Diyabet Epidemiyolojisi Projesi (TURDEP) çalışmasında tip 2 DM prevalansının %7.2 olduğu ortaya konulmuştur. Türkiye’de 2.6 milyon diyabetli, 1,6 milyon prediyabetli birey vardır. Yani hastaların 1/3’ü diyabetli olduklarını bilmemektedirler (4, 7, 8).

2.1.3. Sınıflaması

DM'nin sınıflaması 5 klinik sınıfı içerir (9) (Tablo-2.1.3.1).

Tablo 2.1.3.1. Diabetes mellitus' un tipleri ve anormal glukoz metabolizmasının diğer kategorileri

Klinik Sınıflama	
■	Tip 1 Diabetes Mellitus
■	Tip 2 Diabetes Mellitus
■	Gestasyonel Diyabetes Mellitus
■	Diğer spesifik tipler
▪	β hücre fonksiyonunda genetik bozukluk
▪	İnsülin etkisinde genetik bozukluk
▪	Ekzokrin pankreas hastalıkları
▪	Endokrinopatiler
▪	İlaçlara ve kimyasal maddelere ikincil diyabet
▪	Enfeksiyonlar
▪	Diyabetle ilişkili olan diğer genetik bozukluklar
■	Pre-diyabet
▪	Bozulmuş Glukoz Toleransı
▪	Bozulmuş Açlık Glukozu

2.1.4. Tanı

Diabetes Mellitus tanı kriterleri 1997 ve 2004 yılında Amerikan Diyabet Birliği (ADA – American Diabetes Association), 1999 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından yeniden düzenlenmiştir. Diyabet tanısı için kan glukoz ölçümü ve Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT) en sık kullanılan testlerdir.

ADA, 1997 kılavuzunda, açlık plazma glisemisinin 110 mg/dl ile 126 mg/dl arasındaki değeri için Bozulmuş Açlık Glukozu (IFG) adını verdiği yeni bir tanımlama önermiştir. OGTT ile 2. saat plazma glukoz düzeyinin 140-200 mg/dl arasında saptanmasına Bozulmuş Glukoz Toleransı (IGT) adı verilir (9,10).

DM tanısı, rastgele plazma glukoz tayini ile birlikte diyabet semptom ve belirtilerinin varlığı, açlık plazma glukozu ölçümü veya oral glukoz tolerans testi ile konulabilir. DM için tanı kriterleri tablo 2.1.4.1' de belirtilmiştir (11).

Tablo 2.1.4.1. Diabetes mellitus ve bozulmuş glukoz regülasyonu tanı kriterleri

1. Diabetes mellitus tanısı
<ul style="list-style-type: none"> ■ Semptomlar olan bir hastada, günün en son alınan yemeği göz önüne alınmadan, günün herhangi bir zamanında ölçülen glukoz düzeyi ≥ 200 mg/dl (≥ 11.1 mmol/l)* veya ■ Sekiz saat açlık sonrası glukoz düzeyi ≥ 126 mg/dl (≥ 7 mmol/l)* veya ■ Oral glukoz tolerans testi** ile 2. saat glukoz düzeyi ≥ 200 mg/dl (≥ 11.1 mmol/l)*
2. Bozulmuş glukoz regülasyonu tanısı
<ul style="list-style-type: none"> ■ Bozulmuş açlık glukozu: Açlık plazma glukoz düzeyi 100-125 mg/dl (5.5-7.0 mmol/l)* ■ Bozulmuş glukoz toleransı: Oral glukoz tolerans testi** ikinci saat plazma glukozu 140-199 mg/dl (7.8-11.1 mmol/l)*

* Glukoz düzeyi için venöz plazmada glukoz oksidaz yöntemi ile ölçüm esas alınmıştır.

** 75 gram glukoz ile Dünya Sağlık Örgütü standartlarında yapılan oral glukoz tolerans testi.

2.1.5. Diabetes Mellitus' un fizyopatolojisi

Diabetes Mellitus' un oluşumunda bilinen birincil sebepler; insülin yokluğu, yetersizliği veya insülin reseptörlerinin insüline direncidir. Bu olayların etyolojik nedeni henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Diyabetin genetik ve çevresel etkiler sonucu geliştiği kabul görmektedir.

2.1.6. Glukoz homeostazının düzenlenmesi

Kan glukozu, kana glukoz veren metabolik olaylar grubu ile kandan glukoz alan metabolik olaylar grubu arasındaki ilişkiyi yansıtır. Bu iki grubun elemanları Şekil 2.1.6.a' da görülmektedir. (12)

2.1.6.1. Kana glukoz veren metabolik olaylar

1- Barsaktan karbohidrat Emilimi: Diyetle alınan karbohidratlar barsakta parçalandıktan sonra glukozu dönüşür ve bu şekilde emilerek kana karışırlar. Ortalama olarak günde bu yolla 300 g glukoz emilimi gerçekleşir.

2- Glikojenoliz: 70 kg lık bir insanda ortalama olarak 400-500 g glikojen bulunur. Bunun % 80 i kas dokusunda bulunduğu için kana glukoz olarak verilemez. Karaciğer ve böbrek dokusunun içerdığı yaklaşık 80 g glikojen kana glukoz olarak verilebilir. 12 saatlik bir açlığı takiben karaciğer tüm glikojenini bu yolla kana aktarır.

3- Glukoneojenez: Organizma laktat, gliserol ve amino asitlerden elde ettiği glukozu kana verir.

2.1.6.2. Kandan glukoz alan metabolik olaylar

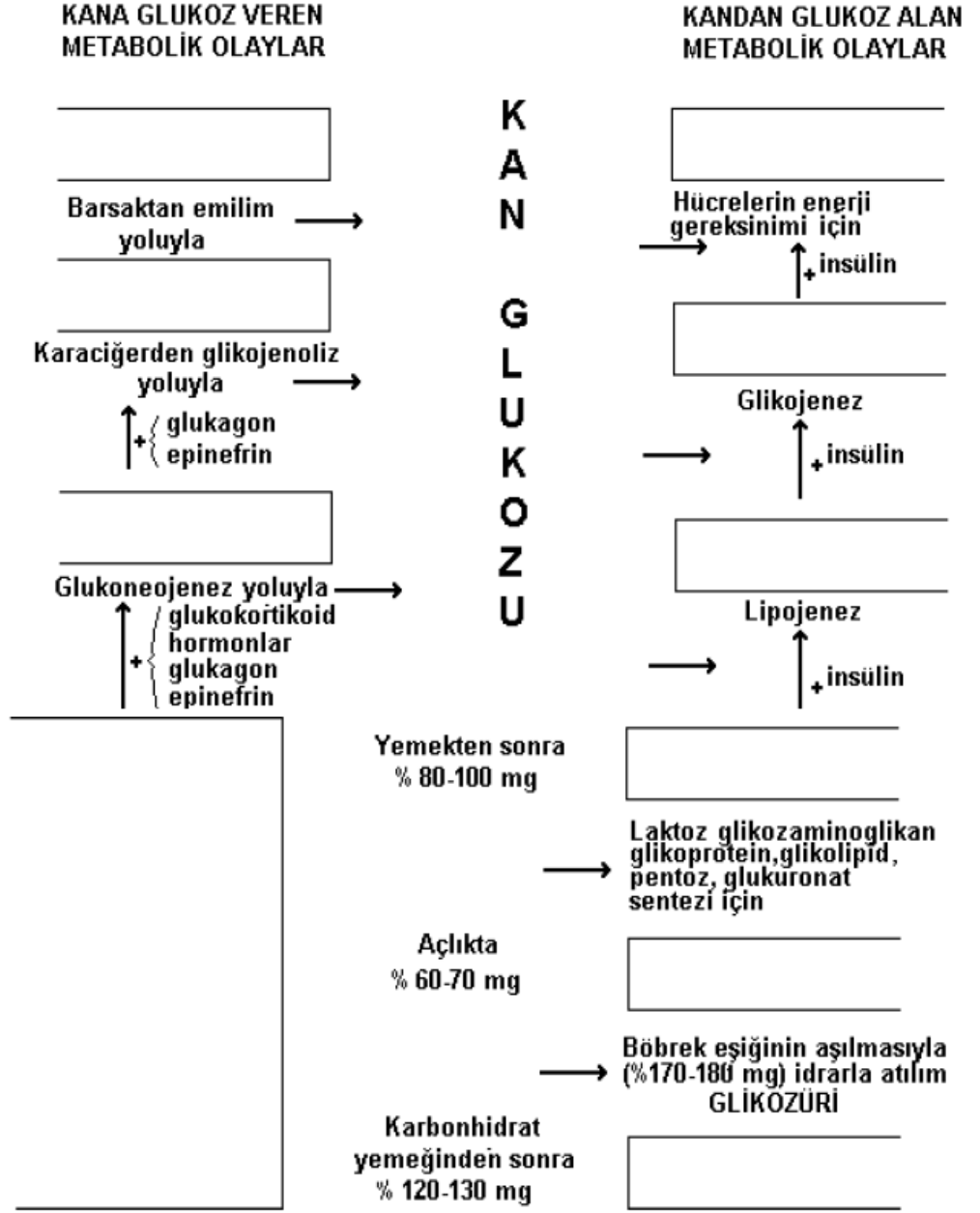
1- Tüm hücreler enerji için gerekli glukozu kandan alırlar.

2- Kan glukozu glikojenez için de kullanılır. Glukoz düzeyi 5 mmol/L yi aştığı zaman glukokinaz aktive olur, karaciğerde glukoz-6-fosfat oluşumu artar. Eş zamanlı olarak yükselen insülin de glikojen sentezini hızlandırır.

3- Lipogenez için gerekli gliserol ve yağ asitleri glukozdan sentezlenir.

4- Glukozun, enerji olarak kullanımı dışında bir çok maddenin yapısına katıldığını biliyoruz. Hatırlanacağı gibi laktoz, glikozaminoglikan, glikoprotein, glikolipit, glukuronat ve pentoz sentezlerinde kandan alınan glukoz kullanılır.

5- Kan düzeyi % 170-180 mg aştığı zaman glukoz idrarla dışarı atılır. Bu olaya glukozüri denir.



Şekil 2.1.6.a. Kana glukoz veren ve kandan glukoz alan metabolik olaylar

2.1.6.3. Kan glukoz düzeyinin kontrolü

Kan glukozunun bilinen düzeylerde tutulması bu olayın kontrolü anlamına gelir. Kontrol olayında organizmanın belirli bölgeleri arasındaki iletişim hormonlarla sağlanır (12).

Hormon etkisinin hücre düzeyinde ortaya çıkarılışı ise enzimlerle gerçekleştirilir. Organizmamızda kan glukozunu düşüren ve kan glukozunu yükselten iki sistem vardır. Kan glukoz düzeyi, birbirinin karşıtı bu iki sistem arasındaki etkileşimin ürünüdür.

1.Kan glukozunu düşüren sistem (İnsüliner sistem): Bu sistemin yegane elemanı insülin hormonudur.

İnsülin sekresyonu

İnsülin, glukozun hücre zarından geçişini ve hücre içinde kullanılmasını hızlandırarak kan glukozunu düşürür. Ancak vücudumuzdaki tüm hücreler insüline karşı glukoz transportu yönünden aynı duyarlılığı göstermezler. Kas ve yağ hücrelerinde insülin etkisi gözlenirken beyin hücreleri ve eritrositler insüline bağımlı değildir. Karaciğer hücrelerinde insülinin glukoz transportuna doğrudan doğruya etkisi yoktur. Ancak insülin, karaciğer hücrelerinde karbohidrat metabolizmasını hızlandırdığı için glukoz kullanımının artışına bağlı bir geçiş artışı söz konusudur.

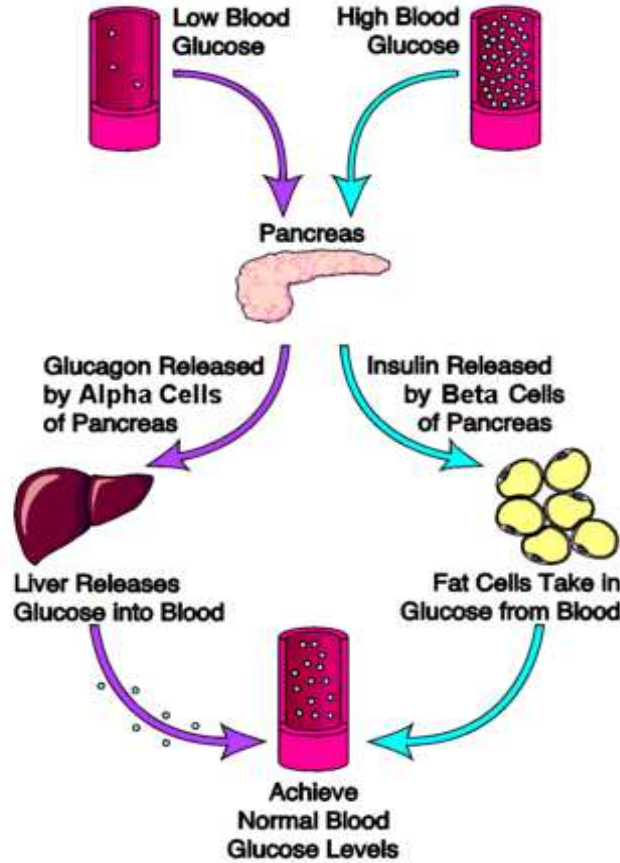
İnsüline karşı gösterilen bu seçicilik hücrelerin sahip olduğu glukoz transporter ları ile ilgilidir. İnsüline bağımlı olarak görev yapan GLUT4 transporterları sadece kas ve yağ dokusu hücrelerinde bulunur (12).

İnsülin glukozun hücre içinde kullanılmasını hızlandırır. Bu kapsamda glikojen sentezi hızlanır, glikojen yıkımı yavaşlar, glukozun oksidasyonu artar, glukoneojenez yavaşlar ve tüm bu etkileşimlerin sonucunda kan glukozu düşer (12).

2. Kan glukozunu yükselten sistem (Antiinsülinler sistem): Bu sistemde etkisi kısa vadede gözlenen glukagon ve epinefrin gibi hormonlarla, uzun vadede gerçekleşen glukokortikoid hormonlar, tiroid hormonları, gelişme hormonu gibi hormonlar bulunur.

Glukagon ve epinefrin, cAMP ye bağımlı protein kinazları aktive edip karaciğer ve böbrek hücrelerinde glikojenolizi hızlandırarak kan glukozunu yükseltirler. Glukagon, glukokortikoid hormonlar ve gelişme hormonununin glukoneojenezi hızlandırıcı etkilerinin olduğu bilinmektedir. Tiroid hormonları barsaktan karbohidrat emilimini hızlandırarak hiperglisemi yaratırlar.

Yukarıdan beri söz edilen bu iki sistemin karşılıklı etkileşimi sonucunda kan glukozu normal düzeyinde tutulur. (12)



Şekil-2.1.6.b. Kan glukoz düzeyinin normal düzeyde tutulması

Tip 1 diabetes mellitus

Pankreas β hücrelerinin, selektif ve ilerleyici harabiyetine bağlı tüm diabetes mellitus hastalarını kapsamaktadır. Mutlak insülin yetersizliği ile ortaya çıkan tablodur. Etyolojisinde çevresel faktörler sorumlu tutulmaktadır. Diyabet popülasyonunun yaklaşık %10'u tip 1 diyabettir.(13)

Tip 2 diabetes mellitus

Toplumda en sık görülen diabetes mellitus tipidir (%80-90).Tip 2 DM ilerleyici bir hastalıktır. Değişken oranlarda insülin direnci ve ilerleyici β hücre disfonksiyonu ile göreceli, bazı bireylerde ise mutlak insülin sekresyonu eksikliği ile karakterizedir. Bozulmuş insülin sekresyonu ya da insülin direnci, tip 2 DM gelişiminin altında yatan temel sebeptir (14).

2.1.7. İnsülin rezistansı

Tip 2 diabetes mellitusun başlıca patofizyolojik özelliği olan insülin direnci, insülinin, normal konsantrasyonda olmasına rağmen, yeterli biyolojik yanıt oluşturamamasıdır. Dolaşımdaki normalin üzerindeki insülin düzeyleri plazma glukozunu normale getireceğinden bu direnç görecelidir (15). Klinik olarak periferik insülin sensitivitesini ölçmek mümkündür. Bunun için kullanılan altın standart test, öglisemik insülin klemp testidir (16)

İnsülin direnci yaş, cins, ırk, vücut yağ kitlesi ve dağılımı, egzersiz, kan basıncı, ailesel diyabet anamnezi (genetik), sigara kullanımı ve iskemik kalp hastalığı gibi faktörlerce etkilenmektedir (17-19,16). İnsuline olan direnç, insüline duyarlı dokularda glukoz kullanımını bozar ve hepatik glukoz çıkışını artırır. Her iki etki de diyabetteki hiperglisemiye katkıda bulunur. Hepatik glukoz çıkışında artış öncelikle açlık plazma glukozundaki yükselmeyi etkilerken, periferik glukoz kullanımında (kas ve yağ dokusu) azalma postprandiyal hiperglisemiye neden olur (15).

Yükselen kan şekerini kontrol edebilmek üzere henüz sağlam olan beta hücrelerinden normalden daha fazla insülin salgılanır. Böylece günlük

metabolik faaliyetler optimal düzeyde sürdürülmeye, normoglisemi sağlanmaya çalışılır. Ancak bu dönemde, insülin düzeylerinde normale göre 1.5-2 kat artış vardır (20).

En erken dönemde insülin direnci, hiperinsülinemi ve visceral yağlanmada artışla birlikte. Yağ dokusunda adiponektin adı verilen maddeler bu ilişkinin düzenleyicileri olarak öne çıkmaktadır (21). Yağ dokusunda üretilen maddeler; serbest yağ asitleri, tumor necrosis factor- α (TNF- α) ve leptin, insülin ile düzenlenen glukoz alımını baskılar. Visceral yağ dokusu arttıkça, dolaşımda yağ dokusundan kaynaklanan maddelerin miktarı da artar. Yağlanma ve insülin direnci ile β hücrelerinde insülin üretimi ve salgılanması gibi faktörler genetik ve çevrenin etkileşimi ile belirlenir.

Yaşın ilerlemesiyle birlikte metabolik sendromun bileşenleri ortaya çıkar (21). İlerleyen yaş ile beraber insülin direnci de artmaktadır. Periferik insülin direnci, hiperinsülinemi, santral obezite, dislipidemi, hızlanmış ateroskleroz, hemorojik değişiklikler, inflamasyon, polikistik over hastalığı gibi bir çok faktörü içeren, epidemik oranlara ulaşmış klinik tablo, metabolik sendrom olarak adlandırılmaktadır (22). Ulusal Kolesterol Eğitim Programı-Yetişkin Tedavi Paneli III' te (NCEP-ATP III: National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III), Tablo-2.1.7.1 de belirtilen 5 kriterden en az üçünün var olması, metabolik sendrom olarak tanımlanmaktadır. (Diyabet varsa iki tanesinin bulunması yeterlidir) (23, 24, 21).

Tablo – 2.1.7.1. NCEP-ATP III Kriterleri

• Açlık kan şekeri ≥ 110 mg/dl
• Serum trigliserid ≥ 150 mg/dl
• Serum HDL kolesterol erkeklerde < 40 mg/dl, kadınlarda < 50 mg/dl
• Kan basıncı $\geq 130/85$ mmHg
• Santral obezite (Erkekler için bel çevresi > 102 cm, kadınlar için bel çevresi > 88 cm)

İnsülin direnci ve hiperinsülinemiden bir sonraki aşamada pankreas, periferde var olan insülin direncini yenemez olur. Beta hücresinde fonksiyon kaybı başladığında (glukotoksisite ve lipotoksisite) insülin salgısı da giderek azalır (15, 24, 21).

Sonrasında en tipik özelliği postprandiyal hiperglisemi olan bozulmuş glukoz toleransı gelişir. İnsülin sekresyonunda azalma ve hepatik glukoz üretiminde artış, açlık hiperglisemisi ile birlikte aşikar diyabete yol açar, en sonunda beta hücre yetersizliği ortaya çıkar (15, 24, 21).

Prospektif çalışmalar, insülin direnci olan bireylerde, sonunda glukoz intoleransı veya insüline bağımlı olmayan diyabetin geliştiğini göstermektedir (20).

İnsülin direnci hücresel olarak prereseptör, reseptör ve postreseptör olmak üzere üç düzeyde sınıflandırılmaktadır. Son yıllarda insülin direncinin oluşmasında en önemli katkıyı postreseptör düzeydeki defektlerin sağladığı ileri sürülmektedir. Yani moleküler kusurlar, insülin reseptörü ve son etki olan glukoz transporter 4 (GLUT4) arasındaki sinyal ileti yolundadır (25,20). İnsülin seviyesi direnci kişiden kişiye değişir. Sadece insülin rezistansının varlığının hastalığın gelişmesinde yeterli olmadığı bildirilmektedir (26).

2.1.8. Tip 2 diyabette insülin sekresyon bozuklukları

- 1.faz (erken) insülin sekresyonu bozukluğu saptanmıştır.
- Normal pulsatil insülin salınımı bozulmuştur.
- Açlık hiperglisemisi tip 2 diyabetiklerde gün boyunca insülin sekresyonunu uyarmaktadır. Bazal insülin sekresyonu da artmaktadır.
- Proinsülin düzeyleri bazı çalışmalarda yüksek bulunmuştur. Normalde sekrete edilen total insülinin %10'unu oluşturmaktadır(26).

Tip 2 diyabette sıklıkla görülen insülin direnci, normal glukoz toleransı olan ve diyabetli olmayan bireylerde de görülebilir. Tip 2 diyabetlilerin obez

olmayan ve diyabeti bulunmayan yakınlarında da insülin direncinin saptanması, genetik yatkınlığın rolünü desteklemektedir. Obezite, sedanter yaşam tarzı, sigara içimi, düşük doğum ağırlığı ve perinatal malnutrisyon da insülin direnci gelişimi ile ilişkili bulunmuştur (27). İnsülin direnci ve hiperinsülinemi, hipertansiyon riski ile ilişkilidir (28). Aynı zamanda artmış ateroskleroz nedeni ile makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonların ortaya çıkmasından da sorumludur.

İnsülin direnci, hücre düzeyinde insüline karşı olan direnci ifade eder. İnsülin direncinin kantitatif olarak ölçümü için en duyarlı yöntem “öglisemik hiperinsülinemik klemp tekniği”dir. Öglisemik hiperinsülinemik klemp tekniği, periferik insülin direncini belirlemede “altın standart” olarak kabul edilir. Testin temel prensibi, hiperinsülinemik bir ortam yaratarak bu ortamda normoglisemi sağlamak amacıyla verilen glukozun kullanım hızını saptamaya dayanır. Diğer testlerde olduğu gibi bu test de 10 saatlik açlık sonrası yapılır. Eğer hasta insülin kullanıyorsa, 24 saat öncesinden orta etkili insülinler kesilir ve normoglisemi, insülin infüzyonu ile sağlanır. Testten 2 saat önce insülin infüzyonuna son verilir. İnvaziv, özel donanım ve deneyimli kişiler gerektirdiğinden, rutinde değil araştırma amacıyla kullanılan çok değerli bir testtir (29). Bu testin kullanımının pratik olmaması nedeniyle insülin direnci ölçümünde, günümüzde başka yöntemler kullanılmaktadır.

Öglisemik hiperinsülinemik klemp tekniği ile yakın korelasyon gösteren, insülin ve glukozu dayalı daha basit insülin direnci ölçüm teknikleri klinik pratikte önerilmektedir. Bu yöntemler arasında en çok kullanılan yöntem, “insülin direncinin değerlendirilmesinde homeostazis modeli” (HOMA-IR) indeksinin ölçümüdür. WHO’nün insülin direnci için belirlediği sayısal değerler; öglisemik hiperinsülinemik klemp tekniği kullanıldığında 25. persentilin altındaki, HOMA-IR indeksi kullanıldığında ise 75. persentilin üzerindeki değerlerdir. HOMA-IR indeksinin hesaplamasında ölçüm hatalarının en aza indirgenmesi için; açlık glukoz ve açlık insülin ölçümlerinin 5 dakika ara ile 3 kez tekrarlanıp ortalamalarının alınması önerilir.

Hesaplama: “HOMA-IR = Açlık Plazma Glukozu (mmol/L) X Açlık Serum İnsülini (mU/L) / 22.5” formülü ile yapılır (30). Değişik epidemiyolojik çalışmalarda, sağlıklı bireylerin ve değişik düzeylerde glukoz intoleransı olanların insülin direnç durumları HOMA-IR indeksi kullanılarak araştırılmıştır. Bu çalışmalarda insülin direnci varlığı, HOMA-IR indeksi 2.5’un üzerindeki değerler olarak kabul edilmiştir (31, 32)

2.1.9. Diabetes Mellitus’ un komplikasyonları

I. Akut (metabolik) komplikasyonlar

- Hipoglisemi
- Hiperozmolar non-ketotik koma
- Diyabetik ketoasidoz
- Laktik asidoz

II. Kronik (dejeneratif) komplikasyonlar (4, 15)

A. Mikrovasküler komplikasyonlar

- Diyabetik nefropati
- Diyabetik retinopati
- Diyabetik nöropati

B. Makrovasküler komplikasyonlar

- Hipertansiyon
- Koroner arter hastalığı
- Serebrovasküler hastalık

C. Diğer kronik komplikasyonlar

- Gastrointestinal (gastroparezi, diyare)
- Genitoüriner (üropati, seksüel disfonksiyon)
- Dermatolojik
- Kemik ve mineral metabolizma bozuklukları
- Diyabetik ayak
- Psikolojik problemler ve psikiyatrik bozukluklar

Son yıllarda hızla artarak global bir halk sağlığı sorunu haline gelen diyabetin klinik önemi zaman içinde ortaya çıkan kronik komplikasyonlarla

ilgilidir. Günümüzde son dönem böbrek yetmezliğinin, erişkin körlüğünün nontravmatik alt ekstremitte amputasyonunun en sık nedeni diyabettir. Ayrıca diyabette kardiyovasküler hastalık riski de 2-4 kat artmıştır. Tip 2 diyabetiklerde baslıca ölüm nedeni kardiyovasküler komplikasyonlardır.

Bir çok çalışmaya göre komplikasyonlar tanıyı izleyen ilk yıllarda ortaya çıkmakta veya tanı konulduğunda etkilenmiş oldukları görülebilmektedir. Diyabetin kronik komplikasyonlarının gelişmesinde asıl nedenin hiperglisemi olduğu bilinmesine rağmen, kan yağlarının niteliği ve yoğunluğu, endotel ve intima değişiklikleri, hiperkoagülabilitte, hiperhomosisteinemi, inflamasyon, oksidatif stres, arteroskleroz gelişiminde hızlanma, obezite ve fiziksel aktivite eksikliği, hiperinsülinemi ve insülin direnci, protein glukasyonu, sigara gibi faktörler de rol oynamaktadır. Kronik komplikasyonların gelişmesinde, özellikle mikroanjiopatide genetik faktörlerin de rol oynadığı bildirilmektedir (21, 33-36).

2.1.10. Diyabet ve hipertansiyon

Birlesik Ulusal Komite'nin (JNC: Joint National Committee) 7. raporunda belirttiği biçimiyle hipertansiyon, kan basıncının 130/80 mmHg'dan büyük olmasıdır (diyabet ya da böbrek hastalığı ile birlikte hipertansiyonu olan kişiler için) (37). Bu durum, tip 2 diyabetikler arasında %70 oranında görülür ve nondiyabetiklere göre 2 kat daha sıktır (21). Tip 2 diyabette hipertansiyon, sıklıkla santral obezite ve dislipidemi de içeren insülin rezistansı metabolik sendromun bir parçasıdır (38). Arteriyel hipertansiyon, diyabetik mikro ve makroanjiyopatinin başlangıcı ve ilerlemesi için bir risk faktörüdür. Hipertansiyon, böbrek ve kalp hastalığına olan katkısı nedeni ile diyabette mortaliteyi 4-6 kat arttırır. Diyabeti ve hipertansiyonu olan hastalarda ciddi kardiyovasküler olay gelişme ihtimali, tek başına diyabet ya da tek başına hipertansiyonu olanların 2-3 katıdır (21).

Yapılan çalışmalar, diyabetik hastalarda sıkı kan basıncı kontrolünün kardiyovasküler morbidite ve mortaliteyi azalttığını göstermiştir (39,40).

İngiltere Prospektif Diyabet Çalışması'nda (UKPDS) epidemiyolojik kanıtlar; ortalama sistolik kan basıncında 10 mmHg'lik düşüşün, diyabetle ilgili herhangi bir komplikasyon riskinin %12, diyabetle ilgili ölüm riskinin %15, myokard infarktüsü riskinin %11 ve makrovasküler komplikasyon riskinin %13 azalmayla bağlantılı olduğunu göstermiştir (38).

2.1.11. Diyabet ve dislipidemi

Diyabet, kardiyovasküler hastalıklar için bağımsız bir risk faktörüdür ve bu risk beraberindeki dislipidemilerle daha da artar (41). Diyabetik hastalarda trigliseridlerin artması ve HDL kolesterolünün azalması ateroskleroza hızlandırır (21). Tip 2 diyabette görülen bu dislipidemi formu, genelde diyabet başlamadan önce de vardır (21). Trigliseridten zengin büyük VLDL'nin artmış hepatik sekresyonu ve VLDL'nin bozulmuş klirensi, diyabetik dislipideminin patofizyolojisinde merkezi rol oynamaktadır. Küçük yoğun LDL partikülleri, daha büyük VLDL prekürsörlerinin damar içinde özel olarak işlenmesi sonucu yükselmektedirler (42).

Birçok hastada bu anormal değişiklikler, LDL kolesterolün normal serum seviyelerinde bile oluşur. Nitekim genel olarak tip 2 diyabet hastalarının LDL düzeyleri normal insanlardan belirgin olarak farklı değildir. Bu hastalarda daha aterojenik olan küçük yoğun LDL miktarı artmış ve kalp açısından koruyucu olan HDL2 alt grubu azalmıştır (21). Tip 2 diyabetli hastalarda orta yoğunluklu lipoprotein IDL ve küçük yoğun VLDL miktarı da artar; bunlar da aterosklerozla ilişkili bulunmuştur.

Lp(a), apoprotein(a) adlı yapışma proteini tarafından çevrelenmiş LDL globülü olup, damar duvarına bağlanarak ateroskleroza arttırma eğilimindedir. Lp(a) düzeyinin yükselmesi, koroner arter hastalığı riskini LDL yükselmesine göre 10 kat daha arttırır (43).

2.2. SERBEST RADİKALLER

Dış orbitallerinde bir yada daha fazla eşlenmemiş elektron bulunduran kısa ömürlü atom ve moleküller serbest radikal olarak tanımlanmaktadır. Elektriksel olarak pozitif yüklü, negatif yüklü veya nötral olabilirler (44,45).

Serbest radikaller, kovalent bağlı bir molekülün, her atomunda ortak elektronlardan birinin kalarak, kovalent bağın homolitik bölünmesiyle ya da radikal olmayan bir moleküle bir elektronun eklenmesiyle oluşurlar. Öte yandan bazı atom kombinasyonları bir orbitalinde tek elektron bulunduran dağılımları nedeniyle radikaldir. Örneğin, önemli bir hava kirliliği nedeni olan nitrik dioksit (NO_2), endotel kaynaklı relaksan faktör olan nitrik oksit (NO) bu tip radikallerdir (45).

Bugün radikallerin hücre molekül değişimlerine, gen mutasyonlarına yol açtığı ileri sürülmekte (46), yaşlanma, hücresel destrüksiyon ve doku yıkımında rol aldığı kabul edilmektedir (47). Başlıca serbest radikal türleri Tablo 4'de gösterilmiştir.

2.2.1. Biyolojik Sistemlerde Oluşan Reaktif Oksijen Ürünleri (ROS)

Biyolojik sistemlerin en önemli serbest radikalleri oksijen kaynaklı olanlarıdır. Daha az olarak karbon ve kükürt merkezli olanları da vardır. ROS canlılığın varlığı için belli oranlarda gereklidir.

Mikrozomal ve mitokondriyal elektron transport zincirinden elektronların diffüze olması esnasında, nükleotid metabolizmasında hipoksantin ve ksantin basamaklarında, fagositik hücrelerde solunum patlaması esnasında, araşidonik asid metabolizması esnasında ve argininden nitrik oksitin sentezi esnasında ROS üretilmektedir.

Tablo – 2.2.1.a. Sık karşılaşılan radikaller, simgeler ve kimlikleri

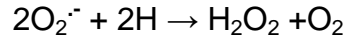
Hidrojen radikali	$H\cdot$	Bilinen en basit radikal.
Süperoksit radikali	$O_2^{\cdot-}$	Oksijen metabolizmasının ilk ana ürünü.
Hidroksil radikali	$OH\cdot$	En toksik oksijen metaboliti.
Singlet oksijen	O_2^{\cdot}	Yarılanma ömrü hızlı, güçlü oksidatif oksijen formu.
Hidrojen peroksit	H_2O_2	Reaktivitesi çok düşük, moleküler hasar yeteneği zayıf.
Perhidroksi radikal	$HO_2\cdot$	Lipidlerde hızlı çözünerek lipid peroksidasyonunu artırır.
Peroksil radikali	$ROO\cdot$	Perhidroksile oranla daha zayıf etkili, lipidlere lokalize olur.
Triklorometil radikali	$\cdot CCl_3$	CCl_4 metabolizması ürünü, karaciğerde üretilen bir radikal.
Thyl radikali	$RS\cdot$	Sülfürlü ve çiftlenmemiş elektron içeren türlerin genel adı.
Alkoksil	$RO\cdot$	Organik peroksitlerin yıkımı ile üretilen oksijen metaboliti.
Nitrojen oksit	NO	L- arjinin aminoasitinden in vivo üretilir.
Nitrojen dioksit	NO_2	NO 'in oksijen ile reaksiyonundan üretilir.

2.2.1.1. Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$)

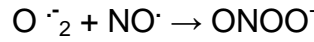
O_2 'in tek elektronla indirgenmesiyle oluşan $O_2^{\cdot-}$ bütün aerobik hücrelerde bulunur. Hem oksidan hem de redüktan özelliğe sahiptir. En çok mitokondri, endoplazmik retikulum ve kloroplast gibi sellüler elektron transport zincirinin çeşitli komponentlerinde O_2 'e elektron sızmasıyla oluşur. Aşırı solunumla O_2

konsantrasyonunun artması sonucu sızma miktarı ve buna bağlı olarak $O_2^{\cdot-}$ üretim hızı artar.

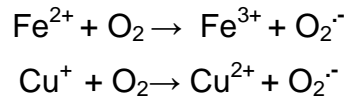
$O_2^{\cdot-}$ bir serbest radikal olmakla birlikte direkt olarak zarar vermez. Asıl önemi H_2O_2 kaynağı olması ve geçiş metallere indirgeyicisi olmasıdır. $O_2^{\cdot-}$, pH 7,2 de yaklaşık 3.8×10^5 mol/s sabitesinde daha stabil bir metabolit olan H_2O_2 'e dönüşür (48).



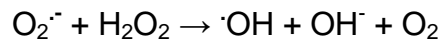
$O_2^{\cdot-}$ 'in, fizyolojik bir serbest radikal olan NO ile birleşmesi sonucu reaktif bir oksijen türevidir olan $ONOO^-$ (Peroksinitrit) meydana gelir. $ONOO^-$ 'lerin doğrudan proteinlere zararlı etkileri vardır (49).



Geçiş metallere otoksidasyonu da $O_2^{\cdot-}$ meydana getirebilir. Bu reaksiyonlar geri dönüşümlü olduklarından geçiş metalleri iyonlarının O_2 ile reaksiyonları geri dönüşümlü redoks reaksiyonları olarak düşünülebilir (49).



$O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 ile "Haber- Weis reaksiyonu" vererek oldukça toksik olan $\cdot OH$ 'ni oluşturur (50).



Fe^{2+} iyonları katalizörlüğünde "Fenton reaksiyonu" gerçekleşir ve reaksiyon ortalama 4000 kat hızlanır (50).



2.2.1.2. Hidroksil Radikali ($\cdot\text{OH}$)

$\cdot\text{OH}$, H_2O_2 'in geçiş metalleri varlığında indirgenmesi (Fenton reaksiyonu) ile oluşan son derece reaktif bir radikaldir. Ayrıca H_2O_2 'in $\text{O}_2^{\cdot-}$ ile reaksiyonu sonucunda da (Haber-Weis reaksiyonu) meydana gelir.

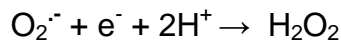
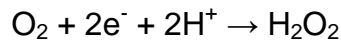
$\cdot\text{OH}$ 'nin yarılanma ömrü çok kısadır. Çok reaktif olduğu için hemen yakın çevresindeki moleküllerle birleşir. $\cdot\text{OH}$ DNA'nın pürin ve pirimidin bazları ile reaksiyona girerek, DNA baz modifikasyonlarına yol açabilir.

2.2.1.3. Singlet Oksijen (O_2^{\cdot})

O_2 'in eşlenmemiş elektronlardan birinin verilen enerji sonucu bulunduğu orbitalden başka bir orbitale kendi spininin ters yönünde yer değiştirmesiyle oluşur. Serbest radikal reaksiyonları sonucu oluştuğu gibi, serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da sebep olur.

2.2.1.4. Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Moleküler oksijenin 2 elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Oluşan peroksit molekülü, 2 hidrojen atomu ile birleşerek H_2O_2 meydana gelir.



H_2O_2 'in eşleşmemiş elektronları olmadığından dolayı radikal değildir. Bu nedenle reaktivitesi sınırlıdır. Ancak diğer ROS geçebilecekleri bir anyon kanalı olmadıkça membranlardan çok yavaş geçebildiği halde H_2O_2 çok kolay geçebilir. Eritrositler ve vasküler endotelial hücrelerin membranları böyle bir kanala sahiptir (49).

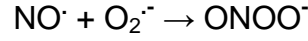
2.2.1.5. Nitrik Oksit (NO)

NO yarı ömrü kısa olan (3-5 sn) fakat çok fazla biyolojik fonksiyonları bulunan bir moleküldür. Hücre membranlarından kolayca diffüze olabilen ve hedef

hücreleri aktive edebilen yeni bir sinyal ileti molekülü olarak kabul edilmektedir. NO, nötrofiller, makrofajlar, endotel hücreleri, plateletler ve nöronlar tarafından üretilmektedir.

2.2.1.6. Peroksinitrit (ONOO⁻)

ONOO⁻, NO ve süperoksitten oluşmaktadır. Reaksiyon çok hızlı olup hız sabiti $k = 6,7 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 'dir. ONOO⁻ sadece Ksantin oksidaz (XO) ve aktive nötrofillerin hızlı süperoksit oluşturması ve Nitrik oksit sentaz (NOS) aktivasyonu sonucu oluşmaktadır. ONOO⁻ oldukça hasar verici bir oksijen radikalidir (49).



2.2.2. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller, hücrelerin lipid, protein, karbohidrat, DNA ve enzim gibi bütün önemli bileşenlerine etki ederler. Bu etkiler aşağıda başlıklar halinde açıklanabilir.

2.2.2.1. Membran Lipidleri Üzerine Olan Etkileri

Serbest radikaller, hücrelerin oksidant savunma kapasitelerini aşan oranlarda oluştuğlarında organlarda çeşitli bozukluklara yol açarlar. Hücrelerin reaktif oksijen ürünlerine karşı en hassas komponentleri lipitlerdir. Membran lipitlerindeki doymamış yağ asitlerinin reaktif oksijen ürünleri tarafından oksidasyonu lipit peroksidasyonu olarak bilinir (51). Araşidonik asit metabolizması sonucu oluşan serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonuna “enzimatik lipid peroksidasyonu”, diğer radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonuna ise “non enzimatik lipid peroksidasyonu” denir (51).

Lipid peroksidasyonu sonucunda; konjuge dienler, Malondialdehit (MDA), 4-hidroksinonenal (4-HNE), akrolein, izoprostanlar ile etan ve pentan

gibi alkanlar meydana gelir. Lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesi için oksidasyon ürünlerinin kantitatif ölçümleri gerekmektedir (52).

2.2.2.2. Proteinler Üzerine Olan Etkileri

Proteinler serbest radikallere karşı lipidlerden daha az hassastır. Etkilenme dereceleri aminoasit kompozisyonuna bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren aminoasitlerden meydana gelmiş proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenir. Karbon merkezli radikaller ve sülfür radikalleri meydana gelir. Proteinlerin lizin, arjinin, prolin ve threonin rezidülerinin yan zincirlerinin metal katalizli oksidasyonu protein karbonil türevlerinin oluşumuna yol açar. Protein karbonilleri sadece proteinlerin direkt oksidasyonu ile değil, aynı zamanda indirgeyici şekerler ve poli ansatüre yağ asitleri' nin (PUFA) oksidasyon ürünleri ile proteinlerin fonksiyonel gruplarının etkileşimi ile de oluşabilirler.

Bu reaksiyonlar sonucunda albümin ve immünoglobülin G gibi çok sayıda disülfid bağları içeren proteinlerin tersiyer yapıları bozulur. Yapıları bozulan proteinler normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Enzimler protein yapısında olduklarından enzim aktivitelerinde değişiklik meydana gelir (53).

2.2.2.3. Karbohidratlar Üzerine Olan Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, diğer peroksitler ve okzoaldehidler meydana gelir. Okzoaldehidler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. PUFA ve karbohidrat oksidasyonunun bir ürünü olan glioksal'in hücre bölünmesini inhibe ettiği kaydedilmiştir. Bu yol ile de kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynayabileceği ileri sürülmektedir.

2.2.2.4. Nükleik Asitler Üzerine Olan Etkileri

Reaktif oksijen ürünleri DNA üzerinde de sitotoksik etkiye sahiptir. Serbest radikaller, siklobutan primidin dimerleri, diprimidinler, tek zincir kırılmaları,

DNA-protein çapraz bağları oluştururlar. DNA polimerazı inhibe ederler. Hücrede mutasyon ve ölüme yol açarlar (49). Nötrofillerden salınan H_2O_2 membranlardan kolayca difüzyon olarak hücre çekirdeğine ulaşır DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve sonuçta hücre ölümüne yol açabilir (49). $O_2^{\cdot-}$ e maruz kalan DNA molekülleri hayvanlara enjekte edildiklerinde daha fazla antijenik yapı gösterdikleri ve sirkülasyonda anti-DNA antikorları bulunduğu gösterilmiştir (49).

2.3. ANTiOKSiDANLAR

Hücre ve dokular, radikal ürünlerini ve reaksiyonlarını inhibe eden bir sisteme sahiptir. Radikallerle oldukça ivedi reaksiyonlara girerek otooksidasyon/peroksidasyonun ilerlemesini önleyen maddeler antioksidan olarak tanımlanır (45). Bir şekilde oluşturulan herhangi bir ilk radikal ürünün reaktif karakterine bağlı olarak biyomoleküller ve hücresel yapılara saldırmasının önlenmesi antioksidan savunma sisteminin işidir (54).

Antioksidan savunma; radikal metabolit üretiminin önlenmesi, üretilmiş radikallerin temizlenmesi, oluşan hücre harabiyetinin onarılması, sekonder radikal üreten zincir reaksiyonlarının durdurulması ve endojen antioksidan kapasitenin artırılması olarak ayrımlanan beş değişik blokta yürür (55).

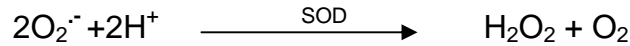
Antioksidan savunma; intraselüler, membransal ve ekstraselüler olarak sınıflanır.

2.3.1. İNTRASELÜLER ANTiOKSiDAN KOMPONENTLER

Reaktif oksijen metabolitleri, Süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), Katalaz (CAT) ve sitokrom oksidaz gibi enzimatik ve redükte glutasyon (GSH) gibi non enzimatik intrasellüler antioksidanlarca indirgenir.

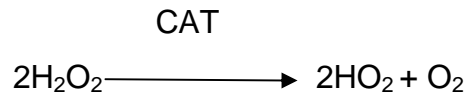
2.3.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Antioksidan savunmanın ilk basamağını $O_2^{\cdot-}$ 'in H_2O_2 'e dismutasyonunu katalizleyen SOD enzimi oluşturur. SOD fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler olarak öldürülmesinde de önemli rol oynar. Bu nedenle SOD granülosit fonksiyonunda çok önemlidir. Lenfositlerde granülositlerden daha az SOD bulunmaktadır.



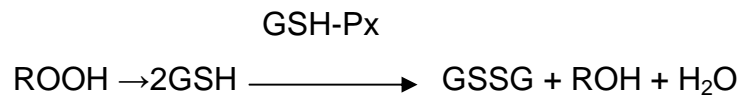
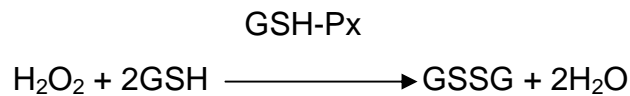
2.3.1.2. Katalaz (CAT)

Katalaz yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Sitolde ve daha çok peroksizomlarda lokalizedir. H_2O_2 'nin O_2 ve H_2O dönüşümünü katalizler. Etkisini H_2O_2 ve metil, etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşı gösterir. Büyük molekülü lipid hidroperoksitlerine ise etki etmez (49)



2.3.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

Hücrelerde oluşan hidroperoksitlerin detoksifikasyonundan sorumlu bir enzimdir. Tetramerik yapıda olup 4 selenyum atomu içerir. Sitolik bir enzim olan GSH-Px aşağıdaki reaksiyonları katalizler (49).



Sitolik bir enzimdir. H_2O_2 'nin yüksek konsantrasyonunda CAT, düşük konsantrasyonunda ise GSH-Px etkin rol oynar (49).

2.3.1.4. Glutasyon Redüktaz (GSSGR)

Hidroperoksitlerin redükte olması esnasında meydana gelen okside glutasyon (GSSG), glutasyon redüktazın (GSSGR) katalizlediği reaksiyonla tekrar redükte hale (GSH) dönüşür. Reaksiyonun gerçekleşmesi için NADPH'ya ihtiyaç vardır (49).

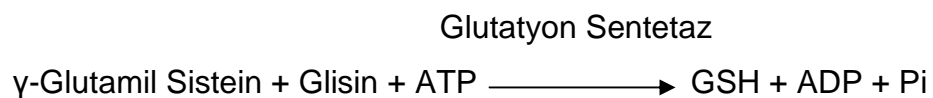
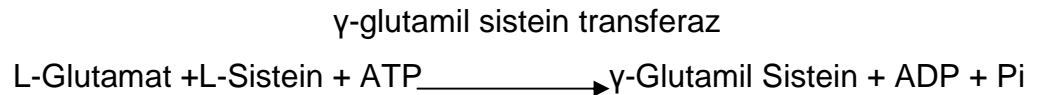


2.3.1.5. Redükte Glutasyon (GSH)

Redükte glutasyon, yapısında glutamik asit, sistein ve glisin bulunduran bir tripeptit olup aktif bir (-SH) grubuna sahiptir. Vücuttaki GSH'nın büyük bölümü karaciğerde iki aşamada sentezlenir.

GSH; L-glutamat, L-sistein ve L- glisin aminoasitlerinden 2 mol ATP kullanılarak iki basamaklı bir reaksiyonla γ -glutamil sentetaz ve glutasyon sentetaz enzimlerinin katalizi ile sentezlenir ve periferde kullanılmak üzere karaciğerden kana salınır (49).

Vücutta enzimatik olmayan en önemli antioksidandır. Reaktif oksijen ürünleri ile reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Ayrıca proteinlerdeki -SH gruplarını redükte halde tutarak bu grupları oksidasyona karşı muhafaza eder. Böylece, proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonuna engel olur (49).



GSH hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşmesini önler. Eritrosit zarını H_2O_2 'den, lökositleri fagositozda kullanılan oksidan maddelerden ve lens proteinlerini oksidatif hasarlardan korur (49).

Diğer selüler antioksidan enzim olan stokrom oksidaz, mitokondriyal elektron transport zincirinde üretilen reaktif oksijen metabolitlerini aktif merkezinde bloke ederek salınımı engeller (56).

2.3.2. Membran Antioksidanları

Membranların hidrofobik lipid yüzünde intraselüler ortamdaki farklı olarak lipidlerde çözünmeyen ve hücresel enzimlerle yok edilemeyen radikaller üretilir. Başta α -tokoferol (Vit E) olmak üzere, β -karoten, ubiquinon bileşikleri ve koenzim Q temel membran antioksidanlarıdır.

Düşük dansiteli lipoproteinlerde mikro düzeylerde bulunan ve onların otooksidasyonunu önleyen Ubiquinol'ün etkin bir antioksidan olduğu gösterilmiştir.

β -karoten oldukça aktif bir radikal toplayıcıdır ve aktivitesi ortam oksijen konsantrasyonuna bağlıdır (55).

α -tokoferol membranlar dışındaki ortamlarda oldukça zayıf bir antioksidan iken, membran lipid tabakaları arasında oldukça etkilidir (53).

Koenzim Q, mitokondriyal enerji metabolizmasında bir antioksidan olarak rol alır.

2.3.3. Ekstraselüler Antioksidanlar

Vücut sıvıları ve organik ürünler antioksidan enzimlerin hiçbirini içermez. Bu nedenle glukozillenmiş serum proteinleri olarak tanımlanan SOD ve GSH-Px'in ekstraselüler ortam ve organik materyallerde antioksidan olarak bir önemi yoktur (56). Transferrin, laktoferrin, haptoglobulinler, albumin,

seruloplazmin, gibi proteinler, bilirubin, ürik asit ve glukoz dolaşımında bulunan temel ekstraselüler antioksidanlardır (57).

Hücreler arası ortamda üretilen serbest radikal metabolitlerinin, demir ve bakır gibi katalizör metal iyonları ile karşılaşmalarının engellenmesi, ekstraselüler antioksidan savunmanın temel yoludur. Örneğin, demir taşıyıcı protein transferrin bire üç demir bağlayarak plazma serbest demir konsantasyonunu düşürür. Böylelikle bağlı demir ve bakır iyonları serbest radikal reaksiyonlarını katalizleyemez ve tepkime sayısı azaltılmış olur (58).

Laktoferrin, hemoglobin, miyoglobin, hemopeksin ve albümin hemen hemen aynı işlevselliktedir. Laktoferrinin nötrofillerde radikal oluşumunu önleyen bir ajan olduğu gösterilmiştir (55). Seruloplazmin bakırı bağlarken, glukoz, urat ve bilirubin ortamdaki radikalleri temizleme uğraşındadır (54). Tablo-2.3.3.1' de bazı ekstraselüler antioksidanlar verilmiştir.

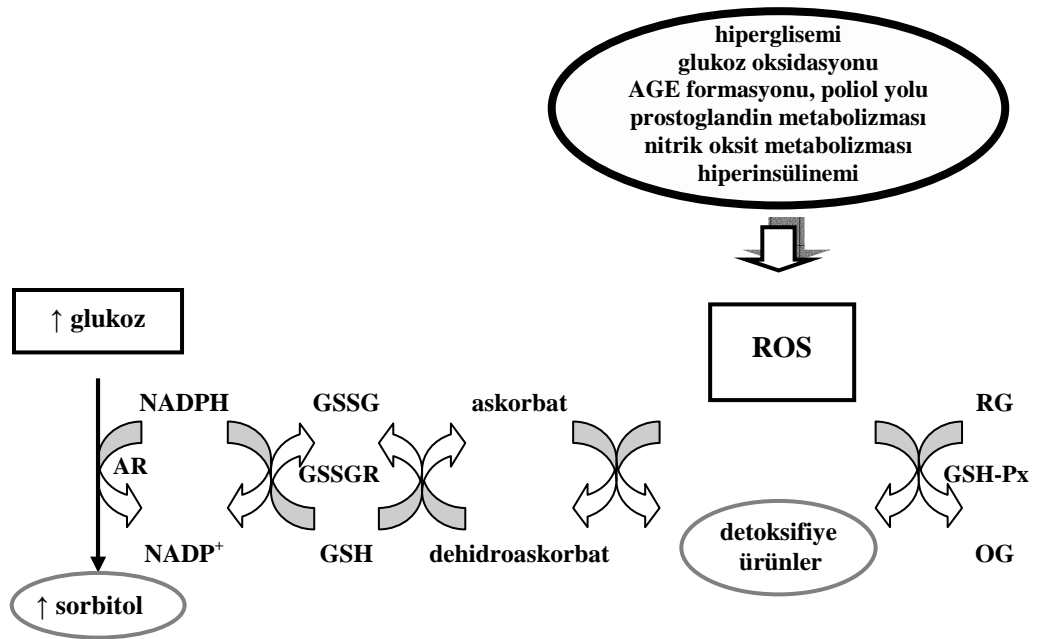
Tablo – 2.3.3.1. Ekstraselüler antioksidanlar ve özellikleri

Antioksidan	Etkileri
Askorbik asit	Hidroksil radikal giderici ve tokoferolü indirgeyici antioksidan vitamin
Transferin	Serbest demir iyonlarını bağlayarak fenton reaksiyonunu inhibe eder.
Laktoferrin	Düşük PH'lı ortamlarda demir iyonlarını bağlar.
Haptoglobilinler	Hemoglobin bağlayarak 'hem" in salınmasını önler.
Hemopeksin	Ortamdaki serbest hem proteinlerini bağlayarak oksidasyonu inhibe eder.
Albümin	HOCL radikalini toplar, hem protinini ve bakır iyonlarını bağlar.
Serüloplazmin	Süperoksit radikalini nötralize eder, bakır iyonlarını bağlar.
Bilirübin	Önemli bir peroksil radikali toplayıcısıdır.
Ürik asit	Genelde metal bağlayıcı olarak çalışırken değişik radikalleride toplar.
Glukoz	Hidroksil radikali giderici antioksidan moleküldür.

2.4. Diabetes Mellitus ve oksidatif stres

DM'de uzun süreli hiperglisemi nedeni ile hücre dışı proteinlerin non-enzimatik glikasyonuna bağlı olarak serbest radikal üretiminde artış olmaktadır (59). Hiperglisemide sorbitol yolunun aktivasyonuna bağlı olarak artan triozfosfatların oksidasyonu sonucu α -oksaldehit ve H_2O_2 gibi reaktif ürünler oluşmaktadır. Bu nedenle DM'de serbest radikal aktivitedeki aşırı artışa bağlı olarak oksidatif stres gelişimi doğaldır. Glukozile protein oksidasyonu ile serbest radikallerin sentezinde artış, süperoksit dismutaz

temizleyici gücünün azalması ve indirgenmiş glutatyonun yokluğu, DM'de artan oksidatif stresin kaynakları olarak kabul edilmektedir. Bunlardan başka metabolik stres, sorbitol yolundaki aktivite değişiklikleri, inflamatuvar araçların düzeylerindeki değişimler ve hipoksi ile iskemik reperfüzyon sonucu lokalize doku hasarı, oksidatif stresi arttıran nedenler arasında gösterilmektedir.



Şekil – 2.4.1. Diyabetes mellitus'da artmış oksidatif stresin mekanizması
AGE; ileri glukozilasyon son ürünleri, ROS; reaktif oksijen türleri, AR; aldoz redüktaz

Serbest radikal aktivitesi, koruyucu enzimler veya temizleyici sistemler ile inhibe edilir. Normal koşullarda A, E ve C vitaminleri ile karoten ve glutatyon, antioksidan maddeler olarak rol oynamaktadırlar. Bunların yanı sıra süperoksit dismutaz, süperoksit radikallerini, katalaz, H₂O₂ radikallerini, glutatyon peroksidaz ise H₂O₂ radikallerini ve lipid peroksidlerini detoksifiye ederek endojen antioksidan savunma sistemini oluşturmaktadırlar (60).

Antioksidan Sistemler

Süpürücü Antioksidanlar	Sentetik Antioksidanlar	Enzimatik Antioksidanlar	Önleyici Antioksidanlar
Askorbik asit	N-asetilsistein	Katalaz	Transferrin
α - tokoferol	Allopurinol	Paraoksonaz	Albumin
Tiyoller	Probakol	Süperoksit dismutaz	Seruloplazmin
β -karoten	Penisilamin	Glutasyon peroksidaz	Ferritin
Ürik asit	Deferoksamin		
Flavanoidler	Butil- hidroksitoluen		
Ko-enzim Q			

Şekil – 2.4.2. Antioksidan sistemler

Normal koşullarda serbest radikallerin üretimi ile temizlenmesi arasında bir denge bulunmakta, tip 2 DM'li olgularda ise temizleyicilerdeki azalma sonucu serbest radikallerde artış meydana gelmektedir. DM'de glisemik kontrolün bozulmasına bağlı olarak hücresele antioksidan düzeyi azalmaktadır. Reaktif oksijen türleri ve serbest radikallerin oluşum hızı ile antioksidan savunma kapasitesi arasındaki dengesizlik, DM'nin kronik komplikasyonlarına neden olmaktadır (61). Dien konjugatları gibi serbest radikal aktive ürünleri, komplikasyon gelişmemiş olgulara göre mikroanjiopatili diyabetik olgularda daha yüksek bulunmuştur (62). DM'de antioksidan enzimlerin durumuna ilişkin olarak yapılan pek çok çalışmada birbirinden farklı sonuçlar elde edilmiştir. DM'li sıçanlarda serbest radikal temizleyici enzimler ölçülmüş ve glutasyon peroksidaz, katalaz ve süperoksit dismutaz aktivitelerinde azalma gözlenmiştir (63).

DM'nin kronik komplikasyonlarının ortaya çıkmasında uzun süreli hiperglisemi ve insülin direncinin rolü ile ilişkili çok sayıda mekanizmalar ileri sürülmüştür. Bunlar; ileri glikasyon son ürünleri (AGE) hipotezi, aldoz redüktaz (poliol yolu) hipotezi, oksidatif stres hipotezi, psödohipoksi hipotezi, gerçek hipoksi hipotezi, değişmiş lipoprotein metabolizması ile ilişkili hipotez ve artmış protein kinaz C hipotezleridir. AGE oluşumunun yol açtığı oksidatif stres, gliko-oksidasyonla AGE oluşumunu hızlandırmaktadır. Oksidatif stresi artıran ve AGE oluşumunu hızlandıran poliol yolu aktivasyonu, damar duvarında doku protein kinaz C aktivasyonuna neden olmakta ve retina, lens, glomerül ile sinir dokusunda miyoinozitol düzeyinde ve protein kinaz C aktivitesinde azalmaya yol açmaktadır (64).

Sistein içeriklerinden dolayı birçok protein, sülfidril grupları içerir. Aslında hücre ve dokulardaki SH grupları, redükte glutatyondan daha fazladır (65). Bu gruplar tioller, disülfidler veya karışım disülfidler şeklinde bulunabilirler. Bir enzimin tiol formunun oksidasyonu veya bir enzimin disülfid formunun indirgenmesi, enzim fonksiyonunun aktivasyonu veya inaktivasyonuna yol açar (66). Protein-S-tiolasyonu-detiolasyonu, hücrenin fizyolojik durumuna göre değişen dinamik bir durumdur. Bu durum geri dönüşümlüdür ve proteine ve proteindeki tiol gruplarının yapısına göre değişen oranlarda görülür (67). Protein sülfidrillerin karışım disülfidlere oksidasyonu, oksidatif strese karşı oluşan bir erken hücrel cevaptır. Sülfidriller, hücrenin antioksidan ağında önemli bir rol oynarlar ve bu nedenle hücrenin redoks durumunu etkilerler. Protein sülfidrillerin iyi bir redoks tamponu olabilmeleri, redükte glutasyon ile reaktivitelerine bağlıdır. Hücrelerdeki büyük SH havuzu, redükte glutasyon sisteminin oksidatif stresi karşılama kapasitesinin korunmasını sağlar (68).

Protein SH grupları, oksidasyon zincirini kırma özelliğine sahip önemli antioksidanlardandır. Plazma protein SH grupları, oksidatif hasara karşı hassas olup koroner arter hastalığı, romatoid artrit, DM gibi oksidatif hasarın olduğu hastalıklarda miktarlarının düştüğü gösterilmiştir (69).

Malonildialdehit, lipid peroksidasyon ürünlerinden biridir. MDA, membran bileşenlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intirinsik membran özelliklerini değiştirebilir. Bu etkiler MDA'nın niçin mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklar. Ayrıca MDA, MDA-asetaldehid ve MDA-protein yapılarına karşı oluşan antikolar otoimmün hasara neden olabilirler (70).

2.5. İNSÜLİN DİRENCİNDE İLAÇ TEDAVİSİ

BİGUANİDLER

Günümüzde kullanımda olan tek biguanid metformindir. Metformin günümüzde özellikle obez tip 2 DM'li hastalarda tedavide ilk seçenek olarak yerini korumaktadır (71). Metforminin normal kişilerde kan glukoz düzeyini etkilemediği gösterilmiştir. DM'lilerde hipoglisemiye yol açmadan normoglisemi sağlamaktadır. Metforminin etki mekanizması tam olarak açığa kavuşmamakla birlikte multifaktöriyel etki tarzı gösterdiği ve özellikle insülin direnci ön planda olan DM'lilerde kullanılması gerektiği belirtilmektedir. Metforminin muhtemel etki mekanizmaları şöyle özetlenebilir (72):

Gastrointestinal sistemde:

Glukozun absorpsiyonunu geciktirir veya azaltır. Barsak hücrelerinde glukozun laktata dönüşümünü artırır, iştahı baskılar.

Karaciğerde:

Glukoneogenezi azaltarak hepatik glukoz çıkışını baskılar. Bazal hepatik glukoz yapımındaki azalma, açlık glukoz düzeyindeki azalma ile korelasyon gösterir, ancak totalde glisemideki azalma ile orantılı değildir.

Kas ve yağ hücrelerinde:

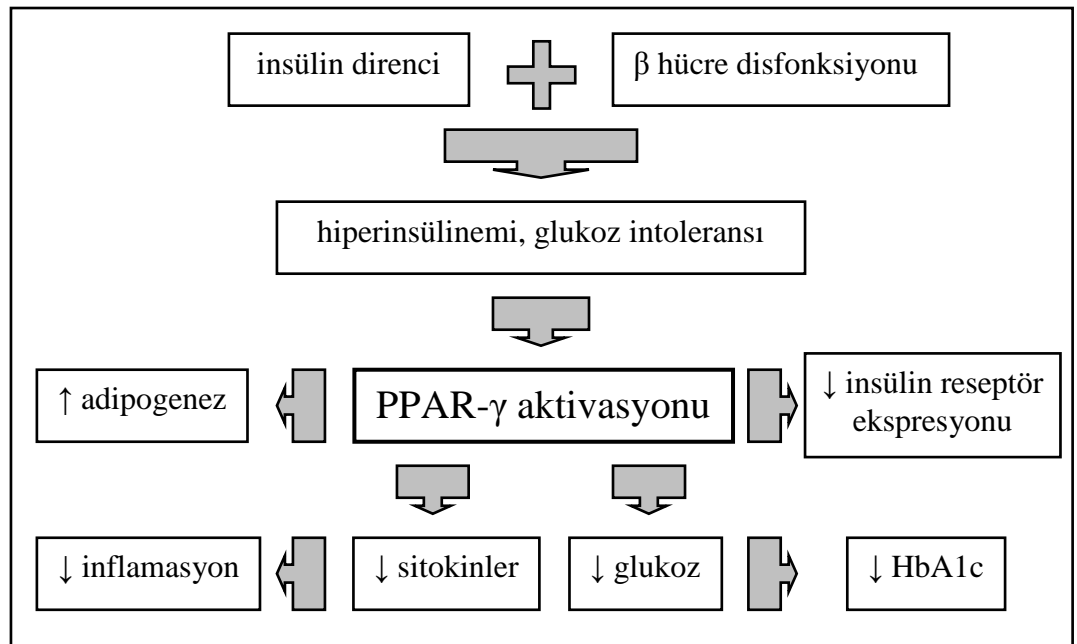
Glukoz tüketimini artırır. Bu işlevin sellüler düzeydeki mekanizması kompleks olup, insülin tirozin reseptör kinaz aktivitesinde, GLUT-4 taşıyıcı sayı ve aktivitesinde, glikojen sentezinde artış olarak özetlenebilir.

Metformin, beslenme düzeni ve egzersize rağmen metabolik kontrolün sağlanamadığı hallerde ilk seçenek olarak monoterapi biçiminde ya da maksimal doz sülfonilüre kullanıldığı halde kontrol altına alınamayan obez diyabetiklerde kombinasyon tedavisinin bir parçası olarak kullanılabilir. Oral alımı takiben metforminin %60'ı ince barsaktan hızla emilir. İki saatte maksimum serum konsantrasyonuna ulaşır. Plazma proteinlerine bağlanmaz ve vücutta metabolize edilmez. Yarılanma ömrü 1.5-4.9 saattir. Metformin sadece böbrekler yolu ile atıldığından böbrek yetmezliği olanlarda, özellikle serum kreatinin değeri 1.5 mg/dl'den yüksek ise kullanılmamalıdır (73). Başlıca yan etkileri gastrointestinal sistemde olup hastaların %20'sinde iştahsızlık, ağızda metalik tat, bulantı, kusma, ishal gibi belirtilerden en az birine yol açabilir. Bu yan etkiler geçici olup ilacın tok karnına alınması, küçük dozlarda başlanması ve doz artırımının tedrici olarak yapılması ile azaltılabilir (74). Laktik asidoz riski %0.03-0.08, mortalite riski ise 0.017-0.024 vaka/1000 hasta/yıl gibi düşük oranlardadır. Renal yetmezlikte, karaciğer yetersizliğinde, alkol bağımlılığında, akut-kronik asidozda, hamilelikte, vitamin B12 eksikliğinde kullanımı kontrendikedir. Metformin, hastaların %30 kadarında vitamin B12'nin intestinal emilimini azaltır. Bu azalma, vitamin B12'nin ileumda kalsiyum bağımlı emilimine antogonizmi nedeniyle ve oral kalsiyum verilmesi ile düzelir (75).

Metforminin insülin duyarlılaştırıcı özellikleri de ortaya konmuştur; örneğin metformin "United Kingdom Prospective Diabetes Study: İngiliz Prospektif Diyabet Çalışması"nda (UKPDS) makrovasküler komplikasyon riskini belirgin olarak azaltan tek oral ajan olmuş ve bunu kısmen insülin duyarlılaştırıcı etki ile sağladığı düşünülmüştür (76).

TIAZOLİDİNEYONLAR

Tiazolidinedionlar, en fazla yağ dokusunda eksprese edilen Nuclear Peroxisome Proliferator Activated Receptor-gamma'ya (PPAR- γ) bağlanan ve etkilerini adipogenezisi, adiposit farklılaşmasını, glukoz ve lipid metabolizmasını etkileyen genlerin transkripsiyonunu aktive ederek gösteren sentetik moleküllerdir. Tiazolidinedionların etkisi tek bir doku ya da sistem üzerinden değil, farklı dokular ve bunların birbirleri üzerindeki etkileriyle ortaya çıkmaktadır (77) (Şekil -2.5.1.).



Şekil – 2.5.1. PPAR- γ 'nın vasküler fizyolojideki merkezi rolü

Tiazolidinedion grubunda yer alan rosiglitazon; glukoz düzeylerini ve glukoz üretimini azaltmakta, glukoz klirensini ise arttırmaktadır. İnsülin duyarlılığını ve pankreas β hücre fonksiyonunu düzelterek tip 2 DM tedavisinde yeni bir seçenek oluşturmaktadır (78). Klinik çalışmalar, tiazolidinedionların tip 2 DM hastalarında Hemoglobin A1c (HbA1c) ve açlık plazma glukoz konsantrasyonundaki %20-30'luk azalmaya paralel olarak açlık plazma serbest yağ asidi konsantrasyonunu da %20-30 oranında azalttığını göstermiştir (79). PPAR- γ aktivasyonu ile glukoz regülasyonunda yer alan özel adiposit genlerinin (GLUT-4, lipoprotein lipaz, yağ asidi transfer

edici protein, malik enzimler, vb.) ekspresyonunun artışı, adipositlerin metabolizmasını değiştirir. Yakın dönemde yapılan çalışmalarda homozigot olarak PPAR- γ geni olmayacak şekilde mutasyona uğratılan farelerde yağ dokusunun olmadığı, heterozigot olanlarda ise yağ dokusunda belirgin azalma olduğu gösterilmiştir. Ancak tiazolidinedionlar, adipoz dokunun olmadığı durumda da yararlı etkilerini gösterdiğinden adipositler üzerindeki etkilerinden bağımsız birtakım etkilerle de insülin sensitivitesini arttırdıkları düşünülmektedir. Tiazolidinedionlar, pankreas β hücrelerindeki trigliserid konsantrasyonunu azaltmakta, bu da β hücre fonksiyonlarında bir iyileşmeye neden olmaktadır. Tiazolidinedionlar ile tedavi edilen DM hastalarında, tedavi öncesi yüksek olan proinsülin/insülin oranının düzelmesi, bu ilaçların β hücre fonksiyonlarındaki olumlu etkilerini gösteren dolaylı bir kanıttır (80). Yağ dokusu üzerindeki doğrudan etkilerinin yanında, kasların insülin hassasiyetini belirleyen adiposit kaynaklı serbest yağ asidi, adiponektin, leptin ve TNF- α gibi sinyal faktörlerinin salınımını da etkilemektedirler.

Rosiglitazon oral yolla kullanılır, tam olarak emilir, %99.8 oranında plazma proteinlerine bağlanır. Hepatik sitokrom P450(CYP)-2C8 enzim sistemi ile metabolize olur (81). Yaş ve cinsiyet, ilacın metabolizmasını değiştirmez. Günde 4-8 mg, tek veya bölünmüş dozlar şeklinde kullanılır, öğünlerden etkilenmez. Aktif metabolitleri idrar (%64) ve feçesle (%23) atılır (82). Karaciğer enzim seviyeleri (ALT veya AST) >2.5 kat olanlar ile New York Kalp Cemiyeti sınıflandırmasına göre sınıf III ve sınıf IV kalp yetmezliği olan tip 2 DM'li hastalarda kullanılmamalıdır. Yan etkiler olarak; vücut ağırlığında artış, anemi, baş ağrısı, ödem ve hipoglisemi görülebilir.

2.6. Karbohidrattan Yoksun Transferrin (CDT - Carbohydrate Deficient Transferrin)

CDT, Food and Drug Administration (FDA) tarafından onaylanmış ve geleneksel olanlardan daha özgül ve duyarlı olan alkol alımının bir belirleyicidir. CDT son 20 yıldır alkol alımının bir biyokimyasal belirteci olarak kullanılmaktadır. CDT bilimsel literatürde ilk kez 1976 yılında Stibler ve

Kjellin tarafından bildirilmiştir (83). CDT diğer belirleyicilere göre daha yeni bir belirleyicidir ve dünya çapında henüz çok az kullanılmaktadır.

Son 10 yıl içinde, CDT alkol kullanımını gösteren önemli bir belirleyici olmuştur. Transferrin karaciğerde yapılan ve salgılanan demir taşıyan bir glikoproteindir. Yoğun alkol kullanımı dönemlerinde transferrin içindeki karbohidrat içeriği (sialik asit, galaktoz, N-asetilglukozamin) düşmektedir (84). Bu durum "carbohydrate deficient" transferrin olarak adlandırılmıştır.

Eksikliğin kesin nedeni bilinmemektedir. Ancak alkol ve yıkım ürünlerinin transferine karbohidrat ekleyen (glikotransferaz) enzimlerin aktivitesini azalttığına ve karbohidrat birikimlerini ortadan kaldıran enzimlerin (sialidaz) aktivitelerini artırdığına inanılmaktadır (85,86).

CDT demir bağlayan bir polipeptid olan transferrinin bir izoformudur. Öncelikle transferrini inceleyecek olursak; transferrin 679 aminoasitli bir polipeptid zinciri taşıyan 80 kilodaltonluk, demir (Fe) bağlayan, karaciğerde sentezlenip metabolize edilen ve serumda yüksek miktarda bulunan, daha az olarak BOS ve amniyotik sıvıda bulunan glikoproteindir.

Transferrinin en az altı tane izoformu vardır. İzoformlar sialik asit yan zincirlerinin sayısı ile belirlenmektedir. Bunlar; penta-, tetra-, tri-, di-, mono- ve asialotransferrindir. Yüksek miktarda alkol alan bireylerde 0-3 sialik asit içeren izoformlar artmaktadır. Diğer taraftan 4-5 sialo formları azalmaktadır. Bu formlardan üç veya daha az sialik asit içeren transferrin izoformlarının hepsine birden CDT denir. CDT'nin artış mekanizması tam anlaşılamamış olmakla birlikte iki ana mekanizmayla açıklanmaktadır: Birincisi; asetaldehit tarafından düzenlenen golgi aparatında protein glukozilasyon sürecinin inhibisyonu, ikincisi; serumdaki tamamen glikolize olmuş transferrin moleküllerinin karbohidrat zincirlerinin kırılması sonucu oluştuğudur. CDT'nin asialo, monosialo ve disialo formları bulunmaktadır. Yoksunluk

döneminde ortalama 15 (14-17 gün) günlük bir yarı ömür ile zamanla normal seviyesine döner (83,87,88)

3.MATERYAL VE METOD

3.1. MATERYAL SAĞLANMASI

Çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi (AKÜ) Tıp Fakültesi Tıbbi Etik Kurulunun 25.05.2005 tarih ve 2005/5 sayılı kararı ile kabul edilmiştir. AKÜ Ahmet Necdet Sezer Uygulama ve Araştırma Hastanesi İç Hastalıkları Polikliniğine 01/12/2004-30/01/2006 tarihleri arasında başvuran daha önce tedavi almamış, yeni tanı diyabet hastaları çalışmaya alınmıştır. Çalışma, randomize, kontrollü, prospektif, tek merkezli ve multidisipliner olarak planlandı. Çalışmayla ilgili olarak aday katılımcı ön bilgilendirmesi yapıldı. Kabul edenlere "Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu" esas alınarak çalışma ile ilgili ayrıntılı bilgiler verildi ve imzaları alındı. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formunun bir nüshası katılımcı hastaya verildi.

Araştırma süresince WHO Helsinki Bildirgesi ve Dünya Psikiyatri Birliği, İyi Klinik Uygulamaları ve İyi Laboratuar Uygulamaları Kurallarına uyuldu.

ÇALIŞMA POPULASYONU

Çalışmaya, ADA 2004 kriterlerine göre yeni tanı almış, 70 yaşın altında 40 tip 2 DM hastası dahil edildi. Böbrek yetmezliği olan (kreatinin düzeyi kadınlar için >1.2 mg/dl, erkekler için >1.3 mg/dl), karaciğer hastalığı olan veya serum AST veya ALT düzeyleri normalin 2.5 katı üzerinde olan, aktif enfeksiyonu olan, laktik asidoz hikayesi olan, kararsız veya ciddi kararlı anjinası olan, konjestif kalp yetersizliği olan veya malignensisi olan bireyler çalışma dışı bırakıldı. Çalışmaya alınan hastalardan 20'si metformin grubuna, 20'i ise rosiglitazon grubuna randomize edildi. Metformin grubundan 2 hasta ve rosiglitazon grubundan 6 hasta kontrol vizitlerine gelmemeleri nedeniyle çalışma dışı bırakıldı. Metformin grubundaki hastalardan 4 tanesi ise ilaca bağlı gastrointestinal yan etki nedeniyle çalışma dışı bırakıldı. Rosiglitazon grubundaki hastalardan ise 7'si, metformin grubundan ise 6 tanesi 6.ay kontrol vizitlerine gelmedi ve çalışma dışı bırakıldı. Çalışmayı metformin grubunda 8 hasta, rosiglitazon grubunda ise 7 hasta olarak toplam 15 hasta

(yaş ortalaması 49 ± 19 yıl, 9 kadın ve 6 erkek) alındı. Kontrol grubu ise, sigara ve alkol kullanmayan herhangi bir sistemik rahatsızlığı olmayan sağlıklı 15 bireyden (yaş ortalaması 49 ± 19 yıl, 9 kadın ve 6 erkek) oluşturuldu. 12 saatlik açlık sonrası sabah alınan kan örnekleri ($+4^{\circ}\text{C}$) 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek hasta serumları ayrıldı. Toplanan tüm numuneler çalışma gününe kadar -20°C 'de saklandı.

Tedavinin birinci aşamasında ilaç tedavisi başlanmadan önce tüm hastalara, her hasta için normal vücut ağırlığına ulaşacak şekilde kalorisi hesaplanan diyet tedavisi verildi. Hastaların antidiyabetik (glimepirid), antilipidemik (atorvastatin) ve antihipertansif ilaçları (anjyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri) standardize edilerek en iyi metabolik ve kan basıncı kontrolü sağlanmaya çalışıldı.

Daha sonra çalışmaya alınan hastalardan rutin tetkikler, oksidatif stres ve CDT parametreleri için tedavi öncesi kan örnekleri alındı. Hastalar diyabetik komplikasyonlar yönünden tarandı (Göz hastalıkları konsültasyonu, EMG). Ardından hastaların medikal tedavisine randomize olarak metformin veya rosiglitazon eklendi ve tolere edebildikleri maksimum dozlara (metformin için 2 g/gün, rosiglitazon için 8 mg/gün) kademeli olarak çıkıldı. Hastalara tedavi başladıktan sonra 3. ve 6. ayda rutin kontrolleri esnasında alınan kan örneklerinden glukoz, fruktozamin, HbA1c, insülin gibi rutin tetkikleri tekrar çalışıldı. Artan serum örneklerinden ise oksidatif stres parametreleri ve CDT düzeylerinin ölçümü için numuneler çalışma gününe kadar (-20°C)'de saklandı.

Çalışmaya alınan hastaların bazal, üçüncü ay ve altıncı ay takiplerinde, 12 saatlik açlık sonrası sabah alınan kan örneklerinden açlık kan şekeri, HbA1c, fruktozamin gibi metabolik parametreler Roche kitleri kullanılarak spektrofotometrik yöntem ile Roche/Hitachi 917 otoanalizöründe ölçüldü. Açlık insülini Roche kitleri kullanılarak "Elektro kemiluminesas immunoassay yöntemi (ECLIA)" ile ölçüldü.

İnsülin direnci (HOMA-IR indeksi) = Açlık plazma glukozu (mmol/L) X Açlık serum insülini (mU/L) / 22,5 formülü ile hesaplandı.

3.2.METODLAR

3.2.1. Serum MDA Düzeylerinin Ölçümü

Serum MDA değerlerinin ölçümü Ohkawa ve arkadaşları yöntemine göre ölçüldü (89).

Prensip:

MDA'nın asitik ortamda thiobarbitürik asit (TBA) ile oluşturduğu rengin 532 nm dalga boyunda absorbansının ölçülmesi prensibine dayanarak yapıldı.

Reaktifler:

- Potasyum fosfat tamponu 0,1 M pH 7,4
- Sodyum dodesil sülfat %8,1
- Asetik asit %20, pH 3,5
- TBA %0,8

Prosedür:

Serum MDA düzeyinin ölçümü için, 200 µl numune üzerine, 100 µl Sodyum dodesil sülfat, 750µl asetik asit, 750µl TBA solüsyonu ve 300 µl distile su eklenerek 95 °C'de 60 dakika kaynatıldı. Soğutulduktan sonra 500 µl distile su ve 1500 µl n-bütanol eklendi ve karıştırılıp, 10 dakika 4000 rpm'de santrifüj edildi. Üst tabakadaki rengin absorbansı reaktif körüne karşı 532 nm dalga boyunda okutuldu.

Standart olarak 1,1,3,3-tetraetoksipropan'ın 4,173 µmol/L'lik çözeltisi kullanıldı. MDA düzeyleri plazmada µmol/L protein olarak ifade edildi ve aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$C_N = (A_N/A_S) \times C_S$$

C_N : Numunenin Konsantrasyonu

A_N : Numunenin Absorbansı

A_S : Standartın Absorbansı

C_S : Standartın Konsantrasyonu

3.2.2. Serum Protein Karbonil Grupları Tayini

Serum protein karbonil grupları Levine ve ark. modifiye spektrofotometrik metoduna göre çalışıldı (90).

Prensip:

2,4-dinitrofenilhidrazin (DNP) karbonil grupları ile birleştğinde renkli bir hidrazon oluşmakta ve oluşan bu hidrazonun absorbansı 360 nm dalga boyunda okunmaktadır.

Reaktifler:

• DNP	10mM
• HCl	2 N
• TCA	%10, %20
• NaOH	1 M

Prosedür:

500 µl numune 500 µl %20 TCA ile karıştırıldı. 4000 rpm'de 15 saniye kadar santrifüj edilip süpernatant döküldü. Pelet, 500 µl DNP ile karıştırılıp, 1 saat karanlıkta oda ısısında bekletildi. Her 10 dakikada bir vortekslenerek pelletin DNP ile muamelesi sağlandı. Daha sonra 500 µl %20'lik TCA ile karıştırılıp 2-3 dakika oda ısısında bekletildi. 4000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant döküldü ve aynı işlem %10'luk TCA ile üç kez tekrarlandı. Presipat 2 ml 1 M NaOH içinde 37 °C'de 30 dakika bekletilerek çözüldü. Numunenin absorbansı NaOH körüne karşı 360 nm dalga boyunda shimadzu UV-1601 spektrofotometresinde okundu.

$\epsilon_{\max} = 22000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ kullanılarak sonuçlar $\mu\text{mol/L}$ protein olarak verildi.

3.2.3. Serum –SH Grupları Tayini

Serum –SH grupları Koster ve ark. spektrofotometrik metoduna göre belirlendi (91).

Prensip:

Protein SH grupları, 5,5'-ditiobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB) tarafından indirgenir ve disülfid bağı oluşturarak bir kromofor (5-merkapto-2-nitrobenzoik asit) açığa çıkarılır. Oluşan kromoforun absorbanası 412 nm dalga boyunda okunmaktadır.

Reaktifler:

- | | |
|---------------------------|--------------|
| • DTNB | 2mM |
| • Potasyum fosfat tamponu | 0,1 M Ph 7,4 |
| • Sodyum sitrat | %1 |

Prosedür:

10 μl numune üzerine 150 μl fosfat tamponu eklendi. 40 μl DTNB (%1 sodyum sitrat içinde) ilave edildikten sonra 5 dakika 37 $^{\circ}\text{C}$ 'de bekletildi. Numunenin absorbanası 405 nm dalga boyunda Trinity (Biotech Captia Reader, U.S.A) model ELISA cihazında okundu.

Konsantrasyonlar, glutatyon ile elde edilen kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplandı ve sonuçlar $\mu\text{mol/L}$ olarak verildi.

3.2.4. NO Düzeylerinin Ölçümü

NO düzeyleri Trinity (Biotech Captia Reader, U.S.A) model ELISA cihazında human spesifik R&D System Inc. (Minneapolis/U.S.A) kitleri kullanılarak ölçüldü.

Prensip:

NO ölçümü nitratın Nitrat Redüktaz enzimi ile reaksiyonu sonucunda oluşan nitritin ölçümü temeline dayanır. Oluşan total nitrit, Griess reaksiyonu ile renkli bir azo-dye oluşturur ve bu ürün 490 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülür.

Reaktifler:

- 96'lık mikroplate
- Nitrat Redüktaz
- Nitrat Redüktaz tamponu
- NADH
- Nitrat standart
- Konsantre reaksiyon tamponu (10X)
- Griess Reaktifi I
- Griess Reaktifi II

Örnek Hazırlanması

Serum numuneleri 2 kat dilüe edildi. Numunelerden 100 µL alındı ve üzerine 100 µL reaksiyon tamponu eklendi.

Reaktif ve standart hazırlanması

Nitrat redüktaz haricindeki bütün reaktifler oda sıcaklığına getirildi. Nitrat Redüktaz buzlu ortamda muhafaza edildi. Konsantre Reaksiyon tamponu (10X), NADH ve Nitrat Redüktaz'ın uygun dilüsyonları yapılarak çalışmaya hazırlandı. 1000 µmol/L lik standart solusyonu kullanılarak 0 µmol/L, 3,12 µmol/L, 6,25 µmol/L, 12,5 µmol/L, 25 µmol/L, 50 µmol/L ve 100 µmol/L konsantrasyonlarındaki standartlar hazırlandı.

Çalışma prosedürü

1. Tüm numuneler oda sıcaklığına getirildi.
2. Blank (kör) kuyucuğuna 200 µL Reaksiyon tamponu (1X) pipetlendi.

3. Standart ve numuneler 50 µL olarak kuyucuklara sırayla pipetlendi.
4. Bütün kuyucuklara 25 µL NADH ilave edildi.
5. Bütün kuyucuklara 25 µL Nitrat Redüktaz reaktifi eklendi ve hafif bir karıştırma işleminden sonra mikropate'in üstü kapatıldı.
6. 30 dakika 37⁰C'de inkübe edildi.
7. Kör kuyucuğu haricindeki tüm kuyucuklara 50 µL Griess I reaktifi eklendi.
8. Kör kuyucuğu haricindeki tüm kuyucuklara 50 µL Griess II reaktifi eklendi.
9. Hafif bir karıştırma sonrasında 10 dakika oda ısısında inkübe edildi.
10. Optik dansite 490 nm'de okutuldu.
11. Çıkan sonuçlar 2 ile çarpıldı.

3.2.5. % CDT Düzeylerinin ölçümü

Bio-Rad firmasına ait %CDT, kolon ayrımını izleyen türbidimetrik ölçüm yapan heterojen bir immüno ölçüm yöntemidir.

Prensip

Örnek içindeki serum transferin Fe^{3+} ile doyurulur. Karışım iyon değiştirici kolona uygulanır. Transferin üzerindeki sialik rezüdülerin farklı miktarlarından dolayı izoformlar farklı alanlara taşınır ve kolon içinde ayrılırlar. Toplanan elüe'nin içeriği türbidimetrik ölçüm ile belirlenir.

Elüe edilen CDT izoformları anti-transferrin antikoru ile immün kompleks oluşturur. Örneğin, Total Transferrin (TT) içeriği aynı anti-transferrin antikoru kullanılarak ayrıca belirlenir. Ölçümler kalibrasyon eğrisi kullanılarak değerlendirilir. % CDT değeri hesaplanır.

Reaktifler:

- 96'lık mikroplate
- Kolonlar (Ion exchange matrix, transport buffer contains 0,02%

Sodium Azide

- Solüsyon 1 (Ferric saturation solution, Bis-Tris Buffer, 0,02% Sodium Azide)
- Solüsyon 2 (Bis-Tris Buffer, Sodium Chloride, 0,02% Sodium Azide)
- Solüsyon 3 (Anti-human transferin antibodies, 0,08% Sodium Azide)

Kolonların hazırlanması:

- Kolonlar çalışmaya başlamadan 24 saat önce dik pozisyona getirildi.
- Çalışmaya başlamadan 6 saat önce oda sıcaklığına getirilir.
- Kolonlar çalışmaya başlamadan 1 saat önce boşaltılmaya başlandı.

Standart, Kontrol ve numunelerin hazırlanması:

CDT standartları, yüksek-düşük kontrolleri ve tüm solüsyonlar 6 saat bekletilerek oda sıcaklığına getirildi. Kontroller 1 ml distile su ile çözüldü. Cam tüpler içerisine kontroller ve serumlardan 100 µL koyuldu. Üzerlerine 500 µL Solüsyon 1 reaktifinden ilave edildi ve karıştırıldı. 2-15 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

Kolon seperasyonu:

1. Solüsyon 1 ile hazırlanan kontrollerden ve numunelerden 500 µL alınarak boşaltılmış kolonlara pipetlendi.
2. Kolonlara Solüsyon 2' den 1 mL ilave edilerek filtrasyonu sağlandı ve akıtılan kısım kullanılmadı
3. Kolonlara Solüsyon 2' den 2 mL ilave edilerek filtre edildi ve akıtılan kısım numune olarak kullanıldı.

Total transferin dilüsyonunun hazırlanması:

SOLÜSYON 1 ile hazırlanan kontrollerden ve numunelerden geriye kalan 100 µL'nin 50 µL'si cam tüplere pipetlendi ve üzerine 2 mL Solüsyon 2 ilave edilerek hazırlandı.

Çalışma Prosedürü

1. Standartlar, kolondan geçen kontrol ve numuneler 200 µL olarak mikrotiter plate'in kuyucuklarına sırayla pipetlendi. (Standartlar kolondan geçirilmeden kullanıldı.)
2. Total transferin dilüsyonuyla hazırlanan numunelerden 200 µL kuyucuklara pipetlendi.
3. 405 nm'de absorbansları ölçüldü. (I. Ölçüm)
4. Bütün kuyucuklara 50 µL Solüsyon 3 pipetlendi ve mikroplate el ile shake edilerek karıştırıldı.
5. Oda sıcaklığında 15 dakika bekletildi.
6. 405 nm'de absorbansları ölçüldü. (II. Ölçüm)

% CDT'nin hesaplanması: Ölçümler kalibrasyon eğrisi kullanılarak değerlendirilir. % CDT değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanır.

$$\%CDT = 7,4 \times (CDT \text{ değeri}/TT \text{ değeri}) - 0,1$$

3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analiz SPSS (Statistical Package for the Social Sciences ver. 12.0, SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA) paket programı kullanılarak yapıldı. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verildi. Bağımsız grup ortalamalarının karşılaştırılmasında; independent samples t-testi (Student t test), bağımsız grup ortancalarının karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi, Bağımlı grup ortalamalarının karşılaştırılmasında ise eşleştirilmiş Student t test kullanıldı. Parametreler arasındaki korelasyon belirlenmesinde ise spearman korelasyon katsayısı kullanıldı. İstatistiksel analizlerin tümünde $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1.MDA DÜZEYLERİ

Diyabetik hasta grubunun tedavi öncesi ve tedavi sonrası 3.ay serum MDA düzeyleri, kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,001$). Tedavi sonrası 6. ay serum MDA düzeyleri, kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır (Tablo-4.1.1). Diyabetik hasta grubunun tedavi öncesi, tedavi sonrası 3. ay ve 6. ay serum MDA düzeyleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$; $p<0,001$ sırasıyla) (Tablo-4.1.1).

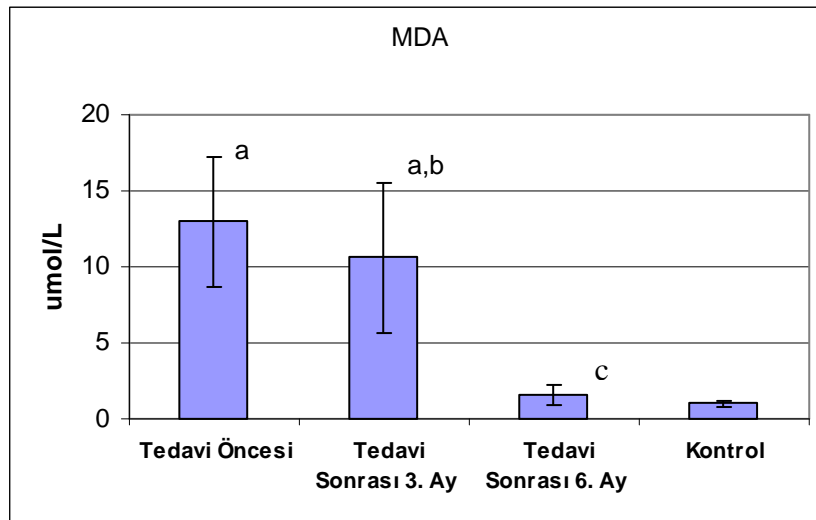
Tablo – 4.1.1. MDA DÜZEYLERİ

	Tedavi Öncesi (n=15)	Tedavi Sonrası		Kontrol (n=15)
		3.Ay (n=15)	6.ay (n=15)	
MDA ($\mu\text{mol/L}$)	$13,0 \pm 4,3^a$	$10,6 \pm 4,9^{a,b}$	$1,6 \pm 0,7^c$	$1,04 \pm 0,2$

a: $p<0,001$ kontrol ile karşılaştırıldığında

b: $p<,05$ tedavi öncesi ile karşılaştırıldığında

c: $p<0,001$ tedavi öncesi ile karşılaştırıldığında



Şekil – 4.1.1. Aylara göre grupların MDA düzeyleri

4.2.KARBONİL DÜZEYLERİ

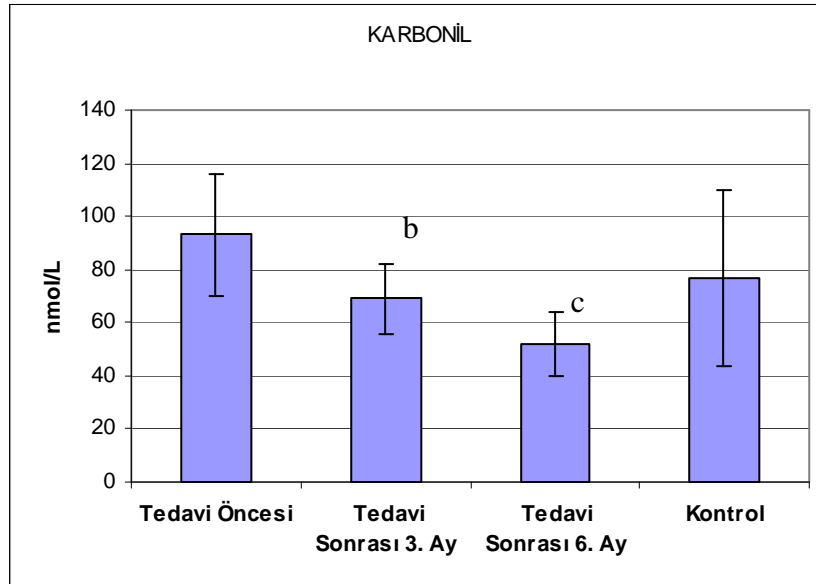
Diyabetik hasta grubunun tedavi öncesi ve tedavi sonrası 3. ay ile 6. ay serum karbonil düzeyleri, kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır (Tablo-4.2.1.). Diyabetik hasta grubunun tedavi öncesi, tedavi sonrası 3. ay ve 6. ay serum karbonil düzeyleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$; $p<0,001$ sırasıyla) (Tablo-4.2.1.).

Tablo – 4.2.1. Karbonil Düzeyleri

	Tedavi Öncesi (n=15)	Tedavi Sonrası		Kontrol (n=15)
		3.Ay (n=15)	6.ay (n=15)	
KARBONİL ($\mu\text{mol/L}$)	93 \pm 23	69 \pm 13 ^b	52 \pm 12 ^c	77 \pm 33

b: $p<0,05$ tedavi öncesi ile karşılaştırıldığında

c: $p<0,001$ tedavi öncesi ile karşılaştırıldığında



Şekil – 4.2.1. Aylara göre grupların karbonil düzeyleri

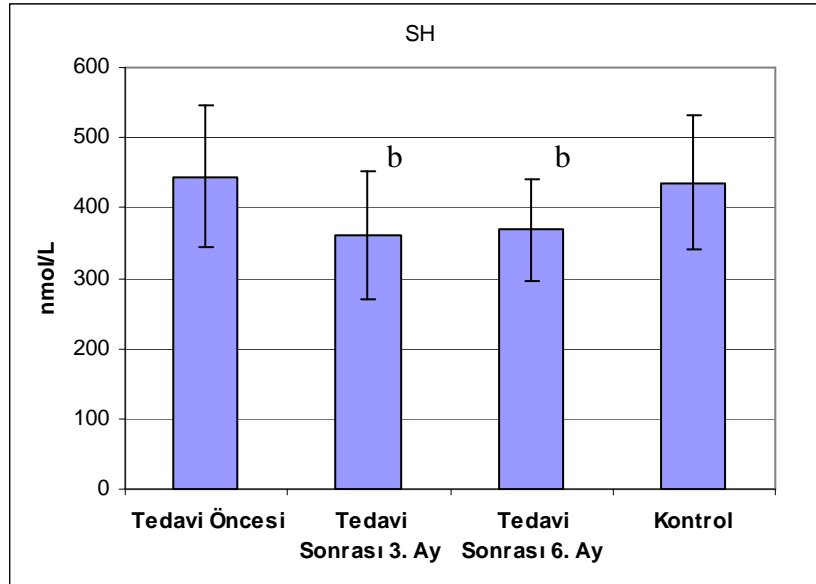
4.3. SH DÜZEYLERİ

Diyabetik hasta grubunun tedavi öncesi ve tedavi sonrası 3. ay ile 6. ay serum SH düzeyleri, kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır (Tablo-4.3.1.). Diyabetik hasta grubunun tedavi öncesi ile tedavi sonrası 3. ay ve 6. ay serum SH değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür ($p < 0,05$) (Tablo-4.3.1.).

Tablo – 4.3.1. SH Düzeyleri

	Tedavi Öncesi (n=15)	Tedavi Sonrası		Kontrol (n=15)
		3.Ay (n=15)	6.ay (n=15)	
SH ($\mu\text{mol/L}$)	444 \pm 101	361 \pm 91 ^b	369 \pm 72 ^b	436 \pm 96

b: $p < 0,05$ tedavi öncesi ile karşılaştırıldığında



Şekil – 4.3.1. Aylara göre grupların SH düzeyleri

4.4. NO DÜZEYLERİ

Diyabetik hasta grubunun tedavi öncesi ve tedavi sonrası 3.ay serum NO düzeyleri, kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,001$; $p<0,05$ sırasıyla). Tedavi sonrası 6. ay serum NO düzeyleri ile kontrol karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır (Tablo-4.4.1.). Diyabetik hasta grubunun tedavi öncesi, tedavi sonrası 3. ay ve 6. ay serum NO düzeyleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$) (Tablo-4.4.1.).

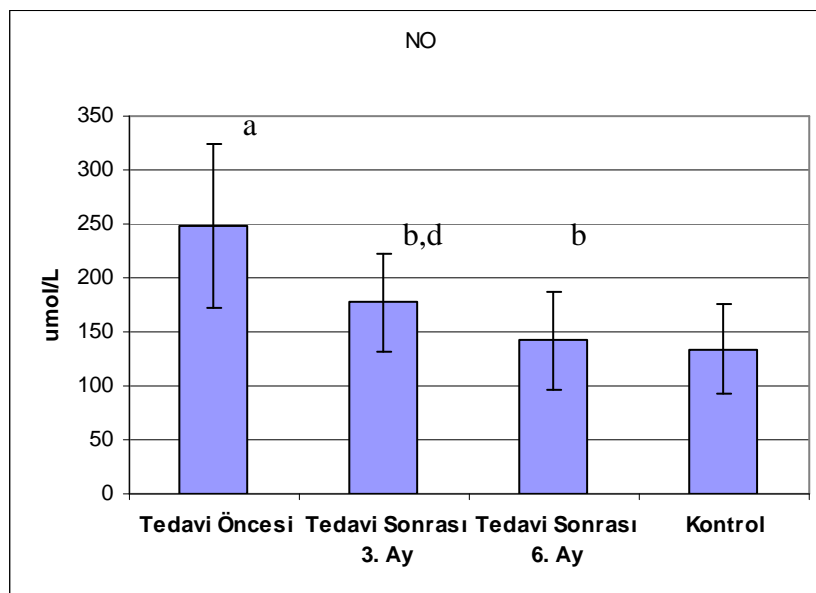
Tablo – 4.4.1. NO Düzeyleri

	Tedavi Öncesi (n=15)	Tedavi Sonrası		Kontrol (n=15)
		3.Ay (n=15)	6.ay (n=15)	
NO ($\mu\text{mol/L}$)	249 ± 76^a	$177 \pm 45^{b,d}$	142 ± 45^b	134 ± 42

a: $p<0,001$ kontrol ile karşılaştırıldığında

b: $p<0,05$ tedavi öncesi ile karşılaştırıldığında

d: $p<0,05$ kontrol ile karşılaştırıldığında



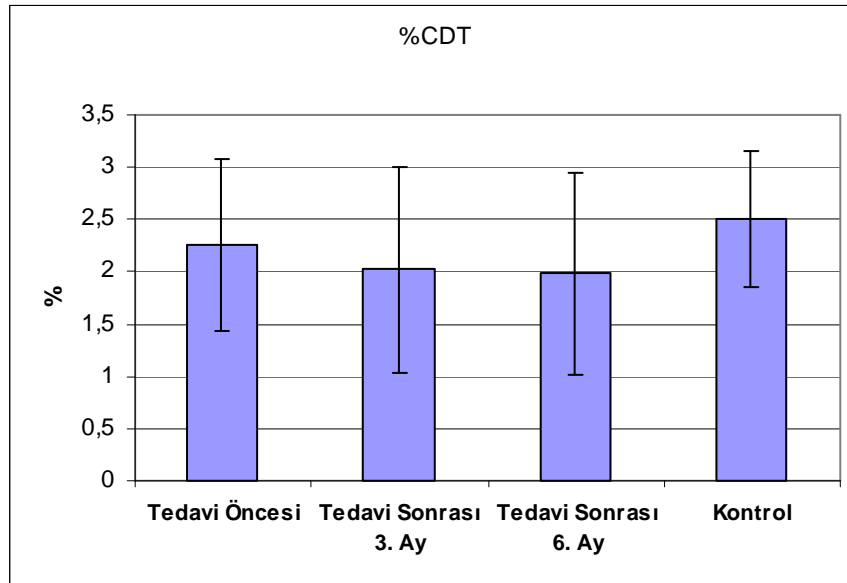
Şekil – 4.4.1. Aylara göre grupların NO düzeyleri

4.5. %CDT DÜZEYLERİ

Diyabetik hasta grubunun tedavi öncesi ve tedavi sonrası 3. ay ile 6. ay serum % CDT düzeyleri, kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır (Tablo-4.5.1.). Diyabetik hasta grubunun tedavi öncesi, tedavi sonrası arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo-4.5.1.).

Tablo – 4.5.1. % CDT Düzeyleri

	Tedavi Öncesi (n=15)	Tedavi Sonrası		Kontrol (n=15)
		3.Ay (n=15)	6.ay (n=15)	
%CDT	2,26 ± 0,82	2,02 ± 0,99	1,98 ± 0,97	2,50 ± 0,65



Şekil – 4.5.1. Aylara göre grupların % CDT düzeyleri

4.6.GLUKOZ DÜZEYLERİ

Diyabetik hasta grubunun tedavi öncesi ve tedavi sonrası 3.ay ile 6.ay serum glukoz düzeyleri, kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,001$; $p<0,001$; $p<0,05$ sırasıyla) (Tablo-4.6.1.). Diyabetik hasta grubunun tedavi öncesi, tedavi sonrası 3. ay ve 6. ay serum glukoz düzeyleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$) (Tablo-4.6.1.).

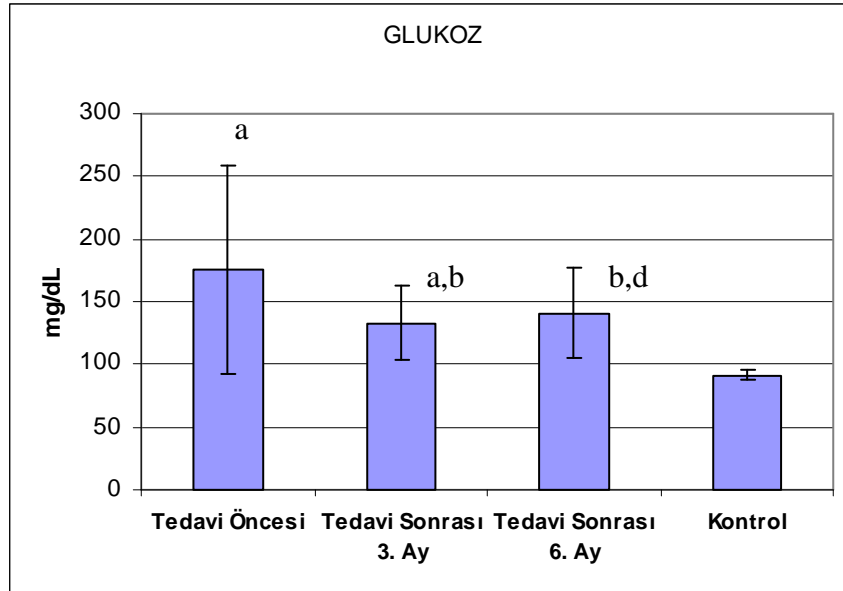
Tablo – 4.6.1. Glukoz Düzeyleri

	Tedavi Öncesi (n=15)	Tedavi Sonrası		Kontrol (n=15)
		3.Ay (n=15)	6.ay (n=15)	
GLUKOZ (mg/dL)	176 ± 83 ^a	133 ± 29 ^{a,b}	141 ± 36 ^{b,d}	91 ± 4

a: $p<0,001$ kontrol ile karşılaştırıldığında

b: $p<0,05$ tedavi öncesi ile karşılaştırıldığında

d: $p<0,05$ kontrol ile karşılaştırıldığında



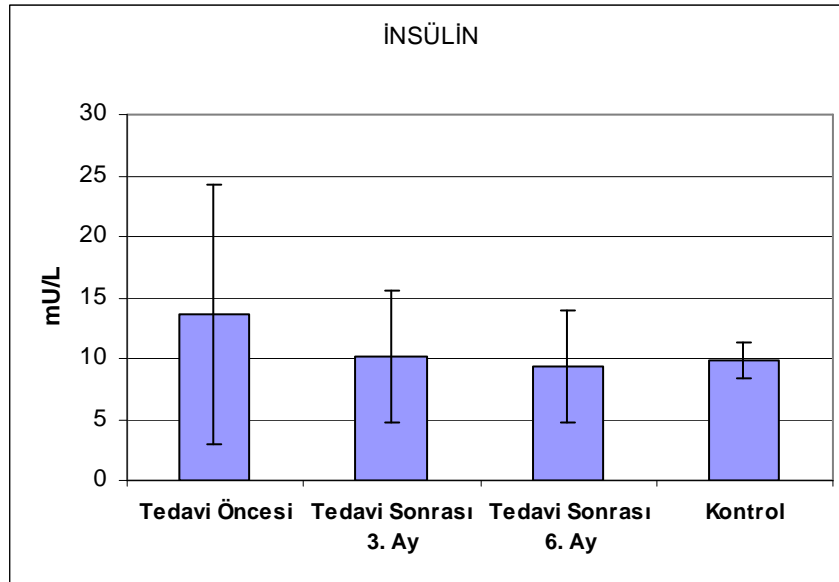
Şekil – 4.6.1. Aylara göre grupların glukoz düzeyleri

4.7. İNSÜLİN DÜZEYLERİ

Diyabetik hasta grubunun tedavi öncesi ve tedavi sonrası 3. ay ile 6. ay serum insülin düzeyleri, kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır (Tablo-4.7.1.). Diyabetik hasta grubunun tedavi öncesi, tedavi sonrası 3. ay ve 6. ay serum insülin düzeyleri ile de karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır (Tablo-4.7.1.).

Tablo – 4.7.1. İnsülin Düzeyleri

	Tedavi Öncesi (n=15)	Tedavi Sonrası		Kontrol (n=15)
		3.Ay (n=15)	6.ay (n=15)	
İNSÜLİN (mU/L)	13,6 ± 10,7	10,2 ± 5,4	9,4 ± 4,6	9,8 ± 1,5



Şekil – 4.7.1. Aylara göre grupların insülin düzeyleri

4.8. FRUKTOZAMİN DÜZEYLERİ

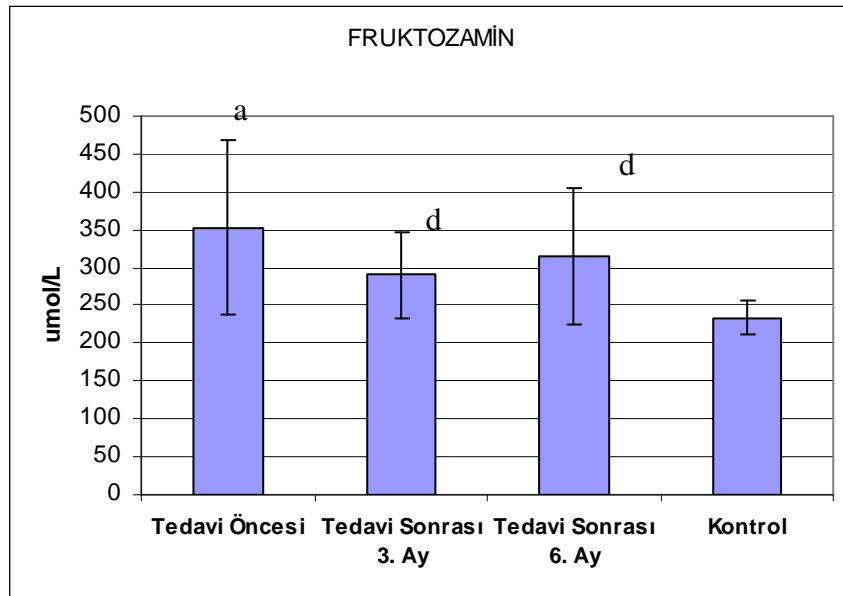
Diyabetik hasta grubunun tedavi öncesi ve tedavi sonrası 3.ay ile 6.ay serum fruktozamin düzeyleri ile kontrol karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,001$; $p<0,05$; $p<0,05$ sırasıyla) (Tablo-4.8.1.). Diyabetik hasta grubunun tedavi öncesi ile tedavi sonrası 3. ay ve 6. ay serum fruktozamin düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır (Tablo-4.8.1.).

Tablo – 4.8.1. Fruktozamin Düzeyleri

	Tedavi Öncesi (n=15)	Tedavi Sonrası		Kontrol (n=15)
		3.Ay (n=15)	6.ay (n=15)	
FRUKTOZAMİN ($\mu\text{mol/L}$)	352 ± 115^a	290 ± 50^d	315 ± 91^d	234 ± 23

a: $p<0,001$ kontrol ile karşılaştırıldığında

d: $p<0,05$ kontrol ile karşılaştırıldığında



Şekil – 4.8.1. Aylara göre grupların fruktozamin düzeyleri

4.9. HbA1c DÜZEYLERİ

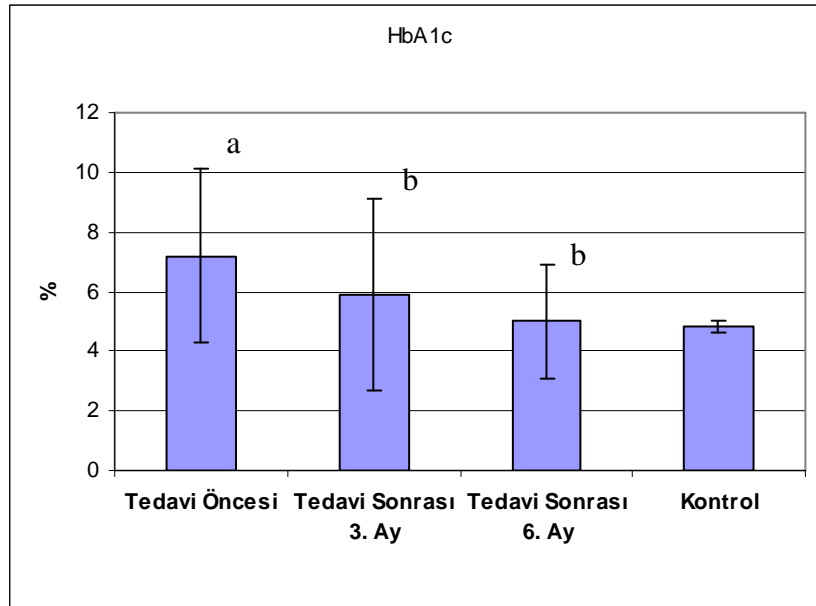
Diyabetik hasta grubunun tedavi öncesi serum HbA1c düzeyleri, kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,001$). Diyabetik hasta grubunun tedavi öncesi ile tedavi sonrası 3. ay ve 6. ay serum HbA1c düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$) (Tablo-4.9.1.).

Tablo – 4.9.1. HbA1c Düzeyleri

	Tedavi Öncesi (n=15)	Tedavi Sonrası		Kontrol (n=15)
		3.Ay (n=15)	6.ay (n=15)	
HbA1c (%)	7,2 ± 2,9 ^a	5,9 ± 3,2 ^b	5,0 ± 1,9 ^b	4,8 ± 0,2

a: $p<0,001$ kontrol ile karşılaştırıldığında

b: $p<0,05$ tedavi öncesi ile karşılaştırıldığında



Şekil – 4.9.1. Aylara göre grupların HbA1c düzeyleri

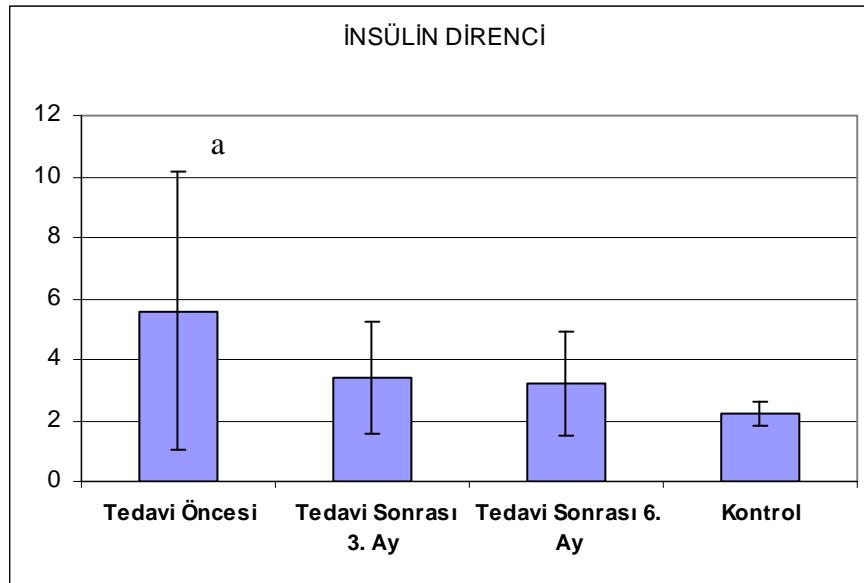
4.10 İNSÜLİN DİRENCİ DÜZEYLERİ

Diyabetik hasta grubunun insülin direnci düzeyleri tedavi öncesi ile kontrol karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Tedavi sonrası 3. ay ile 6. ay serum insülin direnci düzeyleri, kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır (Tablo-4.10.1.). Diyabetik hasta grubunun tedavi öncesi, tedavi sonrası 3. ay ve 6. ay serum insülin direnci düzeyleri ile de karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır (Tablo-4.10.1.).

Tablo – 4.10.1. İnsülin Direnci Düzeyleri

	Tedavi Öncesi (n=15)	Tedavi Sonrası		Kontrol (n=15)
		3.Ay (n=15)	6.ay (n=15)	
İNSÜLİN DİRENCİ	5,60 ± 4,54 ^a	3,39 ± 1,83	3,24 ± 1,70	2,22 ± 0,41

a: p<0,001 kontrol ile karşılaştırıldığında



Şekil – 4.10.1. Aylara göre grupların insülin direnci düzeyleri

4.11 KORELASYONLAR

MDA'nın hem glukoz hem de NO ile pozitif korelasyon gösterdiği bulunmuştur ($r=0,646$, $p<0.001$; $r=0,266$, $p<0.05$). Glukoz'un hem HbA1c hem de fruktozamin ile pozitif korelasyon gösterdiği bulunmuştur ($r=0,35$, $p<0,05$; $r=0,699$ $p<0,001$). İnsülin direnci ile MDA, glukoz, insülin, fruktozamin, HbA1c pozitif korelasyon göstermiştir ($r=0,519$ $p<0,001$; $r=0,735$ $p<0,001$; $r=0,965$ $p<0,001$; $r=0,632$ $p<0,001$; $r=0,546$ $p<0,05$).

5.TARTIŞMA

DM, hiperglisemi, dislipidemi, glukozüri ve bunlara eşlik eden birçok klinik ve biyokimyasal bulgularla seyreden multisistemik, kronik bir metabolizma hastalığıdır. Tip 2 DM günümüzde gerek yaygınlığı gerekse neden olduğu akut ve kronik komplikasyonlarla hala en önemli mortalite ve morbidite nedenlerinin başında gelmektedir. Tip 2 DM, tüm DM'lilerin ortalama %85'ni oluşturmaktadır (92).

Çalışmamızda insülin direnci üzerine etkili olan metformin ve rosiglitazon, yeni tanı almış tip 2 DM hastalarına verildi. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası numunelerden oksidatif stres parametrelerinden MDA, NO, protein karbonil ve antioksidan parametrelerden SH grubu çalışıldı.

Diyabet, kronik metabolik bir bozukluk olduğu gibi aynı zamanda da artmış bir oksidatif stres durumudur. Diyabette artmış serbest radikaller lipidler, proteinler ve nükleik asitlerle etkileşerek membran bütünlüğünün kaybına, proteinlerde yapısal veya fonksiyonel değişikliklere ve genetik mutasyonlara yol açmaktadır. Organizma bu zararlı radikallerin etkisiyle başa çıkabilmek için bazı enzimatik ve non enzimatik antioksidan defans sistemlerine sahiptir (93-97). Ayrıca diyabette eksojen antioksidanlar verilerek serbest radikallerin etkileriyle başa çıkılabilir (93). Oksidatif stres serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki dengenin serbest radikaller lehine bozulmasıdır. Bunun da diyabetin makro ve mikrovasküler komplikasyonlarına neden olduğu pek çok araştırmacı tarafından vurgulanmaktadır (93-97).

Miyokard enfarktüsü gibi kardiyak hastalıklar, nörolojik hastalıklar, astım, DM, romatoid artrit gibi romatolojik hastalıklar, kanser ve yaşlanma dahil birçok hastalığın oksidatif stres ile ilişkisi gösterilmiştir (98). Oksidatif stres, DM ve DM'nin daha sonraki komplikasyonlarının patogeneğinde önemli

rol oynar. Enzimatik olmayan glikasyon, otooksidatif glikasyon, sorbitol yolu aktivitesi, antioksidan savunma sistemindeki çeşitli değişiklikler, hipoksi gibi nedenler, DM'de oksidatif stresi artıran mekanizmalardır. Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir. Bu tip maddeler, ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktiftirler. DM'li kişilerin plazma ve dokularında lipid peroksidasyon ürünlerinde artış meydana gelmektedir (99).

Oksidatif stres ve onu izleyen doku hasarı sonucunda kronik hastalıklar ve hücre ölümü meydana gelmektedir (100). Farklı veriler içeren çalışmalar olsa da oksidatif stres, tip 2 DM'nin komplikasyonlarının etyolojisinde önemli rol oynar (101). DM'de oksidatif stresin uzun süreli etkisinin vasküler komplikasyonlar ve insülin eksikliği üzerine etkisi hala tartışılmaktadır. DM, günümüz insanının yaşam şartlarından dolayı tüm dünyada hızla yayılan, yüksek mortalite ve morbidite riski taşıyan bir hastalıktır. Yapılan çalışmalarda deneysel olarak diyabet oluşturulan ratlarda ve DM'li hastalarda serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun önemli derecede arttığı ve oksidatif stresin DM etiyolojisinde ve ilerlemesinde rolü olduğu bildirilmiştir (102). Bunlara ilave olarak, uzamış oksidatif stresin ve antioksidan kapasitede görülen değişikliklerin, DM'nin kronik komplikasyonlarının ortaya çıkışı ile de ilişkili olabileceği, araştırmacılar tarafından vurgulanmaktadır (103).

Faure ve ark. ile Vantghem ve ark. (104,105), DM'li yetişkinlerde düşük düzeyde metabolik dekompozasyon olsa bile MDA düzeyinin oksidatif stres sonucu arttığını rapor etmişlerdir. Seghrouchni ve ark.'da DM'li kişilerde tiyobarbitürik asit reaktif ürün düzeylerini kontrole göre yüksek bulunmuştur (106). Aynı araştırmacılar, insülin ile tedavi edildiği halde DM'li grubun tiyobarbitürik asit reaktif ürün düzeylerinin yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Aydın ve ark. diyabetik kişilerde, antidiyabetik ilaç kullanımından sonra da tiyobarbitürik asit reaktif ürün düzeylerinin düşme göstermesine rağmen, kontrol grubuna göre yüksek seyrettiğini belirtmişlerdir (107).

Çalışmamızdaki diyabetik hasta gruplarının tedavi öncesi MDA düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulundu. İlaç kullanımından sonra serum MDA düzeylerinde 3. ay'da azalma gözlemlenmesine rağmen kontrole göre yüksekti. 6. ay'da ise serum MDA düzeylerinin kontrol seviyesine indiği gözlemlendi. Tedavi öncesinde MDA düzeylerinin yüksek ve daha sonra kontrol seviyesine inme sebebinin, DM'li hastalarda tedavi sonucu hipergliseminin oksidatif hasarı teşvik edici etkisinin azalmasından kaynaklanabileceği düşünüldü.

Artan oksidatif stres lipid ve karbohidrat yapıların yanı sıra protein yapılarında da oksidasyona sebep olmaktadır. Yapılan son çalışmalar oksidatif stresin nonenzimatik olarak geri dönüşümsüz protein modifikasyonlarına yol açtığını göstermiştir (108). Bunun yanı sıra karbohidrat ve lipid yapıların oksidasyonu sonucu ortaya çıkan reaktif karbonil bileşikleri (RCOs) de protein modifikasyonlarına yol açmaktadır (109). Protein karbonil içeriği, protein oksidasyonunun bir ürünü olup diyabetik hastalarda arttığı gösterilmiştir.

Biz çalışmamızda diyabetik hastaların serum karbonil düzeylerini kontrol ile kıyasladığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edemedik. Ancak tedavinin 3. ve 6. ayında tedavi öncesine göre anlamlı azalış gözlemlendi. DM'li hastalardaki yüksek karbonil seviyelerinin sebebi iki şekilde açıklanabilir. Birincisi oksidatif strese bağlı olarak RCOs'nin oluşumunun artması ikincisi ise RCOs' in detoksifikasyonunun azalması olabilir.

Protein SH grupları oksidasyon zincirini kırma özelliğine sahip önemli antioksidanlardandır. Protein yapısında olup vücutta oldukça fazla miktarda

bulunan albuminin güçlü bir ekstraselüler antioksidan olduğu gösterilmiştir. Plazma protein SH grupları oksidatif hasara karşı hassas olup koroner arter hastalığı, romatoid artrit, diabetes mellitus gibi oksidatif hasarın olduğu hastalıklarda düştüğü gösterilmiştir (69).

Bizim çalışmamızda ise tedavi öncesi ve tedavi sonrası 3.ay ve 6.ay'daki diyabetik hastalar kontrol ile kıyaslandığında serum SH düzeylerinde anlamlı bir fark bulunamadı. 3. ve 6. ay diyabetik hastaların serum SH düzeylerinde tedavi öncesine göre anlamlı bir düşüş gözlemlendi. Bu sonuç beklentilerimize ters düşmüştür. 3. ve 6. ay diyabetik hastaların kontrol grubu ile aralarında anlamlı fark olmamasının ve tedavi öncesiyle kıyaslandığında serum SH düzeylerinde anlamlı bir düşüş gösterme sebebinin diyabette antioksidan mekanizmaların bozulmuş olmasından kaynaklanabileceği düşünüldü.

Diyabetteki oksidatif strese rol oynayan serbest radikallerden biride NO'dir. NO, nitrik oksit sentaz (NOS) olarak bilinen sitozolik bir enzimin aktivitesi ile oluşur. Vasküler tonun regülasyonunda guanilat siklazı aktive eden NO major rol oynar. Oksijen bağlanan bölgeye kompetitif bağlanarak direkt olarak sitokrom oksidazın inhibisyonu ile hücresel solunumu düzenler. NO bazı durumlarda bir antioksidan gibi davranır ve lipid peroksidasyonundan korur. Bununla birlikte süperoksid düzeylerinin arttığı durumlarda süperoksitle reaksiyona girer ve bir prooksidan olan peroksinitrit oluşturur (93,110). Diyabette görülen endotel fonksiyon bozukluklarından (tartışmalı olmakla birlikte) endoteldeki nitrik oksit üretiminin azalması sorumlu tutulmaktadır. (95, 64,110-112). Ancak bizim çalışmamızda olduğu gibi diyabette NO'in artmış olduğunu rapor eden araştırmacılar da vardır (113).

Diyabetik hastalarda, vasküler patolojinin temelinde endotel fonksiyonunda bozulma yatmaktadır (114). Hiperglisemi; otooksidasyon, fazla glikozun enzim dışı yolla proteinlerin glikozilasyonunu, aldoz redükdaz yoluyla sorbitol-miyoinositol miktarını arttırması, diacilgliserol denovo sentezinin artışından başka, proteinkinaz-C yolunu aktifleyerek serbest

oksijen radikallerini arttırmaktadır. Diyabette endotelden NO yapımı, salgılanması ve hedef hücredeki etkisinde değişme olmaktadır. Uzun süre hiperglisemiye maruz kalma bu değişmeyi daha da arttırmaktadır (115).

Catalino ve arkadaşları da (116) insüline bağlı olmayan diyabetlilerde plazma bazal nitrit/nitrat oranını değişmediğini ancak artmış superoksit anyon sebebiyle NO bioyararlanımının azaldığını belirtmişlerdir. Wierusz Wysocka ve arkadaşları DM da NO metabolizmasındaki bozulmanın kan şekerinin kontrol derecesiyle ilgili olmadığını söylemişlerdir (117).

Çalışmamızdaki diyabetik hasta gruplarının tedavi öncesi NO düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulundu. İlaç kullanımından sonra serum NO düzeylerinde 3. ay'da azalma gözlemlenmesine rağmen kontrole göre yüksekti. 6. ay'da ise serum NO düzeylerinin kontrol seviyesine indiği gözlemlendi. Tedavi öncesinde NO düzeylerinin yüksek ve daha sonra kontrol seviyesine inme sebebinin DM'li hastalardaki NO metabolizma bozukluğunun tedavi ile düzelmesinden kaynaklandığı düşünüldü.

Yapılan bir çok klinik araştırmada CDT'nin uzun süreli alkol alımının tanısında özgüllüğü ve duyarlılığı en yüksek biyokimyasal belirleyici olduğu gösterilmiştir(118). Farklı CDT kitleri ile yapılan çalışmalarda farklı özgüllük ve duyarlılık sonuçları elde edilmiştir. CDT'yi değerli yapan durum özellikle özgüllüğüdür. Araştırma sonuçları CDT'nin özgüllüğünün %82 ile %100 arasında olduğunu göstermektedir(119,120).

Biz çalışmamızda hipergliseminin transferin glikozilasyonunda etkisinin olup olmadığını araştırmak için CDT düzeylerine baktık.

Yeni bir parametre olan %CDT düzeyleri diyabetik hastalarda tedavi sonrasında düşüş gösterdiği halde istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Tedavi öncesi, tedavi sonrası 3. ve 6. ay kontrol ile kıyaslandığında da %CDT düzeylerinde anlamlı fark bulunmadı. %CDT düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı bulunmamasının sebebi hasta sayısının düşük olması ile

açıklanabilir. DM' li hastalarda %CDT düzeylerini araştıran herhangi bir çalışma yayınlanmamıştır.

Hipergliseminin şiddetine ve süresine, proteinlerin yarı ömrüne, dokuların glukoza olan geçirgenliğine ve proteinlerdeki serbest amino gruplarının sayısına bağlı olan protein glikasyonu yarı ömrü kısa (albumin, hemoglobin) ve uzun (kollogen, elastin, myelin, tubulin) olan tüm proteinlerde gerçekteşmektedir. Dayanıklı doku proteinlerine bağlanmayan bu glikasyon ürünlerinin en tipik örneği glikozile Hb (HbA_{1C}) ve fruktozamindir (95,64,111,121,122).

Diyabetik hastaların tedavi sonrası 3. ve 6. aydaki metabolik parametreler, tedavi öncesi değerler ile karşılaştırıldığında glukoz ve HbA_{1c} düzeylerinde anlamlı azalma tespit edildi. Tedavi öncesi, tedavi sonrası 3. ay ve 6.ay ile kontrol kıyaslandığında glukoz ve fruktozamin düzeylerinde anlamlı bir artış gözlemlendi. Tedavi öncesi HbA_{1c} düzeyleri kontrol ile kıyaslandığında ise anlamlı olarak yüksek bulundu. Metabolik parametrelerden insülin düzeylerinde azalma görüldü fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi.

İnsülin direncinin temel mekanizma olduğunun anlaşılmasıyla birlikte yaşam tarzı değişikliği, kilo verme gibi geleneksel yaklaşımların yanında insülin direncini kırmaya yönelik çeşitli farmakolojik ajanlar geliştirilmiştir. Biguanidler, DM tedavisinde 40 yılı aşkın bir süredir kullanılmaktadır. Bunlardan metformin, dünyanın pek çok ülkesinde olduğu gibi Türkiye'de de kullanımda bulunan tek biguaniddir. Metformin, tip 2 DM tedavisinde iyi bilinen bir oral antihyperglisemik ilaç olup, lipoprotein profilini iyileştirdiği, vücut ağırlığında artışa neden olmadığı ve obez diyabetiklerde vücut ağırlığında azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (123). Son birkaç yıldır kullanıma giren tiazolidinedion grubu ilaçlar (rosiglitazon vb.) hücre içinde bulunan nükleer PPAR-γ reseptörlerine etki ederek insülinin post-reseptör işlevlerini yerine getirmesini kolaylaştırmaktadırlar (124). Yaygın kabul gören

bu ilaçlar, plazma glukoz düzeyini kontrol etmeleri yanında lipid profili ve endotel fonksiyonları üzerine de olumlu etkiler yapmakta ve insülin seviyelerini anlamlı derecede düşürmektedirler (125). Bu da insülin direncini kırmaya yönelik tedavi yaklaşımlarının ne kadar akılcı bir yol olduğunu göstermektedir.

İnsülin direnci ölçümü için öglisemik hiperinsülinemik klemp testi altın standarttır. Fakat uygulaması zor, zaman alıcı ve maliyeti yüksek bir testtir. Bu yüzden sınırlı sayıda hastada yapılabilmektedir. Bu nedenle, biz çalışmamızda, uygulanması kolay olan ve öglisemik hiperinsülinemik klemp testi ile iyi korelasyon gösterdiği kanıtlanmış HOMA-IR testini kullandık (126). HOMA-IR testinde insülin direnci açısından sınır değer standardize edilmemiştir. Gökçel ve ark. yaptıkları çalışmada Türk toplumunda HOMA-IR testinde 2.2'nin, insülin direnci varlığı için alt sınır değer olduğunu ve bu değer cinsiyet farkı gözetmediğini göstermişlerdir (127). Buradan hareketle, biz de çalışmamızda HOMA-IR değeri >2.2'nin üzerinde olan vakalarda insülin direncini var olarak kabul ettik.

Bizim çalışmamızda insülin direnci düzeyleri tedavi öncesi ile kontrol kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı yüksek çıkmıştır. Bu durum diyabetik hastalarda insülin direncinin yüksek olduğunu göstermiştir.

Biz çalışmamızda oksidatif stres ve metabolik parametrelerini kendi içlerinde inceledikten sonra aralarındaki korelasyonu araştırdık. MDA'nın hem glukoz hem de NO ile pozitif korelasyon gösterdiği bulunmuştur. Bu da bize DM'li hastalarda oksidatif stresin arttığını gösterdi. Glukoz'un hem HbA1c hem de fruktozamin ile pozitif korelasyon gösterdiği bulunmuştur. Bu bize DM'li hastalarda yüksek kan şekerinin tedavi ile glukoz regülasyonunun düzenlendiğini göstermiştir. İnsülin direnci ile MDA, glukoz, insülin, fruktozamin, HbA1c pozitif korelasyon göstermiştir.

6. SONUÇ

Sonuç olarak yapmış olduğumuz çalışmada, diyabette lipid peroksidasyonunun arttığı ve antioksidan mekanizmaların bozulduğunu bunun sonucunda ise oksidatif stresin ortaya çıktığını gözlemledik. Oksidatif stresin artma sebebinin DM'li hastalarda tedavi sonucunda hipergliseminin azalmasından mı yoksa tedavide kullanılan antioksidan özellikleri olan antidiyabetik ilaçların kullanılmasından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Bu yüzden diyabet tedavisinde antidiyabetiklere ek olarak antioksidan maddelerin veya antioksidan özellikleri olan antidiyabetiklerin kullanılması oksidatif stresle başa çıkabilmek için tavsiye edilebilir.

CDT' nin diyabette belirleyici bir parametre olarak kullanılamayacağını ve bu konuda daha bir çok çalışmaya ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Kahn S.E., Prigeon R.L., Schwartz R.S. et al. (2001) Obesity, body fat distribution, insulin sensitivity and Islet beta-cell function as explanations for metabolic diversity. *J Nutr* **131**, 354S-360S.
2. Lebovitz H.E. (2002) Rationale for and role of thiazolidinediones in type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol* **90**, 34G-41G.
3. Powers A.C. (2001) Diabetes Mellitus (ed). In: Braunwald E., Fauci A.S., Kasper D.L. et al. (eds) *Harrison's Principles of Internal Medicine*, (15th edition), *Mc Graw Hill Company* **2**, 2109-2138.
4. İmamoğlu S. (2005) Diabetes Mellitus (ed). In: Dolar E. (ed), İç Hastalıkları, *Nobel&Günes Tıp Kitabevi İstanbul* 692-719.
5. Altuntas Y. (2001) Diabetes Mellitus'un Tanımı, Tanısı ve Sınıflanması, Her Yönüyle Diabates Mellitus (ed). In:Yenigün M., Altuntas Y. (eds) *Nobel Tıp Kitabevleri* 51-62.
6. Gill G., Pickup J., Williams G. (2001) *Difficult Diabetes*, (1st edition), Çev: Uslan İ. (2002) *Diyabet ve Zorlukları, ve Yayıncılık* 3-19.
7. Reaven G., Strom T. (2003) *Tip 2 Diyabet Sorular ve Cevaplar*, Çev. ed: Satman İ., *Merit Publishing International* 17-35.
8. Satman I., Yılmaz M.T., and TURDEP group. (2002) Population-Based Study of Diabetes and Risk Characteristics in Turkey: Results of the Turkish Diabetes Epidemiology Study (TURDEP). *Diabetes Care* **25**, 1551-1556.
9. American Diabetes Association (2004) Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* **27**, S5-S10.
10. The Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus (1997) Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* **20**,1183-1197.
11. American Diabetes Association (2004) Clinical practice Recommendations. *Diabetes Care* **27**, S5-S11.

12. Aksu T.A. (2001) Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Ders Notları. *Karbohidrat Metabolizması Bozuklukları Biyokimyası* **3**.
13. Orhan Y. (2001) Diabetes Mellitus, Endokrinoloji Metabolizma ve Beslenme Hastalıkları. (ed) In: Sencer E., *Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul* 247- 286.
14. Laakso M. (1996) Insulin resistance and coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol* **7**, 217-226.
15. Braunwald E., Fauci A.S., Kasper D.L, Hauser S.L., Longo D.L., Jameson J.L. (2004) Diabetes Mellitus. Harrison İç Hastalıkları Prensipleri (15th edition). Çev. ed: Sağlık Y., *Nobel Tıp Kitabevleri* **2**, 2109-2138.
16. Aslan M. (2003) Diabetes Mellitusta Tanı ve Sınıflandırma. İliçin G., Biberoglu K., Süleymanlar G., Ünal S., İç Hastalıkları (2. baskı). *Günes Kitabevi* **2**, 2279- 2295.
17. Yki-Jarvinen H. (1995) Role of insulin resistance in the pathogenesis of NIDDM. *Diabetologica* **38**,1378-1388.
18. Ferrannini E., Vichi S., Beck N.H., Laasko M., Paolisso G.S.U. (1996) European Group for the Society of Insulin Resistance (EGIR). *Insulin action and age. Diabetes* **45**, 947-953.
19. Stumvoll M. et al.(2001) Clinical features of insulin resistance and beta-cell dysfunction and relationship to type 2 diabetes. *Clin Lab Med* **21**, 31.
20. Altuntas Y. (2001) İnsülin direnci ve ölçüm metodları. Ed: Yenigün M., *Her Yönüyle Diabetes Mellitus. Nobel Tıp Kitabevleri* (2. baskı), 839-852.
21. Willa A.H., Moore L., Bryer-Ash M. (2004) Contemporary Diagnosis of and management of type 2 diabetes. Çev. Ed: Karpuz H., *Handbooks in Health Care Co, Avrupa Tıp Kitapçılık*
22. Isıldak M., Güven G.S. (2004) Metabolik sendrom ve insülin direnci. *Hacettepe Tıp Dergisi* **35** **2**, 96-99.
23. Tüzün M., Yılmaz C., Kabalak T. (2004) *Endokrinoloji El Kitabı* (3. baskı), *İzmir Güven Kitabevi* 609-700.

24. Goldstein J.B., Müller-Wieland D. (2004) Tip 2 Diyabet. Çev. ed: Akman C. A., *Martin Dunitz London and New York*.
25. Damcı T. (2000) Sendrom X Diabet Obezite ve Metabolizma Hastalıkları. Ed: İlkova H., *İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitim Komisyonu*, Yayın no: 20.
26. Yılmaz C., Yılmaz M.T., İmamoğlu S. (2000) *Diabetes Mellitus* 17-27.
27. Haffner S.M. (2006) Relationship of metabolic risk factors and development of cardiovascular disease and diabetes. *Obesity (Silver Spring)* **14**,121S-127S.
28. Chaour M., Theroux P., Gilfix B.M. et al. (1997) 'True' fasting serum insulin level, insulin resistance syndrome and coronary artery disease. *Coron Artery Dis* **8**, 683-688.
29. Bergman R.N., Ider Y.Z., Bowden C.R., Cobelli C. (1979) Quantitative estimation of insulin sensitivity. *Am J Physiol* **236**, 667-677.
30. Matthews D.R., Hosker J.P., Rudenski A.S., Naylor B.A., Treacher D.F., Turner R.C. (1985) Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* **28**, 412-419.
31. Osei K., Rhinesmith S., Gaillard T., Schuster D. (2004) Impaired insulin sensitivity, insulin secretion, and glucose effectiveness predict future development of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes in pre-diabetic African Americans: implications for primary diabetes prevention. *Diabetes Care* **27**, 1439-1446.
32. Jaber L.A., Brown M.B., Hammad A., Zhu Q., Herman W.H. (2004) The prevalence of the metabolic syndrome among arab americans. *Diabetes Care* **27**, 234-238.
33. Sandıkçı S. (2004) Diabetin kronik komplikasyonları. *Folia, Hipertansiyon, Diyabet ve Ateroskleroz Dergisi* **41**, 5-12.
34. Stratton M.I., Adler I.A., Neil W.A. et al. (2000) On behalf of the UK Prospective Diabete Group Study. Association of glycemia macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS35). *BMJ* **321**, 405-412.

35. Dursunoğlu D., Evrengöl H., Kaftan A., Kılıç M., Sormaz Y. (2004) Koroner ateroskleroz ve diyabet. *Türkiye Klinikleri Kardiyoloji* **17**, 55-61.
36. Hurst R.T., Lee W.R. (2003) Increased incidence of coronary atherosclerosis in type 2 diabetes mellitus. *Mechanism and Management. Annals of Internal Medicine* **139**, 824.
37. Kozan Ö., Savas İ.Z. (2003) Hangisi Daha Önemli? Diastolik Hipertansiyon, Sistolik Hipertansiyon. *Kardiyoloji ve Aktüalite Dergisi* **12**, 6-11.
38. American Diabetes Association (2002). Diyabetli Olan Yetiskinlerde Hipertansiyon Tedavisi. *Diabetes Care* **25**, 71-73. Hipertansiyon Kılavuzları Referansı. Çev. Ed: Kleş İ., PDR (2004) (1. baskı), *Avrupa Tıp Yayıncılık*.
39. Snow V. et al. (2003) Tıp II Diabetes Mellitus Tedavisinde Sıkı Kan Basıncı Kontrolü İçin Temel Kanıt. *Ann Intern Med* **138**, 587-592. Hipertansiyon Kılavuzları Referansı. Çev. Ed: Keles İ., PDR (2004), 1. baskı, *Avrupa Tıp Yayıncılık*.
40. Mehler P.S., Coll J.R., Estacio R. et al (2003). Intensive blood pressure control reduces the risk of cardiovascular events in patients with peripheral arterial disease and type II diabetes. *Circulation* **107**, 753-758.
41. Fleal M.K. (1999) Blood, lipid levels in type 2 diabetes: What are the effect of diet? *Diabetes Care* **22**, 1605-1606.
42. Krauss M.R. (2004) Lipids and lipoproteins in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* **27**, 1496-1505.
43. Betteridge D.J., Morell M.J. (1998) Lipid ve lipoprotein metabolizm. The basics, *Clinical Guide to Lipids and Coronary Heart Disease* (1st edition). *Chapman and Hall Medical*, 3-20.
44. McCord J.M. (1992) Human disease, free radicals and antioxidant balance. *Clin Biochem* **26**, 351-357.
45. Weiseger R.A. (1986) Oxygen Radicals and ischemic tissue injury. *Gastroenterology* **90**, 494-496.

46. Breimer L. (1991) Repair Of DNA Damage. Induced By Reactive Oxygen Species. *Free Rad. Res. Commun* **14**, 159-162.
47. Thomas M.J. (1995) The Role Of Free Radicals And Antioxidants: How Do We Know That They Are Working? *Critical Rew. Food. Sci. And Nutrit* **35**, 21-39.
48. Aalt B., Haenen R.M., Doelman J.A. (1991) Oxidant and antioxidant: State of the Art. *Am J Med* **91**, 3-13.
49. Akkuş İ. (1995) Serbest Radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimoza yayınları. Konya*
50. Halliwell B. (1991) Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry and role in human disease. *Am J Med* **91**, 11-12.
51. Haber F., Weiss J.J. (1984) The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts. *Proc R Soc Lond Ser* **147**, 332-351.
52. Dotan Y., Lichtenberg D., Pinchuk I. (2004) Lipid Peroxidation Cannot Be Used As a Universal Criterion Of Oxidative Stres. *Progres in Lipid Research* **43**, 200-227.
53. Stadtman E.R. (1993) Oxidation Of Free Aminoacids and Aminoacids Residues In Protein By Radiolysis and Metal Catalyzed Reactions. *Annu Rev Biochem* **62**, 797-821.
54. Byung P.Y. (1994) Celluler Defences Agains Damage From Reactive Species. *Physiological Review* **74**, 139-172.
55. Gutteridge J.M. (1995) Lipid Peroxidation And Antioxidants As Biomarkers Of Tissue Damage. *Clin Chem* **41**, 1819-1828.
56. Halliwell B., Murcia M.A., Chirico S., Aruoma O.I. (1995) Free Radicals and Antioxidants in Food and In Vivo: What They Do And How They Work. *Critical Rew. Food. Sci. And Nutrit* **35**, 7-20.
57. Maddipati K.R., Marnet L.J. (1987) Characterization Of The Major Hydroperoxide Reducing Activity Of Human Plasma: Purification And Properties Of A Selenium-Dependent Glutathione Peroxidase. *J. Bol.Chem* **262**, 17393-403.

58. Gutteridge J.M.C., Peterson S.K., Segal A.W., Halliwell B. (1981) Inhibition Of Lipid Peroxidation By The Iron Binding Protein Lactoferrin. *Biochem J* **199**, 259-61.
59. Baynes J.W. (1991) Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* **40**, 405-412.
60. Sundaram R.K., Bhaskar A., Vijayalingam S., Viswanathan M., Mohan R., Shanmugasundaram K.R. (1996) Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus with and without complications. *Clin Sci (Lond)* **90**, 255-260.
61. Gerli G.C., Beretta L., Bianchi M., Agostoni A. (1981) Erythrocyte superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in conditions of augmented oxidant stress. *Bull Eur Physiopathol Respir* **17**, 201-205.
62. Baynes J.W., Thorpe S.R. (1999) Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes* **48**,1-9.
63. Kumar J.S., Menon V.P. (1992) Peroxidative changes in experimental diabetes mellitus. *Indian J Med Res* **96**,176-181.
64. Alper G. (2002) Diyabet In: Onat T., Emerk K., Sözman E.Y., eds. İnsan Biyokimyası. *Ankara: Palme Yayıncılık* 248-257.
65. Schafer F.Q., Buettner G.R. (2001) Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radic Biol Med* **30**, 1191-1212.
66. Ernest M.J., Kim K.H. (1973) Regulation of rat liver glycogen synthetase. Reversible inactivation of glycogen synthetase D by sulfhydryl-disulfide exchange. *J Biol Chem* **248**,1550-1555.
67. Di Simplicio P., Cacace M.G., Lusini L., Giannerini F., Giustarini D., Rossi R. (1998) Role of protein -SH groups in redox homeostasis the erythrocyte as a model system. *Arch Biochem Biophys* **355**,145-152.
68. Thomas J.A., Poland B., Honzatko R. (1995) Protein sulfhydryls and their role in the antioxidant function of protein S-thiolation. *Arch Biochem Biophys* **319**, 1-9.

69. Köken T., Kahraman A., Serteser M. (2001) Hemodiyalizin protein karbonil içeriği ve sülfhidril grupları düzeyi üzerine etkileri. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* **2**, 83-85.
70. Tuma D.J. (2002) Role of malondialdehyde-acetaldehyde adducts in liver injury. *Free Radic Biol Med* **32**, 303-308.
71. Seufert J., Lubben G., Dietrich K., Bates P.C. (2004) A comparison of the effects of thiazolidinediones and metformin on metabolic control in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Ther* **26**, 805-818.
72. Goodarzi M.O., Bryer-Ash M. (2005) Metformin revisited: re-evaluation of its properties and role in the pharmacopoeia of modern antidiabetic agents. *Diabetes Obes Metab* **7**, 654-665.
73. Hermann L.S., Schersten B., Bitzen P.O., Kjellstrom T., Lindgarde F., Melander A. (1994) Therapeutic comparison of metformin and sulfonylurea, alone and in various combinations. A double-blind controlled study. *Diabetes Care* **17**, 1100-1109.
74. Campbell R.K., White J.R., Saulie B.A. (1996) Metformin: a new oral biguanide. *Clin Ther* **18**, 360-371.
75. Bauman W.A., Shaw S., Jayatilleke E., Spungen A.M., Herbert V. (2000) Increased intake of calcium reverses vitamin B12 malabsorption induced by metformin. *Diabetes Care* **23**, 1227-1231.
76. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group (1998) Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). *Lancet* **352**, 854-865.
77. Fukuzawa M., Satoh J., Qiang X. et al. (1999) Inhibition of tumor necrosis factor-alpha with anti-diabetic agents. *Diabetes Res Clin Pract* **43**, 147-154.
78. Wagstaff A.J., Goa K.L. (2002) Rosiglitazone: a review of its use in the management of type 2 diabetes mellitus. *Drugs* **62**, 1805-1837.
79. Fonseca V., Foyt H.L., Shen K., Whitcomb R. (2000) Long-term effects of troglitazone: open-label extension studies in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* **23**, 354-359.

80. Moore K.J., Rosen E.D., Fitzgerald M.L. et al. (2001) The role of PPAR-gamma in macrophage differentiation and cholesterol uptake. *Nat Med* **7**, 41-47.
81. Baldwin S.J., Clarke S.E., Chenery R.J. (1999) Characterization of the cytochrome P450 enzymes involved in the in vitro metabolism of rosiglitazone. *Br J Clin Pharmacol* **48**, 424-432.
82. Cox P.J., Ryan D.A., Hollis F.J. et al. (2000) Absorption, disposition, and metabolism of rosiglitazone, a potent thiazolidinedione insulin sensitizer, in humans. *Drug Metab Dispos* **28**, 772-780.
83. Stibler H. (1991) Carbohydrate-deficient transferrin in serum: a new marker of potentially harmful alcohol consumption reviewed. *Clin Chem* **37**, 2029-2037.
84. Stibler H., Borg S. (1986) Carbohydrate composition of serum transferrin in alcoholic patients. *Alcohol Clin Exp Res* **10**, 61-64.
85. Ghosh P., Okoh C., Liu Q.-H., Lakshman M.R. (1993) Effects of chronic ethanol on enzymes regulating sialylation and desialylation of transferrin in rats. *Alcohol Clin Exp Res.* **17**, 576-579.
86. Xin Y., Lasker J.M., Lieber C.S. (1995) Serum carbohydrate- deficient transferrin: mechanism of increase after chronic alcohol intake. *Hepatology* **22**, 1462-1468.
87. Bean P., De Bruin T., Harasymiv J. et al. (2002) New applications of contemporary biomarkers of alcohol consumption. *Am Clin Lab* **21**, 19-21.
88. Flahaut C., Michalski J.C., Danel T. et al. (2003) The effects of ethanol on the glycosylation of human transferrin. *Glycobiology* **13**, 191- 198.
89. Okhawa H., Ohishi N., Yagi K. (1979) Assay for Lipid Peroxidase in Animal Tissues By Thiobarbituric Acid Reaction. *Anal Biochem* **95**, 351-358.
90. Levine R.L., Garland D., Oliver C.N. (1990) Determination of Carbonyl Content in Oxidatively Modified Proteins. *Method Enzymol* **186**, 464-478.

91. Koster J.F., Biemond P., Swaak J.G. (1986) Intracellüler and Extracellüler Sulphydryl Levels in Romatoid Arthritis. *Annals of The Rheumatic Disease* **45**, 44-46.
92. Sowers J.R., Epstein M. (1995) Diabetes mellitus and associated hypertension, vascular disease, and nephropathy. *An update. Hypertension* **26**, 869-879.
93. Vincent A.M., Russell J.W., Low P., Feldman E.L. (2004) Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocrine Reviews* **25**, 612–628.
94. Memisogullari R., Taysi S., Bakan E., Capoglu I. (2003) Antioxidant Status and Lipid Peroxidation in Type II Diabetes Mellitus. *Cell Biochem Func.* **21**, 291-296.
95. Sacks D.B. (1999) Diabetes Mellitus. In: Burtis C.A., Ashwood E.R., (ed). *Tietz Textbook of clinical chemistry. Philadelphia: WB Saunders Co* 766-776.
96. Cherubini A., Ruggiero C., Polidori M.C., Mecocci C. (2005) Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radical Biology & Medicine* **39**, 841-852.
97. Memişoğulları R., Bakan E. (2004) Levels of ceruloplasmin, transferrin, and lipid peroxidation in the serum of patients with Type 2 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Its Complications* **18**, 193-197.
98. Engin A., Altan N. (2000) Effects of obstructive jaundice on the antioxidative capacity of human red blood cells. *Haematologia (Budap)* **30**, 91-96.
99. Nourooz-Zadeh J., Rahimi A., Tajaddini-Sarmadi J. (1997) Relationships between plasma measures of oxidative stress and metabolic control in NIDDM. *Diabetologia* **40**, 647-653.
100. Pennathur S., Heinecke J.W. (2004) Mechanisms of oxidative stress in diabetes: implications for the pathogenesis of vascular disease and antioxidant therapy. *Front Bioscience* **9**, 565-574.

101. Kesavulu M.M., Giri R., Kameswara Rao B., Apparao C. (2000) Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in type 2 diabetics with microvascular complications. *Diabetes Metab* **26**, 387-392.
102. Pitkanen O.M., Martin J.M., Hallman M., Akerblom H.K., Sariola H., Andersson S.M. (1992) Free radical activity during development of insulin-dependent diabetes mellitus in the rat. *Life Sci*. **50**, 335-339.
103. Van Dam P.S., Van Asbeck B.S., Erkelens D.W., Marx J.J., Gispen W.H., Bravenboer B. (1995) The role of oxidative stress in neuropathy and other diabetic complications. *Diabetes Metab Rev* **11**, 181-192.
104. Faure P., Corticelli P., Richard M.J. et al. (1993) Lipid peroxidation and trace element status in diabetic ketotic patients: influence of insulin therapy. *Clin Chem* **39**, 789-793.
105. Vantghem M.C., Balduyck M., Zerimech F. et al. (2000) Oxidative markers in diabetic ketoacidosis. *J Endocrinol Invest*. **23**, 732-736.
106. Seghrouchni I., Drai J., Bannier E. et al. (2002) Oxidative stress parameters in type I, type II and insulin-treated type 2 diabetes mellitus; insulin treatment efficiency. *Clin Chim Acta* **321**, 89-96.
107. Aydin A., Orhan H., Sayal A., Ozata M., Sahin G., Isimer A. (2001) Oxidative stress and nitric oxide related parameters in type II diabetes mellitus: effects of glycemic control. *Clin Biochem* **34**, 65-70.
108. Stadman E.R., Oliver C.N. (1991) Metal catalyzed oxidation of proteins: Physiological consequences. *J Biol Chem* **266**, 2005-2008.
109. Miyata T., Van Ypersele De Strihou C., Kurokawa K., et al. (1999) Alterations in non-enzymatic biochemistry in uremia: Origin and significance of 'carbonyl stress' in longterm uremic complications. *Kidney Int* **55**, 389-399.
110. Praticò D. (2005) Antioxidants and endothelium protection. *Atherosclerosis* **181**, 215-224.
111. Ostenson C.G. (2001) The pathophysiology of type 2 diabetes mellitus: an overview. *Acta Physiologica Scandinavica* **171**, 241-247.
112. Akçay F., Aksoy H., Memişoğulları R. (2002) Effect of breast-feeding on concentration of nitric oxide in breast milk. *Ann Clin Biochem* **39**, 68-69.

113. Abou-Seif M.A., Youssef A. (2004) Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients. *Clinica Chimica Acta* **346**,161-170.
114. Vane J.R., Anggard E., Botting R.M. (1990) Regulatory functions of the vascular endothelium. *N Engl J Med* **323**, 27-36.
115. Moncado S., Palmer R. M. J. and Higgs E. A. (1991) Nitric oxide. Physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* **43**, 109-142.
116. Catalano M., Carzaniga G., Perilli E. et al. (1977) Basal nitric oxide production is not reduced in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *Vasc Med.* **2**, 302-305.
117. Wierusz Wysocka B., Zozulinska D., Kempa M., Skowronski M., Murawska A. (1998) Evaluation of nitric oxide metabolites concentration in patients with type I diabetes. *Pol Arch Med Wewn* **100**, 139-44.
118. Allen J.P., Litten R.Z., Anton R.F. et al. (1994) Carbohydrate-deficient transferrin as a measure of immoderate drinking: remaining issues. *Alcohol Clin Exp Res.* **18**, 799-812.
119. Bean P. (1999) Carbohydrate-Deficient Transferin in the assessment of harmful alcohol consumption: diagnostic performance and clinical significance. *Addict Biol.* **4**, 151-161.
120. Montalto N.J., Bean P. (2003) Use of contemporary biomarkers in the detection of chronic alcohol use. *Med Sci Monit.* **9**, 285-290.
121. Lipinski B. (2001) Pathophysiology of oxidative stress in diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Its Complications* **15**, 203-210.
122. R. Plazma Homosistein Düzeyleri ile Tip 2 Diyabet, Komplikasyonları, Kontrolü ve Süresi Arasındaki İlişkinin Araştırılması (2003). *Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Erzurum.*
123. Zimmet P., Collier G. (1999) Clinical efficacy of metformin against insulin resistance parameters: sinking the iceberg. *Drugs* **58**, 21-28.
124. Contos M.J., Sanyal A.J. (2002) The clinicopathologic spectrum and management of nonalcoholic fatty liver disease. *Adv Anat Pathol.* **9**, 37-51.

125. Falck-Ytter Y., Younossi Z.M., Marchesini G., McCullough A.J. (2001) Clinical features and natural history of nonalcoholic steatosis syndromes. *Semin Liver Dis.* **21**, 17-26.
126. Matthews D.R., Hosker J.P., Rudenski A.S., Naylor B.A., Treacher D.F., Turner R.C. (1985) Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* **28**, 412-419.
127. Gokcel A., Baltali M., Tarim E. et al. (2003) Detection of insulin resistance in Turkish adults: a hospital-based study. *Diabetes Obes Metab.* **5**,126-130.