

**T.C.**  
**SELÇUK ÜNİVERSİTESİ**  
**MERAM TIP FAKÜLTESİ**  
**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**  
**Anabilim Dalı Başkanı**  
**Prof. Dr. İdris MEHMETOĞLU**

**TİP II DİYABETTE OKSİDATİF STRESİN 8-İSOPROSTAN VE KOENZİM Q**  
**DÜZEYLERİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. Hatice KARAOĞLAN**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Yard. Doç. Dr. Aysel KIYICI**

**KONYA**  
**2009**

## **İÇİNDEKİLER**

<b>1.GİRİŞ</b>	<b>6</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	<b>7</b>
<b>2.1. Diyabetes Mellitus</b>	<b>7</b>
2.1.1. Tanım	7
2.1.2. Epidemiyoloji	7
2.1.3. Tanı	8
2.1.4. Diyabetes Mellitusun Sınıflandırılması	9
2.1.4.1. Etiyolojik Sınıflama	9
2.1.5. Tip I Diyabetes Mellitus	12
2.1.6. Bozulmuş Glukoz Toleransı	13
2.1.7. Bozulmuş Açlık Glukozu	14
2.1.8. Gestasyonel Diyabetes Mellitus	14
2.1.9. Diğer Diyabetes Mellitus Tipleri	14
2.1.10. Tip II Diyabetes Mellitus	15
2.1.10.1. Tip II Diyabetes Mellitusun Etiyolojik Sınıflandırılması	15
2.1.10.2. Tip II Diyabetes Mellitusun Patogenezi	16
<b>2.4. Oksidatif stres</b>	<b>20</b>
2.4.1. Antioksidanlar	24
<b>2.3. 8-İsoprostan</b>	<b>26</b>
2.3.1. Tanım	26
2.3.2. Sentezi	26
2.3.3. Tarihçesi	28
2.3.4. Oksidatif stres ve 8-isoprostan	30
2.3.5. Diyabetes Mellitus ve 8-isoprostan	31
2.3.6. Diğer Klinik Durumlar ve 8-isoprostan	33
2.3.6.1. Obezite	33
2.3.6.2. Sigara İçimi	33
2.3.6.3. Hiperkolestorelemi	34
<b>2.4. Koenzim Q<sub>10</sub></b>	<b>35</b>
2.4.1. Koenzim Q <sub>10</sub> 'un Tarihçesi	36

2.4.2. Koenzim Q <sub>10</sub> 'un Yapısı ve Biyosentezi	36
2.4.3. Koenzim Q <sub>10</sub> 'nun Fonksiyonları	38
2.4.3.1. KoenzimQ <sub>10</sub> 'nun Antioksidan Fonksiyonu	39
2.4.3.2. KoenzimQ <sub>10</sub> 'nun Elektron Transport Zincirindeki Yeri ve Redoks formları	40
2.4.4. Diyabetes Mellitus ve Koenzim Q <sub>10</sub>	42
<b>3. MATERYAL VE METOD</b>	<b>44</b>
<b>3.1. MATERYAL</b>	<b>44</b>
3.1.1. Vakaların Oluşturulması, Gruplama ve Deneysel Uygulama İle İlgili Hususlar	44
3.1.2. Örneklerin toplanması ve saklanması	45
3.1.3. Fiziksel özelliklerin ölçümü	45
3.1.3.1. Arteriyel tansiyon ölçümü	45
3.1.3.2. Vücut kitle indeksi hesaplanması	45
3.1.3.3. Bel çevresi ve kalça çevresi ölçümü	45
3.1.4. Cihazlar ve teknik araç, gereçler	46
<b>3.2. METOD</b>	<b>46</b>
3.2.1. Plazma 8-isoprostan ölçümü	46
3.2.2. Koenzim Q Ölçümü	49
3.2.3. Diğer biyokimyasal ölçümler	51
3.2.4. İstatiksel analiz	52
<b>4. BULGULAR</b>	<b>53</b>
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ</b>	<b>56</b>
<b>6. ÖZET</b>	<b>62</b>
<b>7. SUMMARY</b>	<b>63</b>
<b>8. KAYNAKLAR</b>	<b>64</b>

## **KISALTMALAR**

ADA: Amerikan diyabet birliği

AGE: Glikozilasyon son ürünleri

ATP: Adenozin trifosfat

BMI: Vücut kitle indeksi

CGRP: Calsitonin gen related peptid

CoQ H<sub>2</sub>: Ubikinol

CoQ<sub>10</sub>: Koenzim Q<sub>10</sub>

COX: Siklooksijenaz

CRP: C-Reaktif Protein

CV: Varyasyon katsayısı

DM: Diyabetes mellitus

ETZ: Elektron transport zinciri

FAD: Flavin adenin dinükleotit

Fp: Flavoprotein

GAD: Glutamik asit dekarboksilaz

GC-MS: Gaz kromatografisi-Kütle spektroskopisi

GIP: Gastrik inhibitör polipeptit

GLP: Glukagon like peptid

HbA<sub>1c</sub>: Hemoglobin A<sub>1c</sub>

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Hidrojen peroksit

HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein

HLA: İnsan lokosit antijeni

HNF: Hepatosit Nükleer Faktör

HOMA- IR: Homeostaz model değerlendirmesi – insulin rezistansı

HPLC: Yüksek performanslı sıvı kromatografi

ICA: Adacık hücresi antikorları

IDDM: İnsüline bağımlı diyabet

IL: İnterlökin

IS: İnternal standart

8-isoP: 8-isoprostan

KoA: Koenzim A  
LADA: Yavaş seyirli Tip I Diyabetes Mellitus  
LDL: Düşük dansiteli lipoprotein  
LOO: Lipid peroksil radikalleri  
MODY: Gençlerde görülen erişkin tip diyabet  
mRNA: Mesajcı ribonükleik asit  
NAD: Nikotinamid adenin dinükleotit  
NADP: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat  
NIDDM: İnsüline bağımlı olmayan diyabet  
OGTT: Oral glukoz tolerans testi  
PG: Prostoglandin  
PTP: Permeability transition pores  
RIA: Radioimmunassay  
ROT: Reaktif oksijen türleri  
TG: Trigliserit  
TK: Total kolesterol  
TNF: Tümör nekrosis faktör  
TÜRDEP: Türkiye diyabet epidemiyoloji çalışması  
TX: Tromboksan  
UCP: Uncoupling protein  
VLDL: Çok düşük dansiteli lipoprotein  
WHO: Dünya sağlık örgütü

## 1-GİRİŞ

Diyabetes Mellitus, mortalite ve morbiditelerinin sıklığı ve komplikasyonlarına bağlı ciddi ekonomik ve toplumsal etkileri olan önemli bir hastalıktır. Dünyada her yıl binlerce kişi diyabet komplikasyonlarından ölmektedir. Türkiye Diyabet Epidemiyolojisi Çalışması sonuçlarına göre toplumumuzdaki 20 yaş üstü grupta tip II diyabet sıklığı %7,2' dir. Kan glukoz düzeyinin yüksek seyretmesine bağlı olarak diyabetik vasküler komplikasyonların geliştiği ve lipid peroksidasyonunun meydana geldiği çok sayıda çalışmada rapor edilmiştir. Oksidatif stres, membranlardaki lipidler ve LDL-kolesterolün peroksidasyonu ile diyabetik komplikasyonların gelişmesinde oldukça önemlidir. Bu peroksitler, beta hücre işlevini bozabilir ve apoptoza sebep olur. Özellikle de antioksidan savunma sistemleri daha zayıf olan diyabetiklerde artan reaktif oksijen metabolitleri üretimi glikasyon ve glikooksidasyon ürünlerinin artmasına yol açmaktadır.

8-isoprostanlar, araşidonik asitten sentezlenen endojen metabolitlerdir ve oksidatif stresin daha yeni ve daha güvenilir belirteçleri olarak kullanılmaktadır. Hiperglisemi, vazokonstriksiyon ve diyabetik nefropati ile de ilişkili oldukları düşünülmektedir. Dolayısıyla isoprostanların idrar veya plazmada ölçümleri ile canlılardaki lipid peroksidasyonu daha hassas ve güvenilir olarak değerlendirilebilir.

Lipofilik güçlü bir antioksidan olan Koenzim Q<sub>10</sub> özellikle son yıllarda oksidatif stresle ilgili çalışmalarda üzerinde çalışılan bir bileşiktir. Oksidatif stres ile plazma koenzim Q<sub>10</sub> konsantrasyonu ve bileşenlerindeki gözlenebilir değişikliklerin diyabetteki vasküler hastalıkların oluşumunda önemli rol oynadığı düşünülmektedir.

Çalışmamızda, yeni tanı almış tip II diyabet hastalarında ve sağlıklı bireylerde plazma 8-isoprostan ve koenzim Q düzeylerini ve diyabetik hastalara verilen 3 aylık hipoglisemik tedavinin bu düzeylere etkisini araştırmayı amaçladık.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. DİYABETES MELLİTUS**

#### **2.1.1. Tanım**

Diyabetes Mellitus (DM), insülin sekresyonu, insülinin etkisi veya her ikisindeki bozukluklardan kaynaklanan, özellikle hiperglisemi ile karakterize, karbonhidrat, lipid ve protein metabolizması bozuklukları ve hızlanmış aterosklerozla birlikte mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlarla seyreden kronik, metabolik bir hastalıktır (1).

DM klinik olarak polidipsi, poliüri, polifaji ve kilo kaybı gibi klinik belirtiler ile ortaya çıkar. Kimi zaman da retinopati, nöropati, nefropati gibi komplikasyonları ile karşımıza gelir. Ayrıca emosyonel ve sosyal açıdan hastada belirgin psikososyal sorunlara yol açar (1, 2).

#### **2.1.2. Epidemiyoloji**

DM'un tanınması, tedavi programlarının belirlenmesi, erken dönemde tanı konulabilmesi ve bu konuda toplumsal sağlık politikalarının oluşturulabilmesi için hastalığın epidemiyolojik özelliklerinin bilinmesi şarttır (1).

Diyabet sinsi seyirli bir hastalık olduğundan prevalansının saptanması da güçlük yaratmaktadır. Hemen hemen tüm toplumlarda görülmesine karşın diyabet prevalansı ırka bağlı olarak anlamlı farklılıklar göstermektedir. Hastalık ilk yıllarda genellikle asemptomatik seyrettiğinden, gelişmiş ülkelerde bile diyabetiklerin bilinmeyen diyabetlilere oranı 2/1'dir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO, World Health Organization)'nün yaptığı çalışmalara göre 100 milyon civarındaki diyabetli sayısının önümüzdeki on yılın sonunda 200 milyona ve 21. yüzyılın başlarında da 300 milyona ulaşması beklenmektedir (3, 4).

Amerika'da 20-74 yaş grubunda toplumda diyabet prevalansı %6,6 bulunmuş ve bilinmeyen diyabet olgularının oranının %50 civarında olduğu bildirilmiştir (5). Ülkemizde ise 1997-1998 yıllarında yapılan Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışması (TÜRDEP)'na göre 20-80 yaş grubunda diyabet sıklığı %7,2, bozulmuş glukoz toleransı ise %6,7 bulunmuştur (6).

Tip II DM genel olarak orta yaş grubunun ve yaşlıların hastalığıdır. Ancak, son yıllarda genç erişkin ve adolesan yaş gruplarında da sıklığı artmaktadır (7, 8).

### 2.1.3. Tanı

Amerikan Diyabet Birliği (ADA)'ne göre diyabet tanısı, açlık kan şekerinin venöz plazmada ardışık en az iki ölçümde 126 mg/dl veya üzerinde olması ile konur. Ayrıca günün herhangi bir saatinde açlık ve tokluk durumuna bakılmaksızın venöz plazmada ölçülen kan şekerinin 200 mg/dl'nin üzerinde olması ve buna polidipsi, poliüri, polifaji, kilo kaybı gibi diyabet semptomlarının eşlik etmesi de tanı koymak için yeterlidir (9) (Tablo 1).

#### **Tablo 1. DM'un tanı kriterleri (9)**

1. Diyabete özgü semptomlara ek olarak günün herhangi bir saatinde ölçülen plazma glukoz değerinin  $\geq 200$ mg/dl olması

Diyabete özgü semptomlar: poliüri, polidipsi, açıklanamayan kilo kaybı

2. Açlık plazma glukoz değerinin  $\geq 126$ mg/dl olması: En az 8 saatlik tam açlık sonrası

3. Oral glukoz tolerans testi sırasında 2. saat plazma glukoz düzeyinin  $\geq 200$ mg/dl olması

Açlık plazma glukoz düzeyi 110-126 mg/dl arasında olan hastalarda "Bozulmuş Açlık Glisemisi" söz konusu olup, bu hastalarda Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT) yapılarak diyabet tanısı konulur. Testin 2. saatinde kan şekerinin 200 mg/dl ve üzerinde olması diyabet tanısı koydurur (9) (Tablo 2).

#### **Tablo 2. Glukoz Toleransının Sınıflaması (ADA 1997)**

Açlık plazma glukozu

Normal  $< 110$  mg/dl

Bozulmuş açlık glukozu  $\geq 110$  mg/dl ve  $< 126$  mg/dl

Diyabet  $\geq 126$  mg/dl

OGTT sırasında 2. saat plazma glukozu

Normal  $< 140$  mg/dl

Bozulmuş glukoz toleransı  $\geq 140$  ve  $< 200$  mg/dl

Diyabet  $\geq 200$  mg/dl



#### **2.1.4. Diyabetes Mellitusun Sınıflandırılması**

WHO, 1985 yılında diyabet hastalığını insüline bağımlı diyabetes mellitus (IDDM) ve insüline bağımlı olmayan diyabet (NIDDM) olarak ayırmış ve klinik bir sınıflama yapmıştır. Ancak bu sınıflamanın sınırlayıcı yönleri söz konusuydu. Çünkü diyabet heterojen bir hastalıktır; iki sınıf arasında ve kendi içlerinde etiyolojik ve fenotipik farklılıklar söz konusudur. 1998 yılında ADA etiyolojik bir sınıflama yaparak Tip I ve Tip II diyabet sınıflamasını önermiştir (10).

##### **2.1.4.1. Etiyolojik Sınıflama**

DM'un etiyolojik sınıflaması ( ADA 1997)

**I-Tip I Diyabet:** ( Beta hücre yıkımı, çoğunlukla mutlak insülin eksikliği)

**A:** immünolojik

**B:** idiyopatik

**II-Tip II Diyabet:** insülin direnci veya insülin salgı bozukluğu neden olabilir.

**III- Diğer Spesifik Tipler**

**A:** Beta hücre fonksiyonunda genetik defekt

1- Kromozom 12, HNF-1 alfa (Hepatosit nükleer Faktör) (MODY 3:Gençlerde görülen erişkin tipi diyabet)

2- Kromozom 7, glikokinaz, ( MODY 2 )

3- Kromozom 20, HNF-4 alfa ( MODY 1 )

4- Mitokondriyal DNA

5- Diğerleri

**B:** İnsülin etkisinde genetik defekt

1- Tip A insülin rezistansı

2- Leprechaunizm

3- Rabson-Mendelhall sendromu

4- Lipoatrofik diyabet

5- Diğerleri

**C:** Ekzokrin pankreas hastalıkları

1- Pankreatit

2- Travma / pankreatektomi

- 3- Neoplazm
- 4- Kistik fibrozis
- 5- Hemakromatozis
- 6- Fibrokalküloz pankreas
- 7- Diğerleri

**D:** Endokrinopati

- 1- Akromegali
- 2- Cushing sendromu
- 3- Glukagonoma
- 4- Feokromasitoma
- 5- Hipertiroidizm
- 6- Somatostatinoma
- 7- Aldosteronoma
- 8- Diğerleri

**E:** Enfeksiyonlar

- 1- Konjenital rubella
- 2- Sitomegalovirus
- 3- Diğerleri

**F:** İmmün diyabetin bilinmeyen formları

- 1- “Stiff-man” sendromu
- 2- Anti- insülin antikoru
- 3- Diğerleri

**G:** İlaç ya da kimyasallara bağlı

- 1- Pentamidin
- 2- Nikotinic asit
- 3- Glikokortikoidler
- 4- Tiroid hormonu
- 5- Diazoksit
- 6- Beta adrenerjik agonistler
- 7- Tiazidler
- 8- Dilantin

9- Alfa- interferon

10- Diğerleri

**H:** Diyabetle bazen birlikteliği olan genetik sendromlar

1- Down sendromu

2- Klinefelter sendromu

3- Turner sendromu

4- Wolfram sendromu

5- Friedreich ataksisi

6- Huntington koreası

7- Laurence-Moon-Biedl sendromu

8- Miyotonik distrofi

9- Porfiria

10- Prader-Willi sendromu

11- Diğerleri

**I:** Gestasyonel diyabet (1, 2).

### **2.1.5. Tip I Diyabetes Mellitus**

Tip I DM'un ortaya çıkmasında genetik eğilim ve bazı çevresel faktörler rol oynamaktadır. Tip I DM gelişimi esnasında çeşitli dönemler izlenmektedir:

#### **1. Genetik Eğilim**

İlk dönemi oluşturmaktadır. İmmün sistem fonksiyonlarının düzenlenmesinde, membran antijenlerinden oluşan "insan lökosit antijenleri" (HLA) önemli rol oynamaktadır. İnsan lökosit antijenlerinden A, B ve C sınıf I; D (DW, DR; DQ; DO; DN ve DP) grubu ise sınıf II moleküller olarak adlandırılmaktadır. Sınıf I moleküller tüm çekirdekli hücrelerde bulunur ve vücudu enfeksiyon ve malign hücrelere karşı savunma görevini üstlenir. Sınıf II moleküller ise makrofajlar, endotel hücreleri, B lenfositler ve aktive T lenfositlerinde bulunmaktadır. Görevleri antijeni T hücre sistemine sunmaktır. Sınıf III moleküller kompleman, properdin, 21-hidroksilaz enzimi, "heat-shock" proteini ve tümör nekroz faktörü (TNF) genlerini içermektedir.

Çeşitli HLA grupları DM gelişimine eğilim yaratmaktadır. Önce sınıf I moleküller içinde B8 ve B15 sorumlu tutulmuş, sonraları sınıf II moleküller daha çok önem kazanmıştır. Tip I DM hastalarının hemen hemen tümüne yakın bir kısmında DR3 ve/veya DR4 pozitif bulunmaktadır. DR2 ise koruyucu bir özellik göstermektedir. Tip I DM gelişiminden asıl sorumlu genlerin DW veya DR değil, onlara yakın yerleşen DQ ve diğer moleküller olduğu ileri sürülmektedir. Bunlar arasında HLA-DQA1\*0301, DQB1\*0302 veya DQA1\*0501, DQB1\*0201 haplotipleri sayılabilir. Buna karşılık DQA1\*0102, DQB1\*0602 haplotipi ise koruyucu özellik göstermektedir. HLA-DQ alfa zincirinde 57. pozisyonda aspartik asit olmaması ve beta zincirinde 52. pozisyonunda arginin varlığı diyabete eğilim yaratmaktadır. Bu moleküller diyabetojenik peptidleri bağlayarak kolayca hücre yüzeyine sunarlar. Koruyucu moleküller ise diyabetojenik peptidleri bağlayarak sorumlu moleküllerin etkisinden kaçırırlar (11).

## **2. Çevresel Faktörler**

İkinci dönemi genetik eğilimli kişilerde çevresel olayların tetiği çekmesidir. Monozigot ikizler arasında Tip I DM konkordans (ikizlerden biri tip I diyabetes olunca diğerinin olma olasılığı) oranı % 50 civarındadır. Bu nedenle bazı çevresel faktörlerin olaya karıştığı düşünülmektedir. Virüs enfeksiyonları arasında kabakulak, hepatit, infeksiyöz mononükleoz, konjenital rubella ve koksaki enfeksiyonları sayılabilir. Koksaki virüs proteinleri ile glutamik asit dekarboksilaz enzimi arasında belirgin bir benzerlik mevcuttur. Ayrıca virüslerden salınan sitokinler, normalde HLA-DR molekülleri içermeyen pankreas beta hücrelerinin HLA ekspresyonuna neden olarak, onları antijen sunan hücreler haline çevirir. Bunlardan başka, bir insektisid olan Vacor'un alınması, bebeklik çağında inek sütü içilmesi, hidrojen siyanür içeren "tapioka" veya "cassava" yenmesi veya hamile annelerin füme et ürünleri kullanması gibi çevresel faktörler de patogeneze sorumlu tutulmaktadır (11).

## **3. Otoimmünite**

Üçüncü dönemi immün mekanizmaların uyarılması ile gelişen pankreas hasarı oluşturmaktadır. Genetik eğilim ve çevresel faktörler hücre yüzeylerindeki self antijenlerin non-self haline geçmesine neden olur. Pankreas beta hücreleri monosit-makrofaj ve aktivite sitotoksik T lenfositler ile infiltre olur (insülitis veya isleitis). Beta hücreleri üzerine adacık hücresi antikoru (ICA) ve hücreye bağımlı immünite aracılığı ile bir immün atak gelişir. Bu dönem "prediyabetes" olarak da adlandırılır. Adacık hücrelerine karşı gelişen antikollar

arasında insülin, proinsülin, glutamik asit dekarboksilaz65 (GAD) ve GAD67, karboksipeptidaz H, gangliozid antijenleri olan GT3 ve GM2-1, inek albümini ile reaksiyona giren ICA-69 ve bir protein fosfataz olan ICA-512 antikorları sayılabilir (1,11).

#### **4. Adacık Hücre Harabiyeti**

Dördüncü dönemde adacık beta hücrelerinin % 90'ından fazlasının harap olmasıyla klinik DM ortaya çıkar. Harabiyet, hızlı bir şekilde gelişirse hastalar diyabetik ketoasidoz ile başvururlar. Aksine çok yavaş bir şekilde gelişir ise, hastalar Tip II DM benzeri bir seyir gösterirler (Yavaş seyirli tip 1 DM: LADA) (11).

#### **2.1.6. Bozulmuş Glukoz Toleransı**

Bozulmuş glukoz toleransı tanısı açlık plazma glukozunun 125 mg/dl'nin altında bulunan hastalarda OGTT ile konulmaktadır. Açlık plazma glukozu 126 mg/dl'nin altında bulunan hastalarda OGTT 2. saat değerinin 140 mg/dl'den büyük fakat 200 mg/dl'den düşük olması bozulmuş glukoz toleransı olarak tanımlanmaktadır. Böyle hastaların yaklaşık %30'unda 10 yıl içinde aşikar DM gelişme riski mevcuttur. DM'un makrovasküler komplikasyonlar yani aterosklerotik kardiyovasküler hastalık gelişme riski yüksektir ve insülin direnci sendromunun bir komponenti olarak da ortaya çıkma olasılığı mevcuttur (1, 11, 12).

#### **2.1.7. Bozulmuş Açlık Glukozu**

Bozulmuş açlık glukozu, Amerikan Diyabet Cemiyeti (ADA-1997) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO-1999) kriterlerine göre, açlık kan şekeri değerinin 110 ile 126 mg/dl arasında olmasıdır. 2003 yılında, ADA normal açlık glukozunun üst sınırını 100 mg/dl'ye düşürmüştür. WHO'nun bozulmuş açlık glukozu kriterinde OGTT sonrası 2. saat glukoz değerinin 140 mg/dl'nin altında olması belirtilmişse de; ADA kriterinde, tanıda 2. saat için herhangi bir değer belirtilmemiştir. Bu hastalarda insülin salınımının ilk fazı bozulmuş olabilir ve diyabetin mikro ve makrovasküler komplikasyonlarının gelişme riski yüksektir (11).

#### **2.1.8. Gestasyonel DM**

İlk kez gebelik esnasında ortaya çıkar. Çoğunlukla üçüncü trimesterde gelişmektedir. Çoğunun ailesinde Tip II DM anamnezi bulunur. Hastaların kesin tanısı için doğumdan 6 hafta

sonra açlık plazma glukoz düzeyleri tayin edilmelidir. Böyle hastalarda Tip II DM gelişme riski yüksektir.

Gebeliğin 26-28 'inci haftalarında 50 g glukozun oral yolla verilmesini takiben 1 saat sonraki glukoz değeri incelenir. Bu değer 130 mg/dl veya üzerinde ise 100 g glukoz ile 3 saatlik OGTT yapılmalıdır. İki ve daha fazla glukoz değerinin aşağıdaki değerlere eşit veya daha yüksek bulunması ile gestasyonel DM tanısı konulur:

Açlık kan glukozu: 95 mg/dl, 1. saat 180 mg/dl, 2. saat 155 mg/dl ve 3. saat 140 mg/dl (1, 11, 12).

### **2.1. 9. Diğer DM Tipleri**

Bu grup içine Tip I ve Tip II DM ile ilişkisi olmayan ve etyolojileri bilinen diyabet tipleri girmektedir. Pankreas hastalıkları (kronik pankreatit, hemakromatoz), hormon bozuklukları (feokromositoma, akromegali, hiperaldosteronizm, cushing sendromu), ilaçlar (kortikosteroid, tiazid), insülin reseptör anomalileri (Kahn tip A, B, C tipi reseptör anomalileri), genetik sendromlar (Leprechaunism, Wermer sendromu, Alström sendromu) ve tropikal diyabet gibi.

Tropikal DM başlığı altında, gelişmekte olan ülkelere has gibi gözükten malnütrisyon ve pankreas kalsifikasyonu ve/veya fibrozuna bağlı Jamaika (J tipi) diyabeti, Madras'ın tropikal pankreatik diyabeti, pankreas kalsifikasyon diyabeti (Zuidema sendromu) ve Kenya (K tipi) diyabeti gibi sendromlar toplanmaktadır. Malnütrisyonu bağlı DM terimi ADA tarafından kabul görülmemektedir (11).

### **2.1.10. Tip II Diyabetes Mellitus (NIDDM)**

Tip II diyabet gerek yaygınlığı gerekse neden olduğu akut ve kronik komplikasyonlardan dolayı günümüzde hala en önemli mortalite ve morbidite nedenlerinden biridir. Tip II diyabetliler, tüm diyabetiklerin ortalama %85'ini oluşturmaktadır (13). Uzun sürebilen asemptomatik bir dönem çoğunlukla mevcuttur. Yakınmalar genellikle 45 yaş civarında başlar. İlk tanı konulduğunda kronik komplikasyonlar çoğu zaman vardır (1, 2).

Diyabetik hiperglisemi patogenezinde 3 önemli faktör rol oynar:

- Beta hücre insülin salgısının bozulması
- İnsülin direnci
- Karaciğerde glukoz üretiminin artması

### **2.1.10.1. Tip II DM'un Etiyolojik Sınıflandırması**

#### **A- İnsülinin Etkisine Göre**

- 1- Glukoz klirensinde intrasellüler defektler
- 2- İnsülin reseptör fonksiyonunda bozukluklar
  - a) İnsülin reseptör antikorları
  - b) İnsülin reseptör mutasyonu (kromozom 19 p)
- 3- İnsülin yapısında bozukluk
  - a) İnsülin gen mutasyonu (kromozom 11 p)
  - b) Proinsülinin insüline dönüşümünde bozukluk
- 4- İatrojenik
  - a) Glikokortikoidler
  - b) Büyüme hormonu
  - c) Nikotinik asit
  - d) Diğerleri

#### **B- İnsülin Sekresyonuna Göre**

- 1- Sinyal defekti: Glikokinaz mutasyonu (kromozom 7p)
- 2- Beta hücre kitlesinin yıkımı
  - a) Otoimmün beta hücre yıkımı
  - b) Pankreatit
  - c) Diğer sebepler

#### **C- Bilinmeyen Patogenez**

- 1- Malnütrisyon
- 2- Kistik fibrozis
- 3- Talasemi
- 4- Hemakromatozis

**D- Sınıflandırılmayanlar:** İnsülin sekresyon ve etkisinde bilinmeyen nedenlerle azalma olması (1, 2).

### **2.1.10.2. Tip II Diyabetes Mellitus Patogenezi**

Tip II diyabet patogenezinde beta hücre fonksiyon bozukluğu, insülin direnci ve hepatik glukoz üretimi artışı gibi üç ana metabolik bozukluk rol oynar (1, 2). Primer defekt olarak insülin direnci ve /veya insülin eksikliği ön plandadır (1).

Tip II diyabette primer patolojinin beta hücre fonksiyon bozukluğu veya insülin direnci olmasında yaş, etnik farklılıklar, obezite ve diyabetin heterojenitesinin kısmen de olsa belirleyici olduğu ileri sürülmektedir. Hem insülin direnci hem de bozulmuş insülin sekresyonu Tip II diyabetin patogenezinde genetik olarak kontrol edilen faktörler olup bunlardan hangisinin primer ağırlıkta rol oynadığı henüz açık değildir. Aile öyküsü hemen hepsinde olmasına karşın hastalık henüz tek bir genetik zemine oturtulamamıştır (14).

### **Beta Hücre Fonksiyon Bozukluğu**

Açlık glukoz düzeyi 80 mg/dl'den 140 mg/dl'ye yükseldiğinde insülin düzeyi 2-2,5 kat artar. Açlık glukoz düzeyi 140 mg/dl'yi geçtiğinde ise beta hücresi daha fazla insülin salgılayamaz. Sonuçta açlık hiperglisemisi arttıkça insülin salgısı da kademeli olarak azalmaya başlar. İnsülin salgısındaki bu azalmaya karşılık hepatik glukoz üretimi artmaya başlar ve açlık glisemisinin yükselmesine katkıda bulunur. 250-300 mg/dl arasındaki açlık glisemi düzeyinde ise insülin salgısı ciddi olarak azalır (1).

### **İnsülin Salgılanmasında Bozukluğa Yol Açan Etiyolojik Faktörler**

#### **1. İnsülin Salgısında Kantitatif Bozukluklar**

Preklinik dönemde var olan insülin direnci, normale göre daha fazla insülin salgılanarak aşılmaya çalışılır; normal glukoz toleransı ancak bu şekilde sürdürülebilir (1).

#### **2. İnsülin Salgısında Kalitatif Bozukluklar**

##### **a) Birinci Faz İnsülin Salgısında Bozulma**

İntravenöz glukoz verilmesini izleyen ilk 10 dakikada insülin salgısında hızlı artış olur ve 2-4 dakika arasında bu artış pik yapar. 6. dakikadan itibaren hızını kaybeder. Birinci fazda insülin salgısının kaybolması ile glukagonun hepatik glikoneogenezi arttırıcı etkisi belirginleşir (1).

##### **b) Pulsatil İnsülin Salgılanmasında Bozukluk**

Normalde her 5-15 dakikada bir periyodik olarak salgılanan insülin hedef dokularda insülin reseptörlerinin down regülasyonunu önleyerek insülin sensitivitesinin normal sınırlarda kalmasını sağlar. Pulsatil olmayan sürekli insülin salgılanması ise reseptörlerde down regülasyona yol açarak insülin direncine sebep olur. Tip II diyabetli ve obez hastalarda bu defektler kilo verilmesi ve metabolik kontrol ile büyük oranda düzelmekle beraber tamamen normalleşmez (1).



### **3. Proinsülin Salgılanmasında Anomaliler**

Proinsülin insülinin ancak %5'i kadar biyolojik aktiviteye sahip olup insülin immünoreaktivitesinin normal bireylerde %2-4'ünü, Tip II diyabette ise %8-10'unu oluşturur. Proinsülinin %70'ini 32-33 split (kırılmış) proinsülin oluşturur. Proinsülin ve kırılmış proinsülinlerin klirensi yavaş olduğundan ve de ölçümde kullanılan RIA (RadioİmmunAssay) yöntemleri insülinin yanında proinsülini de (sağlam ve kırılmış) ölçtüğünden insülin düzeyleri olduğundan yüksek ölçülür. İnsülin direnci ve kronik hiperglisemi, beta hücrelerinin sürekli uyarılması ile proinsülin sentezini artırarak 32-33 kırılmış proinsülin/insülin oranının artmasına neden olur. Tip II DM'ta açlık total immünoreaktif insülin artışı ortaya çıkar; bu da normal insülin düzeyleri üzerine eklenmiş olan artmış proinsülin düzeyi sonucu olarak hiperinsülinemi gösterir. Ancak bu hiperinsülinemi gerçek olmayıp, artmış proinsülin/insülin göz önüne alındığı da aslında insülojeni söz konusudur (1). Yakın zamanda yapılmış bir çalışmada açlık parçalanmamış proinsülin düzeyinin ilerlemiş beta hücre disfonksiyonunun ve insülin direncinin oldukça spesifik bir belirteci olduğu bildirilmiştir (15).

### **4. Düşük Doğum Ağırlığı (Thrifty-İdareli Fenotip Hipotezi)**

Sadece beta hücre yetmezliği olan bireylerin Tip II diyabete yakalanacağını öne süren bir hipotez olmakla birlikte son yıllarda yapılan çalışmalar düşük doğum ağırlığı ile erişkin yaşta ortaya çıkan bozulmuş glukoz toleransı ve Tip II diyabet arasında da böyle bir bağlantının olabileceğini göstermektedir. İn-utero malnütrisyon sonucunda nütrisyonu idareli kullanmak için karaciğer ve pankreas gibi daha az hayati organların daha az beslenmesine yol açar (1).

### **5. Glukoz Toksisitesi**

Hipergliseminin beta hücreleri üzerine olan olumsuz etkisine glukoz toksisitesi adı verilmektedir. Hiperglisemi hem beta hücresi üzerine etki ederek insülin salgılanmasını baskılar hem de periferik dokularda insülin kullanılmasını azaltır. Ayrıca yüksek glukoz sürekli maruz kalan beta hücresinde insülin gen transkripsiyonunun bozulduğu; bunun da insülin sentezini ve sekresyonunu azalttığı gösterilmiştir (1).

### **6. Amilin (Adacık Amiloid Polipeptid, IAPP)**

Beta hücrelerindeki insülin salgı granüllerinde insülin ile birlikte üretilip beraberce salgılanan bir hormondur. Normalde akut hiperglisemi sırasında veya diğer uyarılara karşı insülin ile birlikte salgılanır. Kanda insülinin çok düşük seviyede bulunmaktadır (insülinin 1:10-50 oranında). Obez, glukoz intoleransı olan bireylerde, Tip II diyabetli bireylerin glukoz

intoleransı bulunan birinci derece yakınlarında yüksek bulunmuştur. Amilinin hücre dışında beta hücresine bitişik olarak birikmeye başlayarak besin maddelerinin plazmadan beta hücresine girişini engellediği ve sonuçta beta hücresinin ölümüne yol açtığı ileri sürülmektedir (1).

### **7. Calcitonin Gene Related Peptid (CGRP)**

Amilin ile moleküler olarak %46 oranında benzemektedir. Ancak hayvan deneylerinde intravenöz olarak verildiğinde insülin salgılanması üzerine herhangi bir etkisi görülmemiştir(1).

### **8. İnkretinler (GLP-1, GIP, Galanin)**

Oral glukoz verildiğinde insülin sekresyonunun artmasına neden olan faktörlerdir. Glukagon like peptide 1 (GLP-1) ince barsakta sentezlenen potent insülin salgılatıcısıdır. Besin maddeleri ile uyarılarak beta hücresi üzerinde spesifik reseptörüne bağlanır ve insülin salgılanmasına yol açar. Tip II DM'da GLP-1'e karşı beta hücre rezistansı bulunmuştur. Güçlü bir insülin salgılatıcısı olan gastrik inhibitör polipeptid (GIP) farmakolojik dozda verildiğinde post prandiyal insülin salgılanması üzerine herhangi bir etkisi görülmemiştir. Nöral uyaranlara bağlı olarak pankreastaki sempatik sinir uçlarından salgılanan galaninin; yapılan hayvan deneylerinde bazal ve öğün sonrası insülin salgısını inhibe ettiği gösterilmiştir. İnsan galaninin ise insülin salgısı üzerine bir etkisi gözlenmemiştir (1).

### **9. Lipotoksisite**

Bozulmuş glukoz toleransından Tip II diyabete geçişte beta hücre fonksiyonlarında azalmayı açıklamak için glikotoksisite gibi lipotoksisite kavramı üzerinde de durulmaktadır. Yüksek düzeyde serbest yağ asitlerine maruz kalma sonucunda beta hücresinde trigliserid birikerek apoptoza yol açmaktadır. Yağ asitleri aynı zamanda proinsülinin insüline çevrilmesinde rol alan enzimlerin posttranslasyonel işlemini de azaltmaktadır (1).

### **10. İnsülin Salgılanması Bozukluğunda Genetik Nedenler**

Glukozun beta hücresi tarafından tanınmasında, insülin sentezi ve salgılanmasında rol oynayan spesifik proteinlerdeki mutasyonlar beta hücre disfonksiyonundan sorumlu tutulmaktadır: Glikokinaz geninde çeşitli defektlerin görüldüğü MODY tipi diyabette olduğu gibi. Bu mutasyonlar oldukça nadir olup Tip II diyabetlilerin %1-2'sini oluşturmaktadır (1).

## **11. Hepatik Glukoz Üretiminde Artış**

DM patogeneğinde üçüncü ana metabolik bozukluktur. Karaciğerde glukoz yapımı glikojenoliz veya glikoneogenez yoluylaadır. Hepatik glikoneogenezdeki artışın nedeni henüz kesin olarak bilinmemekle birlikte hiperglukagonemi ve laktat, alanin ve gliserol gibi glikoneojenik prekürsörlerin artışı söz konusudur. Sonuçta açlık hiperglisemisine neden olur. Hatta açlık hiperglisemisinin tamamının karaciğer glukoz yapımındaki artışa bağlı olduğu kabul edilmektedir. Hepatik glikoneogenez artışının diyabetiklerde primer defekt olduğunu gösteren pek az bulgu vardır. Bu faktörün sekonder olay olduğu ancak glukoz toksisitesini daha da artırdığı düşünülmektedir (1).

## **12. İnsülin Direnci**

İnsülin direnci, belli bir konsantrasyondaki insüline subnormal bir biyolojik yanıt alınması veya glukoz homeostazında insülinin beklenen etkisinin bozulması ve insüline verilen yanıtta eksiklik olarak tanımlanabilir (16).

Metabolik açıdan insülin direnci, insülinin hücre düzeyindeki metabolik olaylara etkisinin azalması veya insüline karşı hücre düzeyinde normaldeki duyarlılığın azalması olarak tarif edilebilir. Klinik açıdan ise kişinin günlük metabolik işlevlerini fizyolojik olarak sürdürebilmesi için pankreastan salgılamak zorunda olduğu insülin miktarını aşan düzeyde insülin üretmek ya da kullanmak zorunda kalmasıdır (17). Normalde insülin karaciğerde glikoneogenez ve glikojenolizi inhibe ederek hepatik glukoz üretimini baskılar. Ayrıca glukozu kas ve yağ dokusu gibi periferik dokulara taşıyarak burada ya glikojen depolanmasını ya da enerji üretmek üzere okside olmasını sağlar. İnsülin direncinde insülinin karaciğer, kas ve yağ dokusundaki bu etkilerine karşın direnç oluşarak hepatik glukoz supresyonu bozulur. Kas ve yağ dokusunda da insülin aracılığı ile olan glukoz kullanımı azalır(1).

## **2.2.OKSİDATİF STRES**

Serbest radikaller dış orbitallerinde bir veya daha fazla paylaşılmamış elektron taşıyan atom veya moleküllerdir. Elektronlar, orbitalde çiftler halinde bulduklarında o bileşik daha kararlı ve sabit bir yapıya sahip olur. Eksik elektronlu moleküller kolaylıkla elektron alıp vererek, herhangi bir molekül ile reaksiyona girebilir. Serbest radikallerin önemli bir özelliği radikal olmayan bileşiklerle yeni radikaller oluşturmak üzere reaksiyonlara girebilmeleridir. Yarı ömürlerinin çok kısa olmasına rağmen serbest radikaller genel olarak çok reaktiftirler.

Başka moleküllerle kolayca elektron alışverişine girip, onların yapısını bozan bu moleküller "serbest oksijen radikalleri", "reaktif oksijen metabolitleri" şeklinde adlandırılabilir (18). Serbest oksijen radikallerinin oluşumunda birçok endojen ve ekzojen kaynak mevcuttur (19).

## **Hücrelerde Serbest Radikal Kaynakları**

### **Endojen Kaynaklar**

- 1-Mitokondriyal elektron transport zinciri
- 2-Mikrozomal elektron transport zinciri
- 3-Oksidan enzimler
- 4-Ksantin oksidaz
- 5-Endolamin dioksijenaz
- 6-Galaktoz oksidaz
- 7-Siklooksijenaz
- 8-Lipoksijenaz
- 9-Monoamin oksidaz
- 10-Fagositik hücreler
- 11-Nötrofiller
- 12-Monositler ve makrofajlar
- 13-Eozinofiller
- 14-Endotelyal hücreler
- 15-Otooksidasyon reaksiyonları (ör,  $Fe^{+2}$ )

### **Ekzojen Kaynaklar**

- 1-Redoks siklus bileşikleri (ör, paraquat, doksorubisin)
- 2-İlaç oksidasyonları (ör, parasetamol)
- 3-Sigara
- 4-Güneş
- 5-Isı şoku
- 6-Okside glutasyon

Serbest radikaller en sık olarak elektron transfer zincirinde oluşan elektronların transferi ile veya oksidazlar ile tek elektron transferi ile oluşur. Serbest radikallerin bir başka oluşma şekli

de moleküldeki bağların parçalanması sonucu elektronlardan her birinin farklı atomlar üzerinde kalmasıyla olur. Mitokondriyal elektron transport zincirinde oksijenin tamamlanmamış redüksiyonu, sigara içimi, radyasyon gibi çeşitli faktörler oksidatif strese neden olabilirler (20,21). Oksijen canlıların yaşamlarını sürdürebilmeleri için mutlak gerekli bir elementtir. Oksijen hücre içinde dört elektron gerektiren bir dizi reaksiyon sonunda indirgenir, bu sırada hücre kendisi için gerekli enerjiyi sağlar. Bu süreçte oksijenin az bir kısmı (%1-3) tam olarak suya dönüşemez ve bu reaksiyonlarda ara ürün olarak serbest radikaller olan süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil radikali ( $OH^-$ ) oluşur (22).

**Tablo 3. Sık karşılaşılan radikaller, simgeleri ve etkileri**

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

Serbest oksijen metabolitleri, orbitalde tek sayıda elektron bulunan dolayısı ile başka moleküller ile kolayca reaksiyona girebilenler (radikaller) ve elektron eksikliği olmadığı halde başka moleküllerle radikallerden daha zayıf bir şekilde elektron alışverişinde bulunabilenler (non - radikaller) olmak üzere 2 ana grubu içerir. Demir, bakır, mangan, molibden gibi geçiş metalleri dış yörüngelerinde birer elektron taşımalarına rağmen radikal karakter göstermezler. Serbest radikal kabul edilen atom ve moleküller elektron konfigürasyonlarının yanı sıra, termodinamik yapıları ve lokal kinetik reaktiviteleri ile değerlendirilirler (18).

Düşük konsantrasyonda ROM'leri, hücre farklılaşmasında rol oynayan hücre içi sinyal iletimi, hücre büyümesinin durması, apoptozis, bağışıklık sistemi ve mikroorganizmalara karşı antibakteriyel etkiler gibi birçok biyokimyasal olayda rol oynamaktadır. Örneğin mikroorganizmalara karşı savunmada serbest radikallerin oluşumu normal fizyolojik bir durumdur. Fagositik lökositler, biyolojik hedefleri yok etmek için serbest radikal oluştururlar. Fagositik lökositin membranına uyarı geldiği zaman hekzoz monofosfat şantı aktive olarak mitokondri dışı enerji üretimi ile nikotin adenin dinükleotid fosfat (NADPH) artar. Plazma membranında NADPH oksidaz enzimi aktive olur. Bu enzim olumlu yönde süperoksit radikali üreten tek enzimdir (23).

**Tablo 4.Serbest oksijen metabolitleri**

<b>Radikaller</b>	<b>Non- radikaller</b>
Süperoksit radikali ( $O_2^-$ )	Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )
Hidroksil radikali ( $OH^-$ )	Lipid hidroperoksit ( $LOOH$ )
Hidroperoksil radikali ( $HO_2^-$ )	Hipokloröz asit ( $HOCl$ )
Alkoksil radikali ( $RO^-$ )	Singlet oksijen ( $^1\Delta g O_2$ )
Peroksil radikali ( $ROO^-$ )	
Tiil radikali ( $RS^-$ )	
Nitrik oksit ( $NO^-$ )	

Serbest radikallerin oluşum hızı ile antioksidanların etkisizleştirme hızı dengede olduğu sürece, organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir. Buna karşılık savunma azalır veya bu zararlı bileşiklerin oluşum hızı sistemin savunma gücünü aşarsa bu denge bozulmakta ve serbest radikallere bağlı zararlı etkiler ortaya çıkabilmektedir(22). Yüksek konsantrasyonlarda ve değişik formlardaki oksijen ve serbest radikaller biyolojik sistemler üzerinde membran lipidlerinin peroksidasyonu, nükleik asit bazlarının peroksidasyonu, sülfhidril ve proteinlerin bazı bölümlerinin oksidasyonu ve enzim inaktivasyonu, karbonhidratlarda polisakkarit polimerizasyonu ve glikasyonda artış gibi zararlı etkilere yol açabilirler (18).

## **Serbest radikallerin doku ve hücrelerde yaptığı hasarlar**

- DNA hasarı,
- Nükleotid yapılı enzimlerin yıkımı,
- Protein ve lipidlerle kovalan bağlanma,
- Enzim inaktivasyonu,
- Proteinlerin oksidatif hasara uğraması,
- Lipid peroksidasyonu,
- Zar yapılarının ve fonksiyonlarının etkilenmesi,
- Kollajen ve elastin gibi uzun ömürlü yapılardaki oksidasyon ve redüksiyon olaylarının bozularak kapillerde atrofibrotik değişikliklerin oluşumu,
- Zar proteinlerinin hasarı ve transport sistemlerinin bozulması (23).

Plazma membranı birçok nedenle serbest radikal reaksiyonları için kritik bir organeldir. Ekstrasellüler olarak üretilen serbest radikaller diğer hücresele bileşenlerle etkileşmeden plazma zarından geçmelidir. Membranlarda bulunan doymamış yağ asitleri (fosfolipidler, glikolipidler, gliseridler ve steroller) ve okside olabilen aminoasit bulunduran transmembran proteinleri serbest radikal hasarına duyarlıdır. Lipid peroksidasyonu veya yapısal olarak önemli proteinlerin oksidasyonu membran geçirgenliği, transmembran iyon gradientinin bozulması, sekretuar fonksiyonların kaybı ve entegre hücresele metabolik olayların inhibisyonu ile sonuçlanır (23). Biyolojik ortamların basamakları en iyi bilinen ve en çok çalışılan radikal reaksiyon zinciri lipid peroksidasyonudur (22). Lipid peroksidasyonu biyolojik membranlarda akıcılığın kaybına, membran potansiyelinde azalmaya, hidrojen ve diğer iyonlara karşı geçirgenliğin artmasına ve sonuçta hücre içeriğinin dışarı boşalmasına neden olur (18).

### **2.2.1. ANTIOKSİDANLAR**

Radikallerle oldukça hızlı reaksiyonlara girerek otooksidasyon/peroksidasyonun ilerlemesini önleyen maddeler antioksidan olarak tanımlanır. Bir şekilde oluşan herhangi bir radikal ürünün reaktif karakterine bağlı olarak biyomoleküllere ve hücresele yapılara saldırmasının önlenmesi antioksidan savunma sisteminin işidir (24).

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisindedir ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur. ‘Oksidatif stres’ olarak adlandırılan bu durum özetle serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır (25).

Antioksidan savunma sistemleri şu sekilde sınıflandırılabilir:

#### **A ) Enzimatik Antioksidanlar**

- 1- Süperoksit Dismutaz
- 2- Katalaz
- 3- Selenyum bağımlı Glutasyon Perosidaz
- 4- Glutasyon -S- Transferaz
- 5- Glutasyon Redüktaz
- 6- Sitokrom Oksidaz
- 7- Glukoz -6-Fosfat Dehidrojenaz
- 8- UDP-Glukronil Transferaz
- 9- Fosfoglukonat Dehidrojenaz
- 10- Epoksit Hidrolaz
- 11- NADPH-Kinon Hidrolaz
- 12- Sulfonil Transferaz

#### **B) Enzimatik Olmayan Antioksidanlar**

- 1- Vitamin C
- 2- Vitamin A
- 3- Vitamin E
- 4- Flavinoidler
- 5- Melatonin
- 6- Albumin
- 7 Koenzim Q<sub>10</sub>
- 8- Ürik asit
- 9- Haptoglobulin



- 10- Sistein
- 11- Seruloplazmin
- 12- Transferrin ve Laktoferrin
- 13- Ferritin
- 14- Oksipurinol
- 15- Bilirubin
- 16- Mannitol
- 17- Lipoik asit
- 18- Hemopeksin

Genel olarak enzimatik antioksidanlar hücre içinde, enzimatik olmayanlar ise hücre dışında daha fazla etkilidir.

Antioksidan savunma sistemi başlıca iki şekilde yürür:

### **1. Serbest radikal oluşumunun önlenmesi**

- a) Başlatıcı reaktif türevlerini uzaklaştırıcı etki,
- b) Oksijeni uzaklaştırıcı ve konsantrasyonunu azaltıcı etki,
- c) Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki.

### **2. Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi**

- a) Toplayıcı (scavenging) etki: Reaktif oksijen türlerini (ROT) etkileyerek onları tutma veya çok daha az reaktif başka bir moleküle çevirme. (Ör: Enzimler)
- b) Bastırıcı (quencher) etki: ROT'leri ile etkileşip onlara bir proton ekleyip aktivite kaybına neden olma.
- c) Onarıcı (repair) etki.
- d) Zincir kırıcı (chain breaking) etki: ROT'lerini ve zincirleme reaksiyonları başlatacak diğer maddeleri kendilerine bağlayıp zincirlerini kırarak fonksiyonlarını önleyici etki (Ör: Hemoglobin, seruloplazmin, mineraller) (26, 27, 28).

## **2.3. 8-İSOPROSTAN**

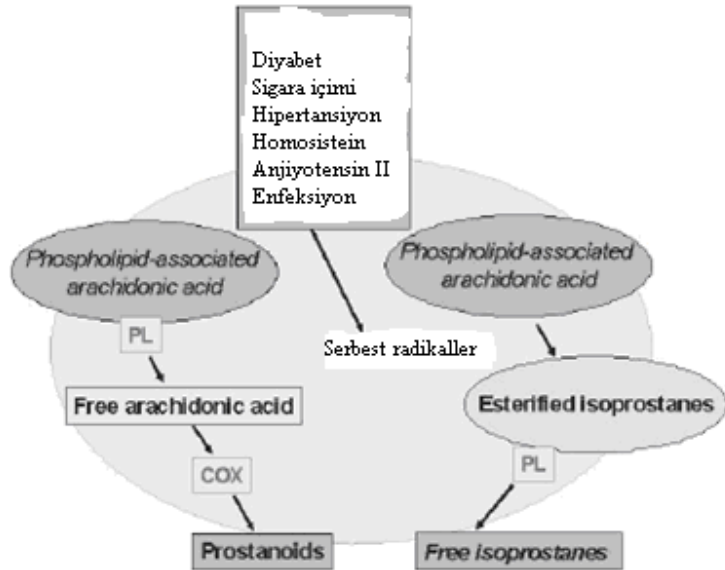
### **2.3.1. Tanım**

8-isoprostanlar(8-isoP), hücre membranları ve lipoproteinlerin fosfolipidlerinde bulunan araşidonik asidin serbest radikal uyarılı peroksidasyonundan elde edilen

prostaglandin analogudur (29,30). 8-İsoP; F2 isoprostanlar veya PGF2alfa olarak da isimlendirilmektedir.

### 2.3.2. Sentezi

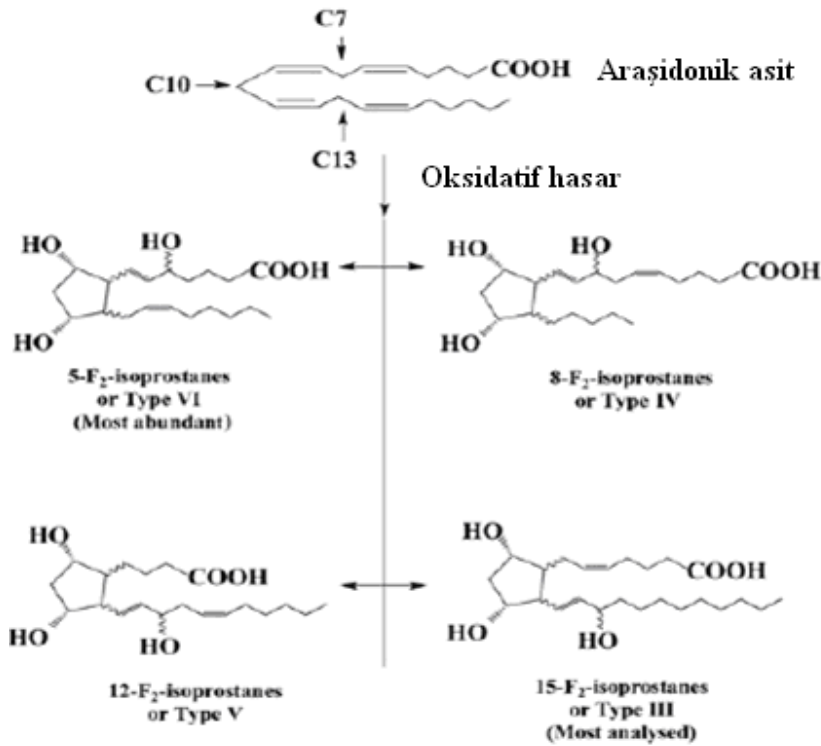
Araşidonik asitten F<sub>2</sub>-isoprostanların yapımı için, hidrojen ayrılması, araşidonil radikal oluşumu, moleküler oksijen eklenmesi ve ikinci bir oksijen molekülü eklenmesini takiben bisiklik (çift halkalı) endoperoksit oluşumu için endosiklizasyon olması gerekmektedir (31,32). Bu süreç, unstabil Prostaglandin H<sub>2</sub>(PGH<sub>2</sub>) benzeri stereoizomer oluşumuna yol açar (29,30). Siklooksijenaz (COX)-1 ve COX-2 bağımlı yol üzerinden trombositlerde ve monositlerde düşük miktarda isoprostan oluşumu gösterilmiş olmasına rağmen, isoprostan oluşumunun büyük kısmı COX aktivitesinden bağımsız olarak ortaya çıkar. Bu, preoksidan bileşiklerin verilmesi durumunda belirgin artmış 8-isoP oluşumunun eşlik ettiği, nonselektif veya COX-2 selektif inhibitörlerin etkilemediği deneysel modellerde gösterilmiştir (Şekil 1) (33,34).



**Şekil 1. İsoprostanelerin çoğunlukla COX aktivitesine bağımlı ve serbest radikallerin katalize ettiği sentezi**

C7, C10 ve C13 üzerine radikal saldırısının bir sonucu olarak 8-isoP'in dört büyük sınıfı meydana gelmiştir (Şekil 2). Seri 5 (tip VI) F<sub>2</sub>-isoprostanlar, C7 üzerine serbest radikal atağından türetilmiştir. Seri 8 (tip V) ve Seri 12 (tip IV), C10 üzerine serbest radikal atağından sonuçlanır. Seri 15 (tip III) ise C13 üzerine serbest radikal atağından

türetilmiştir. Siklopentan halkası üzerindeki hidroksil grubu sekiz farklı konfigürasyonda düzenlenebildiği için, her bir sınıf 16 diasteroizomerden oluşur. Araşidonik asidin peroksidasyonu sırasında, toplamda 64 8-isoP izomeri oluşabilir (31,32). Bunlardan en çok dikkat çeken tam zıt biyolojik aktivitelere sahip olan 8-isoP (8-iso-PGF<sub>2</sub>α veya 15-F<sub>2</sub>α-isoprostan olarak da bilinir) olmuştur (35,36). Dolaşan 8-isoP temel olarak in situ fosfolipidlere bağlı olarak bulunur ve fosfolipaz A2 etkisiyle serbest kalır. Şekil 5, araşidonik asidin non-enzimatik peroksidasyonu sırasında farklı 8-isoP familyalarının üretim yollarını göstermektedir(37).



**Şekil 2. Farklı isoprostanların araşidonik asitin oksidasyonu ile oluşumu**

### 2.3.3. Tarihçesi

İsoprostanlar hakkındaki bilgilerimizi, prostaglandinlerin metabolizması üzerindeki çığır açan araştırmasından dolayı Nugteren'e borçluyuz. Nugteren, insanlarda prostaglandinlerin ve metabolitlerinin salınım oranlarını belirlemek için daha az zahmetli bir prosedür geliştirmeye çalışıyordu ve son lipid ekstresinde saptanan bileşiklerin sayısını sınırlandıran, daha yüksek oranda geri kazanım sağlayan ve gaz

kromatografisi- kütle spektroskopisi (GC-MS) ile son ölçüm aşamasından önce stabil derivatiflerin hazırlanmasına izin veren bir strateji kullanıyordu (38).

1988'de Wendelborn, sağlıklı bireylerde değişen oranlarda üriner PGF<sub>2</sub> benzeri bileşikler olduğunu rapor etti. İlginç bir şekilde, sistemik mastositozisli hastalarda PGF<sub>2</sub> benzeri bileşiklerin ortalama konsantrasyonununun 800 kat arttığını buldular. Bu belirgin yükselişin açıklaması, PGD<sub>2</sub>'nin PGF<sub>2</sub>'ye izomerizasyonu ve PGD<sub>2</sub>'nin keto parçasının (C11) çıkarılması ve daha stabil PGF<sub>2</sub> benzeri bileşikler elde edilmesiydi (39).

PGF<sub>2</sub> benzeri bileşiklerin, endojenöz PGD<sub>2</sub>'nin yeniden düzenlenmesine bağlı olup olmadığını aydınlatmak için, siklopentan halkasındaki hidroksi gruplarının konfigürasyonu belirlendi. Yukarıda adı geçen örneklerde, plazma ve idrardan elde edilen total lipid ekstratlarına n-bütilloronik asitle muamele edildi. n-Butilloronik asit, siklopentan halkasında cis-1,3-dihidroksi parçalarıyla tepkimeye girdiğinde siklik derivatif bir şekil alır. GC-MS analizleri, belirlenmiş 16 PGF<sub>2</sub> benzeri bileşiğin yaklaşık %67'sinin cis doğrultulu hidroksi grupları içerdiğini gösterdi. Böylece, plazma ve idrardaki PGF<sub>2</sub> benzeri bileşiklerin büyük kısmını PGD<sub>2</sub> redüksiyonundan türemediği gösterilmiş oldu. PGF<sub>2</sub> benzeri bileşiklerin varlığını açıklamak için birçok muhtemel mekanizma ileri sürülmesine rağmen hiçbiri tamamen tatmin edici bulunmadı (39).

1990'da Roberts ve arkadaşları, PGD<sub>2</sub> izomerizasyonu ve siklooksijenaz yolundan bağımsız şekillenen yeni bir PGF<sub>2</sub> benzeri bileşik serisi (F<sub>2</sub>-isoprostanlar) keşfettiklerini rapor ettiler (29,40). F<sub>2</sub>-isoprostanların, araşidonik asidin serbest radikal aracılıklı oksidasyonundaki artışı takiben oluştuğunu öne sürdüler. 8-isoP'nin, oksidatif stresin yeni bir belirteci olarak ortaya çıkmasına öncülük eden olaylar Tablo 5'de özetlenmiştir.

#### **2.3.4. Oksidatif Stres ve 8-isoprostanlar**

Artmış oksidatif stresin, aterotromboz, kanser ve nörodejenerasyon gibi ciddi hastalık süreçlerinde temel rol oynadığı düşünülmektedir (41). Glukoz, protein ve lipidin birçok oksidasyon ürününün, oksidan stresin hücre fonksiyonu üzerindeki zararlı etkilerine aracılık ettiği düşünülmektedir (42). İsooprostanlar, hücre membran fosfolipidleri ve dolaşımdaki LDL'lerdeki lipid peroksidasyonunun serbest radikal

katalize mekanizması yoluyla araşidonik asitten üretilen biyolojik bileşikler ailesindedir (29). Geçtiğimiz on yıl boyunca elde edilen veriler, bu bileşiklerin plazma veya üriner düzeylerinin in vivo lipid peroksidasyonunun gerçekçi ve sensitif belirteçleri olduğunu savunmaktaydı. Dolaşımdaki 8-isoP konsantrasyonlarının, metabolizma ve salınımdan ziyade büyük ölçüde üretime bağlı olduğu ve in vivo oksidan stres derecesinin gerçek bir göstergesi olduğu gösterilmiştir (43).

**Tablo 5: 8-isoP'in oksidatif stresin yeni bir belirteci olarak ortaya çıkmasına öncülük eden olaylar**

---

**1975:** Prostaglandin metabolitlerinin insan idrarında belirlenmesi

**1988:** İnsan plazma ve idrarında PGD<sub>2</sub> metabolizmasından PGF<sub>2</sub> isomerlerinin derivasyonunun keşfi.

**1990:** in vivo yeni prostaglandin serilerinin serbest radikal katalize oluşumu mekanizmasının öne sürülmesi

**1991:** F<sub>2</sub>-isoprostanların oksidatif stres markerı olarak ölçülmesi.

**1992:** CCl<sub>4</sub>'ün indüklediği hepatotoksisitede F<sub>2</sub>-isoprostanların oluşumu ve F<sub>2</sub>-isoprostanların fosfolipidlerde in situ oluşum bulgusu.

**1993:** Vasküler düz kas hücrelerinin üzerinde F<sub>2</sub>-isoprostan reseptörlerinin bulunması. Hepatorenal Sendrom'da F<sub>2</sub>-isoprostanların belirgin artmış düzeylerde ölçümü. İnsan idrarında F<sub>2</sub>-isoprostan metabolitlerinin tanımlanması.

**1994:** LDL'nin peroksinitrite maruz kalması sırasında F<sub>2</sub>-isoprostan oluşumunun ölçülmesi. Doğal LDL'de F<sub>2</sub>-isoprostanların tespiti.

**1995:** Sigara içenlerde F<sub>2</sub>-isoprostan düzeylerinin artmış olarak bulunması. F<sub>2</sub>-isoprostanların analizi için yeni bir GC-MS denemesi. Tip 2 diyabetiklerde artmış 8-epi-PGF<sub>2</sub>α düzeylerinin ölçümü. Üriner 8-epi-PGF<sub>2</sub>α'nın immunolojik karakterizasyonu. İnsan trombositleri tarafından 8-epi-PGF<sub>2</sub>α oluşturulmasına dair bulgular.

**1996:** Kronik sigara içicilerde oksidan stresin modülasyonu. İnsan monositleri tarafından oluşturulmuş F<sub>2</sub>-isoprostanların ölçümü.

---

### 2.3.5. Diyabetes Mellitus ve 8-isoprostanlar

Tip 1 DM başlangıçta, immuno-inflamatuar reaksiyon, lipid peroksidasyonu ve trombosit aktivasyonu arasındaki karşılıklı ilişkiye dair enteresan bir örnek gösterir. Davi, son dönemde artmış lipid peroksidasyonu ve trombosit aktivasyonunun çocuklarda ve adölesanlarda tip 1 DM gelişiminde erken olgular gösterdiğini rapor etmiştir (44). Yeni diyabet tanısı almış hastalarda, inflamatuvar belirteçlerin artmış plazma düzeylerinde olduğu gibi, hem 8-isoP hem de 11-dihidro-tromboksan B2(TXB2)'nin üriner atılımı önemli ölçüde artmıştır. Bu hastaların hepsinde olmasa da çoğunda, bir yıldan sonra oksidatif stres ve trombosit aktivasyonu düşmüş ve rastlantısal bir şekilde interlökin-6(IL-6) ve Tümör Nekrozis Faktör- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )'nın da sistemik düzeylerinde düşüş olmuştur. Böylece, oksidatif stres ve trombosit aktivasyonunun biyokimyasal sinyalleri, diyabetin başlangıcının erken safhalarında değerlendirilebilir ve bunların kısmen de olsa değişkenlik gösteren şiddetleri, IL-6 üretimi ve hastalık süresine göre ilerlemektedir. Bu non-invaziv indeksler, tip 1 diyabetes mellitusun ileri incelemelerinde ve hastalık oluşumu ve ilerlemesini durdurmayı hedefleyen farmakolojik müdahalelerin takip edilmesinde yardımcı olabilir (44).

Tip 2 DM'nin kardiyovasküler hastalık için bir risk faktörü olduğu net olarak belirlenmiş olmasına rağmen, aterogenezin hızlanmasından sorumlu olan mekanizmalar meçhul kalmaya devam etmektedir. Diyabetik hastalarda, değiştirilmiş lipoprotein düzeyleri, lipoprotein yapısında değişiklikler, LDL'nin reseptörlerine bağlanmasının etkilenmesi ve glikozillenmiş LDL'nin bozulmuş reseptör tanınmasından kaynaklanan azalmış LDL klirensi tanımlanmıştır (45). Üstelik, hem yüksek glukoz düzeyleri hem de protein glikasyonu metal iyonlarıyla LDL oksidasyonunu artırır ve bu reaksiyonlar ayrıca öncü glikozilasyon son ürünlerini (AGE) sağlar (45,46). Aslında, insülin bağımsız diyabetiklerden elde edilen LDL, yüksek düzeyde AGE ürünleri ve konjuge dienler içerir ve doğal LDL'ye göre bakırla daha kolay okside olur (47). Ek olarak, iyi kontrol edilmemiş IDDM olan hastaların plazması daha düşük antioksidan kapasiteye sahiptir (48). Diyabette artmış lipid peroksidasyonu gerçeğine uygun olarak Gopaul (1995), 39 tip 2 DM hastasının plazmasındaki esterifiye 8-isoP'nin ortalama konsantrasyonunun sağlıklı bireylerinkinden yaklaşık 3 kat fazla olduğunu rapor

etmiştir. Yine de, artmış plazma 8-isoP düzeyleri, hiperglisemi veya hiperlipidemiyle ilişkili bulunmamıştır (49).

Davi, daha önceden tip 2 diyabette artmış tromboksan sentezini ve bunun trombosit kaynaklı olduğunu ve sıkı metabolik kontrolle de azaldığını göstermiştir(50). Diğer taraftan, eşlik eden vasküler hastalıktan ziyade metabolik bozukluğun ısrarlı trombosit aktivasyonundan sorumlu olduğunu kanıtladılar (51). Üstelik, potansiyel olarak lipid peroksidasyonunu etkileyebilecek diğer değişkenlerin çok dikkatli karakterize edildiği rölatif olarak büyük bir tip 2 diyabet hastalar grubunun büyük çoğunluğunda 8-isoP'nin oluşumu ve atılımının anormal derecede arttığı gösterilmiştir (52). Kan glukozu ve üriner 8-isoP arasındaki anlamlı ilişki, lipid peroksidasyonunun, en azından kısmen, glisemik kontrolün determinantlarıyla ilişkili olabileceğini akla getirmektedir. Eşlik eden makrovasküler komplikasyonlardan ziyade bozulmuş glisemik kontrol, tip 2 diyabette artmış F2-isoprostan oluşumundan sorumludur ve ayrıca, tip 1 diyabetteki benzer bulgularla desteklenmektedir. Yoğun antidiyabetik tedavi, hem kan glukoz düzeylerinin hem de üriner 8-isoP atılım oranlarının azalmasını indüklemiştir. Bu hastalarda, 11-dihidro-TXB2 salınımındaki istatistiksel olarak önemli ölçüdeki azalmaya gelişmiş metabolik kontrol de eşlik etmekteydi. Bu bulgulara dayanarak, araşidonat peroksidasyonunun 8-isoP gibi biyolojik olarak aktif izoeikozanoid formuna dönüşme oranındaki değişiklikler tip 2 DM'de, değiştirilmiş glisemik kontrol, oksidan stres ve trombosit aktivasyonu arasındaki önemli bir biyokimyasal bağlantıyı gösterebilir (52).

### **2.3.6. Diğer Klinik Durumlar ve 8-isoprostan**

#### **2.3.6.1. Obezite**

Orta derecede şişmanlıkta kardiyovasküler ölüm riskine eğilim varken; ciddi şişmanlıkta bu artmış riskle ilişki üst düzeydedir. Metabolik sendromu hemostatik ve vasküler anormalliklere bağlayan moleküler mekanizmalardaki çeşitliliğe rağmen, android ve viseral obezite, artmış kardiyovasküler morbidite ve mortaliteyle ilişkilendirilmektedir (53). Aslında, abdominal obeziteyi içeren, insülin rezistans sendromunun artmış C-reaktif protein (CRP) düzeyleriyle ilişkili olduğunu gösteren bulgular artmaktadır (54). Artmış abdominal yağ deposu, karaciğerden CRP

sentezlenmesinin güçlü bir uyarıcısı olan IL-6'nın üretimini artırarak, düşük dereceli inflamatuvar durumdan sorumlu olabilir. Üstelik, deneysel bulgular, obezitenin artmış oksidatif stresle ilişkili olduğunu göstermektedir. Böylece, obez Zucker farelerinde 8-isoP düzeylerinin belirgin bir şekilde arttığı rapor edilmiştir (55).

Davi, bilinen diğer kardiyovasküler risk faktörlerinin yokluğunda, obez kadınlarda lipid peroksidasyonu ve trombosit aktivasyonunun arttığı ve vücut kilo düzenlemesinin ardından düzeltilebildiği hipotezini test etti. Obez kadınlar, aynı yaştaki non-obez kadınlara kıyasla, daha yüksek düzeyde lipid peroksidasyonu ve trombosit aktivasyonuna sahiptiler. Android obezite, non-obez kadınlarda ölçülenden dört kat daha fazla tromboksan metabolit atılımıyla ilişkiliydi ve 8-isoP ve 11-dihidro-TXB2 atılım oranları arasında doğru orantı mevcuttu (56). Framingham Kalp Çalışmasına göre 2828 denekte vücut kitle indeksi, üriner 8-isoP salınımıyla yüksek derecede ilişkiliydi. Vücut kitle indeksinin etkisi, kan glukozu ve diyabetten minimal derecede etkilenmişti. Bu, oksidatif stresin, obezitenin kardiyovasküler hastalık üzerine zararlı etkisi konusundaki rolüyle uyumluydu (57).

### **2.3.6.2. Sigara içimi**

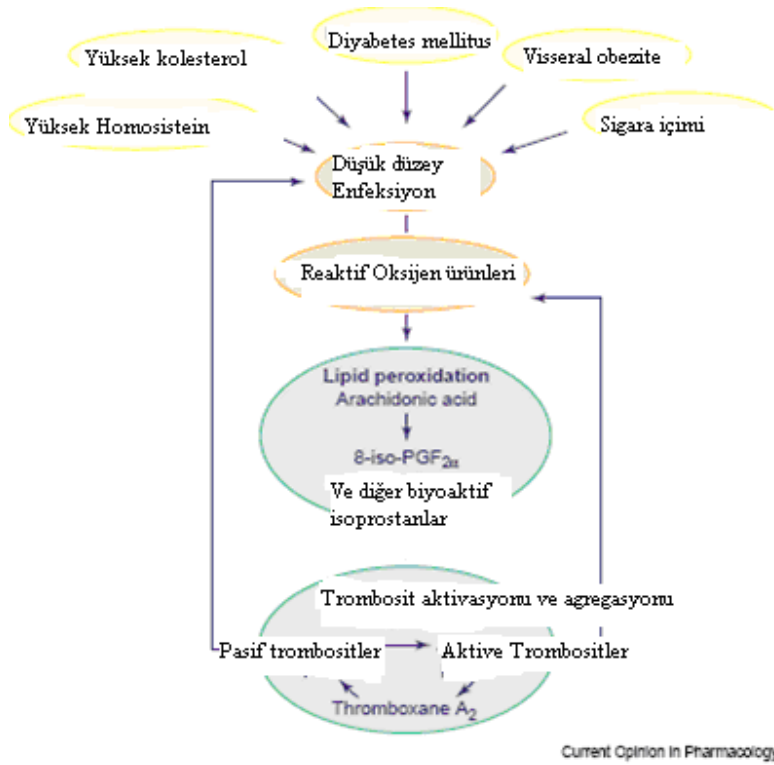
Sigara içenler, sigara dumanındaki reaktif serbest radikallere maruz kalmaktadırlar. Serbest radikaller, DNA, proteinler ve lipidlerde oksidatif hasara neden olabilir (58). Kronik sigara içicilerde, cinsiyet ve yaş eşleşmeli olarak içmeyenlere kıyasla, hem plazma F2-isoprostan düzeyleri hem de 8-isoP üriner salınımı artmıştır (59, 60). Sigara içenlerin hem dolaşımında hem de idrarındaki artmış F2-isoprostan düzeyleri (59,60), sigara dumanının direkt olarak lipid peroksidasyonu sürecini başlatabilecek ve artırabilecek oksidan ve serbest radikalleri yüksek miktarda içerdiği fikriyle uyumludur. Üstelik, içilen sigara sayısıyla 8-isoP atılım oranı arasında bir ilişki mevcuttur (60). Sigara içiminin, dolaşımdaki F2-isoprostan düzeyleri üzerinde kısa süreli etkisi yoktur (59). Yine de, plazmadaki serbest ve esterleştirilmiş F2-isoprostan (59) ve idrardaki 8-isoP(60) düzeyleri sigarayı bıraktıktan sonra önemli derecede düşmüştür. Orta derecede sürekli sigara içicisi olmayanlarda üriner 8-isoP salınımı, 11-dihidro TXB2'nin (in vivo tromboksan biyosentezinin bir indeksi) üriner düzeyleriyle önemli ölçüde ilişkilidir (61).



### 2.3.6.3. Hiperkolesterolemi

Hiperkolesterolemiyle ilişkili protrombotik durumun majör bir etkeni, artmış trombosit aktivasyonu ile ilişkililiymiş gibi görünmektedir. trombositler aslında, aterogenez ve aterotrombotik bozuklukların patofizyolojisinde temel bir rol oynamaktadır (62). Tip IIa hiperkolesterolemik hastalarda yüksek LDL düzeylerinin, trombosit membran fosfolipidleri ve kolesterol yapısındaki değişikliklerden dolayı, artmış 11-dihidro-TXB<sub>2</sub> üriner atılımı olarak yansıyan, artmış TXA<sub>2</sub> biyosenteziyle birlikte trombosit reaktivitesini artırabileceğini gösteren in vivo trombosit aktivasyonu oluşumu rapor edilmiştir (63, 64, 65).

Hiperkolesterolemili hastalarda gelişmiş 8-isoP oluşumu ve diğer biyoaktif isoprostanlar, inatçı trombosit aktivasyonuna katkıda bulunuyormuş gibi görünüyor. 8-isoP ve 11-dihidro-TXB<sub>2</sub>'nin hiperkolesterolemik hastalar ve onlarla yaş ve cinsiyet olarak eşleşmiş kontrol grubunda anlamlı lineer bir ilişki gösterdiği bulunmuştur(66).



Şekil 3. 8-isoprostan'ın klinik durumlarla ilişkisi

## 2.4. KOENZİM Q<sub>10</sub>

Koenzim Q<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>) veya diğer adıyla Ubiquinon vitamin benzeri bir maddedir. Vitaminler yiyeceklerde doğal olarak bulunur ve bazen vücutta da sentezlenirler. CoQ<sub>10</sub>'da değişik yiyeceklerde çok küçük miktarlarda bulunur ve vücutta bütün dokularda sentezlenir. CoQ<sub>10</sub>'nun biyosentezi sekiz enzimle, dokuz adımda gerçekleşir ve birçok eser elemente ihtiyaç duyar (67).

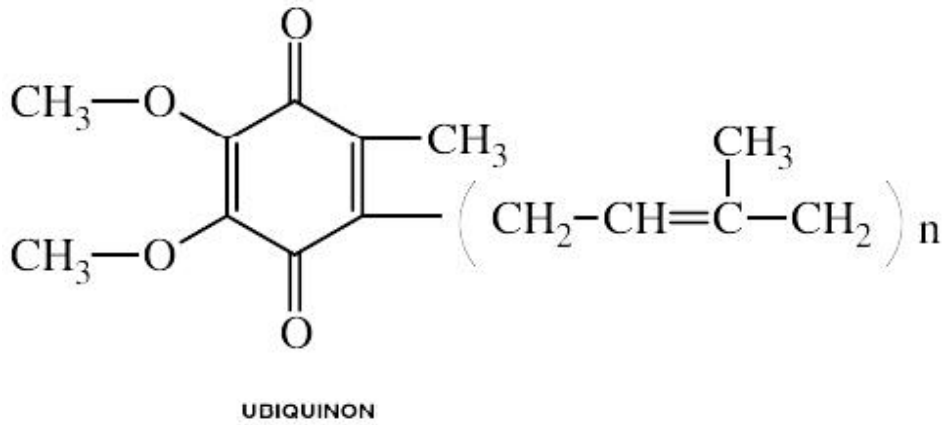
Koenzimler fonksiyonlarına göre büyük ve kompleks enzimlerin kofaktörleridirler. CoQ<sub>10</sub> hücrede üç mitokondiyal enzimin kofaktörüdür (Kompleks 1, 2 ve 3). Mitokondriyal enzimler fosforilasyon yolunda yüksek enerjili fosfat, adozin trifosfat oluşması ve diğer hücrel fonksiyonlar için gereklidir. Quinonların elektron ve proton transfer fonksiyonu tüm canlı formlar için çok önemli bir gereksinimdir; ubiquinon hayvanların mitokondrilerinde, plastokinon bitkilerin kloroplastlarında ve menakinon bakterilerde bulunan biyoenerjetiklerden biridir. "Biyoenerjetikler" terimi biyokimyada hücrel enerji eldesini tanımlamak için kullanılmaktadır. Bunlar serbest radikal kimyasıyla ilişkilidir ve bunlardan biri olan CoQ<sub>10</sub> potansiyel bir antioksidandır (67).

### 2.4.1. Koenzim Q<sub>10</sub>'un Tarihçesi

CoQ<sub>10</sub> ilk defa 1957 yılında Dr.Frederick Crane tarafından Winconsin'de sığır kalbinin mitokondrisinden izole edilmiştir. Aynı yılda İngiltere'de Prof. Morton rat ciğerinde vitamin A ile aynı yapıda CoQ<sub>10</sub>'i bulmuştur. Prof. Morton ubiquitous quinon (her yerde hazır kinonlar) anlamına gelen Ubiquinon ismini vermiştir. 1958 yılında Prof. Karl Folkers ve yardımcısı Merck CoQ<sub>10</sub>'nin kimyasal yapısını bulmuşlardır: 2,3 dimetoksi-5-metil-6 dekaprenil benzoquinon. Bunu ilk defa fermentasyonla sentezlemişlerdir. 1960'ların ortalarında Japonya'da ki Prof. Yamamura CoQ<sub>7</sub>'yi ilk kez bir insan hastalığında konjestif kalp yetmezliğinde kullanmıştır. 1966'da Mellors ve Tappel CoQ<sub>6</sub>'nın antioksidan etkisini göstermişlerdir. 1972'de Gian Paolo ve Prof. Karl Folkers CoQ<sub>10</sub>'in insan kalp hastalığındaki etkisini yayımlamışlardır. 1970'lerin ortalarında Japon teknolojisi saf CoQ<sub>10</sub>'i klinik çalışmalarda kullanılmak üzere elde etmiştir. 1978'de Peter Mitchell CoQ<sub>10</sub>'nin biyolojik enerji transferindeki rolünü kanıtlamasıyla Nobel ödülü almıştır (68).

#### 2.4.2. Koenzim Q<sub>10</sub> Yapısı ve Biyosentezi

İnsanda ubikinon, yan ünitelerine 1,4 benzokinon bağlı (69) 10 izoprene sahip ve vitamin K'ya yapısal olarak benzeyen CoQ<sub>10</sub> şeklinde bulunmaktadır (70). Ubikinonlar, yan zincirlerinde yer alan izoprenoid birim sayısına (n) göre farklılık gösterirler ve genellikle 6-10 izoprenoid birimi taşırlar. Hayvan mitokondrilerinden izole edilen ubikinonun, izoprenoid yan zinciri 10 birimden oluşur ve CoQ<sub>10</sub> olarak isimlendirilir. İzopren yan zincirinin 6, 7, 8, 9 ve 10 kez tekrarlanması sonucunda beş farklı tipte CoQ<sub>10</sub> meydana gelebilir (CoQ<sub>6-10</sub>) (71).



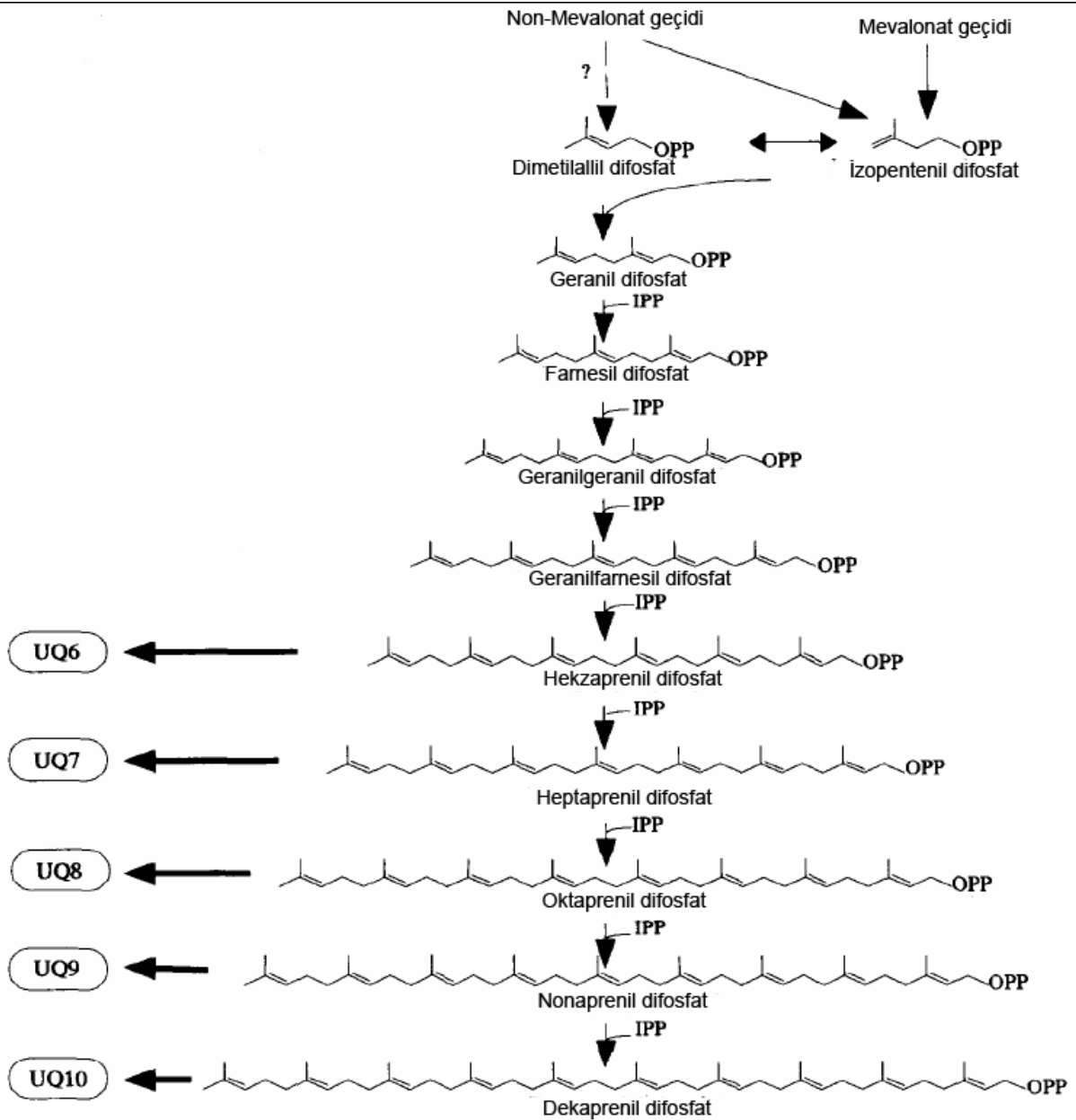
**Şekil 4. Ubiquinon (67).**

CoQ, bütün membranların yapısına girmekle birlikte mitokondri membranının esas yapı taşlarından biridir. CoQ'nun hücre membranlarında heterojen, kararlı bir "havuz" halinde ve membranın hidrofobik kısmında yerleştiği düşünülmektedir (72).

CoQ solunum zincirinde görevi olan, yağda eriyebilen bir elektron ve proton taşıyıcısıdır. Ayrıca serbest radikallerle ara ürün olarak görev yapar ve "elektron redüksiyon" reaksiyonuna maruz kalır. Stabil karakterli olmayan serbest radikaller ubikinondan gelen bir elektronla stabil hale gelir. CoQ<sub>10</sub> bu özelliğiyle önemli bir antioksidandır. Yapısındaki kinon grubu CoQ'ya elektron taşıyıcısı görevini kazandırır, yüksek hidrofobik özelliğe sahip izopren yan zinciri ise CoQ'ya hücrelerin lipitten zengin bölgelerini kuşatmasında yardımcı olur (73).

### 2.4.3. KoenzimQ'nun Fonksiyonları

CoQ'nun en iyi bilenen fonksiyonları mitokondriyel elektron transfer sistemindeki fonksiyonu ve antioksidan görevidir. Bunun yanında membranlarda elektron taşıyıcısı, hücre membranlarının yapısında yer alması gibi birçok fonksiyonu mevcuttur (73).



Şekil 5. Ubiquinon biyosentezi (67).

CoQ'nun fonksiyonları;

- 1- Antioksidan fonksiyonu
- 2 – Mitokondrial Solunum Zincirinde elektron taşıyıcısı
- 3 - Plazma Membran Redoks Sistemi
- 4 – Mitokondrial UCP(Uncoupling Protein) Aktivasyonu
- 5 – Mitokondriyal PTP (permeability transition pores)'ye etkisi
- 6 – Lenfosit ve monositler üzerine etkisi
- 7 – Endotelial fonksiyonu
- 8 – Hücre sinyali ve gen ifadesine etkisi

#### **2.4.3.1. Koenzim Q'nun Antioksidan Fonksiyonu**

CoQ10; golgi, lizozom, mikrozoim, peroksizom ve hücre membranı olmak üzere bir çok membranda bulunur. Membranlarda lipid peroksidasyonunu engelleyen antioksidan özelliği vardır (67). CoQ10 membranlarda doymamış lipid zincirlerine yakın olarak bulunur. Bunun sebebi serbest radikal çöçülüğü yapmaktır. Hücre membranlarındaki CoQ10'nun büyük bir kısmı ubikinol (CoQH<sub>2</sub>) seklindedir ve CoQ10'nun redükte formu olan ubikinol (CoQH<sub>2</sub>) çok etkili bir antioksidan olabilir (69). CoQH<sub>2</sub> çoğu subseleler membranlarda lipid peroksidasyonunu önleme yeteneğine sahiptir. Hücrenin, tüm intraselüler bölgelerinde CoQ10'yu redükte tutmak için etkili sistemler mevcuttur (73). Bu işlem üç adet enzim sayesinde gerçekleşmektedir.

Bunlar,

- 1- NADH sitokrom-b5 redüktaz,
- 2- NADH/NADPH oksidoredüktaz
- 3- NADPH CoQ redüktazdır.

Endomembrandaki 1 ve 3. redüktazlar özellikle, bir radikal ile reaksiyon sonucu oluşan herhangi bir semikinonun bir elektron ile tekrar redüklenmesi için önemlidir. NADH/NADPH oksidoredüktaz herhangi bir kinonu ara madde olmadan iki elektron transferi ile direkt olarak indirgeyebilir (69).

CoQH<sub>2</sub>, başlama işlemini ve lipid peroksil radikallerinin (LOO) oluşumunu engelleyerek görev alır, aynı zamanda vitamin E'de bu radikalleri bastırır. CoQH<sub>2</sub> ubisemikinon ve hidrojenperoksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) oluşumu ile başlangıç peroksit radikalini redükler. LOO'yu direk

olarak da ortadan kaldırabilir. Ayrıca ubiquinol alfa-tokoferoksil radikalinden vitamin E'yi yeniden üretebilir. Askorbat varlığında, suda çözünebilen radikal başlatıcısı ile fosfotidilkolin lipozomları okside edildiğinde, alfa-tokoferol ve CoQ antioksidanları sırası ile askorbat-CoQ-alfa tokoferol şeklinde tüketilir. Lipitte çözünen bir radikal başlatıcısı kullanılıncaya CoQ-askorbat-alfa tokoferol şeklinde tüketilir. Bundan dolayı, alfa-tokoferol her iki durumda da verimli yedeklenir ve bu kinetik veri alfa-tokoferoksil radikal formunun CoQH<sub>2</sub> tarafından redükleildiğini gösterir. CoQH<sub>2</sub> tarafından sağlanan alfa-tokoferolün bu yedekleyici etkisi ayrıca düşük dansiteli lipoproteinlerde (LDL) de gözlenir. CoQH<sub>2</sub>'nin antioksidan etkisi  $\alpha$ -tokoferol varlığına bağlı değildir. Alfa-tokoferol noksanlığında CoQ içeren submitokondrial partiküller lipid peroksidasyonundan korunur (73).

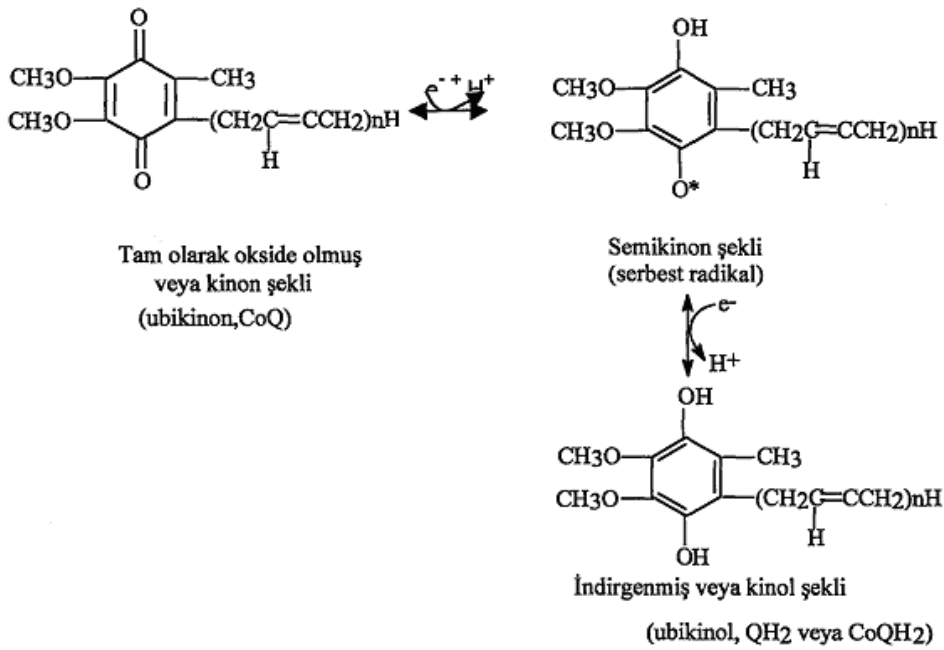
Membran proteinlerinin oksidasyonu da CoQH<sub>2</sub> tarafından önlenir (73). Selenyum ve alfa-tokoferol'un besinsel yetersizliği sonucu oluşan oksidatif stres durumunda, membranlardaki CoQ miktarında yüksek bir artış gözlenir. Aynı zamanda membranlarda bulunan NADH/NADPH oksidoredüktaz miktarı belirgin olarak artar. Peroksizomal uyarıcı tarafından uyarılmış alfa-tokoferol düşüşü, CoQ miktarındaki büyük bir artışla birlikte gözlenir. CoQ'nun antioksidan etkisini göstermek için CoQ yetersiz maya kullanılmış ve CoQ yetersiz mayada daha fazla lipid peroksid oluşumu gözlenmiştir. Yaşlı insanlarda deride CoQ oluşmasının sağlanması ile serbest radikallerin bertaraf edildiği gösterilmiştir. Direk antioksidan radikal çöpçülüğü yanında, kinol tokoferol radikallerini de kurtarabilir. Membranlarda CoQ yetersizliğinde tokoferolün yenilenmesi çok yavaş olur (69).

#### **2.4.3.2. KoenzimQ'nun Elektron Transport Zincirindeki (ETZ) Yeri ve Redoks Formları**

CoQ, esas olarak elektron transport zincirinde yükseltgenme-indirgenme tepkimelerinde görev yapan bazı enzimler için koenzimdir. CoQ, koenzim olarak görev yaparken taşımakla görevli olduğu elektron ve protonları (2H<sup>+</sup>+2e<sup>-</sup>) yapısındaki kinon halkasına katarak hidrosikinona dönüşür. CoQ bu dönüşüm vasıtasıyla elektron transfer/proton translokasyon görevini de gerçekleştirmiş olur (71).

CoQ10, mitokondri içinde, aerobik koşullar altında yükseltgenmiş kinon (ubikinon 10), anaerobik koşullarda ise indirgenmiş kinol (ubikinol 10) şeklinde bulunur. Mitokondrielerde yer alan CoQ, ETZ'nin diğer elemanlarından farklı bir stokiyometrik fazlalığa sahip olması nedeniyle ETZ'de indirgeyici ekivalanların flavoproteinlerinden (Fp) sitokromlara

aktarılmasını sağlamaktadır (71). CoQ, yükseltgenmiş halde 270-290 nm’de karakteristik bir absorpsiyon bandı gösterir. İndirgendiği zaman bu band kaybolur. CoQ’nun bu özelliği indirgenme-yükseltgenme durumunun saptanmasına ve HPLC (High performance liquid cromotography)’de miktar tayinine olanak sağlar (74). CoQ taşımakla görevli olduğu elektronları sırasıyla sitokrom b, sitokrom c<sub>1</sub>, sitokrom aa<sub>3</sub> ve oksijene nakleder. CoQ genel olarak NADH-dehidrogenaz veya doğrudan Fp’li dehidrogenazlar aracılığı süksinat, gliserol fosfat ve yağ asidi açıl KoA(Koenzim A) bileşiğinden aldığı elektronları taşımaktadır (71). ETZ’de, ATP (Adenozin trifosfat)’nin sentezlendiği noktalardan biri de NADH-dehidrogenaz ve CoQ arasındaki komplekstir. Bu kompleksi aşarak doğrudan CoQ’dan itibaren ETZ’ye dahil olan Fp’li dehidrogenazların sağladığı elektronlar üç molekül yerine iki molekül ATP sentezine olanak sağlayabilirler (71, 75).



Şekil 6. CoQ’nun redoks formları (71)

ETZ'de CoQ'nun yaptığı kompleks reaksiyonlar sırasıyla şunlardır (71).

Kompleks I  $\rightarrow e^- \rightarrow \text{NADH} \rightarrow e^- \rightarrow \text{Ubikinon}$

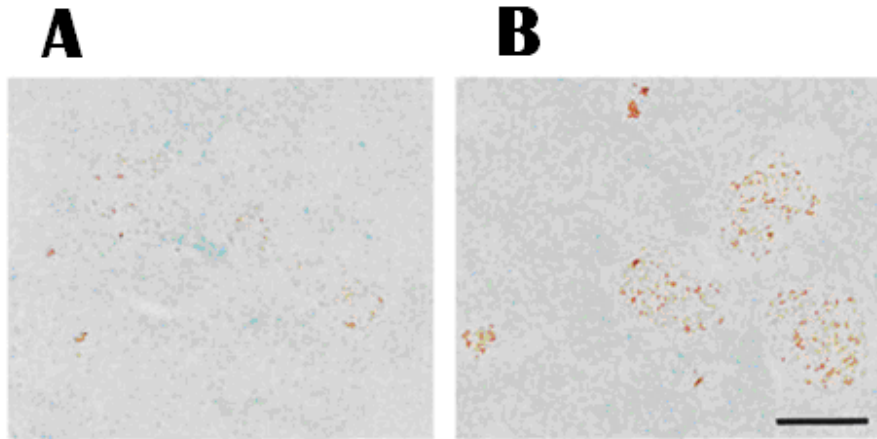
Kompleks II  $\rightarrow e^- \rightarrow \text{FADH}_2 \rightarrow e^- \rightarrow \text{Ubikinon}$

Kompleks III  $\rightarrow e^- \rightarrow \text{Dihidroubikinon} \rightarrow e^- \rightarrow \text{Ferrisitokrom c}$

#### 2.4.4. Diyabetes Mellitus ve Koenzim Q

Diyabetes mellitusun gelişiminde tip1'de Beta hücrelerinin otoimmün olarak harabiyeti tip 2'de de artan insülin rezistansına karşı Beta hücrelerinin kayboluşu gözlenmiştir. Pankreatik Beta hücrelerinin kaybolmasıyla kan glukoz seviyesi artar ve glukoz toksisitesi değişik metabolik sonuçlar doğurur. Oksidatif stresin de etkisiyle diyabet hastalığının gelişimi hızlanır ve hastalık sonrası oluşan komplikasyonlar artar. Bu nedenle son çalışmalarda diyabetin gelişiminin önlenmesi ve önemli komplikasyonlarının azaltılması için antioksidan savunma sisteminden yararlanılmaktadır. Hücreler ve dokular kendi antioksidan savunma sistemlerine sahiptirler fakat kuvvetlendirilmesi gerekebilir. Tip 2 diyabetli fareler üzerinde yapılan bir çalışmada; hidrojen peroksit yakalayıcısı N-asetil-L-sistein (NAC), vitamin C ve vitamin E kullanılmış ve Tip2 diyabet üzerine etkileri gözlemlenmiş. Sonuçta NAC, vit C ve vit E verildiğinde kan glukoz seviyesinde düşme gözlenmiştir. Aynı şekilde antioksidan tedavisi ile beta hücre kaybında azalma ve insülin salgılanmasında artma gözlenmiştir (76).

**Sekil.8.** İnsülin bulunuşu. (76).



**A-Normal diyabetli pankreasta insülin bulunuşu.**

**B-Antioksidan tedavisi uygulanmış pankreasta insülin bulunuşu.**



Yapılan diğeri bir çalışmada tip 2 diyabetli hastalarda oksidatif stresin oluşumuna bir kanıt olarak lipit hidroperoksit ürünlerinin oluşumuna bakılmıştır (LHP: lipid hydroperoxide products ).

Tip 2 diyabetli hastalarda lipit hidroperoksit ürünlerinin artışı gözlemlenmiştir. Bu da bu hastalarda oksidatif stres varlığının bir kanıtıdır. Buna karşılık plazma glutasyon konsantrasyonunun sağlıklı ve diyabetli bireylerde aynı olması hücrelerde artan oksidatif strese karşı antioksidanlarda artış olmadığını ve ekzojen olarak antioksidan verilmesi gerektiğini göstermektedir (77).

Diyabetik hastalarda plazma lipoproteinleri oksidasyona karşı daha çok hassastır. Bunun kanıtı olarak da eritrositlerde süperoksit dismutaz aktivitesinin artışı gösterilmektedir. Dolaşım sistemi ile ilgili komplikasyonlar diyabetle çok ilişkilidir. Diyabetik hastalarda arterosklerozis ve hipertansiyon sıklığı fazladır. Tip 2 diyabetli hastalarda bu hastalıklar daha fazla görülmektedir ve oksidatif stres bu hastalıkların oluşmasında oldukça etkilidir.

Serbest radikaller ayrıca nöropatide büyük rol oynar. Böyle hastalar vitamin C ve E verilmesi intraselüler glutasyon seviyesini artmasını sağlamıştır ve hastalarda değişim gözlenmiştir. Bu sonuçlara bakılarak antioksidanların diyabetik komplikasyonlarda önemli bir rol oynadığını söyleyebiliriz (78).

Amerika'da yapılan bir çalışma diyabetin oluşturduğu bir durum olan ketozisin oksijen radikalleri oluşumuna yol açtığını ileri sürmektedir. Bunun sonucu olarak fosfotidilserin molekülleri lipid bilayer zar tabakasından çıkarlar ve hücreyi apoptoza gtrrleri. Daha sonra monositlerin endotelyuma adezyonunu sağlanır ve arterosklerozisin oluşumu için gerekli koşullar sağlanmış olur. Ayrıca bu çalışmada ketoasitlerin oluşturduğu süperoksit radikali (O<sub>2</sub>) seviyelerine bakılmıştır. Elde edilen verilere göre Asetoasetat, Beta- hidroksibtirata göre daha fazla süperoksit radikali oluşturma yeteneğindedir. Oluşan süperoksit radikalleri süperoksit dismutaz enzimi (SOD) ile azaltılmaktadır. Diyabetle oluşan ketoasitlerin oksidatif stres yaratabileceği bu şekilde gösterilmektedir ve antioksidan enzimlerin bu etkiyi azaltmadaki görevi açıkça görülmektedir (79).

Bu sonuçlar gösteriyor ki serbest radikallerin oluşumuyla meydana gelen oksidatif stres diyabetin oluşmasında önemli bir rol oynamaktadır (80).

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1.MATERYAL

##### 3.1.1. Vakaların Oluşturulması, Gruplama ve Deneysel Uygulama İle İlgili Hususlar

Çalışmamız; Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi Endokrin Polikliniği ve Türk Diyabet Cemiyeti'ne başvuran hastalarda gerçekleştirildi. Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Komisyonu tarafından 24 Nisan 2009 tarih ve 2009/131 numaralı kararı ile tez projesi olarak onaylandı. Daha sonra 09102002 numarası ile Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Koordinatörlüğü tarafından desteklenmesine karar verildikten sonra çalışmaya başlandı.

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Endokrin Polikliniği'nde ve Türk Diyabet Cemiyeti'nde tanı almış 20 yaş ve üzeri 25 (13 erkek, 12 kadın) diyabet hastası çalışmaya dahil edildi. Bireyler seçilirken, DM tanısı için ADA kriterleri temel alındı. Bu kriterlere göre açlık serum glukoz düzeyi 126 mg/dL ve üzerinde olanlar ile polidipsi, poliüri, polifaji gibi semptomları olan hastalar çalışmaya alındı. Hastalara standart olarak biguanid grubu oral hipoglisemik tedavi verildi. Hastalardan 9 tanesinin bazal HbA1c düzeyleri %9'un üzerinde olduğundan bu hastalara tedaviye insülin eklendi.

Kontrol grubu olarak hasta grubu ile yaş, cinsiyet ve eğitim düzeyi yönünden benzer olan ve her hangi bir akut ya da kronik hastalığı olmayan; diyabete özgü semptomları olmayan ve açlık serum glukozu <110 mg/dl olan 20 (9 erkek, 11 kadın) sağlıklı birey çalışmaya dahil edildi.

Hasta ve kontrol grubunu oluşturan bireylere projenin amacı ve kapsamını açıklayıcı bilgiler verildikten sonra kendilerinden yazılı aydınlatılmış onam belgesi alındı.

Kardiyovasküler veya serebrovasküler olay hikayesi olanlar, konjestif kalp yetmezliği, hepatik veya renal hastalığı olanlar, 12 aydan daha önce ACE inhibitörü veya anjiyotensin reseptör blokörü kullananlar, diğer antihipertansif ilaçlardan veya lipid düşürücü ajanlardan kullanmış olanlar, vitamin, CoQ<sub>10</sub> ve Omega-3, Omega-6, DHA vb preperatları alanlar, sigara ve alkol kullananlar ile çalışmaya katılmayı kabul etmeyenler çalışmaya dahil edilmedi.

### **3.1.2. Örneklerin Toplanması ve Saklanması**

Hasta ve kontrol gruplarındaki bireylerden 8-12 saat açlığı takiben sabah saatlerinde venöz kan örnekleri; serum örnekleri için herhangi bir koruyucu ve antikoagülan madde içermeyen tüplere ve plazma örnekleri için ise antikoagülan olarak EDTA içeren tüplere alındı.

Alınan kan örnekleri Hettich marka santrifüj cihazı ile 4000 rpm/dk hızla 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Serum örneklerinden glukoz, trigliserid, total kolesterol, HDL kolesterol ve insülin, tam kan örneklerinden HbA1c analizleri hemen yapıldı. Glukoz ve lipid paneli Siemens marka Dade Bahring cihazında, HbA1c ise Primus PDQ plus cihazında çalışıldı. Ayrıca daha sonra çalışılacak biyokimyasal analizler (8-isoprostan ve koenzimQ) için yeterli miktarda plazma örneği ayrılarak -80° C'de derin dondurucuda analiz süresine kadar saklandı.

### **3.1.3. Fiziksel Özelliklerin Ölçümü**

#### **3.1.3.1. Arteriyel Tansiyon Ölçümü**

Arteriyel kan basıncı ölçümleri, 10 dakikalık istirahat sonrası oturur pozisyonda sağ koldan Oncomed marka sfigmomanometre ile yapıldı.

#### **3.1.3.2. Vücut Kütle İndeksi Hesaplanması**

Çalışmaya katılan bireylerin; boyları metre olarak, vücut ağırlığı ise kg olarak ölçüldü. Obezite ölçütü olarak, vücut ağırlığının (kg) boyun karesine (m<sup>2</sup>) bölünmesiyle elde edilen vücut kitle indeksi (BMI) kullanılmıştır. Çalışmaya alınanlarda BMI> 30 kg/m<sup>2</sup> olanlar obez olarak, BMI=18.5-24.9 kg/m<sup>2</sup> olanlar ise normal kabul edilmiştir.

$$\text{BMI (kg/m}^2\text{)} = \text{Vücut ağırlığı (kg)} / \text{boy}^2 \text{ (m}^2\text{)}$$

#### **3.1.3.3. Bel Çevresi ve Kalça Çevresi Ölçümü**

Bel çevresi olarak, arkus kostarum ile processus spina iliaka anterior süperior arasındaki en dar çap, kalça çevresi olarak da arkada gluteus maksimusların en çıkıntılı yerinden ve önde simfizis pubis üzerinden geçen en geniş çap kabul edildi.

### 3.1.4. Cihazlar ve teknik araç, gereçler

Biotek EL/50 ELISA yıkama cihazı

Biotek EL/800 ELISA okuma cihazı

NM 110 shaker

Agilent 1100 Series HPLC sistemi

ImmuChrom HPLC kolon (IC 1700rp)

Hettich Micro 2000 santrifüj

Thomas Scientific vorteks

Medispec mikropipetler (10-100 µl ve 100-1000 µl ayarlamalı)

Ultra saf su

## 3.2. METOD

### 3.2.1. Plazma 8-İsoprostan Düzeyi Tayini

Plazma 8-isoprostan düzeyi analizi için 8-isoprostan ticari kiti (Cayman, USA, katalog no: 516351.1) kullanılarak enzim immunoassay yöntemi ile ölçüm yapıldı. Ölçüm prensibi yarışmalı enzim immunoassay esasına dayanmaktadır.

Yöntemin çalışma içi % CV değerleri 5,1 pg/ml ve 500 pg/ml konsantrasyonlarda sırasıyla %20 ve %12,6 şeklindedir. Çalışmalar arası % CV değerleri ise aynı düzeydeki standartlar için %12,5 ve %10,5 olarak belirlenmiştir. Saptayabildiği en düşük 8-isoprostan konsantrasyonu ise 2,7 pg/ml dir.

#### **Kullanılan Malzemeler**

1. 8 isoprostan afinite kolonu

2. Eikozanoid afinite kolon tamponu (İçinde 13,3 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 3,22 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,5 g NaN<sub>3</sub> ve 29,2 g NaCl bulunan pH'sı 7,4 olan 0,1 M fosfat tamponu)

3. Eikozanoid afinite kolon elüsyon çözeltisi (%95 etanol ve %5 ultra saf su içeren çözelti)

4. EIA tamponu

#### **Numune Hazırlanması**

1. Tüm örnekler kolona uygulanmadan önce santrifügasyon ile partikül ve çökeltilerden arındırıldı.

2. Plazma örnekleri 1:5 oranında kolon tamponu ile seyreltildi ve kolona tatbik edildi. Örneğin tamamının kolondan süzülmesi için beklendi.

3. 4 ml' lik kolon 2 ml kolon tamponu ile ve takiben 2 ml ultra saf su ile yıkandı. Tüm suyun kolondan süzülmesi beklendi. Süzüntüler atıldı.

4. Bir kere 2 ml' lik elüsyon çözeltisi ile örnekteki 8 isoprostan ayrıldı.

5. Elüsyon çözeltisi azot gazı ile uçuruldu.

6. Tüplerdeki 8 isoprostan zaman geçirmeden 250 µL EIA tamponunda çözüldü.

7. Kolon 5 ml ultra saf su ve 5 ml kolon tamponu ile yıkanarak yenilendi ve ikinci bir örneğin saflaştırma işlemi için kullanıldı. (Firma tarafından hazırlanan ekstraksiyon protokolünde her bir kolonun 2 örneğin ekstraksiyonu için kullanılabileceği belirtilmişti).

#### **Reaktiflerin Hazırlanması**

##### **1. 8 isoprostan standardı**

Pipet ucu bir kaç kez etanol pipetlenerek etanolla sıvandı. Daha sonra standart vialinden 100 µL alınarak temiz bir tübe konuldu. 900 µL ultra saf su ile seyreltildi. Elde edilen stok standart konsantrasyonu 5 pg/ml oldu. Seri standart örneklerini hazırlamak için 8 adet tüp alındı ve 1'den 8'e kadar numaralandı. EIA tampondan ilk tübe 900 µL diğer tüplere ise 750 µL eklendi. Stok standarttan ilk tübe 100 µL aktararak karıştırıldı. Daha sonra sırasıyla her tübe bir öncekinden 500 µL aktarılıp karıştırılarak 8 ayrı standart çözeltisi hazırlandı. (Hazırlanmış standartlar 24 saat stabildir).

## **2. 8 isoprostan AchE Tracer**

Bir vialı 6 ml EIA tampon ile sulandırıldı. (Hazırlanmış olan işaretleyici +4°C' de saklanmalı ve 4 hafta içinde kullanılmalıdır.)

## **3. 8 isoprostan antiserum**

Bir vialı 6 ml EIA tampon ile sulandırıldı. (Hazırlanmış olan antiserum +4°C' de saklanmalı ve 4 hafta içinde kullanılmalıdır.)

## **Çalışma Prosedürü**

1. 100 µL tampon, NSB (özgün olmayan bağlanma) için ayrılmış olan kuyucuklara pipetlendi. 50 µL EIA tamponu B<sub>0</sub> (maksimum bağlanma) için ayrılmış olan kuyucuklara pipetlendi.
2. 8 numaralı standarttan S<sub>8</sub> için ayrılmış olan kuyucuklara 50 µL pipetlendi ve 8' den 1' e doğru tüm standartlar tamamlanıncaya kadar herbiri için ayrılmış olan kuyucuklara aynı pipet ucuyla ve her seferinde pipet ucu alınacak standarttan birkaç kez aspire edilip bırakılarak standartların pipetlemeleri yapıldı.
3. Örneklerden kendileri için ayrılmış kuyucuklara 50' şer µL pipetlendi.
4. 8 isoprostan AchE Tracer TA (total aktivite) ve Blank (Blk) kuyucukları hariç tüm kuyucuklara 50' şer µL pipetlendi.
5. 8 isoprostan antiserum TA (total aktivite), NSB ve Blank (Blk) kuyucukları hariç tüm kuyucuklara 50' şer µL pipetlendi.
6. Plate plastik film ile kaplandı ve +4°C' de 18 saat inkübe edildi.
7. Ellman reaktifi kullanımdan hemen önce hazırlandı. 96' lık bir plate için 20 ml reaktif yeterli olabileceği için bir vial reaktif 20 ml ultra saf su ile sulandırıldı.
8. Kuyucuklar boşaltılarak yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı.
9. Her kuyucuğa 200 µL Ellman reaktifi konuldu.

10. Total aktivite kuyucuklarına 5  $\mu$ L işaretleyici konuldu.

11. Plate tekrar plastik film ile kaplandı ve karanlıkta oda sıcaklığında orbital çalkalayıcı üzerinde 90-120 dakika süre ile renk oluşumu için beklendi.

12. Plate 405-420 nm dalga boyu arasında  $B_0$  kuyucuklarının kör absorbansı çıkarıldıktan sonraki absorbansları 0,3-1,0 AU arasında olduğunda okundu.

### **Hesaplama**

Standart konsantrasyonunun logaritmasına (x eksen) karşı standartların %B/ $B_0$  (y eksen) değerlerinden standart eğrisi elde edildi ve bu eğriden elde edilen denklemde örneklerin %B/ $B_0$  değerleri girilerek konsantrasyonları pg/ml olarak hesaplandı.

### **3.2.2. Koenzim $Q_{10}$ Tayini**

Co $Q_{10}$  tayininde Immuchrom marka HPLC analiz kiti (Immuchrom, Almanya) (Cat No:IC1700) ve yine aynı firmaya ait HPLC kolon (Cat No: IC 1700rp) kullanıldı.

### **Kullanılan Malzemeler**

1. Mobil faz (ELU) 1000ml
2. Kalibratör (CAL) 5Vial (500 $\mu$ )
3. İnternal standart (IS) 110ml
4. Rekonstitüsyon solüsyonu (RECON) 5ml
5. Ekstraksiyon solüsyonu (EXT) 220ml
6. Dilüsyon solüsyonu (DIL) 85 ml
7. Etanol (ETHA) 20 ml

## Yöntemin Prensibi

CoQ<sub>10</sub> tayininde ilk basamak yüksek molekül ağırlığı olan maddelerin çöktürüldüğü presipitasyon işlemidir. İnternal standart eklenir. Santrifügasyondan sonra süpernatant ekstraksiyon solüsyonu ile karıştır ve organik faza geçer. Organik solvent uçurulur. Tüpte kalan numune etanol fazına geçirilerek HPLC sistemine enjekte edilir.

HPLC'de 30 °C'de karışıt faz kolon ile 15 dakikada ayırma gerçekleştirilir. UV dedektörü ile kromatogramlar şeklinde ölçümler dönüştürülür. Numune CQ<sub>10</sub> konsantrasyonları, numune pik alanlarının internal standartın pik alanları ile kıyaslanması ile hesaplanır.

Yöntemin çalışma içi ve çalışmalar arası % CV değerleri sırasıyla;

Çalışma içi CV: % 2.1 (0.52 µg/ml) [n = 6] ve % 0.6 (1.23 µg/ml) [n = 6]

Çalışmalar arası CV: % 6.0 (0.50 ng/ml) [n = 6] ve % 6.2 (1.17 µg/ml) [n = 6] şeklindedir.

Saptayabildiği en düşük CoQ<sub>10</sub> konsantrasyonu 0,02 µg/ml'dir.

## Çalışma Prosedürü

200 µl numune, kalibratör veya kontrol üzerine 800 µl dilüsyon solüsyonu eklenip vortekste 10 sn karıştırıldı. Yine üzerine 1ml internal standart eklenip vortekste 10 sn karıştırıldı ve 2 ml ekstraksiyon solüsyonu eklenip 2 dk vortekslendi. Daha sonra 10sn 3000g' de santrifüj yapıldı. Üstteki tabakadan 1,5 ml alınıp azot gazı ile uçuruldu. 150 µl etanol ile tüpteki CoQ<sub>10</sub> çözdürüldü ve bu örneğin 50 µl' si HPLC sistemine enjekte edildi.

## Kromotografik ayarlar

KOLON MATERYALİ : Bischoff Prontosil AQ, 5 µm

KOLON BOYUTU : 125 mm x 4 mm

AKIŞ HIZI : 0.8-1.2 ml/ dk

UV-DETEKSİYON : 275 nm



İNJEKSİYON HACMI : 100 µl

AKIŞ SÜRESİ : 15 dk

SICAKLIK : 30 °C

### Hesaplama

Numune konsantrasyonu (µg/ml) = Hasta pik sahası x Standart konsantrasyonu x F

Hasta pik sahası

F= Kalibratör IS pik sahası

Kalibratör analit pik sahası

### 3.2.3. Diğer Biyokimyasal Ölçümler

Glukoz, trigliserid, total kolesterol, HDL-kolesterol konsantrasyonları enzimatik kolorimetrik yöntemlerle Dimension Xpand (Dade Behring, SIEMENS) orijinal Dade Behring kitleri kullanılarak ölçüldü. LDL-kolesterol düzeyleri Friedewald formülü ile aşağıdaki şekilde hesaplandı.

Total kolesterol (mg/dl) = HDL-kolesterol + VLDL ([Trig]/5) + LDL-kolesterol.

### HbA1c analizi

HbA1c analizi HPLC tekniği ile Primus PDQ plus cihazında gerçekleştirildi.

### İnsülin rezistansının belirlenmesi

İnsülin rezistansının belirlenmesinde homeostaz model değerlendirmesi (HOMA) kullanıldı (Matthews ve ark 1985). HOMA-IR indeksinin hesaplanmasında şu formülden faydalanıldı:

HOMA-IR=  $\frac{\text{Açlık insülini (U/ml)} \times \text{açlık glukozu (mmol/L)}}{22,5}$

22,5

### 3.2.4. İstatistiksel Analiz

Bulguların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS 15.0 for Windows istatistik paket programı kullanıldı. Önce hastaların ilk teşhisteki ve tedavi sonrası 3.aylarına ve kontrol gruplarına ait demografik ve analitik verilerin dağılım analizleri Shapiro Wilk dağılım analizi ile yapıldı. Hastaların tedavi öncesi ve tedavi sonrası 3.aylarının kendi içinde analizinde normal dağılım gösteren parametreler (bel çevresi, kalça çevresi, total kolesterol ve LDL kolesterol) için paired-sample t testi yapıldı. Normal dağılım göstermeyen parametreler (BMI, sistolik kan basıncı, diastolik kan basıncı, serum glukoz, trigliserit, HDL-kolesterol, HbA1c ve insülin ile 8-isoprostan ve CoQ<sub>10</sub> düzeyleri ve HOMA-IR indeksleri) için ise nonparametrik testlerden Wilcoxon testi kullanıldı. Hastaların kontrol grubu ile karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren parametreler(kalça çevresi, sistolik kan basıncı ve kolesterol) için bağımsız t testi yapıldı. Normal dağılım göstermeyen parametreler (BMI, bel çevresi, diastolik kan basıncı, serum glukoz, trigliserit, HDL-kolesterol, HbA1c ve insülin ile 8-isoP ve CoQ<sub>10</sub> düzeyleri ve HOMA-IR indeksleri) için ise nonparametrik testlerden Mann Whitney U kullanıldı. Parametreler arasındaki ilişkiler ikişerli olarak Spearman nonparametrik korelasyon analizi ile değerlendirildi.  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

#### 4.BULGULAR

Çalışma gruplarımız Tip II DM' li hastalar ve sağlıklı kontrolden oluşturuldu. Hasta ve kontrol grubunun yaş ortalamaları benzerdi.

Hasta grubunda tedavi öncesi ve 3 aylık tedavi sonrasında tüm ölçümler tekrarlandı. Diyabetik grupta tedavi öncesi ölçümlerle ve kontrol grubu karşılaştırıldığında BMI, kalça çevresi, bel çevresi ve sistolik kan basıncı ölçümleri diyabetik grupta tedavi öncesinde kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Diastolik kan basıncı ölçümleri diyabetik grupta tedavi öncesinde kontrol grubuna göre yüksek bulunsada bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 4). Biyokimyasal ölçümler karşılaştırıldığında ise glukoz, HbA1c, trigliserit, total kolesterol, insulin ve 8-isoprostan seviyeleri ile HOMA-IR indeksi değerleri diyabetik grupta tedavi öncesinde kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. CoQ10, LDL ve HDL-kolesterol seviyeleri ise kontrolden farklıydı ama bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 5).

Hasta grubundaki bireyler kendi içinde demografik özelliklerin dağılımı açısından incelendiğinde tedavi sonrası 3.aylarında tedavi öncesine göre BMI, bel çevresi ve kalça çevresi ölçümlerinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. Sistolik ve diastolik kan basıncında ise bir fark olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi(Tablo 4). Biyokimyasal analiz sonuçları değerlendirildiğinde ise tedavi sonrası 3.aylarında tedavi öncesine göre serum glukoz, HbA1c, trigliserit, total kolesterol, LDL-kolesterol, 8-isoprostan ve CoQ10 seviyeleri ile HOMA-IR indeksinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. HDL- kolesterol ve insulin düzeylerinde ise bir fark görülmesine rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo5).

Diyabetik grupta tedavi sonrası ölçümler ile kontrol grubu demografik özellikler yönünden karşılaştırıldığında kalça çevresi, bel çevresi ve BMI değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Sistolik ve diastolik kan basıncında ise bir fark olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 4). Biyokimyasal analiz sonuçları karşılaştırıldığında ise glukoz, HbA1c, trigliserit, CoQ10 ve insulin düzeyleri ile HOMA-IR indeksi değerleri ise kontrole göre yüksek bulundu. Total kolesterol, 8-isoprostan, HDL ve LDL-kolesterolde ise bir fark bulunmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 5).

Parametreler arasındaki ilişkiler ikişerli olarak Spearman nonparametrik korelasyon analizi ile değerlendirildi. Bu analiz sonuçlarına göre 8-isoprostan düzeyleri ile glukoz ( $r=0,590$ ,  $p=0,0001$ ), HbA1c ( $r=0,604$ ,  $p=0,0001$ ), LDL-kolesterol ( $r=0,295$ ,  $p=0,037$ ) ve CoQ10 ( $r=0,367$ ,  $p=0,009$ ) düzeyleri ile HOMA-IR ( $r=0,454$ ,  $p=0,0001$ ) indeksi arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Diğer parametrelerle 8-isoprostan arasında ise anlamlı bir korelasyon saptanmadı (Tablo 6).

CoQ<sub>10</sub> düzeyleri ile bel çevresi ( $r=0,314$ ,  $p=0,027$ ) ölçümü ile glukoz ( $r=0,482$ ,  $p=0,0001$ ), HbA1c ( $r=0,404$ ,  $p=0,004$ ), trigliserit ( $r=0,442$ ,  $p=0,001$ ), total kolesterol ( $r=0,504$ ,  $p=0,0001$ ), LDL-kolesterol ( $r=0,437$ ,  $p=0,002$ ) ve 8-isoprostan ( $r=0,367$ ,  $p=0,009$ ) düzeyleri arasında pozitif korelasyonlar bulunmuştur. Diğer parametrelerle CoQ10 arasında ise anlamlı korelasyon saptanmadı (Tablo 6).

**Tablo 4. Diyabetes Mellitus ve kontrol gruplarına ait demografik özellikler**

<i>Parametre</i>	<i>Kontrol Grubu</i>	<i>Diyabetik Grup Tedavi Öncesi</i>	<i>Diyabetik Grup Tedavi Sonrası</i>	<i>P</i>
N	20		25	
Erkek	9		13	
Kadın	11		12	
Yaş (yıl)	51,10±11,13		50,28±10,38	$p=0,800$
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25,97±3,63	30,85±4,07	29,97±4,10	$p=0,0001^1$ $p=0,003^2$ $p=0,003^3$
Bel Çevresi (cm)	78,10±2,69	105,60±7,18	101,64±8,48	$p=0,0001$ $p=0,0001$ $p=0,0001$
Kalça Çevresi (cm)	89,95±15,62	113,44±6,81	111,16±7,98	$p=0,0001$ $p=0,0001$ $p=0,014$
Sistolik Kan Basıncı (mm Hg)	119,25±10,29	128,40±16,24	122,40±15,62	$p=0,03$ $p=0,07$ $p=0,070$
Diastolik Kan Basıncı (mm Hg)	73,75±9,58	80,40±12,06	77,20±10,61	$p=0,115$ $p=0,370$ $p=0,187$

<sup>1</sup> Diyabetik grubun tedavi öncesi ölçümleri ile kontrol grubunun ölçümlerinin karşılaştırılmasına ait istatistiksel fark

<sup>2</sup> Diyabetik grubun tedavi sonrası ölçümleri ile kontrol grubunun ölçümlerinin karşılaştırılmasına ait istatistiksel fark

<sup>3</sup> Diyabetik grubun tedavi öncesi ve sonrası ölçümlerinin karşılaştırılmasına ait istatistiksel fark

**Tablo 5. Diyabetes Mellitus ve kontrol gruplarının biyokimyasal analiz verileri**

<i>Parametre</i>	<i>Kontrol Grubu</i>	<i>Diyabetik Grup Tedavi Öncesi</i>	<i>Diyabetik Grup Tedavi Sonrası</i>	<i>P</i>
Glukoz (mg/dl)	89,90±9,18	207,08±80,66	121,32±25,29	p=0,0001 <sup>1</sup> p=0,0001 <sup>2</sup> p=0,0001 <sup>3</sup>
Trigliserit (mg/dl)	86,95±34,94	209,12±180,96	153,88±85,33	p=0,0001 p=0,001 p=0,045
Total Kolesterol (mg/dl)	163,65 ±31,88	205,16±46,04	177,68±45,08	p=0,001 p=0,215 p=0,028
HDL-Kolesterol (mg/dl)	39,43±13,05	41,26±9,43	43,01±9,13	p=0,367 p=0,167 p=0,271
LDL-Kolesterol (mg/dl)	108,44±23,19	123,16±32,62	101,98±37,45	p=0,096 p=0,503 p=0,021
HbA1c (mg/dl)	4,90±0,75	8,95±2,47	6,46±0,73	p=0,0001 p=0,0001 p=0,0001
İnsülin (U/l)	6,58 ±3,51	11,74±5,28	13,96±10,47	p=0,002 p=0,001 p=0,957
HOMA-IR	1,45±0,83	5,51±2,75	4,14±2,97	p=0,0001 p=0,0001 p=0,045
8-İsoprostan (pg/ml)	18,03±7,38	561,98±227,56	22,95±21,97	p=0,0001 p=0,819 p=0,0001
Koenzim Q <sub>10</sub> (µg/ml)	2,19±1,78	1,08±0,45	0,74±0,24	p=0,059 p=0,002 p=0,001

<sup>1</sup> Diyabetik grubun tedavi öncesi ölçümleri ile kontrol grubunun ölçümlerinin karşılaştırılmasına ait istatistiksel fark

<sup>2</sup> Diyabetik grubun tedavi sonrası ölçümleri ile kontrol grubunun ölçümlerinin karşılaştırılmasına ait istatistiksel fark

<sup>3</sup> Diyabetik grubun tedavi öncesi ve sonrası ölçümlerinin karşılaştırılmasına ait istatistiksel fark

**Tablo 6. 8-isoprostan ve CoQ<sub>10</sub> düzeyleri ile çeşitli demografik ve biyokimyasal ölçümler arasındaki korelasyon analizi sonuçları**

<i>Parametre</i>	<i>8-İsoprostan</i>	<i>Koenzim Q<sub>10</sub></i>
Bel Çevresi	Ö.D.*	r=0,314 p=0,027
Glukoz	r=0,590 p=0,0001	r=0,482 p=0,0001
HbA1c	r =0,604 p =0,0001	r =0,404 p =0,004
Trigliserit	Ö.D.	r =0,442 p =0,001
Total Kolesterol	Ö.D.	r =0,504 p =0,0001
LDL-Kolesterol	r =0,295 p =0,037	r =0,437 p =0,002
HOMA-IR	r =0,454 p =0,0001	Ö.D.
8-İsoprostan		r =0,367 p =0,009
Koenzim Q <sub>10</sub>	r =0,367 p =0,009	

\* Ö.D.: Önemli Değil

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Oksidatif stres, membranlardaki lipidler ve LDL-kolesterolün peroksidasyonu ile diyabetik komplikasyonların gelişmesinde oldukça önemlidir. Bu peroksitler, beta hücre işlevini bozabilir ve apoptoza sebep olur (81). Özellikle de antioksidan savunma sistemleri daha zayıf olan diyabetiklerde artan reaktif oksijen metabolitleri üretimi glikasyon ve glikooksidasyon ürünlerinin artmasına yol açmaktadır (82).

Araşidonik asitten sentezlenen F2-IsoP' lar, oksidatif stresin daha yeni ve daha güvenilir belirteçleri olarak kullanılmaktadır. Ayrıca isoprostanların hiperglisemi, vazokonstriksiyon ve diyabetik nefropati ile de ilişkili oldukları düşünülmektedir. Dolayısıyla isoprostanların idrar veya plazmada ölçümleri canlılardaki lipid peroksidasyonunu değerlendirmek için daha hassas ve güvenilir testlerdir (52, 83).

Mitokondrinin hareketli elektron taşıyıcısı olan CoQ<sub>10</sub>, etkili lipofilik bir antioksidandır. Oksidatif stres ile plazma CoQ<sub>10</sub> konsantrasyonu ve bileşenlerindeki gözlenebilir değişiklikler diyabetteki vasküler hastalıkların oluşumunda önemli rol oynamaktadır (84).

Bu çalışmada, sağlıklı bireylerde ve yeni tanı almış diyabetik hastalarda tedavi öncesi ve 3 aylık tedavi sonrasında plazma 8-isoprostan ve CoQ<sub>10</sub> düzeyleri belirlenerek; oksidatif stres belirteci olan bu iki parametrenin diyabetiklerde gerek tedavi öncesi gerek de tedavi sonrasında sağlıklı bireylerden ne kadar farklı olduğu ve bu hastalara verilen hipoglisemik tedavinin bu hastalarda kan glukoz ve lipid düzeylerinde olduğu gibi oksidatif stres üzerinde de olumlu etkileri olup olmadığının belirlenmesi amaçlandı. Ayrıca bu iki belirtecin diyabetik hastalardaki demografik özellikler ve biyokimyasal ölçümlerle ilişkili olup olmadığı da değerlendirildi.

Çalışmamızın sonunda, BMI, bel ve kalça çevreleri ile sistolik kan basıncı değerlerinin tedavi öncesinde diyabetik grupta sağlıklı bireylerden anlamlı olarak yüksek olduğu gözlemlendi. Açlık kan glukozu, HbA<sub>1c</sub>, trigliserid, total kolesterol, insülin ve 8-isoprostan düzeyleri ile HOMA-IR değerleri yine diyabetik hastalarda tedavi öncesinde kontrol grubundan anlamlı

olarak yüksek ölçüldü. CoQ<sub>10</sub>, HDL ve LDL-kolesterol ile diastolik kan basıncı değerleri ise sağlıklı bireylerle diyabetik grupta tedavi öncesinde benzerdi.

Diyabetik gruba uygulanan üç aylık hipoglisemik tedavi sonrasında ise BMI, bel ve kalça çevresinde tedavi öncesine göre belirgin bir azalma gözlemlendi. Açlık kan glukozu, HbA<sub>1c</sub>, trigliserid, total kolesterol, LDL-kolesterol, 8-isoprostan ve CoQ<sub>10</sub> düzeyleri ile HOMA-IR indeksi anlamlı olarak azalırken; HDL-kolesterol ve insülin düzeylerinin değişmediği görüldü.

Diyabetik grupta tedavi sonrasında BMI ile bel ve kalça çevresi ölçümlerinin sağlıklı kontrollerden hala anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü. Sistolik ve diastolik kan basıncı değerlerinin ise değişmediği gözlemlendi. Açlık kan glukozu, HbA<sub>1c</sub>, trigliserid, CoQ<sub>10</sub> ve insülin düzeyleri ile HOMA-IR değerlerinin tedavi sonrasında bile hala sağlıklı bireylerden anlamlı olarak yüksek olduğu görülürken; total kolesterol, LDL ve HDL-kolesterol ile 8-isoprostan konsantrasyonlarının ise tedavi ile sağlıklı bireylerdeki düzeylere kadar gerilediği bulundu.

Bizim çalışmamıza dahil ettiğimiz hastalar ADA kriterlerine göre Tip II DM tanısı almış hastalar arasından seçildi. Bu hastalar her ne kadar yeni tanı almış olsalar da ülkemizde diyabet tanısı konduğunda aslında hastaların bir çoğununun en az iki üç aydır bu hastalığın semptomlarını gösterdiği ancak bir sağlık kuruluşuna başvurmada geciktikleri bilindiğinden; en az üç aydır yüksek kan glukozu, insülin direnci ve bunlara eşlik eden ya da sekonder olarak gelişen metabolik bozukluklara sahiptirler. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar da bunu desteklemektedir. Diyabetik grupta tedavi öncesi ölçümler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; diyabetik hastaların BMI, bel ve kalça çevresi ile sistolik kan basıncı ölçümlerinin sağlıklı bireylerden anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü. Bu bulgular da diyabetik hastalarda visceral obesite ile insülin direnci ve kan basıncı yükseklikleri arasındaki ilişkilerin beklenen bir sonucudur. Bu hastaların açlık kan glukozu, HbA<sub>1c</sub> seviyeleri ve insülin direnci göstergesi olan HOMA-IR düzeylerine bakıldığında bu hastaların uzun süredir yüksek kan şekeri düzeyleri ile yaşadıkları anlaşılmaktadır.

Bulgularımıza göre DM grubunda tedavi öncesinde 8-isoP düzeylerinin kontrol grubuna göre oldukça yüksek olduğu görüldü. Üç aylık tedavi sonrasında ise 8-isoP konsantrasyonları anlamlı olarak azalmış ve kontrol grubun seviyelerine gerilemiştir.

Diyabette oksidatif stres artışı bilinen bir gerçektir. Oksidatif stresin daha hassas bir belirteci olan 8-isoP düzeylerinin DM' de plazma veya idrarda ölçümü ile ilgili literatürde benzer sonuçlar elde edilmiştir. İlk olarak Gopaul ve arkadaşları DM' lilerde sağlıklı bireylere



göre daha yüksek plazma 8-isoP konsantrasyonlarını rapor etmişlerdir (85). Daha sonra bir grup araştırmacı tarafından domuz vasküler düz kas kültür hücre ortamında 8-isoP üretimi araştırılmış ve yüksek glukoz düzeyine sahip kültür ortamında normal glukoz düzeylerine sahip hücre ortamına göre 8-isoP üretiminin arttığı gözlenmiştir. Ayrıca aynı araştırmacılar bu üretimin PDGF ve TGF- $\beta$  gibi bazı büyüme hormonları tarafından uyarıldığını göstermişlerdir (86). Sampson ve arkadaşları da plazma 8-isoprostan düzeylerine kan şekeri düzeylerindeki akut yüksekliğin etkisini ortaya koymak için tip II DM' li hastalara 75 g glukoz vererek glukoz tolerans testi yapmış ve glukoz verilmesinden sonra 90.dakikada 8-isoP düzeylerinin anlamlı olarak arttığını gözlemişlerdir (87).

DM' de gerek idrar gerekse plazma 8-isoP seviyelerindeki artmanın hem kronik hem de akut hiperglisemi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu bulgular bizim sonuçlarımız ile de uyumludur. Çalışmamızda tip II DM' li hastalarda hem bazal hem de 3 aylık tedavi sonrasında plazma 8 isoP düzeyleri ölçüldü ve bu hastalarda artmış olan plazma düzeylerinin tedavi sonrası anlamlı olarak azaldığı bulundu. Bizim hastalarımıza standart olarak biguanid grubu hipoglisemik tedavi verildi, sadece 9 hastamızın başlangıç HbA1c düzeyleri %9' dan büyük olanlara biguanid tedavisine ek olarak insülin başlandı.

Literatürdeki değişik tedavilerin bu düzeylere etkisini araştıran çalışmalar sadece E vitamini, insülin ve tioglitazon tedavisi ile sınırlıdır. Bunlarda da gerek antioksidan olarak verilen vitamin E desteğinin gerek de kan glukoz düzeylerini düşürmeye yönelik tedavilerin benzer olarak plazma ve idrar 8-isoP düzeylerini azalttığı gösterilmiştir. Zucker ratlarda yapılan bir çalışmada plazma 8-isoP düzeylerinin 5 katına kadar arttığı, ancak diyetlerine eklenen E vitamini tedavisi ile tekrar düştüğü gösterilmiştir (88). Tip I ve tip II DM' li hastalarda idrar 8-isoP üretiminin ve bu oksidatif stres belirteci üzerine metabolik kontrol ve vitamin E desteğinin etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise her iki tip DM' de de 8-isoP konsantrasyonlarının idrarda arttığı ve vitamin E verilmesi ile tip II DM' de idrar düzeylerinin azaldığı bulunmuştur (52). Benzer olarak tip II DM' li hastaların bazal 8-isoP düzeylerinin bu hastalara verilen E vitamini desteği ile azaldığı gösterilmiştir (89). Shinomiya ve arkadaşları, diyabetik ratlarda tioglitazon ve vitamin E' nin aort dokusu ve plazma 8-isoP düzeyleri üzerine etkisini araştırmış ve doku düzeylerinin her iki tedavi türünde de azaldığını, plazma düzeylerinin ise sadece vitamin E desteği alan ratlarda azaldığını göstermişlerdir (90). Yeni tanı almış Tip I DM' li hastalarda bazal ve insülin tedavisi sonrası idrar 8-isoP düzeylerinin

araştırıldığı bir başka çalışmada ise DM grubunun bazal düzeylerinin kontrol grubundan yüksek olduğu, insülin tedavisi ile kan glukozunun normalleştirilmesinden sonra ise belirgin olarak azaldığı görülmüştür (91).

Bizim sonuçlarımıza göre plazma CoQ<sub>10</sub> düzeyleri tedavi öncesinde DM' li hastalarla kontrol grubunda benzerdi. Ancak hastaların tedavi sonrası düzeyleri tedavi öncesine göre belirgin olarak azalmıştı. Hatta, tedavi sonrası CoQ<sub>10</sub> düzeyleri, sağlıklı kontrollerden bile düşük bulundu. Bu azalma tedavinin antioksidan sistem üzerine olumsuz etkisinden ziyade DM' de artmış oksidatif stres nedeniyle CoQ<sub>10</sub>' un antioksidan olarak kullanımından kaynaklanıyor olabilir. Dolayısıyla bu da 8-isoP düzeylerindeki azalmada ilaç tedavisine CoQ<sub>10</sub>' un da katkısı olduğunu düşündürmektedir.

Literatürde DM' de CoQ<sub>10</sub> düzeyleri ile ilgili yapılmış değişik çalışmalar vardır. Bazıları bazal veya uyarılmış düzeyleri bazıları da CoQ desteğinin etkisini araştırmaya yöneliktir. Lim ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada normal ve bozulmuş glukoz toleransı olan bireylerle tip II DM' li hastalarda CoQ<sub>10</sub> düzeyleri ölçülmüş; normal glukoz toleransı olanlarda, bozulmuş glukoz toleransı olanlarla DM' li hastalara göre plazma ubiquinol/total CoQ<sub>10</sub> oranının daha düşük olduğu gözlenmiştir (84). Diyabetik hastalarda öğün sonralarında kan glukoz ve CoQ<sub>10</sub> düzeylerinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise kan glukoz düzeylerinde dalgalanma olurken CoQ<sub>10</sub> düzeylerinin kahvaltı sonrasında arttığı ve gün boyunca yüksek kaldığı gösterilmiştir (92). Tip II DM' li hastalarla sağlıklı bireylerde plazma ve trombosit MDA ile plazma CoQ<sub>10</sub> düzeylerinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise plazma CoQ düzeylerindeki azalmanın lipid peroksidasyonundaki artmaya paralel olduğu ortaya konulmuştur (93). Salardi ve arkadaşlarının Tip I DM' li çocuk ve adolesanlarda yaptıkları bir çalışmada CoQ düzeylerinin DM' de sağlıklı bireylerden farklı olmadığı; ancak kan şekeri regülasyonu bozuk olanlarda iyi olanlarla karşılaştırıldığında CoQ konsantrasyonlarının daha yüksek olduğu gösterilmiştir (94). Tip I DM' li çocuklardaki bir başka çalışmada ise CoQ<sub>10</sub>' un plazma ve kan hücre düzeyleri ile redoks durumlarını araştırılmış, DM' li çocuklarda plazma CoQ<sub>10</sub> düzeylerinin sağlıklı bireylerden yüksek olduğu, eritrosit ve trombosit CoQ<sub>10</sub> konsantrasyonlarında ise böyle bir değişiklik olmadığı belirtilmiştir. Aynı çalışmada özellikle kan şekeri regülasyonu bozuk olan DM' li çocuklarda trombosit redoks durumunun da indirgenmiş CoQ<sub>10</sub> şeklinde değiştiği görülmüştür (95). Diyabetik ratlara CoQ<sub>10</sub> verilmesi ile dokuda lipid peroksidasyon

ürünlerinin azaldığı, glutatyon ve glutatyon peroksidaz düzeylerinin ise arttığı gösterilmiştir (96).

Görüldüğü gibi diyabette CoQ<sub>10</sub> düzeyleri ile ilgili elde edilen sonuçlar da birbirinden farklıdır. Bir kısmında diyabette plazma CoQ<sub>10</sub> düzeylerinin arttığı belirtilirken; bazılarında ise azaldığı ya da değişmediği söylenmiştir. Bizim çalışmamızda DM ile sağlıklı kontrol grupları arasında bir fark bulunamazken; tedavi sonrasında 8-isoP düzeylerindeki azalmaya paralel olarak CoQ<sub>10</sub> düzeylerinin de azaldığı görülmüştür. Bulgularımız Salardi ve arkadaşlarının sonuçlarına benzemektedir. Kan glukoz düzeylerinin düşmesi ve oksidatif stresin azalmasına paralel olarak CoQ<sub>10</sub> düzeylerinin azaldığı düşünülmektedir.

Çalışmamızda 8-isoP düzeylerinin kan glukoz, HbA1c, LDL-kolesterol, ve CoQ konsantrasyonları ve HOMA-IR değerleri ile pozitif korelasyon gösterdiği bulunmuştur. Daha önce yapılan çalışmaların bazılarında (86, 88) 8-isoP düzeylerinin glukoz ve HbA1c düzeyleri ile korelasyon gösterdikleri belirtilirken; bazılarında ise 8-isoP ile hiçbir parametre arasında anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır (87, 91). Bizim sonuçlarımızda öncekilerden farklı olarak 8-isoP üretiminin insülin rezistansı ve LDL-kolesterol ile de ilişkili olduğu görülmüştür. Bu bulgu diyabetik hastalarda kan şekerinden başka obeziteyle ilişkili bir durum olan insülin rezistansının ve LDL-kolesterolün de isoprostan üretimini artırdığını ortaya koymaktadır. Ancak hastalarımızda bel ve kalça çevresi ile BMI ölçümleriyle isoprostan düzeyleri arasında bir ilişki bulunamadı.

Bulgularımıza göre CoQ<sub>10</sub>' un ise bel çevresi, glukoz, HbA1c, trigliserid, total ve LDL-kolesterol ve 8-isoP düzeyleri ile ilişkili olduğu görülmüştür. Literatürde ise CoQ<sub>10</sub> ile sadece glukoz ve HbA1c düzeyleri arasında ilişki bulunmuştur (92, 94, 95). Bizim çalışmamızda CoQ<sub>10</sub> düzeylerinin sadece glukoz düzeyi ve glisemik kontrolle değil kan lipid düzeyleri ve visseral obezitenin göstergesi olan bel çevresi ölçümü ile de ilişkili olduğu görülmüştür. 8-isoP düzeyleri ile olan lineer ilişkisi de bir antioksidan olarak oksidatif stresle olan ilişkisini ortaya koymaktadır.

## **Sonuç ve Öneriler**

Tip II DM' li bireylerde sağlıklı bireylere göre artmış 8-isoP düzeylerinin bu hastalarda oksidatif stres artışının bir göstergesi olduğu ve diyabet hastalarına verilen biguanid grubu oral hipoglisemik ilaçlar ve insülin tedavisinin oksidatif stresi ve plazma 8-isoP düzeylerini azalttığı söylenilebilir. Plazma 8-isoP konsantrasyonları ile glukoz, HbA1c, LDL-kolesterol, CoQ düzeyleri ve HOMA-IR insülin rezistans indeksleri arasında pozitif yönde kuvvetli ilişkiler olduğu görüldü. CoQ<sub>10</sub> düzeyleri de DM' li hastalarda sağlıklı bireylerdekinden farklı değilken; bu hastalarda 3 aylık tedavi sonrasında glisemik kontrolle oksidatif stresin azalması ve 8-isoP seviyelerinin düşmesine paralel olarak azaldığı bulundu.

Sonuç olarak; DM hastalarının çok yoğun bir oksidatif strese maruz kaldıklarını, bunun kan şekeri regülasyonu ve antioksidan savunma mekanizmalarından etkilendiğini; dolayısıyla bu hastalara dışarıdan antioksidan desteği verilmesinin faydalı olabileceği kanaatindeyiz.

## ÖZET

**Amaç:** Diyabet, mortalite ve morbiditelerinin sıklığı ve komplikasyonlarına bağlı ciddi ekonomik ve toplumsal etkileri olan önemli bir hastalıktır. Çalışmamızda, yeni tanı almış tip II DM hastalarında ve sağlıklı bireylerde plazma 8-isoprostan (8-isoP) ve koenzim Q<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>) düzeylerini ve diyabetik hastalara verilen üç aylık hipoglisemik tedavinin bu parametrelere etkisini araştırmayı amaçladık.

**Materyal ve Metod:** Yeni tanı almış 25 erişkin tip II diyabet hastası ve 20 sağlıklı birey çalışmaya dahil edildi. Sağlıklı bireylerde ve tip II diyabetli hastalarda tedavi öncesinde ve üç aylık tedavi sonrasında plazma 8-isoP ve CoQ<sub>10</sub> düzeyleri ölçüldü.

**Bulgular:** Diyabetik grupta tedavi öncesinde 8-isop düzeyleri sağlıklı kontrollerden anlamlı olarak yüksek bulunurken ( $p < 0.05$ ); CoQ<sub>10</sub> düzeyleri açısından böyle bir fark bulunamadı ( $p > 0.05$ ). Üç aylık hipoglisemik tedavi sonrasında ise plazma 8-isoP düzeylerinin bazal düzeyler ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak azaldığı ( $p < 0.05$ ), kontrol grubu ile benzer düzeylere ulaştığı görüldü ( $p > 0.05$ ). CoQ<sub>10</sub>' nun diyabetik grupta tedavi sonrası düzeyleri ise hem tedavi öncesine hem de sağlıklı bireylere göre anlamlı olarak düşük bulundu ( $p > 0.05$ ).

**Sonuç:** Diyabetik hastaların çok yoğun bir oksidatif strese maruz kaldıklarını, bunun kan şekeri regülasyonu ve antioksidan savunma mekanizmalarından etkilendiğini; dolayısıyla bu hastalara antioksidan desteği verilmesinin faydalı olacağını söyleyebiliriz.

**Anahtar Kelimeler:** Diyabetes Mellitus, Oksidatif stres, 8-isoprostan ve Koenzim Q<sub>10</sub>

## **ABSTRACT**

**Aim:** Diabetes is an important disease with serious social and economical effects due to its complications and high mortality and morbidity rates. We aimed to investigate plasma 8-isoprostan (8-isoP) and coenzyme Q<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>) levels in healthy individuals and type II diabetic patients and the effect of hypoglycemic therapy given to these patients for three months on these parameters.

**Methods:** 25 adult type II diabetics and 20 healthy individuals were contributed to this study. Plasma 8-isop and CoQ<sub>10</sub> levels were determined in healthy individuals and type II diabetic patients before and three months after the treatment.

**Results:** 8-isoP levels in diabetics before treatment were significantly higher than healthy controls ( $p < 0.05$ ); there was no significant difference between these groups for CoQ<sub>10</sub> ( $p > 0.05$ ). After hypoglycemic therapy for three months, plasma 8-isop levels were significantly decreased compared to basal concentrations ( $p < 0.05$ ), and reached to similar levels with healthy controls ( $p > 0.05$ ). CoQ<sub>10</sub> levels in diabetic group after treatment were found significantly lower than both controls and diabetics before treatment ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:** We can suggest that diabetics are exposed to intensive oxidative stress, this is influenced by regulation of blood glucose and antioxidant defense mechanisms, and giving antioxidant supplements will be helpful in these patients.

**Key Words:** Diabetes Mellitus, Oxidative stress, 8-isoprostan ve Coenzyme Q<sub>10</sub>

## **KAYNAKLAR**

- 1-** Yenigün M Her Yönüyle Diabetes Mellitus 2. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi 2001;51-61, 63-7, 69-81, 215-17, 237-43.
- 2-** Koloğlu S, Diabetes Mellitus. Koloğlu S ed, Endokrinoloji Temel ve Klinik. Birinci Baskı. Ankara, Medical Network & Nobel 1996;368-85.
- 3-** King H, Rewers M. WHO Ad Hoc Diabetes Reporting Group: Global estimates for prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in adults. Diabetes Care 1993;16:157-77.
- 4-** King H, Aubert RF, Herman WH. Global burden of diabetes 1995-2025. Diabetes Care 1998;21:1414-31.
- 5-** Haris MI, Flegal KM, Cowie CC, Eberhardt MS, Golstein DE, Little RR, Wiedmeyer H-M, Byrd-Holt DD. Prevalence of diabetes, impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance in U.S. Adults. The Third National Health and Nutrition Examination Survey. 1988-1994. Diabetes Care 1998;21:518-24.
- 6-** Satman I, Yılmaz MT, Baştar I, Şengül A, Sargın M, Salman F, Salman S, Karşıdağ K, Dinççağ N, Yıllar G, Tütüncü Y and TURDEP Group. Diabetes Epidemiology Study in Turkey: First step data result. Diabetes 1998;47 supply1 A:384,1480.
- 7-** Eastman RC, Cowie CC, Haris MI. Undiagnosed diabetes or impaired glucose tolerance and cardiovascular risk. Diabetes Care 1997;20:127-8.
- 8-** Neufeld ND, Raffel LJ, Landon C, Ida Chen Y-D, Vadhem CM. Early presentation of type 2 diabetes in Mexican-American youth. Diabetes Care 1998;21:80-86.
- 9-** Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 1997;20:1183-97.
- 10-** Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional Report of a WHO Consultation. Diabet Med 1998;15:539-53.
- 11-** Neşe Ö, Yusuf O, Diyabetes Mellitus. Nobel Tıp Kitabevi 1 Baskı : İstanbul 2002;

6-14, 50-52

**12-** İliçin G, Biberoglu K, Süleymanlar G, Ünal S. Temel İç Hastalıkları. Güneş Kitapevi Ankara 2003; Cilt 2: 2279-2330

**13** Lebovitz HE: Pathogenesis of type 2 diabetes. Drug Benefit Trends 12 supply A: 2000, 8-16.

**14-** Groop LC, Widen E, Ferrannini E. İnsulin resistance and insulin deficiency in pathogenesis of type 2 diabetes: errors of metabolism or of methods. Diabetologia 1993;36:1326-31.

**15-** Pfüntzer A, Kunt T, Hohberg C, Mondok A, Pahler S, Konrad T, Lübben G, Forst T. Fasting Intact Proinsulin Is a Highly Specific Predictor of Insulin Resistance in Type 2 Diabetes. Diabetes Care 2004;27:682-7.

**16-** Reaven GM. Banting Lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. Diabetes 1988;37:1595-607.

**17-** Garvey WT, Birnbaum MJ. Cellular insulin action and insulin resistance. Bailliere.s Clinical Endocrinology and Metabolism 1993;7:785-873.

**18-** Pasaoglu H, Bulduk G, Ogus E, Pasaoglu A, Onalan G. Nitric oxide lipid peroxides and uric acid levels in preeclampsia and eclampsia. Tohoku J Exp Med 2004; 2022: 87-92.

**19-** Aksoy Y. Antioksidan mekanizmada glutatyonun rolü. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi 2002; 22: 442-448.

**20-** Cherubini A, Ruggiero C, Polidori MC, Mecocci C. Potential markers of oxidative stress in stroke. Free Radical Biology & Medicine 2005; 39: 841-852.

**21-** Young IS, Woodside JV. Antioxidant in health and disease. J Clin Pathol 2001; 54: 176-186.

**22-** Gülbayzar Sayat. Yenidoğan bebeklerde kord kanında oksidatif stres göstergesi olarak malondialdehit Uzmanlık Tezi. İstanbul Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2006.

**23-** Kıyıcı A, Yücel D. Antiepileptik ilaç kullanımı ve oksidatif stres. Tıp Araştırmaları Dergisi 2007; 52: 57-62.

**24-** Chapman PF, Atkins CM, Allan MT, Haley JE , Inhibition of nitric oxide synthesis impairs two different forms of learning. Neuroreport. 1992; 37 :567-70.



- 25-** Altan Nilgün, Sepici Dinçel Aylin, Koca Cemile. Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Türk Biyokimya Dergisi* 2006; 312: 51-56
- 26-** Hermes-Lima M, Storey JM, Storey KB, Antioxidant defenses and metabolic depression. The hypothesis of preparation for oxidative stress in land snails , *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 1998;1203:437-48.
- 27-** Murray KR, Mayes PA, Granner PK, Rodwel VW. *Harper's Biochemistry.* 22. Ed. Prentice-Hall International Inc. 1993, 183.sayfa
- 28-** Winston GW. Oxidants and Antioxidants in Aquatic Animals. *Comp. Biochem. Physiol.,* 1991 :100C; 173-176.
- 29-** Morrow JD, Hill KE, Burk RF, Nammour TM, Badr KF, Roberts LJ, A series of prostaglandin F<sub>2</sub>-like compounds are produced in vivo in humans by a noncyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism, *Proc Natl Acad Sci USA,* 1990;87:9383–9387.
- 30-** Taber DF, Morrow JD, Roberts LJ, Anomenclature system for the isoprostanes Prostaglandins, 1997; 53: 63–67.
- 31-** Niki E. and Yoshida Y, Biomarkers for oxidative stress: measurement, validation, and application, *J. Med. Invest.,* 2005;52:228–230
- 32-** Milne GL, Yin H and Morrow JD, Human biochemistry of the isoprostane pathway, *J. Biol. Chem.,* 2008;283:15533–15537
- 33-** Kadiiska MB, Gladen BC, Baird DD, Germolec D, Graham LB, Parker CE, Nyska A et al, Biomarkers of oxidative stress study II: are oxidation products of lipids, proteins, and DNA markers of CCl<sub>4</sub> poisoning?, *Free Radic Biol Med,* 2005;38: 698–710.
- 34-** Kadiiska MB, Gladen BC, Baird DD, Graham LB, Parker CE, Ames BN, Basu S et al, Biomarkers of oxidative stress study III. Effects of the nonsteroidal antiinflammatory agents indomethacin and meclofenamic acid on measurements of oxidative products of lipids in CCl<sub>4</sub> poisoning, *Free Radic Biol Med,* 2005;38:711–718.
- 35-** Morrow, JD, Minton, TA and Roberts LJ, The F<sub>2</sub>-isoprostane, 8-epi-prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$ , a potent agonist of the vascular thromboxane/endoperoxide receptor, is a platelet thromboxane/endoperoxide receptor antagonist, *Prostaglandins ,* 1992; 44: 155–163
- 36-** Khasawneh FT, Huang JS, Mir F, Srinivasan S, Tiruppathi C And Le Breton,GC, Characterization of isoprostane signaling: evidence for a unique coordination profile of 8-iso-

- PGF<sub>2</sub> $\alpha$  with the thromboxane A<sub>2</sub> receptor, and activation of a separate cAMP-dependent inhibitory pathway in human platelets, *Biochem. Pharmacol*, 2008; 75: 2301–2315
- 37-** Joy AP and Cowley EA, 8-Iso-PGE<sub>2</sub> stimulates anion efflux from airway epithelial cells via the EP<sub>4</sub> prostanoid receptor, *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol*, 2007; 38: 143-152
- 38** Nugteren DH, The determination of prostaglandin metabolites in human urine, *J. Biol. Chem.*, 1975; 250: 2808–2812
- 39-** Wendelborn DF, Seibert K and Roberts LJ, Isomeric prostaglandin F<sub>2</sub> compounds arising from prostaglandin D<sub>2</sub>: a family of eicosanoids produced in vivo in humans, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1988; 85: 304–308
- 40-** Morrow JD, Harris TM and Roberts LJ, Noncyclooxygenase oxidative formation of a series of novel prostaglandins: analytical ramifications for measurement of eicosanoids, *Anal. Biochem.*, 1990; 184:1–10
- 41-** Stocker R, Keaney JF, Role of oxidative modifications in Atherosclerosis, *Physiol Rev*, 2004; 84: 1381-1478.
- 42-** Pratico D, Rokach J, Lawson J, FitzGerald GA, F<sub>2</sub>-isoprostanes as indices of lipid peroxidation in inflammatory diseases, *Chem Phys Lipids*, 2004; 128: 165-171.
- 43-** Roberts LJ, Morrow JD, Measurement of F<sub>2</sub>-isoprostanes as an index of oxidative stress in vivo, *Free Radic Biol Med*, 2000; 28: 505-513.
- 44-** Davi G, Chiarelli F, Santilli F, Pomilio M, Vigneri S, Falco A, Basili S, Ciabattini G, Patrono C, Enhanced lipid peroxidation and platelet activation in the early phase of type 1 diabetes mellitus. Role of interleukin-6 and disease duration, *Circulation* ,2003; 107: 3199–3203.
- 45-** Keaney JF, Loscalzo J, Diabetes, oxidative stress and platelet activation, *Circulation*, 1999; 99:189–191.
- 46-** Navab M, Hama SY, Reddy ST, Ng CJ, Van Lenten BJ, Laks H, Fogelman AM, Oxidized lipid as mediators of coronary heart disease, *Curr. Opin. Lipidol*, 2002;13: 363–372.
- 47-** Chisolm, GM, Irwin KC, Penn MS, Lipoprotein oxidation and lipoprotein-induced cell injury in diabetes, *Diabetes*, 1992;41: 61–66
- 48-** Tsai, EC, Hirsch IB, Brunzell JD, Chait A, Reduced plasma peroxyl radical trapping capacity and increased susceptibility of LDL to oxidation in poorly controlled IDDM, *Diabetes*, 1994; 43: 1010–1014.

- 49-** Gopaul, NK, Anggard EE, Mallet AI, Betteridge DJ, Wolff SP, Nourooz-Zadeh J, Plasma 8-epi-PGF<sub>2</sub> levels are elevated in individuals with non-insulin dependent diabetes mellitus, *FEBS Lett.*, 1995;368: 225–229.
- 50-** Davi G, Catalano I, Averna M, Notarbartolo A, Strano A, Ciabattoni G, Patrono C, Thromboxane biosynthesis and platelet function in type II diabetes mellitus, *N. Engl. J. Med.*, 1990; 322: 1769–1774.
- 51-** Davi G, Gresele P, Violi F, Basili S, Catalano M, Giammarresi C, Volpato R, Nenci GG, Ciabattoni G, Patrono C, Diabetes mellitus, hypercholesterolemia and hypertension but not vascular disease per se, are associated with persistent platelet activation in vivo. Evidence derived from the study of peripheral arterial disease, *Circulation*, 1997; 96: 69–75.
- 52-** Davi G, Ciabattoni G, Consoli A, Mezzetti A, Falco A, Santarone S, Pennese E, Vitacolonna E, Bucciarelli T, Costantini F, In vivo formation of 8-iso-PGF<sub>2</sub> and platelet activation in diabetes mellitus. Effects of improved metabolic control and Vitamin E supplementation. *Circulation*, 1999; 99: 224–229
- 53-** Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, Katz DR, Miles JM, Yudkin JS, Klein S, Coppel SW, Human subcutaneous adipose tissue secretes interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1997; 82: 4196–4200.
- 54-** Hak AE, Stehouwer CD, Bots ML, Polderman KH, Schalkwijk CG, Westendorp IC, Hofman A, Witteman JC, Associations of C-reactive protein with measures of obesity, insulin resistance, and subclinical arteriosclerosis in healthy, middle-aged women, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1999; 19: 1986–1991.
- 55-** Laight DW, Desai KM, Gopaul NK, Anggard EE, Carrier MJ, F<sub>2</sub>-isoprostane evidence of oxidant stress in the insulin resistant, obese Zucker rat, *Eur. J. Pharmacol.*, 1999; 377: 89–92.
- 56-** Davi G, Guagnano MT, Ciabattoni G, Basili S, Falco A, Marinopiccoli M, Nutini M, Sensi S, Patrono C, Platelet activation in obese women: role of inflammation and oxidant stress, *JAMA*, 2002; 288: 2008–2014.
- 57-** Keaney JF, Larson MG, Vasan RS, Wilson PW, Lipinska I, Corey D, Massaro JM, Sutherland P, Vita JA, Benjamin EJ, Obesity and systemic oxidative stress. Clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2003; 23: 434-439

- 58-** Pryor, WA, Stone K, Oxidants in cigarette smoke. Radicals, hydrogen peroxide, peroxyxynitrate, and peroxyxynitrite, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1993; 686: 12–28.
- 59-** Morrow JD, Frei B, Longmire AW, Gaziano JM, Lynch SM, Shyr Y, Strauss WE, Oates JA, Roberts LJ, Increase in circulating products of lipid peroxidation F2-isoprostanes in smokers. Smoking as a cause of oxidative damage, *N. Engl. J. Med.*, 1995; 332: 1198–1203.
- 60-** Reilly M, Delanty N, Lawson JA, FitzGerald GA, Modulation of oxidant stress in vivo in chronic cigarette smokers, *Circulation*, 1996; 94: 19–25.
- 61-** Patrignani P, Panara MR, Tacconelli S, Seta F, Bucciarelli T, Ciabattoni G, Alessandrini P, Mezzetti A, Santini G, Sciulli MG, Cipollone F, Davi G, Gallina P, Bon GB, Patrono C, Effects of Vitamin E supplementation on F2-isoprostane and thromboxane biosynthesis in healthy cigarette smokers, *Circulation*, 2000; 102: 539–545.
- 62-** Ruggeri ZM, Platelets in atherothrombosis, *Nature Med.*, 2002; 8: 1227–1234.
- 63-** Davi G, Averna M, Catalano I, Barbagallo C, Ganci A, Notarbartolo A, Ciabattoni G, Patrono C, Increased thromboxane biosynthesis in type IIa hypercholesterolemia, *Circulation* 85, 1992, 1792–1798.
- 64-** Davi G, Ganci A, Averna M, Giammarresi C, Barbagallo C, Catalano I, Cala A, Notarbartolo A, Thromboxane biosynthesis, neutrophil and coagulative activation in type IIa hypercholesterolemia, *Thromb. Haemost.*, 1995; 74: 1015–1019.
- 65-** Notarbartolo A, Davi G, Averna M, Barbagallo CM, Ganci A, Giammarresi C, La Placa FP, Patrono C, Inhibition of thromboxane biosynthesis and platelet function by simvastatin in type IIa hypercholesterolemia, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1995; 15: 247–251.
- 66-** Davi G, Alessandrini P, Mezzetti A, Minotti G, Bucciarelli T, Costantini F, Cipollone F, Bon GB, Ciabattoni G, Patrono C, In vivo formation of 8-epi-PGF<sub>2</sub> is increased in hypercholesterolemia, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1997; 17: 3230–3235.
- 67** Kawamukai M, Biosynthesis, Bioproduction and Novel Roles of Ubiquinone *J Biosci & Bioeng*, 2002; 94: 511-517.
- 68-** Nohl H, Andrey VK, Stainek K, Gille L, The Multiple Functions of Coenzyme Q, *Bioorganic Chemistry*, 2001; 291: 1-13.
- 69-** Crane FL, Biochemical Functions of Coenzyme Q10, *Journal of the American College of Nutrition*, 2001; 206; 591–598.

- 70-** Greenberg S, Frishman WH, Co-enzyme Q10: a new drug for cardiovascular disease, *J. Clin. Pharmacol.* 1990; 30: 596-608.
- 71-** Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, Harper'in *Biyokimyası*, 24, Barış Kitapevi, İstanbul. 1993, pp 147.
- 72-** Kowaltowski AJ, Anibal EV, Mitochondrial damage induced by conditions of oxidative stress, *Free Rad. Biol. Med.*, 1999; 26: 463-471.
- 73** Turunen M, Olsson J, Dallner G, Metabolism and function of coenzyme Q, *Biochimica et Biophysica Acta BBA-Biomembranes*, 2004; 16601-2: 171-199.
- 74-** Tang PH, Miles MV, DeGrauw A, Hershey A, Pesce A, HPLC Analysis of Reduced and Oxidized Coenzyme Q<sub>10</sub> in Human Plasma, *Clinical Chemistry*, 2001; 47: 256-265.
- 75-** Langsojen PH, Langsojen AM, Overview of the use of CoQ<sub>10</sub> in cardiovascular disease, *Biofactors.*, 1999; 9: 273-284.
- 76-** Hideaki K, Yoshitaka K, Jun-ichiro M, Taka-aki M, Yoshio F, Yutaka U, Toshiaki H, Yuji M, Yoshimitsu, Y, Masatsugu H, Beneficial Effects of Antioxidants in Diabetes Possible Protection of Pancreatic Beta-Cells Against Glucose Toxicity, *Diabetes*, 1999; 48: 2398–2406.
- 77-** Nuttal SL, Dunne F, Kendall MJ, Martin U, Age-dependent oxidative stress in elderly patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus, *Q.J.Med.*, 1999; 92: 33-38.
- 78-** Singal PK, Bello-Klein A, Frahmnd F, Sandhawalia V, Oxidative stress and functional deficit in diabetic cardiomyopathy. Institute of Cardiovascular Sciences, Canada, 2001; 498: 213-220.
- 79-** Jain KS, Kannan K, Ketosis and the generation of oxygen radicals in diabetes mellitus, Louisiana State University Health Sciences Center, 2001; 498: 221-227.
- 80-** Rastogi SS, Singh BR, Antioxidants, free radical stress and diabetes. Medical Hospital Research Center, 2001; 498: 201-211.
- 81-** Miwa I, Ichimura N, Sugiura M, Hamada Y, Taniguchi S, Inhibition of glucose-induced insulin secretion by 4-hydroxy-2-nonenal and other lipid peroxidation products. *Endocrinology*, 2000; 141: 2767–2772.
- 82-** Baynes, JW, Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes*, 1991; 40:405–412.

- 83-** Gopaul NK, Anggard EE, Mallet AI, Betteridge DJ, Wolff SP, Nourooz-Zadeh J, Plasma 8-epi-PGF2 alpha levels are elevated in individuals with non-insulin dependent diabetes mellitus. *FEBS Lett.*, 1995; 368: 225–229.
- 84-** Lim SC, Tan HH, Goh SK, Subramaniam T, Sum CF, Tan IK, Lee BL, Ong CN, Oxidative burden in prediabetic and diabetic individuals: evidence from plasma coenzyme Q10, *Diabetik Medicine*, 2006; 23: 1344-1349
- 85-** Gopaul NK, Anggard EE, Mallet AI, Betteridge DJ, Wolff SP, Nourooz-Zadeh J, Plasma 8-epi-PGF2 levels are elevated in individuals with non-insulin dependent diabetes mellitus, *FEBS Letters*, 1995; 368: 225-229
- 86-** Natarajan R, Lanting L, Gonzales N, Nadler J, Formation of an F2-isoprostane in vascular smooth muscle cells by elevated glucose and growth factors, *Am J Physiol.*, 1996; 271:159-65
- 87-** Sampson MJ, Gopaul N, Davies IR, Hughes DA, Carrier MJ, Plasma F2 Isoprostanes Direct evidence of increased free radical damage during acute hyperglycemia in type 2 diabetes, *Diabetes care*, 2002; 25: 537-542
- 88-** Laight DW, Desai KM, Gopaul NK, Anggard EE, Carrier MJ, F2 -isoprostane evidence of oxidant stress in the insulin resistant, obese Zucker rat: effects of vitamin E, *European Journal of Pharmacology*, 1999; 377: 89-92
- 89-** Devaraj S, Hirany S, Burk R, Jialal I, Divergence between LDL Oxidative Susceptibility and Urinary F2-Isoprostanes as Measures of Oxidative Stress in Type 2 Diabetes, *Clinical Chemistry*, 2001; 47: 1974-1979
- 90-** Shinomiya K, Fukunaga M, Kiyomoto H, Mizushige K, Tsuji T, Noma T, Ohmori K, Kohno M, Senda S, A Role of Oxidative Stress-Generated Eicosanoid in the Progression of Arteriosclerosis in Type 2 Diabetes Mellitus Model Rats, *Hypertens Res*, 2002; 25: 91-98
- 91-** Flores L, Rodela S, Abian J, Claria J, Esmatjes E, F2 Isoprostane Is Already Increased at the Onset of Type 1 Diabetes Mellitus: Effect of Glycemic Control, *Metabolism*, 2004; 53: 1118-1120
- 92-** Hasegawa G, Yamamoto Y, Zhi JG, Tanino Y, Yamasaki Y, Yano M, Nakajima T, Fukui M, Yoshikawa T, Nakamura N, Daily profile of plasma %CoQ10 level, a biomarker of oxidative stress, in patients with diabetes manifesting postprandial hyperglycaemia, *Acto diabetol*, 2005, 42, 179-181

- 93-** El-ghoroury EA, Raslan HM, Badawy EA, El-Saaïd GS, Agybi MH, Siam I, Salem SI, Malondialdehyde and coenzyme Q10 in platelets and serum in type 2 diabetes mellitus: correlation with glycemic control, Blood Coagul fibrinolysis., 2009; 20: 248-51.
- 94-** Salardi S, Zucchini S, Elleri D, Grossi G, Bargossi AM, Gualandi S, Santoni R, Cicognani A, Cacciari E, High Glucose Levels Induce an Increase in Membrane Antioxidants, in Terms of Vitamin E and Coenzyme Q10, in Children and Adolescents With Type 1 Diabetes, Diabetes care, 2004; 27: 630-31
- 95-** Menke T, Niklowitz P, Wiesel T, Andler W, Antioxidant level and redox status of coenzyme Q10 in the plasma and blood cells of children with diabetes mellitus type 1, Pediatric Diabetes, 2008; 9: 540–545.
- 96-** Al-Thakafy HS, Khoja SM, Al-Marzouki ZM, Zailaie MZ, Al-Marzouki KM, Alterations of erythrocyte free radical defense system, heart tissue lipid peroxidation, and lipid concentration in streptozotocin-induced diabetic rats under coenzyme Q10 supplementation, Saudi Med J., 2004; 25: 1824-30.

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık tezi çalışmam boyunca desteklerini esirgemeyen tez danışmanım Yard. Doç. Dr. Aysel Kıyıcı'ya, vakaların seçimi ve hasta gruplarının oluşturulması ve deneysel çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Doç.Dr. Sait Gonen, Dr. Suleyman İpekçi, Dr.Bulent Oğuz, Fevzi Bütün, Dr. Ayşe Özcan ve Hümevra Ercan'a, manevi desteklerini daima hissettiğim asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Asistanlık eğitimim boyunca yardım ve desteklerini esirgemeyen başta Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İdris Mehmetoğlu olmak üzere anabilim dalında görev yapan tüm öğretim üyelerine ve Merkez Biyokimya Laboratuvarı çalışanlarına, ayrıca tüm hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ve bugünlere ulaşmamda en büyük pay sahibi olan anneme, babama ve kardeşlerime, her zaman yanımda olduğunu hissettiğim; tez çalışırken ve yazarken desteğini hiç esirgemeyen eşim Dr.Osman Karaoğlan'a ve varlığı ile bana mutluluk veren biricik oğlum Mustafa Emre'ye teşekkürü borç bilirim.

Dr.Hatice KARAOĞLAN