

Diyabetik ve Diyabetik Olmayan Katarakt Hastalarında Hümör Aközde ve Serumda Total Oksidatif Stres, Total Antioksidan Kapasite, Paraoksonaz, Arilesteraz ve Lipidperoksidaz Seviyelerinin Karşılaştırılması

Comparison of Total Oxidative Stress, Total Antioxidant Capacity, and Paraoxonase, Arylesterase, and Lipid Peroxidase Levels in Aqueous Humor and Serum of Diabetic and Non-Diabetic Patients with Cataract

Cengiz Caner, Ayşe Vural Özç, Hüseyin Aydın*, Ayşen Topalkara, Mustafa Kemal Arıcı, Haydar Erdoğan, Mustafa İlker Toker

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye

*Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye

Özet

Amaç: Diyabetik ve diyabetik olmayan katarakt hastalarında hümör aközde ve eş zamanlı venöz kan serumunda, total oksidatif stres (TOS), total antioksidan kapasite (TAK), paraoksonaz (PON1), arilesteraz (ARE), lipid peroksidaz (LPO) seviyelerini karşılaştırmak ve diyabetik retinopatinin ilerlemesinde oksidatif stresin rolünü değerlendirmek.

Gereç ve Yöntem: Oksidatif doku ve organ hasarı, diyabette ve komplikasyonlarında rol oynar. Hem kanda hem de lens örneklerinde süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve katalaz gibi antioksidan enzim aktivitelerindeki azalmalar bildirilmiştir. PON1, ARE, LPO şimdiye kadar incelenmeyen antioksidan enzimlerdir. Kliniğimize puslu görme şikayeti ile başvuran ve katarakt tanısı alıp, cerrahi tedavi önerilen diyabetik ve diyabetik olmayan hastalar dahil edildi. Diyabeti olup retinopatisi olmayan hastalar 1. grup, diyabetik retinopatisi olmayan hastalar 2. grup ve katarakt tanısı dışında ek sistemik hastalığı olmayan hastalar 3. grup olarak ayrıldı. Her bir grup 26 hasta olacak şekilde toplam 78 hasta çalışmaya dahil edildi.

Sonuçlar: Bu çalışmada hümör aköz TOS, TAK, PON1 ve ARE ve LPO düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Her 3 grubun eş zamanlı venöz kan serumu sonuçları, TOS, TAK, PON1 ve HbA1c düzeyleri istatistiksel olarak önemli bulunmuşken, ARE ve LPO açısından önemsiz bulundu. Grup 1 ve 2, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, Grup 1'de istatistiksel olarak anlamlı oranda PON 1 düşük, HbA1c yüksek, Grup 2'de TOS ve HbA1c yüksek, TAK ve PON 1 düşük bulundu (P<0,05).

Tartışma: Oksidatif stres göstergesi enzimler kanda pozitif, hümör aközde ise negatif olarak tespit edildi. Hümör aközde ilk kez çalışılan bu enzimlerde, polimorfizm gösterenlerin alt tiplerinin de dahil edildiği yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünüldü. (*Turk J Ophthalmol 2012; 42: 47-52*)

Anahtar Kelimeler: Diyabetik retinopati, hümör aköz, oksidatif stres, paraoksonaz, arilesteraz

Summary

Purpose: The aim was to compare total oxidative stress (TOS), total antioxidant capacity (TAC), and paraoxonase (PON1), arylesterase (ARE), and lipid peroxidase (LPO) levels in the aqueous humor and concurrent venous blood serum and to evaluate the role of oxidative stress in the progression of diabetic retinopathy in diabetic and non-diabetic patients with cataract.

Material and Method: Oxidative tissue and organ damage play a significant role in diabetes and related complications. A reduction in the activities of antioxidant enzymes such as superoxide dismutase, glutathione peroxidase, glutathione reductase and catalase has been reported in both blood and lens samples. PON1, ARE, and LPO are unreviewed antioxidant enzymes until now. We included diabetic and non-diabetic patients who were admitted to our clinic for complaints of hazy vision and who received the diagnosis of cataract. Patients were divided into 3 groups: group 1 - diabetic patients without retinopathy, group 2 - with diabetic retinopathy, and group 3 - patients without systemic disease outside the diagnosis of cataract. A total of 78 patients (26 patients in each group) were enrolled in the study.

Results: In this study, there was no statistically significant difference among the groups for TOS, TAC, PON1, ARE and LPO levels in aqueous humor. Although simultaneous venous blood serum results, TOS, TAC, PON1 and HbA1c levels in all 3 groups were found statistically significant, ARE and LPO were not statistically significant. When groups 1 and 2 were compared with control group, it was found that in group 1, PON 1 was statistically significantly low and HbA1c was high, while in group 2, TOS and HbA1c were high and TAC and PON 1 were low (p<0.05).

Discussion: Oxidative stress indicator enzymes were determined to be positive in blood and negative in humor aqueous. In the present study, these enzymes were studied for the first time in aqueous humor, thus, further studies including subtypes in case of polymorphism are needed. (*Turk J Ophthalmol 2012; 42: 47-52*)

Key Words: Diabetic retinopathy, aqueous humor, oxidative stress, paraoxonase, arylesterase

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Ayşe Vural Özç, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Sivas, Türkiye
Gsm: +90 505 375 40 33 E-posta: vural.ayse@gmail.com

Geliş Tarihi/Received: 05.04.2011 **Kabul Tarihi/Accepted:** 01.08.2011

Giriş

Diyabetin komplikasyonları metabolik stresin bir sonucu olarak gerçekleşmektedir. Metabolik stres oksidatif stresinin artmasına, artan oksidatif stresde diyabetin komplikasyonlarına sebep olan yapısal ve işlevsel hasara neden olmaktadır.¹ Bir komplikasyon olan, yaşla ilişkili kataraktın erken başlaması, sorbitolün lenste birikimi ve eşlik eden hidrasyon, lens proteinlerinin non-enzimatik glikolizasyonu ile artmış oksidatif stresin bir sonucu olabileceğine bağlanmıştır.² Diyabetik hastalarda antioksidan sistemlerde de kusur vardır.^{3,4} Serbest radikallerin bulunması ile ilgili olarak oksidatif stres biyomarkerlerini belirlemek için yoğun çalışmalar yürütülmüştür. Genel biyomarkerler süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve katalaz gibi antioksidan enzimleri içermektedir.⁵

Son yıllarda ise Paraoksonaz (PON) ve Arilesteraz (ARE) antioksidan özelliklerinin ortaya konması nedeniyle güncellik kazanmıştır. PON ve ARE, aynı gen tarafından kodlanan ve aktif merkezleri benzer olan esteraz grubundaki enzimlerdir. PON1'in polimorfik değişim gösterdiği bilinmesine karşın ARE enzimi genetik polimorfik bir değişim göstermemektedir. PON1 enzimi Low Density Lipoprotein'i (LDL) oksidasyondan koruyucu özelliği ve hidrojen peroksit de dahil olmak üzere diğer radikalleri nötralize etme kapasitesi nedeniyle antioksidan işlevde bulunmaktadır. ARE ise, PON1'deki değişimlerden etkilenmeyen asıl proteinin göstergesi olarak kabul edilmektedir.⁶⁻⁸

PON1, ARE, lipid peroksidaz (LPO) diyabetik ve diyabetik retinopatili bireylerde şimdiki kadar yeterince incelenmeyen antioksidan enzimlerdir. Bu çalışmada, diyabetik ve diyabetik olmayan katarakt hastalarında, hümeör aközde ve kanda, total oksidatif stres (TOS), total antioksidan kapasite (TAK), PON1, ARE, LPO seviyelerini ölçmek ve diyabeti olmayan sağlıklı bireylerdeki değerlerle karşılaştırmak amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Hasta Seçim Kriterleri

Olgular 10.03.2010 ile 30.08.2010 tarihleri arasında, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi (CÜTF) Göz Hastalıkları Anabilim Dalı polikliniğine, bulanık görme şikayeti ile başvuran ve katarakt tanısı alıp, cerrahi tedavi önerilen diyabetik ve diyabetik olmayan hastalar arasından seçildi. Diyabeti olup retinopatili olmayan hastalar 1. grup, diyabetik retinopatili hastalar 2. grup, katarakt tanısı dışında ek sistemik hastalığı olmayan hastalar ise 3. grup (kontrol grubu) olarak ayrıldı. Her bir grup ayrı ayrı 26 hasta olacak şekilde toplam 78 hasta çalışmaya dahil edildi.

Son 8 hafta içinde başta statin, fibrat, niasin, nikotinik asit gibi antihiperlipidemik ilaç almış olanlar, belirgin kilo kaybı, akut miyokart enfaktüsü, akut infeksiyon hikayesi ve bilinen tiroid, böbrek, karaciğer fonksiyon bozukluğu olan erişkin hastalar ve en az bir yıl süre içerisinde sigara ve alkol kullanım öyküsü olanlar çalışmaya alınmadı.

Bu çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi etik komitesinden onay alınarak (Tarih: 02.06.2010 Karar No: 2010-03/01 Sayı:10/72), Helsinki Deklarasyonu ile uyumlu yürütüldü ve çalışmaya dahil edilen her hastanın yazılı onamı alındı.

Numunelerin Toplanması ve Saklanması

Rutin katarakt cerrahisi aşamalarından biri olan korneadan, yan giriş açma işlemi sonrasında 27 gauge kanül takılmış insülin enjektörü ile aköz hümeör alındı.

Eşzamanlı olarak ön koldan venöz kan alınarak (12 saat açlık sonrası), vakumlu EDTA'lı ve jelli antikoagülsüz tüplere konuldu. Her bir jelli tüp, en fazla 20 dakika içinde 2500 x g'de 15 dakika süreyle santrifüj edildi ve 3 eppendorf tüpüne ayrıldı. Gerek aköz hümeör içeren enjektörler gerekse eppendorf tüpleri numunelerin alınmasından en geç 30 dakika içerisinde, -24 °C'lik derin dondurucuya konularak saklandı.

Total Oksidatif Stres

TOS düzeyleri ticari olarak mevcut olan kitler kullanılarak ölçüldü. Yeni yöntemde, örnekte bulunan oksidanlar ferrous iyonu-dianisidine kompleksini ferik iyonuna oksidize etmişlerdir. Oksidasyon reaksiyonu, reaksiyon ortamında bol bulunan gliserol molekülleri tarafından sağlandı. Ferrik iyonu asidik ortamda ksinelol turuncu ile renkli bir kompleks üretmiştir. Spektrofotometrik olarak ölçülebilen renk yoğunluğu örneklerde bulunan oksidan moleküllerinin toplam miktarı ile ilişkilidir. Deneme hidrojen peroksit ile kalibre edildi ve bulgular her litrede mikromolar hidrojen peroksit açısından ifade edildi (mmol H₂O₂ eşvalan/L).

Total Antioksidan Kapasite

TAK düzeyleri ticari olarak mevcut olan kitler kullanılarak ölçüldü. Yeni geliştirilen yöntem daha stabil bir radikal katyon olan ABTS'nin (2,2-Azino-bis 3 etil benzothiazolin 6- sulfonik asit) karakteristik renginin beyazlatılmasına dayandırılmaktadır. Denemenin %3'den daha az olan mükemmel kesinlik değerleri vardı. Bulgular mmol Trolox eşvalan/L (yeni jenerasyon olan daha stabil ABTS radikali kullanılan toplam antioksidan kapasitesinin yeni geliştirilmiş direkt ölçümü) olarak ifade edildi.

Paraoksonaz ve Arilesteraz Aktiviteleri Ölçümü

PON ve ARE aktiviteleri ticari olarak var olan kitler kullanılarak ölçüldü. Paraoksan hidroliz oranı (dietilp nitrojenylfosfat) 37 derecede 412 nm'de emilim artışı

Tablo 1. Gruplara göre cinsiyet ve yaş dağılımı

	Grup 1	Grup 2	Grup 3
Erkek	14 (%53,8)	13 (%50)	15 (%57,7)
Kadın	12 (%46,2)	13 (%50)	11 (%42,3)
Yaş	60-88	56-82	60-85
Ortalama±SD	(71,03±6,65)	(67,53±6,94)	(71,65±8,70)

Grup 1: Retinopatisiz Diabet

Grup 2: Diabetik Retinopati

Grup 3: Kontrol

SD: Standart Deviyasyon

gözlemlenerek ölçüldü. Oluşturulan p-nitrofenol 8.5 pH'da 18,290 M-1 cm olan molar emilim katsayısından hesaplandı. Bir paraoksonaz aktivitesi U/L serum olarak ifade edildi. ARE aktivitesini ölçmek için Fenil asetat bir substrat olarak kullanıldı. Enzimatik aktivite üretilen fenolün molar emilim katsayısı 1310 M-1 cm'den hesaplandı. ARE aktivitesinin bir ünitesi yukarıdaki ve U/I olarak ifade edilen koşullar altında oluşturulan 1 mmol fenol olarak tanımlandı.

Lipitperoksidaz Ölçümü

Plazma/serum lipid hidroperoksit düzeyi FOX1 modifiye yöntemiyle ölçüldü. (Nourooz-Zadeh et al. , 1994; ferrousoxidation of xylenol orange method I: FOX I). Seyreltik asitlerde, hidroperoksitler ferröz iyonu ferrik iyonla oksitlerler. Oluşan ferrik iyon, ferrik duyarlı boyalarla saptanır ve hidroperoksit miktarı ölçülür. Örnekler, ferröz iyonla reaksiyona girecek gerçek hidroperoksitleri açığa çıkarmak için önce katalaz enzimiyle muamele edildi. Böylece ferröz iyonu oksitleyecek hidrojen peroksit ortamdan uzaklaştırıldı. 90uL plazma, standart olarak 0-5uM H₂O₂ alındı ve üzerlerine 10uL katalaz (50000 U/mg protein) ilave edilip 30 dakika inkübe edildi. Bu solusyona 900 uL FOX1 çözeltilisi (250uM amonyum ferröz sulfat, 100uM xylenol orange, 100uM sorbitol, 25 mM H₂SO₄) ilave edilerek ve 30 dakika oda ısında bekletildi. Daha sonra 560 nm de okunarak sonuçlar umol/L olarak verildi. İntra-assay ve inter-assay CV'ler %2 ve %4 olarak saptandı.

Hemoglobin A1c (HbA1c) Tesbiti

Retinopatisi olan ve olmayan diyabetik hasta gruplarının, CÜTF Hastanesi arşivi hasta takip dosyalarından retrospektif olarak HbA1c düzeyleri bakılarak elde edilmiştir.

İstatistiksel İncelemeler

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 14.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri

değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart sapma) yanısıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında Varyans analizi, Tukey testi ve Ki-Kare testi kullanıldı. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, anlamlılık p<0,05 düzeyinde değerlendirildi.

Bulgular

Çalışmaya toplam 78 hastanın 78 gözü alındı. Her bir grupta 26 hastanın 26 gözü incelendi.

Çalışmaya alınan hastaların ortalama yaşı 1.grupta 71,03±6,65 (60-88) yıl, 2. grupta 67,53±6,94 (56-82) yıl, 3. grupta ise 71,65±8,70 (60-85) yıl idi. Yaş yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p>0,05). Çalışmaya alınan hastaların 42'si (%53,85) erkek, 36'sı (%46,15) kadın idi. Cinsiyet yönünden gruplar arası dağılıma bakıldığında, 1.gruptaki bireylerin 14 (%53,8)ü erkek, 12 (%46,2)si kadın, 2. gruptaki bireylerin 13 (%50)ü erkek, 13 (%50)ü kadın, 3. gruptaki bireylerin 15 (%57,7)si erkek, 11 (%42,3)i kadın idi. Cinsiyet yönünden gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (P>0,05) (Tablo 1).

Birinci grubun eş zamanlı venöz kan serumunun TOS değeri 5,93±2,66, 2. grubun 7,22±1,51 ve 3. grubun 5,01±3,61 idi. Üç grup TOS değerleri karşılaştırıldığında retinopatisi olan grup diğer iki gruba göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksekti (p<0,002). Ayrıca retinopatisi olmayan grup ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark yoktu (p>0,05) (Tablo 2).

Birinci grubun eş zamanlı venöz kan serumunun TAK değeri 1,49±0,41, 2. grubun 1,21±0,24, ve 3. grubun 1,42±0,31 idi. Üç grup TAK değerleri karşılaştırıldığında retinopatisi olan grup diğer iki gruba göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşüktü (p<0,01). Ayrıca retinopatisi olmayan grup ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark yoktu (p>0,05) (Tablo 2).

Tablo 2. Eş zamanlı venöz kan serumunun sonuçları

SERUM Ortalama±SD	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Sonuç
TOS	5,93±2,66*	7,22±1,51	5,01±3,61*	F=6,52 P=0,002*
TAK	1,49±0,41	1,21±0,24*	1,42±0,31	F=4,95 P=0,010*
PON1	56,26±26,45*	55,96±30,60*	74,80±34,61	F=3,20 P=0,046*
ARE	21570,30±1182,28	22303,53±1897,59	22049,80±1067,37	F=1,76 P=0,178
LPO	2,09±0,65	2,15±0,66	2,29±0,86	F=0,50 P=0,607
HbA1c	8,21±2,70*	7,85±1,96*	4,01±0,55	F=36,84 P=0,0001*

Grup 1: Retinopatisiz Diabet

Grup 2: Diabetik Retinopati

Grup 3: Kontrol

TOS: Total Oksidatif Stres

TAK: Total Antioksidan Kapasite

PON 1: Paraoksonaz

ARE: Arilesteraz

LPO: Lipit peroksidaz

HbA1c: Hemoglobin A1c

SD: Standart Deviyasyon

Eş zamanlı venöz kan serumunda paraoksonaz (PON1) değerlerine bakıldığında, 1. grupta $56,26 \pm 26,45$, 2. grupta $55,96 \pm 30,60$ ve kontrol grubunda ise $74,80 \pm 34,61$ idi. PON1 değerleri retinopatisi olan ve retinopatisi olmayan gruplarda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük bulundu ($P < 0,05$). Ancak retinopatisi olan ve retinopatisi olmayan gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulundu ($P > 0,05$) (Tablo 2).

Gruplara ait serum HbA1c değerleri karşılaştırıldığında, 1. grupta $8,21 \pm 2,70$, 2. grupta $7,85 \pm 1,96$ ve 3. grupta ise $4,01 \pm 0,55$ idi ($P < 0,05$). HbA1c değerleri, retinopatisi olan ve retinopatisi olmayan gruplarda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulduk ($P < 0,05$). Ancak retinopatisi olan ve retinopatisi olmayan gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ($P > 0,05$) (Tablo 2).

Gruplara ait, serum ARE ve serum LPO değerleri karşılaştırıldığında gruplar arası fark istatistiksel olarak önemsiz bulundu ($P > 0,05$) (Tablo 2).

Bireylerden alınan hüümör aközde laboratuvar sonuçlarına bakıldığında; TOS, TAK, PON1, ARE arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P > 0,05$) (Tablo 3).

Tartışma

Diyabetik retinopati önemli, önlenilebilir körlük nedenlerindedir. Oksidatif stresin diyabet komplikasyonları üzerindeki olası rolüne ilişkin çok sayıda kanıt bulunmaktadır. Diyabet serbest radikallerin arttığı ve/veya antioksidan mekanizmaların inhibe olduğu oksidatif stres durumlarından birisidir. Çeşitli yayınlarda bazı antioksidan enzimlerin azaldığı, arttığı veya değişmediği rapor edilmişse de araştırmacıların kesinlikle fikir birliğine vardıkları konu diyabette lipid peroksidasyonunun arttığı ve antioksidan mekanizmaların bozulmuş olduğudur. Bu yüzden diyabet tedavisinde antidiyabetiklere ek olarak antioksidan maddelerin veya antioksidan özellikleri olan antidiyabetiklerin kullanılması, oksidatif stresle başa çıkabilmek için tavsiye edilmektedir.⁹

Diyabet ve diyabet komplikasyonlarının reaktif oksijen türleri ile olan ilişkisini gösteren çalışmalarda, nonenzimatik glikasyon, enerji metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan metabolik stres, sorbitol yol aktivitesi, hipoksi ve iskemi-reperfüzyon sonucu oluşan doku hasarının serbest radikal üretimini arttırdığı ve antioksidan savunma sistemini değiştirdiği vurgulanmaktadır.¹⁰ Diyabetli hastalarda lipid hidroperoksidler, konjuge dienler, tiyobarbitürik asit, reaktif maddeler ve isoprostanlar gibi oksidatif stres göstergelerinin düzeylerinin arttığı görülmüştür. Eş zamanlı olarak E ve C vitaminleri, glutatyon, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan parametrelerin miktarının azalmasının diyabetin kronik komplikasyonlarının patogeneğinde oksidatif stresin önemli bir rolü olabileceğini göstermektedir.¹¹⁻¹⁶

Uçgun ve ark.¹⁷ diyabetik retinopati ilerlemesinde oksidatif stresin etkisini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada proliferatif diyabetik retinopati (PDRP) ve non-proliferatif diyabetik retinopati (NPDRP) guplarında kontrol grubuna göre serum TAK'ın azaldığı ve TOS'un arttığını göstermiştir. Çalışmamızda serum TAK değeri retinopatili grupta, kontrol ve retinopatisi olmayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük iken, kontrol grubu ile retinopatisi olmayan grup arasında ise anlamlı bir fark yoktu. Ayrıca serum TOS değeri retinopatili grupta, kontrol grubu ve retinopatisi olmayan gruba göre anlamlı şekilde yüksek iken, kontrol grubu ile retinopatisi olmayan grup arasında ise anlamlı bir fark yoktu. Yani Uçgun ve ark.'nın yaptığı çalışmaya paralel olacak şekilde retinopatili grupta serum TAK'da azalma ve TOS'da artma tespit edilerek diyabetin, oksidatif stres üzerine olan etkisi bir kez daha ortaya kondu.

Diyabetik retinopati gelişme riski ayrıca kötü glisemik kontrol ve diyabetin süresi ile de artmaktadır.¹⁸ Organizmada proteinler uzun süre yüksek yoğunlukta glukoz maruz kalırlarsa glukoz hızla proteinlerin amino gruplarına nonenzimatik yolla bağlanır. Glikozillenmiş proteinler otooksidasyona uğrar ve bu sırada serbest radikaller üretilir.^{19,20} Bu sebeple biz de çalışmada serum HbA1c değerlerini karşılaştırdık. Uçgun ve ark.¹⁷ yaptıkları aynı çalışmada HbA1c değerlerini NPDR ve PDR gruplarında kontrol grubundan

Tablo 3. Bireylerden alınan hüümör aköz sonuçları

Hüümör Aköz Ortalama±SD	Grup1	Grup2	Grup3	Sonuç
TOS	10,72±9,72	9,07±9,44	7,63±5,65	F=0,86 P=0,427
TAK	1,81±0,39	1,64±0,61	1,54±0,61	F=1,57 P=0,215
PON1	1,57±0,50	1,46±0,58	1,50±0,50	F=0,31 P=0,730
ARE	18101,30±636,98	17973,46±488,33	17924±207,23	F=0,95 P=0,392

Grup 1: Retinopatisiz Diabet
 Grup 2: Diyabetik Retinopati
 Grup 3: Kontrol
 TOS: Total Oksidatif Stres
 TAK: Total Antioksidan Kapasite
 PON 1: Paraoksonaz
 ARE: Arilesteraz
 SD: Standart Deviyasyon

yüksek bulmuşlardır. Çalışmamızda benzer olarak retinopati ve retinopatisiz diyabetik gruplarda, HbA1c kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Ancak HbA1c değerlerinin, retinopati grubta retinopatisiz gruba göre düşük olmasını, hastaların kan şekeri regülasyonuna, retinopati gelişmesiyle daha fazla önem vermeye başladıkları şeklinde yorumladık.

PON1 ve ARE enzimleri, lipid peroksidlerin oksidasyonunu önlediğinden dolayı antioksidan savunma sistemi içinde yer almaktadır. Azalmış PON 1 aktivitesinin; azalmış spesifik aktivite, glikolizasyon veya oksidatif stres arttığında dolaşıma salınan oksidasyon ürünlerinden birinin inhibisyonu sonucu veya serum konsantrasyonun azalması sonucu meydana gelebileceği önceki çalışmalarda belirtilmiştir.^{21,22} PON1 enzimi üzerine yapılan çalışmalar enzimin LDL ve HDL partiküllerinin oksidasyonunu önleyerek ve diğer mekanizmalarla aterosklerotik oluşumu engellediği ya da yavaşlattığını göstermiştir. Bu çalışmalar, diyabetli hastaların serbest radikallerin patogenezde rol oynadığı hastalıklarda PON1 enziminin önemini ortaya çıkarmıştır. Öztürk ve ark.²³ ve Mackness ve ark.²⁴ serum PON1 enzimi aktivitesini diyabetli hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı biçimde düşük olarak tespit etmişlerdir. Çalışmamızda literatürü destekler şekilde, retinopatisiz ve retinopati diyabet gruplarında kontrol grubuna göre PON1 değeri anlamlı şekilde düşük bulundu.

Bazı çalışmalar diyabetli bireylerde PON1 ve PON2 polimorfizmlerinin kodlama bölgeleri ile diyabetik retinopati ve nefropati gibi diyabet komplikasyonları arasında bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Kao ve ark.²⁵ Avustralyalı tip 1 diyabetli adölesanlarda Met54Leu polimorfizmi ile diyabetik retinopati arasında güçlü bir ilişki bulmuşlardır. Başka bir çalışmada tip 1 diyabeti ve PON1 geni 54. pozisyonda L/L polimorfizmi olan bireylerin retinal komplikasyonlara daha yatkın olduğu bulunmuştur.²⁶ Bunun tersine tip 2 diyabetli bir Japon grubunda PON1 polimorfizmleri ile komplikasyonlar arasında ilişki bulunmamıştır ve yine Birleşik Devletler Machesterdaki bir grupta da PON1 ve PON2 polimorfizmleri ve retinopati arasında ilişki bulunmamıştır.^{27,28} Bu çalışmada venöz kanda PON1 değeri retinoptili ve retinopatisiz grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşüktü. Ancak aköz hümede her 3 grupta da oldukça düşük seviyelerde tespit edildi. PON1'in polimorfizm gösteren bir enzim olduğundan yola çıkılarak aköz hümede diğer alt tiplerin araştırılması gerektiği sonucuna vardık.

Hashim ve ark.²⁹ kataraktı olan senil ve diyabetik hastalarda, serum PON1 ve ARE enzimleri karşılaştırmış, diyabeti olan katarakt ve nondiyabetik katarakt hastalarında serum PON1 ve ARE enzim düzeyleri, diyabeti olmayan katarakt ve kontrol gruplarına göre anlamlı olarak düşük bulmuşlardır. Yine aynı çalışmada malonil aldehit ve LPO düzeyleri karşılaştırılmış ve diyabeti olan katarakt ve kontrol gruplarında, diyabeti olmayan kontrol ve katarakt gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda, eş zamanlı venöz kan serumunda PON1 düzeyleri, retinopati ve retinopatisiz diyabet gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak düşük bulunmuştur. Ancak

gruplar arasındaki istatistiksel olarak fark ARE ve LPO düzeyleri açısından önemsiz bulunmuştur. Çalışmamızın sonuçları, yukarıda da belirtilen mekanizmalarla diyabetin, oksidatif stres artışına, antioksidan mekanizmaların ise azalmasına neden olduğunu gösteren çalışmaları destekler niteliktedir.

Oksidatif hasar gözüün birçok patolojik sorunu ile ilgilidir. Birçok oküler dejeneratif hastalık çalışılmıştır ve lipid peroksidasyon, antioksidan enzim aktivitesi ve düşük moleküler ağırlıklı antioksidanlar gibi göstergelerle oksidatif stresin etkisi ispatlanmıştır.^{30,31} Oksidan yaralanmasında koruma sağlamak için savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bu savunmalardan temel olanları antioksidan enzimler, SOD, katalaz ve glutatyon peroksidazdır. Aköz hümede hidrojen peroksit ve süperoksit anyonu gibi birçok antioksidan ajanı içerdiği bilinmektedir.³² De La Paz ve Epstein'in³³ çalışmasında, aköz hümede süper oksit radikallerin varlığı ile trabeküler ağın kronik maruziyetine bağlı olarak primer açık açılı glokom patogenezinde oksidatif hasarın olası rolünü bildirmektedir. Ferreira ve ark.³⁴ primer açık açılı glokomu olan hastalarda yaptıkları çalışmaya göre, hastaların hümede aközlerin de TAK değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulmuşlar. Yine aynı çalışmada hümede aköz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz düzeylerini ise anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır. Ancak diyabetik hastaların aköz hümede yapılmış oksidatif stres parametrelerinin tesbitine yönelik bir çalışma literatürde yer almamaktadır. Bu anlamda çalışmamız bir ilk olduğu için de önemlidir.

Bu çalışmada hümede aköz TOS, TAK, PON1 ve ARE düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Ancak eş zamanlı venöz kan serumunda PON1 değerleri ve hümede aköz PON1 değerleri karşılaştırıldığında önemli derecede düşük bulundu. Kontrol grubunda da görüldüğü için bu durumun diyabete bağlı olmadığı, PON1 enziminin hümede aközde, seruma göre belirgin olarak düşük konsantrasyonlarda bulunduğu şeklinde yorumlandı. Ancak yukarıda da belirtildiği gibi paraoksonaz, polimorfizm gösteren bir enzim olduğundan, hümede aközde paraoksonazın alt tiplerinin de (PON2, PON3 v.b.) değerlendirildiği farklı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünüldü.

Kaynaklar

1. Hunt JV, Bottoms MA, Mitchinson MJ. Oxidative alterations in the experimental glycation model of diabetes mellitus are due to protein-glucose adduct oxidation. *Biochem J*. 1993;291:529-35.
2. Flynn HW Jr, İn: Smiddy WE, ed. Diabetes and Ocular Diseases : Past, Present, and Future Therapies. *Ophthalmology Monograph* 14. San Francisco; American Academy of Ophthalmology; 2000;226:49-53.
3. Hartnett ME, Stratton RD, Browne RW, et al. Serum markers of oxidative stress and severity of diabetic retinopathy. *Diabetes Care*. 2000;23:234-40.
4. Grattagliano I, Vendemiale G, Boscia F, Micelli-Ferrari T, Cardia L, Altomare E . Oxidative retinal products and ocular damages in diabetes patients. *Free Radical & Medicine*. 1998;25:369-72.
5. Behnding A, Svensson B, Marklund S, Karisson K. Superoxide dismutase isoenzymes in the human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1998;39:471-5.

6. Özdin M, Gürsu MF. Koroner kalp hastaları ile çeşitli risk faktörlerini taşıyan bireylerde paraoksonaz 1 ve arilesteraz aktiviteleri ile fenotiplerinin araştırılması. Uzmanlık Tezi, Elazığ:Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim Dalı, 2003.
7. Li WF, Costa LG, Furlong CE. Serum paraoxonase status: A major factor in determining resistance to organophosphates. *J Toxicol Environ Health.* 1993;40:337-46.
8. Gürsu M.F, Özdin M. Sigara içenlerde serum paraoksonaz (PON1) aktiviteleri ile malondialdehit düzeylerinin araştırılması. *Fırat Tıp Dergisi.* 2002;7:732-7
9. Memişoğulları R, Akçay F. Hiperhomosisteinemi de Biyokimyasal Mekanizmalar. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi* 2004;2(1):41-9.
10. Altan N., Dinçel A., Koca C. Diyabetes Mellitus ve Oksidatif stres *Türk Biyokimya Dergisi.* 2006;31:51-6.
11. Memişoğulları R, Taysi S, Bakan E, Capoglu I. Antioxidant Status and Lipid Peroxidation in Type II Diabetes Mellitus. *Cell Biochem Func.* 2003;21:291-6.
12. Memişoğulları R, Bakan E. Levels of ceruloplasmin, transferrin, and lipid peroxidation in the serum of patients with Type 2 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Its Complications.* 2004;18(4):193-7.
13. Alper G. Diyabet. In: Onat T, Emerk K, Sözmen EY, (eds). *İnsan Biyokimyası.* Ankara, Palme Yayıncılık, 2002:248-57.
14. Ostenson C. G. The pathophysiology of type 2 diabetes mellitus: an overview. *Acta Physiologica Scandinavica* 2001;171:241-7.
15. Lipinski B. Pathophysiology of oxidative stress in diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Its Complications* 2001;15:203-10.
16. Memişoğulları R. Plazma Homosistein Düzeyleri ile Tip 2 Diyabet, Komplikasyonları, Kontrolü ve Süresi Arasındaki İlişkinin Araştırılması. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Erzurum, 2003.
17. Turk HM, Sevinç A, Camcı C, Cıqlı A, Buyukberber S, Savli H, et al. Plasma lipid peroxidation products and antioxidant enzyme activities in patients with type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol* 2002;39:117-22.
18. Diabetes control and complications trial research group. The effect of intensive diabetes treatment on the progression of diabetic retinopathy in insulin -dependent diabetes mellitus. *Arch.Ophthalmol.* 1995;113:36-51.
19. Hunt JV, Bottoms MA, Mitchinson MJ. Oxidative alterations in the experimental glycation model of diabetes mellitus are due to protein-glucose adduct oxidation. *Biochem J.* 1993;291:529-35.
20. Wolff SP, Dean RT. Glucose autooxidation and protein modification: The potential role of autooxidative glycosilation in diabetes. *Biochem. J.* 1987;245:243-50.
21. Valabhji J, McColl A J, Schachter M, Dhanjil S, Richmond W, Elkeles RS. High density lipoprotein composition and paraoxonase activity in Type I diabetes *Clinical Science.* 2001;101:659-70.
22. Gürsu M F, Özdin M. Lipoprotein (A) düzeyleri ile PON1 aktivitelerinin komplikasyonlu ve komplikasyonsuz Tip 2 diabetik hastalarda araştırılması. *Fırat Tıp dergisi.* 2002;7:720-26.
23. Ekmekçi Ö, Donma O, Ekmekçi H. Paraoksonaz. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi.* 2004;2:35.
24. Mackness B, Durrington PN, Boulton AJM, Hine D. Serum paraoxonase activity in patients with type 1 diabetes compared to healthy controls. *Eur Clin Invest* 2002;32:259-64.
25. Kao Y, Donaghue KC, Chan A, Bennets BH, Knight J, Silink M. Paraoxonase gene cluster is a genetic marker for early microvascular complications in T1DM. *Diabet Med* 2002;19:212-5.
26. Kordonouri O, James RW, Bennets B et al. Modulation by blood glucose levels of activity and concentration of paraoxonase in young patients with type 1 diabetes mellitus. *Metabolism.* 2001;50:657-60.
27. Ikeda Y, Suehiro T, Inoue M, Nakauchi Y, Morita T, Arai K, et al. Serum paraoxonase activity and its relationship to diabetic complications in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 1998;47:598-602.
28. Mackness B, Durrington PN, Abuashia B, Boulton AJ, Mackness MI . Low paraoxonase activity in type II diabetes mellitus complicated by retinopathy. *Clin Sci (Colch).* 2000;98:355-63.
29. Vision research. A national plan 1999-2000, Report of the National Advisory Council, National Eye Institute; 1998. p. 59
30. Halliwell B, Gutteridge J. Free radicals in biology and medicine. 3rd ed. New York: Oxford University Press Inc, 1989:1-35.
31. Sies H. Oxidative stress. San Diego: Academic Press, 1985:1-7.
32. Spector A, Garner WH. Hydrogen peroxide and human cataract. *Exp Eye Res.* 1981;33:673.
33. De la Paz M, Epstein D. Effect of age on superoxide dismutase activity of human trabecular meshwork. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1996;37:1849-53.
34. Ferreira DR, Hendrickson A. Effect of intraocular pressure on rapid axoplasmic transport in monkey optic nerve. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1974;13:771-83.