

# Leptin Uygulanan Sağlıklı ve Diyabetik Sıçanlarda Yara Dokusu Malondialdehit ve Glutatyon Düzeyleri

## Wound Tissue Malondialdehyde and Glutathione Levels in Leptin Treated Healthy and Diabetic Rats

### Sibel Dinçer

Prof., M.D.  
Department of Physiology  
Gazi University Medical Faculty  
sdincer@gazi.edu.tr

### Şebnem Gülen

Assist. Prof., M.D.  
Department of Physiology  
Başkent University Medical Faculty  
sebnemgulen@gmail.com

*This study was presented at the 1th National Leptin Symposium, 20-22 June, 2003, Konya, Türkiye.*

*This study was supported by Gazi Üniversitesi (BAP 01/2002-58).*

Submitted : September 01, 2009  
Revised : May 06, 2010  
Accepted : July 26, 2010

### Corresponding Author:

Yard. Doç. Dr. Şebnem Gülen  
Başkent Üniversitesi, Tıp Fakültesi  
Fizyoloji Anabilim Dalı  
06790, Etimesgut – Ankara, Turkey

Phone : +90- 312 2341010  
e-mail : sebnemgulen@gmail.com

### Özet

**Amaç:** Streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş ve sağlıklı sıçanlarda Leptin uygulamasının yara dokularında malondialdehit ve redükte glutatyon düzeylerine etkisini araştırmak amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmada 28 adet Wistar albino erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar sağlıklı kontrol (n=14) ve Streptozotosin-diyabetik (n=14) olarak iki ana gruba ayrıldı. Diyabet Streptozotosin uygulaması (intraperitoneal, 55 mg/kg) ile oluşturuldu. Kontrol grubuna eş hacimde Sitrata tampon enjekte edildi. Streptozotosin uygulamasından 7 gün sonra tüm sıçanlarda, anestezi altında iken sırtta orta hattın iki yanında 6 adet eksizyonel cilt yarası oluşturuldu. Sağlıklı ve diyabetik sıçanlar leptin ve taşıyıcı alt gruplarına ayrıldı. Beş gün süre ile leptin gruplarına sistemik olarak leptin (intraperitoneal; 0.1mg/kg/gün), taşıyıcı gruplarına ise eş hacimde fosfat tampon (PBS) ve tüm sıçanlarda sırtta orta hattın sağındaki yaralarına 5 µg leptin (20 µl PBS içinde), solundaki yaralarına eş hacimde PBS uygulandı. Uygulamaların sonunda anestezi altında feda edilen sıçanların yara dokularında MDA ve GSH ölçümleri yapıldı.

**Bulgular:** Diyabetik kontrol yaraları sağlıklı kontrol yaraları ile karşılaştırıldığında MDA düzeyleri anlamlı olarak yüksek, GSH düzeyleri anlamlı olarak düşük bulundu. Leptin; sağlıklı sıçanlarda topikal olarak uygulandığında, diyabetik sıçanlarda ise topikal ve sistemik birlikte uygulandığında yara dokusu MDA düzeylerinin kontrol yaralarına göre anlamlı düzeyde düşürdü.

**Sonuç:** Sağlıklı ve diyabetik sıçanlarda leptin uygulaması ile yara dokusundaki oksidan hasar azaltılabilmektedir.

Anahtar Kelimeler: **Glutatyon; Leptin; Lipid Peroksidasyonu; Streptozotosin; Yara İyileşmesi.**

### Abstract

**Objectives:** We aimed to investigate the effects of leptin on wound tissue malondialdehyde and reduced glutathione levels in Streptozotocin-induced diabetic and healthy rats.

**Patients and Methods:** Experiments were performed on 28 male Wistar rats. Animals were divided as healthy control (n = 14) and Streptozotocin -induced diabetic (n = 14) rats. Diabetes was induced by injection of Streptozotocin (intraperitoneally, 55 mg/kg bw). On the 7th day after administration of Streptozotocin, six full-thickness excisional wounds were made under anesthesia in all animals. Then, both healthy and diabetic animals were divided into systemic leptin (intraperitoneally; 0.1mg/kg/day, for 5 days) and vehicle (Phosphate buffered saline (PBS)) subgroups. For topical administrations, wounds of all rats were covered with 5 µg leptin (in 20 µl PBS, for 5 days- right side wounds) and vehicle (left side wounds). At the end of these administrations, the animals were sacrificed and MDA and GSH analysis were made on wound tissues.

**Results:** High MDA and low GSH levels were observed in diabetic control wounds than in healthy control wounds. Topical treatment of normal wounds and systemic and topical co-treatment of diabetic wounds with leptin decreased malondialdehyde levels of wound tissue.

**Conclusion:** Wound tissue oxidative damage might diminish via leptin in healthy and diabetic rats.

Key words: **Glutathione; Leptin; Lipid Peroxidation; Streptozotocin; Wound Healing.**

## Giriş

Yara iyileşmesinin *Diabetes Mellitus*'da "bozulması veya gecikmesi" iyi bilinen bir klinik problemdir. Diyabette yara iyileşmesindeki problemler; hücrel infiltrasyonun, anjiyogenezin, granülasyon dokusunun, kollajen miktar ve organizasyonunun azalması ile enfeksiyöz komplikasyonların artışı olarak özetlenebilir (1).

Diyabette görülebilen yara iyileşmesi sorunlarının nedenleri tamamen açıklanamamış olsa da temelde bu durumdan hiperglisemi sorumlu tutulmaktadır. Yüksek kan glukozunun hücre çoğalmasını ve kollajen yapımını engellediği gösterilmiştir. Ayrıca büyüme faktörlerinin ve fibroblast çoğalmasının azalması, yara dokusu hücrelerinde apoptoz artışı, kemotaksis ve fagositozda görülen azalmayla enfeksiyon oluşumu gibi durumlar da hipergliseminin yara iyileşmesine olan olumsuz etkileri arasında sıralanabilir (1). Bunların yanı sıra diyabetik yaralarda serbest radikallerin oluşumu ve bunları ortadan kaldıran antioksidan mekanizmalar arasında dengesizlik olduğu da bilinmektedir (2). Bu durum, diyabette süregelen hiperglisemi varlığında glikozun ve glikolize proteinlerin oto-oksidasyonu sonucu serbest radikallerin artışı ve savunma mekanizmalarının azalması ile açıklanmaya çalışılmaktadır (3).

Günümüzde, diyabette görülen oksidatif stres artışı ile ilişkili metabolik faktörleri açıklamaya çalışan çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Biz de, sıçanlarda *streptozotosin* (STZ) ile oluşturulan Tip I diyabet modelinde, artan oksidatif stres ile plazma leptin düzeylerindeki azalmanın ilişkili olabileceğini gösterdik. Hipoleptineminin görüldüğü diyabetik sıçanlarda leptin uygulaması plazmada oksidatif stresi azalttı (4).

STZ ile oluşturulmuş diyabet, insandaki insülin-bağımlı diyabete model oluşturması açısından sık kullanılan bir modeldir. Bu modelde STZ etkisi ile pankreas'tan insülin salınımının azalması nedeniyle görülen hiperglisemiye hipoleptinemi de eşlik eder (5, 6). İyi bilindiği üzere leptin, yağ dokusu hücreleri tarafından sentezlenip kana salınır ve kandaki düzeyleri yağ dokusunun miktarı ile doğru orantılıdır (7). STZ- diyabette plazmada leptinin düşük düzeyde bulunması, insülin eksikliği, glukozun yetersiz alımı ve metabolizmasının azalması sonucu yağ dokusunun azalmasından kaynaklanmaktadır (5).

Son yıllarda yapılan çeşitli çalışmalarda başlıca rolünün enerji metabolizmasının düzenlenmesi olduğu bilinen leptinin yara iyileşmesi üzerine de olumlu etkileri olduğu

bildirilmiştir. Leptin sistemik ya da topikal uygulandığında, normal ve leptin geninden yoksun ob/ob farelerde yara iyileşmesini hızlandırmaktadır (8, 9, 10). Bu etkisini iyileşme sırasında derideki epidermal keratinositler üzerine mitojenik etki ile yaptığı gösterilmiştir (11).

Leptinin çeşitli metabolik etkilerinin yanı sıra oksidan/antioksidan dengenin düzenlenmesinde de rolü olduğu düşünülmektedir. Bazı *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar ile leptinin yüksek düzeylerinin oksidatif stres artışı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (12, 13, 14). Diğer yandan leptin eksikliğin antioksidanlardaki yetersizlikle birlikte olması da söz konusudur. Hatta sistemik leptin uygulamasının leptin eksikliği olan ob/ob farelerde (15), leptin gen mutasyonuna sahip insanlarda (16) ve plazmada hipoleptinemi ile karakterize olan STZ-diyabetik sıçanlarda (4) plazmada yetersiz bulunan antioksidan etkinliği artırabildiği gösterilmiştir.

Çalışmamızda topikal ve/veya sistemik uygulanan fare rekombinant leptinin sağlıklı ve STZ-diyabetik sıçanlarda eksizyonel deri yara dokularının serbest radikal hasarının değerlendirilmesinde, lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak kabul edilen malondialdehit (MDA) (17) ve endojen bir antioksidan olan redükte glutasyon (18) düzeylerine etkisini araştırmak amaçlanmıştır.

## Gereçler ve Yöntem

Çalışma Yerel Etik Kurul onayı alındıktan sonra gerçekleştirildi. Wistar albino erkek sıçanlar (n=28) (8-9 haftalık) tek tek plastik kafeslerde, 12 saat aydınlık/karanlık döngüsünde, 22 ± 2 °C oda sıcaklığında tutuldular. Bir hafta süreyle ortama alıştıran sıçanlar çalışma boyunca standart sıçan yemi ve musluk suyu ile serbest beslendiler.

Sıçanlar diyabet olmayan kontrol (NDM) (n=14) ve STZ-diyabetik (STZ-DM) (n=14) olmak üzere 2 ana gruba rastgele seçimle ayrıldılar. Diyabet oluşturmak üzere 18 saatlik açlık sonrası (suya erişim serbest), STZ-DM grubuna intraperitoneal (i.p.) olarak soğuk sitrat tamponda (0.1 M, pH=4.5) çözülmüş Streptozotosin (Sigma) (55 mg/kg), NDM gruba ise eş hacimde sitrat tamponu uygulandı. STZ uygulamasından 7 gün sonra Glukometre (Glukotrend) ile ölçülen açlık kan glukoz değeri 300 mg/dl ve üstü olan sıçanlar diyabetik olarak kabul edildiler. Glukoz tayininin yapıldığı gün tüm sıçanların Ketamin (60 mg/kg) ve Ksilazin (8 mg/kg), anestezisi altında iken sırt derileri traş edilip, % 70 lik etanolle silindikten sonra sırtlarında orta hattın iki yanında üçer adet eksizyonel deri yarası 6 mm

lik dermal delgeç (Bahadırlar, Türkiye) ile oluşturuldu. Uygulamalar için kontrol ve diyabetik ana gruplar ikişer alt gruba ayrıldı. NDM ve STZ-DM gruplardaki 7 şer sıçana Fosfat Tampon Çözeltilisi (PBS) içinde çözülmüş fare rekombinant leptin (Calbiochem, Almanya) (0,1 mg/kg/gün, i.p.) (4), ve geriye kalan sıçanlara eş hacimde PBS uygulandı. Sistemik uygulamaların yanı sıra tüm sıçanların sırtlarında orta hattın sağındaki yaralarına 20µl hacimde PBS içinde çözülmüş 5 µg leptin, solundaki yaralarına eş hacimde PBS uygulandı. Yara oluşturma günü uygulamanın 1. günü kabul edildi ve uygulamalar 5 gün boyunca her gün 15.00 ve 15.30 saatler arasında yapıldı.

Uygulamaların sonlanmasından bir gece önceden aç bırakılan sıçanlar Tiopental Na (40 mg/kg) anestezisi altında iken kalplerinden kan alınarak feda edildi. Yara dokuları, yara oluşturmak için kullanılan delgeç ile çıkarılarak sıvı azota kondu ve ölçümler yapıldı. 80°C de saklandı. Santrifüj edilen kanlardan ayrılan plazmalarda leptin düzeyleri sıçan Leptin ELISA kiti (Titerzyme, Assay Designs, USA.) kullanılarak ölçüldü.

Yara dokularında antioksidan olan redükte glutatyon (GSH) ve lipid peroksidasyonunun son basamağı olan MDA'nın belirteci olan tiyobarbitirik asit reaktif ürünleri (TBARS) spektrofotometrik olarak ölçüldü (19, 20). TBARS ölçümü için yara doku örnekleri tartılarak soğuk trikloroasetik asit (TCA) içinde (1 gr doku + 9 mL %10'luk TCA) buzlu ortamda homojenize edildi. Homojenat 15 dk süre ile 4000 rpm'de, +4°C'de santrifüj edildi. Süpernatandan 750 µL alınarak üzerine eşit hacimde % 67'lik tiyobarbitirik asit (TBA) ve 10 ml %1'lik butilhidroksitoluen (BHT, %95 alkol içinde) eklendi ve 100 OC de 15 dakika bekletildi. Süre sonunda soğutulan örnekler 535 nm'de köre karşı okundu. Doku MDA düzeyleri nmol/gr doku olarak hesaplandı (19).

Dokuda GSH tayini için modifiye Elman yöntemi kullanıldı (20). Yara doku örnekleri tartılarak soğuk TCA içinde (1 gr doku + 9 mL %10'luk TCA) buzlu ortamda homojenize edildi. Homojenat 15 dk süre ile 4000 rpm'de, +4°C'de santrifüj edildi. 0.5 mL süpernatant alınarak üstüne 2 mL 0,3 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2H<sub>2</sub>O ve 0,2 mL dithiobisnitrobenzoik asit (DTNB, 0.4 mg/mL %1 sodyum sitrat) ilave edildi. Örnekler 412 nm'de köre karşı okundu. Doku GSH düzeyleri µmol/gr doku olarak hesaplandı.

Verilerin analizi "SPSS 13.0 for Windows" ile gerçekleştirildi. Değişkenlerin normal dağılım gösterip

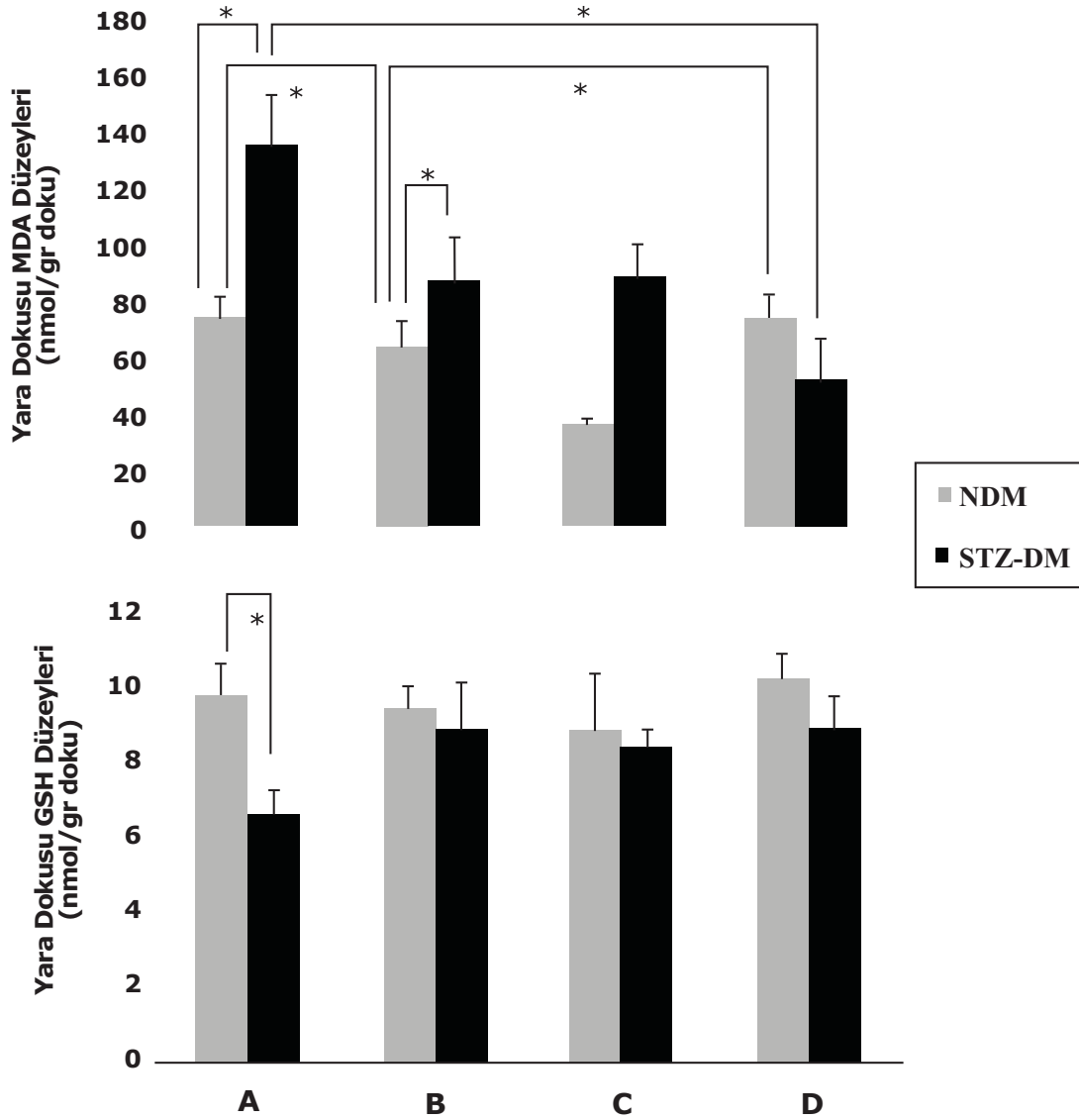
göstermediği Shaphiro-Wilk testi ile, varyansların homojen olup olmadığı Levene's testi ile kontrol edildi. Varyansın homojen olmadığı ve değişkenlerin normal dağılmadığı gözlemlendiğinden nonparametrik testler uygulandı. Bağımsız gruplar arasındaki ilişki: Mann Whitney U testi ile; bağımlı gruplar arasındaki ilişki Wilcoxon testi ile gerçekleştirildi, p<0.05 değerleri anlamlı olarak kabul edildi. Tüm veriler ortalama ± Standart Hata (SH) olarak ifade edildi.

### Bulgular

STZ uygulamasından bir hafta sonra yapılan ölçümlerde, kan glukozu STZ-DM sıçanlarda (n=14) kontroller (n=14) ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. (339,2 ± 18,5 mg/dl ile 126,2 ± 3,92 mg/dl; p< 0.05).

STZ-DM sıçanların plazma leptin düzeyleri ise NDM sıçanlar ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük bulunmuştur (0,23 ± 0,04ng/dl ile 2,93 ± 0,32 ngr/dl; p< 0.05).

Diyabetik kontrol yaraları (i.p. PBS ve topikal PBS) sağlıklı kontrol yaraları ile karşılaştırıldığında yüksek MDA ve düşük GSH ile karakterize artmış oksidatif stres durumu sergilemektedir. Yaraların MDA ve GSH düzeyleri Şekil 1'de verilmiştir. Sağlıklı sıçanlarda leptin uygulanan yaralar kontrol yaraları ile karşılaştırıldığında, leptinin sadece topikal olarak uygulandığı yaraların doku MDA düzeyleri, anlamlı olarak düşük, GSH düzeyleri ise anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Yara dokusu MDA düzeyleri STZ-DM sıçanlarda diyabetik kontrol yaraları ile karşılaştırıldığında; leptinin topikal+sistemik birlikte uygulandığı yaralarda anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. Leptin uygulamalarının diyabetik yaralarda GSH düzeyleri üzerine anlamlı bir etkisi olmamıştır.



Şekil 1. Kontrol ve diyabetik sıçanların eksizyonel yara dokularına ait Malondialdehit ve Redükte Glutasyon düzeyleri. A- Kontrol, B- Topikal leptin uygulaması, C-Sistemik leptin uygulaması, D-Sistemik ve topikal leptin uygulaması. Değerler grupların ortalamaları ve standart hata olarak verilmiştir (n=7). \*p<0.05.

### Tartışma

Çalışmamızda STZ ile diyabet oluşturulan sıçanların plazmasında leptin düzeyleri kontrol grubundan düşük bulunmuştur. STZ-diyabette vücut yağ kitlesindeki azalmaya paralel olarak plazmada hipoleptinemi saptanması, literatürde tanımlanmış bir durumdur (5, 6).

Yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz önemli ilk bulgu, sağlıklı sıçanlarda kontrol yaraları ile karşılaştırıldığında topikal leptin uygulanmış yara dokularının MDA

düzeylerinin anlamlı olarak düşük oluşudur. Yara dokularında düşük TBARS düzeylerinin ya da genel anlamda azalmış lipid peroksidasyonunun iyi organize bir yara iyileşmesi durumu ile ilişkili olduğu yapılan çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (2, 21, 22).

Topikal yoldan uygulanan leptinin normal (genetik yoksunluğu olmayan) farelerde yara iyileşmesini hızlandırdığı daha önce bildirilmiştir (9). İyileşme sırasında

yara sınırında bulunan ve çoğalma gösteren keratinositler leptinin etki hedefi olan özgül OB-R reseptörünü bulundurmaktadırlar. Leptinin bu reseptörleri aracılığıyla insan keratinositlerinde mitozu artırdığı in vitro olarak gösterilmiştir (9). Ayrıca, Savini ve ark. (23) leptinin keratinositlerde geçici olarak ROS yapımını ve ardından çeşitli endojen antioksidanları artırdığını göstermişler ve bu artışın oksidatif stresle başa çıkabilmek için leptinin oluşturduğu bir uyum mekanizması olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Sağlıklı sıçanlarda, beraberinde topikal leptin uygulansın ya da uygulanmasın, sistemik leptin uygulaması (i.p.leptin+topikal PBS ve i.p. leptin+topikal leptin grupları) yara dokusu MDA ve GSH düzeylerinde anlamlı bir fark oluşturmamıştır. Daha önce yaptığımız bir çalışmanın sonucunda aynı protokolle sistemik olarak uygulanan leptinin sağlıklı sıçanlarda plazmada da MDA ve GSH düzeylerini etkilemediğini bildirmiştik (4). Her iki çalışmanın sonuçları, leptinin sağlıklı sıçanlarda yara iyileşmesi üzerine belirgin etkisinin sadece topikal yoldan uygulandığında görüldüğünü, sistemik uygulanan leptinin yara iyileşmesine direkt bir etkisi olmadığı gibi lokal etkisini de maskeleydiğini düşündürmektedir.

Sağlıklı ve STZ-diyabetik sıçanlarda sistemik leptin uygulamasının plazmada oksidatif strese etkisini değerlendirmek amacıyla yaptığımız önceki çalışmamızda, 2 haftalık kontrolsüz diyabeti olan sıçanlarda hipoleptinemi ve hiperglisemiye artmış MDA düzeylerinin eşlik ettiğini göstermiştik. Adı geçen çalışmada sistemik yoldan uygulanan leptin diyabetik sıçanlarda kontrollere göre plazma MDA düzeylerinin daha düşük, GSH düzeylerinin daha yüksek bulunmasına neden olmuştur. Sağlıklı sıçanlarda ise leptinin plazma oksidatif stresi üzerine etkisi gözlenmemiştir (4).

Diyabetik sıçanlarda oksidatif stres artışının yara iyileşmesi için bir sorun olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda değerlendirilen diyabetik kontrol yaraları sağlıklı kontrol yaralarıyla karşılaştırıldığında yüksek MDA ve düşük GSH düzeyleri sergilemişlerdir. Diyabetik yaralardaki yüksek MDA düzeyleri yara dokusundaki serbest radikal aracılı hasarı yansıtabilir. Glutatyonun antioksidan savunmada rol alarak azaldığı ve bu azalmanın da iyileştirmeyi geciktiren faktörlerden olduğu daha önceden yapılmış çeşitli çalışmalarda vurgulanmıştır (2, 22).

Diyabette yara iyileşmesini bozan moleküler düzeyde çok sayıda değişiklik bildirilmiştir. Bunlardan büyük oranda

sorumlu olan faktör yüksek kan glukozudur (1). Diyabetik fenotip sergileyen ve leptin geninden yoksun olan ob/ob farelerde de yara iyileşmesinde gecikme olduğunun ve leptin uygulaması ile iyileşmenin düzeltilebildiğinin gösterilmesi diyabetik yaralar açısından leptine dikkati çekmiştir (8, 10). ob/ob fareler şiddetli diyabet ve obeziteye eşlik eden hormonal, hematolojik ve immün sorunların bir araya geldiği karmaşık bir metabolik tabloya sahiptirler. Dolayısıyla bu fareleri sistemik leptin ile tedavi etmek, sahip oldukları hormonal ve metabolik sorunları düzelterek, gecikmiş yara iyileşmesini düzeltebilir. Çalışmamızda leptin geni açısından sorunu olmayan ancak Tip I diyabet durumu sergileyen hipoleptinemi sıçanlarda leptinin yara iyileşmesindeki oksidatif duruma etkisini gözlemeye çalıştık. Çalışmanın bu amaçla planlanan kısmındaki ilk bulgu, sadece topikal leptin ile tedavi edilen diyabetik yaraların MDA ve GSH değerlerinin diyabetik kontrol yaralarından anlamlı bir fark göstermeyişidir. Diyabette oluşan oksidatif stresin yara dokusuyla sınırlı olmayıp tüm sistemi ilgilendirebileceği düşünülürse sadece topikal uygulanan leptinin sağlıklı sıçanlardaki olumlu etkiyi göstermemesi kabul edilebilir. Diyabetiklerde sadece sistemik leptin uygulamasından etkilenen yaraların ise MDA ve GSH düzeyleri kontrollerden istatistiksel olarak farklı olmamakla birlikte MDA da azalma, GSH da ise artış eğilimi belirgindir. Diyabetiklere sadece sistemik olarak uygulanan leptin kan glukozunu değiştirmemiştir. Dolayısıyla sadece sistemik leptin uygulamasının yara lipid peroksidasyonu ve GSH düzeylerine anlamlı bir etkisinin olmayışı leptinin, hipergliseminin yara dokusu üzerine olan etkisini değiştiremediğini düşündürmektedir.

Diyabetik sıçanlarda leptinin sistemik ve topikal birlikte uygulanmasından etkilenen yaraların diyabetik kontrol yaralarına göre anlamlı olarak daha düşük MDA düzeylerine sahip olması dikkat çekicidir. STZ-diyabette uyguladığımız sistemik leptin uygulamanın sürekli infüzyon değil, günde bir kez olması nedeniyle plazmada leptin düzeylerinin artışına neden olmamıştır. Ancak topikal uygulama ile birlikte yara dokularında lipid peroksidasyonunun azalmasını sağlayacak etkiyi oluşturduğu görülmektedir.

Sonuç olarak leptinin; sağlıklı sıçanlarda sadece topikal olarak uygulandığında, STZ diyabetik sıçanlarda ise topikal ve sistemik birlikte uygulandığında yara dokusunda lipid peroksidasyonunu azalttığı literatürde ilk kez tarafımızdan bildirilmektedir.

## Kaynaklar

1. Blakytyn R, Jude E. The molecular biology of chronic wounds and delayed healing in diabetes. *Diabet Med* 2006;23: 594-608.
2. Rasik AM, Shukla A. Antioxidant status in delayed healing type of wounds. *Int J Exp Pathol* 2000;81: 257-263.
3. Hunt JV, Dean RT, Wolff SP. Hydroxyl radical production and autoxidative glycosylation. Glucose autoxidation as the cause of protein damage in the experimental glycation model of diabetes mellitus and ageing. *Biochem J* 1988; 256: 205-212.
4. Gulen S, Dincer S. Effects of leptin on oxidative stress in healthy and streptozotocin induced diabetic rats. *Mol Cell Biochem* 2007; 302: 59-65.
5. Havel PJ, Uriu-Hare JY, et al. Marked and rapid decreases of circulating leptin in streptozotocin diabetic rats: reversal by insulin. *Am J Physiol* 1998; 274 (5 Pt 2): R1482-1491.
6. Sivitz WI, Walsh S, Morgan D, Donohoue P, Haynes W, Leibel RL. Plasma leptin in diabetic and insulin-treated diabetic and normal rats. *Metabolism* 1998; 47: 584-591.
7. Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 1998; 95: 763-770.
8. Ring BD, Scully S, Davis CR, et al. Systemically and topically administered leptin both accelerate wound healing in diabetic ob/ob mice. *Endocrinology* 2000; 141: 446-449.
9. Frank S, Stallmeyer B, Kampfer H, Kolb N, Pfeilschifter J. Leptin enhances wound re-epithelialization and constitutes a direct function of leptin in skin repair. *J Clin Invest* 2000; 106: 501-509.
10. Stallmeyer B, Pfeilschifter J, Frank S. Systemically and topically supplemented leptin fails to reconstitute a normal angiogenic response during skin repair in diabetic ob/ob mice. *Diabetologia* 2001; 44: 471-479.
11. Stallmeyer B, K pfer H, Podda M, Koufmann R, Pfeilschifter J, Frank S. A novel keratinocyte mitogen: regulation of leptin and its functional receptor in skin repair. *J Invest Dermatol* 2001;117: 98-105.
12. Bouloumie A, Marumo T, Lafontan M, Busse R. Leptin induces oxidative stress in human endothelial cells. *FASEB J* 1999; 13: 1231-1238.
13. Maingrette F, Renier G. Leptin increases lipoprotein lipase secretion by macrophages: involvement of oxidative stress and protein kinase C. *Diabetes* 2003; 52: 2121-2128
14. Beltowski J, W jcicka G, Marciniak A, Jamroz A. Oxidative stress, nitric oxide production, and renal sodium handling in leptin-induced hypertension. *Life Sci* 2004; 74: 2987-3000.
15. Watson AM, Poloyac SM, Howard G, Blouin RA. Effect of leptin on cytochrome P-450, conjugation, and antioxidant enzymes in the ob/ob mouse. *Drug Metab Dispos* 1999; 27: 695-700.
16. Ozata M, Uckaya G, Aydin A, Isimer A, Ozdemir IC. Defective antioxidant defense system in patients with a human leptin gene mutation. *Horm Metab Res* 2000; 32: 269-272.
17. Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2005; 15: 316-328.
18. Atmaca G. Antioxidant effects of sulfur-containing amino acids. *Yonsei Med J* 2004;45: 776-788.
19. Casini A, Ferrali M, Pompella A, Maellaro E, Comporti M. Lipid peroxidation and cellular damage in extrahepatic tissue of bromobenzene intoxicated mice. *Am J Pathol* 1986; 123: 520-531.
20. Aykaç G, Uysal M, Yalçın AS, Koçak-Toker N, Sivas A, Oz H. The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicology* 1985; 36: 71-76.
21. Dincer S, Babul A, Erdogan D, Ozogul C, Dincer SL. Effect of taurine on wound healing. *Amino Acids* 1996; 10: 59-71.
22. Musalmah M, Nizrana MY, Fairuz AH et al. Comparative effects of palm vitamin E and alpha-tocopherol on healing and wound tissue antioxidant enzyme levels in diabetic rats. *Lipids* 2005; 40: 575-580.
23. Savini I, Catani MV, Rossi A, et al. Vitamin C recycling is enhanced in the adaptive response to leptin-induced oxidative stress in keratinocytes. *J Invest Dermatol* 2003; 121: 786-793.