

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DİYABETİK RATLARDA ASPİRİN VE NİMESULİD'İN
DİYABETE BAĞLI DOKU HASARI ÜZERİNE OLAN
ETKİLERİ**

Şükriye YEŞİLOT

**FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

DANIŞMAN

Doç. Dr. Mehmet Kaya ÖZER

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından
1382-YL-06 Proje numarası ile desteklenmiştir.**

**Tez. No:
2008-İSPARTA**

KABUL VE ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 18.08.2008

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mehmet Kaya ÖZER

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji
Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. Meral ÖNCÜ

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve
Embriyoloji Anabilim Dalı

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ekrem ÇİÇEK

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji
Anabilim Dalı

ONAY : Bu yüksek lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen
yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Doç. Dr. A. Diljin KEÇECİ
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Tez konumun belirlenmesinde ve ilerlemesinde bana yardımcı olan hocalarım Sayın H. İbrahim KARABACAK ve Sayın Doç. Dr. M. KAYA ÖZER'e, Histolojik incelemelerde yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Meral ÖNCÜ'ye, çalışmanın istatistiklerini yapmamda yardımlarını esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Esin KULAÇ'a,

Gerek deneylerin yapılması sırasında gerekse çalışmalarımnda beni destekleyen anabilim dalımız araştırma görevlileri; Halil AŞCI, Mehtap SAVRAN, Funda YILDIRIM BAŞ'a, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı araştırma görevlileri; Dilek BAYRAM ve Dilek KARATOPUK'a, çalışma süresince emeği geçen İbrahim ULUSOY'a,

Tezimin biyokimyasal parametrelerinin çalışılması için Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı olanaklarından faydalanmamızı sağlayan Sayın Prof. Dr. Hüseyin VURAL' a ve Arş. Gör. Dr. Hicran HİÇYILMAZ' a teşekkür ederim.

Çalışmamın ilk aşamasından itibaren desteğini hissettiren ve yazım aşamasında yardımlarını esirgemeyen Fahri YEŞİLOT'a teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY.....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	vi
TABLolar, ŞEKİLLER, GRAFİKLER DİZİNİ.....	vii
RESİMLER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Diabetes Mellitus.....	3
2.1.1. Diabetes Mellitusun Tanımı.....	3
2.1.2. Anatomi ve Fizyolojisi.....	4
2.1.3. Diabetes Mellitusun Belirtileri ve Nedenleri.....	6
2.1.4. Diabetes Mellitusun Etyolojik Sınıflandırılması.....	6
2.1.5. Diyabetin Neden Olduğu Komplikasyonlar.....	11
2.2. Deneysel Diyabet Nedir.....	12
2.2.1. Deneysel Diabetes Mellitus Oluşturmak için Kullanılan Yöntemler.....	12
2.2.2. Streptozotosin Kullanarak Ratlarda Deneysel Diyabet Oluşturulması.....	15
2.3. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres.....	16
2.3.1. Antioksidanlar.....	18
2.3.2. Diyabet ve Oksidatif Stres.....	20
2.4. NSAİ İlaçlar.....	22
2.4.1. NSAİ İlaçların Tarihçesi.....	22
2.4.2. NSAİ İlaçların Etki Mekanizması.....	22
2.4.2.1.Lipooksijenaz yolu.....	23
2.4.2.2.Siklooksijenaz yolu.....	23
2.4.3. NSAİ İlaçların Genel Özellikleri.....	25
2.4.4. NSAİ İlaçların Yan Etkileri.....	25
2.4.5. Nimesulid.....	26

2.4.6. Aspirin.....	28
3. MATERYAL ve METOD.....	31
3.1. Materyal.....	31
3.1.1. Deney Hayvanları.....	31
3.1.2. Kullanılan İlaçlar.....	31
3.1.3. Biyokimyasal Çalışma için Kullanılan Malzemeler.....	31
3.1.4. Kullanılan Çözeltiler.....	33
3.2. Metod.....	34
3.2.1. Deney Planı.....	34
3.2.2. Biyokimyasal Çalışmalar.....	36
3.2.2.1. Kanların biyokimyasal ölçümlere hazırlanması.....	36
3.2.2.2. SOD aktivitesinin ölçümü.....	36
3.2.2.3. GSH-Px aktivitesinin ölçümü.....	37
3.2.2.4. Katalaz aktivitesinin ölçümü.....	38
3.2.2.5. Lipid peroksidasyonunun ölçümü.....	38
3.2.3. Doku Takip Çalışmaları.....	39
3.2.3.1. Değerlendirme.....	40
3.2.4. İstatistiksel Çalışmalar.....	41
4. BULGULAR.....	42
4.1. Biyokimyasal Bulgular.....	42
4.2. Histolojik Bulgular.....	46
4.2.1. Böbrek Dokusu.....	49
4.2.2. Aort Dokusu.....	55
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	60
ÖZET.....	66
SUMMARY.....	67
KAYNAKLAR.....	68

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltma	Açılımı
AGE-RAGE	İleri glikolizasyon son ürünleri ve reseptörü
ASA	Asetil Salisilik Asit
Asp	Aspirin
CABG	Koroner arter bypass'ı
CAT	Katalaz
COX	Siklooksijenaz
DKA	Diabetik Ketoasidoz
DM	Diabetes Mellitus (Diyabet)
GAD	Glutamik asit dekarboksilaz
GDM	Gestasyonel diabetes mellitus
GİS	Gastrointestinal sistem
GPx	Glutasyon peroksidaz
GSH	İndirgenmiş glutasyon
GST	Glutasyon S-Transferaz
H-E	Hematoksilen-eozin
HETE	Hidroksieikozatetraenoik asit
HPETE	Hidroperoksieikozatetraenoik asit
IRS1	İnsülin reseptör substratı-1
ICA	Adacık küme antikorları
i.m.	İntramusküler
i.p.	İntraperitoneal
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
MDA	Malondialdehit
MI	Miyokard infaktüsü
Nim	Nimesulid
NO	Nitrik oksit
NSAİİ	Non steroidal antiinflamatuvar ilaçlar
PG	Prostaglandin
PGHS	Prostoglanin endoperoksit sentetaz
PGI ₂	Prostasiklin
PTCA	Koroner anjioplasti
ROS	Reaktif oksijen ürünleri
ROT	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süper oksit dismutaz
TBA	Tiyobarbitürik asit
TBARS	Tiobarbitürik asit reaktif substans
TCA	Trikloroasetik asit
TxA ₂	Tromboksan A ₂

TABLOLAR, ŞEKİLLER, GRAFİKLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
TABLolar	
Tablo 1. Diabetes Mellitusun Etyolojik Sınıflandırılması.....	6
Tablo 2. Deneysel Tip 1 Diabetes Mellitus oluşturmak için kullanılan yöntemler...	15
Tablo 3: Deney planı.....	34
Tablo 4. Değişik günlerde dekapite edilen sıçan adetleri.....	35
Tablo 5. Grupların kan MDA, GPx, CAT, SOD değerlerinin aritmetik ortalaması..	42
Tablo 6. Kontrol grubu ile DM grubunun MDA, GPx, CAT, SOD düzeyleri açısından karşılaştırılması.....	44
Tablo 7. DM grubu ile DM + Asp grubunun MDA, GPx, CAT, SOD düzeyleri açısından karşılaştırılması.....	45
Tablo 8. DM grubu ile DM+ Nim grubunun MDA, GPx, CAT, SOD düzeyleri açısından karşılaştırılması.....	45
Tablo 9. DM + Asp grubu ile DM + Nim grubunun MDA düzeyleri açısından karşılaştırılması.....	46
Tablo 10. Gruplar arası sağ kalım oranı.....	46
Tablo 11. Deney gruplarında gözlenen yapısal değişikliklerin skorlanması.....	47
Tablo 12. Gruplar arasında gözlenen yapısal değişikliklerin Ki – kare testine göre p değerleri.....	48
ŞEKİLLER	
Şekil 1. NSAİ İlaçların etkileri ve yan etkileri.....	26
Şekil 2. Nimesulidin kimyasal yapısı.....	27
Şekil 3. Nimesulidin fizikokimyasal özellikleri.....	28
Şekil 4. Aspirinin kimyasal yapısı.....	28

GRAFİKLER

Grafik 1. Gruplara göre MDA ölçüm değerlerinin dağılımı.....	42
Grafik 2. Gruplara göre GPx ölçüm değerlerinin dağılımı.....	43
Grafik 3. Gruplara göre CAT ölçüm değerlerinin dağılımı.....	43
Grafik 4. Gruplara göre SOD ölçüm değerlerinin dağılımı.....	44

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: Kontrol grubuna ait sıçan böbrek dokusu (H-E).....	50
Resim 2: Kontrol grubuna ait sıçan böbrek dokusu (H-E).....	50
Resim 3: DM grubuna ait sıçan böbrek dokusu (H-E).....	51
Resim 4: DM grubuna ait sıçan böbrek dokusu (H-E).....	51
Resim 5: DM grubuna ait sıçan böbrek dokusu (H-E).....	52
Resim 6: DM + Asp grubuna ait sıçan böbrek dokusu (H-E).....	52
Resim 7: DM + Asp grubuna ait sıçan böbrek dokusu (H-E).....	53
Resim 8: DM + Asp grubuna ait sıçan böbrek dokusu (H-E).....	53
Resim 9: DM + Nim grubuna ait sıçan böbrek dokusu (H-E).....	54
Resim 10: DM + Nim grubuna ait sıçan böbrek dokusu (H-E).....	54
Resim 11: DM + Nim grubuna ait sıçan böbrek dokusu (H-E).....	55
Resim 12: Kontrol grubuna ait sıçan aort kesiti (H-E).....	56
Resim 13: Kontrol grubuna ait sıçan aort kesiti (Verhoeff).....	56
Resim 14: DM grubuna ait sıçan aort kesiti (H-E).....	57
Resim 15: DM grubuna ait sıçan aort kesiti (Verhoeff).....	57
Resim 16: DM + Asp grubuna ait sıçan aort kesiti (H-E).....	58
Resim 17: DM + Asp grubuna ait sıçan aort kesiti (Verhoeff).....	58
Resim 18: DM + Nim grubuna ait sıçan aort kesiti (H-E).....	59
Resim 19: DM + Nim grubuna ait sıçan aort kesiti (Verhoeff).....	59

1. GİRİŞ

Diyabet insülin salınmasının veya etkisinin ya da hücrelerde insülin reseptör duyarlılığının azalması sonucu oluşan bir hastalıktır. İnsülin salınmadığı diyabet şekli Tip I diyabet olarak ifade edilirken, insülin azlığı ve/veya reseptör duyarlılığının azlığı sonucu oluşan diyabet, Tip II diyabet olarak adlandırılmaktadır (1,2,3). İnsülin yokluğunun veya insülin reseptör duyarlılığının azaltılmasının glikoz metabolizmasına başlıca etkisi, glikozun birçok hücre tarafından alımı ve kullanımının engellenmesidir. Bu durumda, kan glikoz konsantrasyonu artar, glikozun kullanımı giderek azalır ve hücreler enerji kaynağı olarak yağları ve proteinleri kullanmaya başlar (1,4).

Deneysel hayvan çalışmalarında insandakine benzer diyabet oluşturmak için kullanılan N-nitroso türevi D-glukozamin yapısındaki streptozotosin (STZ) (5), oksidan maddeler meydana getirerek langerhans adacıklarını selektif olarak tahrip etmekte ve uygun olmayan nitrik oksit (NO) cevapları vererek diyabeti başlattığı düşünülmektedir (6,7).

Diyabet sonucu oluşan hiperglisemi, glikozun oksidasyonuna ve proteinlerin glikolizasyonuna bağlı olarak, serbest radikallerin oluşmasına neden olur. Serbest radikaller, son yörüngelerinde bir ya da birden fazla paylaşılmamış elektron içeren reaktif moleküllerdir. Serbest radikaller, mitokondriyal solunum, fagositlerin aktivasyonu ve bazı enzimlerin [(nikotinamid adenin dinükleotid hidrojen fosfat (NADPH) oksidaz ve ksantin oksidaz gibi)] ve/veya demir (Fe) ve bakır (Cu) gibi metallerin katalizlediği oksidasyon reaksiyonları sonucunda oluşurlar. Oluşan bu serbest radikaller, özellikle reaktif oksijen türleri (ROT), lökositlerin yabancı maddeleri yok etmeleri sırasında, biyolojik olarak aktif olan önemli aracı moleküllerdir ve yangı ile ilgili temel bileşiklerin oluşmasında da rol oynarlar. Bununla beraber aşırı üretilmeleri halinde toksiktirler ve hücrelerdeki lipidleri, proteinleri ve DNA'yı oksitleyerek peroksidasyona ve modifikasyonlara neden olabilirler. Bu prooksidanların, özellikle ROT'lerin birikmesine "oksidatif stres" denir. Son yıllarda oksidatif stresin, başta diyabet olmak üzere koroner kalp

rahatsızlıkları, kanser, katarakt gibi daha birçok hastalığın patogenezinin neden olduğu saptanmıştır (8).

Oksidatif stres; tip I diyabette, özellikle pankreatik β hücrelerinin apoptozisine, tip II diabette ise, insülin salgılanmasını uyaran mekanizmanın inhibe edilmesine neden olarak (9), protein glikolizasyonu, ateroskleroz, retinopati, nefropati, nörolojik disfonksiyonlar gibi diyabetik komplikasyonlar oluşturur (10,11,12).

Organizmada oksidatif stres oluşturan değişik oksidanlara karşı antioksidan savunma sistemi vardır. Bu antioksidan savunma sistemi; serbest radikallerin aşırı üretilmesini engelleyerek, oluşan serbest radikallerin etkisini azaltarak veya oksidatif hasarı ya azaltarak ya da onararak etkisini gösterir. Bu sistemler süperoksid dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi endojen antioksidan enzimleri, indirgenmiş glutatyonu (GSH), seruloplazmin ve transferin gibi metal bağlayıcı proteinleri, çinko (Zn) ve bakır (Cu) gibi antioksidan özellikteki bazı elementleri ve A, C, E gibi antioksidan vitaminleri içermektedir (8,13).

Prostaglandin endoperoksid sentaz (genel adıyla COX), araşidonik asitin prostaglandinlere dönüşümü için gerekli anahtar enzimdir. COX enziminin iki farklı gen tarafından ve farklı fizyopatolojik olaylarca uyarılan iki alt grubu bulunmaktadır (14). COX-1 enzimi genelde homeostazisi düzenleyici özelliindedir ve aktivitesi genelde sabittir (15,16). COX-2 geni inflamasyon başta olmak üzere birçok durumda uyarılabilir (17).

Bu çalışmanın amacı; deneysel diyabet yöntemlerinden STZ ile oluşturduğumuz diyabetik ratlarda diyabete bağlı oluşan ağrının giderilmesinde ve hasarın azaltılmasında diyabetli hastalarda kullanılabileceğini düşündüğümüz antioksidan özelliği olan Aspirin (COX-1 inhibitörü) ve Nimesulid'in (COX-2 inhibitörü) vasküler sistem ve böbrek dokusu üzerine diyabetin olumsuz etkilerine verdiği cevapları biyokimyasal parametreler ve histopatolojik olarak incelemektir.

2. GENEL BİLGİ

2.1. DİABETES MELLİTUS

2.1.1. Diabetes Mellitusun Tanımı:

Karbonhidrat metabolizmasının düzenlenmesinde etkili olan insülin salınması, Langerhans adacıklarındaki β hücrelerine glikozun girişi ile başlar. Glikoz β hücrelerine girdikten sonra glikoz-6-fosfata dönüştürülür. Glikoz-6-fosfattan oluşturulan ATP, ATP-kapılı potasyum kanallarını uyararak potasyumun hücre dışına çıkmasını sağlar. ATP-kapılı potasyum kanallarının kapanması ile meydana gelen depolarizasyon, voltaj kapılı kalsiyum (Ca) kanallarının açılmasına ve hücre içi Ca girişine neden olur. Bu olay, insülin veziküllerini membrana doğru hareket ettirir ve insülin hücre dışına salınmış olur (18,19).

Sağlıklı bireylerin, kas, yağ ve karaciğer doku hücrelerindeki glikoz transportu, doku hücrelerine spesifik protein yapısındaki glikoz taşıyıcıların rol aldığı kolaylaştırılmış difüzyonla gerçekleşir. Bu mekanizmadan önce insülin, hücre yüzeyindeki reseptöre bağlanarak tirozin kinazı aktive eder. Reseptörün β alt ünitesinin tirozin birimleri otofosforilasyona uğrar. Reseptör, tirozin kinaz insülin reseptör substrat 1'i (IRS1) fosforile eder. Fosforile edilmiş IRS1, diğer protein kinaz ve fosforilazların aktivasyonunu destekler. Aktive olmuş reseptör, spesifik glikoz taşıyıcılarının, translokasyonla hücre içi havuzdan hücre membranına hareket etmesine neden olur (18,19). Bu taşıyıcıların, glikoz bağlayan bölgesi hücre dışına yönelmiştir. Glikoz buraya bağlanınca, oluşan yapısal değişikliğe bağlı olarak, glikoz bağlayan bölgenin yönü sitoplazmaya doğru döner ve glikoz taşıyıcıdan ayrılıp içeri girer. İnsülin düzeyi düşünce glikoz taşıyıcıları, hücre membranından hücre içi depo havuzlarına hareket ederler. Kısaca, insülinin glikoz transportundaki görevi, glikoz taşıyıcılarının yön değiştirmesini ve konsantrasyonlarının artmasını sağlamaktır (4,18,19).

Diabetes mellitus (DM), insülin salgısının mutlak veya göreceli eksikliği yada insülin rezistansı ile oluşan, hiperglisemi ile kendini belli eden, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozuklukları ile karakterize kronik, metabolik bir hastalıktır. DM'un etyopatogenezi ile ilgili araştırmalar, hastalığın heterojen, hiperglisemi ile karakterize pek çok durumu içine alan bir sendrom olduğunu ortaya koymuştur (19).

Diyabet kelimesi Yunanca "sifon" anlamına gelir ve bu hastalığı karakterize eden aşırı idrar oluşumunu gösterir. Mellitus kelimesi de yine Yunanca "bal" anlamına gelen "mel" kelimesinden türetilmiştir (20).

Amerika da 15 milyon kişiden daha fazla kişiyi etkileyen diyabet, 7. ölüm sebebidir. Diyabet hastalarının 6 milyonu 65 yaş üstü, 15 milyonu 20 yaşın üstü ve 123000 kişide 20 yaşın altındadır. Diyabet ciddi komplikasyonları olan bir hastalık olduğu için yüksek mortaliteye sebep olabilir (21).

2.1.2. Anatomi ve Fizyolojisi:

Vücut yüksek çalışma verimi elde edebilmek için enerjiye gereksinim duymaktadır. Bu gereksinimi karbohidratlar, proteinler ve yağlar olmak üzere çeşitli kaynaklardan sağlanır. Karbohidratlar gibi belirli kaynakların vücut tarafından kullanılabilir hale dönüştürülmesi gerekir. Örneğin; gastrointestinal sistemde (GİS) karbohidratlar (karmaşık şekerler) basit şekerlere (glukoz, galaktoz, fruktoz) dönüştürülmesi. Basit şekerler dolaşıma katılıp tüm hücrelere ulaştırılırlar. Dönüşüm ve hücrelere dağıtım başarılı olsa bile glukozun hücreye girebilmesi için bazı özelleşmiş proteinlere ve kolaylaştırılmış difüzyona gereksinimi vardır.

Çeşitli organ ve kimyasal etkiler vücudun yakıt (enerji) düzeyini etkilerler. Pankreas insülin ve glukagon hormonları üreterek kan glukoz düzeyinin dengelenmesine yardımcı olur. İnsülin pankreastaki langerhans adacıklarındaki β hücrelerinden salgılanır. İnsülin glukoz depolanmasına, yağ ve protein sentezi ve depolanma hızının artmasına neden olur. İnsülin; β hücrelerinden salgılandıktan sonra portal dolaşım ile karaciğere gider. Karaciğerde bir kısmı kullanılır ve azaltılır,

kalan kısmı da dolaşıma bırakılır. Glukagon, langerhans adacıklarındaki α hücrelerinden üretilen bir proteindir. Glukagon glikojenin glukoza dönüşmesini sağlar, yağların gliserole dönüşümünü arttırır, amino asitlerin şekere dönüşümünü sağlar. İnsülinde olduğu gibi glukagon da pankreastan salgılandıktan sonra karaciğere gider.

Kan şeker seviyesini etkileyen başka sebeplerde vardır. Epinefrin gibi katekolaminler, stres döneminde kan şeker düzeyinin dengede olmasına yardımcı olurlar. Epinefrin insülin salgılanmasını baskılar, karaciğer ve kaslardaki glikojenin glukoza dönüşümünü hızlandırır. Aynı zamanda alternatif enerji kaynaklarının (örn: yağ asitleri) glukoza dönüşümünü tetikler. Enerji kaynakları önemlidir çünkü; glukoz beynin kullanabileceği tek enerji kaynağıdır.

Büyüme hormonları kan şeker düzeyini etkiler. Yağ asitlerinin enerji kaynağı olarak kullanılmasını teşvik eder ve protein sentezini arttırır. Glukozun hücre içine girmesini ve kullanımını engelleyerek (azaltarak) kan şeker düzeyinin düşmesini sağlar. Bu olaylar β hücrelerinden insülin salgılanmasını arttırır. Fiziksel egzersizler ve stres (örn: yanıklar, travmalar...) gibi değişik koşullar, büyüme hormonu salgılanmasını tetikler.

Adrenal korteksten salgılanan bir glikokortikoid olan kortizon, karaciğerdeki glikoz üretimini uyarırken dokulardaki glukoz kullanımını azaltır. Ameliyat, enfeksiyon veya korku gibi stresli olgularda tepki olarak kortizon düzeyi artar (21).

2.1.3 Diabetes Mellitusun Belirtileri ve Nedenleri

DM Belirtileri:

- Aşırı miktarda susamak (polidipsi)
- Fazla miktarda idrar yapmak (poliüri)
- Çok fazla miktarda yemek yemek (polifaji)
- Ani kilo kaybı
- Yorgunluk
- İyileşmeyen yaralar
- Kuru kaşıntılı cilt
- Sık enfeksiyon gelişmesi
- Bulanık görme
- Cinsel sorunlar
- Ellerde ve ayaklarda uyuşma

DM Nedenleri:

- Ailede DM olan kişiler
- Pankreasa zarar veren virüsler
- Obezite
- Fiziksel ve emosyonel stres
- İleri yaşlarda risk artar (Tip 2)

2.1.4 Diabetes Mellitusun Etyolojik Sınıflandırılması:

DM'un farklı formları 2003 yılında "Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus" tarafından yeniden tanımlanmıştır (22).

Tablo 1. Diabetes Mellitusun Etyolojik Sınıflandırılması (22)

<u>Diabetes Mellitusun Etyolojik Sınıflandırılması</u>	
I-	Tip 1 diyabet
II-	Tip 2 Diyabet
III-	Diğer spesifik tipler
a)	β-hücre fonksiyonlarının genetik defektleri
b)	İnsülin faaliyetlerinin genetik defekti
c)	Ekzokrin pankreas hastalıkları
d)	Endokrinopatiler
e)	İlaç ve kimyasallar yoluyla olanlar
f)	Enfeksiyonlar
g)	İmmün aracılıklı diyabetin nadir tipleri
h)	Diyabetle ilişkili diğer genetik sendromlar
IV-	Gestasyonel Diabetes Mellitus
V-	Neonatal diyabet

I- Tip 1 Diabetes Mellitus: İnsüline bağımlı diyabet ya da juvenil diyabet olarak da adlandırılmaktadır ve tüm diyabet olgularının % 5-10'unu oluşturur. Pankreas β hücrelerinin otoimmün aracılıklı yıkımıyla oluşan insülin yetmezliği ile karakterizedir. Bu yüzden hastaların hayatlarını devam ettirmek veya diyabetik ketoasidozdan (DKA) korunmak için insüline ihtiyacı vardır. İnsüline veya tamamen pankreas β hücrelerine karşı olan otoantikolar (Adacık hücre antikoları (ICA) ve glutamik asit dekarboksilaza (GAD) karşı antikolar), tanı sırasında %85-90 hastalarda saptanabilir. Tip 1 Diabetes mellitus genel diyabet popülasyonunun %10-20'sini oluşturmaktadır (19,21,22)

II- Tip 2 Diabetes Mellitus: İnsüline bağımlı olmayan diyabet ya da adult onset diyabet olarak adlandırılır ve vakaların %90-95'ini oluşturur. İnsülin direnci ve rölatif (tamamen eksikliği olmaksızın) insülin yetmezliği ile karakterizedir. Tedavisinde insülin direncinin azalması ve endojen insülin sekresyonunun artırılması amaçlanır. En sonunda ekzojen insülin verilmesi gerekebilir. Ama insülin tedavisi yapılsa da diyabetik ketoasidoza eğilim olmayabilir, çünkü endojen insülin üretimi az miktarda da olsa yapılabilmektedir. Patogenez, insülin reseptörü ve onun intrasellüler sinyal yolunu içeren progresif insülin direnci ile β hücre yetmezliği arasındaki etkileşimi içerir (21,23)

Tip 2 DM genellikle obez bireylerde meydana gelir, hipertansiyon ve dislipidemi ile ilişkilidir. Bu hastaların %85'i obez, kalan %15'i non-obezdir. Kuvvetli bir predispozisyon vardır. DM'tan etkilenen bireylerden %50'sinden fazlasının tanısının konmadığı tahmin edilmektedir. Çünkü hiperglisemi yavaş yavaş meydana gelir ve hipergliseminin klasik semptomlarına yol açacak kadar şiddetli değildir. Tip 2 DM'un genel diyabet popülasyonundaki prevalansı %80-90 arasındadır. Hastalık her yaşta görülebilmekle birlikte, daha erişkin yaşlarda ortaya çıkar. Tip 2 DM'ta adacık hücre antikoları serumda tespit edilmez (19,24).

III- Diğer spesifik tipler: Değişik hastalıklarla diyabetin birleştiği durumlardır. Bu hastalıkların bazıları klinik olarak tip 1, bazıları da tip 2 karakterinde seyir gösterir (19,25).

a) β -hücre fonksiyonlarının genetik defektleri

- 1- HNF-4 α (MODY 1)
- 2-Glukokinaz (MODY 2)
- 3- HNF-1 α (MODY 3)
- 4- IPF-1 (MODY 4)
- 5- HNF-1 β (MODY 5)
- 6- Mitokondrial DNA mutasyonları
 - * Kearns-Sayre sendromu
 - * MELAS Benzer mutasyon
 - * Wolfram (DIDMOAD) sendromu
- 7- İnsülin geninde anormallikler
- 8- Glut-2 de primer, sekonder defektler
- 9- Glikojen sentaz geninde polimorfizm
- 10- Diğerleri

b) İnsülin faaliyetlerinin genetik defektleri

- 1-Kahn type A sendromu (Akantozis ngr.,Hirstz,)
- 2-HAİR-AN sendromu (Hiper androjenizm insülin res. Akantosis nigrikans, obezite)
- 3-Kahn type B sendromu (İns. reseptör. karşı antikorlar, İnsülin rezistansı ve hiperglisemi)
- 4-Leprechaunizm (Aşırı insülin dirençliliği, İntrauterin büyüme geriliği, Hipertrikoz, Preprandial hipoglisemi, postprandial hiperglisemi)
- 5-Rabson-Mendenhall sendromu (İnsülin rezistansı,Tip A ile Leprechaunizm arasında değişiklik gösterir)
- 6-Lipodistrofik sendromlar (Lipoatrofijen, kısmi)
 - *Seip-Berardinelli sendromu
 - *Koeberling-Dunnigan sendromu
 - *Mandibuloacral displazi, diğerleri

c) Ekzokrin pankreas fonksiyon bozuklukları

- 1-Pankreatit
- 2-Travma-Pankreatektomi
- 3-Neoplaziler
- 4-Kistik Fibrozis
- 5-Hemokromatozis
- 6-Fibrokalküloz Pankreopati (Malnütrisyon ile)
- 7-Diğerleri

d) Endokrinopatiler

- 1-Akromegali
- 2-Cushing sendromu
- 3-Glukagonoma
- 4-Feokromasitoma
- 5-Somatostatinoma
- 6-Aldosteronoma
- 7-Hipertiroidizm
- 8-Diğerleri

e) İlaç ve kimyasallar yoluyla olanlar

- 1-Vakor
- 2-Pentamidin
- 3-Nikotirik asit
- 4-Glukokortikoidler
- 5-Tiroit Hormonları
- 6-Diazoksit
- 7- β -Adrenerjik agonistler
- 8- Tiazidler
- 9- Klozapin
- 10-Proteaz inhibitörleri
- 11-Dilantin, β -interferon, siklosporin,takrolimus...vs.

f) Enfeksiyonlar

- 1-Konjenital Rubella
- 2-Sitomegalovirüs
- 3-Hemolitik-üremik Sendr.
- 4-Diğerleri

g) İmmün aracılıklı diyabetin nadir tipleri

- 1-Stiff-man sendromu
- 2-Anti-İnsülin reseptör antikolları
- 3-Diğerleri

h) Diyabet ile ilişkili diğer genetik sendromlar

- 1-Down sendromu
- 2-Klinefelter sendromu
- 3-Turner sendromu
- 4-Friedreich ataksisi
- 5-Huntington korea'sı
- 6-Lawrance-Moon-Biedle sendromu
- 7-Myotonik distrofi
- 8-Porfiriler
- 9-Prader-Willi sendromu
- 10-Diğerleri

IV- Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM): İlk olarak gebelikte tanısı konan, yani; gebelik sırasında ortaya çıkan bir tablodur. Birçok kadında postpartum dönemde glukoz toleransı normale döner. Bazı kadınlarda ise ileri dönemde aşikar diyabet gelişebilir (19).

V- Neonatal diyabet: Yenidoğan diyabeti olarak adlandırılır(19).

- 1-Geçici-tekrarlama olmadan
- 2- Geçici 7-20 yıl sonra tekrarlama
- 3- Başlangıçtan itibaren devamlı

2.1.5. Diyabetin Neden Olduğu Komplikasyonlar

- Mikrovasküler bozukluklar
- Makrovasküler bozukluklar
- Kardiyovasküler bozukluklar
- Karaciğer perfüzyon düşüklüğü
- Enfeksiyona yatkınlık
- Nöropati
- Göz komplikasyonları
- Solunum komplikasyonları
- Gastrointestinal komplikasyonlar
- Glomerüler bazal membranda deęişimler
- Hematolojik ve biyokimyasal komplikasyonlar
- Gut ve benzeri hastalıklar çabuk gelişir.

Oksidatif stres, hiperglisemi, ve enzimatik olmayan glikolizasyon; glukozun otooksidasyonu, prostaglandinlerin sentezi, hipoksi, hiperglisemik psödohipoksi, enfeksiyonlar, AGE-RAGE (ileri glikolizasyon son ürünleri ve reseptör) etkileşimi gibi olayları etkileyerek diyabette serbest radikal kaynaklarını oluştururlar (26).

Diyabet plateletleri, endoteli, matriks metaloproteinlerini, kalp atım hızındaki değişiklikleri etkiler ve bunlar; mikroalbüminüri, proteinüri, miyokardiyal fibrosis ve dislipidemi ile sonuçlanır. Bunların; kalp rahatsızlıkları, miyokard infarktüsü (MI)'nün yenilenmesi, PTCA'nın yeniden oluşumu, CABG komplikasyonları için yüksek risk faktörü oluşturur. Diyabet, hipertansiyon, dislipidemi, obezite; protrombik ve proinflamatuvar durumlarla birleşerek *Metabolik Sendrom*'a neden olurlar (27).

2.2. DENEYSSEL DİYABET NEDİR?

İlk deneysel diyabet modeli yaklaşık 100 yıl önce pankreası çıkarılan bir köpekte diyabet benzeri tablonun gözlenmesi ile elde edilmiştir. Günümüzde deneysel diyabet oluşturmak için daha yeni yöntemler bulunmuştur. Bu yöntemler insanlarda meydana gelen diyabeti tam olarak yansıtmamakla birlikte diyabet hastalığı ile ilgili bütün konularda aydınlatıcı olabilecek deneysel modellerdir. Bu modellerden özellikle genetik olarak spontan diyabetli hayvanlarda diyabet araştırmalarının tatmin edici bir şekilde yapıldığı bildirilmektedir (28). Günümüzde bilinen başlıca deneysel diyabet modelleri 3 temel mekanizma aracılığıyla oluşturulmaktadır. Bu mekanizmalar:

1. Kimyasal toksinler
2. Virüsler
3. Trasgenik hayvanlar

2.2.1. Deneysel Diabetes Mellitus Oluşturmak İçin Kullanılan Yöntemler

- a) **Alloksan aracılı diyabet:** Toksik özelliği oksidan bir madde olmasına bağlıdır. Vücutta çoğu hücrelerin, kendilerini koruyabilen antioksidan enzimleri varken pankreas β hücrelerini oksidan maddelere karşı koruyan antioksidan enzimler yoktur. Alloksan intrasellüler redükthanlar olan askorbat ve tiollerle reaksiyona girerek, onların antioksidan etkilerini engeller ve böylece oksidan üretimine sebep olur. Sonuçta β hücrelerini oksidan etkisi ile tahrip eder ve hayvanlarda diyabet oluşturur (29,30).
- b) **Çinko Şelatörleri:** Çinko şelatörleri de diyabet modeli oluşturmak için kullanılırlar, ama yaygın bir yöntem değildir. Deney hayvanlarında daha başka patolojik durumlara da yol açabilmektedirler. 8-hidroksikinolin gibi bazı çinko şelatörleri sıçan ve farelerde diyabet modeli oluşturmak için kullanılmışlardır (28).

- c) **Transgenik fare modeli:** Bu hayvanlarda otoimmün mekanizma ile diyabet oluşmaktadır. Pankreas β hücrelerine karşı antikor gelişmektedir (30,31).
- d) **DNA virüsü aracılığıyla oluşturulan deneysel diyabet modeli:** Kilham's sıçan virüsü deneysel diyabet oluşturmak için kullanılan DNA virüsüdür. Otoimmün mekanizma ile diyabete neden olmaktadır. Hem sıçan hem de farelerde kullanılmaktadır (33).
- e) **RNA virüsleri aracılığıyla oluşturulan deneysel diyabet modeli:** RNA virüslerinden Coxsackie B4, Mengovirüs ve Retrovirüs otoimmün mekanizma ile deneysel diyabete neden olur (33).
- f) **Streptozotosin (STZ) aracılığıyla oluşturulan deneysel diyabet modeli:** STZ, alloksan benzeri mekanizma ile deney hayvanlarında diyabete neden olur. Kimyasal bir toksin olan STZ, Streptomyces griseus adlı mantarın küfünden elde edilmektedir. Kimyasal yapısı $C_8H_{15}N_3O_7$ şeklindedir. STZ antioksidan enzim sisteminin bulunmadığı pankreas β hücrelerini oksidan etkisi ile tahrip ederek insülin salınımını azaltır (34). Glukozamin-nitrozüre içeren, STZ, Langerhans adacıkları β hücrelerinde insülin üretiminin yüksek seviyelerinde meydana gelen GLUT-2 glukoz taşıyıcı reseptörleri aracılığıyla hücre içine alınır. STZ'in sitotoksik etkisi, NAD seviyelerinin azaltılması ve intrasellüler serbest radikallerin oluşturulması aracılığıyla olur. (Bu konuda bir diğer düşünce DNA zincir kırılmalarıdır) (35). Pankreas β hücrelerinin NAD seviyeleri düşüktür ve STZ saldırısıyla kolayca hasarlanabilirler (23). GLUT-2 glukoz taşıyıcı reseptörlerinin kan beyin bariyerinde olmaması nedeniyle, sistemik uygulamayı takiben beyinde STZ'nin direkt etkileri oluşmaz. Ayrıca bunların dışında, STZ'nin uygun olmayan NO cevapları meydana getirerek diyabete sebep olduğu fikride ortaya atılan görüşler arasındadır. STZ-diyabetik ratlar hipoinsülinemiktirler ancak sağ kalım için insülin tedavisine ihtiyaç duymazlar. Kan glukoz seviyeleri 20-25 mmol/L (normali 5 mmol/L)'dir. DM'lu insanlarda olduğu gibi, STZ-diyabetik ratlarda da gözler, böbrekler, kan damarları ve sinir sisteminde hasarlar gelişir. STZ-diyabetik rat modelinin avantajı, her yaşta

verilebilmesi nedeni ile DM ile yaşlanmanın etkileşim çalışmalarına uygun oluşudur. Böylece STZ-diyabetik rat modeli, kronik hiperglisemi etkilerinin çalışmasında da kullanılışlıdır. Bu modelin endokrinolojik özellikleri ne sadece tip 1'i ne de tip 2'yi yansıtmaktadır ancak tip 1'e daha yakın bir diyabet benzeri tablo gelişir (23,28).

Tekrarlayan küçük dozlarda veya 30-100 mg/kg tek doz olarak kullanıldığında diyabet oluşturabilir. İntravenöz, subdermal, intramusküler ve intraperitoneal olarak uygulanabilir. Tekrarlayan küçük dozlarda verildiğinde diyabet yavaş olarak gelişir ve toksik mekanizmalardan daha çok otoimmün bir mekanizma ile meydana gelir. Tek doz enjeksiyondan sonra kandaki insülin seviyesi normalin %10-30 düzeyine kadar düşer ve 20-30 mmol/L (200-300 mg/dL) düzeylerinde bir hiperglisemiye yol açar. Bu kan şekeri düzeyinde hayvanda poliüri, polidipsi, kilo kaybı olur, fakat bu dozda ciddi ketozis gelişmez ve hayvan yaşamını insülin ihtiyacı olmaksızın haftalarca sürdürebilir (36). Daha yüksek dozlarda daha derin bir insülin yetersizliği oluşur ve eğer insülin verilmezse bu spontan ketoasidoz ve ölümlere yol açar (28).

STZ yöntemi sıçanlarda, farelerde ve köpeklerde çalışılmıştır. STZ ile oluşturulan deneysel diyabet modeli en sık kullanılan yöntemdir. İkinci sıklıkta alloksan kullanılır. Alloksan yaklaşık olarak 1/3 oranında ucuz olmasına rağmen, daha fazla hayvanın ölümüne neden olabilmektedir (28).

Tablo 2. Deneysel Tip 1 Diabetes Mellitus oluşturmak için kullanılan yöntemler (28)

Ajan veya metod	Hayvan Türleri	β-hücre haraplanma mekanizmaları
KİMYASAL TOKSİNLER - Alloksan - Streptozotosin a) Yüksek doz b) Tekrarlayan düşük doz - Çinko şelatörleri	Rat Rat, fare, köpek Fare Rat	Sitotoksik Sitotoksik Otoimmün Sitotoksik
VİRÜSLER A) RNA Virüsleri - Encephalomyocarditis - Coxsackie B4 - Mengovirüs - Retrovirüs B) DNA Virüsleri - Kilham's rat virüsü	Fare Fare (bazı türleri) Fare Fare Rat	Sitotoksik Sitotoksik Sitotoksik Otoimmün Otoimmün
TRANSGENİK HAYVANLAR β -hücre ekspresyonu - I-A antijeni - Interferon γ	Fare Fare	Otoimmün Otoimmün

2.2.2. Streptozotosin Kullanarak Ratlarda Deneysel Diyabet Oluşturulması

Deneysel diyabet modellerinde genelde ağırlıkları 200-350g. arasında değişen, yapılacak deneye göre belli yaş grubunda, istenilen verilere bağlı olarak belli cinsiyetlerde, Spraque Dawley veya Wistar tipi ratlarla çalışılmaktadır. Çalışmaya göre kullanılacak hayvan adedi değişmekte ve yaklaşık 20-60 adet rat kullanılmaktadır. Bazı çalışmalarda seçilen minimum rat adedi ile ortam şartları, kullanılacak kimyasallara verilen tepkiler, stres oluşturacak koşulların belirlenmesi amacıyla ön deneme yapılarak; çalışma koşulları belirlenmektedir.

Deneyin birinci günü kontrol grubu hariç diğer gruptaki ratları diyabetik hale getirmek için 35-65 mg/kg STZ (hayvanın ağırlığına göre verilecek doz hesaplanarak belirlenir); %0.9 luk sodyum klorür (NaCl) çözeltisi veya 0,01-0,02M pH 4.5 sitrat tamponu içinde çözülüp, taze olarak çözeltisi hazırlanarak tek doz intraperitoneal (i.p.) olarak uygulanır. Bazı çalışmalarda ise küçük miktarlarda tekrarlayan dozlar şeklinde uygulanır. Kontrol grubuna ise STZ'siz çözelti uygulanır. Yaklaşık 72 saat sonra kuyruk veninden alınan kan ile kan-glukoz tayini yapılır (glukometre yada glukoz oksidaz yöntemi kullanılarak). Kan glukoz düzeyi 15mmol/L veya 200-300mg/dl'den yüksek çıkınca ratlar diyabetik olarak değerlendirilir.

Ratlar stres ortamı oluşturmamak amacıyla 12 saat aydınlık/12 saat karanlıkta ve belli oda sıcaklığında tutulur. Çalışmanın amacına göre 2-12 hafta içinde çalışma sonlandırılır. Eter anestezi veya i.p. sodyum pentobarbital ile anestezi sonucu; kan, doku ve organlar alınarak çalışma devam ettirilir (37,38,39,40,41,42).

2.3. SERBEST RADİKALLER ve OKSİDATİF STRES

Serbest radikaller, son yörüngelerinde paylaşılmamış elektron içeren molekül ya da atomlardır (43). Elektronların bu dizilimi karasız olduğundan radikaller hızlı bir şekilde diğer moleküllerle veya radikallerle reaksiyona girerek kararlı bir konfigürasyon oluşturmaya çalışırlar. Bu reaksiyonlar sonucunda oluşan en etkili serbest radikaller ROT'lerdir (8,43,44,45). Serbest radikaller en sık olarak elektron transfer zincirinde oluşan elektronların transferi ile veya oksidazlar ile tek elektron transferi ile oluşur. Serbest radikallerin bir başka oluşma şeklide moleküldeki bağların homolitik olarak parçalanması sonucu elektronlardan her birinin farklı atomlar üzerinde kalması ile olur. Ayrıca iyonize radyasyonda serbest radikal oluşumuna sebep olabilir (46,47).

Organizmalardaki en aktif ROT üreticileri fagositoz hücrelerdir. Çeşitli metabolik yangınlara uyarıldıklarında, oksijeni indirgeyerek hidroksil radikali (OH[•]), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve süperoksit (O₂^{•-}) gibi ROT'ları oluştururlar. Diğer ROT kaynakları; yine oksijenin katıldığı mitokondriyal elektron taşıma zinciri, doymamış

yağ asitlerinin ve kateşolaminlerin oksidasyonu ile NADPH bağımlı oksidazlardır (8,44,45).

Oksidanların özellikle ROT'lerin aşırı birikmesiyle oluşan oksidatif stres (48); membran lipidlerindeki doymamış yağlardaki bağları koparıp membran viskozitesini ve geçirgenliğini artırır, ayrıca membran seçiciliğini de değiştirir (49). ROT'lerin oluşumunun başlangıcında yer alan O_2^- , proteinleri bölümlere ayırarak enzim aktivasyonlarında bozulmaya ve iyon transferinde aksaklıklara neden olurken, ayrıca Fe iyonu ile reaksiyona girip proteolizis oluşturur (50). DNA'da ise; sakkarit halkalarında kopmalar sonucu mutasyonlar, bazlardaki modifikasyonlara bağlı translasyon hataları, zincir kırılmaları ile proteosentezde inhibisyonlara neden olur böylece hücre ölümüne gider (50,51,52,53,54).

Serbest radikaller; vücutta ayrıca yangı, bağışıklık sistemine ait hastalıklar, yaşlanma, nörolojik hastalıklar, ateroskleroz, hipertansiyon, iskemik hasar, karsinogenezis, mutajenezis, infeksiyöz hastalıklar, karaciğer hastalıkları, akciğer hastalıkları, göz hastalıkları ve ürolojik hastalıklar gibi hastalıklara da neden olabilirler (55,56).

Lipid Peroksidasyonu; İlk önce yağ asidi hidrojen ve kendi üzerinde birer elektron kalacak şekilde parçalanır ve lipid radikalini oluşturur. Lipid radikalide oksijenle reaksiyona girerek lipid peroksil radikalini oluşturur. Lipid peroksil radikali de diğer doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girer. Ayrıca lipid peroksidler ortamdaki hidrojen atomları ile de reaksiyona girerek lipid hidroperoksidleri de oluştururlar. Lipid peroksidler daha sonra malondialdehid (MDA) ve 4-hidroksi nonenal gibi yıkım ürünlerine dönüşürler. Bu yıkım ürünleri de DNA ve proteinlerle reaksiyona girebilir ve mutajeniktirler. Üç veya daha fazla çift bağa sahip yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu MDA oluşmaktadır. MDA lipid peroksidasyonunun şiddetiyle orantılı olarak artar, ancak spesifik değildir. Aynı zamanda membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmasına neden olabilir (57,58,59). MDA, ROT'nin hücre zarıyla etkileşiminden kaynaklanan membran lipid peroksidasyonunun bir belirteci olup, membranda hasarlanmaya yol

açarak, hücredeki yaşam dengesinin bozulmasına yol açabilir. Hücre zarında hasarlanma, işlev bozukluğu ve hücreler arası neksus haberleşmesinin kaybı, kalsiyum ve diğer iyon taşıma sistemlerinin de kaybına yol açar (60). Pek çok çalışma diyabetik komplikasyonlar ve lipid peroksidasyonu arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur (61,62,63). Bu yüzden lipid peroksidasyonunun kontrolü çok önemlidir. Bu amaçla da hem endojen hem de eksojen antioksidanlar kullanılmaktadır (58,59,63,64)

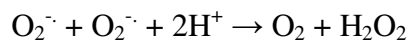
2.3.1. Antioksidanlar

Antioksidanlar, genel olarak serbest radikal oluşumunu engelleyen maddeler olarak tanımlanmışlardır (65). Antioksidan savunma sistemi hücre içi ve hücre dışı olarak ikiye ayrılır.

Hücre içi savunma sisteminin enzimatik antioksidanları; SOD, CAT ve GPx'tir. Enzimatik olmayan hücre içi antioksidanlar; GSH, membrana bağlanabilen α -tokoferol ve β karoten, askorbat, transferin, seruloplazmin ve bilirubindir (43,66,67,68).

Hücre dışı savunma sistemi ise; metallothionin gibi serbest radikal yok edicileri ve Zn gibi iz elementlerden oluşur (69).

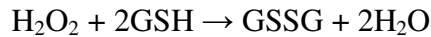
Antioksidan enzimlerden en önemlisi olan **Süperoksid dismutaz (SOD)**, hepatositlerin, eritrositlerin ve beyin hücrelerinin mitokodri matriksinde bulunur. Kararlı bir yapıya sahiptir. $O_2^{\cdot-}$ 'i H_2O_2 'ye dönüştüren reaksiyonu katalizler (69,70). Mc Cord ve Fridovich tarafından 1968'de keşfedilmiştir. Üç tür SOD vardır. Birincisi mitokondride lokalize Mn-SOD, ikincisi sitozolde lokalize Cu-Zn SOD ve üçüncüsü de Cu içeren ve plazmadaki süperoksid radikallerini metabolize eden vasküler endotele bağlı Cu-SOD'dır (46,47,71,72). Metalloprotein olan SOD bir süperoksid molekülünü H_2O_2 'ye indirger.



Bu dismutasyon reaksiyonu süperoksit radikalının anyon ve katyon formlarının eşit oranda bulunduğu pH 4,8'de kendiliğinden de cereyan eder. Ancak fizyolojik şartlarda yani pH'nın 7,35 -7,45 arasında iken bu reaksiyon çok daha yavaş olacaktır. SOD enzimi varlığında pH en az 7,4 olduğu koşullarda bu reaksiyon 4 kat daha hızlı olacaktır (46). Diyabette SOD düzeylerinin arttığı, değişmediği veya azaldığı şeklinde birbiriyle çelişen çalışmalar vardır (73,74,75,76).

Katalaz (CAT); Sumer ve Dounce tarafından 1937'de kristalize halde saflaştırıldı. Her biri bir prostetik grup olan ve yapısında Fe^{+3} bulunduran 4 hem grubundan oluşmuş bir hemoproteindir. Peroksizomlarla beraber oksijen veya suya parçalar. GPx'in H_2O_2 'e karşı K_m 'i CAT'a göre daha düşüktür. Yani düşük konsantrasyonlarda GPx, yüksek konsantrasyonlarda ise CAT aktivite kazanır. CAT aktivitesi eritrosit, karaciğer ve böbrekte yoğundur (46,47,71,77). CAT enzimi hepatositlerin mitokondrisinde ve eritrositlerin sitoplazmasında bulunurken, diğer hücrelerin peroksizomlarında yer alır (78). Tip 2 diyabetli hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada diyabetli hastaların artmış serum CAT aktivitesine sahip olduklarını vurgulanmaktadır (73). Ancak bu artışın organizmanın kendisini lipid peroksidasyonundan korumak için kompensatuvar bir mekanizma olabileceği vurgulanırken, başka çalışmalarda da azalmış olduğu vurgulanmaktadır (74, 76).

Glutasyon peroksidaz (GPx); her birinde selenosistein içeren 4 alt birimden oluşur. Redükte glutasyonu yükseltirken H_2O_2 'i de suya çevirir ve böylece membran lipidlerini ve hemoglobini oksidan strese karşı korur (79).



E vitamini yetersiz olursa membranı peroksidasyona karşı korur. Eritrositlerde en kuvvetli antioksidandır. GPx yetersizliği selenyum eksikliği sonucu olabilir. Çünkü selenyum bu enzimin bir integral parçasıdır (47,80,81). Yapılan çalışmalarda diyabetli hastalarda serum GPx aktivitesinin azalmış olduğu rapor edilmektedir (73,76).

Glutasyon redüktaz ;Yükseltgenmiş glutasyonu indirgenmiş hale çeviren 2 subünitten oluşmuş bir dimerdir. Her bir subünit; NADPH bağlayan alan, FAD bağlayan alan ve ara yüz alan olmak üzere 3 tane yapısal alan içerir. Okside glutasyon bir subünitin FAD alanı ve diğer subünitin ara yüz alanından oluşan bir bağlanma bölgesi vardır. Glutasyonun indirgenme reaksiyonu sırasında sıklıkla elektronlar NADPH'dan FAD'ye transfer edilir. Daha sonra subünitlerdeki iki sistein arasında bulunan disülfid köprüsüne transfer edilmek suretiyle okside glutasyona aktarılmış olur (46). Yapılan çalışmalarda diyabette GPx aktivitesinin azalmış olduğu belirtilmektedir (76).

Glutasyon S-Transferaz (GST); Toksik metabolitlerle glutasyonun konjugasyonunu katalizleyen GST enzimi de toksik metabolitlerin detoksifikasyonuna yol açan başka bir antioksidan enzimdir (82). Yapılan çalışmalarda diyabette antioksidan enzimlerin arttığı veya azaldığı şeklinde raporlar vardır. Ancak diyabette kesin olarak antioksidan sistemlerde bozukluk vardır (73,76).

2.3.2. Diyabet ve Oksidatif Stres

Diyabet ve diyabet komplikasyonlarının reaktif oksijen türleri ile olan ilişkisini gösteren çalışmalarda, nonenzimatik glikasyon, enerji metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan metabolik stres, sorbitol yol aktivitesi, hipoksi ve iskemi-reperfüzyon sonucu oluşan doku hasarının serbest radikal üretimini arttırdığı (83) ve antioksidan savunma sistemini değiştirdiği vurgulanmaktadır (84,85,86,87,88).

SOD, CAT, GPx gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonlarının ve antioksidan kapasitesinin pankreas adacık hücrelerinde, karaciğer, böbrek, iskelet kası ve adipoz doku gibi diğer dokularla kıyaslandığında en düşük düzeyde olduğu bilinmektedir (89,90). Oksidatif strese en duyarlı yapılardan biri olduğu da bilinen β hücrelerinde gözlenen hasarın, hipergliseminin toksik etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (91).

Hidrojen peroksidin, yüksek reaktiviteye sahip bir ROT ürünü olan OH⁻ radikaline dönüşmesi sonrası insülin reseptör sinyal sistemi üzerinde etkili olduğu ve insülin tarafından reseptör aracılığı ile düzenlenen sinyal transdüksiyon yollarında anahtar bir rol oynayabileceği görüşü araştırmacıların savları arasında bulunmaktadır (92). Glikasyon aracılı serbest radikal üretiminin insülinin gen transkripsiyonunu azalttığını ve beta hücre apoptozuna yol açtığını gösteren çalışmaların bulguları bu çalışmaları destekler niteliktedir (92,93).

Serbest radikal oluşumunun hipergliseminin direkt sonucu olduğunu destekleyen çalışmaların (94) yanı sıra endotel ve düz kas hücreleri yüksek konsantrasyonda glukoz içeren ortamda inkübe edildiğinde de serbest radikal oluşumunun başladığı gözlenmiştir (95,96). Hiperglisemi ile oksidatif stres arasında yakın ilişki olduğu görüşü in vivo çalışmalar ile de desteklenmiştir (97). Deneysel hayvan çalışmalarında insandakine benzer diyabet oluşturmak için kullanılan N-nitroso türevi D-glukozamin yapısındaki STZ (5), oksidan maddeler meydana getirerek langerhans adacıklarını selektif olarak tahrip etmekte ve uygun olmayan NO cevapları vererek diyabeti başlattığı düşünülmektedir (6,7).

Diyabetik olguların plazma lipoproteinlerinde, eritrosit membran lipidlerinde ve çeşitli dokularında lipid peroksidasyonunun arttığı, yapılan çalışmalar sonucu görülmüştür. Bu artışın daha fazla enzimatik (araşidonik asit yolu) ya da nonenzimatik lipid peroksidasyonundan mı kaynaklandığı bilinmemektedir. Lipid peroksidasyonu, hem yaygın vasküler inflamasyon sonucu aktifleşen lipooksijenaz yolu ile prostaglandinlerden hem de serbest radikaller ve geçiş metallerinin etkisi ile endotelial ve fagositik hücrelerin membranlarında bulunan lipidlerden, nonenzimatik yolla oluşmaktadır. Daha sonra her iki yola ait ürünlerin, karşılıklı olarak birbirlerini aktive ederek, lipid peroksidasyonunu arttırdıkları bildirilmiştir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, plazma lipid peroksidlerindeki artışın, diyabetten çok vasküler hastalığın kendisi ve hipertrigliseridemi ile ilişkili olduğunu göstermektedir (98,99,100).

2.4. NSAİ İLAÇLAR

2.4.1. NSAİ İlaçların Tarihçesi

Nonsteroid Antiinflamatuvar İlaçlar (NSAİ) 'ın keşfedilmesi M.Ö. 3500'e kadar uzanır. Mısır papirüslerinde, karın ve eklem ağrıları için mersin ağacı kabuklarının kullanıldığı görülmektedir (101). M.S. 30'larda ise inflamasyonun ölçütleri tanımlanmış ve söğüt ağacı yaprakları bunları yok etmede kullanılmıştır (102). NSAİ terimi ise ilk defa 1949'da fenilbutazon için kullanılmıştır (101). NSAİ'ların çeşitli hastalıklarda kullanılması çalışmaları hızlandırmış ancak 1971'e kadar bu ilaçların etki mekanizması ile ilgili kesin bir açıklama yapılmamıştır. 1971'de Sir John Vane araşidonik asit mekanizmasını ve bu mekanizmada antiinflamatuvarların yerini göstermiştir (103). 1976 yılında ise prostaglandin endoperoksit sentetaz (PGHS) veya siklooksijenaz (COX) adı ile adlandırılan enzim bulunmuştur (103,104). COX-1 cDNA'sı 1988'de başlangıç olarak koyun, fare ve insan kaynaklarından izole edilmiştir (105). Antiinflamatuvarların tümü aynı etkiye sahip değildir. 1990'da Needleman COX enzimlerinin birden fazla olduğunu bildirerek COX'un izoenzimlerinden bahsedilmiştir, 1991'de ise Xie ve arkadaşları tarafından COX-2 tanımlanıp klonlandı (102,104,106,107). Son yıllarda ise COX-3 izoenziminden bahsedilmektedir. COX enziminin birden fazla izoenziminin olması etki farklılığı ve yan etki sıklığının değişikliğini açıklamaya yardımcı olmaktadır (108).

2.4.2. NSAİ İlaçların Etki Mekanizmaları

NSAİ ilaçların çoğu etkilerini prostaglandin sentezini azaltarak gösterirler (103,106,109,110). Prostaglandinler, yapılarında bir halka taşıyan 20 karbonlu doymamış yağ asiti türevleridir. Bu bileşikler bazen eikozanoitler olarak da adlandırılırlar; "eikoza" 20 karbon atomlu anlamına gelmektedir (111). Prostaglandinler ve ilgili bileşikler hemen hemen her doku tarafından az miktarlarda sentezlenir. Genellikle sentezlendikleri dokuda lokal olarak etkilidirler ve etki bölgelerinde hızla etkin olmayan metabolitlere çevrilirler. Bu nedenle kan dolaşımında yüksek konsantrasyonlarda bulunmazlar. TXA₂ (tromboksan A₂),

lökotrienler ve hidroperoksieikozatetraenoik asit ve hidroksieikozatetraenoik asit (HPETE-HETE) prostaglandinlere benzeyen lipitlerdir ve benzer öncü maddelerden, ortak yollardan geçerek sentezlenirler (111).

Prostaglandinler çoğu etkilerini hücre yüzeyindeki reseptörlerine bağlanarak sağlarlar. Endojen olarak dokuda üretilen prostaglandinler ve metabolitleri belirli bir hücre tipinin verdiği yanıtların ince ayarını yapan lokal sinyaller olarak davranırlar. Fonksiyonları dokudan dokuya çok büyük farklılıklar gösterebilir. Örneğin; TXA_2 'nin trombositlerden salgılanması yeni trombositlerin toplanmasını sağlamaktadır. Ancak diğer dokularda TXA_2 'nin yüksek konsantrasyonları daha farklı bir sinyal taşır; örneğin belirli bazı düz kas hücrelerinde TXA_2 kasılmaya neden olur. Prostaglandinler alerjik ve inflamatuvar reaksiyonlarda salgılanan kimyasal mediyatörlerin bir grubunu oluşturmaktadır (111,112). Prostaglandinler 20 karbonlu bir yağ asiti olan araşidonik asitten sentezlenirler (111). Araşidonik asit hücre zarlarında fosfolipitlerin yapısında bulunmaktadır (108,113,114). Serbest araşidonik asit doku fosfolipitlerinden fosfolipaz A_2 ve diğer açıl hidrolazların etkisiyle açığa çıkar. Bu olay hormonların ve diğer uyarıların kontrolü altındadır (111). Eikozanoitlerin araşidonik asitten sentezlenmesinde rol oynayan iki önemli yol vardır (104,111).

2.4.2.1. Lipoksijenaz yolu

Çeşitli lipoksijenazlar araşidonik asitten 5-HPETE, 12-HPETE ve 15-HPETE sentezlenmesini sağlarlar. Bunlar araşidonik asitin dayanıklı bir yapıya sahip olmayan peroksitlenmiş türevleridirler ve sentezlendikleri dokuya bağlı olarak hidroksillenmiş türevleri olan HETE'lere, lökotrienlere veya lipoksinlere dönüştürülürler (106,111).

2.4.2.2. Siklooksijenaz yolu

Prostaglandin endoperoksid sentaz (genel adıyla COX), araşidonik asitin prostaglandinlere dönüşümü için gerekli anahtar enzimdir (14). Prostaglandinler, tromboksanlar ve prostasiklinler gibi halka yapısı taşıyan tüm eikozanoitler

siklooksijenaz yoluyla sentezlenirler. COX enziminin iki farklı gen tarafından ve farklı fizyopatolojik olaylarca uyarılan iki alt grubu bulunmaktadır (106,109,111,115).

25 kb büyüklüğündeki COX-1 geni insan kromozomunda 9q32-q33.3 bölgesinde yerleşmiş (105), 11 ekson içerir (116) ve 2.8 kb'lık bir mRNA (117) ve ~68 kDa'luk bir protein üretir. Araştırmacıların bir kısmı sitokinler ve diğer inflamatuvar mediyatörlerine cevap olarak üretilen prostaglandinlerin COX aktivitesi içindeki muhtemel artışını diğer bir COX ekspresyonundaki artışa rağmen olumlu değerlendirmişlerdir (118). Bir anti-COX antikoru ile COX'un immün çöktürmesi, antikor ürününün yanı sıra sadece COX-2 isoformunu çöktürür, buda iki farklı COX isoformunun olduğunun işaretidir. COX-1 ve COX-2 proteinlerinin farklı genlerden elde edildiği bununda kuşlar ve memelilerde de farklı olduğu saptanmıştır (119). 10 eksondan oluşan 8 kb büyüklüğündeki COX-2, insan kromozomunda 1q25.2-q25.3 bölgesine yerleşmiştir (105). mRNA'sı 4.1-4.5 kb (120) büyüklüğünde olup ~68 kDa'luk bir proteini vardır. COX enzimleri gerçekte aynı katalitik reaksiyonu uygular ve benzer tersiyer yapılara sahiptirler (121), çoğu idare fonksiyonları COX-1 tarafından düzenlenirken proinflamatuvar rolüne COX-2'nin aracılık ettiği görülür. Her bir isoformun belli fonksiyonu kendi doku ekspresyon numuneleriyle birbirini tutar. Neredeyse bütün normal dokular belirlenemeyen düşük seviyedeki COX-2 ile birlikte COX-1'i eksprese ederken COX-2 esasen beyin, pankreatik ada hücreleri, yumurtalık, uterus ve böbrekte eksprese edilir (122). COX-1 ve COX-2 arasındaki diğer farklar araşidonik asit substrat havuzunun kullanımı yanında mRNA stabilitesindeki farkları içerir.(123,124,125).

COX-1 enzimi genelde homeostazisi düzenleyici özelliindedir (15,16) ve aktivitesi genelde sabittir (107). COX-1 enzimi araşidonik asitin TxA₂'ye dönüşmesini sağlar. Trombositlerdeki TxA₂ yapımındaki azalma sonucu trombosit toplanması ve vazokonstriktif etki, dolayısı ile tromboza olan eğilim azalır (106,109,126,127). Mide mukozasında yaygın olarak bulunur (15). Hücre koruyucu prostaglandinlerin oluşumundan sorumludur. Baskılanması sonucu mide mukozasında koruyucu etki sağlayan prostaglandinlerin sentezi azalır ve ülser

oluşumu kolaylaştır (106,109,126,127,128). Vasküler entotelde özellikle aterosklerotik bölgelerdeki prostasiklin (PGI₂) üretiminde rol oynadığı deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (110,112,113,127). Böbrek ve vasküler yapıda toplayıcı kanallarda ve Henle kulpunda yaygın olarak bulunmaktadır. Bu bölgelerde prostaglandin E sentezini uyararak böbrek kan akımını arttırarak su ve tuz tutulumunu azaltır (106,126,127,128).

COX-2 geni inflamasyon başta olmak üzere birçok durumda uyarılabilir (17). Sitokinler ve büyüme faktörleri bu enzimin işlevini arttırlar (107,108,126,128,129). İnflamatuvar süreçlerde COX-2 aktivitesinde belirgin artış olmaktadır (130).

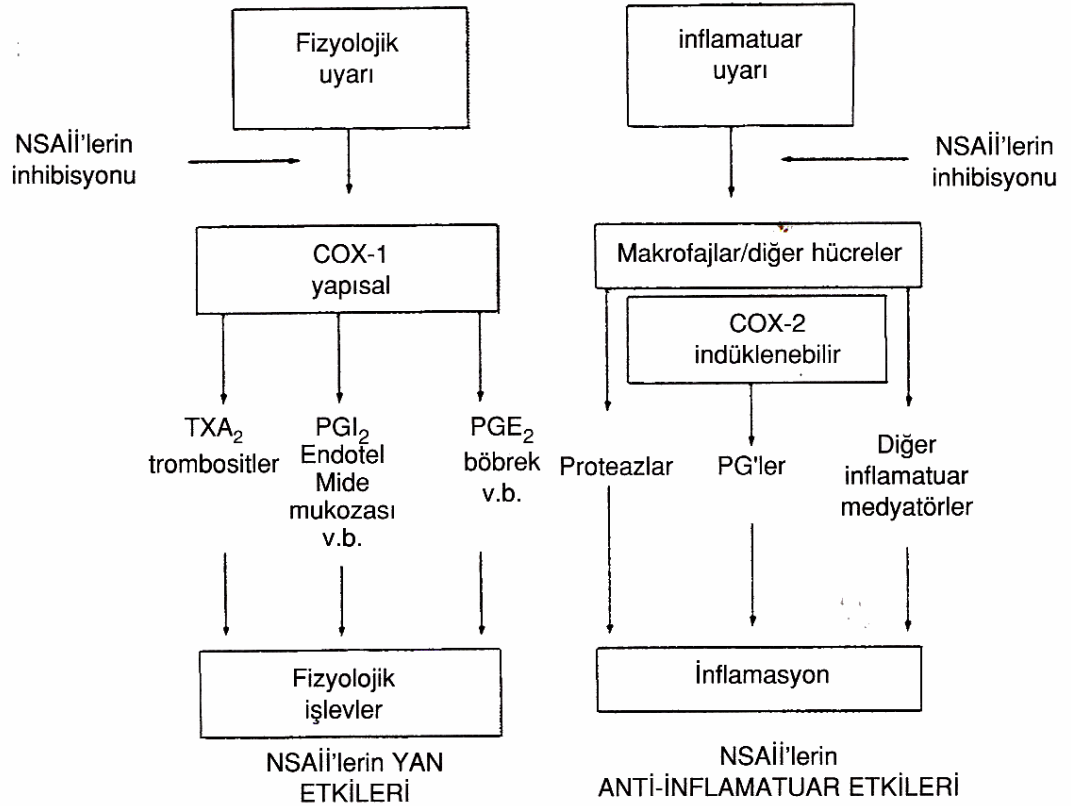
2.4.3. NSAİ İlaçların Genel Özellikleri

NSAİİ' lerin çoğu organik asit yapısındadır. pH azaldıkça ilaçların lipitte çözünen non-iyonize miktarları artıp, ilacın hücre zarının lipit yapısıyla birleşimi fazlalaşacağından, NSAİİ' ler seçici olarak mide, böbrek medullası ile iskemik ve inflamasyonlu bölgeler gibi asiditesi fazla olan dokularda daha fazla birikirler (126).

NSAİİ' ler aspirin de dâhil olmak üzere tedavide inflamasyon (antiinflamatuvar) ve ağrıyı azaltırlar (analjezi), ateşi düşürmek (antipiretik) üzere 3 temel tedavide kullanılır (131,132). NSAİİ' lerin güçleri bu üç etki açısından birbirlerinden farklıdır.

2.4.4. NSAİ İlaçların Yan Etkileri

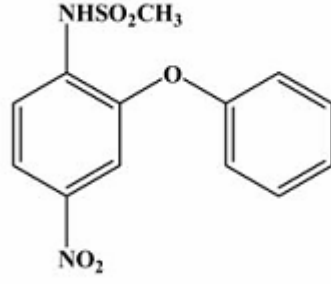
Klasik NSAİİ' ler (ibuprofen, naproksen, diklofenak, indometazin, piroksikam, tenoksikam vb.) plazma eliminasyon yarılanma sürelerine, doz ve kullanım sürelerine bağlı olarak değişik düzeylerde etkinlik ve yan etkiye sahiptirler (133). İlaç yan etkilerinin % 25'den fazlasından NSAİİ' ler sorumludur (134). GİS, böbreğe ait yan etkiler, platelet agregasyon baskılanması ve bronkospazm PG sentez azalmasına bağlı iken, dermatit, santral sinir sistemi etkileri, hepatotoksisite ve akut intersitisyel nefrit idiyosenkratik reaksiyonlar olarak kabul edilir (126).



Şekil 1. NSAİ İlaçların etkileri ve yan etkileri (135)

2.4.5. Nimesulid

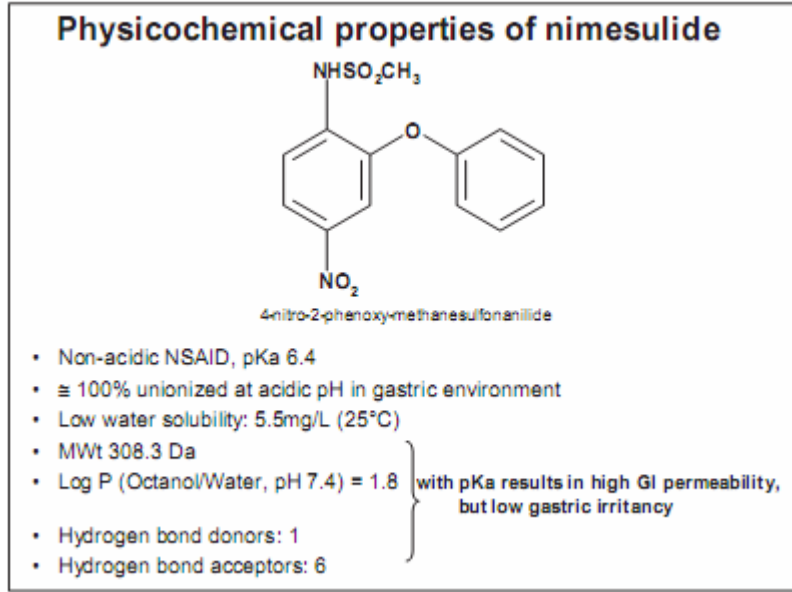
Nimesulid (4-nitro-2-fenoksi-metansulfonanilid) zayıf asidik yapıda ($pK_a=6.50$) p-nitrofenilmetan-sulfonamid'den türeyen COX-2 selektif bir NSAİ ilaç olup karboksilik grup içermez. (136,137). Oral, rektal ve topikal olarak uygulandığı zaman, güçlü antiinflamatuvar ve analjezik aktivitesi ile COX-2 selektif inhibitörlere uygunluk gösterir. Analjezik ve antipiretik özellikleri de çeşitli inflamasyon proseslerinin tedavisinde sıklıkla kullanılır. Literatür bilgileri Nimesulid için 5.9 ile 6.56 arasında çeşitli pK_a değerlerine işaret etmektedir. Bu bileşik organik polar çözücüde rahatça çözünebilirken, sudaki çözünebilirliği suda çözünme pH'ına bağlı olarak 0.01 mg mL^{-1} olarak bildirilmiştir (137).



Şekil 2. Nimesulidin kimyasal yapısı (137)

İlacın emilimi tama yakın olup %99 oranında plazma proteinlerine bağlanır. Karaciğerde metabolize olan Nimesulid'in başlıca metaboliti 4-hidroksi-nimesulid'dir. Metabolitleri %80 idrar, %20 dışkı ile atılır. Proteinlere bağlanma oranı ~%97,5'tir. Plazma yarı ömrü 3.15 saattir (139). Nimesulid çok iyi tolere edilip, sıklıkla kullanılan diğer NSAİ ilaçlara göre daha az yan etkiye sebep olur.(137).

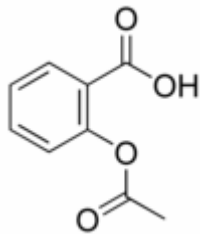
Nimesulid akciğer dokusunda TxB_2 immün oluşumunu anlamlı olarak antagonize eder. Nimesulidin ne gastrointestinal lezyonları indüklediği ne de renal fonksiyonları etkilediği hayvan modellerinde görülmüştür. Nimesulid'in normal olarak NSAİ ilaçlar tarafından etkilenen mide, böbrekler ve akciğerler gibi organlardaki araşidonik asit metabolizması üzerine az bir etkisiyle birlikte güçlü bir antiinflamatuvar ilaç olduğu farmakolojik bilgilerle desteklenmektedir. Nimesulid'in inflamasyonlu ve normal dokuda prostaglandin oluşumunu inhibe etmesine rağmen, inflamasyon alanlarında daha güçlü etkili olduğu görülmüştür (136).



Şekil 3. Nimesulidin fizikokimyasal özellikleri (138)

2.4.6 Aspirin

Aspirin zayıf bir organik asittir ($pK_a=3,5$) ve siklooksijenazı geriye dönüşümsüz olarak işlevsiz hale getirdiği için diğer NSAİİ'lerden farklıdır (111). Aspirinin ortaya çıkması, kimyager FelixHoffmann'ın 1897'de saf asetilsalisilik asit (ASA) üretmesiyle mümkün olmuştur. ASA, ağrı kesici ve ateş düşürücü olarak kullanılan Aspirinin etken maddesidir. Kaynağı ise dünyanın her yerinde yetişen söğüt ağacıdır(139).



Şekil 4. Aspirinin kimyasal yapısı (2-(asetiloksi)benzoik asit) (139)

Çeşitli uyarılar (kollajen, ADP, trombin, trombosit aktive edici faktör) trombositlerde sentezlenen ve depolanan TxA_2 'nin salınımına yol açarak trombosit

agregasyonuna ve vazokonstriksiyona neden olurlar. Aspirin, antitrombotik etkisini, TxA_2 oluşumunu önleyerek gösterir. Araşidonik asitten prostaglandin G_2 'ye dönüşümü sağlayan siklooksijenaz-1 (COX-1) enzimini inhibe eder ve bu yolun son ürünlerinden biri olan TxA_2 oluşumu bloke olur (140).

Siklooksijenaz enziminin, COX-1 ve COX-2 olarak bilinen iki izoformu vardır. COX-1 tüm hücrelerde yapısal eleman olarak bulunurken, COX-2 inflamatuvar yanıtla bağlı olarak ortaya çıkar. ASA, yapısal izoform olan COX-1'e, COX-2'ye oranla 150-200 kat daha fazla bağlanır. Bu durum antitrombotik etki (COX-1 enzimiyle) ve anti-inflamatuvar etki (COX-2 enzimiyle) elde etmek için aspirinin neden farklı dozlarda kullanıldığını açıklar (141).

COX-1 ve COX-2 molekülünde, substrat araşidonik asidin içine girerek bağlandığı kanal çeperindeki bir amino asid rezidüsünü asetilleyerek bu enzimleri geri-dönüşsüz (irreversibl) inhibe eder; diğer NSAİİ'lar ise geri-dönüşlü inhibisyon yapar (146).

ASA, prostaglandin üretimini engellemenin yanı sıra vitamin-K antagonizması, trombin üretimini azaltması ve pıhtılaşma faktörlerini asetillemesiyle kardiyovaküler hastalıkları önlemektedir (142). Ayrıca, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterolün oksidasyonunu önleyerek antioksidan etki gösterir, aterosklerotik plakta inflamasyonu azaltır ve endotel bütünlüğüne katkıda bulunur (143). Diyabette günde 100 mg ve 6-12 ay süreyle düzenli aspirin kullanan diyabetli hastalarda %21 oranında direnç saptanmıştır (144). Diyabette, trombosit agonistlerine duyarlılık artışı, aspirine duyarsız tromboksan sentezi, ADP aracılı trombosit sentezinde artış nedeniyle aspirin direnci geliştiği bildirilmektedir (144,145).

Mide suyunun asit ortamında daha ziyade noniyonize durumda olduğundan mideden absorbe olabilir. Bundan dolayı ilaç alındıktan 20 dakika gibi kısa bir süre sonra kandaki düzeyi, minimum etkin düzeyin üstüne çıkar ve analjezik etki başlar. Absorbsiyon ince barsakta devam eder. Aspirin karaciğer ve kanda, salisilata hidroliz edilir. Ağız yolundan 0.6 g. dozunda alınan aspirinin kanda maksimum 4 mg/dl'lik

bir konsantrasyon sağlayabildiği saptanmıştır. Aspirinin letal dozunu teşkil eden 20 g'lık bir doz ağızdan alındığında ise plazma düzeyi 50 mg/dl olur. Bu ilaç ekstrasellüler sıvı kompartmanında oldukça homojen bir şekilde dağılır; kas eklemler veya kalpte normal durumda birikme göstermez. Aspirinden vücutta oluşan veya sodyum salisilat şeklinde dışardan verilen salisilatın eliminasyonu doz-bağımlı kinetik gösterir. Ağızdan 300 mg. dozunda verildiğinde eliminasyon yarılanma ömrü 3 saat kadar olduğu halde 10 g. dozunda alındığında bu süre 19 saate çıkar. Aspirin ağız yolundan genellikle tablet şeklinde verilir. Ağrı kesmek için genellikle 0.5-0.9 g. dozunda kullanılır. Analjezik olarak kullanılıştta günlük maksimal dozu 4g. sınırını geçmemelidir (131).

3. MATERYAL ve METOD

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan laboratuvarı, Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı ve Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.1. MATERYAL

3.1.1. Deney Hayvanları:

Bu çalışmada ağırlıkları 250-350 gram arasında değişen Sprague Dawley cinsi toplam 40 adet erkek sıçan kullanıldı. Deneyde kullanılan sıçanlar, Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Laboratuvarından temin edildi. Sıçanlar standart ışık (12 saat gün ışığı / 12 saat karanlık), ısı (25° C)'da yeteri kadar (ad libitum) su ve yem (Yem Kurumu Standart Sıçan Yemi) ile toplam 4-6 hafta süreyle beslendiler.

3.1.2. Kullanılan İlaçlar:

Streptozotosin (STZ)

Aspirin (Asp)

Nimesulid (Nim)

3.1.3. Biyokimyasal Çalışma İçin Kullanılan Malzemeler:

Ekipmanlar

- | | |
|------------------------|--|
| 1- Soğutmalı santrifüj | : Eppendorf MR5415 (Almanya) |
| 2- Santrifüj | : Jouan B4İ (Fransa) |
| 3- Derin dondurucu | : Uğur (Türkiye) |
| 4- Hassas terazi | : Scaltec SPB 33 (İsviçre) |
| 5- Vorteks | : Nüve NM 100 (Türkiye) |
| 6- Otomatik pipetler | : Eppendorf (Almanya), Gilson (Fransa) |
| 7- Spektrofotometre | : Shimadzu UV 1601 (Japonya) |
| 8- pH metre | : Hanna Instruments (Portekiz) |

- 9- Manyetik karıştırıcı : Nüve (Türkiye)
10- Biyokimya analizörü : Roche/Hitachi Modular P800 (Almanya)
11- UV Transilluminator 2000 : Biorad

Kimyasal Maddeler

SOD Tayini İçin Kullanılanlar:

- Potasyum dihidrojen fosfat, Merck (Almanya)
- Disodyum hidrojen fosfat dihidrat, Merck (Almanya)
- CAPS, Sigma (Almanya)
- Iodonitrotetrazolyum violet, Sigma (Almanya)
- Ksantin, Merck (Almanya)
- Ksantin oksidaz, Sigma (Almanya)
- Titripleks III, Merck (Almanya)

GSH-Px Tayini İçin Kullanılanlar:

- Potasyum dihidrojen fosfat, Merck (Almanya)
- Disodyum hidrojen fosfat dihidrat, Merck (Almanya)
- Glutasyon redüktaz, Fluka (İsviçre)
- β -NADPH, Sigma (Almanya)
- Glutasyon-redükte, Sigma (Almanya)
- Kümen hidroperoksit, Sigma (Almanya)
- Titripleks III, Merck (Almanya)

Katalaz Tayini İçin Kullanılanlar:

- Potasyum dihidrojen fosfat, Merck (Almanya)
- Disodyum hidrojen fosfat dihidrat, Merck (Almanya)
- Hidrojen peroksit, Merck (Almanya)

Lipit Peroksidasyonu İçin Kullanılanlar:

- Trikloroasetik asit (TCA), Merck (Almanya)
- Tiyobarbitürik asit (TBA), Merck (Almanya)

3.1.4. Kullanılan Çözeltiler:

SOD Tayini İçin Kullanılanlar:

- CAPS tamponu (pH: 10.2), 40 mM: 8.85 gr CAPS tartılıp 400 ml distile suda çözülüp pH'ı 10.2'ye ayarlandıktan sonra hacmi 1000 ml'ye tamamlandı. 0.94 mM EDTA (0.36 gr) tartılıp CAPS tamponuna katıldı.

- Ksantin çözeltisi (0.05 mM): 7.6 mg ksantin tartıldı ve hacmi 40 mM CAPS tamponu (0.94 mM EDTA içeren; pH: 10.2) ile 1000 ml'ye tamamlandı. Çözelti, 0.025 mM 2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolyum klorür (INT) içermektedir ve +2 / +8 °C'da muhafaza edildiğinde 10 gün süreyle kararlıdır.

- Ksantin oksidaz çözeltisi (80 U/L): 56 µl ksantin oksidaz standardından alınır, 10 ml distile su ile seyreltilir. Çözelti, günlük hazırlanır.

GSH-Px Tayini İçin Kullanılanlar:

- Kümen hidroperoksit çözeltisi (0.18 mM): Kümen hidroperoksitten 1.62 µl alınır, 50 ml distile su ile seyreltilir. Çözelti, günlük hazırlanır.

- Glutasyon çözeltisi (4 mM): 0.0614 gr glutasyon tartılır ve hacmi 50 mM fosfat tamponu (pH: 7.2 olan ve 4.3 mM EDTA içeren) ile 50 ml'ye tamamlanır.

- Glutasyon redüktaz ($\geq 0,5$ U/L): 10 µl glutasyon redüktaz alınır, 10 ml distile su ile seyreltilir. Bundan 50 µl çekilip, 50 mM fosfat tamponu (4.3 mM EDTA içeren ve pH: 7.2 olan) ile 50 ml'ye seyreltilir. Çözelti, günlük hazırlanır.

- β -NADPH çözeltisi (0.34 mM): 0.0116 gr β -NADPH tartılıp hacmi 50 mM fosfat tamponu (pH: 7.2 olan ve 4.3 mM EDTA içeren) ile 50 ml'ye tamamlanır.

Lipit Peroksidasyonu Tayini İçin Kullanılanlar:

- TCA çözeltisi (% 10): 10 gr TCA tartılıp, bir miktar distile suda eritilir ve son hacim 100 ml'ye tamamlanır.

- TBA çözeltisi (% 0.67): 0.67 gr TBA tartılıp, bir miktar distile suda eritilir ve son hacim 100 ml'ye tamamlanır.

Katalaz Tayini İçin Kullanılanlar:

- 50 mM fosfat tamponu: 2.7218 gr KH_2PO_4 ve 5.3397 gr $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartılarak 500 ml distile suya tamamlanır.
- 30 mM hidrojen peroksit için: 0.34 ml % 30'luk hidrojen peroksit, 100 ml fosfat tamponu ile dilüe edildi.

3.2. METOD

3.2.1. Deney Planı

Çalışmamızda her bir grup 10'ar adet rat olmak üzere 4 gruptan oluşup, gruplar; Kontrol, Diyabet (DM), DM+ Asp ve DM + Nim şeklinde oluşturuldu.

Tablo 3: Deney planı

Deney Grupları	Hayvan Sayısı	Uygulanan İlaç	Doz	Süre
I (Kontrol)	10	Kontrol	-	6 hafta
II (DM)	10	STZ	50 mg/kg STZ	6 hafta
III (DM+Asp)	10	STZ + Asp	50 mg/kg STZ 10 mg/kg Asp	6 hafta
IV (DM+Nim)	10	STZ + Nim	50 mg/kg STZ 18 mg/kg Nim	4 hafta

Grup I: (Kontrol grubu): Bu gruba hiçbir madde verilmedi. Deney sonuna kadar bu gruptan 2 rat öldü.

Grup II: (Diyabet grubu): Deneysel diyabet modeli 0.01 M sitrat tamponu (pH 4.5) içinde taze olarak hazırlanmış STZ çözeltisinden 50mg/kg olacak şekilde

tek doz i.p. olarak insülin enjektörü kullanarak uygulanmıştır. 24 saat sonra kuyruk veninden alınan kanla glukoz tayini yapıldı. Kan glukoz değeri 300mg/ml ve üzeri olanlar diyabetik kabul edildi. Deney sonuna kadar bu gruptan 6 rat öldü.

Grup III: (Diyabet + Aspirin grubu): Diyabet protokolü grup II'ye yapıldığı gibi uygulandı. Bu gruptaki ratlara hergün 10 mg/kg Aspirin günde tek doz olarak gavajla 6 hafta süreyle uygulandı. Deney sonuna kadar bu gruptan 3 rat öldü.

Grup IV: (Diyabet + Nimesulid grubu): Diyabet protokolü grup II'ye yapıldığı gibi uygulandı. Bu gruptaki ratlara hergün 18 mg/kg Nimesulid günde tek doz olarak gavajla 4 hafta süreyle uygulandı. Deney sonuna kadar bu gruptan 6 rat öldü.

Ratlar enjeksiyon uygulanmasını takiben 4. 6. haftada farklı gruplar halinde intramusküler (im.) olarak uygulanan % 10'luk ketamin (Alfamin, Alfasan IBV.)-% 2'lik ksilazin (Alfazin, Alfasan IBV.) anestezisi altında dekapite edilerek deney sonlandırıldı.

Tablo 4. Değişik günlerde dekapite edilen sıçan adetleri.

	4. Hafta	6. Hafta
Kontrol	-	8 Adet
DM	-	4 Adet
DM + Asp	-	7 Adet
DM + Nim	4 Adet	-

Sıçanlar uygun günlerde dekapite edilerek öldürüldükten sonra biyokimyasal parametrelerinin incelenmesi için kanları, histopatolojik incelemeler içinde böbrek ve damar dokusu alındı. Alınan dokular %10'luk nötral formalin solüsyonuna alınırken, kanlarda serum ve plazma elde etmek üzere santrifüjlendi. Elde edilen serum ve plazma numuneleri analizin yapılacağı tarihe kadar -20°C'de saklandı.

3.2.2. Biyokimyasal Çalışmalar

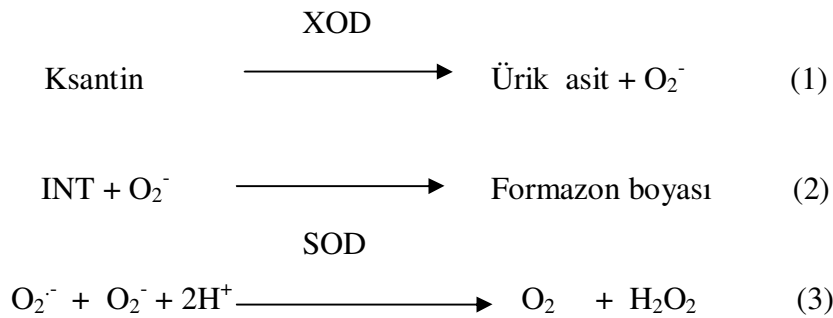
3.2.2.1. Kanların biyokimyasal ölçümlere hazırlanması

İntramüsküler olarak uygulanan % 10'luk ketamin (Alfamin, Alfasan IBV.)- % 2'lik ksilazin (Alfazin, Alfasan IBV.) anestezisi altında dekapite edilerek, abdominal aortadan alına kan örnekleri heparinlenmiş tüplere aktarıldı. Bu örnekler 2000devir/dk. da 10dk. santrifüj edilerek plazmaları elde edildi ve elde edilen numuneler analizin yapılacağı tarihe kadar -20°C'de saklandı.

3.2.2.2. SOD Aktivitesinin Ölçümü:

Deneyin prensibi Sun ve arkadaşlarının metoduna dayanmaktadır (146).

Deneyin Prensibi: SOD çeşitli yollarla ortaya çıkan süperoksit (O_2^-) radikalinin H_2O_2 'ye dismutasyonu reaksiyonunu katalizler. Ksantin-ksantin oksidaz (XOD) sistemi tarafından üretilen O_2^- radikallerinin (reaksiyon 1), 2-(4-iyodofenil)-3-4-(4-nitrofenol)-5-fenil tetrazolyum klorit (INT) ile meydana getirdiği kırmızı renkli formazon boyasının (reaksiyon 2), 505 nm dalga boyunda verdiği optik dansitenin spektrofotometrik olarak okunması esasına dayanmaktadır. Bu reaksiyona dayanan optik dansitedeki azalmadan yararlanarak, reaksiyonun % inhibisyonu belirlendi.



Deneyin Yapılışı: 25 µl numuneden alındı ve % inhibisyonun % 30-60 arasında olması için örnekler dilüe edilmedi. 0.025 ml numuneye, 0.850 ml 0.05 mM ksantin çözeltisi (0.025 mM INT içeren) ve 40 mM'lık CAPS (0.94 mM'lık EDTA içeren) ilave edildi. 0.125 ml ksantin oksidaz (80 U/L) ilave edildikten hemen

sonra 505 nm'de 37 °C'de 30 saniyelik gecikme fazının ardından, havaya karşı başlangıç absorbansı (A_1) ve 3 dakika sonra da son absorbans (A_2) okundu. Aynı işlemler köre karşı denemeyle de tekrarlandı.

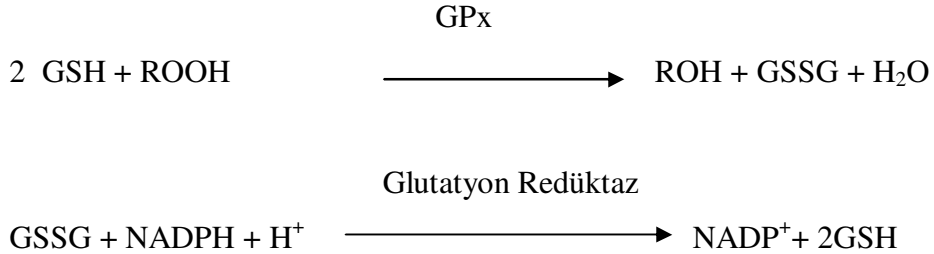
$$\% \text{ inhibisyon} = 100 - \frac{\Delta A(\text{numune})/\text{dk}}{\Delta A(\text{kör})/\text{dk}} \times 100$$

Standart (5.2 U/mL) çalışılarak hazırlanan % inhibisyon-konsantrasyon grafiğinden yararlanılarak konsantrasyonlar saptandı. Enzim aktivitesi U/ml olarak bulundu.

3.2.2.3. GSH-Px Aktivitesinin Ölçümü:

Deneyin prensibi Paglia ve Valentine'nin metoduna dayanmaktadır (147).

Deneyin Prensibi: Glutasyon peroksidaz, kümen hidroperoksid ile glutasyonun oksidasyonunu katalizler. Okside glutasyon, NADPH varlığında glutasyon redüktaz tarafından indirgenir. Bu arada NADPH, NADP^{+} ye oksitlenir.



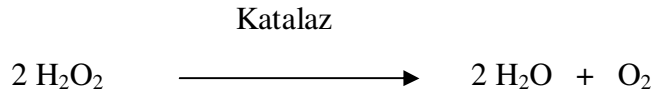
NADPH'nin azalmasına bağlı olarak 340 nm'de meydana gelen absorbans değişimi ölçülerek enzim aktivitesi hesaplandı.

Deneyin yapılışı: Bir deney tüpünde 1 ml; glutasyon (4 mM), glutasyon redüktaz (≥ 0.5 U/L) ve β -NADPH (0.34 mM) çözeltilerini içeren reaktif ile 20 μ l numune karıştırılıp, ölçümden hemen önce 40 μ l kümen hidroperoksit (0.18 mM) ilave edildi. Enzim aktivitesini ölçmek için 340 nm'deki absorbans değişimi hesaplandı ve enzim aktivitesi U/L cinsinden ifade edildi.

3.2.2.4. CAT Aktivitesinin Ölçümü:

Aebi metoduna dayalı olarak yapıldı (148).

Deneyin Prensibi: Hidrojen peroksidin (H_2O_2) 240nm'de maksimum absorbans verir. Deney ortamına ilave edilen H_2O_2 , CAT tarafından su ve oksijene parçalanmakta, bu ise kendini UV spekturumda absorbans azalması şeklinde göstermektedir. Absorbanstaki bu azalma CAT enziminin aktivitesi ile doğru orantılıdır.



Deneyin Yapılışı: Hazırlanan numune, fosfat tamponuyla 10 kat dilüe (0.2 ml numune + 1.8 ml fosfat tamponu) edildi. 2 ml'lik bu dilüe numune üzerine taze hazırlanan ve 30 mM H_2O_2 içeren fosfat tampon çözeltisinden 1 ml eklendi. 240 nm'de ilk 30 saniye içinde 15'er saniyelik absorbans azalması bulunarak, k değeri aşağıdaki şekilde hesaplandı:

$$k = 2.3 / \Delta t \times (\log A_1/A_2) \times (a)$$

A_1 : 240 nm deki başlangıç absorbansı ($t_1=0$)

A_2 : 240 nm deki 15. sn'deki absorbansı ($t_2=15$)

a: dilüsyon faktörü

3.2.2.5. Lipid Peroksidasyonunun Tayini:

Lipit peroksidasyon ürünlerinden olan MDA, Draper ve Hadley'in çift kaynatmalı tiyobarbitürik asit reaktivitesi metodu kullanarak ölçüldü (149).

Deneyin prensibi: Yağ asidi peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, TBA ile reaksiyona girerek, 532 nm'de maksimum absorbans veren renkli bir kompleks oluşturur.

Deneyin yapılışı: 0.5 ml numune, üzerine 2.5 ml % 10'luk TCA eklenerek karıştırıldı. 15 dakika kaynatılıp soğutuldu. 5000 devir/dk'da 10 dakika santrifüj edildi. 2 ml süpernatant alınıp, üzerine 1ml % 0.67'lik TBA eklendi. Tüpler karıştırıldıktan sonra 15 dakika kaynatıldı ve hemen soğutuldu. 532 nm'de absorbansları, numune yerine distile su konularak hazırlanan köre karşı okundu.

Sonuçlar, MDA-TBA kompleksinin 532 nm'deki ekstinksiyon katsayısından ($1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$) yararlanılarak, $\mu\text{mol/L}$ olarak ifade edildi.

Sonuçlar aşağıdaki şekilde hesaplandı:

$$A = a \times b \times c$$

$$c = A / a \times b$$

$$c = \frac{A \text{ mol cm} \times 1 \times 10^6 \mu\text{mol} \times \text{L}}{1.56 \times 10^5 \text{ L cm mol}}$$

$$c (\mu\text{mol/ml}) = A \times 57.69$$

A = absorbans

a = ekstinksiyon katsayısı

b = ışık yolu

c = konsantrasyon

3.2.3. Doku Takip Çalışmaları

%10'luk nötral formalin solüsyonunda, immersiyon fiksasyon yöntemi uygulanan doku örnekleri tespitten sonra bir gece akan suda yıkama işlemine tabi tutulduktan sonra aşağıda gösterilen işlemlerden geçirildi.

A) Dehidratasyon

<u>Alkol derecesi</u>	<u>Süre</u>
%70	1 gece
%80	1 saat
%90	1 saat
%100	1 saat
%100	1 saat

B) Şeffaflandırma

Ksilol	½ saat
Ksilol	½ saat

C) Emdirme

Ksilol+parafin (60°C etüvde)	15 dakika
Yumuşak parafin (60°C etüvde)	1 saat
Sert parafin (60°C etüvde)	4 saat

D) Gömme

Sert parafin

Hazırlanan parafin bloklardan, Leica tipi kızaklı mikrotom kullanılarak 4 mikron kalınlığında kesitler alındı. Histolojik değerlendirme için preparatlar Hematoksilen-Eozin ve Verhoeff ile boyandı. Boyanan örnekler Olympus BX50 tipi binoküler mikroskopta incelendi ve fotoğraflar elde edilerek değerlendirildi.

3.2.3.1. Değerlendirme:

Kontrol ve deney gruplarına ait aort ve böbrek doku kesitlerinde incelenen yapısal değişiklikler Abdel-Wahhab ve arkadaşlarının (150) yapmış oldukları skorlamaya göre değerlendirildi.

Deneysel parametrelerin histolojik (yapısal) değerlendirmesi skorlandı.

(-) skor (negatif skor): hiçbir yapısal değişikliğin olmaması,

(+) skor (1 pozitif skor): hafif derecede,

(++) skor (2 pozitif skor): orta derecede,

(+++) skor (3 pozitif skor): ciddi derecede yapısal değişikliği ifade etmektedir (150)

3.2.4. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirmeler “SPSS 11.0 for Windows” paket programı ve Epi İno Statcalc programları kullanılarak yapıldı. İki grup arasındaki ölçüm değerlerinin karşılaştırılmasında (biyokimyasal değerler) “Mann – Whitney U testi”; sayım değerlerinin karşılaştırılmasında (histolojik bulgular) “Pearson ki-kare testi” kullanıldı. Dört gözlü tablolarda beklenen değer 5’in altında olduğu durumlarda “Fisher’in ki-kare testi” kullanıldı. Anlamlılık değeri %95 güven aralığında $p < 0.05$ olarak alındı.

4. BULGULAR

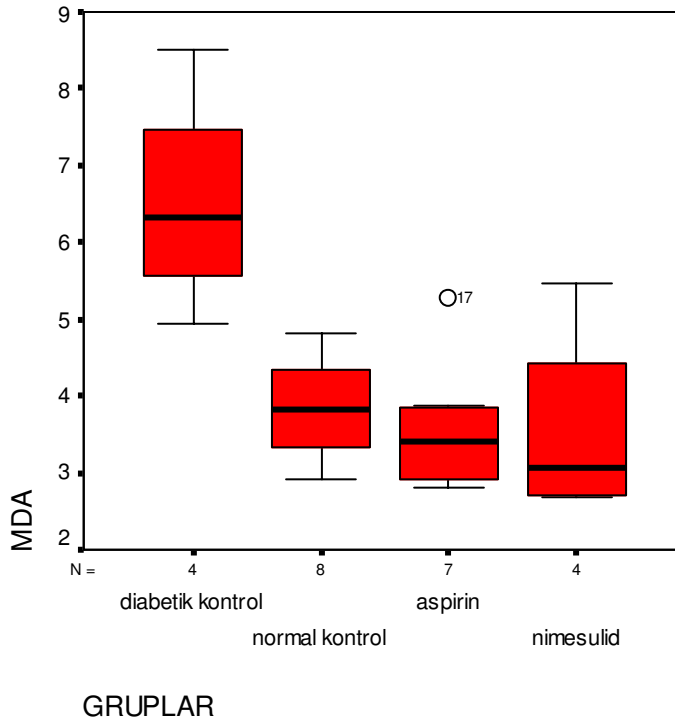
4.1. Biyokimyasal Bulgular

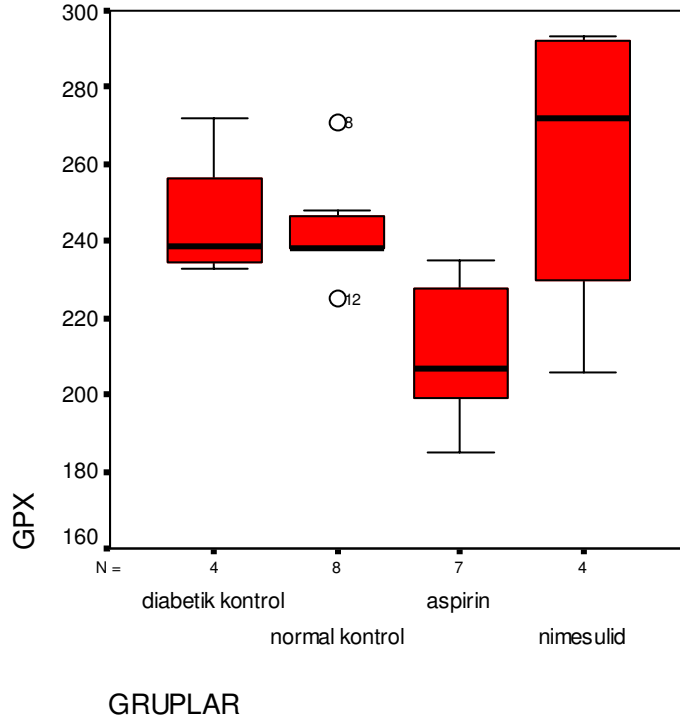
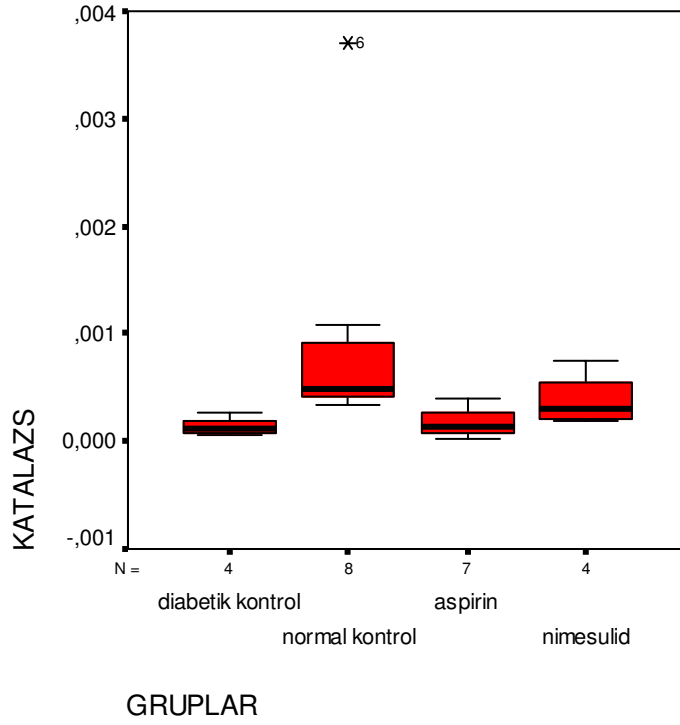
Deney ve kontrol grubu sıçanlara ait kan MDA, GPx, CAT ve SOD düzeylerinin aritmetik ortalamaları +/- standart sapma şeklinde tablo 5’de verilmiştir.

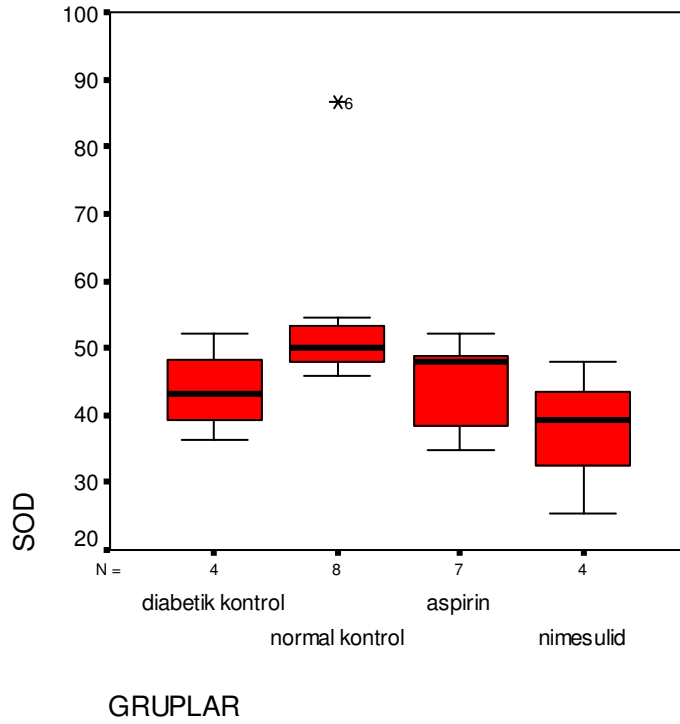
Tablo 5. Grupların kan MDA, GPx, CAT, SOD değerlerinin aritmetik ortalaması

Gruplar	MDA	GPx	CAT	SOD
Kontrol	3,83±0,67	242,63±13,28	0,0009±0,001	54,30±13,26
DM	6,51±1,48	245,5±17,97	0,0001±0,00008	43,73±6,50
DM + Asp	3,58±0,87	211,43±18,76	0,00017±0,00013	44,22±6,76
DM + Nim	3,56±1,30	260,75±40,87	0,00038±0,00025	37,94±9,25

Grafik 1. Gruplara göre MDA ölçüm değerlerinin dağılımı



Grafik 2. Gruplara göre GPx ölçüm değerlerinin dağılımı**Grafik 3.** Gruplara göre CAT ölçüm değerlerinin dağılımı

Grafik 4. Gruplara göre SOD ölçüm değerlerinin dağılımı**Tablo 6.** Kontrol grubu ile DM grubunun MDA, GPx, CAT, SOD düzeyleri açısından karşılaştırılması

GRUPLAR		MW-U	P
MDA	Kontrol	0,0001	0,007
	DM		
GPx	Kontrol	15,000	0,86
	DM		
CAT	Kontrol	0,0001	0,007
	DM		
SOD	Kontrol	5,5	0,074
	DM		

Mann-Whitney U Testi; DM grubunda MDA düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksektir. Kontrol grubunda CAT düzeyi DM grubuna göre anlamlı olarak daha yüksektir. DM grubu ile kontrol grubu arasında GPx ve SOD düzeyleri açısından anlamlı fark saptanamamıştır.

Tablo 7. DM grubu ile DM + Asp grubunun MDA, GPx, CAT, SOD düzeyleri açısından karşılaştırılması

GRUPLAR		MW-U	P
MDA	DM	1,0	0,014
	DM + Asp		
GPx	DM	1,0	0,014
	DM + Asp		
CAT	DM	13,0	0,85
	DM + Asp		
SOD	DM	13,5	0,92
	DM + Asp		

Mannhitney U Testi; DM grubunda MDA ve GPx düzeyi DM + Asp grubuna göre anlamlı olarak daha yüksektir. DM grubu ile DM + Asp grubu arasında CAT ve SOD düzeyleri açısından anlamlı fark saptanamamıştır.

Tablo 8. DM grubu ile DM + Nim grubunun MDA, GPx, CAT, SOD düzeyleri açısından karşılaştırılması

GRUPLAR		MW-U	P
MDA	DM	1,0	0,04
	DM + Nim		
GPx	DM	5,0	0,38
	DM + Nim		
CAT	DM	2,0	0,08
	DM + Nim		
SOD	DM	5,0	0,38
	DM + Nim		

Mann-Whitney U Testi; DM grubunda MDA düzeyi DM + Nim grubuna göre anlamlı olarak daha yüksektir. DM grubu ile DM + Nim grubu arasında GPx, CAT ve SOD düzeyleri açısından anlamlı fark saptanamamıştır.

Tablo 9. DM + Asp grubu ile DM + Nim grubunun MDA düzeyleri açısından karşılaştırılması

GRUPLAR		MW-U	P
MDA	DM + Asp	10,0	0,45
	DM + Nim		

Mann-Whitney U Testi; DM + Asp grubu ile DM + Nim grubu arasında MDA düzeyleri açısından anlamlı fark saptanamamıştır.

Tablo 10. Gruplar arası sağ kalım oranı

GRUPLAR	Ölme-kalma		Toplam	X ²	P
	Ölen	yaşayan			
Kontrol	2	8	10	5,21	0,157
DM	6	4	10		
DM + Asp	3	7	10		
DM + Nim	6	4	10		

Ki kare testi; gruplar arasında sağ kalım açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanamamıştır.

4.2. Histolojik Bulgular

Kontrol ve deney gruplarına ait aort ve böbrek doku kesitlerinde incelenen yapısal değişiklikler [gözlenen yapısal değişiklikler Abdel-Wahhab ve arkadaşlarının (150) yapmış oldukları skorlamaya göre değerlendirildi], gruplar arasında gözlenen değişikliklerin skorlanması Tablo 11’de, “p” değerleri ise Tablo12’de verilmiştir.

Tablo 11. Deney gruplarında gözlenen yapısal değişikliklerin skorlanması

Deney grupları	Grup I (Kontrol) (n=8)					Grup II (DM) (n=4)					Grup III (DM+Asp) (n=7)					Grup IV (DM+Nim) (n=4)				
	-	+	++	+++	O	-	+	++	+++	O	-	+	++	+++	O	-	+	++	+++	O
Proksimal ve distal tübüllerde dilatasyon	8	0	0	0	-	0	0	1	3	++	2	5	0	0	+	0	0	4	0	++
Proksimal ve distal tübül epitel hücrelerinde hidropik dejenerasyon	6	2	0	0	-	0	0	0	4	++	2	5	0	0	+	0	0	0	4	++
Parankimde inflamatuvar hücre infiltrasyonları	8	0	0	0	-	0	1	3	0	++	3	4	0	0	+	0	0	1	3	++
Pe itübüler kapillerlerde konjesyon	8	0	0	0	-	1	3	0	0	+	2	5	0	0	-	0	1	3	0	++
Bazı glomerüllerde sklerozis	8	0	0	0	-	1	3	0	0	+	5	2	0	0	-	1	3	0	0	+
Parankimde bağ dokusu artışı	8	0	0	0	-	1	3	0	0	+	7	0	0	0	-	1	3	0	0	+
Parankimde arterlerin damer duvarında kalınlaşma	8	0	0	0	-	3	1	0	0	-	7	0	0	0	-	1	3	0	0	+

4.2.1. Böbrek Dokusu

Kontrol Grubu:

Böbrek dokusu normal histolojik görünümde izlendi.

Diyabet Grubu:

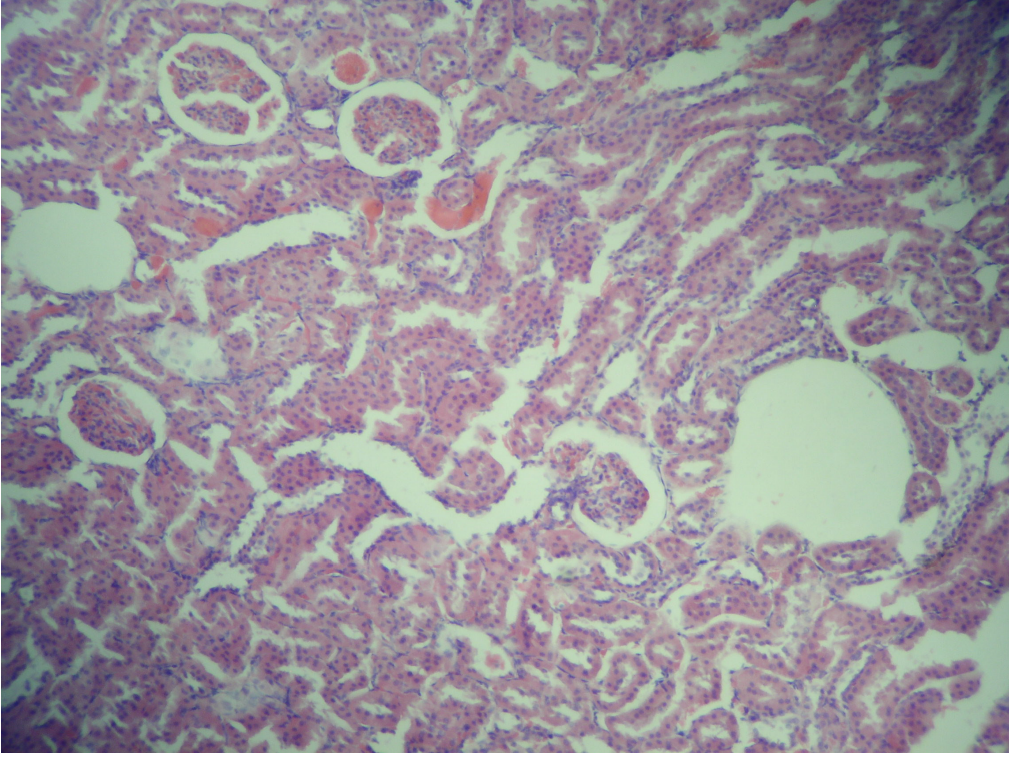
Parankimde inflamatuvar hücre infiltrasyonları, proksimal ve distal tübül epitel hücrelerinde hidropik dejenerasyon, parankimde bağ dokusu artışı, proksimal ve distal tübüllerde dilatasyon, peritübüler kapillerlerde konjesyon ve bazı glomerüllerde sklerozis gözlemlendi.

Diyabet + Aspirin Grubu:

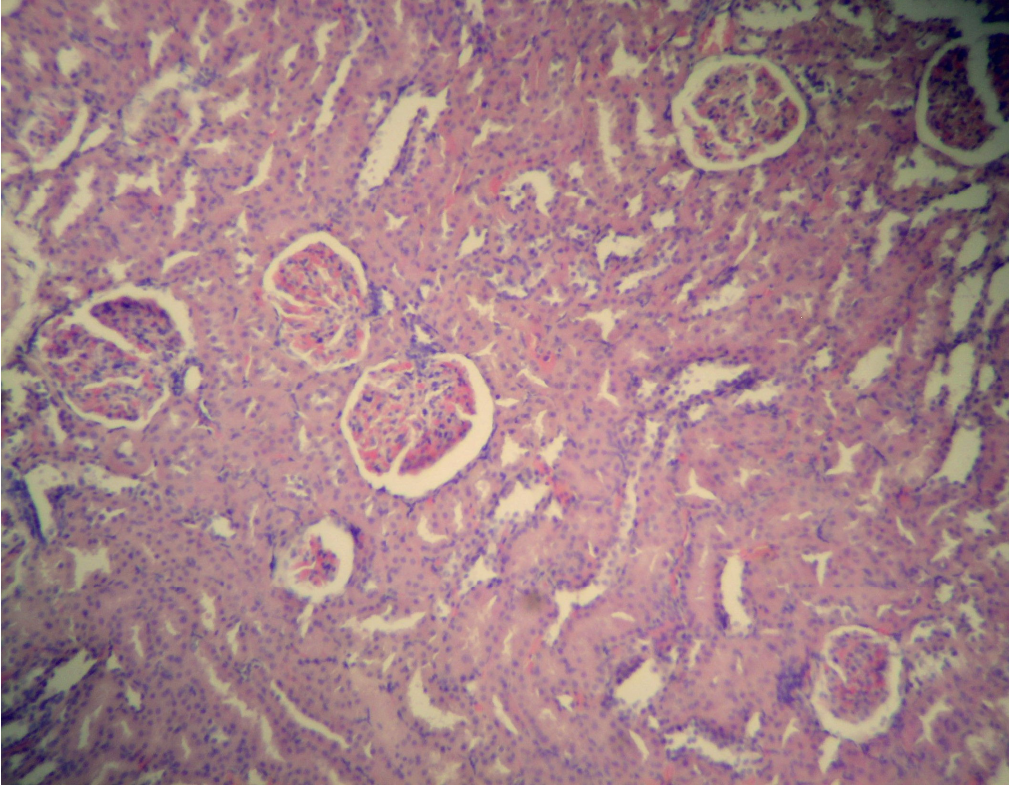
Proksimal ve distal tübül epitel hücrelerinde hidropik dejenerasyon , proksimal ve distal tübüllerde dilatasyon, parankimde inflamatuvar hücre infiltrasyonları, parankimde bağ dokusu artışı ve peritübüler kapillerlerde konjesyon gözlenmedi.

Diyabet + Nimesulid Grubu:

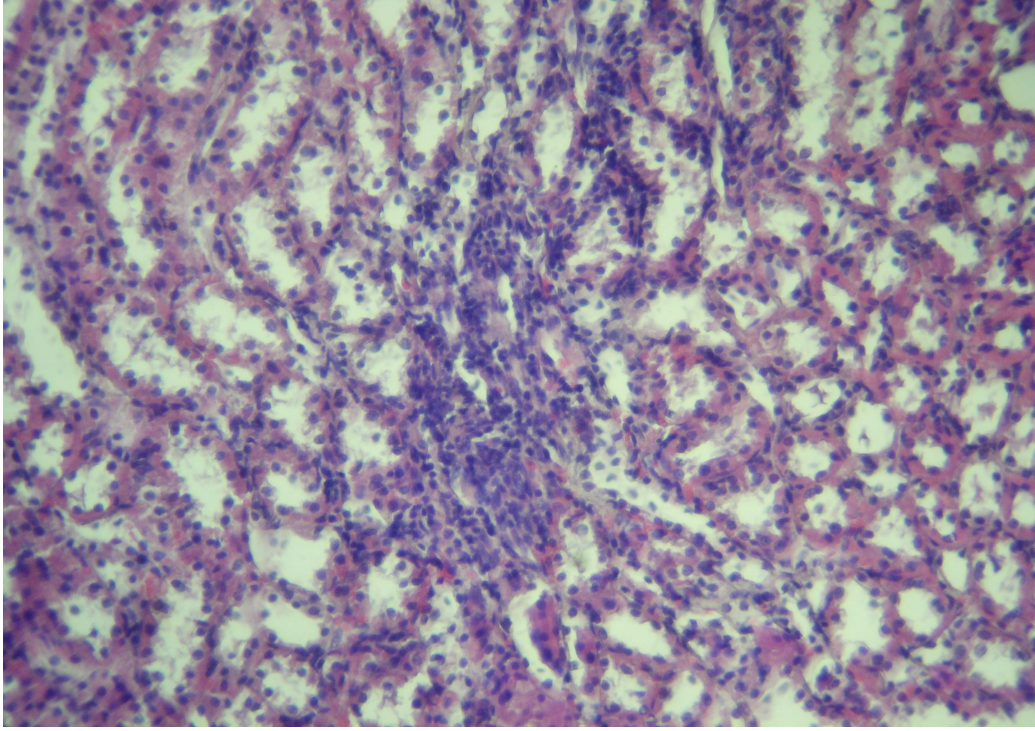
Proksimal ve distal tübül epitel hücrelerinde hidropik dejenerasyon, proksimal ve distal tübüllerde dilatasyon, parankimde inflamatuvar hücre infiltrasyonları, peritübüler kapillerlerde konjesyon, bazı glomerüllerde sklerozis, parankimde bağ dokusu artışı ve parankimde arterlerin damar duvarlarında kalınlaşma gözlemlendi.



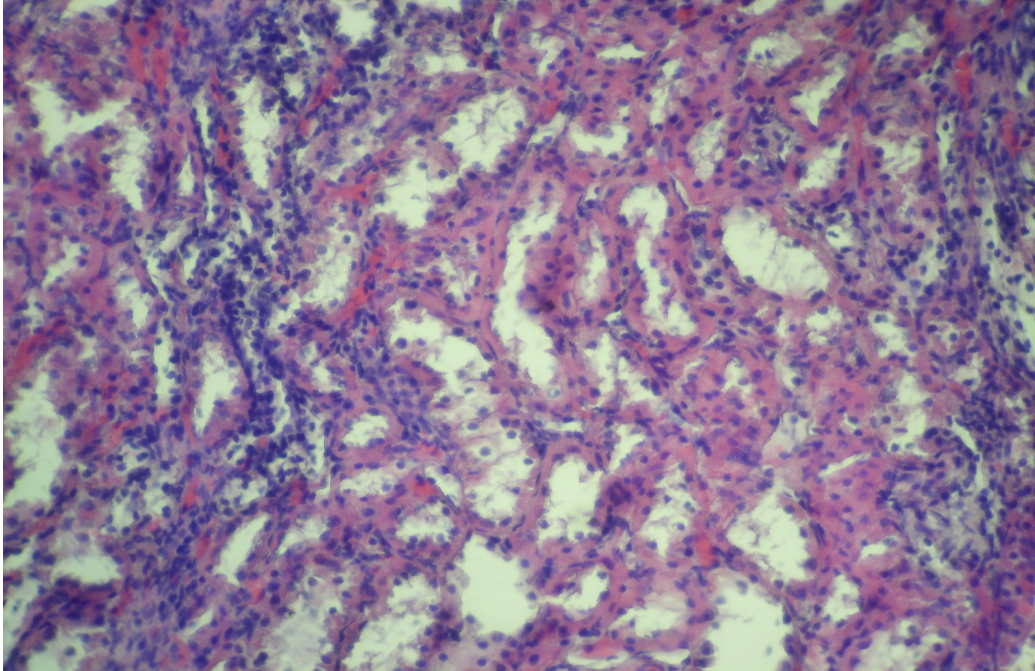
Resim 1: Kontrol grubuna ait sıçan böbrek dokusu; normal histolojik görünümde izlenmekte (H-E) (X120).



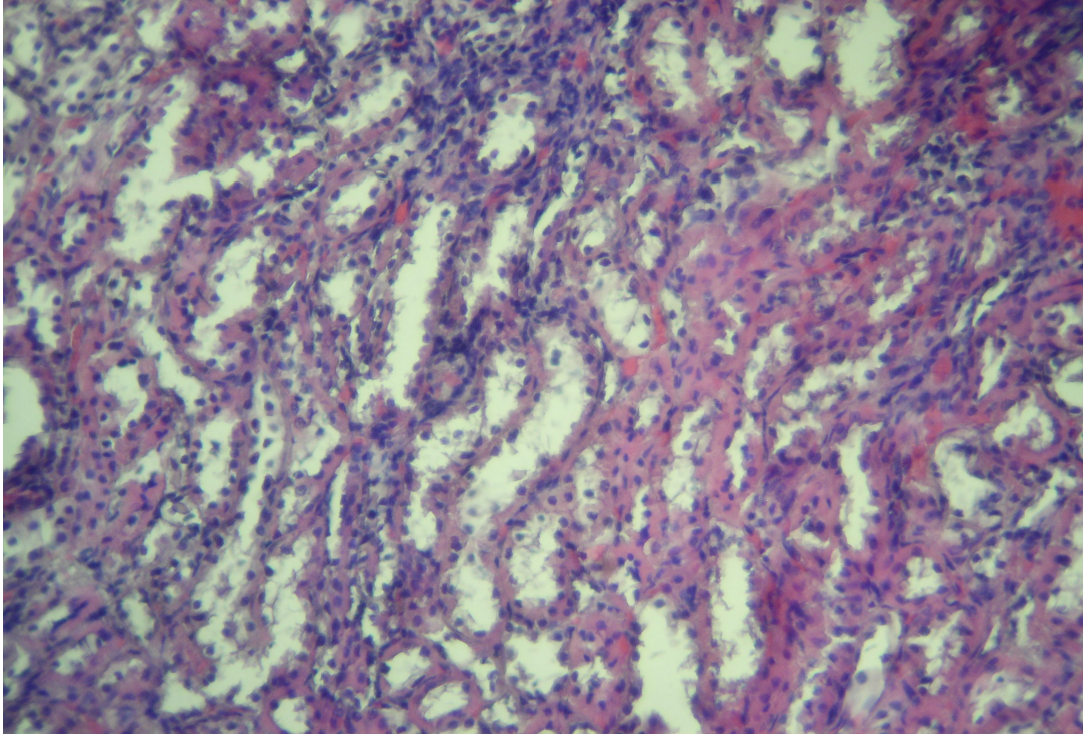
Resim 2: Kontrol grubuna ait sıçan böbrek dokusu; normal histolojik görünümde izlenmekte (H-E) (X120).



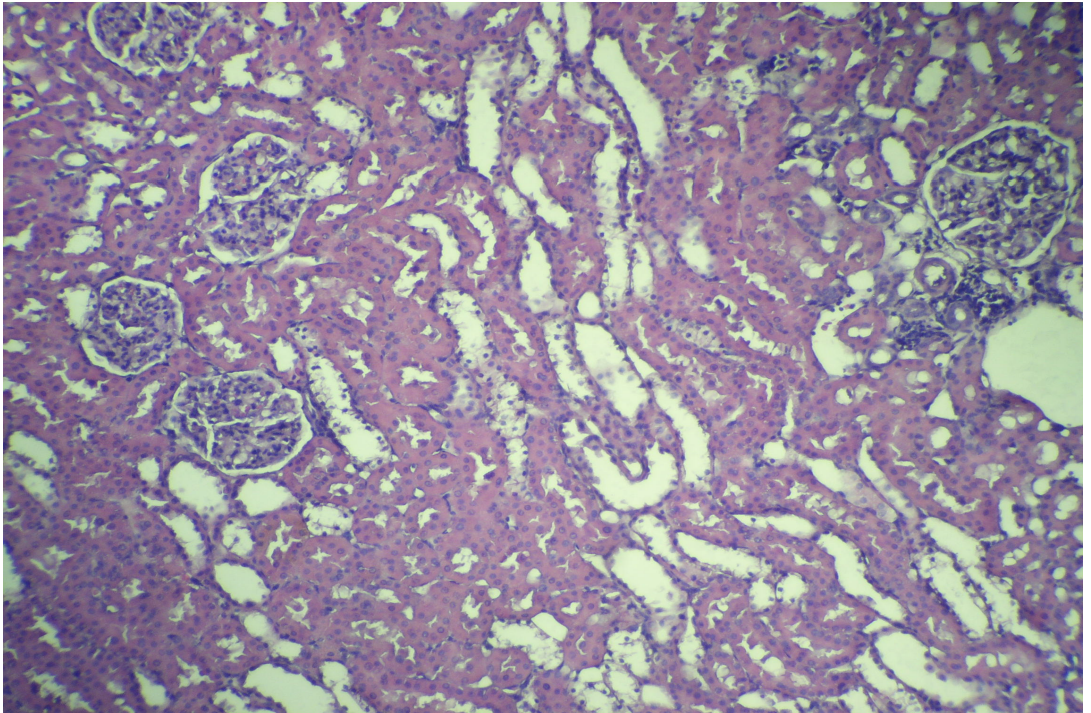
Resim 3: DM grubuna ait sıçan böbrek dokusu. Parankimde inflamatuvar hücre infiltrasyonları, proksimal ve distal tübüllerde dilatasyon ve proksimal ve distal tübül epitel hücrelerinde hidropik dejenerasyon izlenmekte (H-E) (X120).



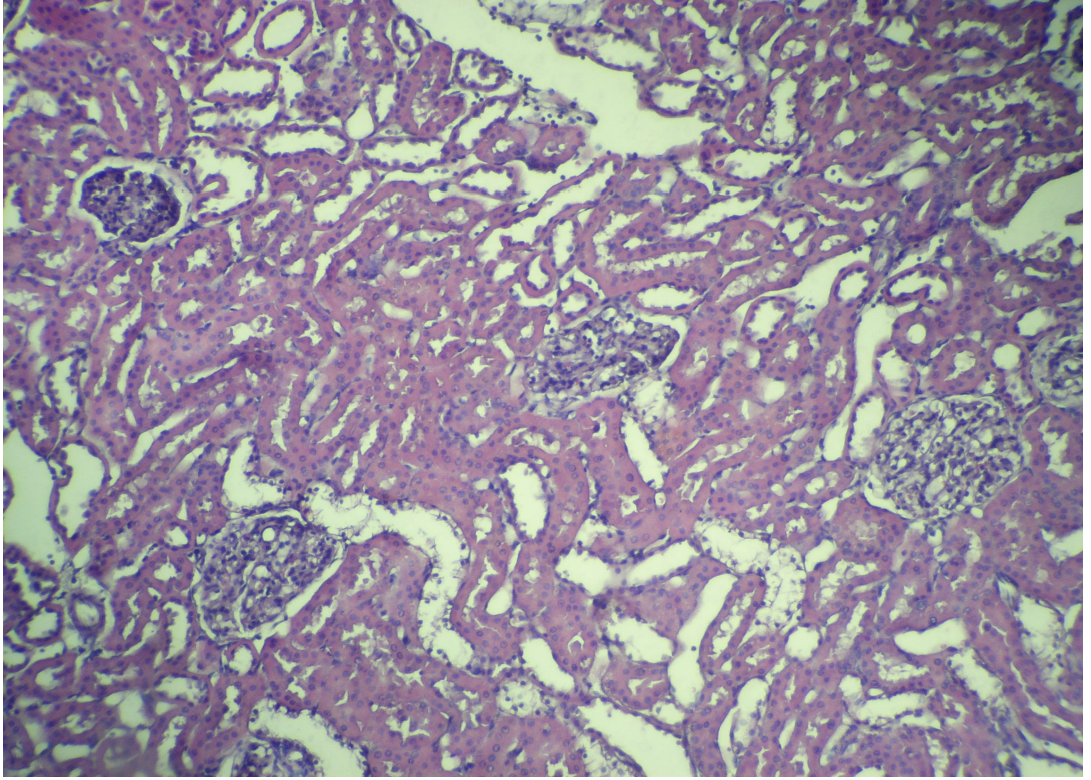
Resim 4: DM grubuna ait sıçan böbrek dokusu. Parankimde inflamatuvar hücre infiltrasyonları, proksimal ve distal tübüllerde dilatasyon ve proksimal, distal tübül epitel hücrelerinde hidropik dejenerasyon ve peritübüler kapillerlerde konjesyon izlenmekte (H-E) (X120).



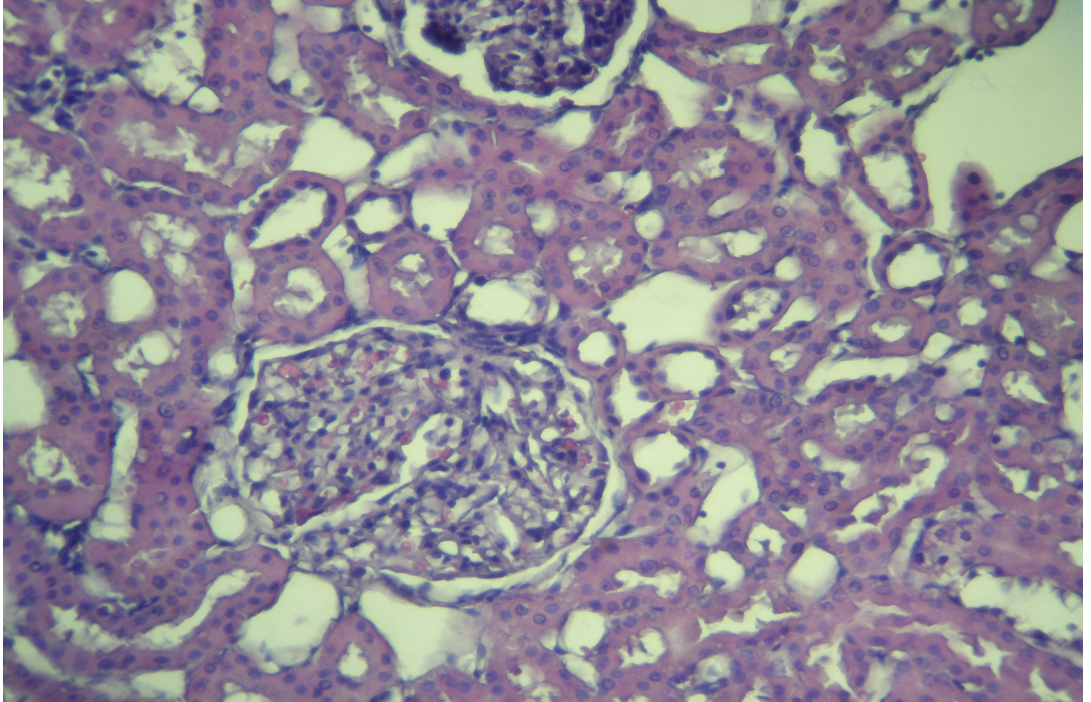
Resim 5: DM grubuna ait sıçan böbrek dokusu. Proksimal ve distal tübüllerde dilatasyon ve proksimal, distal tübül epitel hücrelerinde hidropik dejenerasyon ve peritübüler kapillerlerde konjesyon izlenmekte (H-E) (X120).



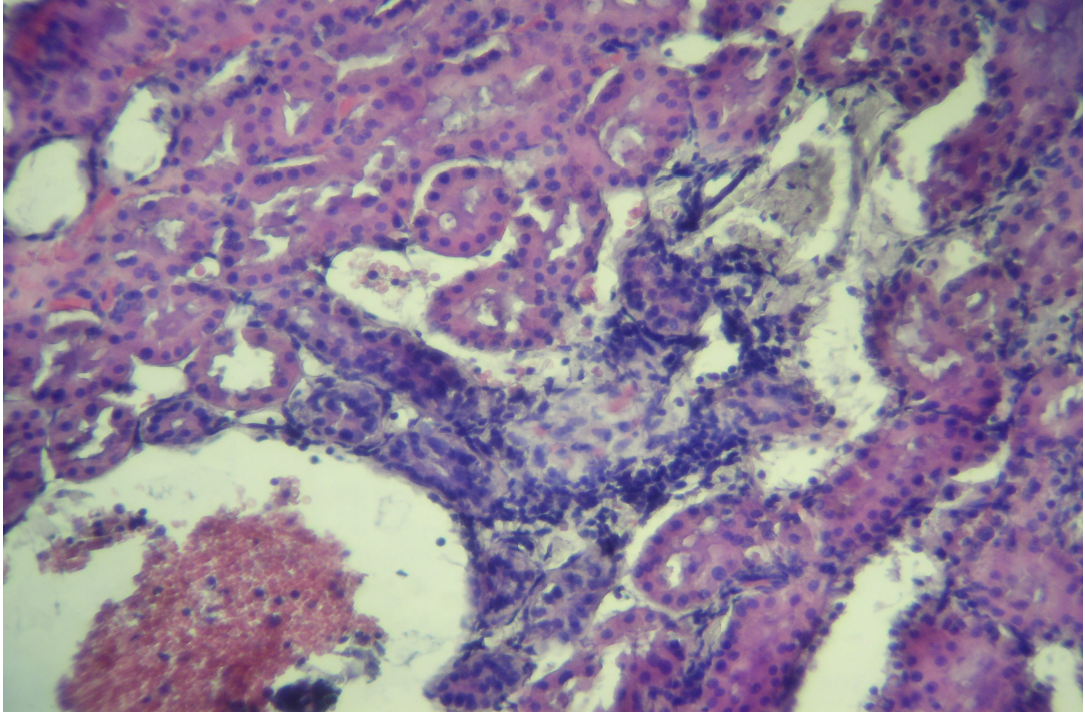
Resim 6: DM + Asp grubuna ait sıçan böbrek dokusu. Hafif derecede proksimal ve distal tübüllerde dilatasyon ve hafif derecede proksimal, distal tübül epitel hücrelerinde hidropik dejenerasyon görülmekte (H-E) (X120).



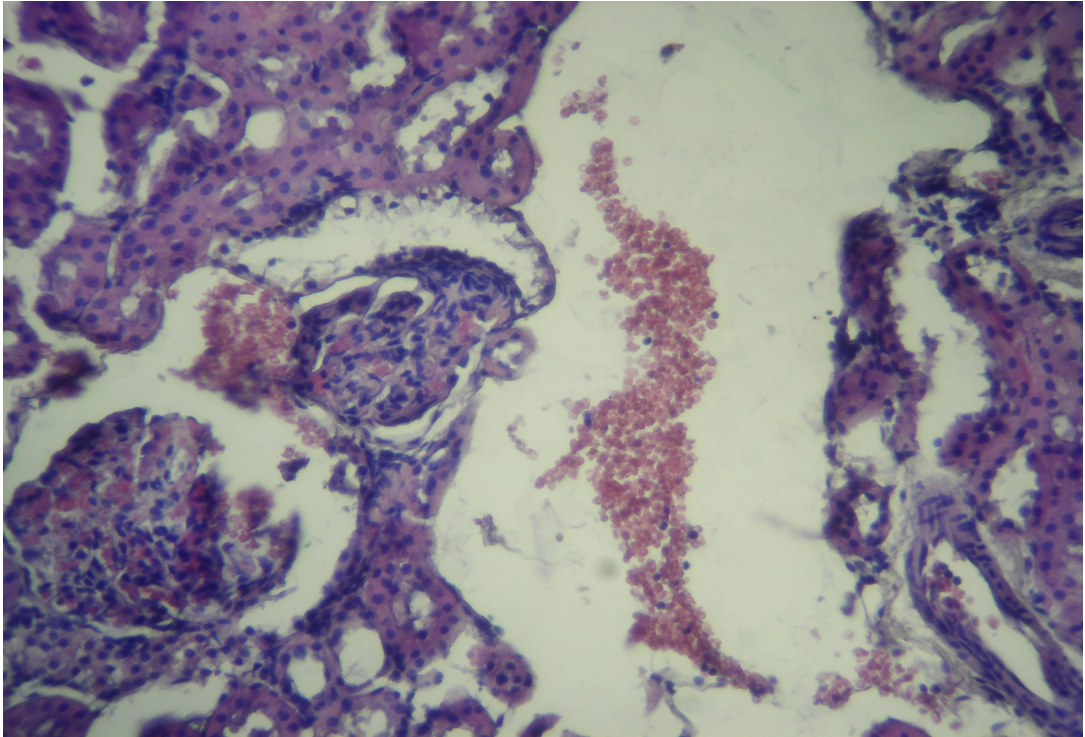
Resim 7: DM + Asp grubuna ait sıçan böbrek dokusu. Hafif derecede proksimal ve distal tübüllerde dilatasyon görülmekte (H-E) (X120).



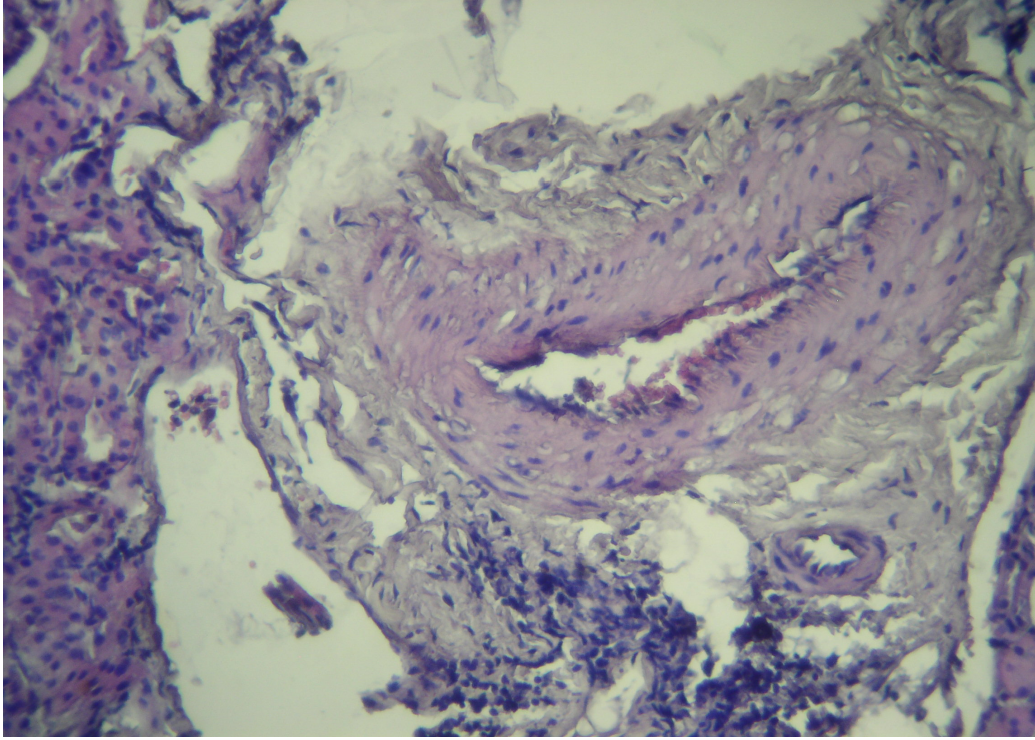
Resim 8: DM + Asp grubuna ait sıçan böbrek dokusu. Hafif derecede proksimal ve distal tübüllerde dilatasyon ve hafif derecede proksimal, distal tübül epitel hücrelerinde hidropik dejenerasyon görülmekte (H-E) (X240).



Resim 9: DM + Nim grubuna ait sıçan böbrek dokusu. Parankimde inflamatuvar hücre infiltrasyonları, Proksimal ve distal tübül epitel hücrelerinde hidropik dejenerasyon, proksimal ve distal tübüllerde dilatasyon gözlenmekte (H-E) (X120).



Resim 10: DM + Nim grubuna ait sıçan böbrek dokusu. Peritübüler kapillerlerde konjesyon, bazı glomerüllerde sklerozis ve Proksimal ve distal tübül epitel hücrelerinde hidropik dejenerasyon izlenmekte (H-E) (X120).



Resim 11: DM + Nim grubuna ait sıçan böbrek dokusu. Parankimde inflamatuvar hücre infiltrasyonları, parankimde bağ dokusu artışı ve parankimde arterlerin damar duvarlarında kalınlaşma görülmekte (H-E) (X120).

4.2.2. Aort Dokusu

Kontrol Grubu:

Tunika mediya kalınlığı normal görünümde izlendi.

Diyabet Grubu:

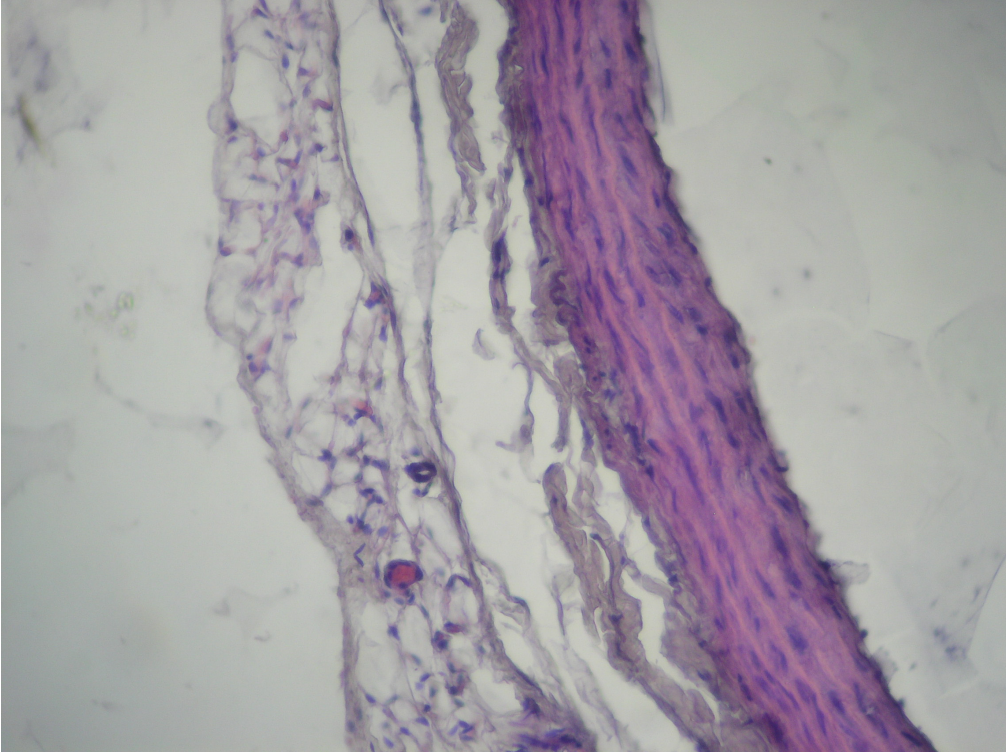
Tunika mediya kalınlığında azalma görüldü.

Diyabet + Aspirin Grubu:

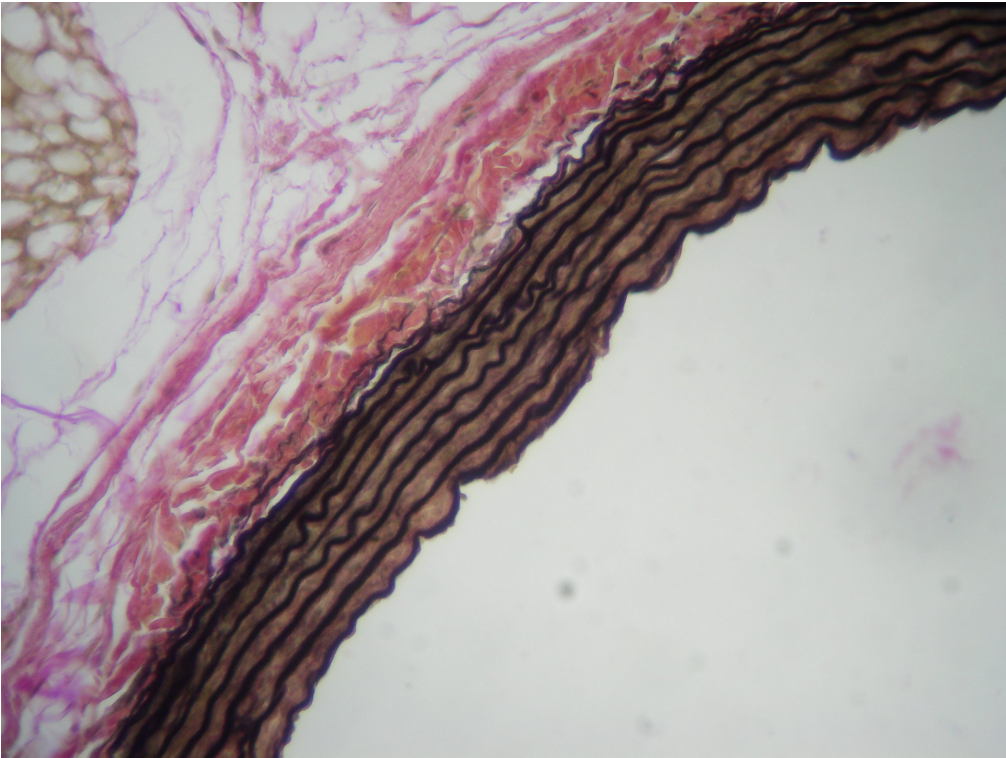
Tunika mediya kalınlığı normal görünümde izlendi.

Diyabet + Nimesulid Grubu:

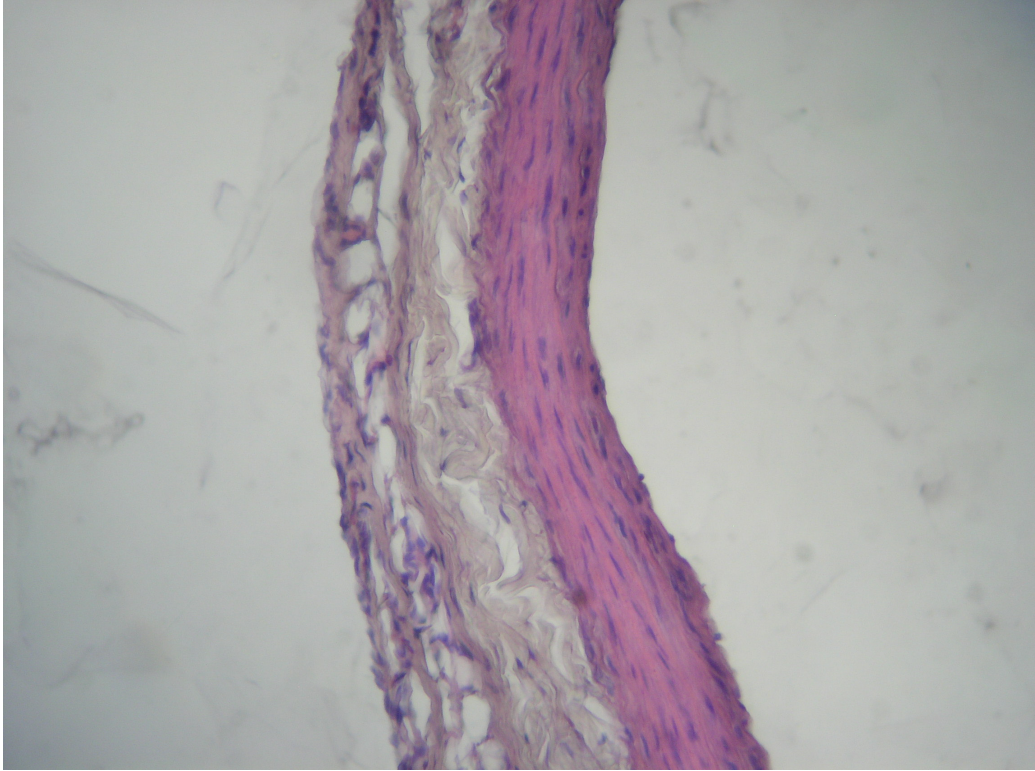
Tunika mediya kalınlığında azalma görüldü.



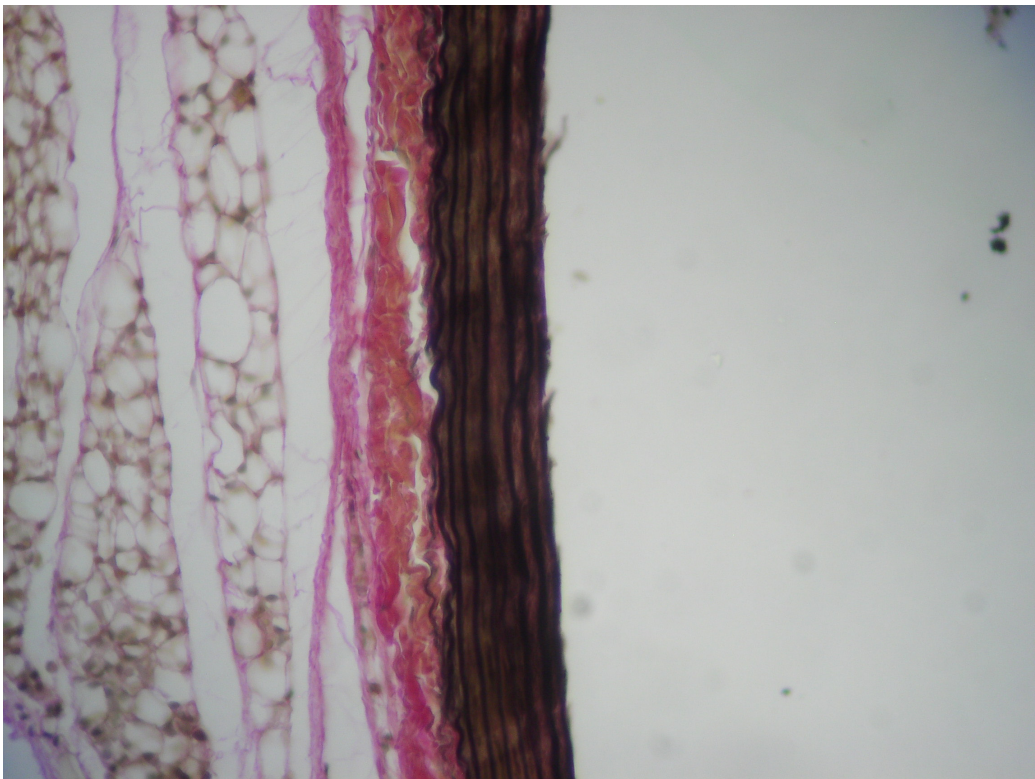
Resim 12: Kontrol grubuna ait sıçan aort kesiti (H-E) (X120).



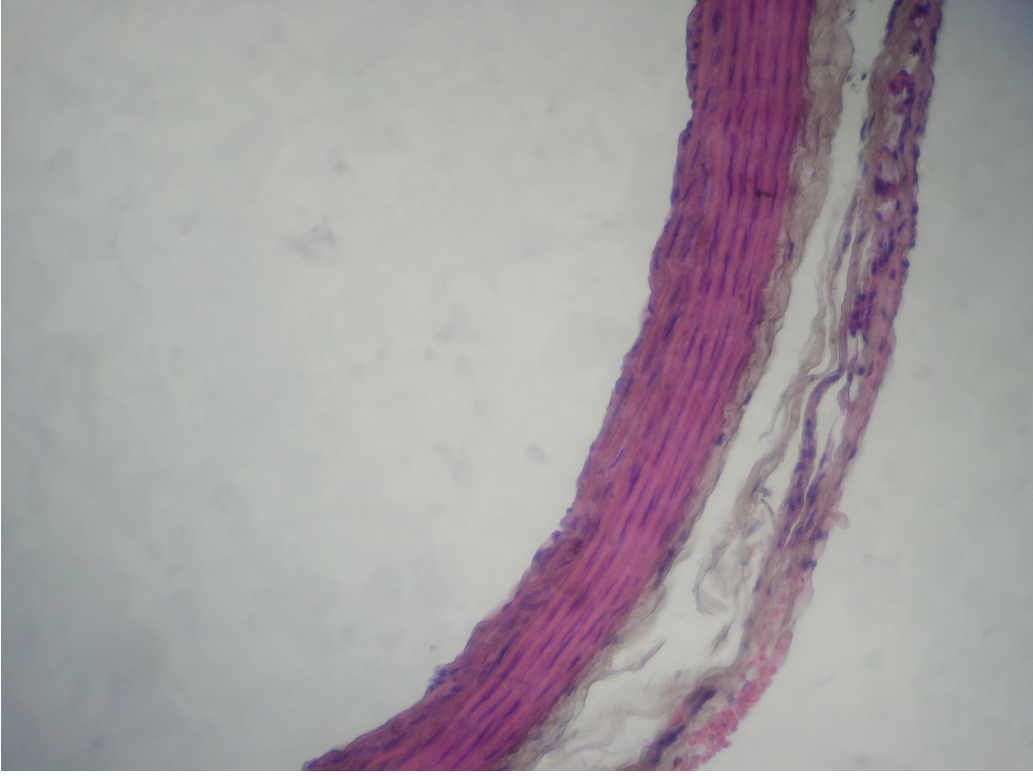
Resim 13: Kontrol grubuna ait sıçan aort kesiti (Verhoeff) (X120).



Resim 14: DM grubuna ait sıçan aort kesiti (H-E) (X120).



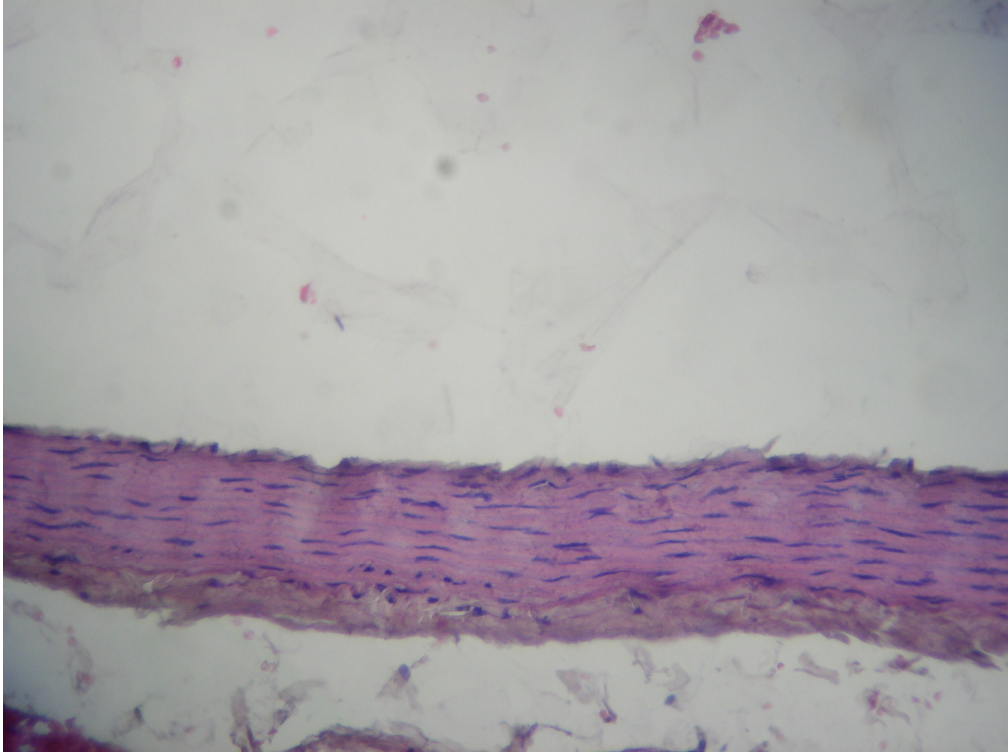
Resim 15: DM grubuna ait sıçan aort kesiti (Verhoeff) (X120).



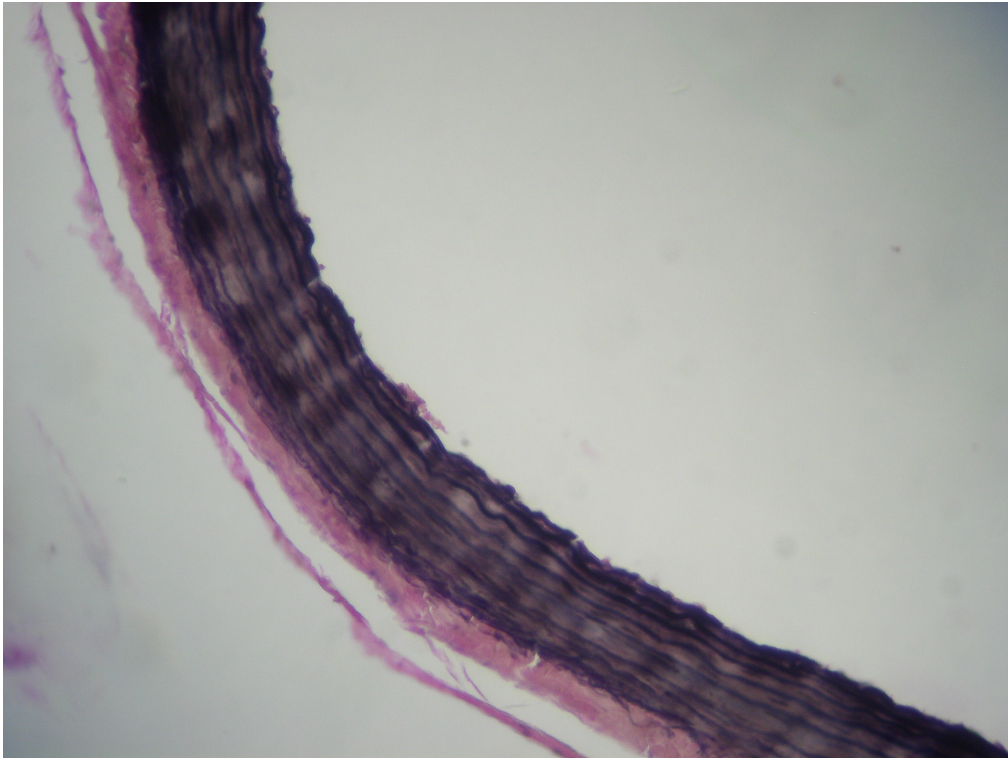
Resim 16: DM + Asp grubuna ait sıçan aort kesiti (H-E) (X120).



Resim 17: DM + Asp grubuna ait sıçan aort kesiti (Verhoeff) (X120).



Resim 18: DM + Nim grubuna ait sıçan aort kesiti (H-E) (X240).



Resim 19: DM + +Nim grubuna ait sıçan aort kesiti (Verhoeff) (X120).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Deneysel hayvan çalışmalarında insandakine benzer diyabet oluşturmak için kullanılan N-nitroso türevi D-glukozamin yapısındaki STZ (5), oksidan maddeler meydana getirerek langerhans adacıklarını selektif olarak tahrip etmekte ve uygun olmayan NO cevapları vererek diyabeti başlattığı düşünülmektedir (6,7). DM'lu insanlarda olduğu gibi, STZ-diyabetik ratlarda da gözler, böbrekler, kan damarları ve sinir sisteminde hasarlar gelişir (23,28).

Çalışmada deneysel diyabet modeli oluşturabilmek için 35-65 mg/kg tek doz i.p. olarak kullanıldığında diyabet oluşturabileceğini temel aldık. Pilot çalışmada 35 mg/kg i.p tek doz STZ diyabet oluşturmak için yeterli gelmeyince 50 mg/kg i.p tek doz STZ kullandık ve kan glukoz düzeyi 200-300mg/dl'den yüksek çıkınca ratları diyabetik olarak değerlendirdik (37,38,39,40,41,42).

Vardı N. ve arkadaşları yaptıkları çalışmada; deneysel diyabetin sıçan endokrin pankreasında oluşturduğu morfolojik değişiklikleri göstermişlerdir (151).

Diyabet ve diyabet komplikasyonlarının reaktif oksijen türleri ile olan ilişkisini gösteren çalışmalarda, nonenzimatik glikasyon, enerji metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan metabolik stres, sorbitol yol aktivitesi, hipoksi ve iskemi-reperfüzyon sonucu oluşan doku hasarının serbest radikal üretimini arttırdığı (83) ve antioksidan savunma sistemini değiştirdiği yapılan çalışmalarda vurgulanmaktadır (84,85,86,87,88).

SOD, CAT, GPx gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonlarının ve antioksidan kapasitesinin pankreas adacık hücrelerinde, karaciğer, böbrek, iskelet kası ve adipoz doku gibi diğer dokularla kıyaslandığında en düşük düzeyde olduğu bilinmektedir (89,90). Oksidatif strese en duyarlı yapılardan biri olduğu da bilinen beta hücrelerinde gözlenen hasarın, hipergliseminin toksik etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (91).

Serbest radikal oluşumunun hipergliseminin direkt sonucu olduğunu destekleyen çalışmaların (94) yanı sıra endotel ve düz kas hücreleri yüksek konsantrasyonda glukoz içeren ortamda inkübe edildiğinde de serbest radikal oluşumunun başladığı gözlenmiştir (95,96). Hiperglisemi ile oksidatif stres arasında yakın ilişki olduğu görüşü in vivo çalışmalar ile de desteklenmiştir (97).

Aspirin'in antitrombotik, anti-inflamatuvar ve antipiretik etki elde etmek için farklı dozlarda kullanıldığı (141) yapılan çalışmalar sonucu görülmüş ve literatüre geçmiştir (131). Çalışmada Aspirin'in dozu yapılan deneysel diyabet çalışmasında verilen 10 mg/kg tek doz uygulaması esas olarak belirlendi (152) Nimesulid'in diyabette hangi dozda kullanıldığına dair yayın bulunamadı ancak Nimesulid'in antioksidan özelliğinden yararlanan bir yayının doz belirlemede temel alındı (153) ve dozu günde 18 mg/kg tek doz olarak belirlendi.

Bu çalışmada deneysel diyabet yöntemlerinden STZ ile oluşturduğumuz diyabetik ratlarda diyabete bağlı oluşan hasarın azaltılmasında diyabetli hastalarda kullanılabileceğini düşündüğümüz antioksidan özelliği olan aspirin ve nimesulid'in vasküler sistem ve böbrek dokusu üzerine diyabetin olumsuz etkilerine verdiği cevaplar araştırıldı. Bu amaçla reaktif oksijen radikallerinin (ROS) göstergesi olan biyokimyasal parametrelerden MDA, GPx, CAT ve SOD düzeylerine bakılırken, aort ve böbrek dokusu histopatolojik olarak da değerlendirildi.

Diyabet ve Kontrol grupları karşılaştırıldığında; Diyabet grubunda MDA düzeyi Kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek ($p<0,05$) bulunurken, GPx ve SOD düzeyleri açısından anlamlı fark saptanamamıştır ($p>0,05$). Aspirin verilen Diyabetli grupta ise MDA ve GPx düzeyi anlamlı olarak düşmüştür ($p<0,05$). Nimesulid ise sadece MDA'yı anlamlı olarak azaltmıştır ($p<0,05$). Diyabetli grupta CAT düzeyi anlamlı olarak düşmüş ve Aspirin ve Nimesulid ise bu düşüşü anlamlı olarak önlemiş ve kontrol düzeyine çıkarmıştır.

Çalışmanın histolojik bulguları değerlendirildiğinde; Kontrol grubunda böbrek dokusu normal histolojik görünümdeydi. Biyokimyasal bulgularımıza paralel olarak,

diyabetik ratlarda böbrek dokularının histolojik incelemelerinde oksidatif hasarın göstergesi olabilecek bulgular saptanmıştır. Bunlar parankimde inflamatuvar hücre infiltrasyonları, proksimal ve distal tübül epitel hücrelerinde hidropik dejenerasyon, parankimde bağ dokusu artışı, proksimal ve distal tübüllerde dilatasyon, peritübüler kapillerlerde konjesyon ve bazı glomerüllerde sklerozis şeklinde izlendi. Diyabet grubu ile Kontrol grubu karşılaştırıldığında bu bulgular anlamlı olarak ($p<0,05$) farklıdır. Aspirin verilmiş Diyabetli grupta bu histopatolojik değişiklikler hafif derecede gözlemlendi. Ancak Nimesulid verilen Diyabetli grupta ise yukarıdaki histopatolojik değişikliklerin Diyabetli gruptakine benzer olduğu gözlemlendi. Yani Nimesulid, Aspirin kadar diyabetin sebep olduğu histopatolojik bozuklukları düzeltmedi. Diyabetli grupla karşılaştırıldığında yukarıdaki biyokimyasal parametrelerdeki iki ilacın olumlu etkilerini diyabetin organlardaki yapmış olduğu histopatolojik değişikliklerine koruyucu olarak sadece Aspirinin yansıttığını görmekteyiz.

Yapılan çalışmalarda diyabette antioksidan enzimlerin arttığı veya azaldığı şeklinde raporlar vardır. Ancak diyabette kesin olarak antioksidan sistemlerde bozukluk vardır (65,68)

Diyabette SOD düzeylerinin arttığı, değişmediği veya azaldığı şeklinde birbiriyle çelişen çalışmalar vardır (73-76). Tip 2 diyabetli hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada diyabetli hastaların artmış serum CAT aktivitesine sahip oldukları vurgulanmaktadır (73). Ancak bu artışın organizmanın kendisini lipid peroksidasyonundan korumak için kompensatuvar bir mekanizma olabileceği vurgulanmaktadır. Ancak başka çalışmalarda da azalmış olduğu vurgulanmaktadır (74,76).

GPx, membran lipidlerini ve hemoglobini oksidan strese karşı korur (79). Yapılan çalışmalarda diyabetli hastalarda serum GPx aktivitesinin azalmış olduğu rapor edilmektedir (73,76).

Patumraj S. Ve ark. yaptıkları çalışmada; transmisyon elektron mikroskopuyla çekilen sol ventrikül intramural (duvar içi) koroner arteriyollerinden alınan görüntülerle garlic ve aspirinin diyabetik kardiyovasküler komplikasyonlar üzerindeki etkilerinin karşılaştırılmasını yapmışlardır (152).

Makino H. Ve ark; STZ ile muamele edilen diyabetik rat böbreğine bağlı dokularda büyüme faktörü ve prostonoidlerin rolü; aspirinin etkilerini anlatan bir çalışma yapmışlar ve Aspirin'in olumlu etkilerini bulmuşlardır (154).

Makino H ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada; Prostaglandin E reseptörü EP1'e selektif bir antagonist tarafından ratlarda diyabetik nefropatinin önlenmesini araştırmışlar ve Aspirin kısmi bir düzelme sağladığını ama glomerüler hipertrofinin ve proteinürinin önüne geçemediğini bulmuşlardır. Selektif bir EP1 antagonisti olan 4-5-triflorometilfenoksimetil sinamik asit; glomerüler hipertrofiyi, matriks gen aktivasyonunu ve mesajın iletimini diyabetik ratlarda proteinüri supresyonunu tamamlayarak yapmaktadır. Buna göre PGE2-EP1 sisteminin aktivasyonunun diyabetik renal hasarın ilerlemesinde anahtar rolü oynadığını göstermektedir (155).

Yukarıdaki çalışmalar bizim çalışmamızdaki diyabetli sıçanlardaki biyokimyasal bulguları desteklemektedir. Diyabete bağlı bu hasarlarda görüldüğü üzere ROS sorumlu tutulmaktadır. Bu nedenle doğal olarak antioksidanların kullanımı çok mantıklı görünmektedir. Çalışmamızda COX-1 inhibitörü Aspirin ve COX-2 inhibitörü Nimesulid'i kullandık.

COX-1 enzimi araşidonik asitin TxA₂'ye dönüşmesini sağlar. COX-1 enzimi inhibe edildiğinde (örn. Aspirin) trombositlerdeki TxA₂ yapımındaki azalma sonucu trombosit toplanması ve vazokonstriktif etki, dolayısı ile tromboza olan eğilim azalır (106,109,126,127).

COX-2 geni inflamasyon başta olmak üzere birçok durumda uyarılabilir (17). Sitokinler ve büyüme faktörleri bu enzimin işlerliğini arttırlar

(107,108,126,128,129). İnflamatuvar süreçlerde COX–2 aktivitesinde belirgin artış olmaktadır (130). COX–2 damar çeperinde antiaterojenik ve antitrombotik etkili bir prostaglandin türü olan PGI₂ oluşumuna neden olur. Dolayısıyla COX-2 enzimini inhibe ettiğimizde (örn. Nimesulid gibi) PGI₂ oluşumu önlenmiş olur. Son zamanlarda PGI₂ in sitoprotektif etkisi için iki değişik terim kullanılmaya başlanmıştır. In vitro olarak ortaya çıkarttığı koruyucu etki "cellular protection" olarak isimlendirilmekte ve in vitro olarak trombositlerin dejenerasyonunu önleme, kardiyak miyozitleri hipoksik hasara karşı koruma, gliyal hücreleri ve nöronları anoksiye karşı koruma, hepatositleri çeşitli kimyasal hasarlara karşı koruma bu gruptan sayılmaktadır. İn vivo olarak ise iskemik cilt ülserlerinin iyileşmesini hızlandırma, beyin ve kalpte postiskemik reperfüzyon hasarını önleme, bazı maddelerin ülserojen etkisini önleme, renal transplantların perfüzyonunun artırma gibi özellikleri çeşitli çalışmalarda gösterilmiş ve bu koruyucu etki "histoprotection" olarak isimlendirilmiştir (156). Bu nedenle Nimesulid'in COX-2 enzimini inhibe edip PGI₂ oluşumu engelleyerek diyabete bağlı histopatolojik bozuklukları düzeltmediği görüldü. Buna karşın Aspirin, uygulanan dozda sadece COX-1 inhibe ettiğinden PGI₂ sentezlenmesi devam etmektedir. Bu olumlu etkisini çalışmamızda görmekteyiz.

Son zamanlarda Aspirin'in antioksidant özelliği olduğu ve endotel hücrelerini hidrojen peroksit ve özellikle demir-kaynaklı oksijen radikallerini engelleyerek koruduğu çalışmalarda görülmektedir (157).

Doğu Kanada'daki Montreal Üniversitesindeki Araştırmacılar; uzun süreli aspirin tedavisinin göze çarpan şekilde vasküler süperoksit anyon üretimini azalttığı ve aortun dilatasyonunda antioksidan özellikler olduğu sonucuna varmışlardır (158).

Nimesulid dokudaki prostaglandin sentezini ve in vivo histamin salınımını kompetitif olarak inhibe eder, in vitro olarak aktive edilmiş nötrofiller tarafından süperoksit anyon üretimini artırır ve fagositik proses süresince myeloperoksidaz yoluyla oluşturulan ekstrasellüler hipoklorüs asidin direkt temizlenme olayını etkiler (159). Nimesulid ve Nimesulid'in ana metabolitlerinin antioksidan aktiviteleriyle

ilgili yapılan bir çalışmada Nimesulid ve metabolitlerinin çeşitli serbest radikallere karşı direkt antioksidant aktiviteye sahip oldukları bulunmuştur. (159)

Araştırmalar neticesinde, Nimesulid'in olağanüstü güvenilir, ağrılı ve enflamasyonlu proseslerin tedavisinde son derece etkili bir müstahzar olduğu ve yaşlı kişiler veya asetilsalisitik asit ve diğer NSAİİ'lara karşı hassas olan ve enflamasyonu önleyici tedaviye ihtiyaç duyan hastalar ve geleneksel NSAİİ'lerin sebep olabileceği yan etkilere maruz kalma riski bulunan hastalarda kullanılabilir bir alternatif tedavi olanağı teşkil ettiği kanıtlanmıştır (160). Ancak COX-2 inhibitörü oluşunun dezavantajı olan PGI₂ oluşumunu azaltması diyabete bağlı hasarda kullanımının yararlı olmadığını ve Nimesulid verilen gruptaki erken ölümlerin de buna bağlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak; Aspirinin diyabetli ratlarda damar ve böbrek dokusunda oluşan hasarda Nimesulid'e göre daha etkili olduğu görüldü. Bunun nedeni yukarıda da yazıldığı üzere Asprin'in PGI₂ sentezine dokunmaması ve TXA₂ sentezini çok düşük dozlarda dahi bloke etmesine ayrıca antioksidan özelliğinin olmasına bağlı olabilir.

Diyabetik ratlarda Aspirin ve Nimesulidin diabete bağı doku hasarı üzerine olan etkileri

Aspirin ve Nimesulid nonsteroid antiinflamatuvar özellikleriyle beraber antioksidan ve antiagregan özelliklere sahiptirler. Bu deneysel çalışmada antioksidan özelliği olan Aspirin ve Nimesulid'in streptozotosinle oluşturulan diyabetik ratlarda, vasküler sistem ve böbrek dokusu üzerine hasarını azaltmasını araştırdık.

Çalışmamızda her bir grupta 10'ar adet rat olmak üzere 4 grup vardı. Gruplar; Kontrol, DM (STZ 50 mg/kg, i.p tek doz), DM + Asp (10mg/kg/gün, gavaj,6 hafta) ve DM + Nim (18 mg/kg/gün, gavaj, 6hafta) şeklindedir. Reaktif oksijen radikallerinin (ROS) göstergesi olan biyokimyasal parametrelerden MDA, GPx, CAT ve SOD düzeylerine bakılırken, aort ve böbrek dokusu histopatolojik olarak da değerlendirildi.

DM ve Kontrol grupları karşılaştırıldığında; DM grubunda MDA düzeyi Kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek ($p<0,05$) bulunurken, GPx ve SOD düzeyleri açısından istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanamamıştır ($p>0,05$). Aspirin verilen DM'li grupta ise MDA ve GPx düzeyi anlamlı olarak düşmüştür ($p<0,05$). Nimesulid ise sadece MDA'yı anlamlı olarak azaltmıştır ($p<0,05$). DM'li grupta CAT düzeyi anlamlı olarak düşmüş ve Aspirin ve Nimesulid ise bu düşüşü anlamlı olarak önlemiş ve Kontrol düzeyine çıkarmıştır. Biyokimyasal bulgularımıza paralel olarak, diyabetik ratlarda böbrek dokularının histolojik incelemelerinde oksidatif hasarın göstergesi olabilecek bulgular izlendi. DM grubu ile Kontrol grubu karşılaştırıldığında bu bulgular anlamlı olarak ($p<0,05$) farklı iken Aspirin verilmiş DM'li grupta bu histopatolojik değişiklikler hafif derecede gözlendi. Ancak Nimesulid verilen DM'li grupta ise yukarıdaki histopatolojik değişikliklerin DM'li gruptakine benzer olduğu gözlendi. Yani Nimesulid Aspirin kadar diyabetin sebep olduğu histopatolojik bozuklukları düzeltemedi.

Sonuç olarak Aspirin'in diyabetli ratlarda damar ve böbrek dokusunda oluşan hasarda Nimesulid'e göre daha etkili olduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, Aspirin, Nimesulid, Oksidatif doku hasarı, Antioksidant

Effects of Aspirin and Nimesulide on tissue damage depending on diabet in diabetic rats

With nonsteroidal anti-inflammatory properties, Aspirin and Nimesulide also have antioxidant and antiagregation properties. In this experimental study, the reduction of damage on vascular system and kidney tissue of rats that were induced diabetic with STZ, was investigated by using Aspirin and Nimesulide which have antioxidant properties.

In this study, there were four groups and each of them consisted of ten animals. These four groups classified as; Control, DM (STZ 50 mg/kg, i.p single dose), DM + Asp (10mg/kg/day, po,6 weeks) ve DM + Nim (18 mg/kg/day, po, 4 weeks). While the level of MDA, GPx, CAT and SOD, biochemical parameters of ROS, were gazing at, the kidney tissue and aort were also evaluated as hystopatological situation. When DM and Control groups were compared, it was established that the level of MDA in DM group was significantly higher than Control group ($p < 0,05$). On the other hand, according to the levels of GPx and SOD and from the point of statically, significant difference wasn't established. However, in DM group treated with Aspirin, levels of MDA and GPx decreased significantly ($p < 0,05$). Nimesulide was only decreased MDA level significantly ($p < 0,05$). In DM group, the level of CAT decreased significantly but Aspirin and Nimesulide prevented decrease significantly and increased it to Control levels.

Together with biochemical findings, according to the hystological investigation on kidney tissue of diabetic rats, it was observed that there could be signs of oxidative damage. When DM and Control groups compared, while these findings were significantly different ($p < 0,05$), in DM group treated with Aspirin, this hystopatological damages observed lightly. However, in DM group treated with Nimesulide the same hystopatological damages with DM group were observed. It means that Nimesulide didn't cure the hystopatological damages that were caused by diabetic as Aspirin.

As a result, it has been determined that Aspirin was more effective than Nimesulide about improving the damages on vascular and kidney tissue of diabetic rats.

Key words: Diabet, Aspirin, Nimesulide, Oxidative Tissue Damage, Antioxidant.

KAYNAKLAR

1. **Guyton AC ve Hall JE (2001)**, Medical Physiology. 10th Ed., Philedelphia, W.B. Saunders Company
2. **Quinn L (2002)**, *Mechanism in The Development of Type II Diabetes Mellitus*. Journal of Cardiovascular Nursing, 16(2), 1-16.
3. **ADA (American Diabetes Association, 2005)**, *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*. Diabetes Care, 28(suppl 1), S37-S43.
4. **Murray RK, Granner DK, Mayes PA ve Rodwell VW (1996)**, Harper's Biochemistry. 24th Ed., Connecticut, Appleton and Lange.
5. **Davidoff AJ, Rodgers RL**. *Insulin, thyroid hormone and heart function of diabetic spontaneously hypertensive rat*. Hypertension 15(6), 633-642, 1990.
6. **Das K, Chainy GBN**. *Modulation of rat liver mitochondrial antioxidant defense system by thyroide hormone*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease 1537(1), 1-13, 2001.
7. **Altan N, Buğdaycı G, Tutkun-Kosova F, Sancak-Çaycı B, Nazaroğlu NK**. *The influence of the sulfonylurea glyburide on nitric oxide in streptozotocin induced diabetic rat*. General Pharmacology 31(2), 319-321, 1998.
8. **Basu TK (1999)**, *Potential Role of Antioxidant Vitamins*. **Kitap:** Basu TK, Temple NJ, Garg ML, Antioxidant in Human Health and Disease. New York CABI Publishing, 2. Bölüm, 15-27.
9. **Bonnefont Rousselot D, Bastard JP, Jaudon MC ve Delattre J (2000)**, *Consequenses of The Diabetic Status on The Oxidant/Antioxidant Balance*. Diabetes and Metabolism, 26, 163-176.
10. **Griffin JE ve Ojeda SR (1992)**, *Textbook of Endocrine Physiology*. 2nd Ed., New York, Oxford University Press.
11. **Jain SK, McVie R, Duett J ve Herbst JJ (1999c)**, *Erythrocytemembrane lipid peroxidation and Glicosylated Hemoglobin in Diabetes*. Diabetes, 38(12), 1539-1543.
12. **Gumieniczek A, Hopkala H, Wojtowicz Z ve Nikolajuk J (2002)**, *Changes in Antioxidant Status of Heart Muscle Tissue in Experimental Diabetes in Rabbits*. Acta Biochemica Polonica, 49(2), 529-532.
13. **Devasena T, Lalitha S ve Padma K (2001)**, *Lipid peroxidation, Osmotic fragility and Antioxidant Status in Children with Acute Post-Streptococcal Glomerulonephritis*. Clinica Chimica Acta, 308, 155-161.
14. **Marco E. Turini, Raymond N. DuBois**. *Cyclooxygenase-2: A Therapeutic Target*. Annu. Rev. Med. 53: 35-57, 2002.
15. **Madrıgal I L, Lopez H S, Alcalá F C**. *Inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa-2: Usos potenciales en perros*. Vet Mex; 33 (3): 285-307, 2002.
16. **Norian G, Clive D**. *Cyclo-oxygenase-2 inhibitors and the kidney: a case for caution*. Drug Saf.; 25 (3): 165-72 , 2002
17. **Campbell K L, De Beaux A C**. *Non steroidal anti-inflammatory drugs and appendicitis in patients aged over 50 years*. Br J Surg. Sep; 79 (9): 967-8 ,1992
18. **Champe PC ve Harvey RA (1997)**, *Biyokimya*. **Çeviri kitap:** Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E, Eds., 2. Baskı, İstanbul Nobel Tıp Kitapevleri.
19. **İliçin, Ünal, Biberoğlu, Akalın, Süleymanlar**. *Temel İç Hastalıkları*, 1. Baskı. Ankara, Güneş Kitabevi, Cilt:2 (EKİ) 1-5, 1997. 1
20. **Sodeman WA, Sodeman TM**. *Sodeman's Pathologic Physiology Mechanisms of Disease*, Türkçe 1. Baskı. Ankara, Türkiye Klinikleri Yayınevi, 2. cilt 1154-1155, 1992. 2
21. **Yenal S**, *Diyabetin Prehospital Tedavisi*, EMS October 2000 (pp 78-85) 3
22. **The expert committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus**. *Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus*. Diabetes Care 26:5-20, 2003. 4
23. **Gispén WH, Biessel G.J**. *Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus*. Trend Neurosci 23(11):542-549,2000. 5
24. **Haris MI, Hadden WC, Knowler WC, Bennett PH**. *Prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance and plasma glucose levels in U.S. population aged 20-74 yr*. Diabetes 36(4):523-534, 1987. 6

25. **Endocrinology and metabolism clinics of north America.** Vol 28.Number 4. Dec 1999 7
26. **Somogyi A, Ruzicska E, Blazovics A, Ver A, Rotsa K, Toht M.** *Insulin treatment decreases the antioxidant defence mechanism in experimental diabetes.* Met Sci Monit, 11(7): BR 206-211, PMID:15990681, 2005. 23
27. **Varughese GI, Tomson J, Lip GYH.** *Type 2 diabetes mellitus: a cardiovascular perspective.* Doi:10.1111/j.1368-5031, 00571.x., 2005. 24
28. **Bone AJ, Gwillam DJ,** *Animal models of insulin-dependent diabetes mellitus Textbook of Diabetes,* chapter 16, 1998. 8
29. **Tomita T, Lacy PE, Matschinsky FM, McDaniel ML.** *Effect of alloxan on insulin secretion in isolated rat islets perfused in vitro.* Diabetes 23:517-524, 1974. 9
30. **Malaisse WJ.** *Alloxan toxicity to the pancreatic β -cell.* Biochem Pharmacol31:3527-3534, 1982. 10
31. **Nakhooda AF, Like AA, Chappel CI, Murray FT, Marliss EB.** *The spontaneously diabetic Wistar rat. Metabolic and morphologic studies.* Diabetes 26:100-112, 1976. 11
32. **Hanahan D.** *Transgenic mice as probes into complex systems.* Science 246:1265-1275, 1989. 12
33. **Leiter FH.** *Current topics in immunology and microbiology: the role of microorganisms in non-infectious disease.* In: Vries RD, Cohen I, Van Rood JJ. Springer-Verlag 39-55, 1990. 13
34. **Like AA, Rossini AA.** *Streptozotocin-induced pancreatic insulinitis: a new model of diabetes mellitus.* Science 193:415-417,1976. 14
35. **Schnedl WJ, Feber S, Johnson JH, Newgard CB.** *STZ transport and cytotoxicity. Specific enhancement in GLUT-2-expressing cells.* Diabetes 43(11): 1326-1333, 1994. 15
36. **Kaputlu I, Özdem S, Şadan G, Gökalp O.** *Effects of diabetes on non-adrenergic, non-cholinergic relaxation induced by GABA and electrical stimulation in the rat isolated duodenum.* Clin Exp Pharmacol Physiol 26:724-728, 1999. 16
37. **Daloğlu AG,** *Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda E Vitamini Ve Kafeik Asit Fenetil Ester'in (Cape) Antioksidan Etkilerinin Karşılaştırılması,* Tıpta uzmanlık tezi, SDÜ Tıp Fak. Fizyoloji ABD., Isparta, 2003. 17
38. **Metin S, Gökmen SS, Ayhan MS, Aygıt AC, Gülen Ş.** *Cahanges in tusue arginase activity and ornithinelevel in Streptozotocin (STZ), induced in diabetic rats.* Türk Biyokimya Dergisi, Cilt 27, Sayı:4, 129-134, 2002. 18
39. **Köroğlu Ş, Aşçıoğlu M, Küçük A.** *The effect of experimental diabetes on the ağabeylity of learning in rats.* E.Ü. Journal of health sciences, 13(3), 52-58, 2004. 19
40. **Ömeroğlu S, Çam M, Erdoğan D, Görgün M, Lortlar N, Dinçer S.** *Immunohistochemical Demostration of unsuln like Growth factor-I localisation in the skin wounds of streptozotocin administered experimental diabetic rats.* Düzce tıp Fak. Dergisi 5(2): 5-8, 2003. 20
41. **Ersöz HÖ, Gogas D, Budak Y, Akalın S.** *The effect of specific angiotensin receptor antagonist losartan on diabetic nephropaty in diabetic rat model.* Office Journal of the Turkish Nephrology Association 106-111, 1997. 21
42. **Karabay G, Erdoğan D, Take G, Karasu Ç.** *The ultrastructural analysis of the effects of probucol on endocrin pancreas tissue in experimentaly induced diabetes mellitus.* Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi dergisi, 31(1), 5-8, 2005. 22
43. **Woods JR, Canavaugh JL, Narkus EP, Plessinger MA ve Miller RK (2002).** *The Effect of Labor on Maternal and Fetal Vitamins C and E.* American Journal of Obstetrics Gynecology, 185, 5-10.
44. **Thannickal VJ ve Fanburg BL (2000),** *Reactive Oxygen Species in Cell Signaling.* American Journal of Physiology. Lung Cell Molecular Physiology, 279, L1005-L1028.
45. **Seshiah PN, Weber DS, Rocic P, Valppu L, Taniyama Y ve Griendling KK (2002),** *Angiotensin II Stimulation of NADPH Oxidase Activity: Upstream Mediators.* Circulation Research, 91, 406-413.
46. **Cherubini A, Ruggiero C, Polidori MC, Mecocci C:** *Potential markers of oxidative stres in stroke.* Free Radical Biology & Medicine. 39: 841-852, 2005. 4x
47. **Young IS, Woodside JV.** *Antioxidants in health and disease.* J Clin Pathol 54:176-186, 2001. 6x

48. **Opara EC, Abdel-Rahman E, Soliman S, Kamel WA, Souka S ve Lowe JE (1999)**, *Depletion of Total Antioxidant Status Capacity in Type II Diabetes*. *Metabolism*, 48(11),1414-1417.
49. **Prasad K, Karla J, Chan P ve Chaudhary AK (1989)**, *Effect of Oxygen Free Radicals on Cardiovascular Function at Organ and Cellular Levels*. *American Heart Journal*, 117, 1196-1202.
50. **Giles NM, Giles GI, Holley JE, Gutowski NJ ve Jacob C (2003)**, *Targeting Oxidative Stress-Related Diseases: Organochalcogen Catalysts as Redox Sensitizers*. *Biochemical Pharmacology*, 66, 2021-2028. ,
51. **Gutteridge JMC ve Halliwell B (1994)**, *Oxidative Stress ,Antioxidants in Nutrition Health and Disease*. New York , NY Pres.
52. **Jain SK (1999a)**, *Oxidative Stress, Vitamin E and Diabetes*. Kitap: Basu TK, Temple NJ, Garg ML, *Antioxidants in Human Health and Disease*. UK, CABI Publishing.
53. **Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA ve Grodsky GM (2003)**, *Are Oxidative Stress-Activated Signaling Pathways Mediators of Insulin Resistance and β -Cell Dysfunction*. *Diabetes*, 52, 1-8.
54. **Patockova J, Marhol P, Tüмова E, Kršiak M, Rokyta R, Stipek S, Crkovska J ve Andel M (2003)**, *Oxidative Stress in the Brain Tissue of Laboratory Mice with acute Post Insulin Hypoglycemia*. *Physiological Research*, 52, 131-135.
55. **Kaneko JJ, Harwey JW ve Brust ML (1980)**, *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 3rd Ed., London, Academic Press, Inc. Ltd.
56. **Zima T, Crkovska J, Merta M, Stipek S, Nemecek K ve Tesar V (1995)**, *Activity of the Antioxidant Enzymes, Glutathione Peroxidase, on Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease Patient*. *Biochemical Molecular Biology International*, 35(4), 699-704.
57. **Young IS, Woodside JV**. *Antioxidants in health and disease*. *J Clin Pathol* 54.176-186, 2001.
58. **Niki E, Yoshida Y, Saito Y, Noguchi N**: *Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 338:668-676, 2005
59. **Masella R, Benedetto RD, Vari R, Filesi C, Giovannini C**. *Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes*. *Journal of Nutritional Biochemistry*.16:577-586, 2005.
60. **Stephen B, Kyle L, Yong X, Cynthia A, Donald E, Earl F, James E**. *Role of Oxidative Stress in the: Mechanism of Dieldrin's Hepatotoxicity*. *Annals of Clinical and Laboratory Science*.; 27(3): 196–208, 1997.
61. **Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL**. *Oxidative stress in pathogenesis of Diabetic Neuropathy*. *Endocrine Reviews*. 25:612-628,2004.
62. **Memisogullari R, Bakan E**. *Levels of ceruloplasmin, transferrin and lipid peroxidation in the serum of patients with type 2 diabetes mellitus*. *Journal of diabetes and its complications*. 18:193-197,2004.
63. **Sekeroglu MR, Sahin H, Dulger H,Algun E**. *The effect of dietary treatment on erythrocyte lipid peroxidation , superoxide dismutase, glutathione peroxidase and serum lipid peroxidation in patients with type 2 diabetes mellitus*. *Clin Biochem* 33:669-674, 2000.
64. **Ozmen B, Ozmen D, Turgan N, Habif S, Mutaf I, Bayindir O**. *Association between homocysteinemia and renal function in patients with type 2 diabetes mellitus*. *Ann Clin Lab Sci*. 32:279-86, 2002.
65. **Powell SR (2000)**, *The Antioxidant Properties of Zinc*. *Journal of Nutrition* 130, 1447S-1454S.
66. **Brezinska S, Slobodzinska E (2001)**, *Erythrocyte Osmotic Fragility Test as the Measure of Defence Against free Radicals in Rabbits of different age*. *Acta Veterinaria Hungarica*, 49(4), 413-419.
67. **Koçyiğit A, Erel Ö ve Gür S (2002)**, *Effects of Tobacco Smoking on Plasma, Selenium, Zinc, Copper and Iron concentrations and related Antioxidative Enzyme Activities*. *Clinical Biochemistry*, 34, 629-633.
68. **Kleczkowski M, Klucinski W, Sikora J, Zdanowicz M ve Dziekan P (2003)**, *Role of the antioxidants in the protection against oxidative stress in cattle-nonenzymatic mechanisms (Part 2)*. *Polish Journal of Veterinary Science*, 6(4), 301-308.

69. **Armstrong DA (1998)**, *Methods in Molecular Biology*. Volume 108, Toronto, Humana Press.
70. **McIntyre M, Bohr DF ve Dominiczak AF (1999)**. *Endothelial Function in Hypertension: The Superoxide Anion*. *Hypertension*, 34, 539-545.
71. **Taysi S, Polat F, Gul M, Sari RA, Bakan E**: *Lipid peroxidation, some extracellular antioxidants and antioxidant enzymes in serum of patients with rheumatoid arthritis*. *Rheumatology International*. 21 (5): 200-204, 2002. 25x
72. **Taysi S, Gul M, Sari RA, Akcay F, Bakan N**: *Oxidant/antioxidant status in serum of 34 patients with systemic lupus erythematosus*. *Clin Chem Lab Med*. 40:684-688, 2002 26x
73. **Memisogullari R, Taysi S, Bakan E, Capoglu I**: *Antioxidant status and lipid peroxidation in type II Diabetes Mellitus*. *Cell Biochem. Func*. 21: 291-296, 2003. 2x
74. **Abou-Seif MA, Youssf A**. *Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients*. *Clinica Chimica Acta* 346(2004) 161-170. 12x
75. **Aydin A, Orhan H, Sayal A, Ozata M, Sahin G, Isimer A**. *Oxidative stres and nitric oxide related parameters in type II diabetes mellitus: effects of glycemic control*. *Clinical Biochemistry* 34 (2001) 65-70. 21x
76. **Komosińska-Vashev K, Olczyk K, Olczyk P, Winsz-Szczotka K**. *Effects of metabolic control and vascular complications on indices of oxidative stress in type 2 diabetic patients*. *Diabetes Research and Clinical Practice* 68 (2005) 207-216. 29x
77. **Taysi S, Kocer I, Memisogullari R, Kiziltunc A**: *Serum oxidant/antioxidant status in patients with Behcet's disease*. *Ann Clin Lab Sci*. 32(4):377-382, 2002. 28x
78. **Armstrong DA (1998)**, *Methods in Molecular Biology*. Volume 108, Toronto, Humana Pres.
79. **Akkus I, Kalak S, Vural H, Caglayan O, Menekse E, Can G, Durmus B**. *Leukocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and serum and leukocyte vitamin C levels of patients with type 2 diabetes mellitus*. *Clin Chim Acta*. 244:221-227, 1996. 30x
80. **Chao JC, Huang CH, Wu SJ, Yang SC, Chang NC, Shieh MJ, Lo PN**. *Effects of beta-carotene, vitamin C and E on antioxidant status in hiperlipidemic smokers*. *J Nutr Biochem*. 13: 427-434, 2002. 31x
81. **Jialal I, Grundy SM**: *Effects of combinede supplementation with alpha-tocopherol, ascorbate, and beta carotene on low-density lipoprotein oxidation*. *Circulation*. 88:2780-2786, 1993. 33x
82. **Van Haften RI, Evelo CT, Penders J, Eijnwachter MP, Haenen GR, Bast A**. *Inhibition of human glutathione S-transferase P1-1 by tocopherols and alpha-tocopherol derivatives*. *Biochim Biophys Acta*. 1548: 23-28, 2001. 34x
83. **Baynes JW, Thorpe SR**. *Role of oxidative stres in diabetic complications: A new perspective on an old paradigm*. *Diabetes* 48(1), 1-9, 1999.
84. **Altan N, Ongun CÖ, Hasanoğlu E, Engin A, Tuncer C, Sindel P**. *Effects of the Sulfonylurea Glyburide on Superoxide Dismutase Activity in Alloxan Induced Diabetic Rat Hepatocytes*. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 22(2-3), 95-98, 1994.
85. **Altan N, Ongun CÖ, Elmalı E, Kılıç N, Yavuz Ö, Sancak B**. *Effects of the Sulfonylurea Glyburide on Glutathione and Glutathione Peroxidase Activity in Alloxan Induced Diabetic Rat Hepatocytes*. *General Pharmacology* 25(5), 875-878, 1994.
86. **Saxena AK, Srivastana P, Kale RK, Baquer NZ**. *Impaired antioxidant status in diabetic rat liver. Effect of vanadate*. *Biochemical Pharmacology* 45(3), 539-542, 1993.
87. **Elmalı E, Altan N, Bulan N**. *Effect of sulphonylurea glibenclamide on liver and kidney antioxidant enzyme in streptozotocin-induced diabetic rats*. *Drugs R.D*. 5(4), 203-208, 2004.
88. **Kılıç N, Malhatun E, Elmalı E, Altan N**. *An Investigation into the Effects of the Sulfonylurea Glyburide on Glutathione peroxidase activity in Streptozotocin-Induced Diabetic Rat Muscle Tissue*. *General Pharmacology* 30(3), 399-401, 1988.
89. **Tiedge M, Lortz S, Drinkgern J, Lenzen S**. *Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidative defense status of insulin-producing cells*. *Diabetes* 46, 1733-1740, 1997.
90. **Tiedge M, Lortz S, Munday R, Lenzen S**. *Complementary action o antioxidant enzyme in the protection of bioengineered insulin-producing RIN m5f cells against the toxicity of reactive oxygen species*. *Diabetes* 47(10), 1578-1585, 1998.
91. **Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Poitout V**. *β -cell glucose toxicity, lipotoxicity, and chronic oxidative stres in type 2 diabetes*. *Diabetes* 53(supplement 1), 119-124, 2004.

92. Houslay MD. 'Crosstalks': a pivotal role for protein kinase C in modulating relationships between signal transduction pathways. *European Journal of Biochemistry* 195(1), 9-27, 1991.
93. Donalith MY, Gross DJ, Cesari E, Kaiser N. Hyperglycemia-induced β cell apoptosis in pancreatic islets of Psammoys obesus during development of diabetes. *Diabetes* 48(4), 738-744, 1999.
94. Giugliano I, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stres and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 19(3), 257-267, 1996.
95. Rösen P, Du X, Tschöpe D. Role of oxygen derived radicals for vascular dysfunction in the diabetic heart: prevention by α -tocopherol. *Molecular and Cellular Biochemistry* 188(1-2), 103-111, 1998.
96. Du X, Stockklauser-Farber K, Rösen P. Generation of reactive oxygen intermediates, activation of NFKappaB, and induction of apoptosis in human endothelial cells by glucose: role of nitric oxide synthase. *Free Radical Biology and Medicine* 27(7-8), 752-763, 1999.
97. Ceriello A. Acute hyperglycemia and oxidative stres generation. *Diabetic Medicine* 14(Supplement 3), 45-49, 1997.
98. Das K, Chainy GBN. Modulation of rat liver mitochondrial antioxidant defense system by thyroide hormone. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Molecular basis of disease* 1537(1),1-13, 2001.
99. Dean RT, Fu S, Stocker R, Davies MJ. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochemical Journal* 324(1),1-18, 1997.
100. Dillar CJ, Downey JE, Tappel AL. Effect of antioxidants on lipid peroxidation in iron loaded rats. *Lipids* 19(2),127-33, 1984.
101. Wang JF, Greenberg SS, Spitzer JJ. Chronic alcohol administration sitimulates nitric oxide formation in the rat liver with and without pretreatment by lipopolysaccharide. *Alcohol Clin Exp Res.* 19:387-393, 1995.
102. Koçar İ H, Halbant S, Turan M. Nonsteroid antiinflatuar ilaçların klinik kullanımı. *Klinik bilimler* (1), 28-46, 1997.
103. Vane J. Selektif COX-2 inhibitörlerinin ortaya çıkması. COX-2 inhibitörlerine olan inanışlar ve gerçekler. Abstract from an international syposium: 7, 23-24 April 2001.
104. Haşçelik Z. Nonsteroid antiinflatuar ilaçlar. *Sted.* 10: 25-28, Ocak 2001.
105. Kosaka T, Miyata A, Ihara H, et al. Characterization of the human gene (PTGS2) encoding prostaglandin-endoperoxide synthase 2. *Eur. J. Biochem.* 221: 889-97. 1994.
106. Yeğin A. Nonsteroid antiinflatuar ilaçlar. *Türkiye Klinikleri Farmakoloji Özel* 2(1): 46-51, 2004
107. Hinz B, Brune K. Cyclooxygenase-2-10 years later. *J Pharmcol Exp Ther* 300 (2): 367-75, Feb 2002.
108. Ketenci A. Nonsteroid antiinflatuar kullanımına yeni bakış; COX-1, COX-2. *Prognoz* 1 (4): 210-17, 1998.
109. Tıkız C. Selektif Siklooksijenaz-2 (COX-2) inhibitörleri KOKSİB'ler; <http://www.ftr.org.tr/Dergi>
110. Deniz G, Saygı Ş. Selektif COX-2 inhibitörlerinin klinik önemi ve gastrointestinal toksisitesi olmayan yeni antiinflatuvar ajanlar. *Tıp Bilimleri Dergisi* 20; 2,2000.
111. Oktay Ş. Antiinflatuar İlaçlar. *Farmakoloji: Nobel Tıp Kitapevleri*; 401-19
112. Mardini I A, Fitzgerald G A. Selective inhibitors of cyclooxygenase-2: Agrowing class of antiinflammatory drugs. *Molecular Interventions*; 1 (1): 30-8, April 2001
113. Narushima S, Spitz D R, Oberley L W, Toyokuni S, Miyata T, Gunnett C A ve ark. Evidence for oxidative stress in NSAID-Induced colits in IL10-/-Mıce. *Free Radical Biology&Medicine*;34 (9): 1153-66, 2003
114. Gökçimen A, Akdoğan M, Karaöz E, Çiçek E, Malas M A, Öncü M. Yüksek doz diklofenak sodyum uygulanan sıçanların karaciğer ve böbrek dokularında meydana gelen yapısal ve biyokimyasal değişiklikler. *Yeni Tıp Dergisi*; 17 (2) 72-77, 2000
115. Madrigal I L, Lopez H S, Alcalá F C. Inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa-2: Usos potenciales en perros. *Vet Mex*; 33 (3): 285-307, 2002
116. Kraemer SA, Meade EA, DeWitt DL. Prostaglandin endoperoxide synthase gene structure: identification of the transcriptional start site and 5'- flanking regulatory sequences. *Arch. Biochem. Biophys.* 293:391-400, 1992.

117. **Otto JC, Smith WL.** *Prostaglandin endoperoxide synthase-1 and 2.* J. Lipid Mediat. Cell Signal. 12:139-56, 1995.
118. **Raz A, Wyche A, Siegel N, et al.** *Regulation of fibroblast cyclooxygenase synthesis by interleukin 1.* J. Biol. Chem. 263:3022-28, 1988.
119. **Reed Dw, Bradshae WS, Xie W, et al.** *In vivo and in vitro expression of a non-mammalian cyclooxygenase-1.* Prostaglandins. 52:269-84, 1996.
120. **Herschman HR.** *Prostaglandin synthase 2.* Biochim. Biophys. Acta 1299:125-40, 1996.
121. **Smith W, Garavito R, DeWitt D.** *Prostaglandin endoperoxide H synthase (cyclooxygenase)-1 and 2.* J. Biol. Chem. 271:33157-60, 1996.
122. **Fosslien E.** *Biochemistry of cyclooxygenase (COX)-2 inhibitors and molecular pathology of COX-2 in neoplasia.* Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. 37:431-502, 2000.
123. **Kutchera W, Jones DA, Matsunami N, et al.** *Prostaglandin H synthase-2 is expressed abnormally in human colon cancer: evidence for transcriptional effect.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 4816-20, 1996.
124. **Reddy ST, Herschman HR.** *Transcellular prostaglandin production following mast cell activation is mediated by proximal secretory phospholipase A₂ and distal prostaglandin synthase 1.* J. Biol. Chem. 271:186-91, 1996.
125. **Shao J, Sheng H, Inonue H, et al.** *Regulation of constitutive cyclooxygenase-2 expression in colon carcinoma cells.* J. Biol. Chem. 275:33951-56, 2000.
126. **Ertenli İ, Öztürk M A.** *Spesifik COX-2 İnhibitörleri.* Romatizmal Hastalıklara Giriş.;16: 208-16, 2000.
127. **Şahin A.** www.algoloji.org.tr/analjezikler Türk Algoloji Derneği
128. **Bjarnason I, Zanelli G, Smith T, Prouse P, Williams P, Smethurst P ve ark.** *Non-steroidal Antiinflammatory drug-induced intestinal inflammation in humans.* Gastroenterology Seb.; 93 (3): 480-9, 1997
129. **Aspirin ve kolon kanseri Tıp Bilimleri Dergisi.** Journal Of Medical Sciences
130. **Krause M M, Brand M D, Krauss S, Meisel C, Vergn H, Burmester G R, Butt-gereit F.** *Nonsteroidal antiinflammatory drugs and a selective cyclooxygenase 2 inhibitor uncouple mitochondria in intact cells.* Arthritis Rheum; 48: 1438-44, 2003
131. **Kayalp S.O.** Rasyonel tedavi yönünden Tıbbi farmakoloji Ankara: Feryal matbaası 1998
132. **Melih Ö, Babaoğlu M D.** Non-Steroid antiinflatuvar ilaçların farmakolojisi ve gut tedavisinde kullanılan ilaçlar
133. **Eryavuz M S.** *Ağrı Tedavisinde Nonsteroid Antiİnflatuvar İlaçların Etki ve güvenirligi.* Novartis Med. Aralık; 12: 66, 2004
134. **Gökalp O, Mollaoğlu H.** *Uygunsuz ilaç kullanımı.* Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi;10: 17-20, 2003
135. **Kiraz S, Öztürk M A.** *Nonsteroid antiinflatuvar ilaçlar.* Romatizmal Hastalıklara Giriş.;16: 195-207 , 2000
136. **Magni E.** *The effect of Nimesulide on prostanoid formation.* Drugs 46(suppl. 1): 10-14, 1993
137. **Tubic B., Ivkovic B., Zecevic M. and Vladimirov S.** *Simultaneous determination of nimesulide and its impurities in pharmaceutical formulations by reversed-phase high performance liquid chromatography.* Acta chim. Slov. 54:583-590, 2007.
138. **Rainsford K.D.** *Current status of the therapeutic uses and actions of the preferential cyclooxygenase-2 NSAID, nimesulide.* Inflammopharmacology 14; 120-137, 2006
139. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Nimesulid/Aspirin>
140. **Mason PJ, Freedman JE, Jacobs AK.** *Aspirin resistance: current concepts.* Rev Cardiovasc Med;5:156-63, 2004
141. **Schorr K.** *Aspirin and platelets: the antiplatelet action of aspirin and its role in thrombosis treatment and prophylaxis.* Semin Thromb Hemost;23:349-56, 1997
142. **Patrono C, Collier B, Dalen JE, FitzGerald GA, Fuster V, Gent M, et al.** *Platelet-active drugs : the relationships among dose, effectiveness, and side effects.* Chest 2001; 119(1 Suppl):39S-63S.
143. **Awtry EH, Loscalzo J.** *Aspirin.* Circulation;101: 1206-18, 2000.
144. **Fateh-Moghadam S, Plockinger U, Cabeza N, Htun P, Reuter T, Ersel S, et al.** *Prevalence of aspirin resistance in patients with type 2 diabetes.* Acta Diabetol 2005; 42:99-103.

145. **Watala C, Golanski J, Pluta J, Boncler M, Rozalski M, Luzak B, et al.** *Reduced sensitivity of platelets from type 2 diabetic patients to acetylsalicylic acid (aspirin)-its relation to metabolic control.* *Thromb Res* 2004;113: 101-13.
146. **Sun Y, Larry WO, Ying Li.** *Simple method for clinical assay of superoxide dismutase.* *Clin Chem.* 34(3): 497-500, 1988.
147. **Paglia DE, Valentine WN.** *Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase.* *J Lab Clin Med.* 70(9): 158-169, 1967.
148. **Aebi H.** *Catalase in vitro.* *Enzymol.* 105: 121-126, 1984.
149. **Drapper HH, Hadley M.** *Malondialdehyde determination as index of lipid peoxidation.* *Methods Enzymol.* 186: 421-431, 1990.
150. **A. Abdel-wahhab, s. A. Nada and m. S. Arbid,** *Ochratoxicosis: Prevention of developmental toxicity by L-methionine in rats m.* *Journal of applied toxicology, J. Appl. Toxicol.* 19, 7–12 (1999)
151. **Vardı N, Uçar M, Iraz M, Öztürk F.** *Morphological changes of rat endocrine pancreas in experimental diabetes.* *T Klin Tıp Bilimleri* 23.27-32, 2003.
152. **Patumraj S, Tewit S, Amatyakul S, Jariyapongskul A, Maneesri S, Kasantikul V, Shepro D.** *Comparative effects of Garlic and Aspirin on diabetic cardiovascular complications.* *Drug Delivery,* 7:91-96, 2000.
153. **Khanduja KL, Sohi KK, Pathak CM, Kaushik G.** *Nimesulide inhibits lipopolysaccharid-induced production of superoxide anions and nitric oxide and iNOs expression in alveolar macrophages.* *Life sciences* (78), 1662-1669,2006.
154. **Makino H, Mukoyama M, Sugarawa A, Mori K, Suganami T, Yahata S, Fujigana Y, Yokoi H, Tanaka I, Nakao K.** *Roles of connective tissue growth factor and prostanoids in early streptozotocin-induced diabetic rat kidney : the effect of aspirin treatment.* *Clin Exp Nephrol,* 7:33-40, 2003.
155. **Makino H, Tanaka I, Mukoyama M, Sugarawa A, Mori K, Muro S, Suganami T, Yahata K, Ishibashi R, Ohuchida S, Maruyama T, Narumiya S, Nakao K.** *Prevention of diabetic Nephropathy in rats by prostaglandin E receptor EPI-selective antagonist.* *J Am Soc Nephrol,* 13:1757-1765, 2002.
156. **Tulunay FC.** *Kardiyovasküler hastalıklarda Aspirin.* *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi* Cilt 10, Sayı3, 1990.
157. **Oberle S, Polte T, Abate A, Podhaisley H-T, Schröder H.** *Aspirin increases Ferritin synthesis in endothelial cells: ANovel Antioxidant Pathway.* *Journal of the American Heart Association. Circ. Res.* 82;1016-1020,1998.
158. *Aspirin has antioxidant properties.* *Circulation* 105;387, January 29 2002.
159. **Facino RF, Carini M and Adlini G.** *Antioxidant activity of nimesulide and its main metabolites.* *Drugs* 46(suppl 1):15-21, 1993.
160. **Rabasseda X.** *Nimesulid'in güvenlik profili: On yıllık klinik deneyim* *Drugs of Today* Vol 33, No:1, pp:41-50, 1997.