

T.C.  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DİYABETİK SIÇANLARDA SERBEST OKSİJEN  
RADİKALİ ÖLÇÜLMESİ**

**Hazırlayan: Ecz. Kamuran AĞIRBAŞ**

Kocaeli Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin  
FARMAKOLOJİ Programı İçin Öngördüğü  
BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) TEZİ  
olarak hazırlanmıştır.

79798

**Danışman: Doç. Dr. M. Nejat GACAR**

**KOCAELİ**

1998

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

**Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne**

İşbu çalışma, jürimiz tarafından FARMAKOLOJİ Anabilim Dalında  
BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan ve Danışman Doç. Dr. M. Nejat GACAR

Üye Prof. Dr. Güner ULAK

Üye Doç. Dr. Tijen UTKAN

Üye Yrd. Doç. Dr. B. Faruk ERDEN

Üye Yrd. Doç. Dr. Levent KABASAKAL

ONAY

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu  
onaylarım.

25.../1998

Prof. Dr. Ali SAZCI  
Enstitü Müdürü

## ÖZET

### Diyabetik Sıçanlarda Serbest Oksijen Radikali Ölçülmesi

Tip I diyabetin patojenezinde, serbest oksijen radikalleri ve nitrik oksit'in (NO) ilişkisi olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır.

Bu çalışmada, streptozotosin (STZ) kullanılarak oluşturulan diyabet modelinde nitrik oksit'in (NO) rolüne açıklık kazandırmak amacıyla sıçanlara, nitrik oksit sentaz inhibitörü (NOSİ) L-nitroarjinin verilmesinin, karaciğer, böbrek, pankreas ve dalak dokularındaki lipid peroksidasyon ve glutatyon düzeylerine etkisi araştırıldı.

Bu çalışma, her birinde 8 erkek Spraque-Dawley sıçan bulunan 4 grup şeklinde yürütüldü; I-kontrol grubu, II-streptozotosin (STZ) ile diyabetik hale getirilmiş grup, III-Streptozotosin (STZ) uygulanmasından 1 saat önce L-nitroarjinin verilmiş grup, IV-STZ uygulanmasından 1 saat sonra L-nitroarjinin verilmiş grup.

STZ enjeksiyonundan 4 hafta sonra II, III, ve IV gruplardaki tüm sıçanlarda hiperglisemi olduğu saptandı. Karaciğer, böbrek, pankreas ve dalak homojenatlarında, STZ ile artmış olan lipid peroksidasyon düzeyleri, L-nitroarjinin verilmesi ile azalma görüldü. Buna karşın, aynı doku homojenatlarında, STZ ile azalmış olan glutatyon düzeylerinde, L-nitroarjinin verilmesi ile artma görüldü.

Anahtar kelimeler: Diabetes mellitus, streptozotocin, lipid peroxidation, glutatyon, L-nitroarjinin.

## ABSTRACT

### **The Measurements of Free Oxygen Radicals in Diabetic Rats**

There is accumulating evidence of the involvement of free oxygen radicals and nitric oxide in the pathogenesis of Type I diabetes.

This study has examined whether administration of nitric oxide synthase inhibitor L-nitroarginine has any effect on the lipid peroxidation and glutathione levels in the liver, kidney, pancreas and spleen tissue of streptozotocin (STZ) induced diabetic rats.

The studies were carried out in 4 groups of 8 male Sprague-Dawley rats: I-control group, II-streptozotocin (STZ) diabetes, III-STZ diabetes with pre-L-nitroarginine, IV-STZ diabetes with post-L-nitroarginine.

All rats in group II, III and IV revealed hyperglycaemia 4 weeks after injection of STZ. Administration of L-nitroarginine to group III and IV decreased the lipid peroxidation levels which were enhanced by STZ in the liver, kidney, pancreas and spleen homogenates. In contrast, administration of L-nitroarginine to group III and IV increased glutathione levels which were reduced by STZ in the homogenates of the same tissue.

**Key words:** Diabetes mellitus, streptozotocin, lipid peroxidation, glutathione, L-nitroarginine.

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimimde büyük emeği geçen hocam Sn. Doç. Dr. M. Nejat Gacar'a, tezimin hazırlanmasında bana yön veren Sn. Doç. Dr. Tijen Utkan'a, tezimin her aşamasında verdiği destek, ilgi ve yardımlarından ötürü özellikle Sn. Yrd. Doç. Dr. Levent Kabasakal'a, Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'nın tüm laboratuvar olanaklarını bize açan Sn. Prof. Dr. Meral Keyer Uysal ve Sn. Prof. Dr. Gül Ayanođlu Dülger'e ve Anabilim Dalı'nın tüm Öğretim Üyesi ve Araştırma Görevlisi arkadaşlara, ayrıca tez çalışmalarım süresince gösterdiği anlayıştan ötürü eşime içtenlikle teşekkür ederim.



## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ VE İLGİLİ ÇALIŞMALAR	2
2.1. Serbest Radikal Nedir?	2
2.1.1. Serbest Radikallerin Oluşumu	3
2.2. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri	4
2.2.1. Süperoksit Radikali	5
2.2.2. Hidrojen Peroksit	6
2.2.3. Hidroksil Radikali	6
2.2.4. Singlet Oksijen	6
2.3. Biyolojik Sistemlerde Süperoksit Radikalinin Oluşumu	7
2.3.1. NAD ile Yükseltgenme	8
2.3.2. Flavoproteinlerin Yükseltgenmesi	9
2.3.3. Ubikünonun Etkisi	10
2.3.4. Demir-Sülfür Proteinleri ve Sitokromların Etkisi	11
2.4. Organizmada Serbest Radikal Oluşum Yerleri	11
2.5. Lipit Peroksidasyonu	13
2.6. Nitrik Oksit Toksisitesi	15
2.7. Antioksidanlar	16
2.7.1. Sitokrom Oksidaz	17
2.7.2. Süperoksit Dismutaz	17
2.7.3. Katalaz	17
2.7.4. Glutasyon Peroksidaz	18

2.7.5. C Vitamini	18
2.7.6. E Vitamini	18
2.7.7. Glutasyon	19
2.8. Diabetes Mellitus	20
2.8.1. Tip I Diyabet	21
2.8.2. Tip II Diyabet	23
2.8.3. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları	23
2.8.4. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonlarının Patogenezi	24
2.9. Streptozotosin	28
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	31
3.1. Deney Protokolü	31
3.2. Deneysel Diyabet Modeli	31
3.3. Deneyselerde Kullanılan Aletler	32
3.4. Deneyselerde Kullanılan Çözeltiler	32
3.5. Glukoz Ölçüm Tekniği	33
3.6. Lipit Peroksidasyon Düzeylerinin Ölçülmesi	33
3.7. Glutasyon Ölçülmesi	34
3.8. Deney Sonuçlarının Değerlendirilmesi ve Biyoistatistiksel Yöntem	34
4. BULGULAR	35
5. TARTIŞMA	42
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	45
KAYNAKLAR DİZİNİ	46
ÖZGEÇMİŞ	51

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADP	: Adenozin Difosfat
AGE	: İlerlemiş Glikozilasyon Son Ürünleri
CAT	: Katalaz
DAG	: Diasilgliserol
DTNB	: Ditiyonitrobenzoikasit
EDTA	: Etilendiamintetraasetikasit
FAD	: Flavin Adenin Dinükleotid
FMN	: Flavin Mononükleotid
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
GSSG	: Glutasyon Disülfür
HLA	: İnsan Lökosit Antijenleri
IDDM	: İnsüline Bağımlı Diyabet
IGT	: Glukoz Tolerans Bozukluğu
IL-1	: İnterlökin-1
L-NA	: L-Nitroarjinin
MDA	: Malondialdehit
MODY	: Genç Yaşta Erişkin Tipi Diyabet
NADH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NIDDM	: İnsüline Bağımlı Olmayan Diyabet
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
NOSİ	: Nitrik Oksit Sentaz İnhibitörü
PUFA	: Doymamış Yağ Asitleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz
STZ	: Streptozotosin
TBA	: Tiyobarbitürik Asit
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Moleküler Oksijenin Uyarılması ve İndirgenmesi.....	4
Şekil 2.2. Bir Substratın O <sub>2</sub> ile Yükseltgenmesi İçin Gerekli Elektron Transfer Basamakları .....	8
Şekil 2.3. NAD'in Etil Alkol'ü Asetaldehite Yükseltgeme Denklemi.....	9
Şekil 2.4. Flavoproteinlerin İndirgenmesi.....	10
Şekil 2.5. Ubikünonun Molekül Yapısı.....	11
Şekil 2.6. Linoleik Asitten Malondialdehit ve Diğer Peroksidasyon Ürünlerinin Oluşumu.....	14
Şekil 2.7. Antioksidan Enzim Sistemi.....	17
Şekil 2.8. C Vitamini Molekül Yapısı.....	18
Şekil 2.9. E Vitamininin Lipit Peroksi Radikalini İndirgemesi.....	19
Şekil 2.10. Glutasyon Redoks Sistemi.....	20
Şekil 2.11. Tip I Diyabetin Patogenezi.....	22
Şekil 2.12. Tip II Diyabetin Patogenezinde İnsülin Yetmezliği ve İnsülin Rezistansının Glukoz İntoleransını Geliştirmesi.....	24
Şekil 2.13. Hiperglisemiye Bağlı Oksidatif Baskı ile Diyabetik Komplikasyonlar Arasındaki Olası İlişki.....	26
Şekil 2.14. Sorbitol Yolu ve Olası Etkileri.....	27
Şekil 2.15. Streptozotosin Molekül Yapısı.....	28
Şekil 2.16. Streptozotosin ve Alloksan'ın Diyabetojenik ve Kanserojenik Etki Mekanizmaları.....	29
Şekil 3.1. Glukoz Oksidaz Yönteminin Şeması.....	33
Şekil 4.1. Sıçanların Diyabet Süresince (4 hafta) Ölçülen Kan Glukoz Düzeyleri.....	35
Şekil 4.2. 60 mg/kg Streptozotosin Öncesi ve Sonrası 4 mg/kg L-Nitroarjinin İ.P. Uygulamasının Sıçanların Karaciğerlerindeki Lipit Peroksidasyon Oluşumuna Etkileri.....	38

<b>Şekil 4.3.</b> 60 mg/kg Streptozotosin Öncesi ve Sonrası 4 mg/kg L-Nitroarjinin İ.P. Uygulamasının Sıçanların Karaciğerlerindeki Glutasyon Düzeylerine Etkileri.....	38
<b>Şekil 4.4.</b> 60 mg/kg Streptozotosin Öncesi ve Sonrası 4 mg/kg L-Nitroarjinin İ.P. Uygulamasının Sıçanların Böbreklerindeki Lipit Peroksidasyon Düzeylerine Etkileri.....	39
<b>Şekil 4.5.</b> 60 mg/kg Streptozotosin Öncesi ve Sonrası 4 mg/kg L-Nitroarjinin İ.P. Uygulamasının Sıçanların Böbreklerindeki Glutasyon Düzeylerine Etkileri.....	39
<b>Şekil 4.6.</b> 60 mg/kg Streptozotosin Öncesi ve Sonrası 4 mg/kg L-Nitroarjinin İ.P. Uygulamasının Sıçanların Pankreaslarındaki Lipit Peroksidasyon Düzeylerine Etkileri.....	40
<b>Şekil 4.7.</b> 60 mg/kg Streptozotosin Öncesi ve Sonrası 4 mg/kg L-Nitroarjinin İ.P. Uygulamasının Sıçanların Pankreaslarındaki Glutasyon Düzeylerine Etkileri.....	40
<b>Şekil 4.8.</b> 60 mg/kg Streptozotosin Öncesi ve Sonrası 4 mg/kg L-Nitroarjinin İ.P. Uygulamasının Sıçanların Dalaklarındaki Lipit Peroksidasyon Düzeylerine Etkileri.....	41
<b>Şekil 4.9.</b> 60 mg/kg Streptozotosin Öncesi ve Sonrası 4 mg/kg L-Nitroarjinin İ.P. Uygulamasının Sıçanların Dalaklarındaki Glutasyon Düzeylerine Etkileri.....	41

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Çizelge 2.1.</b> Endojen Savunma Sistemleri.....	16
<b>Çizelge 4.1.</b> Karaciğerde Malondialdehit (nmol/g doku) ve Glutasyon ( $\mu\text{mol/g}$ doku) düzeyleri.....	36
<b>Çizelge 4.2.</b> Böbrekte Malondialdehit (nmol/g doku) ve Glutasyon ( $\mu\text{mol/g}$ doku) düzeyleri.....	37
<b>Çizelge 4.3.</b> Pankreasda Malondialdehit (nmol/g doku) ve Glutasyon ( $\mu\text{mol/g}$ doku) düzeyleri.....	37
<b>Çizelge 4.4.</b> Dalakta Malondialdehit (nmol/g doku) ve Glutasyon ( $\mu\text{mol/g}$ doku) düzeyleri.....	37

## 1.GİRİŞ

Diabetes mellitus karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarında bozuklukla karakterize, kronik sistemik bir hastalıktır. Uzun dönemde vasküler (Guigliano et al, 1996), renal (Viberti, 1992), retinal (Altomare et al, 1997) ya da nöropatik (Williamson et al, 1993) bozukluklara yol açar. Diabetes mellituslu hastalarda uzun süre yüksek glukoz düzeyine maruz kalma nedeniyle plazmada lipit peroksidasyon düzeylerinde artışlar olur (Yagi, 1987; Pieper et al, 1995; Griesmacher et al, 1995; Sundaram et al, 1995; Laaksonen et al, 1996; Jain et al, 1996; Özmen ve ark, 1997). Ayrıca diyabetik hale getirilmiş hayvanların farklı dokularında lipit peroksidasyon düzeyleri artar (Shah et al, 1994; Kakkar et al, 1995;1997, Makar et al, 1995; Kretowski et al, 1995; Peltola et al, 1996).

Bu çalışmada, streptozotosin ile oluşturulan diyabet modelinde sıçanların karaciğer, böbrek, pankreas ve dalak dokularındaki lipit peroksidasyon düzeyleri ölçüldü ve L-nitroarjinin'in bu dokulardaki lipit peroksidasyon düzeylerine etkisi incelendi.

Diyabetik şartlarda glutatyon düzeylerinde azalmalar olduğu bilinmektedir (Wohaieb and Godin, 1987; Kashiwagi et al, 1994; Jacob, 1995; Makar et al, 1995; Laaksonen et al, 1996; Sundaram et al, 1996; Kretowski et al, 1996; Paolisso and Guigliano, 1996; Özmen ve ark, 1997). Bu çalışmada ayrıca, diyabetik şartlarda azalma gösteren glutatyon düzeylerine L-nitroarjinin'in etkisi araştırıldı.

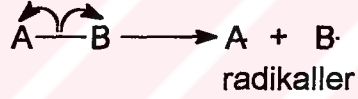
## 2. GENEL BİLGİ VE İLGİLİ ÇALIŞMALAR

### 2.1. Serbest Radikal Nedir?

Serbest radikaller tek elektron taşıyan molekül veya atomlardır. Bütün kimyasal bağlar iki elektrondan oluşur. Bu nedenle, bağ iki farklı yolla kırılabilir. Birinci yol, bağ elektronlarının ikisi de bir fragmentte kalacak şekilde kırılmasıdır. Bu tür bölünmelere heteroliz denir ve oluşan yüklü fragmentler iyonlardır.



İkinci yol ise, bağdaki iki elektronun simetrik olarak bölünmesidir. Bu tür bölünmeye hemoliz denir ve oluşan fragmentler radikallerdir (Nonhebel et al, 1979).



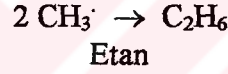
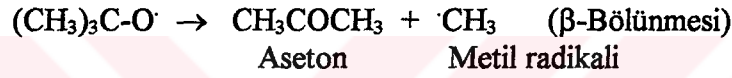
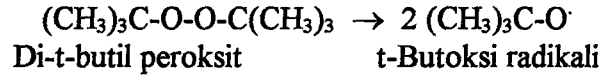
### Serbest Radikallere Örnekler

<u>Radikal</u>	<u>Adlandırma</u>
H <sub>3</sub> C·	Metil radikali
R-OO·	Alkilperoksi radikali
HO·	Hidroksil
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Süperoksit radikal anyonu
NO·	Nitrik oksit
Cl·	Klor atomu veya radikali
NO <sub>2</sub> ·	Azot dioksit

### 2.1.1. Serbest Radikallerin Oluşumu

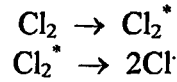
#### Termal Yolla Serbest Radikallerin Oluşumu;

Moleküller yeterince ısıtıldıklarında bağlar kırılır ve radikaller oluşur. Normal karbon-karbon bağ enerjisi 90 kkal/mol dür ve 450-650°C arasındaki sıcaklıkta moleküllerin termal uyarımı, bağların kırılması için yeterlidir. Bununla birlikte bazı bileşiklerin çok daha zayıf bağları vardır ve düşük sıcaklıkta bozularak radikalleri oluştururlar. Bu bileşikler, 50-150°C arasında radikal reaksiyonlarını başlatıcı olarak kullanılırlar. Bu tip bileşiklerin en çok kullanılanı peroksitlerdir. Aşağıda di-t-butil peroksidin gaz fazındaki bozulma mekanizması verilmiştir.



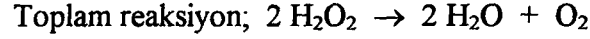
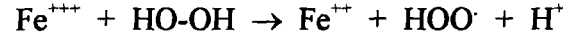
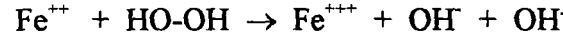
#### Fotokimyasal Yolla Serbest Radikallerin Oluşumu;

Örnek olarak klor atomunun oluşumunu verebiliriz. Klor, 4875Å<sup>0</sup> daha az dalga boyundaki bir ışıkla uyarıldığında fotoliz olayı olur. Yani klor molekülü ışığı absorblar. Absorblanmış ışık enerjisi klor molekülündeki bağı kırarak iki tane klor atomunu verir.



#### Yükseltgenme-İndirgenme Yolu ile Serbest Radikallerin Oluşumu;

Bir elektron transferi yapabilen ve metal iyonlarını içeren reaksiyonlar, en önemli radikal oluşturan redoks reaksiyonlarıdır. Bunlar arasında Fe<sup>++</sup> iyonu ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> arasındaki reaksiyon Fenton tarafından bulunmuştur. Bu reaksiyonun mekanizması Haber ve Weiss tarafından önerilmiştir. Bugün de kabul edilen mekanizma aşağıdaki gibidir (McCord, 1993);

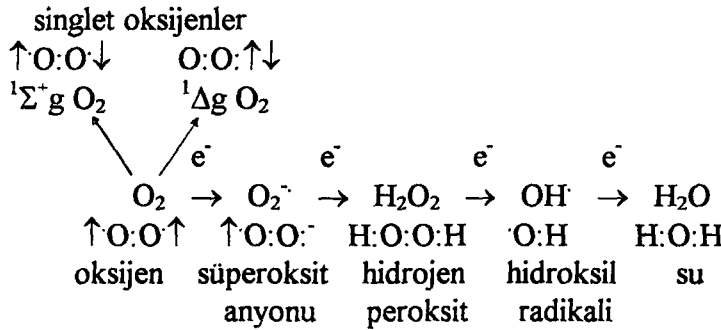


## 2.2. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Bu radikaller ve bu radikalleri oluşturan bileşikler aşağıdaki şekilde sıralanabilirler (Akkuş, 1995).

- Oksijenin kendisi,
- Süperoksit radikali,
- Hidrojen peroksit,
- Geçiş metallerinin iyonları,
- Hidroksil radikali

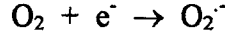
Oksijenin elektronlarından iki tanesi eşleşmemiştir,  $\text{O}_2$  (  $\cdot\ddot{\text{O}}:\ddot{\text{O}}\cdot$  ). Bu nedenle bir di radikal olarak da değerlendirilir. Oksijenin bu özelliği onun diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlar. Oksijen suya indirgenirken, yüksek derecede reaktif olan diğer ürünler de oluşabilir (Nakazawa et al, 1995) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Moleküler oksijenin uyarılması ve indirgenmesi

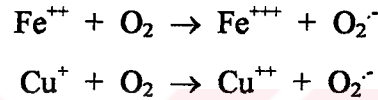
### 2.2.1. Süperoksit Radikali (O<sub>2</sub><sup>·-</sup>)

Tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu, süperoksit radikal anyonu (O<sub>2</sub><sup>·-</sup>) meydana gelir.

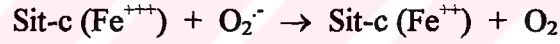


Süperoksit radikal anyonu da bir serbest radikal olduğu halde kendisi doğrudan zarar vermez. Önemi, hidrojen peroksit kaynağı ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır.

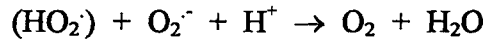
İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu da süperoksit radikalini meydana getirebilir. Bu reaksiyonlar geri dönüşümlüdür.



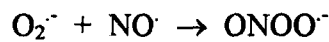
Süperoksit radikal anyonu hem yükseltgeyici hem de indirgeyici özellik gösterir. Örneğin, ferrisitokrom-c'nin indirgenmesinde bir elektron kaybeder ve oksijene yükseltgenir.



Süperoksit radikal anyonu yine düşük pH değerlerinde oluşturduğu perhidroksil radikaliyle (HO<sub>2</sub><sup>·</sup>) birlikte de reaksiyona girer. Biri yükseltgenirken diğeri indirgenir.



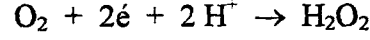
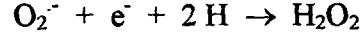
Süperoksit radikalinin nitrik oksit (NO) ile birleşmesi sonucu da reaktif bir oksijen türevi olan peroksinitrit radikali meydana gelir.



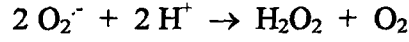


### 2.2.2. Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Süperoksit radikalinin bir elektron alması veya moleküler oksijenin iki elektron alması sonucu meydana gelir.



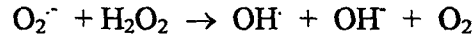
Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi, iki süperoksit molekülünün iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşmesi ile olur.



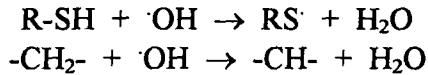
Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) kendisi bir serbest radikal değildir. Ancak serbest radikal biyokimyasındaki önemi, hidroksil radikalini (OH<sup>•</sup>) oluşturmasından ileri gelir.

### 2.2.3. Hidroksil Radikali (OH<sup>•</sup>)

Hidrojen peroksidin süperoksit radikal anyonu ile reaksiyona girmesiyle oluşur. En reaktif ve en zararlı serbest radikaldir.



Hidroksil radikali tiyoller ve yağ asitleri ile de reaksiyona girerek yeni radikalleri oluşturur.



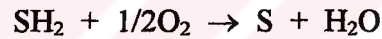
### 2.2.4. Singlet Oksijen (O<sub>2</sub>)

Singlet oksijen (O<sub>2</sub>), radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi dönüşünün tersi yönde olacak şekilde başka

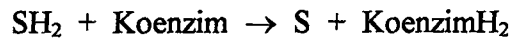
bir orbitale yerleşmesi ile oluşur (Cadenas, 1989). Delta ve Sigma olmak üzere iki şekli vardır. Singlet oksijenin kimyasal bir bileşikle etkileşimi sonucu kemiluminesans meydana gelmesi ve bunun ölçülmesiyle reaktif oksijen türlerinin doğrudan tayini yapılabilmektedir.

### 2.3. Biyolojik Sistemlerde Süperoksit Radikalinin Oluşumu

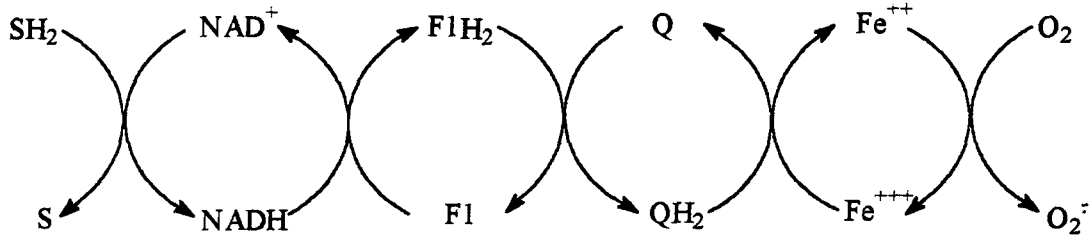
Canlıların enerji gereksinimi, organik bileşiklerin moleküler oksijen tarafından yükseltgenmesi ile karşılanır. Ancak bu oksidasyonun yumuşak koşullarda doğrudan gerçekleşmesi için basit bir kimyasal mekanizma bulunmamaktadır. Çünkü, organik bileşiklerin oksidasyonu için C-H bağı kırılmak gerekir. Bu reaksiyon endotermik bir reaksiyondur ve biyolojik sistem koşullarında moleküler oksijen bu reaksiyonu gerçekleştiremez. Ayrıca, moleküler oksijen ile organik bileşik arasındaki bu doğrudan reaksiyonu katalizleyebilecek herhangi bir enzim, hücrenin mitokondrial sisteminde de bulunmamaktadır.



Yukarıdaki bu reaksiyon substrattan koenzime elektron transferi ile indirekt olarak yürütülür.



Bu reaksiyondaki koenzim, genellikle nikotinamid adenin dinükleotid ( $\text{NAD}^+$ ) veya onun monofosfatıdır ( $\text{NADP}^+$ ). Moleküler oksijen tarafından, indirgenmiş-koenzimin yükseltgenmesi (oksidasyonu) doğrudan gerçekleşmez. Bu yükseltgenme bir seri elektron taşıyıcıları ile substrattan moleküler oksijene elektron transferleri ile gerçekleşir. Şekil 2.2 bir substratın moleküler oksijen ile yükseltgenmesi için gerekli elektron transfer basamaklarını göstermektedir (Nonhebel et al, 1979).



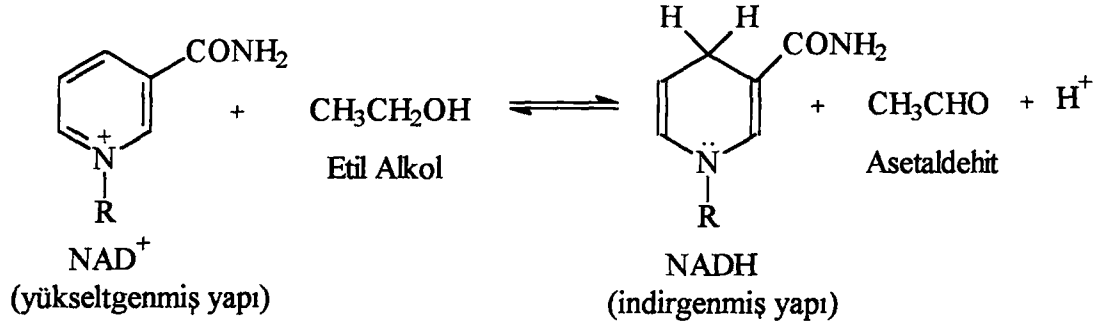
**Şekil 2.2.** Bir substratın  $\text{O}_2$  ile yükseltgenmesi için gerekli elektron transfer basamakları (Nonhebel et al, 1979).

Şekil 2.2 de F1 flavin nükleotidi,  $\text{F1H}_2$  indirgenmiş flavin nükleotidi, Q ubikünonu ve  $\text{QH}_2$  ubikinondan türetilmiş hidrokinonu göstermektedir.

Yükseltgenme-indirgenme işleminde bir ve iki elektron transferinin (veya bunların eşdeğeri hidrür transferinin) her ikisi de gerçekleşmektedir. Bazı durumlarda, aynı anda gerçekleşen iki tek elektron transferi de olabilmektedir. Solunum olayında, bu elektron transfer zincirine dört tip yükseltgenme-indirgenme enzimi katılmaktadır. Bunlar, 1-koenzim olarak  $\text{NAD}^+$  veya  $\text{NADP}^+$  ta gereksinim duyan dehidrojenazlar; 2-flavin adenin dinükleotit (FAD) veya flavin mononükleotit (FMN) içeren, flavin bağlı dehidrojenazlar (F1), 3-demir-sülfür proteinleri ve 4- Demir-porfirin grubunu taşıyan sitokromlardır. Ek olarak kinon ve ubikünon da, bu elektron transfer zincirinde yer almaktadır (Şekil 2.2).

### 2.3.1. NAD ile Yükseltgenme

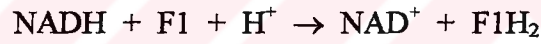
$\text{NAD}^+$  normalde hidrür (H) alıcı olarak davranan ve iki elektron alabilen bir oksidanttır.  $\text{NAD}^+$  in amid grubu ( $\text{CONH}_2$ ), organik substratın yükseltgenmesini sağlayan bir potansiyel redoks grubudur. R grubu ise koenzimi enzime bağlayan bir gruptur.  $\text{NADP}^+$  da benzer şekilde fonksiyon görür. Aşağıdaki denklemde (Şekil 2.3)  $\text{NAD}^+$  etil alkolü asetaldehite yükseltgemekte, kendisi ise  $\text{NADH}$ 'a indirgenmektedir.



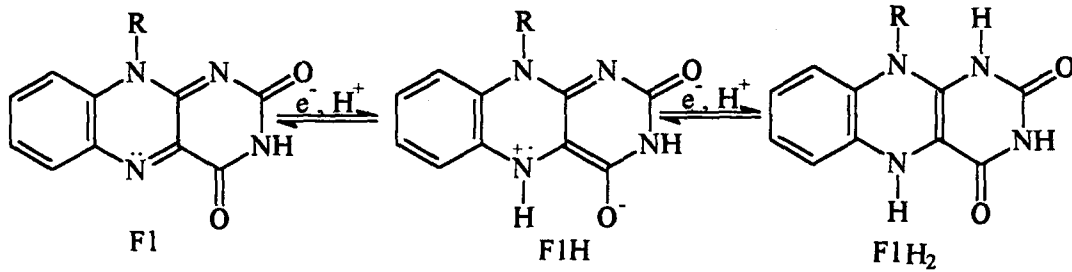
**Şekil 2.3.** NAD' in etil alkolu asetaldehite yükseltgeme denklemi

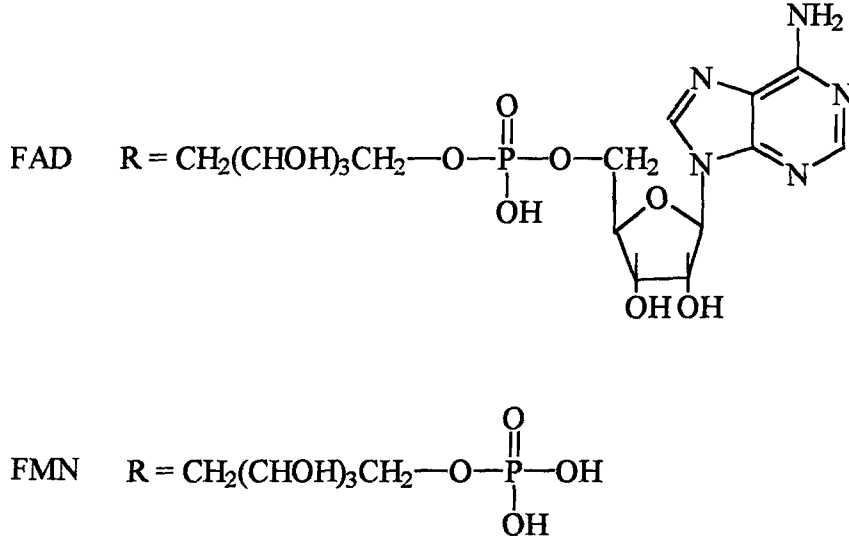
### 2.3.2. Flavoproteinlerin Yükseltgenmesi

Organik substratın yükseltgenmesinden oluşan NADH, flavoproteinler (FAD veya FMN) tarafından yeniden  $\text{NAD}^+$  'e yükseltgenir.



Flavoproteinlerin iki elektronlu indirgenmesi aşağıda (Şekil 2.4) görüldüğü gibi birbirini takip eden ve birer elektron transferi ile yürüyen iki basamaklı bir reaksiyon şeklinde düşünülebilir.





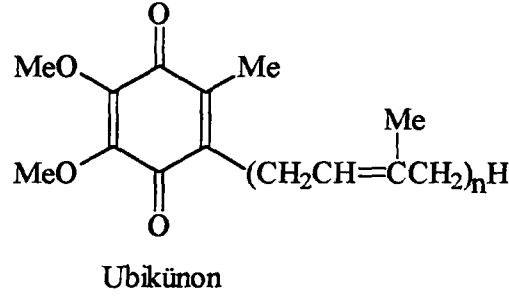
#### Şekil 2.4. Flavoproteinlerin indirgenmesi

Flavoproteinler tarafından gerçekleştirilen pekçok yükseltgenme sırasında oluşan radikaller, Elektron Spin Rezonans Spektroskopisi ile saptanmıştır.

Bazı flavoproteinler, flavin nükleotidi ile kompleks halinde metaller içerirler. Ksantin oksidaz molibden ve demir metallerini içerir. Bu metaller enzimin katalitik aktivitesi için gereklidir. Örneğin Demir (II), demir (III)'e yükseltgenerek elektron transferini hızlandırır.

#### 2.3.3.Ubikünonun Etkisi

Künonlar iyi oksidantlardır. Kendileri indirgenerek semikünon radikal anyonlarını verirler. Radikal anyonlar ise bir elektron ve iki proton alarak hidrokünonlara kolaylıkla dönüşürler. Ubikünonlar (Şekil 2.5) (koenzim Q olarak da bilinirler), indirgenmiş flavoproteinlerin yükseltgenmesinde aynı şekilde davranırlar.

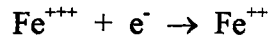


**Şekil 2.5.** Ubikünonun molekül yapısı

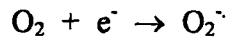
Çeşitli ubikünonlar, yan zincirdeki n sayısının farklı olması ile farklılık gösterirler. Yan zincir, membran yüzeyine tutunmayı sağlar. Ubikünondaki metoksi ve metil grupları ise dihidroflavinin yükseltgenmesini ve indirgenmiş ubikünonun demir-sülfür proteini ile yükseltgenmesini kolaylaştırırlar.

#### 2.3.4. Demir-Sülfür Proteinleri ve Sitokromların Etkisi

Demir-sülfür proteinleri ve sitokromlar, biyolojik yükseltgenmelerde elektron taşıyıcı olarak hareket ederler. Bu yükseltgenmelerde demir (II)-demir (III) dönüşümleri vardır.



Mitokondride elektron taşınmasını sağlayan beş farklı sitokrom bulunur. Bu sitokromlardan sadece sitokrom-a, elektron transfer reaksiyonu sonucu oksijeni süperoksit radikal anyonuna dönüştürür.



#### 2.4. Organizmada Serbest Radikal Oluşum Yerleri

Hücrede, zara bağlı veya serbest olarak bulunan değişik enzimlerin etkisi ile serbest radikaller oluşmaktadır (Nakazawa et al, 1996). Bunların hücrede oluşum yerlerini;

- mitokondrilerdeki elektron transport zinciri reaksiyonları,
- endoplazmik retikulumdaki karma fonksiyonlu oksidaz sistemi,
- sitoplazmada ksantin oksidaz, dopamin  $\beta$ -hidroksilaz, D-amino oksidaz, urat oksidaz gibi enzimlerin etkinliği,
- hücre zarına bağlı NADPH oksidaz, prostaglandin sentataz, ve lipooksijenazların etkinliği,
- peroksizomlarda ve lizozomlardaki metabolik olaylar, şeklinde sıralanabilir.

Serbest radikallerin, hücre ve dokularda yol açtığı zararlar şöyle sıralanabilir (Uysal, 1998).

- a) DNA'nın tahrip olması.
- b) Nükleotit yapılı koenzimlerin yıkımı.
- c) Tiollere bağlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması, hücre ortamının tiol/disülfid oranının değişmesi.
- d) Protein ve lipitlerle kovalan bağlantılar yapması.
- e) Enzim aktivitelerinde ve lipit metabolizmasındaki değişiklikler.
- f) Mükopolisakkaritlerin yıkımı.
- g) Proteinlerin tahrip olması ve protein "turnover"nin artması.
- h) Lipit peroksidasyonu, zar yapısı ve fonksiyonununun değişmesi.
- i) Zar proteinlerinin tahribi, taşıma sistemlerinin bozulması.
- j) Seroid ve yaş pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi.
- k) Kollajen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksido-redüksiyon olaylarının bozularak kapillerlerde aterofibrotik değişikliklerin oluşması.

Serbest radikaller, bu zararlı etkilerinden dolayı çok çeşitli hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynarlar. Diyabet ve diyabet komplikasyonlarının gelişimi, koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, çeşitli deri, kas ve göz hastalıkları, kanser ve yaşlılık gibi birçok hastalıkta serbest radikal üretiminin arttığı ve antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu gösterilmiştir.

## 2.4. Lipit Peroksidasyonu

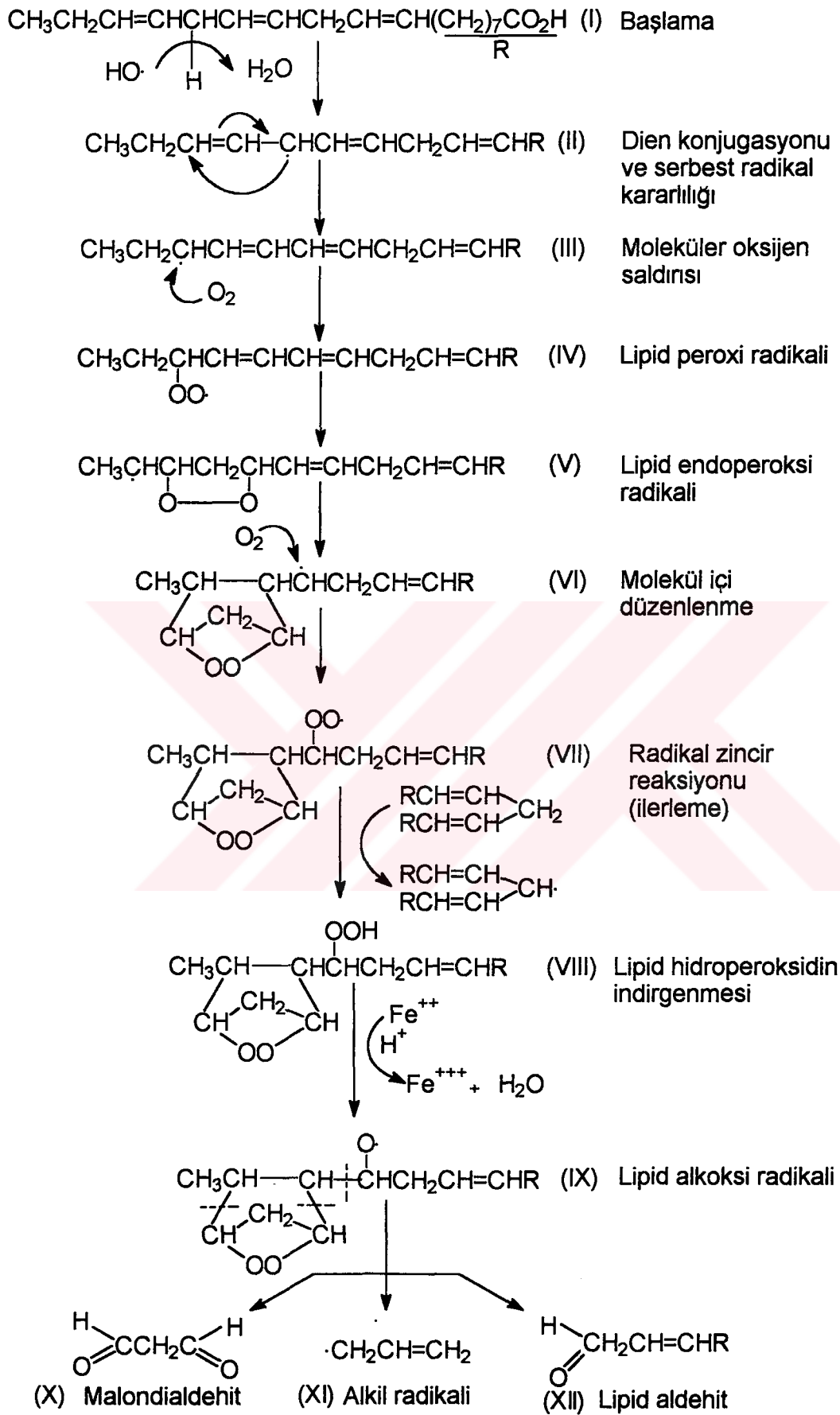
Serbest radikaller, endojen antioksidan savunma mekanizmaların yetersiz kaldığı durumlarda (yukarıda açıklandığı gibi) organizmada çeşitli hasarlar oluştururlar.

Vücudun yapı taşlarından olan lipitler (Jaeschke, 1995), proteinler (Stadtman, 1992), karbonhidratlar (Yu, 1994), enzimler (Akkuş, 1995) ve DNA (Cross et al, 1987) serbest radikaller tarafından etkilenen gruplardır. En hassas olanlar ise lipitlerdir. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolaylıkla reaksiyona girerek peroksidasyon ürünlerini verirler. Doymamış yağ asitlerinin ( Poly Unsaturated Fatty Acid=PUFA ) oksidatif yıkımı lipit peroksidasyonu olarak bilinir ve organizma için oldukça zararlıdır. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür.

Lipit peroksidasyonunun ilk basamağı, kuvvetli yükseltgen özelliğe sahip bir serbest radikalın, membran yapısında bulunan doymamış yağ asidi zincirindeki  $\alpha$ -metilen gruplarından bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlar. Bunun sonucu yağ asidi zinciri bir lipit radikali niteliği kazanır (Şekil 2.6. I, II ). Bu lipit radikali dayanıksızdır ve bir dizi değişikliğe uğrar. Kendi, moleküler yapısındaki çift bağ aktarılması yoluyla dien konjugatları oluşur (Şekil 2.6. III ) ve daha sonra moleküler oksijen ile reaksiyona girerek lipit peroksi radikalini meydana getirir (Şekil 2.6. IV,V,VI,VII). Lipit peroksi radikalleri membrandaki diğer doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerini oluştururken, kendisi lipit hidroperoksitlere dönüşür (Şekil 2.6. VIII). Lipit hidroperoksitler  $Fe^{++}$  ile indirgenerek lipit alkoksi radikalini verirler (Şekil 2.6. IX). Lipit alkoksi radikalinin parçalanması sonucunda ise malondialdehit (Şekil 2.6. X), alkil radikali (Şekil 2.6. XI) ve lipit aldehit (Şekil 2.6. XII) ortaya çıkar.

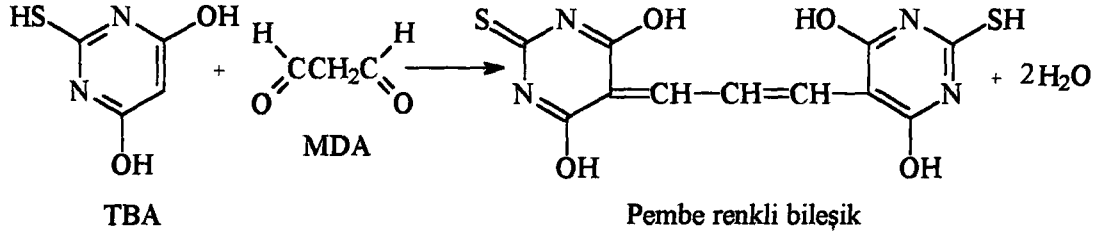
Lipit hidroperoksitlerinin yıkımından oluşan aldehitler ya hücre yüzeyinde metabolize edilirler veya hücrenin diğer bölümlerine difüze olup hasarı yayarlar.





Şekil 2.6. Linolenik asitten malondialdehit ve diğer peroksidasyon ürünlerinin oluşumu (Akkuş, 1995)

Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonundan oluşan malondialdehitin (MDA) miktarı, tiyobarbitürik asitle (TBA) ölçülebilir. Malondialdehitin tiyobarbitürik asitle verdiği reaksiyon sonucunda pembe renkli bir bileşik oluşur.



Bu bileşiğin 532 nm deki absorpsiyon şiddeti ölçülerek malondialdehit miktarı ve buna bağlı olarak lipid peroksidasyon düzeyi belirlenir (Cominacini et al, 1996).

## 2.6. Nitrik Oksit Toksisitesi

Nitrik oksit (NO) basit kimyasal yapıda, oldukça lipofilik biyolojik membranlardan kolayca difüze olabilen bir moleküldür. L-Arjinin'den çeşitli formlardaki nitrik oksit sentaz enzimi (NOS) tarafından sentezlenir. Birçok fizyolojik ve patolojik olayda biyolojik mediyatör olarak görev yapar. Periferik ve santral sinir sisteminde nörotransmitterdir. Damar endotel hücrelerinden salınmak suretiyle vazodilatasyona neden olur (Darley-Usmar et al, 1994).

Hedef moleküle bağlı olarak yükseltgeyici ve indirgeyici olarak hareket ederken, kendisi biyolojik moleküllere saldırmaz. Ancak serbest oksijen ve hidroksil radikallerinin varlığında toksik nitelik kazanır.

Nitrik oksitin toksisitesi süperoksit radikal anyonu ile etkileşmesi sonucu peroksinitrit radikalinin (ONOO<sup>-</sup>) oluşumu ile başlar (Nakazawa et al, 1996). Böylece nitrik oksitin normal fizyolojik etkisi inhibe edilir. Peroksinitrit radikali kendisi çok toksik olmamakla birlikte azotdioksit (NO<sub>2</sub><sup>·</sup>) ve hidroksil radikaline (·OH) dönüşerek zararlı etkiler göstermektedir. Peroksinitritlerin proteinlere doğrudan zararlı etkileri vardır. Ancak bu durum organizmada yüksek süperoksit dismutaz enzimi (SOD)

aktivitesi ile düşük  $O_2^-$  ve  $NO$  konsantrasyonları ile hücre yararına dengelenmektedir (Beckman and Tsai, 1994).

$NO$  sentezi, monomethyl-L-arginine (L-NMMA), asymmetric dimethyl-L-arginine(L-ADMA), nitro-L-arginine (L-NNA), nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) gibi kompetitif inhibitörler tarafından inhibe edilir.

## 2.7. Antioksidanlar

Organizmada, serbest radikallerin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği zararlı etkileri önleyen güçlü savunma sistemleri mevcuttur. Bunlar “Antioksidan savunma sistemleri=Antioksidanlar” olarak bilinirler. Görevlerini serbest radikallerin oluşmasını engelleme, sona erdirme yada mevcut radikalleri etkisiz hale getirmek (Bel et al, 1996) suretiyle yaparlar. Organizmada endojen olarak sentez edilirler veya diyetle alınırlar. Hücre ya da plazmada bulunurlar ve serbest oksijen radikallerine dört ayrı tipte etki ederler. Bunlar, toplayıcı, bastırıcı, onarıcı ve zincir kırıcı etkilerdir (Akkuş, 1995).

Serbest radikallerin oluşum hızı ile antioksidanların etkisizleştirme hızı arasındaki denge bozulmadığı sürece serbest radikallere bağlı toksik etkiler görülmez.

Antioksidan savunma sisteminde, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar etkili olmaktadır (Çizelge 2.1). Bunlardan bazıları aşağıdadır.

### Çizelge 2.1. Endojen savunma sistemleri

#### Enzimatik

- Sitokrom oksidaz
- Süperoksit dismutaz
- Katalaz
- Glutatyon peroksidaz

#### Nonenzimatik

##### A.Lipid faz

- E Vitamini
- $\beta$ -karoten

##### B.Sıvı faz

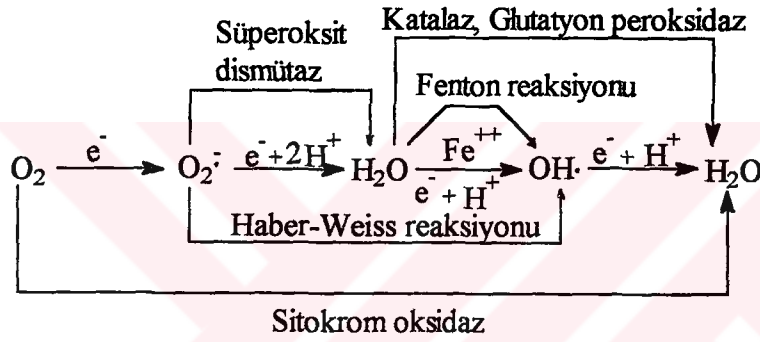
- C Vitamini
- Ürat
- Sistein
- Seruloplazmin
- Transferin
- Glutatyon

### 2.7.1. Sitokrom Oksidaz

Mitokondrilerde solunum zincirinin en son basamağında yer alan ve bakır içeren bir enzimdir. Solunum zincirindeki görevini sürdürürken süperoksit radikalının suya dönüşümünü de sağlar.



Ancak, süperoksit radikalının oluşumu çoğu kez enzimin kapasitesini aşar ve diğer enzimlerin (süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz) devreye girmesiyle süperoksit radikalının zararlı etkileri engellenir (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Antioksidan enzim sistemi (Yalçın, 1998).

### 2.7.2. Süperoksit Dismutaz (SOD)

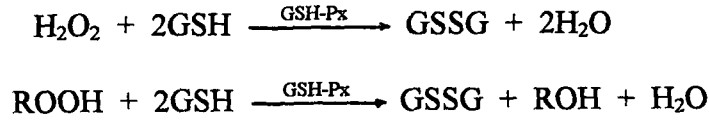
Süperoksit radikalini ( $O_2^-$ ) hidrojen peroksit ve moleküler oksijene çevirir. Yapısındaki Cu-Zn ve Mn atomlarına göre iki farklı yapıda bulunur.

### 2.7.3. Katalaz (CAT)

Hidrojen peroksidi su ve oksijene parçalamak suretiyle birikmesini engeller. Ayrıca, hücre içi hidrojen peroksit konsantrasyonunun düzenlenmesinde etkilidir.

#### 2.7.4. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

Hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu sitozolik bir enzimdir. GSH-Px aşağıdaki reaksiyonları katalizler.



#### 2.7.5. C Vitamini (Askorbik Asit)

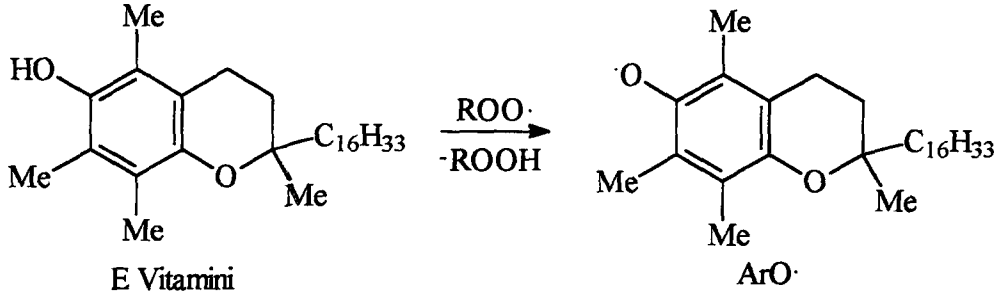
Çok güçlü bir indirgeyici ajan olan askorbik asit (Şekil 2.8.) süperoksit ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girerek onları temizler.



Şekil 2.8. C vitamini molekül yapısı

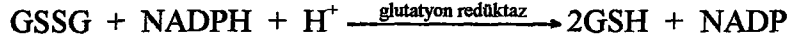
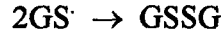
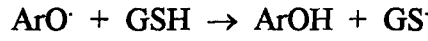
#### 2.7.6. E Vitamini ( $\alpha$ -Tokoferol)

Çok güçlü bir antioksidan olan E vitamini, hücre membran fosfolipidlerinde bulunan doymamış yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. E vitamini, süperoksit, hidroksi, lipid peroksi gibi radikalleri indirger. Kendisi de aşağıda (Şekil 2.9) görüldüğü gibi kararlı fenoksi radikaline ( $\text{ArO}\cdot$ ) yükseltgenir.



**Şekil 2.9.** E Vitamininin lipit peroksi radikalini indirgemesi

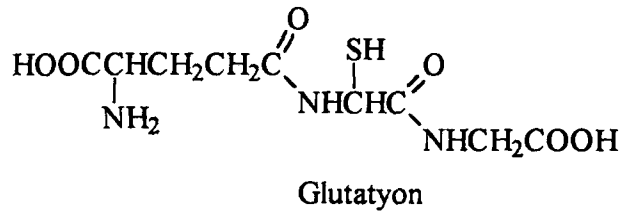
E vitamini, fenoksi radikalinin (ArO·) glutatyon (GSH) ile olan reaksiyonu sonucu oluşan glutatyon disülfürün (GSSG) NADPH ile indirgenmesinden tekrar oluşur.



Diyabetik hayvanlarda E vitamininin verilmesi (Viena et al, 1996), embriyo malformasyonunun azalmasına, diyabetik hastalara E vitamini verilmesi (Jain et al, 1996) ise, kandaki lipit peroksidasyon ürün düzeylerinin azalmasına neden olduğu saptanmıştır.

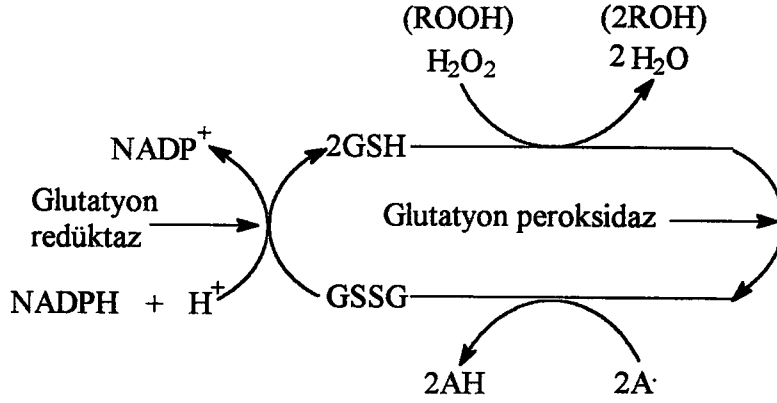
### 2.7.7. Glutatyon (GSH)

Karaciğerde genetik kod sistemine bağlı olmadan sentez edilen bir tripeptittir. Glutamik asit, sistein ve glisin amino asitlerinden oluşmuştur.



( γ-Glutamil-sisteinil-glisin )

Glutasyon, serbest radikallerle ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Bu reaksiyon sonucunda glutasyon (GSH), glutasyon disülfüre (GSSG) dönüşür. Bu bileşiğin tekrar glutatyonla dönüşmesi ise, Şekil 2.10 (Akkuş, 1995) da görüldüğü gibi NADPH'ın kullanılması ile mümkün olur.



Şekil 2.10. Glutasyon redoks sistemi

## 2.8. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus, kronik seyirli, genetik kökenli, klinik tablo ve patogenez açısından heterojen olup, yüksek kan şekeri ile seyreden bir metabolizma hastalığıdır (Büyükdevrim, 1992). Pankreasın insülin salgısının mutlak veya nisbi yetersizliği veya etkisinin yetersizliği (insülin rezistansı) sonucu oluşur. Hiperglisemi ile belirgin, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozuklukları ile karakteristiktir (Koloğlu, 1996). Dünya Sağlık Örgütü (WHO, World Health Organization) diyabeti aşağıdaki şekilde sınıflandırmaktadır (Bağrıaçık, 1997);

### A-Klinik Sınıflama

#### I. Diabetes Mellitus (DM)

- Tip I, insüline bağımlı olan diyabet (IDDM)
- Tip II, insüline bağımlı olmayan diyabet (NIDDM) (Şişman olmayan ve Şişman).

c) Malnütrasyon diyabeti

d) Gebelik diyabeti

e) Diğer tip diyabetler (Pankreatit, Cushing sendromu veya Akromegali seyrinde ortaya çıkan veya değişik nedenlere bağlı, genetik bazı sendromlarla veya insülin reseptör anomalileri ile ortaya çıkan diyabet)

## II. Glukoz Tolerans Bozukluğu (IGT) (Şişman olmayan ve Şişman).

Glukoz tolerans bozukluğuna yukarıda sayılanların hepsi girer.

### **B-Biyostatistiksel Risk Grupları**

a) Daha önce glukoz tolerans bozukluğu saptananlar

b) Potansiyel olarak glukoz toleransında bozukluk ihtimali bulunanlar

Son yıllarda MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young) adı verilen ayrı bir herediter özelliği olan ve gençlerde görülen yeni bir diyabet tipi tarif edilmiştir.

### **2.8.1. Tip I Diyabet**

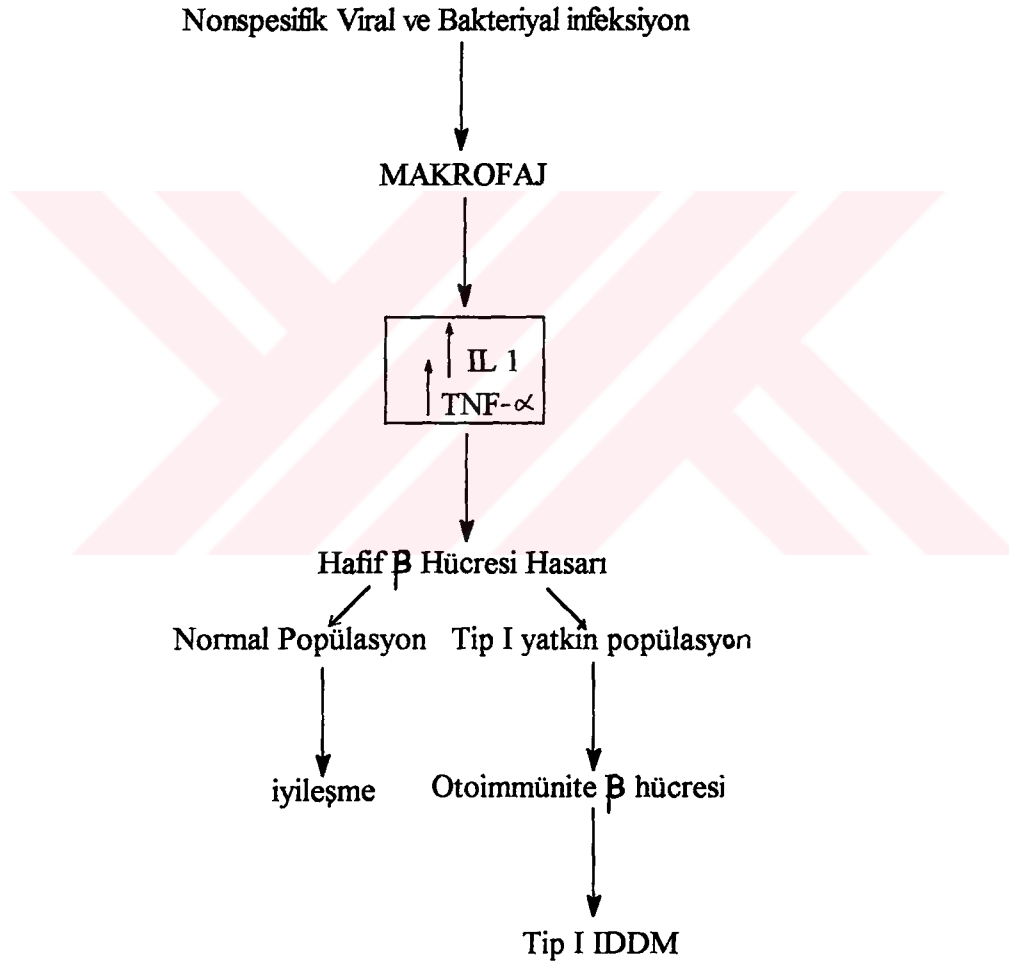
Tip I diyabet (IDMM=İnsülin Dependent Diabetes Mellitus), uygun genetik bir zeminde çevresel faktörlerin (virüsler, mevsim gibi), diyet değişikliklerinin veya  $\beta$ -sitotoksik maddelerin beta hücrelerine yönelik başlayan otoimmün tahribatı ve bunu takiben gelişen inflamatuvar olaylar (İnsülitis) sonucu ortaya çıkar (Yılmaz, 1996). Hastalığa öncülük eden otoimmün olay altıncı kromozomun kısa kolunda kodlanan insan lökosit antijenleri (HLA=(Human Leucocyte Antijen) ile yakından ilgilidir. Genetik yatkınlık tek başına yeterli değildir. Virüsler veya  $\beta$ -sitotoksik maddeler otoimmün insülitisi başlatarak ilerlemiş  $\beta$  hücre yetmezliğine neden olurlar.

Hastalık teşhis edildiğinde adacık hücrelerine karşı oluşan antikorlar vardır. Tahribatın antikorla değil, hücresel olduğu bilinir. Otoantikorlar hastalığın sebebi değil,  $\beta$  hücresindeki tahribatın klinik belirleyicileridir.

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**



İnsülitis (Langerhans adacıklarındaki lenfosit infiltrasyonu) tablosunda; makrofajlar, yardımcı T lenfositler, sitotoksik T lenfositler bulunur. Makrofajlar interlökin 1 (IL 1) ve tümör nekroz faktör (TNF- $\alpha$ ) gibi sitokinleri salgırlar. Her ikisi de  $\beta$  hücreleri için tahrip edicidir. IL 1  $\beta$  hücrelerine olan sitotoksik etkisini serbest oksijen radikallerinin oluşumunu artırarak yapar.  $\beta$  Hücreleri serbest radikallere son derece duyarlıdır ve organizmada en düşük serbest radikal uzaklaştırıcı güce sahip olan hücrelerdir. İnflamatuvar olayda açığa çıkan serbest O<sub>2</sub><sup>-</sup> radikalleri  $\beta$  hücre yıkımının artmasına ve Tip I diyabetin gelişmesine neden olur (Şekil 2.11).



Şekil 2.11. Tip I diyabetin patogenezi (Gedik, 1996).

Tip I diyabetin en karakteristik bulgusu insülin eksikliğidir. Şiddetli hiperglisemi ile akut başlar, insülin tedavisi olmazsa ketoasidoz ve ölüme yol açar. Genç yaşta (20-30 yaş öncesi) ortaya çıkar ve tanı konur.

### 2.8.2. Tip II Diyabet

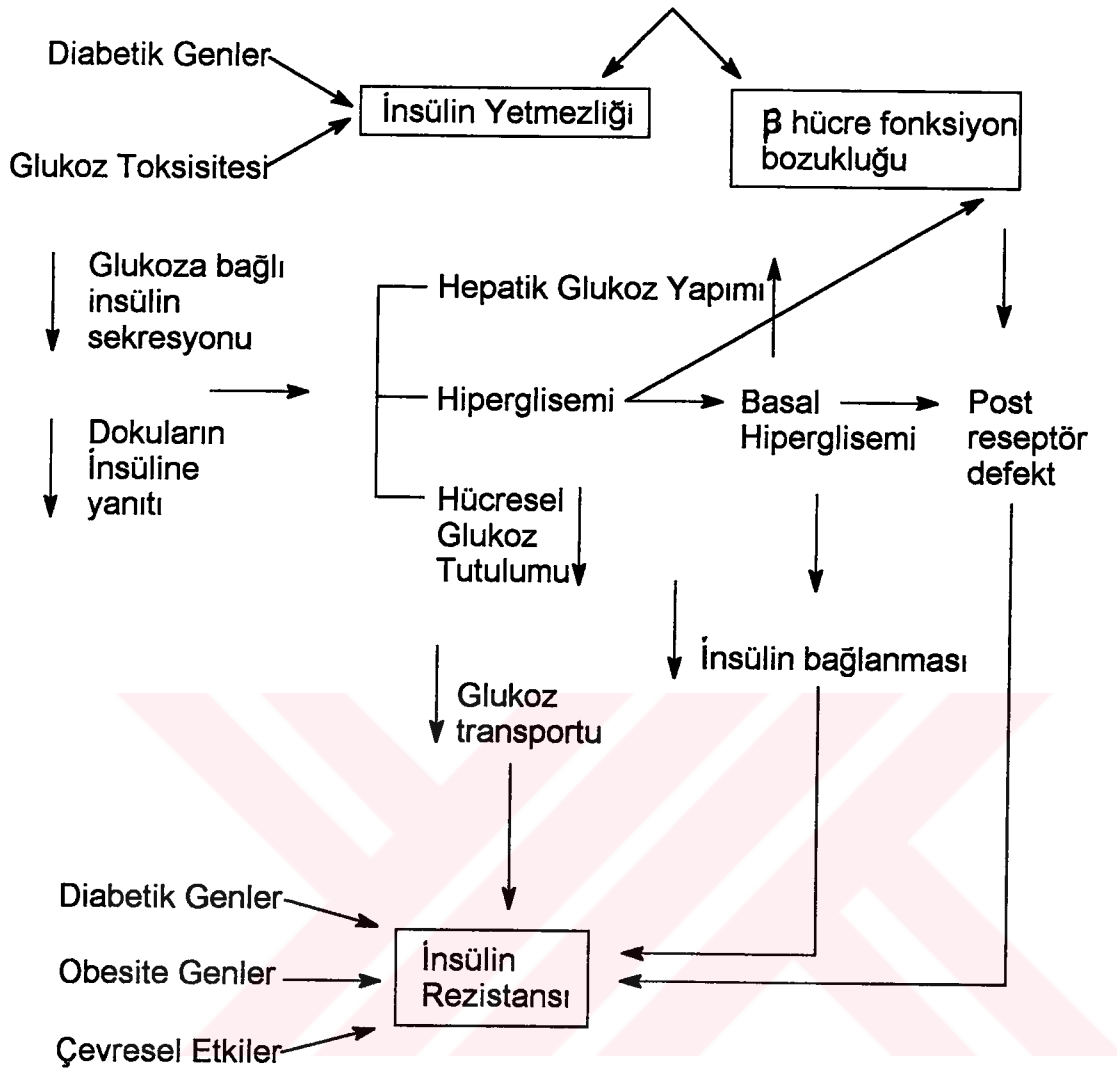
Tip II diyabet (NIDDM=Non İnsülin Dependent Diabetes Mellitus), insülin rezistansı ve genetik olarak programlanmış pankreatik beta hücresi disfonksiyonu arasındaki etkileşim sonucu ortaya çıkar. Kas ve karaciğer hücrelerinin insülin rezistansı, hastalığın gelişiminde önemli bir faktördür. İnsülin rezistansına, insülin salınımının da azalma eşlik eder. Kronik hiperglisemi  $\beta$  hücre fonksiyonunu bozar. İnsülin salınımı ve  $\beta$  hücre kitlesindeki azalma ve insülin rezistansı insüline bağımsız diyabetin ortaya çıkmasını sağlar. Bazı gen ürünlerinin de, sekonder olarak insülin duyarlılığını etkileyebileceği düşünülmektedir (Şekil 2.12).

Tip II diyabetli hasta, insülin tedavisi olmaksızın ketoasidoza girmeden yaşayabilir. Başlangıç yavaş ve asemptomatiktir. Hastalık genellikle orta yaş döneminde başlar. Diğer bir klinik özellik şişmanlıktır. Morbitite ve mortalitenin en sık sebebi kardiyovasküler komplikasyonlardır.

### 2.8.3. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları

Diyabetes Mellitus'da kısa ve uzun dönemde ortaya çıkan çeşitli komplikasyonlar görülür.

Diyabetin başlıca akut komplikasyonu hiperglisemiye ek olarak uygun tedavi yapılmadığında ortaya çıkan metabolik ketoasidozdur. Kan şekerinin yükselmesiyle susuzluk, bol idrara çıkma, aşırı acıkma gibi belirti ve şikayetlerde akut olarak başlayan klinik durumlardır. Bunların dışında hastalık daima kronik seyirlidir.



**Şekil 2.12.** Tip II diyabetin patogeneğinde insülin yetmezliği ve insülin rezistansının glukoz intoleransını geliştirmesi (Gedik, 1996).

Hastalığın uzun dönemde ortaya çıkan diğer komplikasyonları morbitide ve mortaliteye neden olan çeşitli organ ve sistemleri etkileyen (nefropati, nöropati, retinopati, vaskülopati gibi) kronik komplikasyonlardır (Şekil 2.13).

#### 2.8.4. Diyabetes Mellitus'un Komplikasyonlarının Patogenezi

Diyabetik komplikasyonların patogeneğinde ana faktör kronik hiperglisemi ve eşliğindeki metabolik değişikliklerdir.

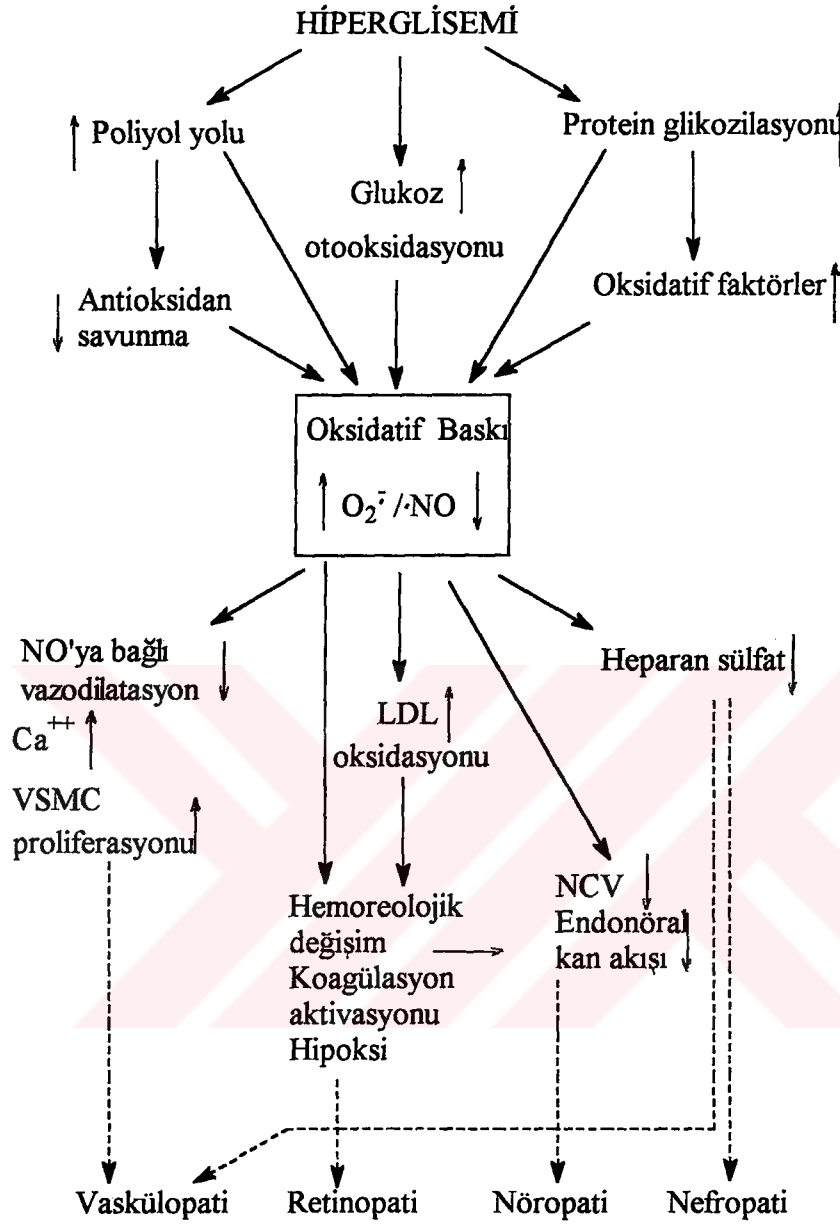
Diyabetin kronik komplikasyonlarının gelişmesinde önemi olan bazı mekanizmalar (Sözen, 1989); proteinlerin enzimatik olmayan glikozilasyonu, anormal sorbitol-myoinozitol metabolizması ve hemodinamik etkilerdir.

Proteinlerin enzimatik olmayan glikozilasyonu: Normal şartlar altında proteinlerin vücutta enzimatik yolla glikozilasyonu yapılır. Uzun süre yüksek glukoz maruz kalma ile dolaşımında ve dokuların yapısındaki proteinlerle glukoz arasında enzim gerektirmeyen bir reaksiyon oluşumu gerçekleşir. Bu kontrolsüz glikozilasyona "nonenzimatik glikozilasyon" denir. Ortamdaki glukoz konsantrasyonuyla orantılı olarak glukoz molekülleri proteinlerin amino (NH<sub>2</sub>) grupları ile birleşirler (Hunt et al, 1988). Bu glikozilasyon birkaç hafta içinde dengeye ulaşır. Bu reaksiyonda, hiperglisemiye maruz kalma ve proteinlerin yarılanma ömürlerine bağlı ve yavaş olarak gelişen "Erken Glikozilasyon Ürünleri" oluşur. Daha sonra glikoproteinler birbirleriyle birleşerek, kısa ömürlü erken glikozilasyon ürünlerinin aksine dokularda ve damar duvarlarında biriken hiperglisemi düzelse de geri dönmeyen "İlerlemiş Glikozilasyon Son Ürünleri"ni (AGE=Advance Glycosylation Endopduct) verirler (Brownlee, et al, 1988; Baynes, 1991). Glikozilenmiş proteinler otooksidasyon sonucunda serbest radikaller üretir.

Glikozilasyon Son Ürünleri (AGE); ekstraselüler matriks proteinleri (Albümin, Hemoglobun gibi), spesifik reseptörler, nükleik asitler, ve nükleoproteinlerin amino grupları ile bağlanarak bunların enzimatik veya diğer biyolojik aktivitelerinde değişiklik oluştururlar. Tüm bu değişiklikler sonucunda ise bazal membran kalınlaşması meydana gelir.

Proteinlerin nonenzimatik glikozilasyonunun, diyabetik nefropati, retinopati, nöropati, mikroanjyopati ve erektil disfonksiyon gibi diyabetin sık görülen kronik komplikasyonlarının patogeneğinde rol oynadığı gözlenmiştir (Giugliano et al, 1996) (Şekil 2.13).

AGE inhibitörü Aminoguanidin'in hayvan çalışmalarında proteinlerin glikozilasyonunu engelleyerek bazal membran kalınlaşmasını azalttığı gözlenmiştir (Brownlee et al, 1988; Sannomiya et al, 1997).



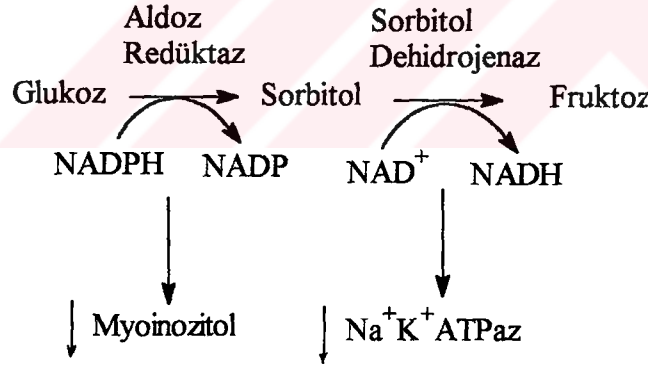
**Şekil 2.13.** Hiperglisemiye bağlı oksidatif baskı ile diyabetik komplikasyonlar arasındaki olası ilişki (Gugliano et al, 1996).

Anormal sorbitol (poliyol)-miyoinositol metabolizması: Sorbitol ve miyoinositol metabolizmalarında hiperglisemiye bağlı olarak gelişen karşılıklı değişiklikler diyabetik komplikasyonların gelişmesinde önemli rol oynar.

Sorbitol, periferik sinirler, lens, perisitler ve böbrek gibi dokularda aldoz redüktaz enzimi ile glukozdan sentez edilir. Sorbitol yolu glukozdan fruktoz

oluşumundan sorumludur. Glukoz, aldoz redüktaz enzimi tarafından sorbitole, sorbitol de sorbitol dehidrojenaz enzimi ile fruktoza dönüşür.

Hiperglisemide, glukoz konsantrasyonunun artması ile aldoz redüktaz aktivitesi artarken, sorbitol dehidrojenaz aktivitesi azalır ve sonuçta dokularda sorbitol birikir. Sorbitolun parçalanması yavaştır. Hücre membranından kolayca difüze olur. Hücre içi konsantrasyonları artar ve osmotik hasara neden olur. Aynı anda hücre içi miyoinositol düzeyleri düşer. Miyoinositol glukozdan sentez edilir. Yapıca glukozu benzer. Bu benzerlik nedeniyle glukoz miyoinositol ile yarışır. Hücre içi miyoinositolün düşüşü hücrenin fosfoinositol metabolizmasını bozar. Miyoinositol  $\text{Na}^+, \text{K}^+$  ATPaz'ı doğrudan veya diasil gliserol (DAG) gibi mediyatörler vasıtasıyla aktive eden fosfatidil inositolün prekürsörüdür.  $\text{Na}^+, \text{K}^+$  ATPaz'ın aktivitesinin azalması hücre içi  $\text{Na}^+$  birikimine neden olur ve takiben intrasellüler ödem ve hücre harabiyeti gelişir. Sonuçta hücre harabiyetinden tek başına sorbitol değil, hücre içi miyoinositol eksikliğinin ve  $\text{Na}^+, \text{K}^+$  ATPaz aktivitesinin azalmasının neden olduğu (Rabini et al, 1994) düşünülmektedir (Şekil 2.14).



Şekil 2.14. Sorbitol yolu ve olası etkileri

Sorbitol fruktoza yükseltgenirken NADPH'nin artışı süperoksit radikal anyonunun oluşumunun artmasına, NADH'nin azalışı endotel hücrelerinden NO<sup>-</sup> üretiminin azalmasına (Cohen, 1993) ve (Kashiwagi et al, 1994) antioksidan glutatyon'un sentezinin azalmasına neden olur. Bu sonuçlar diyabetik komplikasyonların gelişmesine neden olurlar (Williamson et al, 1993).

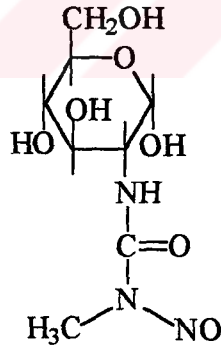
Aldoz redüktaz enzimi inhibitörlerinin, diyabetik nefropati, diyabetik katarakt (Vinson et al, 1994) ve nöropatili hastalarda tedavide etkili olduğunu gösteren çalışmalar vardır.

Hemodinamik etkiler: Diyabetin erken devrelerinde basınç ve akımlardaki yükselmelerle hemodinamik değişiklikler olur. Hemostatik basınç başlangıç olaydır. Artmış hidrostatik basıncın yarattığı fizik hasarla bu değişiklikler daha da artar. Bunlar öncelikle kapiller geçirgenliğin, viskosite ve trombosit agregasyonunun artması gibi fonksiyonel değişikliklerdir.

Hemodinamik bozuklukların diyabetik mikroanjyopati, retinopati ve nefropatinin gelişmesinde önemli rol oynadığı gözlenmiştir.

## 2.10. Streptozotosin

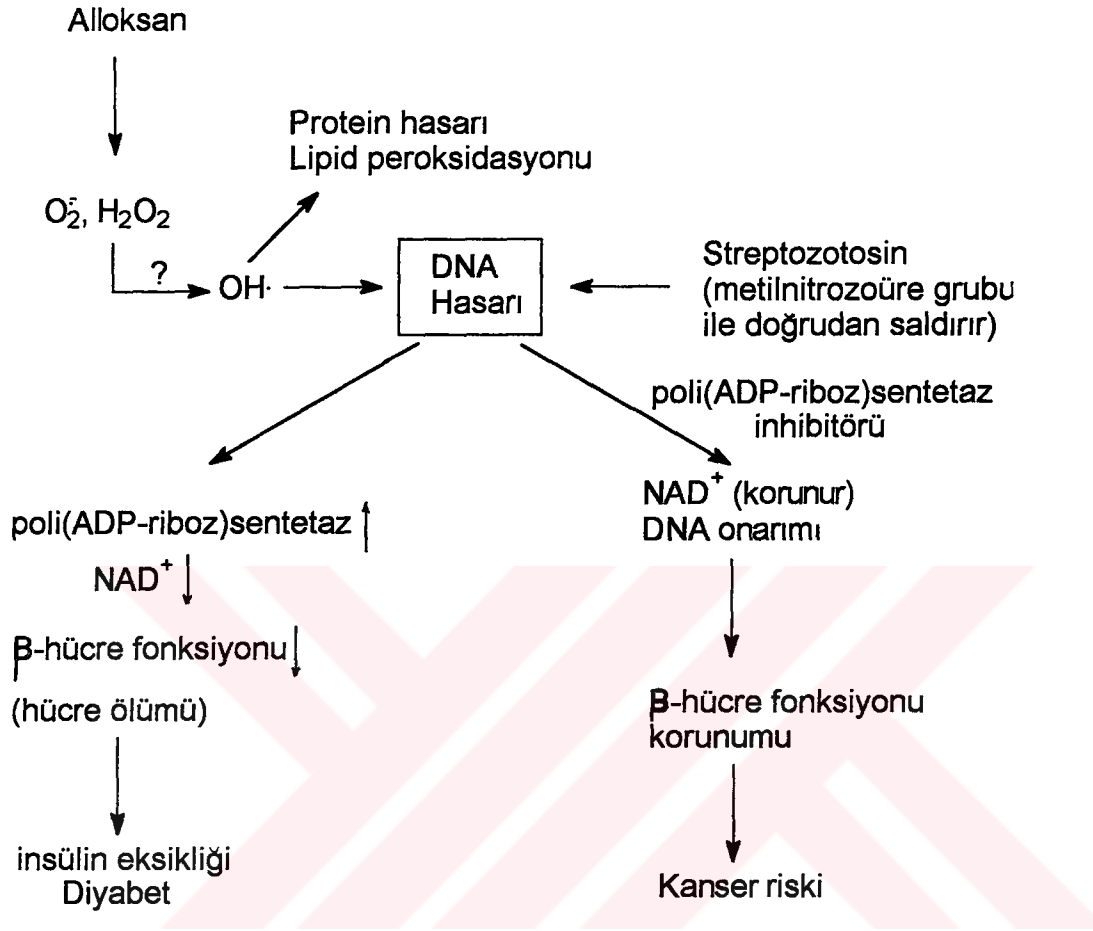
Streptozotosin (STZ), diyabet oluşturmak için, deneysel hayvanlarda kullanılan bir nitrozoüre bileşigidir. Bu bileşiğin açık formülü aşağıdaki gibidir (Şekil 2.15).



Şekil 2.15. Streptozotosin'in molekül yapısı

Streptozotosin (STZ) molekülünün tam kimyasal adı N-metilnitrozokarbamilglukozamindir. İlacın  $\alpha$ -yapısı verilmiştir.  $\beta$ -Yapısı karbon-1'deki H ve OH'in yer değiştirmesi ile elde edilir. İlaçta  $\alpha$ - ve  $\beta$ - yapıları karışık şekilde bulunur.

Streptomyces achromogenes'den elde edilir. Streptozotosin, adacık hücrelerin DNA zincirini kırma özelliğini gösterir (Şekil 2.16).



Şekil 2.16. Streptozotosin ve alloksan'ın diyabetojenik ve kanserojenik etki mekanizmaları (Halliwell and Gutteridge, 1989).

Sıçanlara enjekte edildiğinde, retina, eritrosit ve adacık hücrelerinin CuZn-Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitelerinin azaldığı gözlenmiştir. Diğer dokularda ise bu durum gözlenmemiştir. Vitamin E'nin, sıçanların STZ kaynaklı diyabetojenitesini azalttığı rapor edilmiştir (Halliwell and Gutteridge, 1989). Bu sonuç tam olarak kabul edilmemiş ve etki mekanizmasının aydınlatılması için daha çok çalışmanın gerektiği ileri sürülmüştür. Ancak, etki daha çok Süperoksit dismutaz (SOD) enjeksiyonunun zamanlamasına bağlı olduğu düşünülmektedir. STZ; oksijen radikallerinin artışından çok, taşıdığı nitrozo grubu ile DNA arasındaki bir kimyasal reaksiyon sonucu DNA'ya



zarar vermektedir. Aşırı miktarda DNA hasarı, poli (ADP-riboz) sentetazın aktivasyonuna ve hücre için ölümcül olabilecek düzeyde hücrel NAD<sup>+</sup> nın azalışına neden olur. Bu NAD<sup>+</sup> nın azalışı, STZ'nin β-hücrelerine karşı olan toksisitesinin bir mekanizması olduğu ileri sürülmüştür (Halliwell and Gutteridge, 1989). Sıçanlarda STZ ve poli (ADP-riboz) sentetaz inhibitörlerinin birleşik etkisinin β-hücre tümörlerini oluşturduğu gözlemlenmiştir (Halliwell and Gutteridge, 1989). Böylece, enzimin inhibisyonu NAD<sup>+</sup> nın azalışını ve β-hücre ölümünü önlemiş, ancak bazı DNA hasarı doğru bir şekilde onarılmadığı için kanserojenik etki oluşmuştur.



### 3.GEREÇ VE YÖNTEMLER

#### 3.1. Deney Protokolü

Çalışmamızda ağırlıkları 250-300 g olan erkek Spraque-Dawley sıçanlar kullanıldı. Belirli laboratuvar koşullarında tutulan ve her zamanki beslenmeleri korunan sıçanlar bir gece aç bırakıldıktan sonra deneye alındılar.

Hayvanlar kontrol ve deney grubu olmak üzere 4 gruba ayrıldı.

1. Kontrol grubundaki hayvanlara 0.1 M sitrat tamponu 0.1 ml/100 g intraperitoneal verildi.
2. Streptozotocin 60 mg/kg intraperitoneal (0.1 M Sitrat tamponu pH4.5) verildi.
3. Streptozotocin enjeksiyonundan 1 saat önce L-nitroarjinin 4 mg/kg intraperitoneal verildi.
4. Streptozotocin enjeksiyonundan 1 saat sonra L-nitroarjinin 4 mg/kg intraperitoneal verildi.

<u>Gruplar (n=8)</u>	<u>Süre</u>	<u>Doz</u>	<u>İlaç uygulama yolu</u>
(K) Kontrol	4 Hafta	0.1 ml/100 g Sitrat tamponu	I.P.
(STZ)	4 Hafta	60 mg/kg	I.P.
(STZ+pre L-NA)	4 Hafta	4 mg/kg L-NA+60 mg/kg STZ	I.P.
(STZ+post L-NA)	4 Hafta	60 mg/kg STZ+4 mg/kg L-NA	I.P.

#### 3.2. Deneysel Diyabet Modeli

Sıçanlara 60 mg/kg Streptozotocin intraperitoneal yapıldı. L-nitroarjinin (nitrik oksit sentaz inhibitörü), STZ uygulamasından bir saat önce ve bir saat sonra olmak üzere 4 mg/kg (Dığış, 1996) intraperitoneal verildi. İnjektiondan 24 saat sonra ve her hafta kan alınarak sıçanların kan glukoz düzeylerine bakıldı. 4 hafta süresince

sıçanların vücut ağırlıkları ve kan glukoz düzeyleri saptandı. 4 hafta sonunda sıçanlar dekapite edilerek, karaciğer, böbrek, pankreas ve dalakları hızla çıkarıldı. Dokular soğuk serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra filtre kağıdı ile kurutulup hızla tartılarak sıvı azot ile donduruldu ve ölçümler yapılana kadar derin dondurucuda (-70°C) bekletildiler.

### 3.3. Deneyleerde Kullanılan Aletler

- Derin dondurucu: Bosch
- Hassas terazi: Mettler
- Homojenizatör: IKA Ultra-Tutrax T25
- Vortex: IKA
- Su banyosu: Nüve
- Spektrofotometre: UV-Vis Recording Spectrophotometer (Shimadzu).

### 3.4. Deneyleerde Kullanılan Çözeltiler

- Triklor asetik asit (TCA) (Merck) çözeltisi,
- Tiyobarbitürik asit (TBA) (Sigma) çözeltisi,
- 150 mM KCl çözeltisi,
- 0.25 N HCl çözeltisi,
- Malondialdehit standart çözeltisi: 1,1,3,3,-tetraethoxypropane (Malonaldehyde bis(diethy acetal)) (Sigma) 'ın %1'lik sülfirik asitteki çözeltisinden hazırlanan 1-10 µM'lık dilüsyonları kullanıldı
- Proteinsizleştirme çözeltisi: 30 g NaCl, 1.67 g glasiyal metafosforik asit (Carlo Erba) ve disodyum EDTA (Merck) tartılıp distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.
- 0.3 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> çözeltisi
- Ellman ayıracı: 10 mg 5,5'-Ditiyo-bis-(2-nitro benzoik asid) 25 ml %1'lik sodyum sitrat çözeltisinde eritildi.

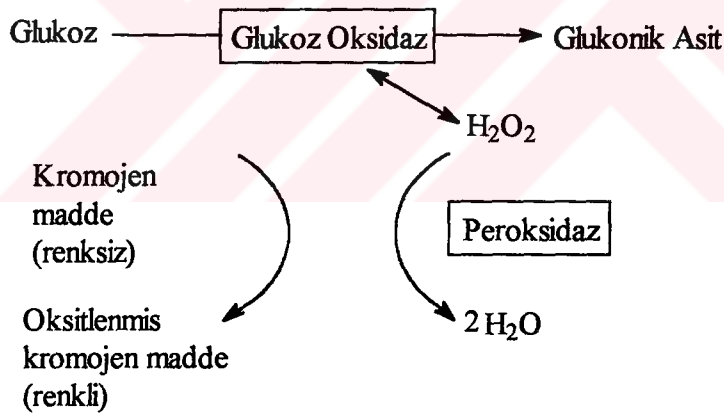
- Glutation (Sigma) standart çözeltisi: %100 mg glutatyon çözeltisinden hazırlanan dilüsyonlar kullanıldı.

### 3.5. Glukoz Ölçüm Tekniği

Kanlar, heparinli kapiler tüpler aracılığı ile oftalmik venöz punksiyon (göz çukuru ven sinüsünden) yöntemiyle alındı.

Kan glukoz düzeyleri Glikotest aleti (Accutrend Alpha) ile enzimatik glukoz belirleme yöntemi ile yapıldı. Ölçümde enzimlerin ve kromojen maddenin emdirilmesi ile hazırlanmış kağıt şeritler (Accutrend Glucose) kullanıldı.

Glukoz oksidaz enzimi  $\beta$ -D-glukozu oksitler ve glukonik asit ile hidrojen peroksit oluşur. Bir peroksidaz yardımı ile hidrojen peroksitten serbestleşen oksijen indirgenmiş halde bulunan renksiz bir kromojen maddeyi oksitleyerek onu renkli hale çevirir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Glukoz oksidaz yönteminin şeması

### 3.6. Lipit Peroksidasyon Düzeylerinin Ölçülmesi

Dokularda lipit peroksidasyonunun son ürünü olarak oluşan malondialdehitin (MDA) tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girmesi ile oluşan renk spektrofotometrik olarak saptandı (Buege, 1978).

Dokular tartıldı ve soğuk 150 mM KCl çözeltisi ile %10'luk doku homojenatları hazırlandı. Bu homojenattan 1 ml alındı. Üzerine 2 ml TBA çözeltisi (0.375 g TBA ile %100'lük 15 ml Triklor asetik asidin 0.25 N HCl ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanmış çözelti) ilave edildi. Vorteksle karıştırıldı. Karışım kaynar su banyosunda 15 dakika bekletildi. Soğutulduktan sonra 3000 rpm de 15-20 dakika santrifüj edildi. Üst fazdan 1ml alınarak köre karşı 532 nm'de spektrofotometrik olarak okundu.

### **3.7. Glutatyon Ölçülmesi**

Doku homojenatlarındaki serbest sülfidril gruplarının Ellman ayırıcı ile oluşturduğu rengin spektrofotometrik olarak saptanması, glutatyon içeriğinin belirlenmesi için kullanıldı (Beutler,1975).

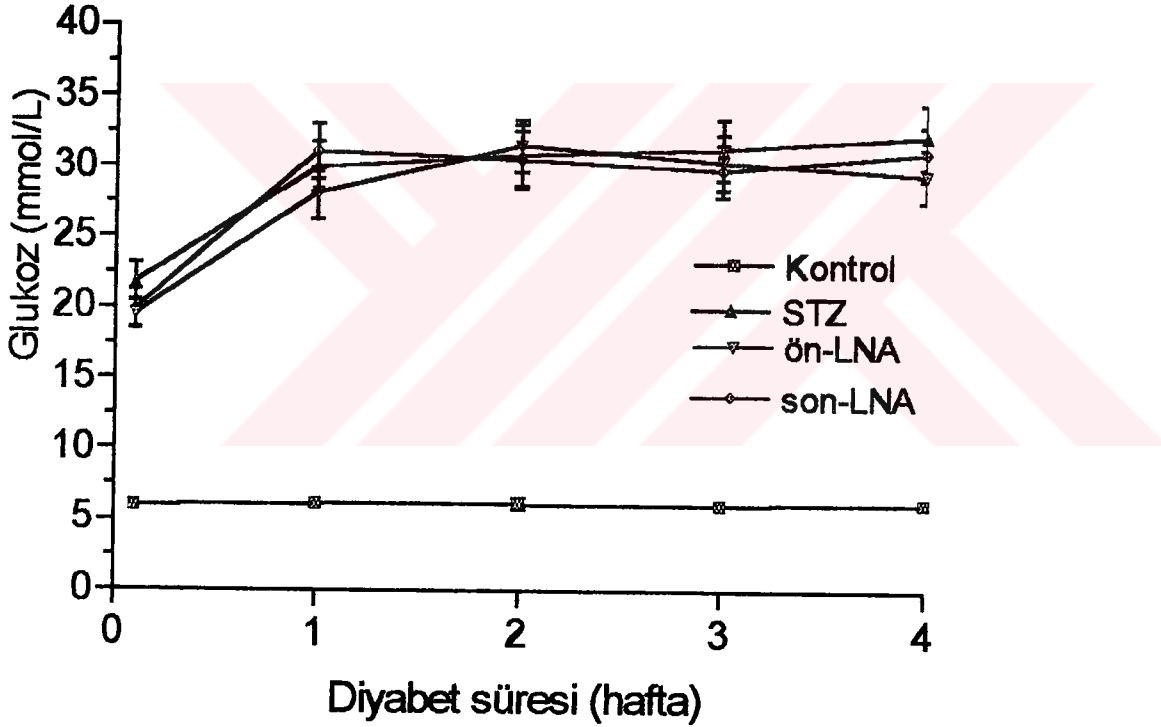
Dokuların 150 mM KCl'deki %10'luk homojenatından 0.2 ml alındı. Üzerine 0.3 ml proteinsizleştirme çözeltisi eklendi. Karışım vortekslendikten sonra 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Üst fazdan 0.2 ml alınarak, üzerine 0.8 ml 0.3 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> çözeltisi ve 0.1ml Ellman ayırıcı (DTNB) kondu, oluşan renk köre karşı 412 nm'de spektrofotometrik olarak 5 dakika içinde okundu.

### **3.8. Deneysel Sonuçlarının Değerlendirilmesi ve Biyoistatistiksel Yöntem**

İstatistiksel değerlendirme tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey's Multiple Comparison Testi uygulanarak yapıldı. P değerinin 0.05'ten küçük olduğu durumlar anlamlı kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Çalışmamızda sıçanlara 60 mg/kg Streptozotosin (STZ) ve 4 mg/kg L-nitroarjinin intraperitoneal uygulandı. Streptozotosin (STZ) uygulamasını takiben ilk 24 saat içinde kan glukoz düzeylerinde artış görüldü. Enjeksiyonu takiben ilk hafta içinde STZ uygulanan sıçanlarda bir kısım denek öldü. STZ enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanan L-nitroarjinin (PostNA+STZ) grubunda; STZ'den 1 saat önce, L-nitroarjinin (PreNA+STZ) uygulanan gruba nazaran ölüm daha fazla oldu. Dört hafta sonunda kontrol grubu dışındaki sıçanların kan glukoz düzeylerinde artış gözlemlendi (Şekil 4.1). Vücut ağırlıklarında ise belirgin değişiklik görülmedi.



Şekil 4.1. Sıçanların diyabet süresi (4 hafta) kan glukoz düzeyleri

Streptozotosin uygulanan sıçanların karaciğer, böbrek, pankreas ve dalak dokularında, lipid peroksit düzeyleri kontrollerle karşılaştırıldığında anlamlı artışlar gözlemlendi (Çizelge 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, Şekil 4.2, 4.4, 4.6, 4.8). L-nitroarjinin enjeksiyonunu takiben, 1 saat sonra STZ uygulanan (PreNA+STZ) deneklerde ise,

sıçanların böbrek ve pankreas dokularında, lipid peroksit düzeyleri kontrollere göre anlamlı olarak arttı (Çizelge 4.2, 4.3, Şekil 4.4, 4.6). STZ grubu ile karşılaştırıldığında ise dalak dokusunda anlamlı olarak azalttığı gözlemlendi (Çizelge 4.4, Şekil 4.8). STZ enjeksiyonunu takiben 1 saat sonra L-nitroarjinin uygulanan (STZ+PostNA) sıçanların karaciğer, böbrek, pankreas ve dalak dokularında, lipid peroksit düzeyleri kontrollerle karşılaştırıldığında anlamlı olarak arttırdığı (Çizelge 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, Şekil 4.6, 4.8), STZ grubu ile karşılaştırıldığında ise böbrek ve dalak dokularında anlamlı olarak azalttığı gözlemlendi (Çizelge 4.2, 4.4, Şekil 4.4, 4.8).

Diğer taraftan STZ uygulaması, sıçanların karaciğer, böbrek, pankreas ve dalak dokularındaki glutatyon düzeylerini düşürdü (kontrollerle karşılaştırıldığında böbrek hariç diğer dokularda anlamlı olarak) (Çizelge 4.1, 4.3, 4.4, Şekil 4.3, 4.5, 4.7, 4.9). STZ enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanan L-nitroarjinin (PostNA+STZ) ve STZ'den 1 saat önce uygulanan L-nitroarjininin (PreNA+STZ), sıçanların karaciğer, böbrek, pankreas ve dalak dokularındaki glutatyon düzeylerinde artışlar (STZ'li sıçanların glutatyon düzeyleri ile karşılaştırıldığında) gözlemlendi (Çizelge 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, Şekil 4.3, 4.5, 4.7, 4.9).

**Çizelge 4.1.** Karaciğerde Malondialdehit (nmol/g doku) ve Glutatyon ( $\mu\text{mol/g}$  doku) düzeyleri

<i>n=8</i>	<b>KARACİĞER</b>	
	<b>MDA</b>	<b>GSH</b>
Gruplar		
Kontrol	120 $\pm$ 5.9	4.23 $\pm$ 0.18
STZ	205 $\pm$ 11.8**	1.33 $\pm$ 0.08***
PreNA+STZ	161 $\pm$ 5.7	3.02 $\pm$ 0.09*
PostNA+STZ	194 $\pm$ 4.1*	2.45 $\pm$ 0.11***

Ortalama  $\pm$  Standart hata

Kontrollerine göre

\* $p < 0.05$

\*\* $p < 0.01$

\*\*\* $p < 0.001$

**Çizelge.4.2.** Böbrekte Malondialdehit (nmol/g doku) ve Glutatyon (µmol/g doku) düzeyleri

<i>n=8</i>	<b>BÖBREK</b>	
Gruplar	MDA	GSH
Kontrol	188 ± 4.4	2.42 ± 0.08
STZ	361 ± 9.8*	1.41 ± 0.04
PreNA+STZ	262 ± 14.4***	1.94 ± 0.03
PostNA+STZ	318 ± 13.7***##	1.71 ± 0.05

Ortalama ± Standart hata  
Kontrollerine göre \*p<0.05 \*\*p<0.01 \*\*\*p<0.001  
STZ grubuna göre ##p<0.001

**Çizelge.4.3.** Pankreasda Malondialdehit (nmol/g doku) ve Glutatyon (µmol/g doku) düzeyleri

<i>n=8</i>	<b>PANKREAS</b>	
Gruplar	MDA	GSH
Kontrol	127 ± 5.0	1.86 ± 0.15
STZ	272 ± 19.0***	0.67 ± 0.05*
PreNA+STZ	252 ± 25.6***	1.31 ± 0.05
PostNA+STZ	331 ± 16.7***	1.08 ± 0.08

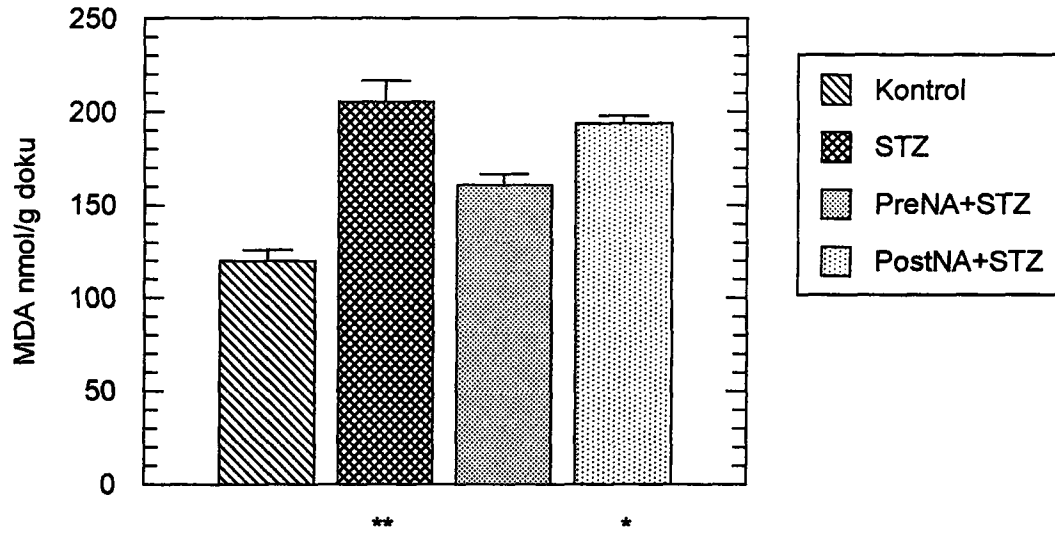
Ortalama ± Standart hata  
Kontrollerine göre \*p<0.05 \*\*\*p<0.001

**Çizelge.4.4.** Dalakta Malondialdehit (nmol/g doku) ve Glutatyon (µmol/g doku) düzeyleri

<i>n=8</i>	<b>DALAK</b>	
Gruplar	MDA	GSH
Kontrol	255 ± 6.5	1.94 ± 0.04
STZ	416 ± 30.9***	0.55 ± 0.03**
PreNA+STZ	297 ± 5.5##	1.11 ± 0.12
PostNA+STZ	328 ± 9.4*#	0.78 ± 0.05

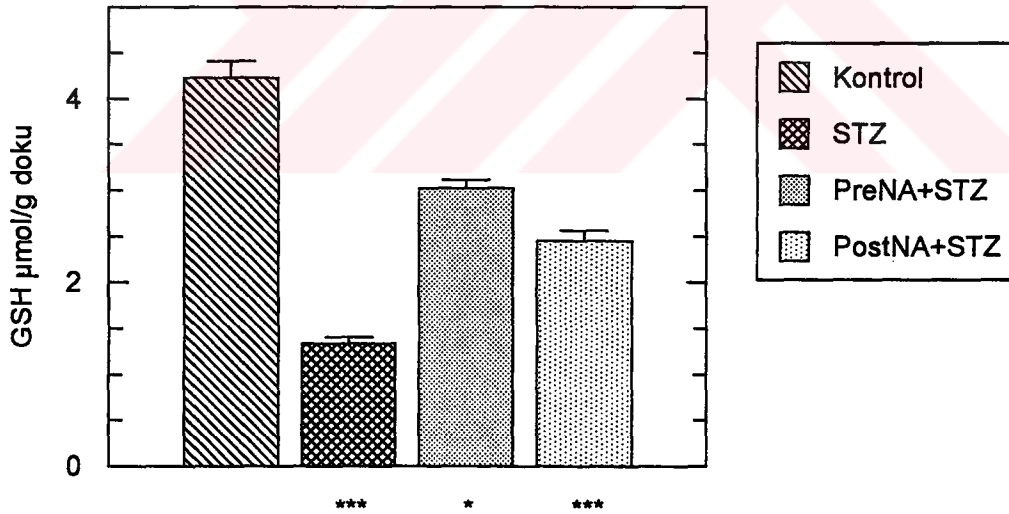
Ortalama ± Standart hata  
Kontrollerine göre \*p<0.05 \*\*p<0.01 \*\*\*p<0.001  
STZ grubuna göre #p<0.01 ##p<0.001





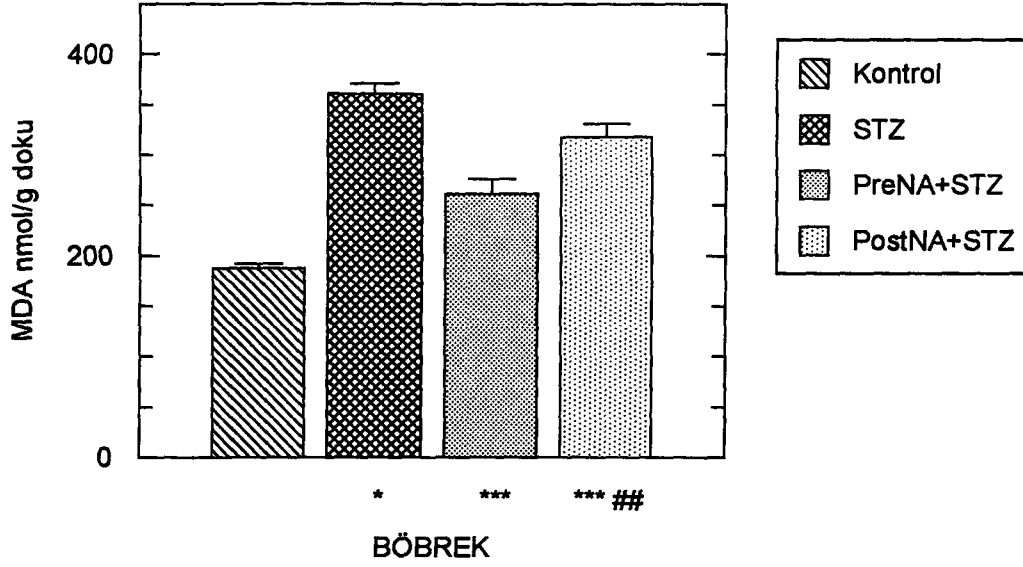
#### KARACİĞER

Şekil 4.2. 60 mg/kg Streptozotosin öncesi ve sonrası 4 mg/kg L-nitroarjinin i.p. uygulamasının sıçanların karaciğerlerindeki lipit peroksidasyon oluşumuna etkileri (n=8). Kontrollerine göre \* $p < 0.05$  \*\* $p < 0.01$ .

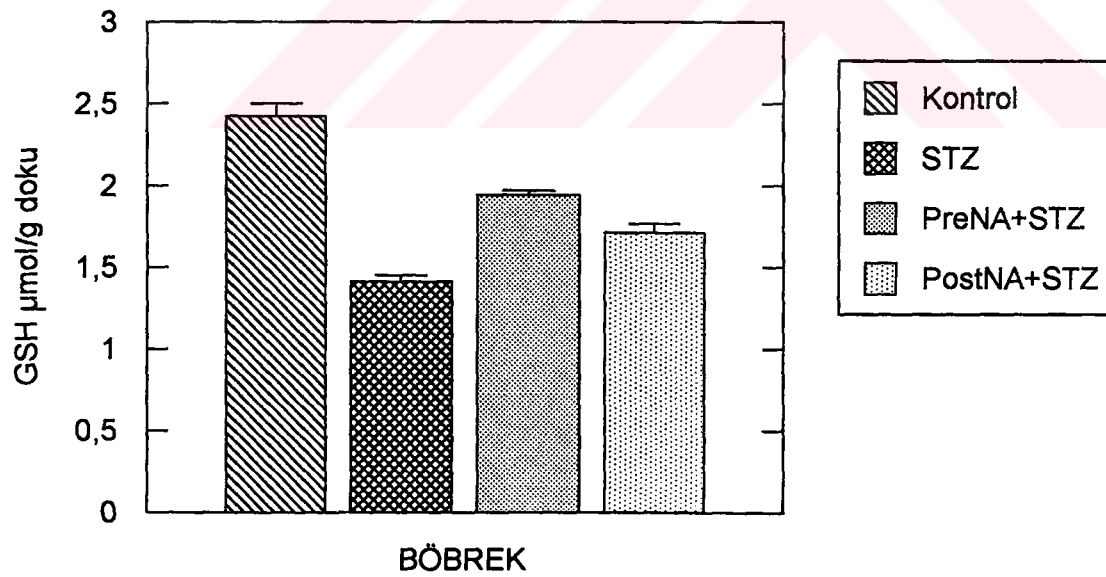


#### KARACİĞER

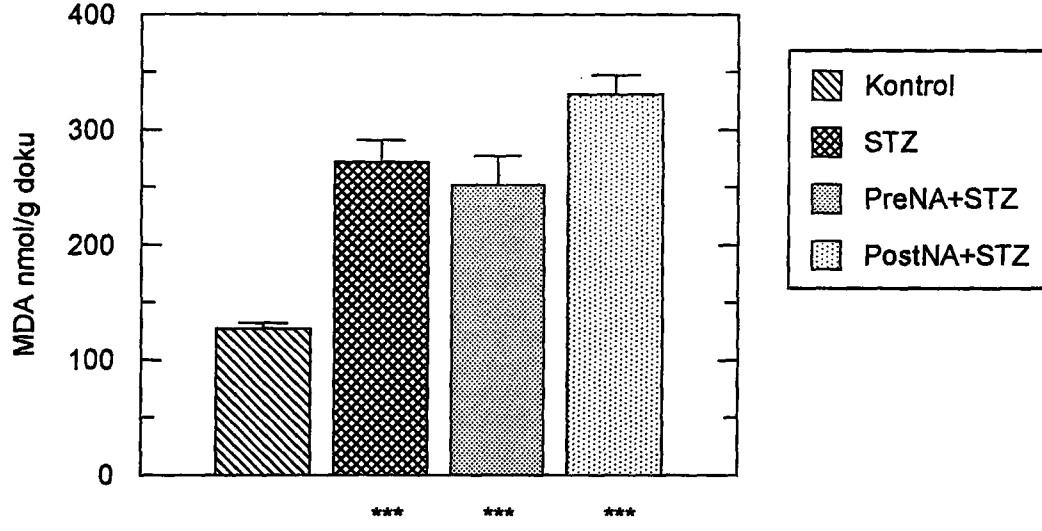
Şekil 4.3. 60 mg/kg Streptozotosin öncesi ve sonrası 4 mg/kg L-nitroarjinin i.p. uygulamasının sıçanların karaciğerlerindeki glutasyon düzeylerine etkileri (n=8). Kontrollerine göre \* $p < 0.05$  \*\*\* $p < 0.001$



**Şekil 4.4.** 60 mg/kg Streptozotosin öncesi ve sonrası 4 mg/kg L-nitroarjinin i.p. uygulamasının sıçanların böbreklerindeki lipid peroksidasyon oluşumuna etkileri (n=8). Kontrollerine göre \*p<0.05 \*\*\*p<0.001, STZ grubuna göre ##p<0.001.

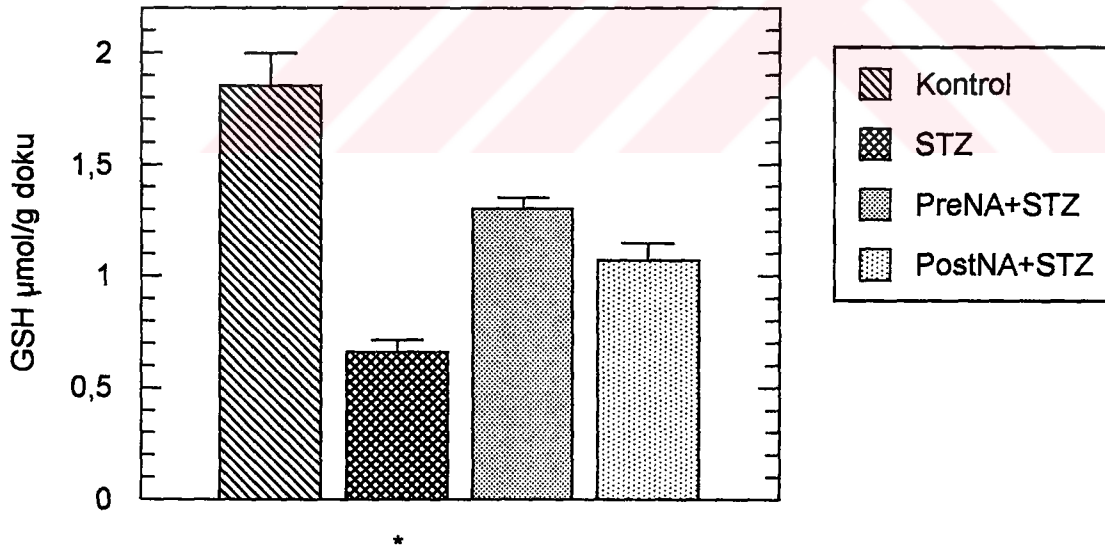


**Şekil 4.5.** 60 mg/kg Streptozotosin öncesi ve sonrası 4 mg/kg L-nitroarjinin i.p. uygulamasının sıçanların böbreklerindeki glutasyon düzeylerine etkileri (n=8)



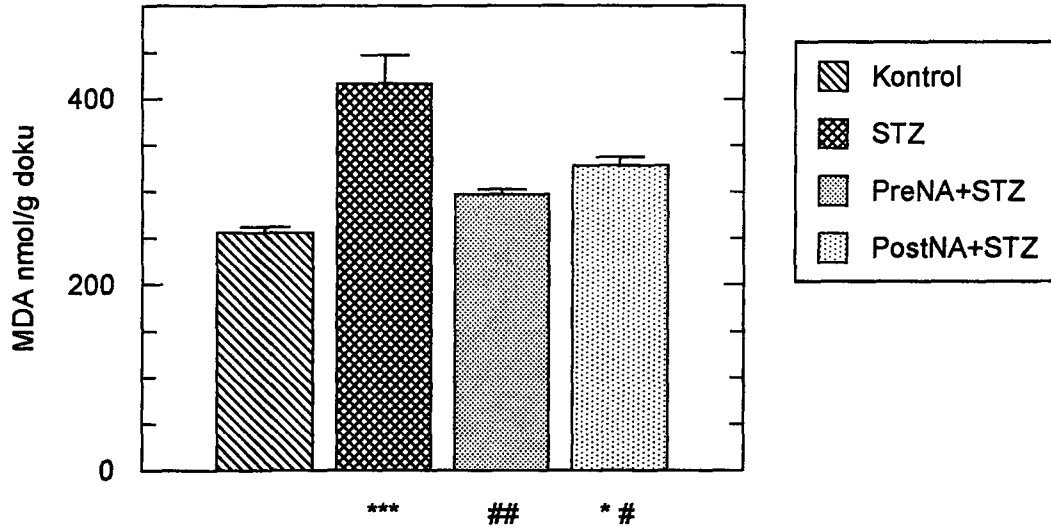
PANKREAS

Şekil 4.6. 60 mg/kg Streptozotosin öncesi ve sonrası 4 mg/kg L-nitroarjinin i.p. uygulamasının sıçanların pankreaslarındaki lipit peroksidasyon oluşumuna etkileri (n=8). Kontrollerine göre \*\*\*p<0.001.



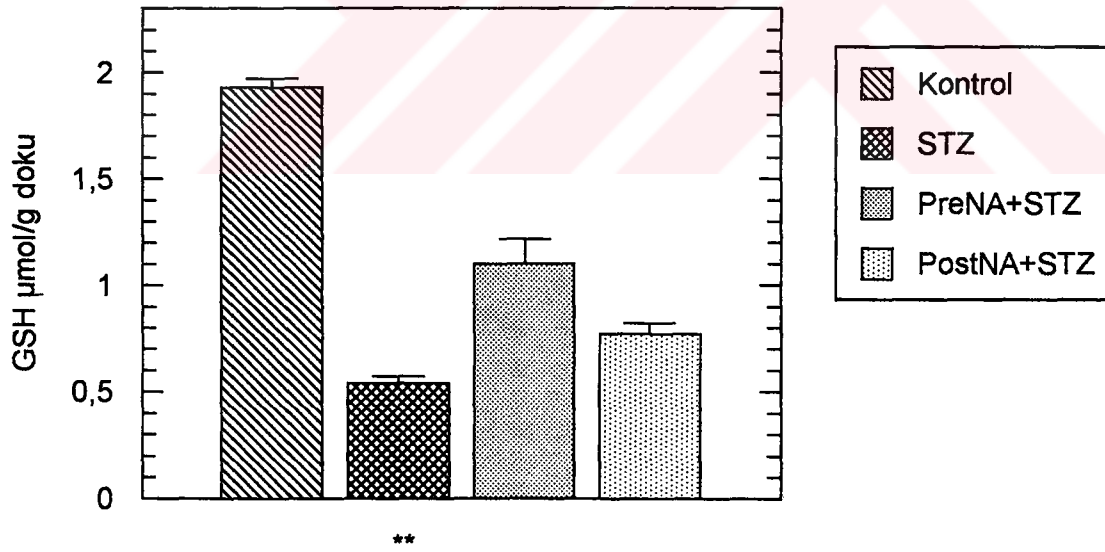
PANKREAS

Şekil 4.7. 60 mg/kg Streptozotosin öncesi ve sonrası 4 mg/kg L-nitroarjinin i.p. uygulamasının sıçanların pankreaslarındaki glutasyon düzeylerine etkileri (n=8). Kontrollerine göre \*p<0.05.



DALAK

Şekil 4.8. 60 mg/kg Streptozotosin öncesi ve sonrası 4 mg/kg L-nitroarjinin i.p. uygulamasının sıçanların dalaklarındaki lipit peroksidasyon oluşumuna etkileri (n=8). Kontrollerine göre \*p<0.05 \*\*\*p<0.001, STZ grubuna göre #p<0.01 ##p<0.001.



DALAK

Şekil 4.9. 60 mg/kg Streptozotosin öncesi ve sonrası 4 mg/kg L-nitroarjinin i.p. uygulamasının sıçanların dalaklarındaki glutasyon düzeylerine etkileri (n=8). Kontrollerine göre \*\*p<0.01.

## 5. TARTIŞMA

Diyabetes mellitus, kandaki glukoz düzeyinin yüksek olması ile karakterize olan ve uzun dönemde kronik komplikasyonları gözlenen metabolik bir bozukluktur.

Diyabetik koşullarda oksidatif baskı düzeyi artmaktadır. Diyabette serbest radikallerin etkili olduğu, Tip I diyabet yapılan hayvan deneyleri ile gösterilmiştir (Oberley, 1988). Örneğin Alloksan'ın serbest radikal ortamı reaksiyonu ile, insülin yapan pankreas  $\beta$ -hücrelerinin harabiyeti tip I diyabeti oluşturmuştur. Bu oluşumda, kararsız alloksan dialürik aside dönüşmekte ve bu asidin otooksidasyonu ise  $H_2O_2$ ,  $O_2^-$  ve  $\cdot OH$  radikalini vermektedir (Kristal and Yu, 1992).

Süperoksit dismutaz (SOD) ve Katalaz (CAT) gibi radikal yakalayıcı enzimler, alloksan'ın hasar verme etkisini azaltmaktadır (Fisher and Hamburger, 1980). Ayrıca, metanol ve tiyoüre gibi  $\cdot OH$  yakalayıcı bileşikler de, alloksan tarafından oluşturulan diyabetojenezin azalmasına neden olmaktadır (Nishigaki et al, 1978). Diğer çok bilinen radikal yakalayıcıların ise, alloksan'ın diyabet oluşturmasına karşı koruyucu etki yaptıkları bilinmektedir. Slonim et al (1983), sıçanlara vitamin E vererek diyabet gelişmesini yavaşlatmıştır. Crowden et al (1985), sentetik bir antioksidan olan butillendirilmiş hidroksianizolu farelere vererek, onları alloksan'la oluşturulan diyabete karşı korumayı başarmıştır.

Alloksan veya Streptozotosin (STZ) verilen sıçanların, çoğu organlarındaki total Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitelerinde azalma görülmüştür (Matkovics et al, 1982).

Diyabetes mellitus'lu hastaların (Yagi, 1987; Griesmacher et al, 1995; Pieper et al, 1995; Laaksonen et al, 1996; Sundaram et al, 1996; Jain et al, 1996) ve diyabet oluşturulmuş hayvanların plazma ve dokularında (Shah et al, 1994; Kakkar et al, 1995; 1997; Makar et al, 1995; Kretowski et al, 1995; Peltola et al, 1996) lipit peroksit düzeylerinde artışlar olduğu bilinmektedir.

Diyabette lipit peroksidasyonun ve oksidatif baskının artışı, plazma glukoz seviyesinin artışına bağlanmaktadır (Nishigaki et al, 1978; Sato et al, 1979). Hunt et al (1988), fizyolojik şartlarda glukozun otooksidasyona uğrayabileceğini ve bu nedenle bir serbest radikal kaynağı olabileceğini göstermiştir.

Nitrik oksit (NO) süperoksit radikal anyonu ( $O_2^{\cdot-}$ ) ile etkileşerek peroksinitrit radikalini ( $ONOO^{\cdot}$ ) verir (Beckman and Tsai, 1994; Khan and Wilson, 1995; Marin and Martinez, 1995; Darley-Usmar et al, 1995; Rubbo, 1996; Erbaş, 1998). Perosinitrit radikali azot dioksit ( $NO_2$ ) ve hidroksil radikaline ( $OH$ ) dönüşerek, hücre savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu durumlarda lipit peroksidasyonu hızlandırmaktadır. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada (Dığış,1996) farelere akut ve kronik amonyum asetat uygulanmasının, nitrik oksit aracılığı ile karaciğerde lipit peroksidasyon düzeyini arttırdığı saptanmıştır. Nitrik oksit sentaz inhibitörü (NOSI) olarak L-nitroarjinin uygulanmasında ise bu artışı önlediği gözlenmiştir.

Çalışmamızda, streptozotosin (STZ) ile oluşturulan diyabet modelinde sıçanların karaciğer, böbrek, pankreas ve dalak dokularındaki lipit peroksit ve glutatyon düzeyleri ölçüldü.

Streptozotosin (STZ) uygulanan sıçanların karaciğer dokusu lipit peroksit düzeylerinde, kontrollerine göre istatistiksel olarak anlamlı artışlar saptandı (Çizelge 4.1, Şekil 4.2). L-nitroarjinin'in STZ enjeksiyonundan 1 saat önce (PreNA+STZ) verilmesi ile, sıçanların karaciğer dokusunda artmış lipit peroksit düzeyinde azalma gözlemlendi. L-nitroarjinin'in STZ enjeksiyonundan 1 saat sonra (PostNA+STZ) verilmesi de, artmış lipit peroksit düzeyinde azalmaya neden oldu. Ancak bu azalmalar STZ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Çizelge 4.1, Şekil 4.2). Diğer taraftan STZ'li sıçanların karaciğer dokularındaki glutatyon düzeylerinde kontrollerine göre istatistiksel olarak anlamlı azalmalar gözlemlendi (Çizelge 4.1, Şekil 4.3). L-nitroarjinin STZ enjeksiyonundan 1 saat önce ve 1 saat sonra uygulanmasıyla, karaciğer dokusu glutatyon düzeylerinde STZ'li gruba göre daha az düşüşler gösterdi (Çizelge 4.1, Şekil 4.3).

STZ uygulanan sıçanların böbrek dokularındaki lipit peroksit düzeylerinde, kontrollerine göre istatistiksel olarak anlamlı artışlar saptandı. L-nitroarjinin'in STZ enjeksiyonundan 1 saat önce ve 1 saat sonra uygulanması ile, kontrollerine göre artmış fakat STZ'li gruba göre azalmış lipit peroksit düzeyleri elde edildi (Çizelge 4.2, Şekil 4.4). Diğer taraftan L-nitroarjinin'in STZ enjeksiyonundan 1 saat önce ve 1 saat sonra verilmesi böbrek dokusu glutatyon düzeylerinde azalmaya neden oldu. Ancak bu azalmalar STZ grubuna göre anlamlı bulunmadı (Çizelge 4.2, Şekil 4.5).

STZ'li sıçanların pankreas dokularındaki lipit peroksit düzeylerinde, kontrollerine göre istatistiksel olarak anlamlı artışlar saptandı (Çizelge 4.3, Şekil 4.6). L-nitroarjinin'in STZ enjeksiyonundan 1 saat önce verilmesi kontrollerine göre artmış fakat STZ'li gruba göre azalmış lipit peroksit düzeyleri elde edildi. L-nitroarjinin'in STZ enjeksiyonundan 1 saat sonra verilmesi ise, tüm gruplara göre daha fazla artmış lipit peroksit düzeyleri oluşmasına neden oldu. L-nitroarjinin'in STZ enjeksiyonundan 1 saat önce uygulanmasıyla, pankreas dokusu glutatyon düzeyindeki azalma STZ'li gruba göre daha az düşüş gösterdi. L-nitroarjinin'in STZ enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmasıyla, yine pankreas glutatyon düzeyinde STZ'li gruba göre daha az düşüş gösterdi (Çizelge 4.3, Şekil 4.7).

Ayrıca, STZ'li sıçanların dalak dokularının lipit peroksit düzeylerinde de, kontrollerine ve STZ'li gruba göre istatistiksel olarak anlamlı artışlar saptandı (Çizelge 4.4, Şekil 4.8). L-nitroarjinin'in STZ enjeksiyonundan 1 saat önce ve 1 saat sonra uygulanması ile kontrollerine göre artmış fakat STZ'li gruba göre azalmış lipit peroksit düzeyleri ölçüldü. L-nitroarjinin'in STZ'den 1 saat önce ve 1 saat sonra verilmesi ise, kontrollere göre azalmış olan STZ grubu glutatyon düzeylerinde anlamlı olmayan artışlara neden oldu (Çizelge 4.4, Şekil 4.9).

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar, karaciğer, böbrek, pankreas ve dalakta meydana gelen lipit peroksit düzeylerindeki artışta, sadece süperoksit radikali ve türevlerinin sorumlu olmadığı, nitrik oksit (NO) aracılı bir mekanizmanın da etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Çalıştığımız dokularda, STZ uygulamasından sonra lipit peroksit düzeylerinde artma, glutatyon düzeylerinde azalma; sıçanlara STZ ile birlikte, nitrik oksit sentaz inhibitörü (NOSI) L-nitroarjinin verildiğinde kontrol düzeylerine dönme eğilimi göstermesi, bu değişikliklerin oluşumunda NO aracılı bir mekanizmanın etkili olduğu düşüncesini pekiştirmektedir.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Streptozotosin (STZ) ile oluşturulan deneysel diyabetli hayvanların karaciğer, böbrek, pankreas ve dalak dokularındaki lipit peroksit düzeylerindeki artış, kontrollerine göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Bu durum Streptozotosin'e (STZ) bağlı olarak oluşan diyabet modelinde serbest radikallerin önemli rol oynadığını göstermektedir.

Diğer taraftan, çalışmamızda aynı dokuların glutatyon düzeylerinde ise, kontrollerine göre istatistiksel olarak (böbrek hariç) azalmalara neden oldu. L-nitroarjinin, STZ enjeksiyonundan 1 saat önce (PreNA+STZ) ve 1 saat sonra (PostNA+STZ) verilmesi, lipit peroksidasyon düzeylerinin, kontrol düzeylerine dönme eğilimi göstermesine neden oldu. Bu eğilim, sadece böbrek ve dalak lipit peroksit düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Sonuç olarak, hiperglisemide oksidan-antioksidan dengesi değişmektedir ve bu değişikliğin oluşumunda süperoksit radikali ve türevleri ile birlikte nitrik oksit'in de (NO) etkin bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

Bu çalışmanın devamı olarak, çalıştığımız dokularda E ve C vitamin düzeyleri, STZ uygulamasından sonra ölçülebilir. Bu vitamin düzeylerindeki azalma, glutatyon düzeylerindeki azalma ile birlikte yorumlanabilir. L-nitroarjinin verilmesiyle, E ve C vitamin düzeyleri kontrol düzeylerine dönme eğilimi gösterebilir ve bu yolla nitrik oksit'in etkinliği konusunda daha fazla bilgi sağlanabilir.



## KAYNAKLAR

- AKKUŞ, İ.(1995). *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*.1. Baskı. Konya. 1-157.
- ALTOMARE, E., GRATAGLIANO, I., VENDEMAILE, G., MICELLI, F.T., SIGNORILE, A., CARDIA, L. (1997). Oxidative protein damage in human diabetic eye: evidence of a retinal participation. *Eur. J. Clin. Invest.* 27: 141-147.
- BAĞRIAÇIK, N.(1997). Diabetes mellitus: tanımı, tarihçesi, sınıflaması ve sıklığı. *Diabetes Mellitus.*, Editör; İLKOVA, H. 9-18.
- BAYNES, J.W.(1991). Role of oxidation stress in development of complications in diabetes. *Diabete.* 40: 405-412.
- BECKMAN, J., TSAI, J.H. (1994). Reactions and diffusion of nitric oxide and peroxynitrite. *The Biochemist.* Oct/Nov 8-10.
- BEL, A., MARTINOD, E., MENASCHE, P. (1996). Cardioprotective effect of desferrioxamine. *Acta Haematologica*, 95: 63-65
- BEUTLER, E.(1975). *Glutation in red blood cell metabolism a manuel of biochemical methods.* 2<sup>nd</sup> Ed. 112-114.
- BROWNLEE, M., CERAMI, A., VLASSARA, H. (1988). Advanced glycosylation end products in tissue and the biochemical basis of diabetic complications. *The New England Journal of Medicine*, 318:20 1315-1321.
- BUEGE, J.A. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymo.* 52: 302-311.
- BÜYÜKDEVRİM, S. (1992). Diabetes mellitus. *İç Hastalıkları 1.*, Editörler; BÜYÜKÖZTÜRK, K., ATAMER, T., KAYSI, A., KONİÇE, M., ÖKTEN, A., SENCER, E. 190-210.
- CADENAS, E. (1989). Biochemistry of oxygen toxicity. *Ann. Rev.Biochem.* 58: 79-110.
- COHEN, R.A. (1993). Dysfunction of vascular endothelium in diabetes mellitus. *Circulation*, 87: 67-76.
- COMINACINI, L., GARBIN, U., Lo CASCIO, V. (1996). The need for a "free radical initiative". *Diabetologia.* 39: 364-366.
- CROSS, C.E., HALLIWELL, B., BORISH, E.T., PRYOR, W.A., AMES, B.N., SAUL, R.L., McCORD, J.M., HARMAN,D. (1987). Oxygen radicals and human disease. *Annals of Internal Medicine.* 107: 526-545.

- CROWDEN, W.B., LEWIS-HUGHES, P.H., CLARK, A. (1985). Protection against alloxan-induced diabetes in mice by the free radical scavenger butylated hydroxyanisole. *Biochem. Pharmacol.* 34: 3601-3603.
- DARLEY-USMAR, V., RADOMSKI, M. (1994). Free radicals in the vasculature: the good, the bad and the ugly. *The Biochemist.* Oct/Nov 15-18.
- DARLEY-USMAR, V., WISEMAN, H., HALLIWELL, B. (1995). Nitric oxide and oxygen radicals: a question of balance. *FEBS Letters.* 369: 131-135.
- ERBAŞ, D. (1998). Nitrik oksit: fizyolojik önemi ve çeşitli hastalıklardaki rolü. *Klinik Gelişim.* 11: 376-380.
- DIĞIŞ, A.M.(1996). Amonyum asetat uygulanan farelerin beyin ve karaciğer dokularında antioksidan sistemin incelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi.* M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 1-25.
- FISHER, L.J., HAMBURGER, S.A. (1980). Inhibition of alloxan action in isolated pancreatic islets by superoxide dismutase, catalase, and a metal chelator. *Diabetes.* 29: 213-216.
- GEDİK, O.(1996). Diabetes mellitus'un patogenezi. *Endokrinoloji "Temel ve Klinik" "1.Baskı"*, Editörler: GEDİK, O., AKALIN, S. 395-408.
- GIUGLIANO, D., CERIELLO, A. (1996). Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care,* 19: 257-267.
- GRIESMACHER, A., KINDHAUSER, M., ANDERT, S.E., SCHREINER, W., TOMA, C., KNOEBL, P., PIETSCHMANN, P., PRAGER, R., SCHNACK, C., SCHERNTHANER, G., MUELLER, M. (1995). Enhanced serum levels of thiobarbituric-acid reactive substances in diabetes mellitus. *The American Journal of Medicine.* 98: 469-475.
- HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J.M.C. (1989). *Free Radicals in Biology and Medicine.* 2<sup>nd</sup> Ed. 313-314.
- HUNT, J.V., DEAN, R.T., WOLFF, S.P. (1988). Hydroxyl radical production and autoxidative glycosylation. *Biochem. J.* 256: 205-212.
- JACOB, R.A. (1995). The integrated antioxidant system. *Nutrition Research.* 15:5 755-766.
- JAESCHKE, H. (1995). Mechanisms of oxidant stress-induced acute tissue injury. *Drug Metabolism Research.* 209: 104-111.
- JAIN, S.K., McVIE, R., JARAMILLO, J.J., PALMER, M., SMITH, T., MEACHUM, Z.D., LITTLE, R.L. (1996). The effect of modest vitamin E supplementation on lipid

- peroxidation products and other cardiovascular risk factors in diabetic patients. *Lipids*. 31: 87-90.
- KAKKAR, R., KALRA, J., MANTHA, S.V., PRASAD, K. (1995). Lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes in diabetic rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 151: 113-119.
- KAKKAR, R., MANTHA, S.V., RADHĪ, J., PRASAD, K., KALRA, J. (1997). Antioxidant defense system in diabetic kidney: a time course study. *Life Sciences*. 60:9 667-679.
- KASHIWAGĪ, A., ASAHINA, T., IKEBUCHI, M., TANAKA, Y., TAKAGI, Y., NISHIO, Y., KIKKAWA, R., SHIGETA, Y. (1994). 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. *Diabetologia*. 37: 264-269.
- KHAN, A.U., WILSON, T. (1995). Reactive oxygen species as cellular messengers. *J. Chem. Biol.* 2: 437-445.
- KOLOĞLU, S.(1996). Diabetes mellitus. *Endokrinoloji "Temel ve Klinik" "1.Baskı"*, 367-386.
- KRETOWSKI, A., SZELACHOWSKA, M., GORSKA, M., ZENDZIAN-PIOTROWSKA, M., WYSOCKA-SOLOWIEJ, B., KINALSKA, I. (1995). Orally given nicotinamide inhibits the decreasing of glutathione content in the pancreas of streptozotocin diabetic rats. *Horm. Metab. Res.* 28: 35-36.
- KRISTAL, B.S., YU, B.P. (1992). An emerging hypothesis: synergistic induction of aging by free radicals and Maillard reaction. *J. Gerontol.* 47: 107-114.
- LAAKSONEN, D.E., ATALAY, M., NISKANEN, L., UUSITUPA, M., HANNINEN, O., SEN, C.K. (1996). Increased resting and exercise-induced oxidative stress in young IDDM men. *Diabetes Care*. 19: 569-574.
- MAKAR, T.K., RIMPEL-LAMHAOUAR, K., ABRAHAM, D.G., GOKHALR, V.S., COOPER, A.J.L. (1995). Antioxidant defense systems in the brains of type II diabetic mice. *Journal of Neurochemistry*. 65: 287-291.
- MARIN, J., MARTINEZ, A.R. (1995). Nitric oxide, oxygen derived free radicals and vascular endothelium. *J. Auton. Pharmacol.* 15: 279-307.
- MATKOVICS, B.S., VARGA, S.I., SZABO, L., WITAS, H. (1982). The effect of diabetes on the activities of the peroxide metabolizing enzymes. *Horm. Metab. Res.* 14: 77-79.
- McCORD, J.M.(1993). Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clinical Biochemistry*. 26: 351-357.

- NAKAZAWA, H., GENKA, C., FUJISHIMA, M. (1995). Pathological aspects of active oxygens /free radicals. *Japanase Journal of Physiology*. 46: 15-32.
- NAKAZAWA, H., GENKA, G., FUJISHIMA, M.(1996). Pathological aspects of oxygens/free radicals. *Japanese Journal of Physiology*, 46:1 15-32.
- NISHIGAKI, I., HAGIHARA, M., TSUNEKAWA, H., MASEKI, M., YAGI, K. (1978). Lipid peroxide levels of serum lipoprotein fractions of diabetic patiens. *Biochem. Med.* 25: 373-378.
- NONHEBEL, D.C., TEDDER, J.M., WALTON, J.C. (1979). *Radicals*. 172-175.
- OBERLEY, L.W. (1988). Free radicals and diabetes. *Free Radical. Biol.Med.*5: 113-124.
- ÖZMEN, D., MUTAF, I., ÖZMEN, B., MENTES, J., BAYINDIR, O. (1997). Lens lipid peroxides and glutathione concentrations in diabetic cataract. *Ann. Clin. Biochem.* 34:2 190-192.
- PAOLISSO, G., GIUGLIANO, D. (1996). Oxidative stress and insulin action: is there a relationship? *Diabetologia*. 39: 357-363.
- PELTOLA, V., HUHTANIEMI, I., METSA-KETELA, T., AHOTUPA, M. (1996). Induction of lipid peroxidation during steroidogenesis in the rat testis. *Endocrinology*. 137:1 105-112.
- PIEPER, G.M., JORDAN, M., DONDLINGER, L.A., ADAMS, M.B., ROZA, A.M. (1995). Peroxidative stress in diabetic blood vessels. *Diabetes*. 44: 884-889.
- RABINI, R.A., GALASSI, R., FUMELLI, P., DOUSSET, N., SOLERA, M.L., VALDIGUIE, P., CURATOLA, G., FERRETTI, G., TAUS, M. MAZZANTI, L. (1994). Reduced Na<sup>+</sup> -K<sup>+</sup> -ATPase activity and plasma lysophosphatidylcholine concentrations in diabetic patiens. *Diabetes*. 43: 915-918.
- RUBBO, H. (1996). Nitric oxide regulation of tissue free radical injury. *Chem. Res. Toxicol.* 9: 809-820.
- SANNOMIYA, P., OLIVEIRA, M.A., FORTES, Z.B. (1997). Aminoguanidine and the prevention of leukocyte dysfunction in diabetes mellitus: a direct vital microscopic study. *British Journal of Pharmacology*. 122: 894-898.
- SATO, Y., HOTTA, N., SAKAMOTO, N., MATSUOKA, S., OSHISHI, N., YAGI, K. (1979). Lipid peroxide levels of plasma of diabetic patiens. *Biochem. Med.* 21: 104-109.
- SHAH, G., PINNAS, J.L., LUNG, C.C., MAHMOUD, S., MOORADIAN, A.D. (1994). Tissue-specific distribution of malondialdehyde modified proteins in diabetes mellitus. *Life Sciences*. 55:17 1343-1349.

- SLONIM, A.E., SURBER, M.E., PAGE, D.E., SHARP, R.A., BURR, I.M. (1983). Modification of chemically induced diabetes in rats by vitamin E: supplementation minimizes and depletion enhances development of diabetes. *J. Clin. Invest.* 71: 1282-1288.
- SÖZEN, T. (1989). Diabetes mellitusun dejeneratif komplikasyonları. *Modern Tıp Seminerleri.*, Editörler; GEDİK, T., AKALIN, S. 92-99.
- STADTMAN, E.R. (1992). Protein oxidation and aging. *Science.* 257: 1220-1224.
- SUNDARAM, R.K., BHASKAR, A., VIJAYALINGAM, S., VISWANATHAN, M., MOHAN, R., SHANMUGASUNDARAM, K.R. (1996). Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus with and without complications. *Cinical Science.* 90: 255-260.
- UYSAL, M. (1998). Serbest radikaller, lipit peroksitleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim.* 11: 336-341.
- VIBERTI, G.C. (1992). Introduction to a structural basis for renal and vascular complications in diabetes and hypertension. *Journal of Hypertension.* 10:1 1-4.
- VIENA, M., HERRARA, E., BONET, B. (1996). Teratogenic effects of diabetes mellitus in the rat. Prevention by vitamin E. *Diabetologia.* 39: 1041-1046.
- VINSON, J., HSU, C., POSSANZA, C., DRACK, A., PANE, D., DAYIS, R., KLOCK, C., GRASER, K., WANG, X. (1994). Lipid peroxidation and diabetic complications: effect of antioxidant vitamins C and E. *Adv. Exp. Med. Biol.* 366: 430-2.
- WILLIAMSON, J.R., CHANG, K., FRANGOS, M., HASAN, K.S., IDO, Y., KAWAMURA, T., NYENGAARD, J.R., VAN DEN ENDEN, M., KILO, C., TILTON, R.G. (1993). Hyperglycemic pseudohypoxia and diabetic complications. *Diabetes.* 42: 801-813.
- WOHAIEB, S.A., GODIN, D. (1987). Alterations in free radical tissue-defense mechanisms in streptozocin-induced diabetes in rat. *Diabetes.* 36: 1014-1018.
- YAGI, K. (1987). Lipid peroxides and human diseases. *Chemistry and Physics of Lipids.* 45: 337-351.
- YALÇIN, A.S.(1998). Antioksidanlar. *Klinik Gelişim.* 11: 342-346.
- YILMAZ, M.T. (1996). Tip I diyabetin otoimmün patogenezi. *Aktüel Tıp Dergisi.* 1:7 512-517.
- YU, B.P. (1994). Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiological Reviews.* 74:1 139-161.

## ÖZGEÇMİŞ

1959 Vakfikebir/Trabzon'da doğdu.

1966-1973 İlk ve Orta öğretimini İstanbul'da

1973-1976 Lise öğretimini İstanbul Kız Lisesi'nde

1976-1980 Yüksek öğretimini İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde tamamladı.

1981-1986 İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Eczanesi'nde eczacı olarak çalıştı.

1986-1993 Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Eczanesi'nde eczacı olarak çalıştı.

1993- Halen Kocaeli Üniversitesi Kocaeli Sağlık Yüksek Okulu'nda Öğretim Görevlisi olarak çalışmaktadır.



**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**