

TİP II DİABETES MELLİTUS'LU HASTALARDA DEMİR, BAKIR VE BAZI ANTİOKSİDAN MADDELERİN DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Sadınaz KALAK*, Dr. İdris AKKUŞ*, Dr. Osman ÇAĞLAYAN*, Dr. Mahmut AY*, Dr. Elif ZEREN*

* S.Ü.T.F.Biyokimya Anabilim Dalı

ÖZET

Çalışmamızda, 34-77 yaşları arasında tip II diabetes mellitus'lu 27 (15 kadın, 12 erkek) hasta ile 30 - 74 yaşları arasında 22 (12 kadın, 10 erkek) sağlıklı kişide serum bakır, seruloplazmin, ürik asit, demir, transferrin, ansature demir bağlama kapasitesi (UIBC), total demir bağlama kapasitesi (TIBC) ve transferrin % satürasyon düzeyleri tayin edildi.

Hasta grubunda serum seruloplazmin düzeyi kontrol grubuna göre önemli derecede yüksek bulunurken diğer parametreler arasında herhangi bir fark görülmedi. Seruloplazmindeki bu artışın nedeni izah edilemedi. Bulgularımız literatür bulguları ışığında tartışıldı.

Anahtar Kelimeler : Diabetes Mellitus, Bakır, Seruloplazmin, Ürik asit, Demir, Transferrin

SUMMARY

Iron, Copper and Some Antioxidants Concentrations in Type II Diabetes Mellitus

In the present study, serum copper, ceruloplasmin, uric acid, iron, unsaturated iron binding capacity (UIBC), total iron binding capacity (TIBC), transferrin and % transferrin saturation levels of patients with type II diabetes mellitus and healthy controls were investigated. Patients were consisted of 27 cases (12 male, 15 female) aged 34 - 77 years and controls consisted of 22 subjects (10 male, 12 female) aged 30 - 74 years.

Serum ceruloplasmin concentrations of diabetics was significantly increased compared to that of healthy controls ($p: 0.01$). There was no significant difference between the other parameters. The underlying mechanism of increased ceruloplasmin level of diabetic patients is not known. The results are discussed in view of literature findings.

Key Words : Diabetes Mellitus, Copper, Ceruloplasmin, Uric acid, Iron, Transferrin.

GİRİŞ

Diabetes mellitus glukoz homeostazında, protein ve lipid metabolizmasında büyük bozukluklarla birlikte insülin disfonksiyonunun olduğu kompleks bir sendromdur. Bu hastalarda mineral metabolizmasında da değişiklikler olduğu tespit edilmiştir (1-3).

Bakır; önemli fonksiyonları olan seruloplazmin, sitokrom c oksidaz, süperoksid dismutaz, dopamin- β -hidroksilaz, askorbat oksidaz, lizil oksidaz ve tirozinaz gibi birçok metalloenzimin yapısına girer (3-5). Diabetli kişiler üzerinde yapılan çalışmaların çoğunda serum ve doku Cu konsantrasyonları diabetik olmayan kontrollere göre normal veya artmış bulunmuştur (3).

Demir; hemoglobin, myoglobin gibi hem içeren proteinlerin ve katalaz, peroksidaz gibi enzimlerin yapısına giren vücudun en önemli elementlerinden birisidir.

Bu metallerin ikisi de serbest radikal reaksiyonlarını hızlandırır ve katalizör vazifesi görürler. Tiyollerden tiyl ve Fenton reaksiyonları ile H_2O_2 ve O_2 den $\bullet OH$ sentezini katalizlerler. Geçiş metalleri lipid peroksidasyonunu artırırlar. Sentezlenmiş olan lipid hidroperoksitlerinin parçalanmalarını ve lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonlarını katalize ederler. Böylece daha az zararlı olan radikalleri daha zararlı hale getirirler (6-8).

Seruloplazmin, serum bakırının %80'den fazlasını bağlayan bir glikoproteindir. Seruloplazmin çok çeşitli substratların oksidasyonunu katalizlediği halde in vivo önde gelen oksidan aktivitesi ferooksidaz tarzındadır. Böyle bir oksidasyon $\bullet O_2$ ya da $\bullet OH$ meydana getirmez. Ferooksidaz olarak Fe^{2+} 'nin arttırdığı radikal reaksiyonunu inhibe eder ve önemli bir ekstraselüler antioksidan olarak düşünülür (4,5,9-11). Seruloplazminin, süperoksid radikallerinin H_2O_2 ve O_2 'e dismutasyonunu katalizleyen süperoksid dismutaz enzimine benzer fonksiyonu da vardır (11).

Transferrin, demiri bağlayarak serbest radikallerin oluşumunu engeller. Ürik asit ise sıvı fazda etkili zincir kırıcı bir antioksidan olarak bilinir. Oksijen kaynaklı radikalleri toplar ve lipidlerin oksidasyonunu önler. Ayrıca ürik asit metal iyonları ile şelat yapar ve askorbik asidin bakır ve demir iyonları tarafından tekrar okside edilmesini önler (12).

Serbest radikaller, diabetin oluşumunda ve daha sonraki komplikasyonlarında önemli rol oynarlar. Redoks katalistlerinin ve/veya monosakkaridler gibi serbest radikal üretimine eğilimli olan maddelerin konsantrasyonlarının artışı diabette doku hasarına yol açan oksidatif stresin oluşumunda etkilidir (1). Diabetik hastalarda lipid peroksidlerinin yükseldiği kaydedilmiştir ve peroksidatif hasar, diabette retinopati ve vasküler hastalıkta arttırıcı bir faktör olarak ileri sürülmüştür (2).

Şekerlerin, demir ve bakır katalizörlüğünde meydana gelen otooksidasyonunda ∞ -keto aldehydler ve süperoksid radikali oluşur. Süperoksidin dismutasyonu ile H_2O_2 oluşur. H_2O_2 , Cu^{2+} meydana getirmek üzere reaksiyona girer ve $\bullet OH$ oluşturur (13).

Bu çalışmada, diabetli hastalarda, oksidatif streste rol alan geçiş metallerinin düzeylerinde bir bozukluk ya da ürik asit, seruloplazmin ve transferrin gibi antioksidanlarda bir yetersizlik olup olmadığı araştırıldı.

MATERYAL VE METOD

Çalışmamızda, 34-77 yaşları arasında olan tip II diabetes mellitus'lu 27 (15 kadın, 12 erkek) hasta ile 30-74 yaşları arasında olan 22 (12 kadın- 10 erkek) sağlıklı kişide serum bakır, seruloplazmin, ürik asit, demir, demir bağlama kapasitesi ve transferrin düzeyleri araştırıldı.

Diabet grubuna, klinik ve laboratuvar bulgularıyla daha önceden tip II diabetes mellitus tanısı konmuş olan hastalar alındı. Hastalardan 21 tanesi oral antidiyabetik, 3 tanesi insülin tedavisi almakta, 3 tanesine ise yalnızca diyet tedavisi uygulanmaktaydı. Hastalara uygulanan diyet, diyet polikliniği tarafından düzenlenmişti. Hasta ve kontrol grubuna alınan kişilerin serum mineral düzeyini etkileyebilecek herhangi bir ilaç almıyor olmalarına dikkat edildi.

Çalışmaya alınan kişilerden 10-12 saatlik açlığı takiben tek kullanımlık enjektör ile 4 cc venöz kan alındı, deiyonize tüplere aktarıldı ve pıhtılaşmayı müteakiben serumları ayrıldı. Ayrılan serumdan aynı gün içinde glukoz tayini yapıldı. Geriye kalan serum örnekleri birkaç kısma bölünerek diğer parametreler çalışılincaya kadar $-20^{\circ}C$ 'de derin dondurucuda saklandı.

Numunelerin alınması, saklanması ve deneylerin çalışılması sırasında kullanılan tüm malzeme nitrik asit ve deiyonize sudan geçirilerek hazırlandı.

Bakır tayini : Merck (Germany) marka ticari kit kullanılarak yapıldı.

Seruloplazmin tayini : Tayin prensibi şu şekildedir; seruloplazmin pH 5.4'de p-fenilen diamin (PPD) oksidasyonunu katalizler. Reaksiyon sonucu mavi menekşe renkli bir ürün oluşur. Renkli oksidasyon ürününün oluşum miktarı serum seruloplazmin aktivitesiyle orantılıdır. Kör tüpüne deneyin başında, numune tüpüne inkübasyon sonunda sodyum azid eklenerek PPD'nin enzimatik oksidasyonu inhibe edilir. 530 nm de optik dansiteleri okunur. Aşağıdaki formülle seruloplazmin miktarı hesaplanır (14).

Seruloplazmin (mg/dl) = 75.2 x (OD numune - OD kör)

Tüm reaktifler laboratuvarımız imkanları ile hazırlandı.

Demir ve total demir bağlama kapasitesi tayini : Stanbio marka ticari kit kullanılarak yapıldı (Stanbio Laboratory, Texas).

Deneyin prensibi : Transferrinle birleşmiş olan demir, asid ortamda serbestleşir, hidroksilamin tarafından ferro şekline indirgenir ve ferrozin ile reaksiyona girerek mor renkli bir kompleks oluşturur. Bu kompleksin optik dansitesi 560 nm'de ölçülür. Serum ansatüre demir bağlama kapasitesini ölçmek için ortama bilinen miktarda demir iyonları eklenir, böylece transferrindeki demir bağlama bölgeleri doyurulur. Bağlanmayan fazla demir ferrozinle reaksiyona sokularak tayin edilir. İlave edilen demir konsantrasyonu ve tayin edilen bağlanmamış demir konsantrasyonu arasındaki fark ansatüre demir bağlama kapasitesini verir. Total demir bağlama kapasitesi de, demir ve ansatüre demir bağlama kapasitesinin toplamından hesaplanır.

Transferrin ve transferrin satürasyonu aşağıdaki formüllerden hesaplandı. (15)

Transferrin (g/L) : 0.007 x TIBC

Transferrin satürasyonu (%) : 100 x $\frac{\text{serum demir}}{\text{TIBC}}$

Ürik asid ve glukoz tayinleri rutin metodlarla gerçekleştirildi.

Bulgular "Student's t-testi" kullanılarak değerlendirildi.

BULGULAR

Hasta ve kontrol grubuna ait bulguların t-testi sonuçları tablo 1'de toplu halde verilmiştir.

Tablo 1'den görüldüğü gibi diabetli hasta grubunda seruloplazmin düzeyi kontrol grubundan önemli derecede yüksek (p=0.01) bulunmuşken diğer parametreler arasında önemli bir fark bulunamamıştır.

TARTIŞMA

Serbest radikaller kanser, ateroskleroz, inflamasyon ve diabetes mellitus gibi hastalıkların patogenezinde ve yaşlanmada önemli rol oynarlar. Oksidatif aktivitenin (serbest radikal üretiminin) artışı, antioksidan savunma mekanizmalarının yetersizliği ve proteinlerin glikozilasyonu özellikle zayıf kontrollü diabetiklerde ateroskleroz, retinopati, hipertansiyon gibi diabet komplikasyonlarına yol açar (2). Bakır ve demir gibi geçiş metalleri katalizör vazifesi görerek serbest radikal reaksiyonlarını hızlandırırlar.

Diabetlilerde bakır düzeylerinin araştırıldığı çalışmalarda çoğunlukla birbirinden farklı sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmamızda diabetlilere ve sağlıklı kişilere aid serum bakır düzeyleri arasında önemli bir fark bulunamamıştır. Piduck ve ark (9) ile Rohn ve ark (16) da bizim bulgularımıza benzer şekilde diabetik ve normal kişilere ait bakır düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Diabetlilere ait bakır düzeylerini kontrollerden yüksek ya da düşük bulan araştırmacılar da vardır. Noto ve ark (17) bakır düzeyini yüksek bulurken, Car ve ark (18) düşük bulmuşlardır. Çalışmalar arasındaki farklılıkların, çalışılan hasta grubundaki diabetin tipi, komplikasyonların mevcudiyeti, hastaların yaşı ve tedavi şekli, süresi gibi faktörlere bağlı olabileceği kanaatindeyiz. Nitekim Walter ve ark (2) da diabetik kontrol ve / veya mikro ve makrovasküler hastalıkların varlığıyla büyük oranda değişen çalışma populasyonlarına bağlı olarak çalışmalar arası

Tablo 1. Hasta ve Kontrol grubuna ait bulguların karşılaştırılması

Parametre	KONTROL		DİABET		p
	$\bar{x} \pm SD$	n	$\bar{x} \pm SD$	n	
AKŞ (mg/dl)	96.06 ± 7.30	22	209±78 ± 83.99	27	< 0.0001
Seruloplazmin (mg/dl)	39.68 ± 8.74	22	47.51 ± 12.41	27	< 0.01
Bakır (µmol/L)	17.64 ± 3.67	22	19.40 ± 4.24	27	0.146
Demir (µg/dl)	105.05 ± 36.62	22	97.63 ± 32.62	27	0.526
Transferrin (mg/dl)	213.50 ± 23.50	22	200.33 ± 28.84	27	0.094
UIBC (µg/dl)	199.95 ± 35.91	22	188.56 ± 29.31	27	0.235
TIBC (µg/dl)	305.00 ± 33.57	22	286.19 ± 41.21	27	0.094
% Transferrin Satürasyon	34.26 ± 10.26	22	33.70 ± 8.38	27	0.833
Ürik asid (mg/dl)	5.35 ± 1.32	22	5.20 ± 1.34	27	0.639

farklılıklar olabileceğini bildirmişlerdir. Mooradian ve ark (3) da yaşlı diabetiklerde ve diabet komplikasyonu olanlarda serum Cu ve seruloplazmin düzeylerinde daha belirgin yükseklik olduğunu kaydetmişlerdir.

Çalışmamızda diabetlilere aid seruloplazmin düzeyleri kontrollere göre önemli oranda yüksek bulunmuştur. Noto ve ark. (17) da diabetlilerde seruloplazmin düzeyini yüksek bulmuşlardır. Gebeliğin son dönemleri ya da akut enfeksiyonlarda olduğu gibi seruloplazminin belirgin şekilde yükseldiği durumlarda bu akut faz reaktantının oksijen kaynaklı serbest radikallerin bir toplayıcısı olarak belirgin rol oynadığı bildirilmiştir.(11)

Diabetik hastalar ile sağlıklı kişilere aid serum demir düzeyleri arasında da önemli derecede bir farklılık bulunamadı. Gallau ve ark. (19) da her iki grup arasında önemli bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Diabetlilerde böbrek yetersizliği ya da malabsorbsiyona yol açan gastrointestinal nöropati gibi komplikasyonlar olmadığı sürece Fe eksikliği riskinin ortaya çıkmayacağı kaydedilmiştir (3).

Diabet oluşturulmuş deney hayvanlarında ka-

raciğer, böbrek ve femurda doku Fe içeriğinin yükselmeye eğilimli olduğu tesbit edilmiştir. Ancak benzer değişikliklerin diabetik kişilerde de bulunup bulunmadığı bilinmemektedir (3).

Çalışmamızda hasta ve kontrol grubuna aid transferrin düzeyleri arasında herhangi bir fark bulamadık. Kemp ve ark (20) da bizim çalışmamıza benzer şekilde her iki grup arasında önemli bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Gallau ve ark (19) ise diabetlilerde transferrin düzeyini düşük bulmuşlardır.

Diabetiklere ait ürik asid düzeylerini araştıran çalışmalarda da birbirinden farklı sonuçlar elde edilmiştir. Whitehead ve ark (21) ile Erberg ve ark (22) diabetlilerde ürik asid düzeyini düşük bulurken Olukoga ve ark (23) bizim bulgularımıza benzer şekilde normal bulmuşlardır.

Bu bulgulardan, diabetli hastalarda demir ve bakır metabolizmalarının önemli oranda etkilenmediği ve ürik asid ve transferrin gibi antioksidanlarda bir yetersizlik olmadığı sonucuna varıldı. Seruloplazmin düzeyindeki artışın sebebi ise açıklanamadı.

KAYNAKLAR

- 1- Wolff SP. Diabetes mellitus and free radicals. Br Med Bull 1993; 47: 642-52.
- 2- Walter RM, Uriu - Hare JY, Olin KI, Oster MH, Anawalt BD, Critchfield JW, Keen CL. Copper, zinc, manganese and magnesium status and complications of diabetes mellitus. Diabetes Care 1991; 14: 1050-6.
- 3- Mooradian AD, Failla M, Hoogwerf B, Maryniuk M, Wylie - resett J. Selected vitamins and minerals in diabetes. Diabetes Care 1994; 17 :464-79.
- 4- Milne DB. Assessment of copper nutritional status. Clin Chem 1994; 40: 1479-84.
- 5- Milne DB. Trace Elements. In : Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz textbook of clinical chemistry Philadelphia : WB Saunders, Second edition. 1994; 1335-9.
- 6- Knight JA, Searles DA, Blaylock RC. Lipid peroxidation in platelet concentrates : effects of leukocyte removal by filtration. Ann Clin Lab Science 1994; 24: 69-75.
- 7- İdris Akkuş. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri Konya. Mimoza yayınevi 1995.
- 8- Halliwell B, Glutteridge JMC. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease : An overview. Methods. Enzymol 1990; 186: 1-85.
- 9- Pidduck HG, Wren PJJ, Evans DAP. Plasma Zinc and Copper in Diabetes Mellitus. Diabetes 1970; 19: 234-9.
- 10- Lunec J, Blake D. Oxygen free radicals : Their relevance to disease processes. In : Cohen RD, Lewis B, Albert; KGMM, Denman AM. The metabolic and molecular basis of acquired disease, Volume one London: Bailliere Tindall 1990; 8: 189-212.
- 11- Goldstein IM, Kaplan HB, Edelson HS, Weissmann G. Ceruloplasmin. The Journal of Biological Chemistry 1979; 254: 4040-5.
- 12- Niki E. Antioxidants in relation to lipid peroxidation. Chemistry and Physics of Lipids 1987; 44: 227 - 53.
- 13- Chace KV, Crubelli R, Nordquist RE. The role of nonenzymatic glycosylation transition metals and free radicals in the formation of collagen aggregates. Archives of Biochemistry and Biophysics 1991; 288: 473-80.
- 14- Sunderman FW, Nomoto S. Measurement of human serum ceruloplasmin by its p-phenylenediamine oxidase activity. Clin Chem 1970; 16: 903-10.
- 15- Fair banks VF, Klee GG. Biochemical aspects of hematology. In : Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz textbook of clinical chemistry Philadelphia : WB Saunders, Second edition. 1994; 1974-2072.
- 16- Rohn RD, Pleban P, Jenkins LL. Magnesium, zinc and copper in plasma and blood cellular components in children with IDDM. Clin Chim Acta 1993; 215: 21-8.
- 17- Noto R, Alicata R, Sfogliano L, Neris S, Bifarella M. A study of cupremia in a group of elderly diabetics. Acta Diabetol Lat 1983; 20: 81-5.
- 18- Car N, Car A, Granic M, Skralabo Z, Momcilovic B. Zinc and copper in the serum of diabetic patients. Biol Trace Elem Res 1992; 32: 325-9.
- 19- Gallau G, Guilhem I, Poirier JY, Ruelland A, Legra SB, Cloarec L. Increased serum ferritin in insulin dependent diabetes mellitus : relation to glycemic control. Clin Chem 1994; 40: 947-8.
- 20- Kemp SF, Frindik JP. Effect of metabolic control on serum protein concentrations in diabetes. Acta Paediatr Scand 1991; 80: 938-43.
- 21- Whitehead TP, Jungner I, Robinson D, Kolar W, Pearl A, Hak A. Serum urate, serum glucose and diabetes. Ann Clin Bio Chem 1992; 29: 159-61.
- 22- Erdberg A, Boner G, Van Dyk DJ, Carel R. Urine uric acid excretion in patients with insulin - dependent diabetes mellitus. Nephron 1992; 60: 134-7.
- 23- Olukoga AO, Erasmus RT, Aknlade KS, Okenisa AB, Alanamu AA, Abu EA. Plasma urate in diabetes : relationship to glycaemia, glucose disposal, microvascular complications and the variations following oral glucose. Diabetes Res Clin Pract 1991; 14: 99-105.