

# Tip II Diabetes Mellituslu Hastalarda Plazma Total Tiyo ve Eritrosit Redükte Glutasyon Düzeyleri

## PLASMA TOTAL THIOL AND ERYTHROCYTE REDUCED GLUTATHIONE LEVELS IN PATIENTS WITH TYPE II DIABETES MELLITUS

A. Erol YAZICI\*, Hatice PAŞAOĞLU\*, Doğan YÜCEL\*, Nermin ÇELEBİ\*, Fatih BAKIR\*, Mesut ÖZKAYA\*\*

\* Dr., S.B. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı,

\*\* Dr., S.B. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi İç Hastalıkları Kliniği, ANKARA

### Özet

Diabetes Mellitus (DM), komplikasyonları açısından progressif ve hayatı tehdit eden bir hastalıktır. Son yıllarda serbest radikaller, oksidatif stres, antioksidanlar ve ailesel yatkınlık diabetle ilgili bulunmuştur. Yapılan çalışmaların sonuçları çoğunlukla serbest radikallerin diabetin seyriyle arttığını göstermiştir.

Bu çalışmada Tip II DM'lu hastalarda antioksidan sistemin durumunun incelenmesi amaçlandı. Yeni tanı konmuş ve oral antidiabetik (OAD) tedavi alan Tip II DM'lu iki ayrı hasta grubunda, serbest radikallerden çok çabuk etkilenen eritrosit redükte glutasyon (GSH) ve oksidatif strese cevabın göstergesi olan plazma total sülfidril (-SH) düzeylerini çalışarak kontrol grubu ile karşılaştırıldı.

Yeni tanı almış 20 ve OAD tedavi alan 20 Tip II DM'lu toplam 40 hastada eritrosit GSH ve plazma -SH düzeyleri incelendi. Yirmi sağlıklı kişi kontrol grubu olarak alındı. Eritrosit GSH düzeyleri yeni tanı almış ( $7.55 \pm 2.12 \mu\text{mol/g Hb}$ ) ve OAD alan grupta ( $7.81 \pm 1.18 \mu\text{mol/g Hb}$ ) kontrol grubuna ( $8.77 \pm 1.03 \mu\text{mol/g Hb}$ ) göre anlamlı derecede düşük saptandı (sırasıyla  $p < 0.05$  ve  $p < 0.01$ ).

Plazma -SH düzeyleri yeni tanı almış DM hastalarında ( $605.64 \pm 36.02 \mu\text{mol/L}$ ) ve OAD kullanan hastalarda ( $604.61 \pm 56.06 \mu\text{mol/L}$ ) kontrol grubuna göre ( $664.79 \pm 60.13 \mu\text{mol/L}$ ) düşük bulundu (sırasıyla  $p < 0.001$  ve  $p < 0.01$ ).

Plazma -SH / total protein oranları yeni tanı almış DM hastalarında ( $8.24 \pm 0.68 \mu\text{mol/g protein}$ ) ve OAD kullanan hastalarda ( $8.19 \pm 0.97 \mu\text{mol/g protein}$ ) kontrol grubuna göre ( $9.48 \pm 1.02 \mu\text{mol/g protein}$ ) düşük bulundu (sırasıyla  $p < 0.001$  ve  $p < 0.001$ ).

Çalışmamızda Tip II DM'lu hastalarda artan oksidatif stresin bir göstergesi olan plazma -SH düzeylerinde ve eritrositlerde önemli antioksidanlardan biri olan eritrosit GSH düzeylerinde azalma tespit edildi. Bu sonuçlar Tip II DM'lu hastalarda oksidan / antioksidan sistem dengesinin bozulduğu görüşünü desteklemektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Diabetes Mellitus, Oksidatif Stres, Glutasyon, Tiyo Grupları

T Klin Tıp Bilimleri 2002, 22:487-492

Diabetes mellitus (DM) komplikasyonları açısından progresif ve hayatı tehdit eden bir hastalıktır. Diabette gelişen komplikasyonların açıklanmasında öne sürülen birçok teori

### Summary

Diabetes mellitus (DM) is a progressive disease and it may threat life in respect to its complications. Recently, free radicals, oxidative stress, antioxidants and familial susceptibility have been found associated with diabetes mellitus. The results of the studies have shown that free radicals increased in diabetic process.

We aimed to investigate the status of antioxidant system in patients with Type II DM. We studied red blood cell reduced glutathione (GSH), an antioxidant rapidly affected by free radicals and plasma total sulphydryl (-SH) levels as an indicator of oxidative stress in new diagnosed diabetic patients and in patients treated with oral antidiabetic (OAD) agents. We compared the results of patient groups with those of the control.

A total of 40 Type II diabetic patients (20 new diagnosed and 20 treated with OAD) were selected as patient groups. Red blood cell GSH levels were significantly decreased in both of the new diagnosed ( $7.55 \pm 2.12 \mu\text{mol/g Hb}$ ) and OAD group ( $7.81 \pm 1.18 \mu\text{mol/g Hb}$ ) as compared with control ( $8.77 \pm 1.03 \mu\text{mol/g Hb}$ ) ( $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ , respectively).

Plasma -SH levels were significantly decreased in both new diagnosis ( $605.64 \pm 36.02 \mu\text{mol/L}$ ) and OAD group ( $604.61 \pm 56.06 \mu\text{mol/L}$ ) as compared with controls ( $664.79 \pm 60.13 \mu\text{mol/L}$ ) ( $p < 0.001$  and  $p < 0.01$ , respectively).

Plasma -SH / total protein ratios were also significantly decreased in both new diagnosed ( $8.24 \pm 0.68 \mu\text{mol/g protein}$ ) and OAD group ( $8.19 \pm 0.97 \mu\text{mol/g protein}$ ) as compared with controls ( $9.48 \pm 1.02 \mu\text{mol/g protein}$ ) ( $p < 0.001$  and  $p < 0.001$ , respectively).

In conclusion, in type II diabetic patients we found that plasma -SH and red blood cell GSH levels were decreased as an indicator of impaired oxidant/antioxidant balance due to oxidative stress. The impairment of oxidant / antioxidant balance may contribute to the occurrence of the complications of diabetes in patients with Type II DM.

**Key Words:** Diabetes Mellitus, Oxidative Stress, Glutathione, Thiol Groups

T Klin J Med Sci 2002, 22:487-492

Diabetin koroner arterler, böbrek dokusu, periferik damarlar, retina üzerinde oluşturduğu etkilerle, serbest radikallerin bu yapılardaki hasar yapıcı potansiyel etkisinin hastalık patogenezinde önemli bir rol oynadığı konusunda çeşitli çalışmalar yapılmıştır (1-3). Bu çalışmalarda serbest radikallerin diabetik komplikasyonların gelişmesinde direkt olarak rol oynadığı söylenemeyeceği gibi, öneminin de göz ardı edilemeyeceği öne sürülmüştür (3,4). Yapılan çalışmalarda diabetle serbest radikaller arasında güçlü bir bağlantı olması nedeniyle, serbest radikallere karşı önlemlerin alınması gerektiği düşünülmektedir. Birçok araştırmacı, serbest radikal hasarını önlemede antioksidanların kullanılmasını önerse de, bu yaklaşımın kesin anlamda iyi bir sonuç verdiği söylenememektedir (2,5,6).

Günümüze kadar elde edilen sonuçlar, Tip I ve Tip II diabetin gelişim mekanizmaları ve komplikasyonlarının farklı olduğunu göstermektedir (2,4,6). Bu yüzden araştırmalarda patogeneze ve komplikasyonların ayrı ayrı açıklanması yoluna gidilmiştir. Tip II diabet, Tip I'e göre daha sık görülmekte ve tedaviye daha iyi yanıt vermektedir. Tip II diabette, hastalığın ileri yaşlarda ortaya çıkması ve prognozunun diabetin kontroluyla doğrudan ilişkili olması serbest radikallerin önemini arttırmaktadır (4,6,7).

Vücutta, serbest radikal hasarına karşı çeşitli aşamalarda koruyucu olarak görev yapan antioksidan sistemler mevcut olup, bozulan vücut dengesinden ve serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif strese olumsuz yönde etkilenmektedirler. Serbest radikallerin hasar verici etkisini önlemeye çalışan antioksidanlar, özellikle de tiyol grupları, bu etkileşimler sırasında plazma ve doku düzeylerini koruyamamaktadır (8).

Bu verilerden yola çıkarak, çalışmamızda Tip II DM'li hastalarda antioksidan sistemin durumunu incelemeyi amaçladık. Yeni tanı konulmuş ve oral antidiabetik (OAD) tedavi almakta olan Tip II DM'li hasta gruplarında, serbest radikallerden çok çabuk etkilenen eritrosit GSH ve plazma total -SH düzeylerini çalışarak

kontrol grubu ile karşılaştırdık.

## Gereç ve Yöntem

### Hasta ve Kontrol Grupları

Bu çalışma Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde yapılmıştır. Çalışma grupları hastanenin dahiliye ve endokrinoloji polikliniğine başvuran Tip II diabetli hastalardan oluşmuştur. Diabetik grup yeni tanı konmuş ve oral antidiabetik (OAD) tedavi alanlar olmak üzere iki grup şeklinde oluşturulmuştur. Kontrol grubu ise sağlıklı kişilerden, hastaların yaş ve cinsiyet grubuna uygun olarak seçilmiştir (Tablo 1).

### Kan Örnekleri

Kan örnekleri, 12 saatlik açlık sonrasında GSH, total -SH ve plazma total protein ölçümleri için EDTA'lı tüplere alındı. Eritrosit GSH'ı ölçümü için EDTA'lı tam kan örneğinden 0.1 mL alınıp 0.9 mL distile su eklenerek hemoliz oluşturuldu; üzerine 1.5 mL presipitat solusyonu (1.67 g glasiyal metafosforik asit, 0.20 g Na<sub>2</sub>EDTA ve 30 g NaCl distile su ile 100 mL'ye tamamlandı) ilave edilip 3000 g'de 15 dakika santrifüj edilip süpernatant elde edildi. Total -SH ise plazmada çalışıldı. Hemoglobin düzeyleri tam kanda, Coulter Gen. S CBC analizöründe; total protein plazmada, ILAB 1800 otoanalizöründe çalışıldı.

### Yöntemler

#### Eritrosit redükte glutatyon (GSH) ölçümü

**Yöntemin prensibi:** Eritrositlerde glutatyon ölçümü, Beutler, Duron ve Kelly'nin tanımladığı prensibe göre yapıldı (9). Yöntemde sülfidril grupları DTNB reaktifi ile kromojen bileşik oluşturmakta ve oluşan sarı renk 412 nm'de reaktif körüne karşı okunmaktadır. Eritrositlerdeki -SH gruplarının hemen hemen tamamı GSH yapısında olduğundan ölçülen absorbans üzerinden GSH düzeyi hesaplandı.

Kalibrasyon eğrisi, stok GSH çözeltisinden (2000 µmol/L) hazırlanan 125, 250, 500, 1000 ve 1500 µmol/L GSH çözeltileri ile çizildi. Örneklerin absorbansları bu eğri yardımıyla konsantrasyona çevrilerek miktar tayini yapıldı. Eritrosit GSH değerleri Hemoglobin değerlerine

**Tablo 1.** Yeni Tanı Almış ve OAD Alan DM Hastaları ile Kontrol Grubu Plazma Total SH, Total SH / Protein, Eritrosit GSH ve Total Protein Değerleri (Ortalama ± Standart sapma)

	Grup I (Kontrol) (n=20; 12K, 8E)	Grup II (Yeni Tanı Alan DM) (n=20; 11K, 9E)	Grup III (OAD Alan Tip II DM) (n=20; 11K, 9E)
Yaş Ortalaması	47.8±10.2	48.4±9.5	53.8±8.8
GSH (µmol/g.Hb)	8.77±1.03	7.55±2.12*	7.81±1.18**
Total -SH (µmol/L)	664.79±60.13	605.64±36.02***	604.61±56.06**
Total -SH/Protein (µmol/g.protein)	9.48±1.02	8.24±0.68***	8.19±0.97****
Total Protein (g/dL)	7.11±0.47	7.29±0.36	7.29±0.33

\* : Grup II < Grup I, p<0.05

\*\*\* : GrupII < Grup I, p<0.001

\*\* : Grup III < Grup I, p<0.01

\*\*\*\* : Grup III < Grup I, p<0.001

oranlanarak  $\mu\text{mol GSH/g Hb}$  olarak ifade edildi.

Eritrosit GSH ölçüm yönteminin presizyonu için toplanan tam kan örnekleriyle bir stok karışım (havuz) hazırlandı ve bundan ardışık olarak 20 okuma yapıldı. Yöntemin CV değeri %4.4 olarak bulundu.

### Total Sülfidril (-SH) tayini

**Yöntemin prensibi:** Plazma total -SH ölçümleri, Sedlak ve Lindsay'a göre yapıldı (10). Yöntem -SH gruplarının DTNB reaktifi ile alkali ortamda oluşturduğu kromojen bileşiğin 412 nm'de verdiği absorbansın örnek ve reaktif körüne karşı okunması esasına dayanmaktadır. Kalibrasyon eğrisi 50, 100, 250 ve 500  $\mu\text{mol/L}$  GSH çözeltileri ile çizildi.

Total -SH tayininin presizyonunu kontrol etmek amacıyla plazma havuzu hazırlandı ve ölçüm farklı günlerde 20 kez tekrarlanarak yöntemin günler arası presizyonu araştırıldı. CV değeri %2.6 olarak bulundu.

Plazma total -SH grupları hemen hemen tümüyle proteinlere bağlı olduğundan protein konsantrasyonlarındaki değişikliklere bağlı -SH değişikliklerinin saf dışı edilmesi amacıyla plazma total -SH/total protein oranları hesaplandı.

İstatistiksel hesaplamalar Microsoft Excel Programıyla Student t testi kullanılarak yapıldı.

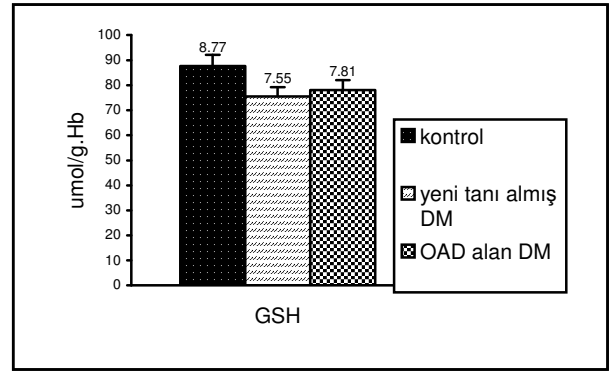
### Bulgular

Tablo 1 ve Şekil 1'de eritrosit GSH düzeyleri açısından grupların değerlendirilmesi yapılmıştır. Bu karşılaştırmada kontrol grubuna göre yeni tanı almış ( $p<0.05$ ) ve OAD tedavi alan DM hastalarının önemli oranda düşük değerlere sahip oldukları ( $p<0.01$ ), hasta gruplarının ise kendi aralarında anlamlı bir farklılığa sahip olmadıkları bulunmuştur.

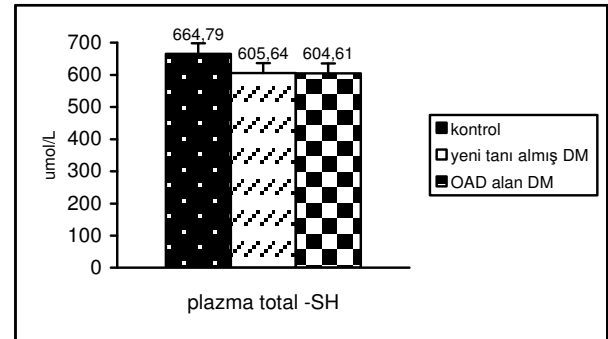
Plazma total -SH düzeylerinde kontrol grubuyla yeni tanı almış DM hastaları arasında önemli bir farklılık bulundu ( $p<0.001$ ). Kontrol grubuyla OAD tedavi alan DM hastaları arasındaki farklılık da anlamlıydı ( $p<0.01$ ). Yeni tanı almış DM hastaları ile OAD tedavi alan hastalar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu. Tablo 1 ve Şekil 2'de bu farklılıklar gösterilmektedir.

Total -SH / protein oranı açısından yapılan değerlendirmede: Yeni tanı alan DM ve OAD tedavi alan DM olgularında değerlerin kontrol grubuna kıyasla önemli oranda düşük olduğu görüldü ( $p<0.001$ ). Yeni tanı almış DM ve OAD tedavi alan DM hastaları arasında anlamlı bir farklılık yoktu. Sonuçlar Tablo 1 ve Şekil 3'de gösterilmiştir.

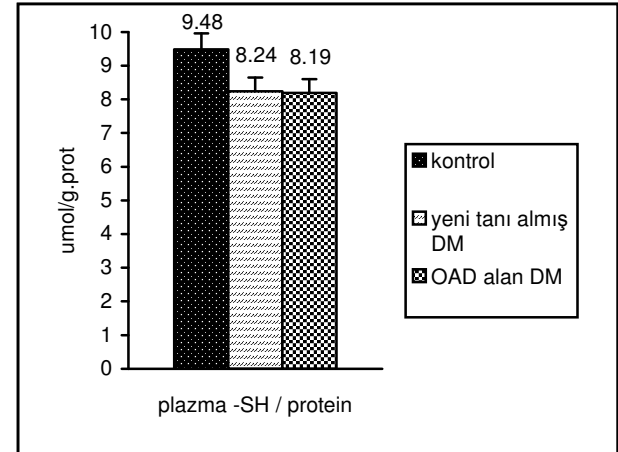
Total protein değerleri açısından yapılan değerlendirmede kontrol grubu, yeni tanı alan DM ve OAD



Şekil 1. Yeni Tanı Almış ve OAD Tedavi Alan DM Hastaları ile Kontrol Grubu Eritrosit GSH Değerlerinin Karşılaştırılması.



Şekil 2. Yeni Tanı Almış ve OAD Tedavi Alan DM Hastaları ile Kontrol Grubu Plazma Total -SH Değerlerinin Karşılaştırılması.



Şekil 3. Yeni Tanı Almış ve OAD Tedavi Alan DM Hastaları ile Kontrol Grubu Total-SH / Protein Değerlerinin Karşılaştırılması.

tedavi alan DM grupları arasında önemli bir farklılık bulunamadı.

### Tartışma ve Sonuç

Serbest radikaller aerobik metabolizma sırasında devamlı olarak üretilirler. Serbest radikallerin DNA, karbohidrat, proteinler ve lipidler üzerinde hasar yapıcı etkisi vücutta antioksidan sistemler tarafından engellenir ve ortadan kaldırılmaya çalışılır. Oksidatif stresle ilişkili hastalıkların başında diyabet gibi kronik hastalıklar gelmektedir (11-13). Tip II DM'lu hastalarda normal popülasyona göre yüksek morbidite ve mortalite izlenmektedir. Diabetin komplikasyonlarıyla serbest radikal hasarı arasında yüksek ilişki olduğunu öne süren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır ve serbest radikallerin hasar yapıcı etkisi, özellikle hiperglisemi ve glikozile proteinlerin otooksidasyonu ile açıklanmaktadır (2,3,7).

Serbest radikal hasarına karşı organizma antioksidan sistem ile cevap verir. Non-enzimatik bir antioksidan olan GSH'nın temel görevi eritrositleri peroksidlere karşı korumaktır. Glutasyon peroksidaz (GSH-px) enzimi aracılığıyla oluşan reaksiyon sonrası GSH oksitlenerek GSSG'ye dönüşürken hücrede lipid peroksidasyonu önlenir. Eritrositlerde yüksek miktarda bulunan GSH, özellikle eritrosit membranını serbest radikal hasarına karşı korur (14).

DM serbest radikal üretiminin arttığı kronik bir hastalıktır (11,13). Artan oksidatif stresle beraber organizmada başta antioksidan sistemler olmak üzere, çeşitli değişiklikler meydana gelmektedir. Diabette antioksidan sistemlerin etkilenmesi serbest radikal varlığında ve artan glukoz seviyesine bağlı olarak metabolik yolların etkilenmesiyle gerçekleşmektedir (15,16).

Diabette antioksidan sistemin durumu ile ilgili yapılan çalışmalarda değişik sonuçlara ulaşılmıştır. Deneysel ortamda yapılan çalışmalarda, Kashiwagi ve ark. (17) endotel hücre kültürlerinde yüksek glukoz konsantrasyonu sonucunda glutasyon redoks siklusunun bozulduğunu ve GSH düzeyinin anlamlı bir şekilde düştüğünü gözlemişlerdir. Mc Lennan ve ark. (18) yapmış oldukları çalışmada deneysel koşullarda oluşturulan diabetik ratlarda hepatik glutasyon konsantrasyonunu ölçmüşler ve normal ratlara göre bir fark bulamamışlardır. Thomas ve ark. (19) komplikasyonlu ve komplikasyonsuz Tip I ve Tip II diabetlilerde trombosit GSH düzeyini ölçmüşler; kontrol grubuna göre bütün gruplarda GSH düzeylerini anlamlı bir şekilde düşük bulmuşlardır. Stankova ve ark. (20) granulositlerde GSH düzeyini diabetik ve kontrol grubuna göre karşılaştırmışlar ve bir farklılık bulamamışlardır. Nuttall ve ark. (7) yaptıkları çalışmada Tip II diabetli hastaları kullanmışlardır. Yaşlı hastalarla, genç ve yaşlı kontrol gruplarını karşılaştırmışlar ve yaşlı gruba göre plazma GSH'ı farklı olmamasına rağmen genç kontrol grubuna göre yaşlı Tip II diyabet hastalarının plazma GSH

seviyelerini anlamlı şekilde düşük bulmuşlardır.

Eritrosit GSH seviyeleri ile diyabet arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda da farklı sonuçlara ulaşılmıştır. DM'li hastalarda eritrosit GSH değerlerinin değişmediğini savunan çalışmaların (5,10,21-23) yanında, diyabetle beraber birçok sistemin etkilendiği ve GSH seviyesinin eritrositlerde doğrudan veya dolaylı olarak azaldığını savunan çalışmalar da (12,24-29) vardır.

Bizim çalışmamızda, eritrosit GSH düzeyleri açısından yapılan karşılaştırmada, kontrol grubuna kıyasla yeni tanı almış DM ve OAD tedavisi alan DM hastalarında anlamlı bir düşüklük vardı ( $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ). Hasta grupları kendi aralarında eritrosit GSH düzeyi açısından değerlendirildiğinde ise anlamlı bir farklılık bulunamadı.

Serbest radikallerin vücutta oluşturduğu oksidatif stresin GSH düzeylerinde yaptığı etki yanında, total -SH grupları üzerinde de bir takım oksidatif etkileri vardır. Proteinlerin oksidatif strese maruz kalmasıyla -SH gruplarında azalma ve fonksiyonel bozukluklar ortaya çıktığı öne sürülmektedir (1,30).

Farklı yapı ve hastalarda yapılan çalışmalarda genellikle -SH gruplarında oksidatif stresle birlikte azalma saptanmıştır. Tip II diabetli hastalarda yapılan çalışmalarda total -SH değerlerinde azalma (31,32) bulunurken, Tip I diabetlilerle yapılan çalışmada (33) plazma -SH düzeylerinde farklılık bulunamamıştır. Soszynski ve ark. (30) oksi-datif stres varlığında eritrosit membran -SH gruplarında azalmayı tesbit etmişlerdir. Kadota ve ark. (1) koroner arter hastalığı ile birlikte oksidatif strese bağlı olarak serum albumin -SH gruplarının belirgin olarak azaldığını göstermişlerdir. Asayama ve ark. (34) Tip I diabetli genç hastalarda serum -SH düzeylerini incelemişler ve sağlıklı bireylere göre bir farklılık bulamamışlardır. Colier ve ark. (32) plazma -SH seviyesinin Tip II diabetlilerde anlamlı düzeyde düştüğünü göstermişlerdir. Ceriello ve ark. (31) OAD tedavisi alan veya diyetle takip edilen Tip II diabetik hastaların plazma total -SH seviyelerini sağlıklı kişilerden oluşan kontrol grubu ile karşılaştırmışlar ve total plazma -SH konsantrasyonunu anlamlı şekilde düşük bulmuşlardır. Plazma total-SH düzeyi açısından yapmış olduğumuz çalışma, Ceriello ve ark. ile Colier ve ark.'nın bulmuş oldukları sonuçlarla uyusmaktadır (31,32).

Çalışmamızda plazma total -SH düzeyi ile yaptığımız karşılaştırmada diabetli grupların kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde düşük değerlere sahip olduğunu gördük. Kontrol grubu ile yeni tanı alan DM hastaları arasında total -SH değerleri açısından anlamlı bir fark vardı ( $p<0.001$ ). Yine OAD tedavisi alan DM hastaları kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda total -SH değerlerinde anlamlı bir düşüklük tesbit ettik ( $p<0.01$ ). Yeni tanı alan diabetik grupla OAD tedavisi alan diabetik grup arasında plazma

total -SH düzeyi açısından bir farklılık bulamadık.

Plazmada bulunan -SH grupları büyük oranda proteinlere bağlı olduğundan total -SH / total protein oranını da incelemeyi uygun gördük. Yaptığımız çalışmada total protein düzeyinde gruplar arasında önemli bir fark görülmezken, plazma total -SH / total protein oranı için yapılan karşılaştırmada diabetli gruplar ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılıklar bulduk. Yeni tanı alan DM hastalarında total -SH / total protein değerleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşüktü ( $p<0.001$ ). OAD tedavisi alan DM hastalarında total -SH / total protein değerleri kontrol grubundan düşük idi ( $p<0.001$ ). Yeni tanı alan diabetik grupla, OAD alan diabetik grup arasında total -SH / total protein oranı açısından bir farklılık bulamadık. Bu durum -SH düzeyindeki azalmanın, artan oksidatif stres nedeniyle olabileceğini göstermektedir.

Artan oksidatif stresle beraber plazma ve membranlarda bulunan -SH grupları serbest radikal etkisi ile okside olmakta ve redükte formunda azalma tesbit edilebilmektedir. Okside haldeki tiyol gruplarının tekrar redükte hale gelmesi ve oksidatif hasara karşı kullanılabilmesi için GSH gereklidir. Oksidatif stresle azalan GSH ise, tiyol gruplarının okside durumdan redükte hale getirilmesinde yetersiz kalmaktadır (2-4,24,26)

Eritrosit redükte glutatyon düzeyinin diabetle beraber azalmasında çeşitli teoriler ileri sürülmektedir. Murakami ve ark. yaptıkları çalışmada (26) diabetli hastalarda eritrosit GSH düzeyini düşük bulurken aynı zamanda GSSG seviyesinde yükseklik,  $\gamma$  glutamilsistein sentetaz aktivitesinde azalma ve glutatyon redüktaz aktivitesinde düşme gözlemlenmişler, GSH seviyesinde azalmayı  $\gamma$  glutamilsistein sentetaz aktivitesinde azalma ile açıklamışlardır. Glutatyon redüktaz aktivitesinde azalma sonucu da GSSG yeterince GSH'a dönüştürülemez. Sonuçta diabetli hastalarda antioksidan sistem aktivitesinde azalma olduğu öne sürülmektedir (26).

Diğer taraftan GSH seviyesinde azalmanın açıklanmasında değişik mekanizmalar öne sürülmektedir. Bunlardan birisi diabetle artan glukoz miktarının normalde fazla aktif olmayan poliol (sorbitol) yolunu aktive etmesidir. Bu yolla NADPH kullanımının artması ve artan aldoz redüktaz aktivitesinin NADPH kullanan enzim sistemlerini inhibe etmesi ile glutatyon redoks döngüsünde azalma gerçekleşmekte, sonuçta ise GSH miktarı azalmaktadır (2,3,17,35). Diğer bazı araştırmacılara göre, diabetle beraber serbest radikallerin oranının artması ile birlikte antioksidan-serbest radikal dengesi bozulmakta ve GSH gibi antioksidanların tüketimi artabilmektedir (36-38). Glukozun enzimleri glikozilleyerek aktivitesini azaltması oksidan-antioksidan dengesini daha da bozabilmektedir (36-38).

Sonuç olarak: Tip II diabetli hastalarda elde ettiğimiz

sonuçlar, artan oksidatif stresin, proteinlerdeki oksidatif stres göstergesi olan plazma -SH düzeyinde ve antioksidan sistemin bir göstergesi olan eritrosit GSH seviyesinde azalmaya neden olduğunu göstermektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Kadota K, Yoshiki Y, Hattori, Murohara Y, Kawai C. Decreased sulfhydryl groups of serum albumin in coronary artery disease. *Jap Circ J* 1991; 55: 937-41.
2. Giugliano D, Paolisso G, Ceriella A. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diab Care* 1996; 19: 257-67.
3. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in Diabetes. *Diab* 1991; 40: 405-12.
4. Wolff SP. Free radicals, transition metals and oxidative stress in the aetiology of diabetes mellitus and complications. *Brit Med Bull* 1993; 49: 642-52.
5. Som S, Basu S, Mukherjee D, Deb S, Choudhury PR, Mukherjee S, Chatterjee SN, Chatterjee IB. Ascorbic acid metabolism in diabetes mellitus. *Metab* 1981; 30: 572-7.
6. Lorenzo FG, Alonso BO. Oxidative stress and antioxidant supplementation in type I diabetes. *Diab Care* 1999; 22 : 870-3.
7. Nuttall SL., Dunne F, Kendall MJ, Martin U. Age-independent oxidative stress in elderly patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *QJ Med* 1999; 92: 33-8.
8. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant / antioxidant balance. *Clin Biochem* 1993; 25: 354-7.
9. Beutler E, Duron O, Kelly BK. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 1963; 61: 882-8.
10. Sedlak J, Lindsay R. Estimation of total, protein-bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem* 1968; 25: 192-205.
11. Sinclair AJ, Barnett AH, Lunec J. Free radicals and antioxidant systems in health and disease. *Brit J of Hos Med* 1990; 43: 334-44.
12. Brownlee M, Vlassara H, Cerami A. Non enzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic complications. *Ann Intern Med* 1984; 101: 527-37.
13. Paşaoğlu H, Muhtaroglu S, Güneş M, Utaş C. The role of oxidative state of glutathione and glutathione related enzymes in anemia of hemodialysis patients. *Clin Biochem* 1996; 29: 567-72.
14. Halliwell B, Gutteridge JMC. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch of Biochem and Bioph* 1990; 280: 1-8.
15. Bolomgard ZT. Antioxidants and diabetes. *Diab Care* 1997; 20: 670-3.
16. Wolff SP, Jiang ZY, Hunt JV. Protein glycation and oxidative stress in diabetes mellitus and ageing. *Free Rad Biol and Med* 1991; 10: 339-52.
17. Kashiwagi A, Asahina T, Ikebuchi M, Tanaka Y, Takagi Y, Nishio Y, Kikkawa R, Shigetani Y. Abnormal glutathione metabolism and increased cytotoxicity caused by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in human umbilical vein endothelial cells cultured in high glucose medium. *Diabet* 1994; 37: 264-9.
18. Mc Lenan SV, Heffernan S, Wright L, Rae C, Fisher E, Yue DK, Turtle JR. Changes in hepatic glutathione metabolism in diabetes. *Diab* 1991; 40: 344-8.
19. Thomas G, Skriniska V, Lucas FV, Schumacher P. Platelet glutathione and thromboxane synthesis in diabetes. *Diab* 1985; 34: 951-4.
20. Stankova L, Riddle M, Larned J, Burry K, Menashe D, Hart J, Bigley R. Plasma ascorbate concentrations and blood cell dehydroascorbate transport in patients with diabetes mellitus. *Met* 1984; 33: 347-53.

21. Caren R, Carne HO. The blood glutathione level and its response to insulin in diabetic and non-diabetic patients and a case of insulin resistance. *Am J Med Sci* 1951; 221: 307-17.
22. Costagliola C. Oxidative state of glutathione in red blood cells and plasma of diabetic patients : in vivo and in vitro study. *Clin Phy Biochem* 1990; 8: 204-10.
23. Banerjee A. Blood dehydroascorbic acid and diabetes mellitus in human beings. *Ann Clin Biochem* 1982; 19: 65-70.
24. Fujiwara Y, Kondo T, Murakami K, Kawakami Y. Decrease of the inhibition of lipid peroxidation by glutathione-dependent system in erythrocytes of non-insulin dependent diabetics. *Clin Woch* 1989; 67: 336-41.
25. Uzel N, Sivas A, Uysal M, Öz H. Erythrocyte Lipid Peroxidation and glutathione peroxidase activities in patients with diabetes mellitus. *Horm Metab Res* 1987; 19: 89-90. 31.
26. Murakami K, Kondo T, Ohtsuka Y, Fujiwara Y, Shimada M, Kawakami Y. Impairment of glutathione metabolism in erythrocytes from patients with diabetes mellitus. *Metab* 1989; 38: 753-8.
27. Sundaram RK, Bhaskar A, Vijayalingam S, Viswanathan M, Mohan R, Shanmugasundaram KR. Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus with and without complication. *Clin Sc* 1996; 90: 255-60.
28. Bono A, Caimi G, Catanai A. Red cell peroxide metabolism in diabetes mellitus. *Horm Metab Res* 1987; 19: 264-6.
29. Seltzer HS. Blood glutathione in mild diabetes mellitus before treatment and during sulfonylurea induced hypoglycemia. *Proc Soc Expt Biol Med* 1957; 95: 74-6.
30. Soszynski M, Bartosz G. Decrease in accessible thiols as an index of oxidative damage to membrane proteins. *Free Radic Bio & Med* 1997; 23: 463-9.
31. Ceriello A, Bortolotti N, Falletti E, Taboga C, Tonutti L, Crescentini A, Motz E, Lizzio S, Russo A, Bartoli E. Total radical-trapping antioxidant parameter in NIDDM patients. *Diab Care* 1997; 20: 194-7.
32. Colier A, Wilson R, Bradley H, Thomson JA, Small M. Free radical activity in type 2 diabetes. *Diab Med* 1990; 7: 27-30.
33. Asayama K, Uchida N, Nakane T, Hayashibe H, Dobashi K, Amemiya S, Kato K, Nakazawa S. Antioxidants in the serum of children with insulin-dependent diabetes mellitus. *Free Rad Bio & Med* 1993; 15: 597-602.
34. Gutteridge J. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41: 1819-1828.
35. Barnett PA, Gonzales RG, Chylack SJ, Cheng HM. The effect of oxidation on sorbitol pathway kinetics. *Diab* 1986; 35: 426-32.
36. Chappey O, Dosquet C, Wautier MP, Wautier JL. Advanced glycation end products, oxidant stress and vascular lesions. *Europ J Clin Invest* 1997; 27: 97-108.
37. Brownlee M, Vlassara H, Cerami A. Non enzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic complications. *Ann Intern Med* 1984; 101: 527-37.
38. Kennedy L, Baynes YW. Non-enzymatic glycosylation and the chronic complications of diabetes : an overview. *Diabet* 1984; 26: 93-98.

---

**Geliş Tarihi:** 29.11.2001

**Yazışma Adresi:** Dr.A. Erol YAZICI  
S.B. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi  
Biyokimya Laboratuvarı, ANKARA