

I

T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOKİMYA (VET) ANABİLİM DALI

**RATLARDA DİYABETİK NÖROPATİDE ROL OYNAYAN OKSİDATİF  
HASARIN ÖNLENMESİNDE LİKOPENİN ETKİNLİĞİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Muhsin AYDIN

**Danışman**

Doç.Dr. Sefa ÇELİK

**HATAY - 2008**

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR</b>	<b>I</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b>	<b>II</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b>	<b>III</b>
<b>1.ÖZET</b>	<b>V</b>
<b>2.ABSTRACT</b>	<b>VII</b>
<b>3.GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER</b>	<b>1</b>
3.1.Diabetes Mellitus	1
3.2.İnsülinin Etki Mekanizması	2
3.3.Diyabetin Tipleri	3
3.3.1.TİP I diabetes mellitus (insülin bağımlı diyabet = IDDM)	3
3.3.2.TİP II diabetes mellitus (insülin bağımlı olmayan diyabet = NIDDM)	3
3.4.Diyabetin Tanısı	4
3.5.Diyabetin Komplikasyonları	5
3.5.1.Tıkaçıcı damar hastalığı (ateroskleroz)	5
3.5.2.Kardiyovaskuler sistem bozuklukları	5
3.5.3.Beyin damarları hastalığı	6
3.5.4.Bacak ve ayak lezyonları	6
3.5.5.Görme bozuklukları (retinopati)	7
3.5.6.Diyabette katarakt oluşumu	8
3.5.7.Böbrek fonksiyon bozukluğu (nefropati)	8
3.5.8.Sinirlerin tahribatı (nöropati)	9
3.5.8.1.Polyol yolu bağımlı mekanizma	10
3.5.8.2.Trioz fosfatlarla ilişkili mekanizma	11
3.6.Diyabette Oksidatif Değişiklikler ve Antioksidan Uygulamaları	11
3.7.Serbest Radikaller ve Antioksidan Sistemler	13
3.7.1.Süperoksit radikali ( $O_2^-$ )	15
3.7.2.Hidrojen peroksit radikali ( $H_2O_2$ )	15
3.7.3.Hidroksil radikali ( $OH^-$ )	15
3.7.4.Singlet oksijen ( $.O_2$ )	15
3.7.5.Nitrik oksit (NO)	16
3.7.6.Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları	16
3.7.7.Peroksil radikali ( $ROO^-$ ) ve lipit peroksidasyonu	17

3.7.8.Hipokloröz asit (HOCl)	18
3.7.9.Antioksidan sistemler	18
3.7.10.Antioksidan mekanizmalar	19
3.7.11.Enzimatik antioksidanlar	20
3.7.11.1.Superoksit dismutaz (SOD)	20
3.7.11.2.Katalaz (CAT)	20
3.7.11.3.Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)	21
3.7.12.Enzimatik olmayan antioksidanlar	21
3.7.12.1.Vitamin C	21
3.7.12.2.Vitamin E	21
3.7.12.3.Karotenoidler	22
3.7.12.4.Likopen	23
3.7.12.4.1.Likopenin antioksidatif etkisi	24
<b>4. MATERYAL ve METOD</b>	<b>26</b>
4.1.Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar	26
4.2.Hayvan Materyali	27
4.3.Diyabet Modelinin Oluşturulması ve Likopen Verilmesi	27
4.4.Açlık Kan Glikoz Düzeylerinin Ölçümü	28
4.5.Ratların Anestezisi	28
4.6.Kan ve Beyin Doku Örneklerinin Alımı	28
4.7.Doku Homojenizasyonu	28
4.8.Spektrofotometrik Yöntemler	29
4.8.1.Hemolizat hemoglobin (hb) konsantrasyonunun ölçümü	29
4.8.2.Nitrik oksit (NO) analizi	29
4.8.3.Malondialdehit (MDA) analizi	29
4.8.4.Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi ölçümü	29
4.8.5.Katalaz (CAT) aktivitesi tayini	30
4.8.6.Glutatyon (GSH) düzeyi ölçümü	30
4.8.7.Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi ölçümü	30
4.8.8.İnsülin analizi	30
4.9.RNA İzolasyonu ve Reverse Transkriptaz-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR)	31
4.10.İstatistiksel Değerlendirme	32
<b>5.BULGULAR</b>	<b>33</b>
5.1.Likopen Uygulamasının Açlık Kan Şekeri (AKŞ) Üzerine Etkisi	33

5.2.Likopenin Plazma İnsülin Düzeyine Etkisi	34
5.3.Likopenin Diyabetik Ratlarda Canlı Ağırlık Üzerine Etkisi	34
5.4.Likopenin Uygulamasının Plazma ve Beyin Dokusu MDA Düzeylerine Etkisi	35
5.5.Likopenin NO Düzeylerine Etkisi	36
5.6.Likopenin Diyabetli Ratların Plazma ve Beyin Dokusu GSH Düzeyine Etkisi	36
5.7.Likopenin Uygulamasının Eritrosit ve Beyin Doku Homojanatu GSH-Px Aktivitesi ile Beyin Dokusu GSH-Px mRNA Transkripsiyonu Üzerine Etkisi	37
5.8.Likopenin Uygulamasının, Eritrosit ve Beyin Dokusu CAT Aktivitesi ile Enzimin Beyin Dokusundaki mRNA Transkripsiyonu Üzerine Etkisi	40
5.9.Likopenin, SOD Aktivitesi ile Gen İfadesi Üzerine Etkisi	42
<b>6. TARTIŞMA ve SONUÇ</b>	<b>45</b>
<b>7.TEŞEKKÜR</b>	<b>51</b>
<b>8. KAYNAKLAR</b>	<b>52</b>
<b>9.ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>69</b>

**SİMGELER ve KISALTMALAR**

AGE	İleri Glikolizasyon ürünleri
CAT	Katalaz
CRP	Reaktif Protein C
eNOS	Endotel Kaynaklı Nitrik Oksit Sentaz
GLUT-4	Glukoz Taşıyıcı Protein 4
GSH	Glutatyon
GSH-Px	Glutatyon Peroksidaz
GSSG	Okside Glutatyon
HbA1c	Glikozillenmiş Hemoglobin
HDL	Yüksek Dansiteli Lipoprotein
HOCL	Hipokloröz Asit
IDDM	İnsülin Bağımlı Diabetes Mellitus
IRS1	Kinaz Reseptör Substrat
iNOS	Uyarılabilir Nitrik Oksit Sentaz
LDL	Düşük Dansiteli Lipoprotein
LOO <sup>-</sup>	Lipit Peroksil Radikali
MDA	Malon Dialdehit
NADPH	Nikotinamid Dinükleotid Hidrojen Fosfat
NIDDM	İnsülin Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus
nNOS	Nöronal Kaynaklı Nitrik Oksit Sentaz
NO	Nitrik Oksit
ONOO <sup>-</sup>	Peroksinitrit
ROO <sup>-</sup>	Peroksil Radikali
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz
STZ	Streptozotosin
VLDL	Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

**TABLO LİSTESİ**

	<b>Sayfa No</b>
Tablo 4.1: Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve markaları	26
Tablo 4.2: Çalışmada kullanılan cihazlar ve markaları	27
Tablo 4.3: PCR analizlerinde kullanılan primer dizileri ve PCR koşullar	32
Tablo 5.1: Gruplara göre haftalık AKŞ değerleri	33
Tablo 5.2: Haftalık canlı ağırlık ölçüm değerleri	35

## ŞEKİL LİSTESİ

	<b>Sayfa No</b>
Şekil 3.1: Aterosklerozis	5
Şekil 3.2: Kalp kası infarktüsü	6
Şekil 3.3: Periferel neuropati	6
Şekil 3.4: Diyabetik retinopati	7
Şekil 3.5: Diyabetik katarakt	8
Şekil 3.6: Diyabetik nefropatinin mekanizması	8
Şekil 3.7: Serbest radikallerin moleküler yapıları	14
Şekil 3.8: Antioksidanların serbest radikalleri nötralize etmesi	19
Şekil 3.9: Likopenin yapısı	23
Şekil 5.1: Likopen uygulamasının diyabetik ratlarda AKŞ üzerine etkisi	33
Şekil 5.2: Likopen uygulamasının plazma insülin düzeyi üzerine etkisi	34
Şekil 5.3: Likopen uygulamasının diyabetli ratlarda canlı ağırlık üzerine etkisi	34
Şekil 5.4: Likopenin beyin homojenatı MDA konsantrasyonu üzerine etkisi	35
Şekil 5.5: Likopenin plazma MDA konsantrasyonu üzerine etkisi	36
Şekil 5.6: Plazma NO konsantrasyonu	36
Şekil 5.7: Ratlarda plazma GSH konsantrasyonu	37
Şekil 5.8: Ratlarda beyin homojenatı GSH konsantrasyonu	37
Şekil 5.9: Eritrosit hemolizati GSH-Px aktivitesi	38
Şekil 5.10: Beyin dokusu homojenatlarında GSH-Px aktivitesi	38
Şekil 5.11: Beyin örneklerinde elde edilen beta aktin genine ait PCR ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görünümü	39
Şekil 5.12: Beyin örneklerinde elde edilen GSH-Px genine ait PCR ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görünümü	39
Şekil 5.13: Beyin dokusu GSH-Px geninin orantısal gen ifadesi	40
Şekil 5.14: Eritrosit hemolizati CAT aktivitesi	40
Şekil 5.15: Ratların beyin dokusu homojenatlarında CAT aktivitesi	41
Şekil 5.16: Beyin örneklerinden elde edilen CAT (katalaz) genine ait PCR ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görünümü	41
Şekil 5.17: Beyin dokusu CAT geninin orantısal ekspresyonu	42
Şekil 5.18: Beyin dokusu homojenatında SOD aktivitesi	42
Şekil 5.19: Eritrosit hemolizati SOD aktivitesi	43
Şekil 5.20: Beyin SOD genine ait PCR ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görünümü	43

Şekil 5.21: Beyin dokusu SOD geninin orantısız ekspresyonu



## 1.ÖZET

### **Ratlarda Diyabetik Nöropatide Rol Oynayan Oksidatif Hasarın Önlenmesinde**

#### **Likopenin Etkinliği**

Diyabet, tüm dünyada hızla artmakta olan kronik bir metabolizma bozukluğudur. Diyabetin ve komplikasyonlarının patogeneğinde pek çok mekanizma ileri sürülmüştür. Bunlar içinde en fazla kabul göreni ise artan serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasardır.

Bu çalışmada, doğada yaygın olarak birçok besinde bulunan likopenin, diyabetik nöropatinin oluşumunda rol oynadığı bilinen oksidatif hasarın önlenmesindeki etkinliği araştırıldı.

Çalışmada, deneysel diyabet modelinin oluşturulması için ratlara streptozotosin enjeksiyonu (45 mg/kg, i.p.) yapıldı ve 48 saat sonra yapılan ölçümlerde, 300 mg/dL ve üzeri açlık kan şekeri değerine sahip olan ratlar diyabetli olarak kabul edildi. Kontrol ve diyabet grubu ratlara normal besleme uygulanırken, diyabet+likopen ve likopen gruplarına ağızdan günlük 4 mg/kg canlı ağırlık dozunda likopen 8 hafta süreyle verildi. Bu süre içerisinde haftalık kan şekeri ve canlı ağırlık ölçümleri yapıldı.

Çalışma sonunda hayvanlardan alınan kan ve beyin örneklerinde nitrik oksit (NO) ve malondialdehit (MDA) miktarı ile süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktiviteleri ölçüldü. Ayrıca antioksidan enzimlerin beyin dokusunda mRNA ekspresyon düzeyleri reverse transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile analiz edildi. Plazma insülin hormonu ölçümleri ELISA tekniği ile yapıldı.

Diyabete bağlı olarak kan glikoz düzeylerinde meydana gelen artışın, 8 hafta süreyle likopen verilmesiyle düştüğü belirlendi ( $p \leq 0,001$ ). Diyabetin neden olduğu canlı ağırlık kaybı üzerine likopenin etkisinin olmadığı gözlemlendi. Diyabet nedeniyle azalan ( $p \leq 0,001$ ) plazma insülin konsantrasyonunu likopenin arttırdığı görüldü ( $p \leq 0,001$ ). Diyabetin plazma ve beyin dokusunda artışına neden olduğu lipid peroksidasyonunun, beyinde likopen tarafından düşürüldüğü ( $p \leq 0,001$ ), plazmada ise değişmediği tespit edildi. Plazma NO seviyesi ve beyin dokusu GSH düzeylerinin tedavi grubunda hasta gruba göre anlamlı ( $p \leq 0,001$ ) bir şekilde azaldığı belirlendi. Tedavi grubunda hemolizat SOD, CAT ve GSH-Px aktivitelerinin diyabet grubuna göre anlamlı bir şekilde yükseldiği ( $p \leq 0,05$ ); beyin dokusu SOD ve CAT aktivitelerinin değişmediği, GSH-Px aktivitesinin arttığı ( $p \leq 0,001$ ) görüldü. SOD, CAT ve GSH-Px gen ekspresyonlarının diyabet grubunda kontrole göre baskılandığı, likopen verilen tedavi grubunda ise uyarıldıkları belirlendi.

Çalışma sonucunda diyabetin beyin dokusunda neden olduğu oksidatif hasar ile lipid peroksidasyonunun ve düşük plazma insülin seviyesinin likopen tarafından büyük oranda düzeltildiği ortaya kondu. Elde edilen sonuçların, likopenin diyabetin komplikasyonlarının önlenmesinde etkili bir besinsel unsur olabileceğini göstermesi ve ileride yapılacak çalışmalara zemin oluşturulması açısından önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Diyabet, streptozotosin, nöropati, likopen, oksidatif stres

## 2.ABSTRACT

### **Preventive Action of Lycopene on Oxidative Damage Involved in Development of Diabetic Neuropathy**

Diabetes is a chronic metabolic disorder that the incidence has been increasing all around the world. Several mechanisms are involved in the pathogenesis of diabetes and its complications. One of them which are the most accepted belief is that oxidative damage which is caused by free radicals. In this study, the protective effect of lycopene which is commonly found in many foods in nature was studied on the overcoming oxidative damage in diabetes which plays an important role in development of diabetic neuropathy.

In the present study, diabetes was induced by single dose streptozotocin (45 mg/kg, i.p.) to the rats and blood was taken 48 hours after administration. The rats having fasting blood glucose  $\geq 300$ mg/dl were considered as diabetic. The rats of control and diabetic groups were fed without any supplements; however 4 mg/kg/body weight lycopene was orally administrated into diabetic+lycopene and lycopene groups for 8 weeks. Plasma glucose levels and the body weight of the animals were measured weekly through study.

Nitric oxide (NO), malondialdehyde (MDA) levels and activities of superoxide dismutase (SOD), katalaz (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px) were measured in blood and brain homogenates which were removed at the end of the experiment. mRNA expression levels of antioxidant enzymes were analyzed in brain tissue by reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). Blood plasma insulin levels were measurement by ELISA method. Diabetes-increased blood glucose level was suppressed by lycopene during 8 weeks period ( $p \leq 0,001$ ). However there was no significant effect of lycopen on body weight loss caused by diabetes. Diabetes decreased plasma insulin concentration was enhanced by t-lycopene treatments ( $p \leq 0,001$ ). Lipid peroxidation level which was caused by diabetes was decreased by lycopene in brain tissue ( $p \leq 0,001$ ), but not in plasma. Plasma NO levels and brain GSH levels in treatment group were lower ( $p \leq 0,001$ ) than in diabetic group. The activities of SOD, CAT and GSH-Px in diabetic+lycopene group were increased ( $p \leq 0,05$ ). Although SOD and CAT activities were not changed, GSH-Px activity was significantly increased ( $p \leq 0,001$ ) in brain tissues. Diabetes down-regulated SOD, CAT and GSH-Px transcripts were up-regulated by the lycopene.

It was demonstrated that diabetes mellitus caused to oxidative damage and lipid peroxidation in brain tissue and decreased plasma insulin levels. However, these effects were significantly

ameliorated by lycopene administrations. It is concluded that lycopene may be useful for the protection against diabetic complications and promising for the future diabetes studies.

**Keywords:** Diabetes, streptozotocin, neuropathy, lycopene, oxidative stress

### 3.GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER

#### 3.1.Diabetes Mellitus

Şeker hastalığının bilimsel adı olan *diabetes* sözcüğü, Yunanca'da geçip gitmek anlamına gelmektedir ve ilk olarak M.S. 1. yüzyılda Kapadokya'da yaşayan ve Roma'lı bir hekim olan Arateus tarafından kullanılmıştır. Ortaçağ Avrupası'nda, hastanın idrarındaki şekerden dolayı hastalığa ballı şeker anlamına gelen *mellitus* adı verilmiştir. Şeker hastalarının idrarının şeker içerdiğini tadarak belirleyen Thomas Willis 1764'de bu hastalığa ilk kez *Diabetes mellitus* adını vermiştir. 1921 yılında Kanada'lı Dr. Frederick Banting ve yardımcısı Charles Best, pankreasın Langerhans adacıklarından insülin salındığını bulmuşlardır.

Hastalık çağımızın en çok rastlanan, morbidite ve mortalitesi en yüksek olan hastalıklardan birisidir. Dünya nüfusunun yaklaşık % 2,5-3'ü bu hastalıktan muzdariptir. Bazı ülkelerde oran % 7'yi dahi geçebilmektedir (Seghrouchni ve ark 2002).

*Diabetes mellitus*; insülin salgılanma yetersizliği ve hedef dokularda insülinin metabolik etkisine karşı gelişen direnç hali ile karakterize, genetik kökenli kronik bir metabolizma hastalığıdır (Walter ve ark 1991, Baydaş ve ark 2002). Hastalıkta glikoz kullanımı bozulur. Bu durum, başta kan damarları ve sinirler olmak üzere çoğu vücut sistemlerini ciddi biçimde hasara uğratan kan şeker düzeyinin artmasına (hiperglisemiye) neden olur (Phillips ve ark 2004).

Diabetes mellitus'un oluşumundaki temel neden insülin yetersizliği veya insülinin etkili olamamasıdır. Hastalığın ortaya çıkmasını kolaylaştıran diğer etmenler ise kalıtım, şişmanlık, gebelik ve sık doğum, uzun süre ilaç kullanımı (diüretik, kortikosteroid, vs.), enfeksiyonlar, psikolojik ya da fiziksel travmalar ve bazı pankreas hastalıklarıdır (pankreatit, pankreas tümörü).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün de büyük önem verdiği ve takip ettiği hipoglisemik etkili bitkisel ilaçlar günümüzde dikkatleri üzerine çekmiş durumdadır. Dünya genelinde çok sayıda ticari bitki diyabetin tedavisi için kullanılmaktadır. Diyabetin tedavisinde bu noktaya gelinmesinin temel dayanaklarından birisi ve belki de en önemlisi bitkisel ilaçların sentetik olanlara göre daha az zararlı ya da daha az yan etkilere sahip olmalarıdır. Kullanılan bitkisel ilaçların çoğu saponinler, alkaloidler, taninler ve quinovik asit gibi etken maddeleri içermektedir (Sheweita ve ark 2002, Wang ve Ng 1999).

Diyabetin tedavisine yönelik yapılan araştırmaların diğer bir kısmı da hastalıkta bozulan oksidan/antioksidan dengenin d¼zeltilmesine yönelik çalışmalardır. Bu alışmalar ya diyabetik karaciğerin antioksidan savunma sistemini g¼c¼lendirmeye ya da peroksidatif strese bağlı karaciğer hasarını azaltmaya yöneliktir (Baydaş ve ark 2002b, Cho ve ark 2002).

Bu çalışmada, kuvvetli bir antioksidan olan likopenin kullanılması suretiyle, diyabetin önemli komplikasyonlarından biri olan nöropatinin altında yatan oksidatif bozuklukların önlenmesi amaçlanmıştır. Deneysel diyabet modeli için deney hayvanı olarak ratlar kullanılmıştır. Çalışmada sadece lipid peroksidasyonu ve oksidatif hasar belirteçlerinin kan ve beyin dokusundaki düzeyleri değil aynı zamanda ilgili enzimlerin mRNA transkripsiyon düzeyleri de incelenmiştir. Diyabetik nöropatide antioksidan enzimlerin beyin dokusundaki gen ekspresyonlarının analiz edilmesinin, bozukluğun genetik açıdan ele alınması bakımından önemli bir veri sağlayacağı d¼ř¼n¼lmektedir. Bunlara ilaveten likopenin, diyabette gerek kan glikoz düzeyleri ve gerekse plazma ins¼lin hormonu düzeyleri üzerine etkilerinin de ortaya konulmuş olması çalışmanın önemini artırmaktadır.

Diyabet hastalığının anlaşılabilmesi açısından, öncelikle vücudun işlevlerini yerine getirirken ihtiyaç duyduğu enerjinin tedariki sürecine değinmek gerekir. Enerjinin tedariki işlemlerinde sırasıyla; yenilen besinler glikoza parçalanır, glikoz, kan dolaşımı ile vücudun doku ve hücrelerine taşınır ve vücudun ana besin kaynağı olan glikoz enerji sağlayabilmek için, kandan v¼cut hücrelerine (kas hücreleri, beyin hücreleri vb.) alınır.

Glikozun hücre içine alınmasında, pankreasın Langerhans adacıklarının  $\beta$  hücreleri tarafından üretilen ins¼lin önemli rol oynar.

### **3.2. İns¼linin Etki Mekanizması**

Sağlıklı bireylerin kas, yağ ve karaciğer doku hücrelerindeki glikoz transportu, doku hücrelerine spesifik protein yapıdaki glikoz taşıyıcıların rol aldığı kolaylaştırılmış dif¼zyonla gerçekleşir. Bu mekanizmadan önce ins¼lin, hücre yüzeyindeki reseptöre bağlanarak tirozin kinazı aktive eder. Reseptörün  $\beta$  alt ünitesinin tirozin birimleri otofosforilasyona uğrar. Reseptör, tirozin kinaz reseptör substrat 1'i (IRS1) fosforile eder. Fosforile edilmiş IRS1, diğer protein kinaz ve fosfatazların aktivasyonunu destekler. Aktive olmuş reseptör, spesifik glikoz taşıyıcılarının (GLUT-4) translokasyonla hücre içi havuzdan hücre membranına hareket etmesine neden olur (Champe ve Harvey 1997, Quinn 2002). Bu taşıyıcıların, glikoz bağlayan bölgesi hücre dışına yönelmiştir. Glikoz buraya

bağlanınca, oluşan yapısal değişikliğe bağlı olarak, glikoz bağlayan bölgenin yönü stoplazmaya doğru döner ve glikoz taşıyıcıdan ayrılıp içeri girer. Plazma insülin 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 (Murray ve ark 1996, Champe ve Harvey 1999, Quinn 2002).

### **3.3. Diyabetin Tipleri**

Diabetes mellitus gelişimi itibariyle başlıca ikiye ayrılır; Tip I ya da insüline bağımlı tip (IDDM) ve Tip II ya da insüline bağımlı olmayan tip (NIDDM).

#### **3.3.1. TİP I diabetes mellitus (insülin bağımlı diyabet = IDDM)**

Genel olarak Tip I diyabet insülinin salınmadığı diyabet şekli olarak ifade edilir (Guyton ve Hall 2001, Quinn 2002, American Diabetes Association 2005). Bu tip diyabette pankreas çok az insülin sentezler ya da hiç insülin üretmez. Kanda insülin reseptörlerini doldurmaya yetecek kadar insülin olmayınca kan şekeri düzeyi yükselir. Diyabetin bu tipi daha çok genç yaşlarda ortaya çıkar ve mutlak insülin eksikliği vardır. Bu hastalar ketoasidoz komasına girme potansiyeli taşırlar.

Tip I diyabetin oluşum nedenleri hala günümüzde araştırılmakta olup, sadece genetik faktörlerin rol oynamadığı bilinmektedir. Çeşitli otoimmün hastalıklarla birlikte görülmesi nedeniyle Tip I diyabetin etiyolojisinde otoimmünite sorumlu tutulmaktadır. Başka faktörler de vardır ancak bunların tamamı konusunda kesin bilgi henüz yoktur. Tip I diyabetin belirtileri arasında çok fazla acıkma, aşırı miktarda idrar yapma ve ani kilo kaybı olarak sayılabilir. Bu belirtiler genellikle aniden başlar.

Tip I diyabetli hastalarda çölyak hastalığı, graves hastalığı, hipotiroidi, pernisiyöz anemi ve addison hastalığının görülme oranı artmaktadır (Özata 2005).

#### **3.3.2. TİP II diabetes mellitus (insülin bağımlı olmayan diyabet = NIDDM)**

Tip II diyabet, pankreasın insülin ürettiği ancak miktarının yeterli olmaması ve/veya reseptör duyarlılığının azalmasıyla insülinin kullanılmaması sonucu oluşur (Guyton ve Hall 2001, Quinn 2002, American Diabetes Association 2005). Diyabetlilerin % 90'ından fazlası Tip II diyabetli olup, genellikle 40 yaşın üzerinde ve kilosu fazla olan kimselerde görülür. Burada insülin üretimini eksikliğinden ziyade, üretilen insülin gerektiği şekilde etki gösterememektedir. Çünkü insülin hücrede bulunan reseptörlere bağlanamaz. Bunun

nedeni genellikle şişmanlarda görülen insülin direncidir. Bu hastalar mutlak insülin eksikliği olmadığı için ketoasidoz değil nonketotik hiperozmolar komaya girme potansiyeli taşırlar. Ayrıca yatkınlığı olan kişilerde, gebelikte üretilen bazı hormonlara ve metabolik yükteki artışa bağlı olarak gebelik sırasında ortaya çıkan ve gebelik (gestasyonel) diyabeti adı verilen bir diyabet çeşidi daha vardır. Bu tip diyabette, kan şekeri hamilelik sonrasında genellikle normale döner. Ancak bu kişilerin yaklaşık % 40'ında, sonraki 15 yıl içerisinde Tip II diyabet gelişir (Şentürk 2004). Tip II diyabet, genetik duyarlılığın ve çevresel faktörlere maruziyetin etkileşmesinin bir sonucu olarak görülmektedir (Bennet ve ark. 1992).

Diyabetin primer belirtisi hiperglisemidir; ardından glikozüri, poliüri, polifaji ve polidipsi gelir (Bulut ve ark 2001, Sailaja ve ark 2003, ADA 2005). Tip II diyabetin belirtileri arasında sık enfeksiyona yakalanma, ciltteki kesik ya da yaraların zor iyileşmesi, sık idrara çıkma, açlık ve susuzluk hissinin artması, bulanık görme ve yorgunluk hissi yer alır. Bu belirtiler uzun dönemde ortaya çıkar.

Diyabetin görülme sıklığı, hem çocuk hem de erişkin nüfusta son 20-30 yıl içinde sürekli olarak artmaktadır. Hastaların özellikle kardiyovasküler ve renal sistemlerinin yakından izlenmesi gereklidir. Hipertansiyonlu diyabetik hastalar otonomik nöropati açısından ayrıntılı olarak değerlendirilmelidirler. Hipertansif hastalar kan basıncı normal olanlara göre daha yüksek otonomik nöropati insidansına sahiptirler (Coşar 2003).

### **3.4. Diyabetin Tanısı**

Herhangi bir zamanda ölçülen kan şekerinin 200 mg/dl'nin üzerinde olması veya açlıkta 126 mg/dl'nin üzerinde bulunması (hastada çok yeme, çok su içme ve çok idrara yapma gibi diyabetin klasik semptomları görülsün veya görülmesin) veya iki değişik zamanda ölçülen tokluk kan şekerinin 140 mg/dl üzerinde bulunması, ya da şüpheli durumlarda yapılan şeker yükleme testi sonucunda, ikinci saatte alınan kan örneğinde 160 ve test esnasında diğer örneklerden herhangi birinde kan şekerinin 200 mg/dl üzerinde olması, şeker hastalığının tanısında önemli ipuçlarıdır. Hasta aşırı susuzluk çekiyor, sık idrara çıkıyor ve yorgunluktan şikayet ediyor ise bu kandaki glikoz oranının arttığıının (hiperglisemi) bir göstergesi olabilir (Govindarajan ve ark 2006).

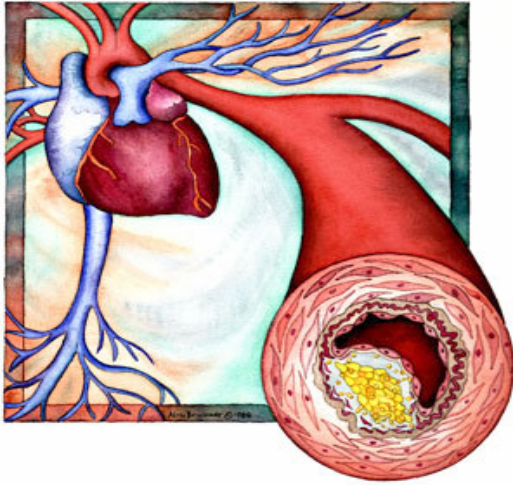


### 3.5. Diyabetin Komplikasyonları

Diabetes mellitus'da karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmalarında meydana gelen bozukluklar sonucu doku ve organlarda biyokimyasal, morfolojik ve fonksiyonel bazı değişiklikler meydana gelmektedir (Palmer 1993, Yılmaz ve Üstündağ 2002). Hastalığın komplikasyonları arasında tıkaçıcı damar hastalığı (angiopati = ateroskleroz), sinir hasarı (nöropati), böbrek fonksiyon bozukluğu (nefropati), görme bozukluğu (retinopati) ve ayak lezyonları sıralanabilir. Diyabetin tüm komplikasyonları uzun sürede ortaya çıkar ve yavaş bir seyir izler (Altındaş 2001).

#### 3.5.1. Tıkaçıcı damar hastalığı (ateroskleroz)

Diyabetli hastalarda insülin direnci söz konusu olduğu için yağ metabolizması bozulmakta ve damarlarda daralmalar veya tıkanmalar meydana gelmektedir (Koyuer Yorgancı 2005) (Şekil 3.1.). Ateroskleroz diyabete bağlı ölümlerin % 75'inden sorumlu olup, diyabetiklerde diyabetik olmayanlara göre 2-3 kat daha fazladır. Aynı zamanda koroner ve serebrovasküler hastalıklar 2-3 kat daha fazladır (Steiner 1981, 1985). Sigara içmenin özellikle diyabetiklerde ateroskleroz riskini önemli ölçüde artırdığını gösteren deliller



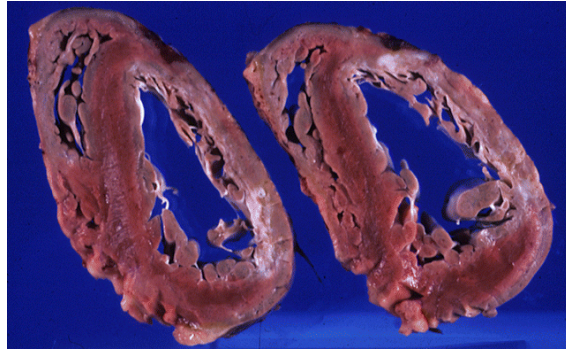
vardır (Mulhauser 1990). İdrarla albumin atımı 30 mg/24 saatten fazla olan klinik nefropatili kişilerde vasküler hastalık riski önemli ölçüde artmaktadır (Borch-Johnsen 1989, Jensen 1992). Oksidatif stresin, erken ateroskleroz oluşumunun etiyogenezinde önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir (Köken ve ark 2004).

Şekil 3.1. Aterosklerozis (Kaynak: [www.nbgh.org/cardiology.html](http://www.nbgh.org/cardiology.html))

#### 3.5.2. Kardiyovasküler sistem bozuklukları

Son yıllarda insanlarda her iki tip diyabetteki artışa paralel olarak kalp damar hastalıklarında da artış görülmektedir. Tip II diyabet genellikle obez hastalarda oluştuğu ve bunlarda insülin direnci söz konusu olduğu için yağ metabolizması bozulmakta ve koroner kalp damarlarında daralma veya tıkanmalar oluşarak enfarktüs gelişmektedir (Şekil 3.2.).

Aynı durum Tip I diyabetli hastalarda genç yaşta ortaya çıkmaktadır (Schalkwijk ve Stehouwer 2005).



Şekil 3.2. Kalp kası infarktüsü: <http://www.med.ualberta.ca/Imp/>

### 3.5.3. Beyin damarları hastalığı

Beyin dokusu şekerle beslenen bir organdır ve şeker hastalarındaki devamlı kan şekeri değişimleri bu organı etkilemektedir. Kan şekerinin aşırı yüksekliği kadar, ani hipoglisemiler de beyin fonksiyonlarını bozan önemli bir olaydır. Ayrıca beyine giden boyun kan damarları daralmaları ve tıkanmaları da hastalarda çeşitli şikayetlere neden olur. Baş dönmesi, denge bozuklukları, unutkanlıklar, ileri dönemlerde kortikal atrofi denen beyin dokusunun azalması gelişir (Karaman 2006).

### 3.5.4. Bacak ve ayak lezyonları



Diyabetik hastaların her iki tipinde de en sık rastlanan sorunlardan biri olup % 60-75 oranında görülür. Orta ve büyük çap arterleri tutan ve ateroskleroz (damar tıkanıklığı) denilen bozukluk şeker hastalığının süresi ve şiddetiyle paralel olarak artış gösterir (Schalkwijk ve Stehouwer 2005). Bacak ve ayak lezyonlarının önde gelen nedeni periferik nöropatidir. Nöropatiye uğramış sinir hücreleri ayakta hissizliğe neden olur. Diyabetik ayakta vurma, çarpma, batma veya yanma gibi bir fiziksel etkenin yarayı başlattığı saptanmıştır. Hasta erken dönemde yarayı

Şekil 3.3. Periferik nöropati ([www.cic.nic.in/teleconsultation/ak\\_verma.ppt](http://www.cic.nic.in/teleconsultation/ak_verma.ppt))

fark etmez ve ayakta kalmaya, yürümeye devam etmesi durumunda kalıcı doku hasarına sebep olur. Duyu ve motor sinirlerin dejenerasyonu sonucu hastanın ayağı duyarsız ve deforme hale gelir (Altındaş 2001).

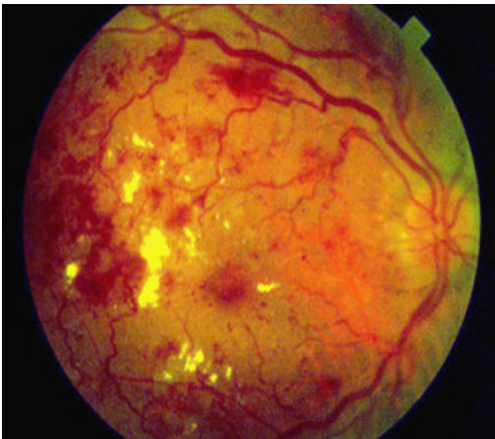
Otonom nöropati sonucu terleme azalır, ayak kuru hale gelir, deri incelir, kolay çatlar ve nasırlar çıkar. Damar civarında otonom sinirlerin bozukluğu kan akımını olumsuz etkiler. Kan arteriovenöz şantlar yoluyla kısa yoldan geri döner ve dokuların beslenmesi bozulur. Bu şekilde ayak dokuları daha az oksijen ve besin alır (Şekil 3.3.) (Altındaş 2001).

Motor nöropati ayak kaslarında zayıflama ve erimelere yol açar. Hastanın ayak parmakları kıvrılır ve pençe ayak deformitesi ortaya çıkar. Başparmak dışı doğru döner, metatarsofalengeal eklem başları ayak tabanında daha çıkıntılı hale gelir. Sonuç olarak bazı bölgeler ağırlık nedeniyle daha fazla miktarda basınca maruz kalır (Altındaş 2001).

### 3.5.5. Görme bozuklukları (retinopati)

Diyabet retina tabakasında kanamalar ve sıvı toplanması ile gelişen, görme azalmaları ve görme kayıpları ile sonlanan ve bazı hastalarda körlüğe kadar giden bozukluklara neden olur. Genç yaşta başlayan hemen hemen bütün diyabet vakalarında hastalığın başlangıcından 20 yıl sonra diyabetik retinopati gelişir (Klein 1991). İleri yaşlarda başlayan insüline bağımlı olmayan Diabetes mellitus vakalarının yaklaşık % 60'ında diyabetik retinopati oluşur.

Diyabetik retinopatinin temelinde kapiller duvarında bazal membran kalınlaşması ve endotel hücre hasarı yer alır. Eritrosit ve trombosit agregasyonundaki artış, yüksek fibrinojen düzeyi de damar tıkanıklığına yardımcı olur. Böylece gelişen kapiller ve arteriyoller oklüzyon retina hipoksisine bu da retinadan anjiogenik faktörlerin salınımına yol açar, bu faktörler gözün çeşitli bölgelerinde (retina, optik disk, iris, ön kamara açısı) yeni damarların oluşmasına neden olur. Bu damarlar kolay kanayan anormal damarlardır (Şekil 3.4.) (Karaçorlu 1997).

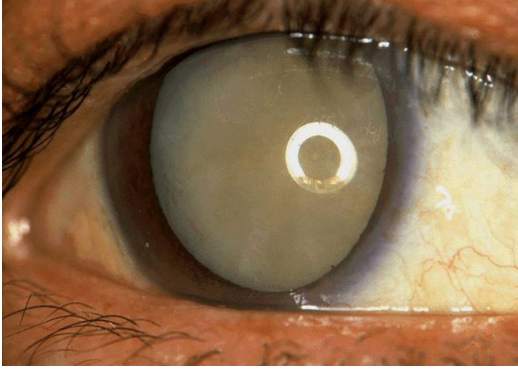


Şekil 3.4. Diyabetik retinopati

([www.opt.indiana.edu/ecco/abc\\_com\\_eng.ppt](http://www.opt.indiana.edu/ecco/abc_com_eng.ppt))

### 3.5.6. Diyabette katarakt oluşumu

Katarakt, göz lensinin saydamlığını kaybetmesi ve buna bağlı olarak görmenin azalması ile sonuçlanan bir göz hastalığıdır.

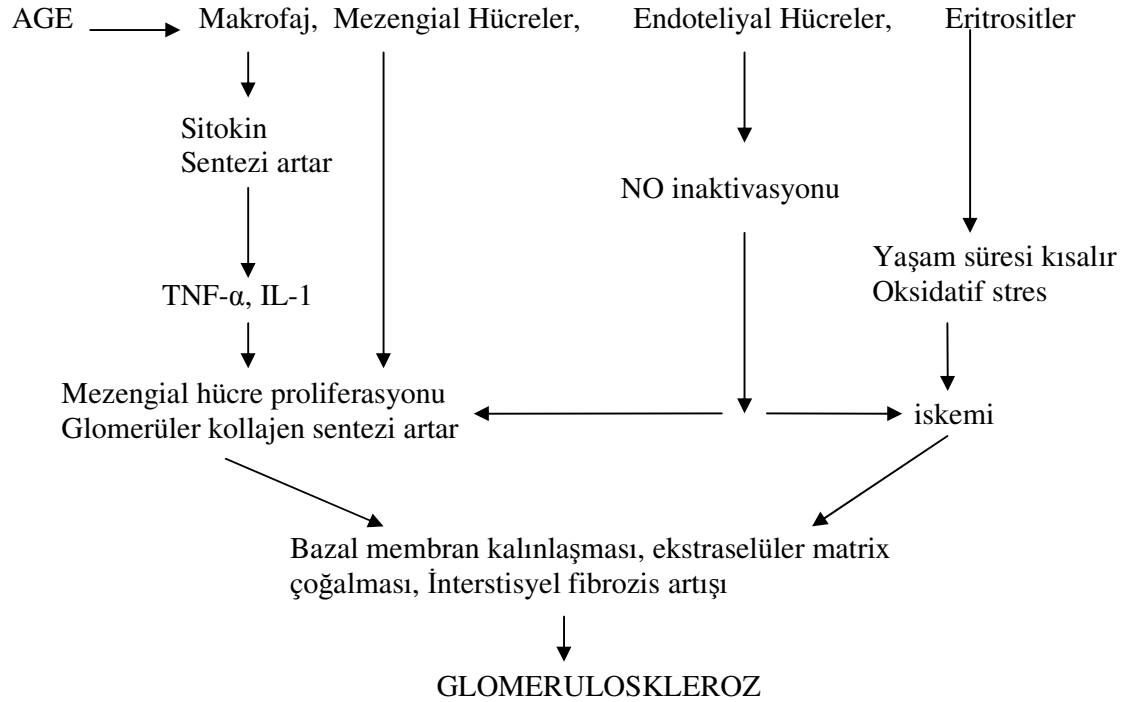


Diyabette hiperglisemiyle birlikte lensin içinde biriken glukozun miktarı artınca sorbitol oluşumu hızlanır ve osmotik basınç artar. Lensin içine su girişi hızlanır. Sonuçta subkapsüler katarakt gelişir (Şekil 3.5.) (Urlu-Duru 2005).

Şekil 3.5. Diyabetik katarakt (www.opt.indiana.edu/ecco/abc\_com\_eng.ppt)

### 3.5.7. Böbrek fonksiyon bozukluğu (nefropati)

Böbrekler diyabet sonucu filtrasyon fonksiyonunu yitirir. Bunun sonucunda idrarda albümin, kanda üre ve kreatin miktarı artar (Armağan 2002). Diyabetik hastalarda, böbrek hastalığı görülme riski 17 kat daha fazladır (Kofoed-Enevoldsen 1990). Diyabetik nefropatinin temel mekanizması aşağıdaki şekil 3.6.'da verilmiştir.



Şekil 3.6. Diyabetik nefropatinin mekanizması (AGE: İleri glikolizasyon ürünleri).

Diyabet sonucu oluşan hiperglisemi, glikozun otooksidasyonuna 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 dinükleotid hidrojen fosfat (NADPH) oksidaz ve ksantin oksidaz gibi) ve/veya Fe ve Cu gibi metallerin katalizlediği oksidasyon reaksiyonları sonucunda oluşurlar. Oluşan bu 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 hastalıkları, kanser, katarakt gibi birçok hastalığın patogenezinde yer aldığı saptanmıştır (Basu 1999).

Oksidatif stres Tip I diyabette, özellikle pankreatik  $\beta$  hücrelerinin apoptozuna, tip II diyabette ise insülin salgılanmasını uyaran mekanizmanın inhibe edilmesine neden olarak (Bonfont-Rousselot ve ark 2000), protein glikolizasyonu, ateroskleroz, retinopati, nefropati, nörolojik disfonksiyonlar gibi diyabetik komplikasyonlar oluşturur (Griffin ve Ojeda 1992, Jain ve ark 1999, Gumieniczek ve ark 2002).

### **3.5.8. Sinir harabiyeti (nöropati)**

Nöropati, kan şekeri seviyesinin uzun süre yüksek kaldığı durumlarda görülen ve tedavisi henüz tam olarak yapılamayan bir rahatsızlıktır. Diyabetik nöropatinin sistemik distal polinöropati, otonom nöropati ve asimetrik nöropati gibi çeşitleri vardır (Yıldırım 2005).

Nöropati, diyabette en sık görülen organ hasarı olup ekstremiteleri, göz, kalp ve sindirim sistemini etkilemektedir. Nöropati, diyabetli hastaların yarısından fazlasında vardır ve hastalığın süresi uzadıkça gelişme olasılığı artar. Nöropatinin kesin sebebi bilinmemekle birlikte, kan şekerinin yüksek seyretmesi veya insülin yetersizliğine bağlı olabileceği düşünülmektedir. Diyabetik komplikasyonların oluşmasında iki metabolik olayın etkili olduğu düşünülmektedir. Bunlar;

- Nonenzimatik glikozillenme
- Polyol yollarındaki bozukluklarla birlikte intrasellüler hiperglisemidir (Özdoğan ve ark 2002).

Genel olarak glikozillenmiş hemoglobin (HbA1c) değerlerinin yüksek seyretmesi ve sinir hücrelerinde sorbitol birikmesinin nöropati gelişmesinde etken olabileceği düşünülmektedir. Nöropati, genellikle erişkin dönemde görülmesine rağmen mental retardasyon (zeka geriliği) ve metabolik bozuklukların eşlik ettiği olgularda da görüldüğü bildirilmiştir (Banitahmaseb ve ark 2005).

Diyabetik nöropatinin patogeneğinde pek çok etmenin rolü vardır. Bunlar arasında genetik yatkınlık, endonöral hipoksi veya iskemi, artmış oksidatif stres, miyoinositolde azalma, polyol yolu aşırı aktivitesi, glikolizasyon son ürünlerinin artması, growth faktörlerinin eksikliği veya immün mekanizmalar sayılabilir. Sözü edilen mekanizmalara karşı tam bir görüş birliği yoktur, ancak yine de uzun süren kan şekeri düzeyi birinci çıkış noktasıdır. Yüksek kan şekeri diaçilgliserol ve inositol trifosfatın ikincil haberci rolü oynadığı yolda miyoinositol azalmasına ve bu da Na, K-ATPaz'ın azalması ve sonuçta ileti bozukluklarına yol açar. Buna paralel bir süreç de şeker alkollerinin artarak polyol yolunun aşırı aktivitesine sebep olmasıdır (Kızıltan 1997).

Bir başka yol glikolizasyon son ürünlerinin (AGE) fazlaca ortaya çıkması ve bunun da küçük damar arterogeneğini artırmasıdır. Yüksek kan şekeri aynı zamanda sinir kan akımını düşürür ve sinir içi hipoksiye sebep olarak nöropatiye sebep olur. Bu noktada oksidatif stresin etkisi pro-oksidan durum ve serbest radikal korumacılığı arasındaki dengeye bağlıdır (Kızıltan 1997, Brownlee 2005).

Nörofizyolojik tetkikler sırasında motor ve duyuşal iletilerde hızın yavaşladığı ve iletim yetmezliği gözlenir. Nöropati oluşumunda diğer komplikasyonlarda sözü edilen kronik hipergliseminin olumsuz etkileri (polyol ve miyoinositol yollarını açılması, akson iletilinde bozukluk, nonenzimatik glikozillenmiş proteinler) söz konusudur (Yapıcı 2004).

### **3.5.8.1. Polyol yolu bağımlı mekanizma**

Sinir hücreleri ve kapiller membranlar insülin bağımsız glikoz transportuna sahiptirler. Yüksek glukoz konsantrasyonu, polyol yolu ile sorbitol üretimine neden olur. Bu yoldaki aldoz redüktaz enzim aktivitesi için NADPH kullanıldığından hücre içi NADPH tüketilir. Okside glutatyonun redükte forma çevrilebilmesi ve nitrik oksit (NO)

sentezi için NADPH gereklidir. Bu nedenle sorbitol yolunun aktif olması ve sonuçta NADPH'ın yokluğu hücrenin antioksidan kapasitesinin sınırlanması anlamına gelmektedir (Maritim ve ark 2003a). Redükte glutasyonun ve vazodilatasyonda görev yapan NO sentezinin azalması diabetin vasküler komplikasyonlarının ortaya çıkışında rol oynar (Dac ve Chainy 2001). Vazodilatör mediatörlerin kaybı endonöronal kan akımının azalmasına dolayısıyla endonöronal hipoksi veya iskemiye yol açmaktadır. Bu olayın sonucunda nöronal hücrelerde hasar meydana gelmektedir (Cameron ve Cotter 1995, Cameron ve Cotter 1999). Glukozun sorbitol yolu ile fruktoza ve sorbitola çevrilmesinin bir sonucu hücrede miyoinozitol düzeylerinde azalma ve bunun sonucunda da Na-K ATP-az enzim aktivitesinde azalma olduğu gözlenmiştir bu enzim aktivitesi sinir iletim hızı için önem taşımaktadır (Greene ve ark1987, Greene ve ark 1990). Sorbitolun kendisi bir doku toksini gibi hareket eder. Bu nedenle retinopati, nöropati, katarakt, nefropati ve kalp hastalığı patogeneğinde rolü olduğu düşünülmektedir (Karasu ve ark 1990, Bukan ve ark 2004).

Glikoz seviyesindeki aşırı artış sinir hücrelerinde glikozun aldoz redüktaz enziminin etkisiyle sorbitole dönüştürülmesine neden olur; sorbitol membranları geçemez ve hücre içinde birikir. Yüksek sorbitol konsantrasyonu sinir hücrelerinde ozmotik hasar, serbest radikal üretiminde artış meydana gelir ve bunun sonucunda oksidatif stres artar (Brownlee 2005).

### **3.5.8.2. Trioz fosfatlarla ilişkili mekanizma**

Yüksek hücre içi glikozu, trioz fosfatların üretimini artırır. Diaçil gliseroller protein kinaz C'yi aktive eder, permeabilite ve kontraktilite değişikliklerine bağlı kapiller hasar ve sinir fonksiyonu bozukluğu meydana gelir (Brownlee 2005).

### **3.6. Diyabette Oksidatif Değişiklikler ve Antioksidan Uygulamaları**

Diyabette meydana gelen oksidatif stresi başlatan etmen hücre içi ve dışı glikoz konsantrasyonunun artmasıdır. Hayvanlarda oluşturulan deneysel diyabette ve diyabet hastalarında, oksidatif stres oluşturan birçok mekanizmadan söz edilmektedir. Bunlar arasında; glikozun otooksidasyonu, protein glikolizasyonu ve ileri glikolizasyon son ürünlerinin açığa çıkması bulunmaktadır (West 2000, Anderson ve ark 2001, Gumieniczek ve ark 2002, Maritim ve ark 2003a).

Glikoz otooksidasyonu, geçiş metallere katalizlediği reaksiyonlar sonucunda glikozun kısmen radikal olan anyonlarını oluşturması ile meydana gelir. Bu radikaller,  $O_2$ 'yi indirgeyerek süperoksit ( $O_2^-$ ) anyonunu meydana getirirler. Bu da diğer ROT'lerin

oluşumunu tetikler (Bonfont-Rousselot ve ark 2000, Robertson ve ark 2003). Proteinlerin glikolizasyonu, glikozun proteinlerin amino grubuna bağlanmasıyla başlar. Bunun ardından bir seri kimyasal modifikasyon geçirecek, daha kararlı bir yapı olan protein-glikoz kompleksine dönüşür. Biyokimyasal reaksiyonlar sonucunda oluşan glikolize proteinler ise Cu ve Fe varlığında O<sub>2</sub>'ye elektron vererek ROT'ların oluşmasına neden olurlar (Bonfont-Rousselot ve ark 2000, Robertson ve ark 2003).

Oksidatif stresin diğer bir hedefi, insülin sentezinden ve salgılanmasından sorumlu olan  $\beta$  hücreleridir (Ohly ve ark 2000).  $\beta$  hücrelerinin disfonksiyonunun yüksek kan glikoz düzeyine veya serbest yağ asitlerinin artmasına ya da kombinasyonlarına bağlı olduğu bildirilmektedir (Evans ve ark 2003). Oksidatif stres düzeyindeki artışın, hücrede ROT üretiminin artmasına ve buna bağlı olarak da toksikasyona neden olduğu ifade edilmektedir (Quinn 2002, Evans ve ark 2003).

Diyabette, serbest radikallerin fazlaca yükselişi ve buna bağlı olarak antioksidan savunma sisteminin azalması, yalnızca hücresel organellerin ve enzimlerin hasarına değil, lipid peroksidasyonunun artmasına ve insülin reseptörlerinin insuline karşı duyarlılıklarının azalmasına neden olmaktadır (Maritim ve ark 2003a).

$\beta$  hücrelerinin ROT'lara karşı duyarlı olmalarının nedeni; SOD, GSH-Px ve CAT gibi önemli antioksidan enzimler bakımından yetersiz olmalarıdır. ROT'lar nedeniyle artan lipid peroksidasyonu Langerhans ada hücrelerindeki glikozun oksidasyonunu artırır, insülin salınımını ve insülin mRNA'sının transkripsiyon faktörüne bağlanmasını inhibe eder (Evans ve ark 2003).

Oksidatif stres tip I diyabette sitokinlerin tetiklediği oksidasyon ajanları ve kısmen serbest radikaller tarafından oluşturulan  $\beta$  hücrelerindeki hasarın, tip II diyabette ise insülin üretimi fonksiyonlarının ve salınımının bozulmasının nedenidir. Streptozotosin veya alloxan deneysel diabetes mellitus oluşturmak amacı ile yaygın olarak kullanılan diabetik etkenlerdir. Hayvanlarda travma, cerrahi uygulama, neoplazmalar yanında streptozotosin ve alloxan gibi diyabetojenik etkenler ile pankreas  $\beta$  hücrelerinin zarar görmesi sonucu diabetes mellitusun oluşabileceği bildirilmiştir. Streptozotosin hem pankreatik insülin salınımının hem de tirozin kinaz aktivitesinin inhibisyonuna neden olan hedef doku hücrelerindeki insülin reseptörlerinde azalma ile etkisini göstermektedir (Feldman 1983, Pilkis ve ark 1988).

Son çalışmalarındaki bulgular diyabetle beraber artan ROT üretiminin antioksidan savunma sistemini baskılayarak, enzim sistemlerinde değişikliklere neden olduğunu, buna bağlı olarak da endotelial, vasküler ve nörovasküler disfonksiyonlar meydana getirdiğini



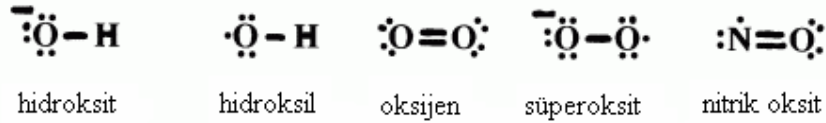
açıkça göstermektedir (Aragno ve ark 1999, Ramanathan ve ark 1999, Gumieniczek ve ark 2002). Gerek diyabetli kişiler, gerekse deneysel olarak diyabet oluşturulan deney hayvanları üzerinde yapılan çok sayıda çalışmada, antioksidan karotenoidler, çeşitli vitaminler (vitamin C, E) aspirin, stobadin ve çeşitli bitkisel ekstraktların da içinde yer aldığı değişik ajanlar kullanılmıştır (Cengiz ve Cengiz 2000, Ulusu ve ark 2003, Kağa 2006, Tekkes 2006).

Bu çalışmada antioksidan amaçlı kullanılan likopenin diyabetteki etkileri araştırılmıştır. Likopen, insan plazmasında yüksek düzeylerde bulunan karotenoidlerdendir. Likopen en fazla domatestede olmak üzere karpuz, pembe greyfurt gibi meyve ve sebzelerde bulunur ve onlara kırmızı rengini verir (Stahl ve Sies 1996, Yaping ve ark 2002). Domates domates suyu, sos, salça veya ketçap şeklinde işlendiği zaman, likopenin kimyasal yapısı ısıya bağlı olarak değişmekte; bu da vücut tarafından daha kolay absorbe edilmesini sağlamaktadır. Buna göre işlenmiş ya da pişirilmiş domates ürünlerindeki likopenin biyoyararlılığı, ham domates ürünlerinden daha fazladır (Stahl ve Sies 1996, Caene-Adams ve ark 2005). Likopen antioksidan, serbest radikal temizleyici, yangı giderici ve antikanserojen özelliklere sahip bir maddedir (Rao ve Agarwal 1999, Pellegrini ve ark 2000). Yapısındaki çift bağların eşleşmemiş elektronlarla bağlanması sonucu antioksidan aktivitesi gösterir. Yüksek konsantrasyonlarında lipidleri peroksidasyon zararından korur (Mortensen ve ark 2001). İn-vitro sistemlerde antioksidan olarak radikal toplama aktivitesine sahiptir (Stahl ve Sies 1992).

### **3.7. Serbest Radikaller ve Antioksidan Sistemler**

Serbest radikaller son yörüngelerinde paylaşılmamış elektron içeren molekül ya da atomlardır (Woods ve ark 2001). Elektronların bu dizilimi kararsız olduğundan radikaller hızlı bir şekilde diğer moleküllerle veya radikallerle reaksiyona girerek kararlı bir konfigürasyon oluşturmaya çalışırlar. Bu reaksiyonlar sonucunda oluşan en etkili serbest radikaller reaktif oksijen türleridir (ROT). Organizmalardaki en aktif ROT üreticileri fagositoz hücreleridir. Uyarıldıklarında, oksijeni indirgeyerek hidroksil radikali, hidrojen peroksit ve süperoksit gibi ROT'lerini oluştururlar. Biyolojik sistemlerde en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan radikallerdir ve serbest radikallerin birçok kaynağı vardır. Bu kaynaklardan birisini oluşturan aktive edilmiş fagositler görevleri sırasında süperoksit radikalini üretirler. Diğer ROT kaynakları yine oksijenin katıldığı mitokondriyal elektron taşıma zincir reaksiyonları doymamış yağ asitlerinin ve kateşolaminlerin oksidasyonu ile NADPH bağımlı oksidazlardır (Thomas 1995).

Kuantum kimyasına göre ancak iki elektron bir bağ yapısına girebilir. Ayrıca iki elektronun ters dönüş doğrultusunda olması gerekir. Yani yukarıya doğru dönen bir elektronun eşi aşağıya doğru dönen bir elektrondur. Elektron çiftleri oldukça kararlıdır ve insan vücudunun neredeyse tüm elektronları elektron çifti halinde bulunur. Bir bağ kopduğunda elektronlar ya birlikte kalır (ikisi de bir atoma katılır) ya da ayrılırlar (biri bir atoma, diğeri diğere). Eğer birlikte kalırlarsa oluşan atom bir iyon olur, eğer ayrılırlarsa da serbest radikaller oluşur (Şekil 3.7.). Bu eşleşmemiş elektronlar yüksek enerjilidir ve eşleşmiş elektronları ayırıp işlerine engel olurlar. Bu işlem serbest radikalleri hem tehlikeli hem kullanışlı yapar (Gümrükçüoğlu ve Onur 2004). Serbest radikaller yaşam için gereklidir. Elektron transferi, enerji üretimi ve pek çok diğer metabolik işlevde temel oluşturur.



Şekil 3.7. Serbest radikallerin moleküler yapıları.

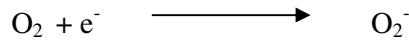
Serbest radikaller aşırı üretilmeleri halinde toksiktirler ve hücrelerdeki lipidleri, proteinleri ve DNA'yı oksitleyerek peroksidasyona ve modifikasyona neden olabilirler. Bu olaya "oksidatif stres" denir (Basu 1999). Ayrıca vücutta yangı, bağışıklık sistemine ait hastalıklar, yaşlanma, ateroskleröz, iskemik hasar, hipertansiyon, nörolojik hastalıklar, akciğer ve karaciğer hastalıkları, göz hastalıkları, mutajenezis, karsinogenezis, infeksiyöz hastalıklar ve ürolojik hastalıklar gibi hastalıklara da neden olabilirler (Kaneko ve ark 1980, Zima ve ark 1995).

Serbest radikaller somatik hücrelere ve bağışıklık sistemine saldıran moleküllerdir. Antioksidanlar da bu serbest radikallerin etkilerini nötralize eden, kanser, kalp hastalıkları ve erken yaşlanmaya neden olabilecek zincir reaksiyonlarını engelleyen moleküllerdir. (Zima ve ark 1995). Oksidasyona neden olan serbest radikaller temel olarak oksijen kaynaklı metabolitler, (süperoksit anyonları  $\text{O}_2^-$ , hidrojen peroksit  $\text{H}_2\text{O}_2$ , hidroksil radikali OH) hipokloröz asit, kloraminler, azot dioksit, ozon ve lipid peroksitlerdir (Basu 1999). Serbest radikal oluşumuna sigara, herbisit ve pestisitler, çözücüler, petrokimya ürünleri, ilaçlar, güneş ışınları, X-ışınları, hatta yiyeceklerde bulunan bazı bileşikler neden olur.

Egzersizler de oksijen kullanımındaki artışla beraber serbest radikal oluşumuna neden olur (Conn ve ark 1991).

### 3.7.1. Süperoksit radikali ( $O_2^-$ )

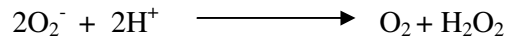
Moleküler oksijen ( $O_2$ ) bir elektron alarak indirgenir ve süperoksit ( $O_2^-$ ) radikali oluşur. Bu radikal kararsızdır.



Süperoksit radikali hücrede enerji metabolizmasında oksidasyon sırasında ya da oksidazlar gibi bazı enzimlerin aktivitesi sonucu oluşur. Süperoksit radikali süperoksit dismutaz (SOD) adı verilen bir enzimle nötralize edilir.

### 3.7.2. Hidrojen peroksit radikali ( $H_2O_2$ )

Süperoksit anyonuna bir elektron eklenmesi veya doğrudan indirgenmesiyle hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) oluşur. Süperoksit dismutaz (SOD) aracılığı ile katalize edilebilir (Desideri ve Falconi 2003).



### 3.7.3. Hidroksil radikali ( $OH^-$ )

Hidroksil radikali birkaç yolla oluşur. Suyun hidroliziyle ya da parçalanmasıyla hidrojen radikalleri ve hidroksil radikalleri oluşturabilir. Aynı zamanda hidrojen peroksit ve demirin birleşmesiyle oluşabilir (Fenton reaksiyonu). Bir diğer yol da Haber-Weiss reaksiyonudur.

Hidroksil radikali en reaktif serbest radikaldir ve vücuttaki serbest radikal hasarının en önemli sorumlusudur. Hidroksil radikalının en etkili radikal olmasının sebebi hücre nükleusundaki bariyerleri kolayca geçmesi ve mutajenik olarak DNA'yı etkilemesidir (Parke 1999).

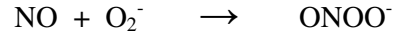
### 3.7.4. Singlet oksijen ( $^1O_2$ )

Diğer bir önemli radikal olan singlet oksijenin ( $^1O_2$ ) yarı ömrü kısadır ve son yörüngesindeki paylaşılmamış elektronun bir üst enerji seviyesine çıkması sonucu oluşur (Giardino 2005).

### 3.7.5. Nitrik oksit (NO)

Nitrik oksit, düz kasların gevşemesi, bağışıklık sisteminin düzenlenmesi, nörotransmisyon ve vazodilatasyonu içeren çeşitli fizyolojik süreçlerde rol alan önemli bir pro-oksidatif ve antioksidatif sinyal molekülüdür (Bergendi ve ark 1999, Aldetron ve ark 2001). Nitrik oksit molekülü bir atom oksijen ile azotun çiftleşmemiş elektron vererek birleşmesinden oluşması itibarıyla radikal tanımına uymaktadır. Nitrik oksit, damar endotel hücrelerinde nitrik oksit sentetaz (eNOS) enzimi tarafından L-arjininden sentezlenir (Ghfourifar ve Cadenas 2005), beyin hücrelerinde nöronal (nNOS) ve birçok dokuda değişik etkenler sonucu transkripsiyon ve translasyona uğrayan indüklenebilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) enzimleri tarafından da üretilir.

Yangı sürecinde oksidatif stresin başlamasıyla  $O_2^-$  anyonu ve NO bağışıklık sistem hücreleri tarafından üretilir. Bu şartlar altında birbirleri ile etkileşime girerek önemli düzeyde güçlü oksidatif bir molekül olan peroksinitrit ( $ONOO^-$ ) anyonu meydana gelir. Bu serbest radikal lipidlerde peroksidasyonlara ve DNA kırılmalarına neden olabilir (Carr ve ark 2000).



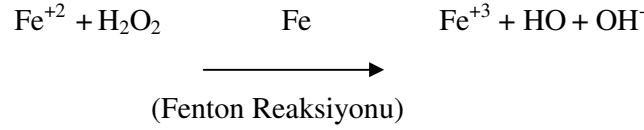
Nitrik oksit hücreselel patofizyolojide önemli bir rol oynayan çözünebilir. Vazodilatör mesajı endotelyumdan düz kasa taşıyan bir enerji aktarıcısı olarak, sentral ve periferel sinirsel aktarımda ve bağışıklıkta aktif rol alır. Sonuçta hücrede ve hücre dışında taşınan NO miktarı çok hassastır.

### 3.7.6. Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları

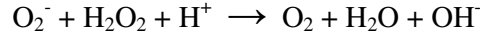
Moleküler oksijen diradikal olarak tanımlanmıştır. Bu özelliği, sıvı haldeki oksijenin manyetik kutuplarında çekimi ile ilgilidir. Bu yüzden, oksijenin suya dönüşebilmesi için elektron taşıma zincirinin dört elektrona ihtiyacı vardır.

Moleküler oksijenin bir elektron indirgenmesiyle  $O_2^-$  oluşur. İkinci elektronun indirgenmesiyle, daha sonra  $H_2O_2$ 'yi oluşturacak olan peroksit radikali oluşur. Üçüncü elektron, demirin katalizlediği Fenton reaksiyonu sonucunda,  $H_2O_2$ 'yi indirgeyip  $OH^-$ 'i oluşturur (Reddy ve Yao 1999).

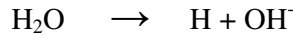
*Fenton reaksiyonu:* Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ),  $Fe^{++}$  ve diğer geçiş elementleri (Co, Cr, Cu, Mo, Mn, Ni, Zn) ile indirgenerek  $OH^-$  radikali oluşur (Leonard ve ark 2004).



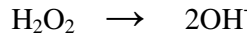
*Haber-Weiss reaksiyonu:*  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^-$  ile reaksiyona girer ve  $\text{OH}^-$  radikalini oluşturur. Bu reaksiyon Cu ve Fe tarafından katalizlenir (Liochev ve Fridovich 2002).



Su yüksek enerjili radyasyona (X veya  $\gamma$  ışınları) maruz kalırsa da  $\text{OH}^-$  oluşur.



$\text{H}_2\text{O}_2$ 'nin UV ışığına maruz kalması ile  $\text{OH}^-$  oluşabilir.



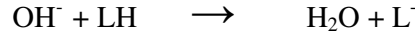
Oksidanların özellikle ROT'lerin aşırı birikmesiyle oluşan oksidatif stres membran lipitlerindeki doymamış yağlardaki bağları koparıp membran viskozitesini ve geçirgenliğini artırır. Ayrıca membran seçiciliğini değiştirir. ROT'lerin oluşumunun başlangıcında yer alan  $\text{O}_2^-$ , proteinleri bölümlere ayırarak enzim aktivasyonlarında bozulmaya ve iyon transferinde aksaklıklara neden olurken, Fe iyonu ile reaksiyona girip proteoliz oluşturur (Giles ve ark 2003). DNA'da ise sakkarit halkalarında kopmalar sonucu mutasyonlar, bazlardaki modifikasyonlara bağlı translayon hataları, zincir kırılmaları ile proteosentezde inhibisyonlara neden olur. Böylece hücre ölüme gider (Gutteridge ve Halliwell 1994, Evans ve ark 2003, Giles ve ark 2003, Patockova ve ark 2003).

### 3.7.7. Peroksil radikali ( $\text{ROO}^-$ ) ve lipit peroksidasyonu

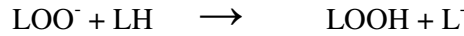
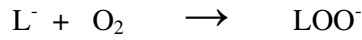
Biyomembranlar, hücre içi organeller ve membran fosfolipidlerinde bulunan doymamış yağ asitleri oksidatif ataklara büyük oranda duyarlıdır (Esterbauer ve ark 1991). ROT, hücre hasarı meydana getirirken lipitlerden farklı radikaller ve lipit peroksitler de oluşmaktadır.

Lipit peroksidasyonu, serbest radikaller ile başlayan, membranlarda bulunan fosfolipitlerin çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan ve böylece membran lipit yapısını değiştirerek hücre yapı ve fonksiyonlarını bozan kimyasal bir olaydır (Halliwell ve Gutteridge 2001). Lipit peroksidasyonunda zincirleme reaksiyonların başlatılması için tetikleyici faktör gereklidir. Bu faktörün  $\text{OH}^-$  radikali olduğu kabul

edilmektedir. Lipit peroksidasyonu, çoklu doymamış yağ asitlerinin zincirleme bir radikal reaksiyonudur ve üç aşamadan oluşur (Nyska ve Kohen 2002). Başlama safhasında OH<sup>-</sup> radikali, bir yağ asitinin (LH) metilen molekülünden bir hidrojen atomu (H<sup>+</sup>) kopararak bir lipit radikali (L<sup>-</sup>) oluşturur. Bu reaksiyon hem membran lipitleri hem de besinsel yağlar için geçerlidir.

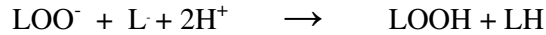


İlerleme ve yıkım safhası zincirleme reaksiyona uğrayan lipit radikaline O<sub>2</sub> ilavesi ile devam eder ve lipit peroksil radikali (LOO<sup>-</sup>) ile lipit peroksit oluşur.



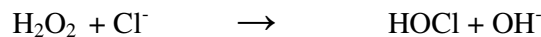
Tek elektron üzerinden yeniden yapılanma lipidin parçalanması ile sonuçlanır. Üç veya daha fazla çift bağa sahip yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu malon dialdehit (MDA) oluşmaktadır. MDA plazmada çözünür olduğundan idrarda da saptanabilir. Açığa çıkan diğer ürünler ise, 4-hidroksinonenal ve 4- hidroksi-2,3-transnonenaldır. Bu yıkım ürünleri mutajeniktirler ve DNA veya proteinlerle reaksiyona girebilirler (Tekkes 2006).

Sonlanma safhası: Zincir reaksiyonu antioksidanlar tarafından sonlandırılabilir.



### 3.7.8. Hipokloröz asit (HOCl)

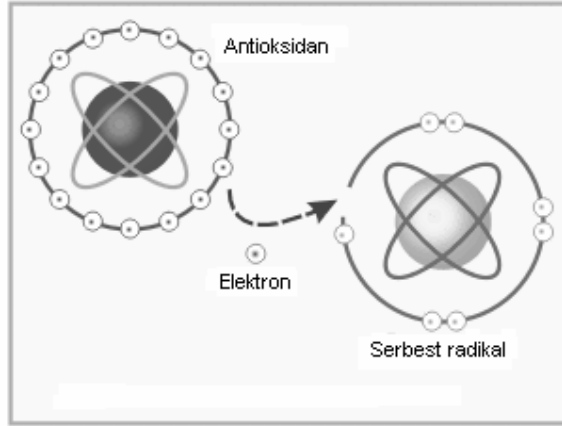
HOCl radikal olmamasına rağmen ROT arasında yer almaktadır. Bakterilerin fagositik hücreler tarafından yok edilmesinde önemli rol oynar. Aktif hale geçen monositler, nötrofiller, makrofajlar ve eozinofiller O<sub>2</sub><sup>-</sup> radikalini üretirler. Radikal üretimi fagositik hücrelerin bakterileri öldürmesinde büyük önem taşır. Özellikle nötrofiller içerdikleri myeloperoksidaz enzimi aracılığı ile O<sub>2</sub><sup>-</sup>'in dismutasyonu ile oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i Cl<sup>-</sup> iyonu ile birleştirerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl'e dönüştürür (Carr ve ark 2000).



### 3.7.9. Antioksidan sistemler

Serbest radikaller somatik hücrelere ve bağışıklık sistemine saldırırlar. Antioksidanlar da bu serbest radikallerin etkilerini nötralize eden kanser, kalp hastalıkları

ve erken yaşlanmaya neden olabilecek zincir reaksiyonlarını engelleyen moleküllerdir (Şekil 3.8.).



**Şekil 3.8.** Antioksidanların serbest radikalleri nötralize etmesi.

Antioksidanlar genel olarak serbest radikal oluşumunu engelleyen maddeler olarak tanımlanmışlardır (Powell 2000). Antioksidan savunma sistemi hücre içi ve hücre dışı olarak ikiye ayrılır. Hücre içi savunma sisteminin enzimatik antioksidanları süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px)'dir. Enzimatik olmayan hücre içi antioksidanlar arasında glutatyon (GSH), membranlara bağlanabilen  $\alpha$ -tokoferol ve  $\alpha$ -karoten, askorbat, transferin, seruloplazmin ve bilirubin bulunur (Brezezinska-Slebodzinska 2001, Koçyiğit ve ark 2002, Kleczkowski ve ark 2003). Hücre dışı savunma sistemi ise; metallotionin gibi serbest radikal yok edicileri ve iz elementlerden oluşur (Armstrong 1998).

### 3.7.10. Antioksidan mekanizmalar

Oksidanları inaktif hale getiren maddelere antioksidanlar denir. Normal sağlıklı kişilerde serbest radikaller/antioksidanlar denge halindedir. Diyabette ise bu denge serbest radikaller lehine bozulmuştur (Memisogullari ve ark 2003, Memisogullari ve Bakan 2004). Bu da diyabetin komplikasyonlarına neden olmaktadır. Antioksidanlar 4 farklı mekanizma ile oksidanları etkisizleştirirler.

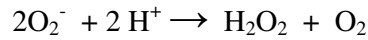
1. Scavenging (temizleme) etkisi: Oksidanları zayıf bir moleküle çevirme şeklinde olan bu etki enzimler tarafından yapılır.
2. Quencher (baskılama) etkisi: Oksidanalara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirme şeklindeki bu etki vitaminler ve flavonoidler tarafından yapılır.

3. Onarma etkisi: Oksidatif hasar görmüş biyomoleküller onarılır.
4. Zincir koparma etkisi: Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleyen ağır metallere şeklindeki bu etki hemoglobin, seruloplazmin ve E vitamini tarafından yapılır (Sözmen 2002, Taysi ve ark 2002a, Cherubini ve ark 2005).

### 3.7.11. Enzimatik antioksidanlar

#### 3.7.11.1. Superoksit dismutaz (SOD)

Antioksidan enzimlerden en önemlisidir. SOD eritrosit, hepatosit ve beyin hücrelerinin mitokondri matriksinde bulunur. Kararlı bir yapıya sahiptir. Superoksiti  $H_2O_2$  ve  $O_2$  çeviren reaksiyonu katalizleyen bir metalloenzimdir (McIntyre ve ark 1999).



Süperoksit anyonunun üretimi ile serbest radikal reaksiyonları tetiklenir. SOD hücrel kompartmanlardaki  $O_2^-$  düzeylerini kontrol altında tutar. Bu enzimlerin aktif merkezlerinde bulunan aminoasitlerin çeşitliliği, kofaktör ve diğer bazı özelliklerine göre farklı izoformları bulunmaktadır. Üç farklı izoformu vardır (Landis ve Tower 2005). Bunlar;

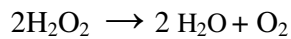
*Mitokondriyal SOD (Mn-SOD)*: Kofaktörü mangandır.

*Sitoplazmik SOD (Cu-Zn SOD)*: Kofaktörleri çinko ve bakırdır. Bu enzimin aktivitesinden bakır, stabilitesinden ise çinko sorumludur.

*Ekstrasellüler SOD (EC-SOD)*: Tetramerik yapıdadır. Heparin ve heparin sülfat gibi glikozaminoglikanlara eğilim gösterir. Bu enzim de aktivitesi için bakıra, stabilitesi için çinkoya ihtiyaç duyar (Mates ve ark 1999). Ancak yapılan araştırmalarda genellikle tümünü kapsayan enzim (total SOD) aktivitesi ölçülür.

#### 3.7.11.2. Katalaz (CAT)

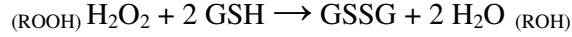
Eritrositlerin sitoplazmasında ve hepatositlerin mitokondrisinde bulunurken, diğer hücrelerin peroksizomlarında yer alır (Armstrong 1998) ve  $H_2O_2$ 'i  $H_2O$  ve  $O_2$ 'e çevirerek etkisiz hale getirir (McIntyre ve ark 1999). Karaciğer ve eritrositler katalazın en yüksek aktiviteye sahip olduğu yapılardır. CAT hücreyi respiratuvar patlamalara karşı da koruyucu olarak hizmet eder. Katalazın indirgeyici aktivitesi  $H_2O_2$  yanı sıra metil-, etil-hidroksiperoksitler gibi küçük molekülü lipit hidroperoksitleri de içine alır.





### 3.7.11.3. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)

GSH-Px antioksidan enzimlerin en aktif olanıdır. Hücre içi hidroperoksitleri yok etmekle sorumludur (Armstrong 1998). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i suya çevirerek methemoglobin oluşumunu engeller (Kalaycıoğlu ve ark 1998) ve membran lipidlerini peroksit anyonuna karşı koruyarak hücre membranının bütünlüğünü korur. E vitamini ile sinerjik etkileşimi söz konusudur. GSH-Px ayrıca büyüme, gelişme ve üreme için gerekli bir iz element olan selenyumu yapısında bulundurur. Selenyum eksikliğinin, bu enzimin aktivitesini azalttığı bilinmektedir (Brigelius-Flohe 1999).



GSH ise önemli bir hücre içi antioksidandır. Redükte edilmiş şekli, serbest radikallerinin inhibisyonunda (Boehme ve ark 1992), indirgenmiş sülfidril gruplarının stabilizasyonunda ve tokoferol ile askorbatın rejenerasyonunda görevlidir (Armstrong 1998). Ayrıca GSH-Px'in kofaktörü olarak da görev yapar (Boehme ve ark 1992).

### 3.7.12. Enzimatik olmayan antioksidanlar

Organizmalarda enzimatik antioksidanların gibi vitaminler de serbest radikallerin zararlı etkilerinin ortadan kaldırılmasında önemli rol alır. Vitaminler non-enzimatik antioksidanlar kısmında yer alır. Bunlar içerisinde vitamin C, karotenoidlerden köken alan vitamin A ve vitamin E en başta gelen antioksidan vitaminlerdir.

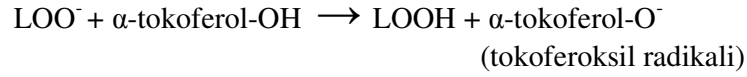
#### 3.7.12.1. Vitamin C

Vitamin C, akciğerler ve göz lensi gibi su içeriği yüksek organ ve dokularda bulunan güçlü bir antioksidan sistemi oluşturur. Vitamin E ile birlikte lipoproteinlerde ve hücre membranında bulunan  $\alpha$ -tokoferoksil radikalinin  $\alpha$ -tokoferole redüklenmesini sağlar (Carr ve Frei 1999, Kojo 2004).

#### 3.7.12.2. Vitamin E

Vitamin E, tokoferol yapısında olup  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  olmak üzere dört farklı tipin karışımı şeklinde bulunabilir ve yağda çözünür özelliğe sahiptir. Vitamin E'nin en aktif formu olan  $\alpha$ -tokoferol çok kuvvetli bir antioksidandır ve hücre membran fosfolipidlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal etkilerinden korur. Vitamin E, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, OH<sup>-</sup>, lipid peroksil radikallerine ve diğer radikallere bir elektron vererek zararsız formlara dönüşümlerini sağlar. Lipid peroksil radikallerini yıkarak lipid peroksidasyon zincir

reaksiyonlarını sonlandırdığı için zincir kırıcı bir antioksidan olarak da görev görür (Burton ve Ingold 1989, Priyor 2000). Yapısında bulunan fenolik OH<sup>-</sup> gruplu aromatik halka vitaminin aktif kısmını oluşturur ve antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır (Burton ve Ingold 1989).



### 3.7.12.3. Karotenoidler

Karotenoidlerin en önemli kaynağı bitkiler olup doğal pigmentlerin büyük oranda dağılmış gruplarından biridir. Genellikle kırmızı, turuncu ve sarı renklidir. Olgun bitkilerde klorofil içeriğinin azalmasıyla domates, karpuz, portakal gibi çoğu meyvenin renkleri ortaya çıkar. Karotenoidler bitkilerin fotosentezi için ışık toplama, özellikle de yıkıcı fotooksidasyona karşı koruyucu olarak gereklidir. Karotenoidler ticari gıda maddelerine kimyasal sentezle üretilen saf bileşikler ya da doğal ekstraktlar şeklinde renklendirici olarak eklenirler (Cadenas ve ark 1996). Karotenoidler tetraperten ailesinden olup doğada 600'den fazla çeşidi bulunur. Bitki, alg, mantarlar ve bakteriler tarafından sentezlenebilirken, insanlar ve hayvanlar vücutlarında sentezleyemeyip besinlerle dışarıdan alırlar. İnsan ve hayvanlarda, karotenoidler, diğer antioksidanlarla beraber veya onları tetikleyerek peroksil ve singlet oksijen radikallerinin etkisi ile oluşan fotooksidatif sürece karşı görev alırlar. Karotenoidlerin, hayvan denemelerinde (Giron ve ark 1997, Kim ve ark 1998, Okajima ve ark 1998) ve insanlarda in vitro kanser hücrelerinin inhibisyonunda (Pastori ve ark 1998, Amir ve ark 1999) rol aldığı saptanmıştır.

Karotenoidlerin özellikleri ve fonksiyonları onların kimyasal yapısına bağlıdır. Fotosentezde olduğu gibi enerji transfer reaksiyonlarında en önemli faktörün özellikle tekli ve konjuge çift bağlı bir sistemle 40 C'luk ünitenin (C=C) kuyruk kuyruğa bağlanması ile şekillenen tetraaterpen yapısında uzamalarının bir sonucu olduğu düşünülmektedir. Molekülün bu özelliği singlet oksijen toplamalarına izin verir. Karotenoidlerin bu radikal toplama özellikleri sayesinde, çoğu epidemiyolojik çalışmada, kanser, kalp rahatsızlıkları, dejeneratif göz hastalıkları gibi ciddi rahatsızlıklara karşı koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir (Stahl ve Sies 2005, Kucuk ve ark 2002, Kozuki ve ark 2000). Son yıllarda deneysel verilerden sağlanan delillere göre insanlar 50 den fazla diyete bağlı karotenoidi absorbe ve metabolize edebilme yeteneğindedir.  $\alpha$ -karoten,  $\beta$ - karoten,  $\beta$ -kriptoksantin, lutein ve likopen insan kanında en bol bulunan karotenoidler arasındadır.

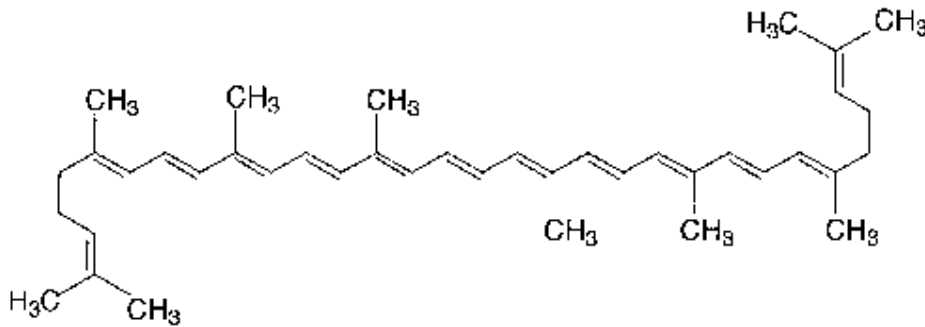
Yüksek oranda likopence sebze ve meyve alınımı insanları en yaygın görülen akciğer, mide, kolon, göğüs ve prostat kanserlerinin oluşumunu engellediği birçok araştırmacı tarafından ortaya konulmuştur (Van Poppel 1993, Van Poppel ve Gooldbohm 1995, Giovannucci 1999, Dorgan ve ark 2000, Erhardt ve ark 2003). Karotenoidler, yapılarındaki çift bağların eşleşmemiş elektronlarla bağlanması sonucu antioksidan aktivitesi gösterirler. Yüksek konsantrasyonlarında lipidleri peroksidasyon zararından korurlar (Mortensen ve ark 2001). Bu ailenin önemli üyelerinden biri olan likopen, düz bir sıra halinde düzenlenmiş çok sayıda çift bağ içeren hidrokarbon zincirin açık formundan oluşur.  $\alpha$ -karoten zincirinin sonunda açık bir  $\beta$ - halkası bulunur. Kimyasal reaksiyonlarda yüksek ve düşük enerjilerde bu bağlar trans formundan mono veya poli cis izomerizasyonuna maruz kalabilir.

Kandaki yüksek likopen konsantrasyonu prostat kanseri (Liu ve ark 2001), sindirim sistemi kanseri (De Stefani ve ark 2000), pankreas kanseri (Burney ve ark 1989), uterus kanseri (VanEenwyk ve ark 1991) ve kalp krizi (Clinton 1998) riskinin düşürülmesinde etkilidir.

Bu çalışmada antioksidan olarak kullanılan likopen ayrı bir başlık olarak geniş bir şekilde aşağıda ele alınmıştır.

#### 3.7.12.4. Likopen

Likopen, düz bir sıra halinde düzenlenmiş 11 adet çift ve 2 adet tekli bağ içeren hidrokarbon zincirin açık formundan oluşur.  $\alpha$ -karoten zincirinin sonunda açık bir  $\beta$ -halkası bulunur (Şekil 3.9.). Kimyasal reaksiyonlarda yüksek veya düşük enerjide bu bağlar trans formundan mono veya poli cis izomerizasyonuna maruz kalabilir.



Şekil 3.9. Likopenin yapısı.

Likopen insan plazmasında en yüksek düzeylerde bulunan karotenoidlerdendir. Kuvvetli bir antioksidan olan likopen, aynı zamanda yangı giderici ve antikanserojen özelliklere sahip bir vitamindir (Rao ve Agarwal 1999). Hücreleri serbest radikal hasarından korumasının yanı sıra, hücreler arasındaki bağları güçlendirmekte ve hücre metabolizmasını geliştirmektedir. Yağda çözünen, yağ miktarı fazla doku ve organlarda etkinliği artan likopenin, yağ içeriği oldukça fazla bir organ olan ciltte de antioksidan-koruyucu etki gösterdiği saptanmıştır. Likopen, cilt hücreleri arasındaki bağları kuvvetlendirmektedir. Diğer bir yararlı etkisi, ultraviyole ışınlarına karşı koruma sağlamasıdır. Likopen aynı zamanda kolesterol düşürücü özelliğe de sahiptir. Göğüs, rahim, karaciğer, prostat kanserlerinden koruyan, kalp damar hastalıkları, kemik ve cilt sağlığı açısından koruyucu etkisi bulunan likopen, antioksidan özelliğiyle yaşlanma sürecini yavaşlatmaktadır (Rousseau ve ark 1992, Boileau ve ark 2001, Mashima ve ark 2001). Yarılanma ömrü 2-3 gündür. Likopen doğal lipofilik karakterde olduğu için düşük dansiteli lipoprotein (LDL) ve çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) yapılarında yer alırken yüksek dansiteli lipoproteinlerde (HDL) bulunmaz (Stahl ve Sies 1996). Likopenin başlıca kaynakları domates ve bundan elde edilen ketçap, sos ve domates suyu gibi ürünlerdir (Rao ve Agarwal 1999, Hadley ve ark 2003). Karpuz, pembe greyfurt ve pembe kavun likopen içeren diğer besin kaynaklarıdır ve onlara kırmızı rengini verir (Nguyen ve Schvartz 1999, Edwards ve ark 2003).

#### **3.7.12.4. Likopenin antioksidatif etkisi**

Stres faktörleri etkisi ile açığa çıkan ROT ve nitrojen türleri proteinler, lipidler ve DNA gibi hücresel biyomoleküllere etki ederek kardiyovasküler, osteoporoz ve kanser gibi kronik hastalıklara yatkınlığı artırmaktadır. Bu nedenle antioksidanların diyetle alınmasının stratejik moleküllerin korunması ve oksidatif zarardan korunmada önemli derecede rol oynadığı belirtilmiştir (Halliwell 1994, Ames ve ark 1995, Pincemail 1995).

Karotenoidlerin insan lenfositlerini  $O_2^-$ 'nin zararından koruduğu, kardiyovasküler hastalıklar ve bazı kanser çeşitlerini içeren bazı dejeneratif bozukluk risklerini azalttığı bildirilmiştir. Likopen, yapısında yer alan  $\beta$ -siklik halkanın açılmış olması nedeniyle daha yüksek kapasitede antioksidan etkiye sahiptir (Mayne 1996, Miller ve ark 1996). Likopenin sigara kullananlarda meydana gelen azot dioksit ( $NO_2$ ) ve  $H_2O_2$ 'e karşı hücresel korumada  $\beta$ -karotenden daha etkili olduğu bildirilmiştir (Böhm ve ark 2001). Karotenoidler diğer serbest radikallerin oluşumuna sebep olan  $O_2^-$ 'i ortadan kaldırmada etkilidir (Conn ve ark 1991). Singlet oksijenin giderildiği süreçte enerji likopen

molekölüne transfer edilir. Değişim sırasında enerji bakımından zengin bir bileşik oluşur. Bileşikteki likopen fiziksel sönme veya ısı şeklindeki enerji dağılması ile eski haline döner ve başka serbest radikalleri ortadan kaldırmak için hazır bir şekilde bileşikten ayrılır. Likopenin ratlarda *in vivo* şartlarda ve hücre kültüründe oksidatif DNA hasarını azalttığı saptanmıştır (Matos ve ark 2000). Likopenin antioksidan özelliğinin yanı sıra antikanserojen, gelişim faktörleri, bazı hormonlar ve sitokinlerin sinyal iletimi, hücreler arası haberleşme ve hücre ölümlerini regüle etme gibi önemli biyolojik süreçlere etkileri de bulunmaktadır (Wertz ve ark 2004).

## 4.MATERYAL ve METOT

### 4.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve cihazlar aşağıdaki tablolarda (4.1. ve 4.2.) verilmiştir.

**Tablo 4.1.** Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler.

Kimyasalın Adı	Markası	Katalog No
First-strand cDNA sentez kiti (MLV reverse transcriptase)	Fermentas	K1612
TRI-Reagent RNA izolasyon kiti	Sigma	T 9424
DNA marker ve Loading dye	Fermentas	SM 1318
Agarose (low melting temperature)	Merck	1.01236
Tris-baz	Merck	1.08387
EDTA	Merck	1.08421
Borik asit	Merck	1.00165
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	Riedel – de Haen	04272
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Merck	1.04871
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Riedel – de Haen	13418
2XPCR Master Mix	Fermentas	1414
DEPC (diethyl pyrocarbonate)	Fermentas	00016835
Kloroform	Merck	1.02445
n-butanol	Merck	1.00988
Sodyum sitrat	Merck	K00964032
CuSO <sub>4</sub>	Carlo Erbaa	364757
Glisin	Merck	5.00190
NaOH	Merck	1.06462
ZnSO <sub>4</sub>	Merck	1.08881
Sülfanilik asit	Merck	8.22338
N-Naftiletildiamin	Merck	1.06237
HCl	Merck	1.00314
KCl	Riedel – de Haen	12636
NaCl	Riedel – de Haen	13423
DTNB	Merck	1.03291
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Merck	1.00713
TCAA	Merck	1.00807
TBA	Merck	1.08180
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Merck	1.08597
Ksantin	Sigma	X 7375
Ksantin Oksidaz	Sigma	X 1875
β Actin primerleri (SE14, SE15)	Thermo	
GSH-Px, CAT ve SOD primerleri	İontek	
İnsülin ELISA kiti	Linco	EZRMI-13K
GSH-Px kiti	Randox Ransel	RS 505
SDS	Merck	8.22050

Ethanol	Merck	1.00983
2-propanol	Merck	1.00995
Brillant Sybr Green QPCR Master Mix	Stratagene	600548
O'Gene Ruler 100 bp DNA Ladder Plus	Fermentas	00015082
K <sub>3</sub> Fe(CN) <sub>6</sub>	Sigma	P-3289
KCN	Fluka	60180
NaHCO <sub>3</sub>	Sigma	S7795
Streptozotocin	Sigma	S0130

**Tablo 4.2.** Çalışmada kullanılan cihazlar.

<b>Cihaz Adı</b>	<b>Markası</b>	<b>Modeli</b>
Spektrofotometre	Shimadzu	UVmini-1240
Hassas Terazi	Shimadzu	AW 320
Soğutmalı Santrifüj	Kubota	3500
Mikro Santrifüj	Stratagene	Picofuge
Su Banyosu (0-80°)	Grant	Fe 15
Kaynar Su Banyosu	Grant	5,3A
Vortex	Labart	MVS-1
Real Time PCR Cihazı	Stratagene	Mx3005P
Elektroforez Tankı (7x7)	Owl	B1A
Elektroforez Tankı (10x10)	Owl	B1
Güç Kaynağı	Thermo Electron	57090ECA-LVD
Distile Su Cihazı	Millipore	Rios-Di UV3
Buz Makinesi	Hoshizaki	FM-70GE
Magnetik karıştırıcı	Stuart	SM1
pH metre	WTW	pH340/ION
Jel görüntüleme sistemi	UVP	TFM-26
Fotoğraf makinesi	Olympus	DC6V
Kan Glikoz Ölçüm Cihazı ve Stripleri	ACCU-CHEK GO	CR2430

#### 4.2. Hayvan Materyali

Bu araştırmada ağırlıkları 150-250 gram olan 2 aylık erkek Wistar cinsi ratlar kullanıldı. Ratlar özel rat kafesleri içerisinde ortalama 25°C oda sıcaklığında ve standart ticari rat pelet yemi ile beslendi. Ratların önlerinde daima yem ve su bulundurulmuştur. 10 günlük bir adaptasyondan sonra tesadüfi örnekleme ile hayvanlar 6'şarlı 4 gruba ayrıldı. Gruplar sırasıyla kontrol (K), diyabet (D), diyabet + likopen (D+L) ve likopen (L) grubu şeklinde düzenlendi.

#### 4.3. Diyabet Modelinin Oluşturulması ve Likopen Verilmesi

Deneyel olarak diyabet oluşturmak için streptozotocin (STZ) kullanıldı. Diyabet oluşturulacak ratlar STZ verilmeden bir gün (24 saat) önce aç bırakılmıştır. 0,1 M sodyum sitrat tamponunda (pH=4.5) çözdürülen STZ, tek enjeksiyonla 45 mg/kg dozunda (i.p.)

uygulanmıştır (Latha ve Pori 2004). 48 saat sonra açlık kan şekeri ölçümünde, 300 mg/dL ve üzeri kan şekeri düzeyine sahip olan ratlar diyabetli olarak kabul edilip çalışmaya alınmışlardır. K ve D gruplara gavaj yoluyla günlük 250 µl ayçiçeği yağı verilmiştir. D+L ve L gruplarına 8 hafta boyunca, ayçiçek yağı ile süspanse edilen likopen 4 mg/kg/gün dozunda gavaj ile verilmiştir (Cohen 2002, Jonker ve ark 2003, McClain ve Bausch 2003).

#### **4.4. Açlık Kan Glikoz Düzeylerinin Ölçümü**

STZ enjeksiyonundan 48 saat sonra ve haftalık olarak tüm çalışma boyunca ratların açlık kan glikoz düzeyleri ölçüldü. Bu amaçla hayvanlar bir gece aç bırakılmış ve aseptik koşullar altında glukometrenin iğnesi ile deriye punksiyon yapıp, çıkan bir damla kan test çubuğuna alınarak kan şekeri ölçüm cihazında işlem yapılmıştır. Alınan haftalık veriler kaydedilip istatistikî değerlendirmesi yapılmıştır.

#### **4.5. Ratların Anestezisi**

Ratlar çalışma sonunda ketamin (50 mg/kg i.p.) ile genel anestezi altına alınmış ve anestezi altında örnekleme işlemleri yapılmıştır.

#### **4.6. Kan ve Beyin Doku Örneklerinin Alımı**

Kan örnekleri anestezi altındaki ratların kalbinden enjektörle yeteri kadar (5 ml) alınmıştır. Beyin dokuları ratların kafatası açılarak alınmış ve buz soğukluğundaki salin ile yıkandıktan sonra analiz edilinceye kadar -20°C'de saklanmıştır. Kan örnekleri santrifüj edilerek (3000 rpm, 20 d) plazmaları ayrılmış, dipte kalan eritrositler fosfat tamponu ile (pH 7.4) yıkama işleminden sonra aynı tampon içerisinde analiz edilinceye kadar -20°C'de saklanmıştır.

#### **4.7. Doku Homojenizasyonu**

Dondurulmuş doku örnekleri 0.5 g olacak şekilde tartılmış ve içerisinde 50 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA ve proteaz inhibitor kokteyli (Sigma) bulunan buz soğukluğundaki fosfat tamponu (pH 7.4) kullanarak (1:10, ağırlık:hacim) teflon homojenizatör ile buz içerisinde homojenize edilmiştir. Homojenatlar 15 000 rpm'de 20 dk santrifüj edilerek katı partiküller çöktürülmüştür. Ayrılan süpernatant, yapılacak biyokimyasal analizlerde kullanılmak üzere alınmıştır. Süpernatantlarda protein düzeyi, standart olarak sığır serum albuminini kullanan Bradford metodu ile ölçülmüş ve biyokimyasal analizler için -20°C'de dondurulmuştur (Bradford 1976).



## **4.8. Spektrofotometrik Yöntemler**

### **4.8.1. Hemolizat hemoglobin (hb) konsantrasyonunun ölçümü**

0.198 g  $K_3Fe(CN)_6$ , 0.052 g KCN ve 1 g  $NaHCO_3$  1 L distile suda eritilerek drabkin çözeltisi hazırlanır. Her deney tüpüne 5ml drabkin çözeltisi konulduktan sonra üzerine 20  $\mu$ l hemolizat konular ve 10 dk oda ısısında bekletildikten sonra spektrofotometrede 540 nm'de ölçülür. Ölçülen absorban değerleri yapılan standart grafiğine göre hesaplanır (Drabkin 1946).

### **4.8.2. Nitrik oksit (NO) analizi**

Nitrit ( $NO_2^-$ ) ve nitrat ( $NO_3^-$ ) miktarı, deproteinizasyondan sonra Griess reaksiyonu ile belirlenmiştir. pH 9.7'deki glisin tamponunda bakır kaplı kadmiyum granülleri deproteinize numune (homojenat, plazma) süpernatantı ile 90 dakika inkübe edilip nitratın redüksiyonu sağlanmıştır. Üretilen nitrit miktarı sülfanilamid ve buna bağlı N-naphthylethylene diamin (NDA) diazotizasyonu ile reaksiyon sonucu oluşan pembe rengin 545 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunması ile belirlenmiştir. Sonuçta elde edilen nitrit konsantrasyonu ilk konsantrasyondan çıkarılarak nitrat miktarı belirlenmiştir (Cortas ve Wakid 1990). Elde edilen veriler kan plazması için  $\mu$ mol/L, doku örnekleri için ise  $\mu$ mol/g protein cinsinden hesaplanmıştır.

### **4.8.3. Malondialdehit (MDA) analizi**

MDA ölçümü Yoshioka ve ark (1979)'nın bildirdiği metodla, 2-thiobarbitürik asit (TBA) reaksiyonu kullanılarak yapılmıştır. Kısaca triklor asetik asit ile deproteinize edilen plazma örneklerindeki MDA, TBA ile 95°C'deki su banyosunda reaksiyona sokulmuştur. Oluşan renkli ürünler n-butanol fazına alınarak spektrofotometrede optik dansiteleri okunmuştur. Plazma MDA değerleri  $\mu$ mol/L, doku örnekleri için  $\mu$ mol/g protein cinsinden hesaplanmıştır.

### **4.8.4. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi ölçümü**

Ölçüm ksantin/ksantin oksidaz reaksiyonu ile üretilen  $O_2^-$  radikalinin nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgemesi esasına dayanır (Sun ve ark 1988). Kısaca bir kısım plazma üzerine bir kısım kloroform/etanol (5/3, v/v) karışımı ilave edildikten sonra vorteks ve santrifüj işlemleri sonucunda üstteki etanol fazı test için kullanılmıştır. Süpernatant, içinde ksantin, NBT, bovine albumin bulunan reaktif karışımı ve ksantin oksidaz enzimi ile 25°C'deki su banyosunda 20 dk süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda reaksiyon

CuCl<sub>2</sub> ile durdurulmuş; test ve blank (kör) tüplerinin absorbanları suya karşı 560 nm'de okunmuştur.

#### **4.8.5. Katalaz (CAT) aktivitesi tayini**

Spektrofotometrik olarak yapılmıştır. Metotta, ortamda bulunan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in katalaz etkisiyle yıkılması sonucu 240 nm'de verdiği absorban değerinde meydana gelen azalmanın hızı katalaz aktivitesi ile orantılıdır. Bu orantı esas alınarak enzimin aktivitesi ölçülmüştür (Luck ve ark 1965).

#### **4.8.6. Glutasyon (GSH) düzeyi ölçümü**

İndirgenmiş glutasyon (GSH) düzeylerinin ölçümü, Sedlak ve Lindsay (1968)'in spektrofotometrik yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemin prensibi, reaksiyon ortamına ilave edilen 5,5-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB)'in, glutasyonun sülfidril grupları tarafından indirgenmesi sonucu, 1 mol sülfhidrile karşılık 1 mol 2-nitro-5-merkaptobenzoik asit oluşumuna dayanmaktadır.

#### **4.8.7. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi ölçümü**

Paglia ve Valantine (1967)'nin bildirdiği metoda göre yapılmıştır. Deneyin prensibi GSH-Px'in cumene hidrojenperoksit ile glutasyonun oksidasyonu esasına dayanır. Metotta H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında GSH-Px'in oluşturduğu okside glutasyon (GSSG), glutasyon redüktaz ve NADPH yardımı ile redükte glutatona (GSH) indirgenir. NADPH'ın NADP<sup>+</sup>'ya yükseltgenmesi sırasındaki absorban azalmasının 340 nm'de tespit edilmesiyle GSH-Px aktivitesi ölçülmüştür.

#### **4.8.8. İnsülin analizi**

Çalışma sonunda ratlardan elde edilen kan plazması örneklerinde insülin konsantrasyonu ölçülmüştür. Bu amaçla ticari insülin-ELISA kiti (Linco) kullanılmış, 96 kuyucuklu pleytde gerekli pipetlemeler yapıldıktan ve uygun süre inkubasyondan sonra, meydana gelen renk değişimleri ELISA okuyucuda (528 nm) okutulup ve standartlardan hazırlanan grafikten faydalanılarak örneklerdeki insülin düzeyleri ng/ml olarak belirlenmiştir.

#### **4.9. RNA İzolasyonu ve Reverse Transkriptaz-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR)**

Beyin dokusu örneklerinde GSH-Px, CAT ve SOD enzimlerinin mRNA transkripsiyon düzeyleri reverse transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile tespit edilmiştir. Bu amaçla öncelikle beyin dokusunda yapılacak RNA izolasyonu için hazır ticari kitler (Sigma TRI-Reagent) kullanılarak elde edilen total RNA'nın miktarı ve saflığı spektrofotometrede (260 ve 280 nm'de) belirlenmiştir. OD-260/OD-280 oranı 1.7 ve üzeri olanlar çalışmada kullanılmıştır. Ayrıca her bir izolattan 2.5 µg alınarak %1'lik agarozda yürütülmüş ve total RNA'nın varlığı UV lamba altında gözlemlenmiştir.

PCR reaksiyonunda kalıp olarak kullanılmak üzere her bir örneğe ait RNA'dan 1 µg alınarak önce reverz transkriptaz (RT) ile komplementer DNA (cDNA) sentezi yapılmıştır. Daha sonra her bir örneğe ait cDNA'den 1 µl alınarak üzerine taq polimeraz, tamponlar ve bir çift primer (oligonükleotid) konulmuştur. Primerler her bir transkripsiyon analizi için spesifik olup CAT, SOD (Zangen ve ark 2006) ve GSH-Px (Bhor ve ark 2003) için belirtilen baz dizgelerinin sentezi yaptırılmış ve reaksiyonda yaklaşık 100 ng düzeyinde kullanılmıştır (Tablo 4.3.). Kontrol geni olarak β-aktin kullanılmıştır (Kostic ve ark 1997). Denatürasyon, primer yapışması ve zincir uzatma olmak üzere üç basamaktan oluşan amplifikasyon PCR yöntemi ile termal saykıl kullanılarak yapılmıştır. PCR ürünleri DNA markırı mevcudiyetinde % 1,5'lik agaroz üzerinde yürütülmüş ve ethidium bromide varlığında UV lamba altında fotoğraflanarak görüntülenmiştir. Ayrıca elde edilen dijital görüntüler bilgisayar ortamında Digi Doc-It imaj analiz programında değerlendirilmiş ve kontrol gene göre normalizasyon işlemi yapılarak semi-kantitatif olarak mRNA transkripsiyon düzeyleri belirlenmiştir.

**Tablo 4.3.** PCR analizlerinde kullanılan primer dizileri ve PCR koşulları.

Transkript	Primerler	Ürün (bp)	PCR programı	Döngü
$\beta$ -Actin	F-CATCGTCACCAACTGGGACGA R-CGTGGCCATCTCTTGCTCGAAG	466	Başl. 95 10d/95 1d-55 70s-72 100s Son. 72 10d	35
GSHPx	F-CTCTCCGCGGTGGCACAGT R-CCACCACCGGGTCGGACATAC	290	Başl. 94 5d/94 30s-60 60s-72 30s Son. 72 5d	32
CAT	F-GGCAGCTATGTGAGAGCC R-CTGACGTCCACCCTGACT	116	Başl. 94 5d/94 30s-55 30s-72 15s Son. 72 5d	35
SOD	F-GTTCCGAGGCCGCCGCGCGT R-GTCCCCATATTGATGGAC	192	Başl. 94 5d/94 30s-55 30s-72 20s Son. 72 5d	35

F: İleri primeri R: Geri primeri d: Dakika s: Saniye

#### 4.10. İstatistiksel Değerlendirme

Araştırmadan elde edilen sonuçlar SPSS 9.05 (1999) istatistik paket programında tek yönlü ANOVA testi uygulanarak yapılmıştır. İstatistiksel fark bulunan sonuçlara Duncan testi uygulanmış, veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak verilmiştir.

## 5. BULGULAR

### 5.1. Likopen Uygulamasının Açlık Kan Şekeri (AKŞ) Üzerine Etkisi

Diyabet grubu ratlarda AKŞ düzeylerinin 3. günden 8. hafta sonuna kadar önemli düzeyde yüksek olduğu görülmüştür. Likopen uygulaması ile birlikte yüksek olan AKŞ değerlerinin 1. haftadan başlayarak 8. hafta sonuna kadar istatistiksel anlamlı düzeyde düştüğü tesbit edilmiştir. Kontrol ve likopen grupları arasında istatistik bakımdan anlamlı bir farkın olmadığı gözlenmiştir (Tablo 5.1. ve Şekil 5.1.).

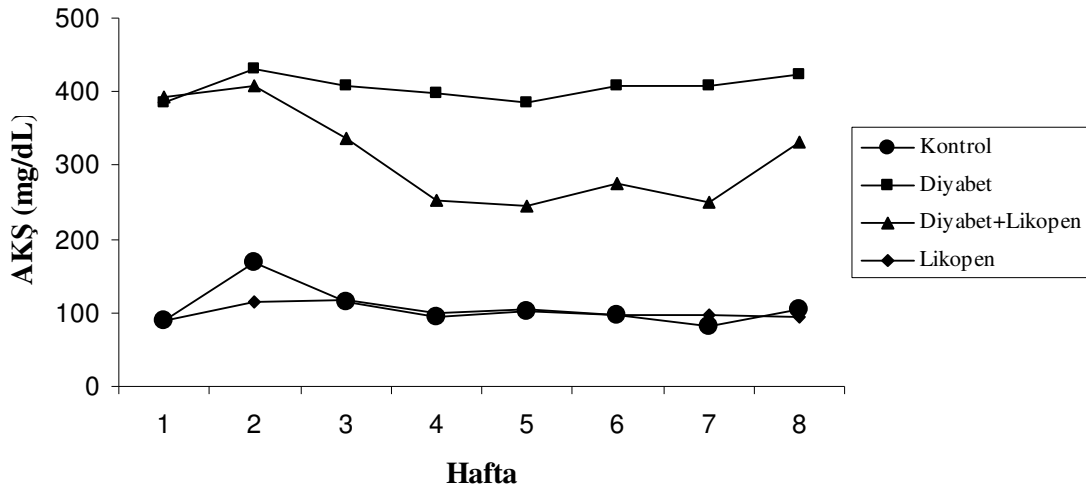
Tablo 5.1. Gruplara göre haftalık AKŞ değerleri (mg/dL).

Zaman	Kontrol	Diyabet	Diyabet+Likopen	Likopen
1. gün	129,3 ± 8,7	113,8 ± 4,7	112,2 ± 5,0	133,5 ± 2,8
3. gün	137,2 ± 7,5	448,2 ± 18,7*	469,4 ± 12,0	127,3 ± 35,9
1. hafta	89,3 ± 8,4	384,8 ± 28,2*	392,4 ± 20,5 <sup>φ</sup>	90,0 ± 2,8
2. hafta	107,7 ± 12,6	432,0 ± 46,6*	408,4 ± 36,3 <sup>φ</sup>	114,0 ± 6,7
3. hafta	115,2 ± 5,6	407,2 ± 58,5*	336,2 ± 58,0 <sup>φ</sup>	118,0 ± 5,6
4. hafta	94,8 ± 4,5	398,2 ± 50,6*	251,4 ± 27,0 <sup>φ</sup>	99,17 ± 5,8
5. hafta	103,0 ± 7,2	386,4 ± 46,7*	244,2 ± 15,5 <sup>φ</sup>	104,0 ± 5,2
6. hafta	97,3 ± 4,2	408,4 ± 28,4*	274,8 ± 23,5 <sup>φ</sup>	97,0 ± 3,8
7. hafta	81,8 ± 16,2	408,2 ± 52,2*	249,8 ± 35,8 <sup>#</sup>	96,3 ± 5,0
8. hafta	103,5 ± 3,3	424,2 ± 37,5*	331,2 ± 38,6 <sup>φ</sup>	94,7 ± 3,5

\* Aynı satır içinde kontrol gruba göre farklıdır (p<0,001).

<sup>φ</sup> Aynı satır içinde diyabet grubuna göre farklıdır (p<0,001).

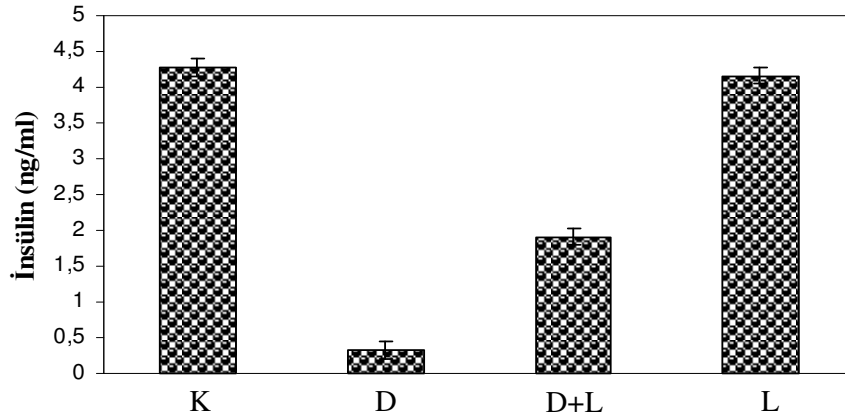
<sup>#</sup> Aynı satır içinde diyabet grubuna göre farklıdır (p<0,05).



Şekil 5.1. Likopen uygulamasının diyabetik ratlarda AKŞ üzerine etkisi.

## 5.2. Likopenin Plazma İnsülin Düzeyine Etkisi

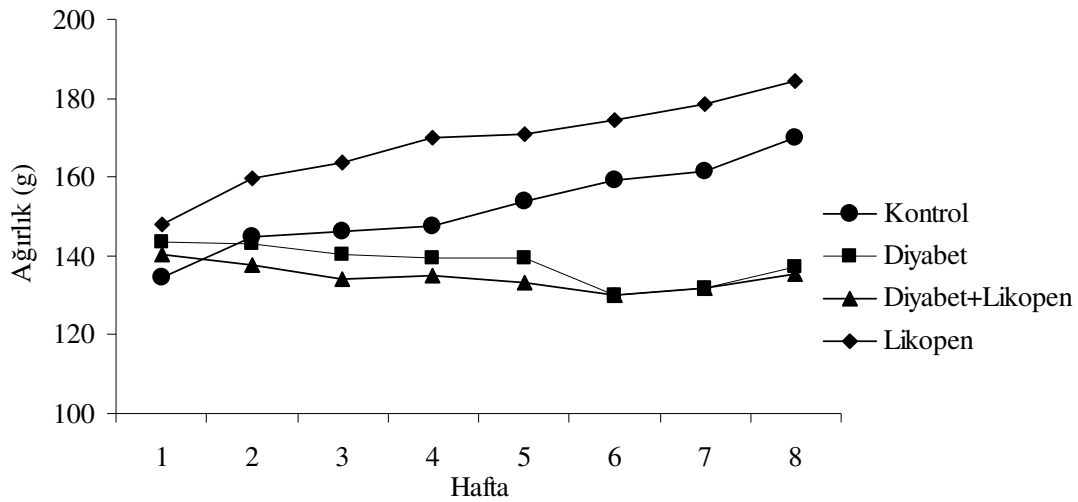
Diyabet oluşumu plazma insülin düzeyi ölçümleri ile ortaya konulmuştur. Diyabet grubu insülin düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük tesbit edilmiştir ( $p < 0.001$ ). Likopen verilen diyabetik ratlarda ise plazma insülin düzeylerinin kontrol değerlere ulaşmamış olsa da anlamlı bir şekilde yükseldiği görülmüştür ( $p < 0.001$ ) (Şekil 5.2.).



Şekil 5.2. Likopen uygulamasının plazma insülin düzeyi üzerine etkisi.

## 5.3. Likopenin Diyabetik Ratlarda Canlı Ağırlık Üzerine Etkisi

Diyabet grubunda 5. haftadan itibaren canlı ağırlık değerlerinin kontrole göre anlamlı bir şekilde düştüğü görülmüştür. Diyabetli ratlara likopen verilmesi ise canlı ağırlık üzerinde herhangi bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 5.3. ve Tablo 5.2.).



Şekil 5.3. Likopen uygulamasının diyabetli ratlarda canlı ağırlık üzerine etkisi.

**Tablo 5.2.** Haftalık canlı ağırlık değerleri (g).

Zaman	Kontrol	Diyabet	Diabet+Likopen	Likopen
1. hafta	134,33±2,82	143,60±8,80	140,40±2,99	148,00±3,07 <sup>Y#</sup>
2. hafta	144,67±2,59	143,20±7,42	137,80±1,96	159,67±3,88 <sup>Y#</sup>
3. hafta	146,33±3,02	140,40±7,90	134,00±2,55	163,50±3,18 <sup>Y#</sup>
4. hafta	147,67±3,07	139,60±5,61	135,20±2,03 <sup>Y</sup>	170,00±2,86 <sup>*#</sup>
5. hafta	153,83±2,73	139,20±6,72 <sup>Y</sup>	133,20±2,58 <sup>Y</sup>	170,67±2,75 <sup>Y#</sup>
6. hafta	159,33±2,29	130,20±7,17 <sup>*</sup>	130,20±2,76 <sup>*</sup>	174,50±2,88 <sup>Y#</sup>
7. hafta	161,50±3,02	132,00±7,01 <sup>*</sup>	131,80±2,76 <sup>*</sup>	178,50±2,49 <sup>Y#</sup>
8. hafta	170,00±2,93	137,40±6,02 <sup>*</sup>	135,60±0,68 <sup>*</sup>	184,17±2,55 <sup>Y#</sup>

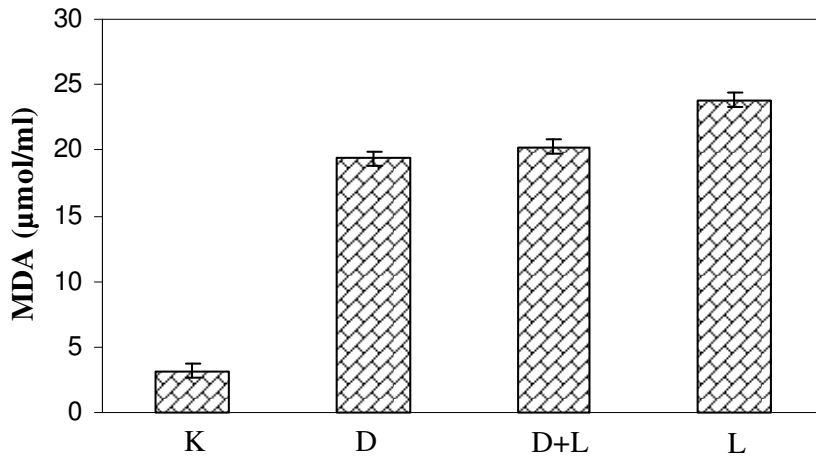
\* Aynı satır içinde kontrol grubundan farklı değerleri gösterir (p < 0,001).

<sup>Y</sup> Aynı satır içinde kontrol grubundan farklı değerleri gösterir (p < 0,05).

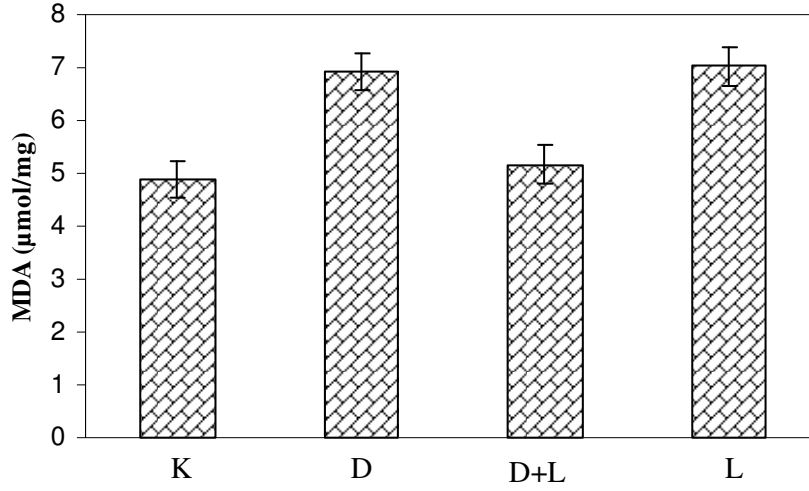
<sup>#</sup> Aynı satır içinde diyabet grubundan farklı değerleri gösterir (p < 0,05).

#### 5.4.Likopenin Plazma ve Beyin Dokusu MDA Düzeylerine Etkisi

Diyabet grubu ratlarda beyin dokusu homojenatlarında (p < 0.001) ve kan plazma örneklerinde (p < 0.001) (Şekil 5.4.) MDA düzeylerinin kontrol gruba göre anlamlı bir şekilde arttığı tesbit edilmiştir. Likopen uygulaması sonucunda ise beyin doku homojenatlarında MDA konsantrasyonunun önemli düzeyde (p < 0.001) (Şekil 5.5.) azaldığı (Şekil 5.4.), buna rağmen plazma MDA düzeyi üzerinde herhangi bir etki oluşturmadığı (Şekil 5.5.) belirlenmiştir.



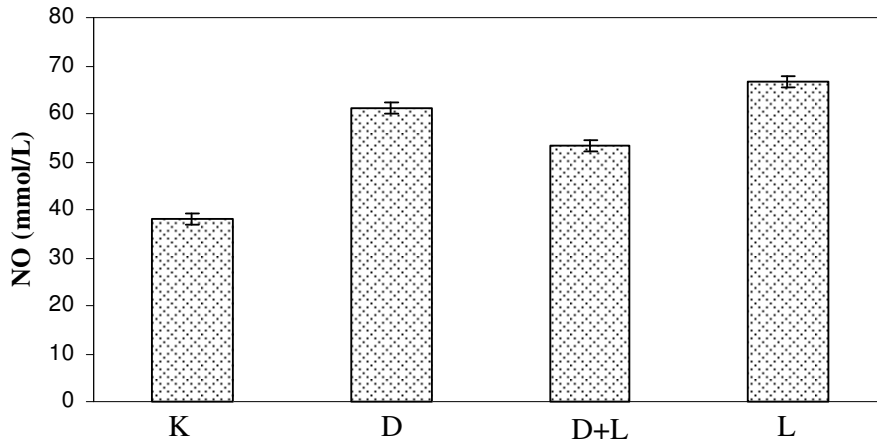
**Şekil 5.4.** Likopenin beyin homojenatı MDA konsantrasyonu üzerine etkisi.



Şekil 5.5. Likopenin plazma MDA konsantrasyonu üzerine etkisi.

### 5.5. Likopenin NO Düzeylerine Etkisi

Diyabet plazma NO düzeyinde önemli bir artışa neden olmuştur ( $p < 0.001$ ). Bu artış likopen uygulaması ile istatistik olarak anlamlı düzeyde ( $p < 0.001$ ) baskılanmıştır (Şekil 5.6.).

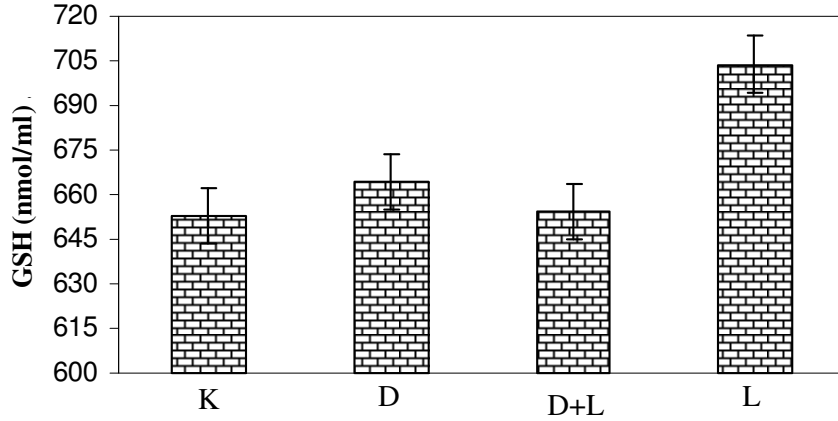


Şekil 5.6. Plazma NO konsantrasyonu.

### 5.6. Likopenin Diyabetli Ratların Plazma ve Beyin Dokusu GSH Düzeyine Etkisi

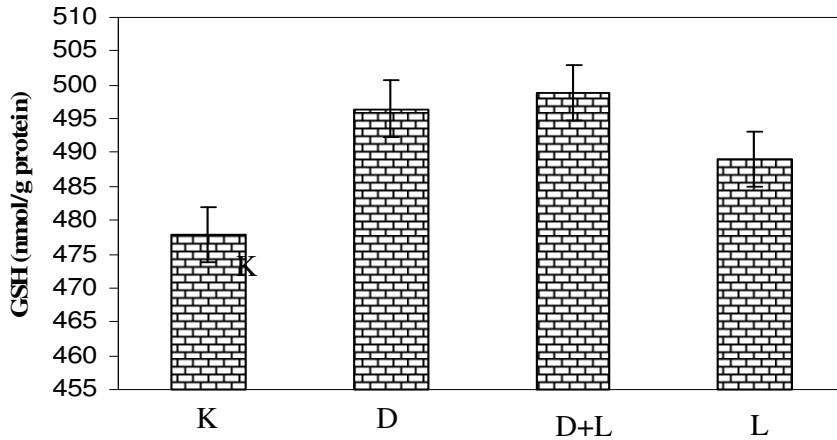
Plazma GSH düzeylerinin hem diyabet grubunda kontrol grubuna göre hem de tedavi grubunda (likopen verilen) diyabet grubuna göre istatistik anlamlı düzeyde farklılık göstermediği belirlenmiştir. Sadece likopen verilen normal ratlarda diğer gruplara göre anlamlı düzeyde artış göstermiştir (Şekil 5.7.).





Şekil 5.7. Ratlarda plazma GSH konsantrasyonu.

8 haftalık deneysel diyabet sonucunda beyin dokusu homojenatlarında GSH miktarı kontrol gruba göre artmış ( $p < 0.05$ ); likopen verilen tedavi grubunda ise 498,8 nmol/g protein değerine ulaşarak, diyabet grubuna göre önemli düzeyde ( $p < 0.001$ ) arttığı tesbit edilmiştir (Şekil 5.8.).

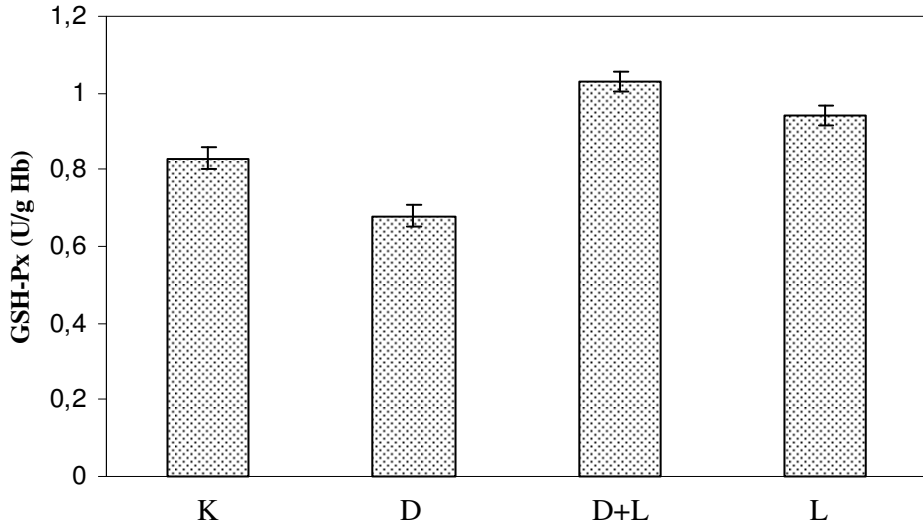


Şekil 5.8. Ratlarda beyin homojenatı GSH konsantrasyonu.

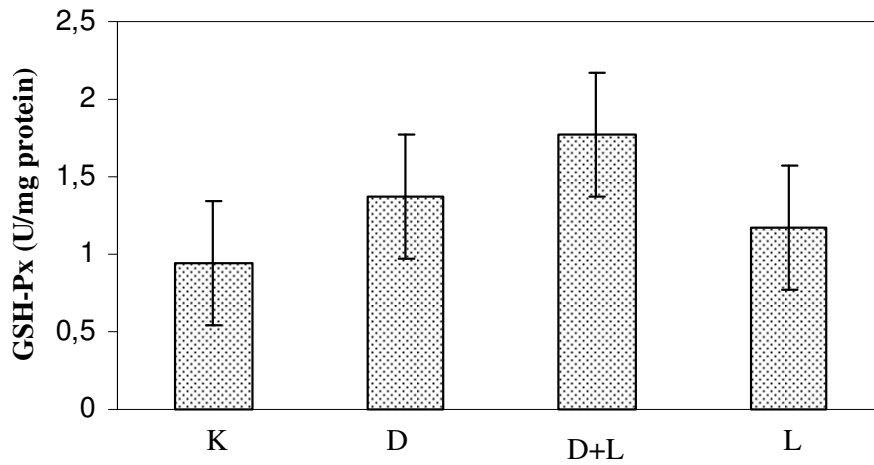
### 5.7. Likopen Uygulamasının Eritrosit ve Beyin Doku Homojenatı GSH-Px Aktivitesi ile Beyin Dokusu GSH-Px mRNA Transkripsiyonu Üzerine Etkisi

Diyabet sonucunda eritrosit GSH-Px aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde düşerken ( $p < 0.001$ ), diyabet+likopen verilen grupta ise enzimin aktivitesinin

arttığı tesbit edilmiştir ( $p < 0.001$ ) (Şekil 5.9.). Beyin dokusu homojenatlarında yapılan aktivite ölçümlerinde diyabet grubunda GSH-Px enzim aktivitesi  $1.37 \pm 0.045$  U/mg protein olarak ölçülmüş olup kontrol grubunun değerinden ( $0.94 \pm 0.039$  U/mg protein) istatistik anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu tesbit edilmiştir ( $p < 0.001$ ). Likopen verilen ratlarda ise beyin dokusu GSH-Px aktivitesinin ( $1.77 \pm 0.06$  U/mg protein) değerine yükseldiği ve bu farkın diyabet grubuna göre istatistik anlamlı düzeyde olduğu tesbit edilmiştir ( $p < 0.001$ ) (Şekil 5.10.).

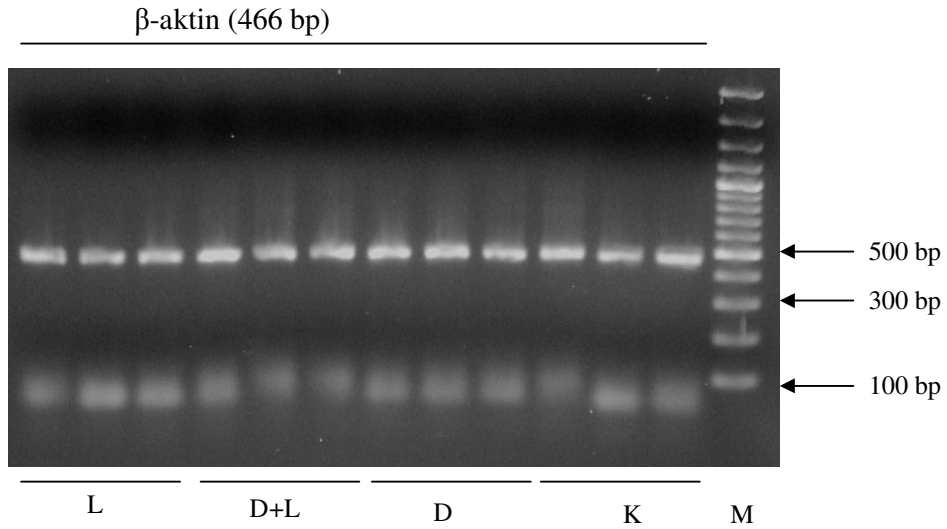


Şekil 5.9. Eritrosit hemolizatu GSH-Px aktivitesi.

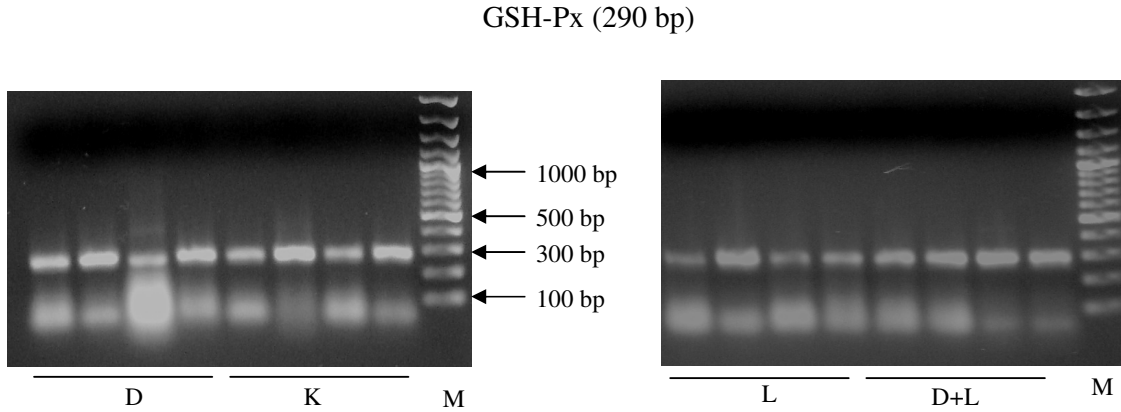


Şekil 5.10. Beyin dokusu homojenatlarında GSH-Px aktivitesi.

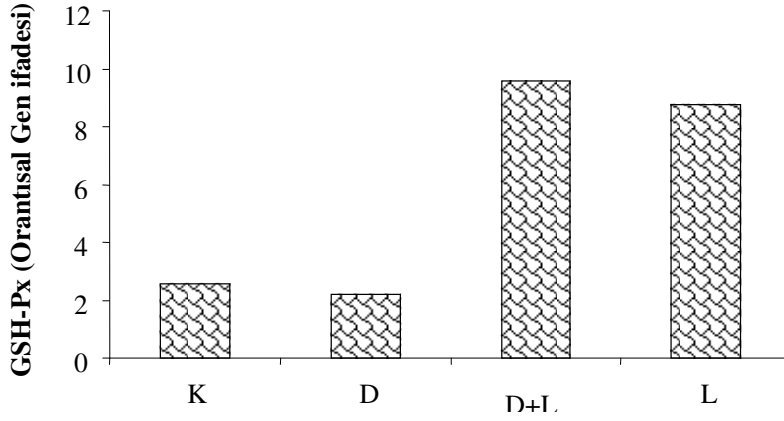
mRNA transkripsiyonlarının normalizasyonunda kullanılan  $\beta$ -aktin genine ait PCR ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görünüşleri Şekil 5.11.'de verilmiştir. Beyin GSH-Px genine ait PCR ürünlerinin agaroz jel üzerinde elde edilen bantlarına ait (Şekil 5.12.) dansitelerden yola çıkılarak elde edilen sonuçlara göre, mRNA transkripsiyonunun diyabet grubunda % 16.8 oranında baskılandığı, tedavi grubunda ise diyabet grubuna göre % 335 oranında uyarıldığı tesbit edilmiştir (Şekil 5.13.).



**Şekil 5.11.** Beyin örneklerinde elde edilen beta aktin genine ait PCR ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görünümü (L: Likopen grubu, D+L: Diyabet + Likopen grubu, D: Diyabet grubu, K: Kontrol grubu, M: Marker = O'Gene Ruler 100 bp DNA Ladder Plus, Fermentas).



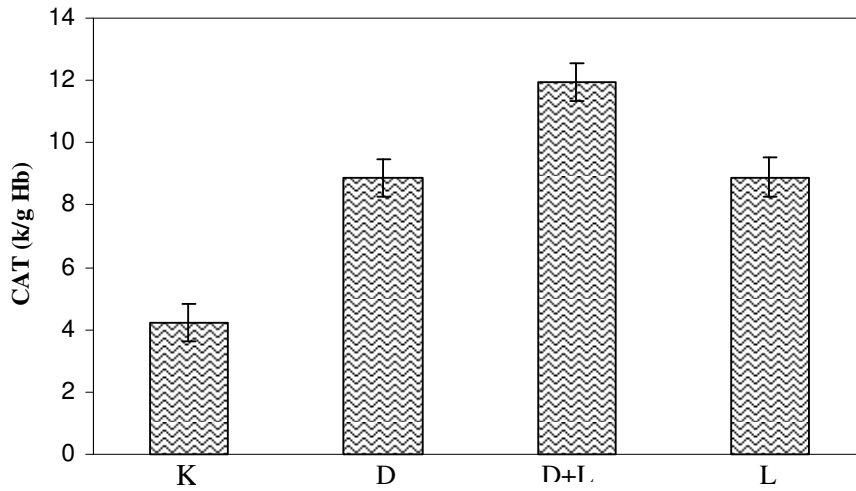
**Şekil 5.12.** Beyin örneklerinde elde edilen GSH-Px genine ait PCR ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görünümü (D: Diyabet grubu, K: Kontrol grubu, L: Likopen grubu, D+L: Diyabet + Likopen grubu, M: Marker= O'Gene Ruler 100 bp DNA Ladder Plus, Fermentas).



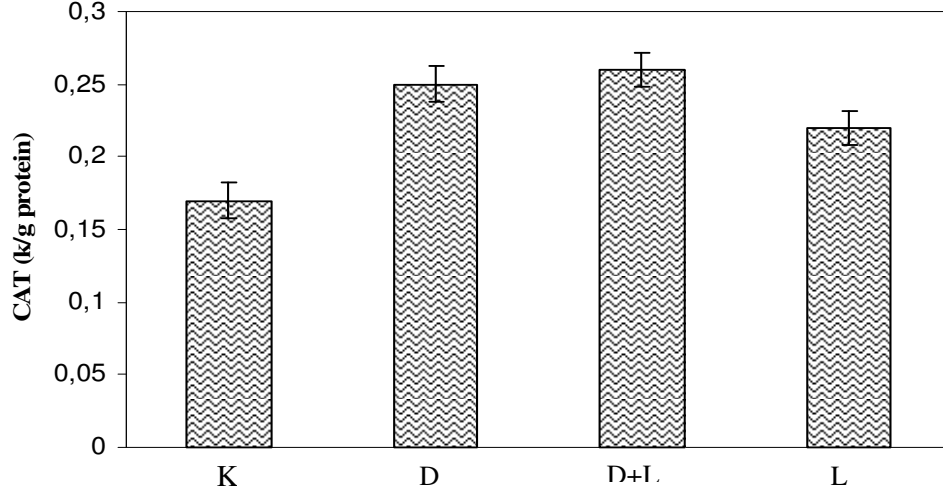
**Şekil 5.13.** Beyin dokusu GSH-Px orantısal gen ifadesi (Normalizasyon işleminde PCR ürünlerinin agaroz jel üzerinde elde edilen bantlarının dansite değerleri esas alınmış ve hedef genin dansitesi kontrol gene oranlanmıştır. Normalizasyon sonucunda GSH-Px geni diyabet grubunda % 16.8 baskılanmış, tedavi grubunda ise diyabet grubuna göre % 335 oranında uyarılmıştır).

### 5.8. Likopenin Eritrosit ve Beyin Dokusu Katalaz Aktivitesi ile Beyin Dokusundaki mRNA Transkripsiyonu Üzerine Etkisi

Diyabetin katalaz aktivitesini kontrole göre eritrosit hemolizatında yaklaşık 2 misli ( $p < 0.001$ ), beyin dokusu homojenatında ise 1.5 misli düzeyde ( $p < 0.001$ ) artırdığı tesbit edilmiştir. Likopen verilen diyabetli ratlarda ise enzimin eritrosit hemolizatındaki aktivitesinin istatistik anlamlı düzeyde ( $p < 0.001$ ) daha da yükseldiği; buna rağmen beyin dokusunda ise değişiklik göstermediği belirlenmiştir (Şekil 5.14. ve Şekil 5.15.).

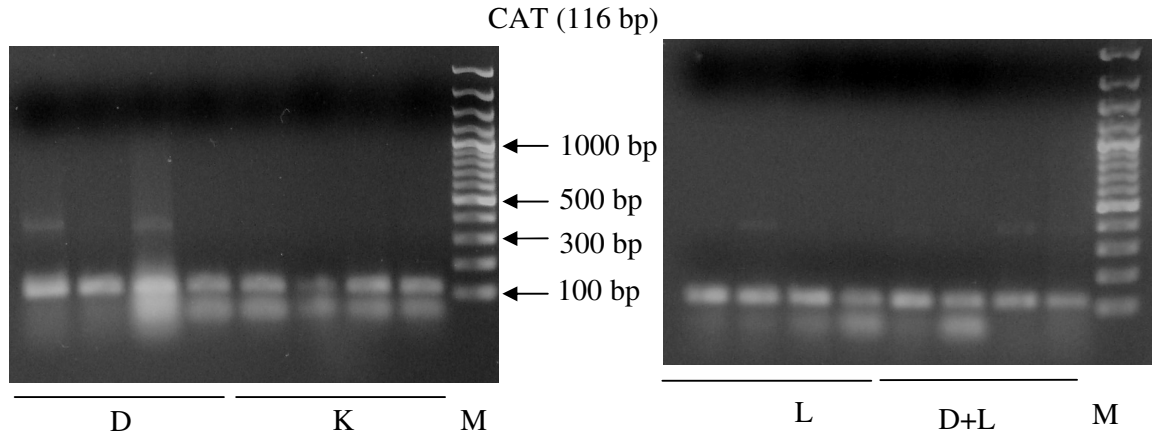


**Şekil 5.14.** Eritrosit hemolizati CAT aktivitesi.

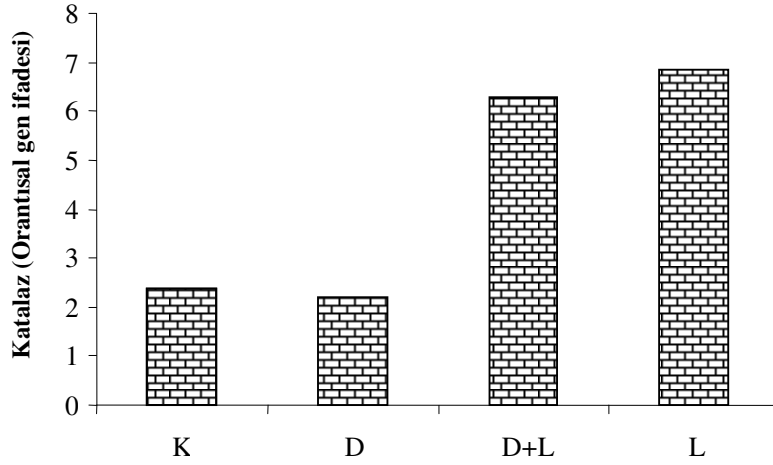


Şekil 5.15. Ratların beyin dokusu homojenatlarında CAT aktivitesi.

RT-PCR analizlerinde, beyin dokusu CAT genine ait PCR ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntülerinin (Şekil 5.16.) analizi sonucunda, katalaz mRNA transkripsiyonunun diyabet grubunda % 7.6 oranında baskılandığı, likopen verilen diyabetli ratlarda ise diyabet grubuna göre % 187.2 oranında uyarıldığı tesbit edilmiştir (Şekil 5.17.).



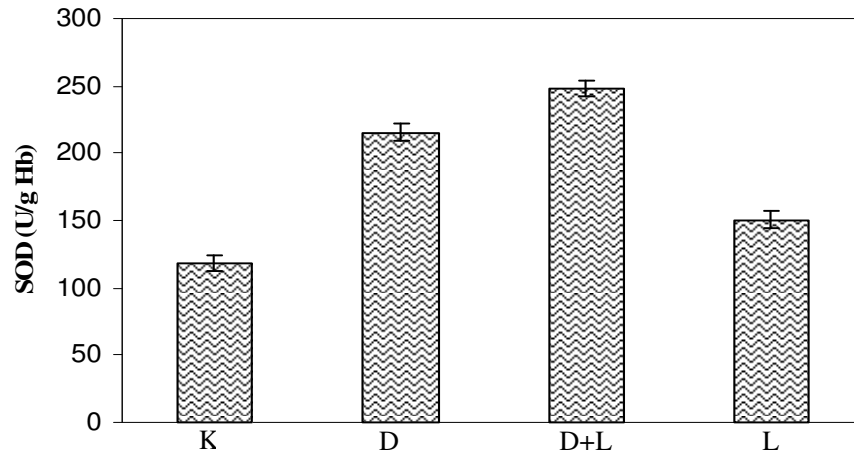
Şekil 5.16. Beyin örneklerinden elde edilen CAT (katalaz) genine ait PCR ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görünümü (D: Diyabet grubu, K: Kontrol grubu, L: Likopen grubu, D+L: Diyabet + Likopen grubu, M (Marker): O'Gene Ruler 100 bp DNA Ladder Plus, Fermentas).



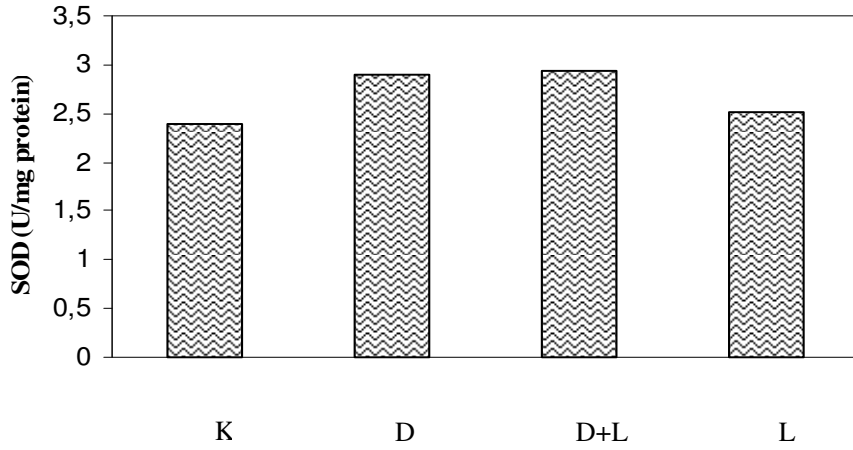
**Şekil 5.17.** Beyin dokusu CAT geninin orantısal ifadesi (Normalizasyon işlemi PCR ürünlerinin agaroz jel üzerinde elde edilen bantlarının dansite değerleri esas alınmış ve hedef genin dansitesi kontrol gene oranlanmıştır).

### 5.9. Likopenin, SOD Aktivitesi ile Gen İfadesi Üzerine Etkisi

Eritrosit hemolizati ve beyin dokusu SOD aktivitesi kontrol grubuna göre istatistik önemli düzeyde (sırasıyla  $p < 0.001$  ve  $p < 0.005$ ) artış göstermiştir. Likopen verilen tedavi grubunda ise, enzimin eritrosit hemolizatındaki aktivitesinin  $p < 0.003$  önemlilik düzeyinde arttığı (Şekil 5.18.); buna rağmen beyin dokusu hoojenatında ise herhangi bir değişiklik göstermediği belirlenmiştir (Şekil 5.19.).

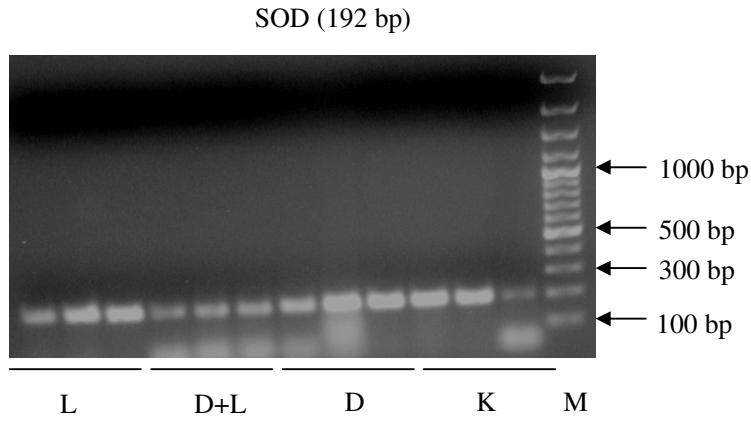


**Şekil 5.18.** Eritrosit hemolizati SOD aktivitesi.

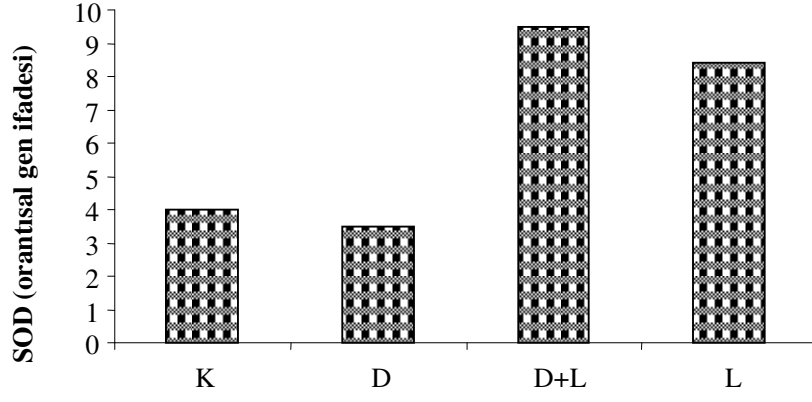


**Şekil 5.19.** Beyin dokusu homojenatında SOD aktivitesi.

RT-PCR analizlerinde diyabet grubu beyin SOD geninin ortalama % 12.4 oranında baskılandığı, likopen verilen diyabetli ratlarda ise % 170.1 oranında uyarıldığı tesbit edilmiştir (Şekil 5.20. ve Şekil 5.21.).



**Şekil 5.20.** Beyin SOD genine ait PCR ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görünümü (L: Likopen grubu, D+L: Diyabet + Likopen grubu, D: Diyabet grubu, K: Kontrol grubu, M: Marker = O'Gene Ruler 100 bp DNA Ladder Plus, Fermentas).



**Şekil 5.21.** Beyin dokusu SOD geninin orantısal ifadesi (Normalizasyon işleminde PCR ürünlerinin agaroz jel üzerinde elde edilen bantlarının dansite değerleri esas alınmış ve hedef genin dansitesi kontrole oranlanmıştır).



## 6. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, deneysel diyabet modeli oluşturulan ratlara 8 hafta süreyle likopen verilmesinin, beyin ve kan antioksidan enzim aktiviteleri ve mRNA transkripsiyon düzeyleri ile lipid peroksidasyonu, açlık kan şekeri ve canlı ağırlık üzerine etkileri araştırılmıştır.

Diyabette hücrelerin ihtiyaç duyduğu glikozun elde edilebilmesi için meydana gelen lipolizis ve glikoneogenesis, vücut ağırlığında azalmaya neden olmaktadır. Bu nedenle kilo kaybı diyabette en sık ratlanan bulgulardandır (Sindhu ve ark 2004, Quinn ve ark 2002). Bu araştırmada, diyabet grubunda diyabete bağlı olarak aşırı kilo kaybının olduğu gözlemlenmiştir. Likopen uygulamasının diyabete bağlı olarak meydana gelen canlı ağırlık artışında etkili olmadığı belirlenmiş; Mellert ve ark (2002) tarafından değişik dozlarda likopen kullanarak yapılan çalışma sonuçları ile benzerlik göstermiştir. Ancak Uchiyama ve Yamaguchi (2005) ile Maritim ve ark (2002)'nin farklı karotenoidlerle ( $\beta$ -kriptoksantin ve  $\beta$ -karoten) yaptıkları çalışmalarda canlı ağırlıklarda anlamlı artışlar tespit edilmiştir.

Gomez ve ark (2001) ile Wu ve ark (2002) yaptıkları çalışmada diyabet grubunda plazma insülin konsantrasyonunda düşüş meydana geldiğini gözlemlemişlerdir. Yapılan bu çalışmada da benzer şekilde diyabet grubunun plazma insülin düzeyinde kontrol grubuna göre büyük oranda düşüş gözlemlendi. Diyabetik hayvanlarda düşük insülin düzeyi ve pankreasın azalan insülin içeriğinin nedeninin STZ'nin sitotoksik etkisinin yanında  $\beta$  hücrelerinde meydana getirdiği oksidatif strese de bağlı olabileceği bildirilmektedir (Novelli ve ark 2007). Bu çalışmada, likopen verilen tedavi grubunda plazma insülin düzeylerinin yükselmesi, STZ'nin  $\beta$  hücrelerinde oluşturduğu sitotoksik hasar ve serbest radikal artışına bağlı hasarın likopen tarafından önlenmiş ya da azaltılmış olabileceği şeklinde yorumlanabilir.

ROT doku ve plazma konsantrasyonuna paralel olarak artış göstermektedir (Brownlee 2001). Serbest radikal kaynaklı doku hasarı pankreatik  $\beta$ - hücre disfonksiyonuna neden olmakta ve insülin sekresyonunu azaltarak çevresel dokularda glikoz kullanımını engellemektedir (Evans ve ark 2003, Ceriello ve ark 2004). Likopen antioksidan özelliği ile serbest radikalleri yakalayarak oksidatif stres ve lipid, proteinler ve DNA gibi hücresel bileşenlerin hasarını azaltmaktadır (Agarwal ve Rao 2000). Yapılan denemenin ilk haftalarında diyabet gruplarında görülen yüksek açlık kan glikoz düzeyleri ilerleyen haftalarda likopen verilen diyabet grubunda anlamlı olarak azalmıştır ( $p < 0,05$ ). Bu bulgular likopen ilavesinin diyabetik hiperglisemiye karşı anlamlı koruyucu etkisini

göstermektedir. Benzer şekilde Uchiyama and Yamaguchi (2005) diğer bir karotenoid  $\beta$ -kriptoksantin ilavesinin STZ verilen ratlarda plazma glikoz düzeyini azalttığını bildirmişlerdir.

Diyabete bağlı olarak serbest radikallerin artmasının en önemli yollarından biri glikoz otooksidasyonudur. Artan glikozun diyabetik hastalardaki plazma ve eritrositlerde lipid peroksidasyona hangi mekanizma ile neden olduğu tam olarak bilinmese de; in vitro çalışmalar glikozun enolize olduktan sonra moleküler oksijeni indirgediği ve fizyolojik şartlarda  $\alpha$ -keto aldehytlere, hidrojen peroksiti ve serbest radikal ürünleri oluşturduğunu tespit etmişlerdir (DeFronzo 1998). Diyabetle beraber artan reaktif oksijen türlerinin, dokulara yönelik meydana getirdikleri oksidatif hasarın en önemli sonuçlarından biri, hücre membranlarındaki lipid peroksidasyonudur. MDA, doymamış yağ asitlerinin yıkımlanması sonucu oluşan dokulardaki lipid peroksidasyonunun son ürünüdür (Karahan ve ark 2006). Lipid peroksidasyonunun belirlenmesinde en sık kullanılan yol, MDA'nın TBA ile tepkimesinin ölçülmesidir (Yarsan 1998, Jain 1999, Devasena ve ark 2001). Yapılan bu çalışmada, beyin dokusu homojenatları ile kan plazmasında diyabete bağlı olarak MDA değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde ( $p \leq 0,001$ ) yükseldiğini göstermiştir. Yapılan diğer çalışmalar (Faure ve ark 1993, Çelik ve Yılmaz 2003, Duzguner ve Kaya 2007) diyabete bağlı olarak lipid peroksidasyonunun ve MDA düzeylerinin arttığını açıkça ortaya koymaktadır. Hiperglisemi kaynaklı glikoz otooksidasyonunun ve glikolize proteinlerin lipid peroksidasyonunu arttırdığı da bildirilmiştir (Anderson ve ark 2001, Meral ve ark 2001, Sailaja ve ark 2003). Likopen genel olarak hücre membranlarında lokalize olarak membran lipidlerinde meydana gelen oksidatif stresi önlemede önemli role sahiptir. Bu etkisini kalınlığa dayanıklılık ve akışkanlığına etki ederek gerçekleştirdiği bildirilmektedir (Dixon ve ark 1998). Günümüzdeki çalışmalar karotenoidlerin, özellikle likopen, LDL oksidasyonunu ve lipid peroksidasyonunu inhibe ettiğini göstermektedir (Steinberg ve Chait 1998, Agarwal ve Rao 1998, Bub ve ark 2000). Ayrıca karotenoid bakımından eksik diyetlerin tüketiminin MDA düzeylerinde anlamlı artışa neden olduğu rapor edilmektedir (Dixon ve ark 1998). Yapılan çalışmada likopen verilen diyabet grubunda beyin dokusu MDA düzeylerinin diyabet grubuna göre düştüğü tespit edilmiştir. Bu durumda likopenin antioksidan etkisini gösterdiği kanısına varılmıştır.

Diyabetin CAT, SOD ve GSH-Px gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerine etkisi konusunda ortak bir fikre ulaşılamamıştır. Bazı çalışmalar hiperglisemi sonucu glikozun otooksidasyonuna ve protein glikolizasyonuna bağlı olarak oluşan serbest radikallerin

antioksidan enzimlerin aktivitesini inhibe edebileceğini ya da etki etmeyeceğini bildirmişlerdir (Meral ve ark 2001, Sindhu ve ark 2004). Bazı araştırmacılar (Strange ve ark 1992, Hannon-Fletcher ve ark 1999, Ruiz ve ark 1999), diyabetik hastalarda veya diyabet oluşturulmuş hayvanlarda yaptıkları çalışmalarda, hemolizat örneklerinde GSH-Px düzeyinin azaldığını ancak SOD ve CAT enzim aktivitesinin değişmediğini saptamışlardır. Bu çalışmada, plazma ve beyin dokularında SOD ve katalaz aktivitesinin diyabet ve diyabet + likopen gruplarında arttığı, GSH- Px düzeyinin ise diyabet grubunda azaldığı, likopen verilen diyabet grubunda ise arttığı tespit edilmiştir ( $P \leq 0,01$ ). Tek başına verilen likopenin GSH-Px aktivitesine etki etmediği görülmüştür.

Likopen ilavesinin antioksidan enzim aktivitesini anlamlı biçimde arttırdığını bildiren çalışmalar (Rao ve Agarwal 1999, Breinholt ve ark 2000, Chandra Mohan ve Nagini 2003) yanında; Briviba ve ark (2004)'nın sağlıklı insanlarda likopenin ve diğer karotenoidlerin oksidatif strese ve LDL oksidasyonuna karşı koruyucu etkilerinin olmadığını ve antioksidan enzimlerde değişiklik gözlenmediğini bildirmişlerdir. Ayrıca likopenin ve  $\beta$ -karotenin in vitro olarak oksidatif DNA hasarına etkisini incelemek için yapılan bir çalışmada, her iki karotenoidin düşük dozlarda (1-3  $\mu\text{M}$ ) ilavesinin ksantin/ksantin oksidaz kaynaklı oksidatif DNA hasarını azalttığını, daha yüksek dozlarda (4-10  $\mu\text{M}$ ) ise hücreleri oksidatif strese karşı koruma özelliğini yitirdiğini göstermişlerdir (Lowe ve ark 1999). Bu çalışma sonunda likopen verilen diyabetli ratlarda plazma MDA düzeylerinin arttığı, buna rağmen GSH düzeylerinin ise düşerek kontrole yaklaştığı tespit edilmiştir. Duzguner ve Kaya (2007)'nin yaptıkları deneysel diyabet çalışmasında antioksidan enzimler ve GSH düzeyindeki anlamlı azalışın, diyabette görülen hipergliseminin neden olduğu glikolizasyon sonucunda oluşan serbest radikaller ve lipid peroksidlerin, antioksidan enzimleri inaktif hale getirmesinden kaynaklandığını ifade etmektedir.

Ulus ve ark (2003), diyabetik ratlara vitamin E ve Stobadine vermişler; SOD aktivitesinin kalp ve beyin dokusu homojenatlarında değişmediğini fakat böbrek dokusu homojenatlarında düştüğünü gözlemlemişlerdir. CAT enziminin aktivitesi, kalp ve beyinde artarken böbrekte azaldığını görmüşlerdir. Beyin ve kalpte MDA değerlerinin düştüğünü belirtmişlerdir.

Maritim ve ark (2003b), antioksidan savunma sisteminin zayıflaması ve oksidatif stresteki artışın diyabetin patogenezinde ve ilerlemesinde önemli faktörler olduğunu belirtmişlerdir.

Sugiura ve ark (2005) yaptıkları çalışmada diyabet oluşturdukları ratlara mandarin meyve ekstraktını denemişlerdir. Tedavi grubunun karaciğer dokusunda SOD enzim aktivitesi ile GSH değerinin diyabet grubuna göre yükseldiğini fakat CAT ve GSH-Px enzim aktivitelerinin değişmediğini belirlemişlerdir. Tekkes (2006)'in yaptığı çalışmada tedavi gruplarında hasta gruba göre GSH değerleri, SOD ve GSH-Px aktiviteleri kalp, böbrek ve beyinde arttığını, karaciğerde ise azaldığını görmüşlerdir. Cengiz ve Cengiz (2000) yaptıkları çalışmada tip II diyabetli hastalarda C vitamini uygulamasının eritrosit glutasyon düzeylerini vitaminin kullanım süresiyle doğru orantılı olarak arttırdığını gözlemlemişlerdir. Yapılan bu çalışmada ise, diyabet grubunun CAT ve SOD enzim aktiviteleri ile GSH düzeyleri, hem hemolizat örneklerinde hem de beyin dokusu homojenatı örneklerinde kontrol grubuna göre artışı, GSH-Px enzim aktivitesi, beyin dokusu örneklerinde artış, hemolizat örneklerinde ise azaldığı görülmüştür ( $P \leq 0,01$ ).

Nitrik oksit ROT'lerinin önemli vasküler hedeflerinden biridir. Süperoksit nitrik oksiti nötralize ederek peroksinitriti meydana getirir. Peroksinitrit endotelial hasara neden olan hidroksil radikalının ana kaynaklarından (Elliott ve ark 1993). Diyabette, bulgularımıza paralel şekilde, NO düzeylerinde artış olduğu bildirilmiştir (Astaneie ve ark 2005). Artan NO düzeyinin  $\beta$  hücrelerinin yıkılmasında önemli role sahip olduğu bildirilmiştir (Corbbet ve ark 1993, Welsh ve ark 1994). Oksidatif stres bu yüzden endotel kaynaklı gevşemeyi azaltmaktadır. Endotel kaynaklı gevşemede görülen aksaklıklar kronik diyabetik hayvanlarda ve tip I ve tip II diyabetik hastalarda daha iyi anlaşılmaktadır (Ahmed ve ark 2005, Seçkin ve ark 2006) ve antioksidan uygulamaların önemli hedefidir (Ramakrishna ve Jailkhani 2007). Yapılan çalışmada beyin dokusunda NO ölçümlerinden sonuç alınamazken, likopen verilen diyabet grubunda kontrol grubuna benzer değerler elde edilmiştir ( $P \leq 0,001$ ). Duzguner ve ark (baskıda)'nın yaptıkları kısa süreli diyabet çalışmasında artan NO düzeyinin likopen verilen diyabet grubunda kontrol grubu değerlerine ulaştığını göstermişlerdir. Bu araştırmada, plazmada yapılan NO düzeyi ölçümü değerlerine bakıldığında kontrol grubuna göre diyabet grubunda bir artış ve diyabet+likopen grubunda ise bu artışın kontrol grubu değerlerine yaklaştığı belirlenmiştir. Beyin dokusu homojenatlarında NO düzeylerinin ölçümü için yapılan analizlerde ise sonuç alınamamıştır.

Sadi ve ark (2007), diyabetik ratlarda Cu-ZnSOD ve CAT enzimlerinin mRNA ekspresyonunda baskılanma olduğunu; Koya ve ark (2003) ise diyabetik ratlarda böbrek glomeruluslarında aynı enzimlerin ekspresyonunda önemli bir değişiklik olmadığını belirtmişlerdir. Bhor ve ark (2004), STZ enjekte edilmiş diyabetik ratların ince

bağırsaklarında SOD ve CAT seviyelerinde değişiklikler bulmalarına rağmen, bu enzimlerin mRNA ekspresyonunda bir değişiklik olmadığını gözlemlemişlerdir.

Limaye ve ark (2003), STZ ile diyabet oluşturdukları ratların böbrek korteksinde hem Cu-Zn SOD enzim mRNA ekspresyonunda hem de SOD enzim aktivasyonunda artış varken; CAT mRNA ekspresyonunun artmasına karşın enzim aktivitesinde azalma meydana geldiğini saptamışlardır. Yine Limaye ve ark (2003)'nın yaptıkları çalışmada diyabetik ratların böbrek korteksi GSH-Px aktivitesinde artış şekillenirken, bu enzim kodlamadan sorumlu genlerin mRNA ekspresyon seviyelerinde de artış şekillendiğini gözlemlemişlerdir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in özellikle yıkımından sorumlu olan CAT'dan farklı olarak, GSH-Px'in lipid peroksidasyonunu indirgemedi daha geniş bir spektruma sahip olduğunu ve ROT'lara karşı savunmada önemli rol oynadığını belirtmişlerdir.

Oksidatif stres veya hücrede redüksiyon ve oksidasyon arasındaki dengesizlik, çekirdekte redoks-duyarlı transkripsiyon faktörlerinin translokasyonunu da etkiler (Sen ve Packer 1996). Bu nedenle, diyabet sonucu antioksidan enzimlerin mRNA sındaki azalmanın nedeni antioksidan enzimlerin transkripsiyon süreçlerindeki başlangıç mekanizmasından sorumlu transkripsiyonel faktörlerin oksidasyonu olabilir. Ayrıca mRNA ların ekspresyonunda tespit edilen azalma, mRNA ların yarı ömürlerinin azalması ile ilgili de olabilir. Literatürde, artan oksidatif stresin mRNA'nın kararsızlığını tetiklediğini açıkça belirten makaleler bulunmaktadır (Mayo ve ark 2002, Maritim ve ark 2003b).

Bu çalışmada diyabet grubunun SOD, CAT ve GSH-Px enzimlerinin mRNA transkripsiyonlarında kontrole göre sırasıyla % 12,4, % 7,6 ve % 16,8 oranlarında baskılandığı tespit edilmiştir. İlgili enzimlerin mRNA transkripsiyonlarının diyabette baskılanmış olmasının muhtemel nedeni, yukarıdaki literatür bildiriminde de ifade edildiği gibi, transkripsiyonel faktörlerin oksidasyonu olabilir. Likopen verilen diyabetli ratlarda SOD, CAT ve GSH-Px mRNA transkripsiyonlarının diyabetik gruba göre sırasıyla % 170,1, % 187,2 ve % 335 gibi yüksek oranlarda uyarıldığı belirlenmiş; bunun, likopenin transkripsiyonel faktörlerin radikal ilişkili oksidasyonunu engellemelerine bağlı olabileceği düşünülmüştür. SOD ve CAT enzim genlerinin mRNA ekspresyonu Sadi ve ark (2007)'nin, GSH-Px enzim geninin mRNA ekspresyonu ise Limaye ve ark (2003)'nin çalışmasıyla uyumluluk göstermektedir.

Diyabet günümüzün en önemli metabolizma hastalıklarından biridir. Hastalığın tedavisine yönelik çalışmalar birçok açıdan ele alınmakta ve yürütülmektedir. Hastalığın kesin tedavisine yönelik çok ileri düzeyde yapılan çalışmalar yanında, diyabetin değişik organ ve sistemler üzerine olan ciddi yan etkilerini önlemeye ya da azaltmaya yönelik

araştırmalar da yapılmaktadır. Bu alışma, hastalığın beyinde meydana getirdiği ve önemli komplikasyonlarından olan diyabetik nöropatinin oluşumunda etkili olduğu birçok çalışma ile ortaya konulan oksidatif hasarın nlenmesine ya da azaltılmasına yönelik bir çalışmadır.

Projede 8 hafta boyunca sürdürülen diyabet modelinde, ratların beyin dokusunda oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu biyokimyasal (enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar, malondialdehit ve nitrik oksit) analizler ile antioksidan enzimlerin mRNA transkripsiyon düzeylerinden yararlanarak ortaya konulmuştur. Diyabet modelinin oluşumu ve sürekli liği haftalık açlık kan glikoz seviyelerinin ve çalışma sonunda yapılan plazma insülin ölçümleri ile desteklenmiştir.

Elde edilen sonuçlar, diyabetin önemli komplikasyonlarından olan ve diyabetik neuropatinin temelinde yer alan oksidatif hasarın likopen tarafından önemli denilebilecek düzeyde baskılandığını göstermektedir. İnsülin salınımından sorumlu olan pankreas Langerhans adacığı  $\beta$  hücrelerinin harabiyeti sonucu oluşturulan bu diyabet modelinde azalan insülin hormonu salınımı, likopen uygulamaları ile artırılmış; aynı zamanda kan glikoz seviyesi önemli düzeyde dşrlmştir. Diyabet, beyin antioksidan enzimlerinin (SOD, CAT ve GSH-Px) mRNA transkripsiyon düzeylerini değişen yüzde oranlarında baskılarken, likopen uygulaması ile bu baskılanmanın durdurulduğu ve hatta önemli oranlarda uyarıldığı ortaya konulmuştur.

Elde edilen sonuçların, likopen ve benzeri antioksidanların diyabetin komplikasyonlarının önlenmesinde etkili besinsel unsurlar olabileceğini göstermesi ve ileride yapılacak çalışmalara zemin oluşturulması açısından bilime önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

## **7.TEŞEKKÜR**

Bu araştırmanın her aşamasında yardım ve desteğini esirgemeyen danışmanım Doç. Dr. Sefa ÇELİK'e, desteklerinden dolayı Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Suat ERDOĞAN'a, yardımlarından dolayı Biyokimya Anabilim Dalı doktora öğrencileri Vesile DÜZGÜNER ve Altuğ KÜÇÜKGÜL'e, çalışma süresi içerisinde gösterdikleri hoşgörü, yardım ve desteklerinden dolayı aileme, ve maddi ve manevi desteklerinden dolayı nişanlım Serap AKGÖL'e teşekkür ederim.

## 8. KAYNAKLAR

**ADA (American Diabetes Association) (2005)**, *Diagnosis and clasification of diabetes mellitus*. Diabetes care, 28 (1), 37-43.

**Agarwal S, Rao AV (1998)**, *Tomato lycopene and low density lipoprotein oxidation: a human dietary intervention study*. Lipids, 33, 981-984.

**Agarwal S, Rao AV (2000)**, *Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases*. CMAJ., 163, 739-744.

**Ahmed N, Babaei-Jadidi R, Howell SK, Thornalley PJ, Beisswenger PJ (2005)**, *Glycated and oxidized protein degradation products are indicators of fasting and postprandial hyperglycemia in diabetes*. Diabetes Care, 28, 2465-2471.

**Altındaş M (2001)**, Cilt hastalıkları ve yara bakımı sempozyumu. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi sürekli tıp eğitimi etkinlikleri, İstanbul, 121-126.

**Ames BN, Gold LS, Willett WC (1995)**, *Causes and prevention of cancer*. Proc natl acad sci, 92, 5258-5265.

**Amir H, Karas M, Giat J, Danilenko M, Levy R, Yermiahu T, Levy J, Sharoni Y (1999)**, *Lycopene and 1,25-dihydroxyvitamin-D3 cooperate in the inhibition of celle cycle progression and induction of differentiation in HL-60 leukemic cells*. Nutr cancer, 33, 105-112.

**Anderson RA, Roussel AM, Zouari N, Mahjoub S, Matheu JM ve Kerkeni A (2001)**, *Potential antioxidant effect of zinc and chromium supplementation in people with type II diabetes mellitus*. Journal of american nutrition, 20(3), 212-218.

**Aragno M, Tamagno E, Gatto V, Brignardello E, Parola S, Danni O, Boccuzzi A (1999)**, *Dehydroepiandrosterone protects tissues of streptozotocin-treated rats against oxidative stress*. Free radical biology and medicine, 26(11/12), 1467-1474.

**Archer S (1993)**, *Measurement of nitric oxide in biological models*. FASEB J, 7, 349-360.

**Armağan TU (2002)**, *Diabetic nephropathy*. Trakya üniversitesi tıp fakültesi dergisi, 19(2), 113-121.

**Armstrong DA (1998)**, *Methods in molecular biology*. Volume 108, Toronto, Humana pres.

**Astaneie F, Afshari M, Mojtahedi A, Mostafalou S, Zamani MJ, Larijani B, Abdollahi M (2005)**, *Total antioxidant capacity and levels of epidermal growth factor and nitric oxide in blood and saliva of insulin-dependent diabetic patients*. Arch med res, 36, 376-381.



**Banitahmaseb A, Karaman E, Özdoğan A, Banitahmaseb EK, Dervişoğlu S (2005)**, *Multipl simetrik olgu sunumu*. Türk arch otolaryngol, 43(1), 48-54.

**Basu TK. (1999)**: Potential role of antioxidant vitamins. **Kitap: Basu TK, Temple NJ, Garg ML**, *Antioxidants in human health and disease*. New York, CABI Publishing, 2.Bölüm, 15-17.

**Baydaş G, Canatan H, Turkoglu A (2002a)**, *Comparative analysis of the protective effects of melatonin and vitamin E on streptozotocin-induced diabetes mellitus*. J Pineal res., May, 32(4), 225-230.

**Baydaş G, Karataş F, Gürsu MF, Bozkurt A, İlhan N, Yaşar A ve Canatan H (2002b)**, *Antioxidant vitamin levels in term and preterm infants and their relation to maternal vitamin status*. Archives of medical research, 33, 276-280.

**Bennet PH et al. (1992)**, *The Emidemiology of non-insulin dependent diabetes: non-bese and obese*. In : Albeeti KGMM et al., eds. International textbook of diabetes mellitus. London, john wiley, 147-176.

**Bergendi L, Benes L, Durackova Z, Ferencik M (1999)**, *Chemistry, physiology and pathology of free radicals*. Life sci, 65, 1865-1874.

**Bhor VM, Raghuram N, Sivakami S (2004)**, *Oxidative damage and altered antioxidant enzyme activities in the small intestine of streptozotocin-induced diabetic rats*. Int J biochem cell biol, 36, 89-97.

**Boehme DS, Hatchkiss JA ve Handerson RF (1992)**, *GSH and GSH dependent enzymes in bronchoalveolar lavage fluid cells in response to ozone*. Experimental and molecular pathology, 56, 37-48.

**Boileau T, Clinton SK, Zaripheh S, Monaco MH, Donovan SM, Erdman JW (2001)**, *Testosterone and Food Restriction Modulate Hepatic Lycopene Isomer Concentrations in Male F344 rats*. J Nutr, 131(6), 1746-1752.

**Bonnefont Rousselot D, Bastard JP, Jaudon MC, Delattre J (2000)**, *Consequences of the diabetic status on the axidant/antioxidant balance*. Diabetes and metabolism, 26, 163-176.

**Borch-Johnsen K (1989)**, *The prognosis of insulin-dependent diabetes mellitus an epidemiological approach*. Danish medical bulletin, 36, 336-348.

**Böhm F, Edge R, Burke M, Truscott TG (2001)**, *Dietary uptake of lycopene protects human cells from singlet oxygen and nitrogen dioxide-ROS components from cigarette smoke*. J Photochem photobiol, 64, 176-178.

**Bradford MM (1976)**, *A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding*. Anal. biochem., 72, 248-254.

**Breinholt V, Lauridsen ST, Daneshvar B, Jakobsen J (2000)**, *Dose-response effects of lycopene on selected drug-metabolizing and antioxidant enzymes in the rat*. Cancer letters, 154(2), 201-210.

**Brezezinska - Slebodzinska 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.

**Brigelius – Flohe R (1999)**, *Tissue-specific functions of individual glutathione, peroxidases*. Free radical biology and medicine, 27(9-10), 951-965.

**Briviba K, Schna K, Rechkemmer G, Bub A (2004)**, *Supplementation of a diet low in carotenoids with tomato or carrot juice does not affect lipid peroxidation in plasma and feces of healthy men*. J. Nutr., 134, 1081-1083.

**Brownlee M (2001)**, *Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications*. Nature, 414, 813-820.

**Brownlee M (2005)**, *The pathobiology of diabetic complications diabetes*. American diabetes association inc., 54 (6), 1615-1625.

**Bub A, Watzl B, Abrahamse L, Delincé e H, Adam S, Wever J, Muller H, Rechkemme G (2000)**, *Moderate intervention with carotenoid-rich vegetable products reduces lipid peroxidation in men*. J. Nutr., 130, 2200-2206.

**Bukan N, Sancak B, Bilgihan A, Kosova F, Buğdaycı G, Atlan N (2004)**, *The effects of the sulfonylurea glyburide on glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase activities in the heart tissue of streptozotocin-induced diabetic rat*. Methods and findings in experimental and clinical pharmacology, 26(7), 519-522.

**Bulut U, Develioğlu H, Taner IL ve Safakoğlu E (2001)**, *Interleukin I beta levels in gingival crevicular fluid in type II diabetes mellitus and adult periodontitis*. Journal of oral science, 43(3), 171-177.

**Burney PG, Comstock GW, Morris JS (1989)**, *Serologic precursors of cancer: serum micronutrients and the subsequent risk of pancreatic cancer*. Am J clin nutr, 49, 895-900.

**Burton GW, Ingold KU (1989)**, *Vitamin E as an in vitro and in vivo antioxidant*. Ann NY acad sci, 570, 7-22.

**Cadenas E, Packer L (1996)**, *Handbook of antioxidants*. Marcel dekker. Inc. New York.

**Caene-Adams K, Campbell JK, Zaripheh S, Jeffery EH, Erdman JW (2005)**, *The tomato as a functional food*. J Nutr., 135(5), 1226-30.

**Cameron NE, Cotter MA (1995)**, *Neurovascular dysfunction in diabetic rats: potential contribution of autooxidation and free radicals examined using transition metal chelating agents*. Journal of clinical investigation, 96(2), 1159-1163.

**Cameron NE, Cotter MA (1999)**, *Metabolic and vascular factors in the pathogenesis of diabetic neuropathy*. Diabetes, 46(Supplement 2), 31-37.

**Carr A, Frei B (1999)**, *Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions?* FASEB J, 13, 1007-1024.

**Carr AC, McCall MR, Frei B (2000)**, *Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species-reaction pathways and antioxidant protection*. Arterioscl. thromb. vascul. biol., 20, 1716-1723.

**Cengiz M, Cengiz S (2000)**, *The effects of vitamin C administration on erythrocyte glutathione and HbA1c levels of type 2 diabetic patients*. Cerrahpaşa J med., 31, 211-215.

**Ceriello A, Motz E (2004)**, *Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? the common soil hypothesis revisited*. arterioscler Thromb. vascul. biol., 24, 816-823.

**Champe PC ve Harvey RA. (1999):** *Biyokimya. Çeviri Kitap: Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E, Eds., 2. Baskı, İstanbul.*

**Chan AC, Chow CK ve Chiu D (1999)**, *Interaction of antioxidants and their implication in genetic anemia*. Proceedings society of experimental biology and medicine, 222(3), 274-282.

**Chandra Mohan KVP, Nagini S (2003)**, *Dose-response effects of tomato lycopene on lipid peroxidation and enzymic antioxidants in the hamster buccal pouch carcinogenesis model*. Nutrition research, October, 23(10), 1403-1416.

**Cherubini A, Ruggiero C, Polidori MC, Mecocci C (2005)**, *Potential markers of oxidative stress in stroke*. Free radical biology & medicine, 39, 841-852.

**Cho SY, Park JY, Park EM, Choi MS, Lee MK, Jeon SM, Jang MK, Kim MJ, Park YB (2002)**, *Alternation of hepatic antioxidant enzyme activities and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats by supplementation of dandelion water extract*. Clin chim acta, Mar;317(1-2), 109-117.

**Clinton SK (1998)**, *Lycopene chemistry, biology and implications for human health and disease*. Nutr rev, 56, 35-51.

**Cohen LA (2002)**, *A review of animal model studies of tomato carotenoids, lycopene, and cancer chemoprevention*. Exp. biol. med., 227, 864-868.

**Conn PF, Schalch W, Truscott TG, Photochem J (1991)**, *The singlet oxygen and carotenoid interaction*. Photobiol., 11(B), 41-47.

**Corbbet JA, Sweetland MA, Wang JL, Lancaster JR, McDaniel ML (1993)**, *Nitric oxide mediates cytokine-induced inhibition of insulin secretion by human islets of langerhans*. Proc. nat. aca. sci., 90, 1731-1735.

**Cortas NK, Wakid NW (1990)**, *Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method*. Clin chem, aug;36(8 Pt 1), 1440-1443.

**Coşar A (2003)**, *Diyabet ve anestezi*. 11(3), 167-176.

**Çelik S, Yılmaz Ö (1999)**, *Diabetik ratlarda vitamin E'nin serum lipitleri ve lipit peroksidasyonu üzerine etkisi*. Turk journal of biology, 23, 39-46.

**Das K, Chainy GBN (2001)**, *Modulation of rat liver mitochondrial antioxidant defense system by thyroid hormone*. Biochimica et biophysica acta (BBA)-molecular basis of disease, 1537(1), 1-13.

**DeFronzo RA (1998)**, *Classification and diagnosis of diabetes mellitus*. In: DeFronzo RA, Ed. Current management of diabetes mellitus, 1-4.

**DeStefani E, Oreggia F, Boffeta P, Deneo-Pellegrini H, Ronco A, Mendilaharsu M (2000)**, *Tomatoes, tomato rich foods, lycopene and cancer of the upper aerodigestive tract: a case control in uruguay*. Oral oncol, 36, 47-53.

**Desideri A, Falconi M (2003)**, *Prokaryotic Cu, Zn superoxidies dismutases*. Biochem soc trans, 31, 1322-1325.

**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.

**Dixon ZR, Shie FS, Warden BA, Burri BJ, Neidlinger TR (1998)**, *The effect of a low carotenoid diet on malondialdehyde-thiobarbituric acid (MDA-TBA) concentrations in women: a placebo-controlled double-blind study*. J. Am. coll. nutr., 17, 54-58.

**Dorgan JF, Sowell A, Swanson CA, Potischman N, Miller R, Schussler N, Stephenson HE (2000)**, *Dose-Response Effects of Lycopene on Selected Drug-Metabolizing and Antioxidant Enzymes in the Rat*. Cancer Lett, 154(2), 201-210.

**Drabkin DL (1946)**, *The crystallographic and optical properties of the hemoglobin of man in comparison with those of other species*. Journal biol. chem, 146, 703-723.

**Draper HH (1990)**, *Nutritional modulation of oxygen radical pathology*. **Kitap:** *Draper HH Ed.*, advances in nutritional research, vol 8, Newyork, plenum press.

**Duzguner V, Kaya S (2007)**, *Effect of zinc on the lipid peroxidation and the antioxidant defense systems of the alloxan-induced diabetic rabbits*. Free radical and biology medicine, 42(10),1481-1486.

**Duzguner V, Kucukgul A, Erdogan S, Celik S, Sahin K (baskıda)**, *Effect of lycopene administration on plasma glucose, oxidative damage and body weight in streptozotocin diabetic rats*.

**Edwards AJ, Vinyard BT, Wiley ER, Brown ED, Collins JK, Perkins-Veazie P (2003)**, *Consumption of watermelon juice increases plasma concentrations of lycopene and  $\beta$ -carotene in humans*. J Nutr, 133, 1043-1050.

**El-Missiry MA, El-Gindy AM (2000)**, *Amelioration of alloxan induced diabetes mellitus and oxidative stress in rats by oil eruca sativa seeds*. Annals of nutrition and metabolism, 44, 97-100.

**Elliott TG, Cockcroft JR, Groop PH, Viberti GC, Ritter JM (1993)**, *Inhibition of nitric oxide synthesis in forearm vasculature of insulin-dependent diabetic patients: blunted vasoconstriction in patients with microalbuminuria*. Clin sci., 85, 687-693.

**Erhardt JG, Meisner C, Bode JC (2003)**, *Lycopene, beta-carotene and colorectal adenomas*. Am J clin nutr, 78(6), 1219-1224.

**Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H (1991)**, *Chemistry and biochemistry of 4 hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes*. Free rad biol med, 11, 81-128.

**Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA ve Grodsky GM (2003)**, *Are oxidative stres-activated signaling pathways mediators of insülin resistance and  $\beta$ -cell dysfunction*. Diabetes, 52, 1-8.

**Faure P, Corticelli P, Richard MJ, Corticelli P, Arnaud J, Coudray C, Halimi S, Favier A, Roussel AM (1993)**, *Lipid peroxidation and trace element status in diabetic ketotic patients: influence of insulin therapy*. Clin chem, 39, 789-793.

**Feldman EC (1983)**, *Disease of endocrin pancreas*. In textbook of veterinary internal medicine. Disease of the dog and cat. Philadelphia. W.B. Saunders company, (2nd Ed) chapt. 67(2), 1615-1650.

**Ghafourifar P, Cadenas E (2005)**, *Mitochondrial nitric oxide synthase trends*. Pharmacol sci., 26, 190-195.

**Giardino FJ (2005)**, *Oxygen, oxidative stress, hypoxia and heart failure*. The journal of clinical investigation, 115(3), 500-508.

**Giovannucci E (1999)**, *Tomatoes, tomato-based products, lycopene and cancer: review of the epidemiologic literature*. J Natl cancer inst, 91: 317-331.

**Giles NM, Giles GI, Holley JE, Gutowski NJ, Jacob C (2003)**, *Targeting oxidative stress related diseases: organochalcogen catalysts as redox sensitizers*. Biochemical pharmacology, 66, 2021-2028.

**Giron YE, Rise M, Levy J (1997)**, *Effect of lycopene enriched tomato oleoresin on 7,12-dimethyl-benz[a]anthracene-induced rat mammary tumors*. Cancer detect prevent, 21, 118-123.

**Gomez R, Huber J, Lhullier F, Barros HMT (2001)**, *Plasma insulin levels are increased by sertraline in rats under oral glucose overload*. Brazilian journal of medical and biological research, 34, 1569-1572.

**Govindarajan G, Sowers JR ve Stump CS (2006)**, *Hypertension and diabetes mellitus*.

**Griffin JE ve Ojeda SR (1992)**, *Textbook of endocrine physiology*. 2nd Ed., Newyork, Oxford university pres.

**Gumieniczek A, Hopkala H, Wojtowicz Z ve Nikolajuk J (2002)**, *Changes in antioxidant status of heart muscle tissue in experimental diabetes in rabbits*. Acta biochimica polonica, 49(2), 529-535.

**Gutteridge JMC, Halliwell B (1994)**, *Oxidative stress, antioxidants in nutrition, health and disease*. New York, NY pres.

**Guyton AC, Hall JE (2001)**, *Medical physiology*. 10th Ed, Philedelphia, W.B. Saunders company.

**Gümrükçüoğlu A, Onur MA**. *Serbest radikaller*.

**Erişim:** [http://www.genetikbilimi.com/gen/serbest\\_radikaller.htm](http://www.genetikbilimi.com/gen/serbest_radikaller.htm)

**Erişim tarihi:** 20.11.2007

**Hadley CW, Clinton SK, Schwartz SJ (2003)**, *The consumption of processed tomato products enhances plasma lycopene concentrations in association with a reduced lipoprotein sensitivity to oxidative damage*. J Nutr, 133, 727-732.

**Halliwell B (1994)**, *Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence?* Lancet, 344, 721-724.

**Halliwell B (2001)**, *Role of free radicals in the neurodegenerative diseases-therapeutic implications for antioxidant treatment drug&aging.*, 18(9), 685-716.

**Halliwell B, Gutteridge JMC (2001)**, *Free radicals in biology and medicine*, 3rd Ed., oxford university pres.

**Hannon-Fletcher M, Hughes C, O’Kane MJ, Moles Kw, Barnett CR, Barnett YA (1999)**, *An investigation of in vivo antioxidant status and DNA damage in patients with IDDM*. Kitap: Basu TK, Temple NJ, Garg ML, antioxidants in human health and disease, UK, CABI publishing.

**Jain SK (1999)**, *Oxidative stress, vitamin E and diabetes*. İn: Basu TK, Temple NJ, Garg ML, antioxidants in human health and disease. UK, CABI publishing.

**Jain SK, McVie R, Duett J ve Herbst JJ (1999)**, *Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glicosylated hemoglobin in diabetes*. Diabetes, 38(12), 1539-1543.

**Jensen T (1992)**, *Microalbuminuria and large vessel disease in diabetes*. Journal of hypertension, 10.Kısım: 21-24.

**Jonker D, Kuper CF, Frail N, Esterella A, Rodriguez Otera C (2003)**, *Ninety-day oral toxicity study of lycopene from blakeslea trispora in rats*. Regu. toxico. pharmacol, 37, 396-406.

**Kağa S (2006)**, *Streptozotosin ile diyabet oluşturulan sıçanlarda papatya (matricaria chamomilla l.) antidiabetik ve antioksidatif etkisinin araştırılması*. Yüksek lisans tezi. Afyonkarahisar.

**Kakkar R, Karla J, Mantha SV ve Prasad K (1995)**, *Lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes in diabetic rats*. Molecular cell biochemistry, 151(2), 113-119.

**Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlıoğlu M, Baspınar N, Tiftik AM (1998)**, 1. baskı, Konya, selçuk üniversitesi veteriner fakültesi yayınevi ünitesi. Biyokimya Kitabı.

**Kaneko JJ, Harwey JW, Brust ML (1980)**, *Clinical biochemistry of domestic Animals*. 3rd Ed, London, acedemic press. Inc Ltd.

**Karaçorlu M (1997)**, *Diyabetik retinopati*. İ.Ü. cerrahpaşa tıp fakültesi sürekli tıp eğitimi etkinlikleri. İstanbul, 61-67.

**Karahan İ, Yılmaz S, Ateşşahin A (2006)**, *Ratlarda cisplatin ve gentamisin kan ile karaciğerde oluşturdukları oksidatif stres üzerine likopenin etkileri*. Fırat üniversitesi sağlık bil. dergisi, 20(1), 39-43.

**Karaman Y (2006)**, *Alzheimer hastalığı, vasküler demans ve hafif kognitif etkilenmede plazma homosistein, vitamin B12 ve folat seviyeleri*. Journal of neurological sciences, 23(3), 175-184.

**Karasu Ç, Öztürk Y, Altan N, Yıldızoğlu N, İvizler C, Atlan VM (1990),** *Thyroid hormones mediated effect of insulin on alloxan diabetic rat atria.* General pharmacology, 21(5), 735-740.

**Kızıltan ME (1997),** *Diyabet ve periferik nöropati.* İ. Ü. cerrahpaşa tıp fakültesi sürekli tıp eğitimi etkinlikleri. Diabetes mellitus sempozyumu, 69-77.

**Kim YC, Araki S, Kim DJ, Park CB, Takasuka N, Baba-Toriyama H, Ota T, Nir Z Khachik F, Shimidzu N, Tanaka Y, Osawa T, Uraji T, Mukorashi M, Nishino H, Tsuda H (1998),** *Chemopreventive effects of carotenoids and curcumins on mouse colon carcinogenesis after 1,2-dimethylhydrazine initiation.* Carcinogenesis, 19, 81-85.

**Kleczkowski M, Klucinski W, Sikora J, Zdanowicz M, 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.

**Klein R (1991),** *The epidemiology of diabetic retinopathy.* İn: textbook of diabetes. London, Blackwell, 2, 537-563.

**Koçyiğit A, Erel Ö, Gür S (2003),** *Effects of tobacco smoking on plasma selenium, zinc, copper and iron concentrations and related antioxidative enzyme Activities.* Clinical biochemistry, 34, 629-633.

**Kofoed-Enevoldsen A (1990),** *Declining incidence of persistent proteinuria in type I (insülin-dependent) diabetic patients in denmark.* Diabetes, 10, 260-273.

**Kojo S (2004),** *Vitamin C: basic metabolism and its function as an index of oxidative stres.* Curr med chem, 11, 1041-1064.

**Kostic MM, Erdogan S, Rena G, Borchert G, Hoch B, Bartel S, Scotland G, Huston E, Houslay MD, Krause EG (1997),** *Altered expression of PDE1 and PDE4 cyclic nucleotide phosphodiesterase isoforms in 7-oxo-prostacyclin-preconditioned rat heart.* J. Mol. Cell. Cardiol., 29, 3135-3146.

**Koya D, Hayashi K, Kitada M (2003),** *Effects of antioxidants in diabetes-induced oxidative stress in the glomeruli of diabetic rats.* J Am soc nephrol, 14(3), 250-253.

**Koyuer Yorgancı E (2005),** *Obez, tip-II diyabetli hastalarda insülin direnci ile IL-6, CRP ve fibrinojen ilişkisi.* Uzmanlık Tezi, İstanbul.

**Kozuki Y, Miura Y, Yagasaki K (2000),** *Inhibitory effects of carotenoids on the invasion of rat ascites hepatoma cells in culture.* Cancer lett, 151(1), 111-5.

**Köken T, Kakraman A, Serteser M, Gökçe Ç (2004),** *Hemodiyaliz ve oksidatif stres.* Kocatepe tıp dergisi, 5: 9-13.

**Kucuk O, Sarkar FH, Djuric Z, Sakr W, Pollak MN, Khachik F, Banerjee M,**



**Bertram JS, Wood DP Jr (2002)**, *Effects of lycopene supplementation in patients with localized prostate cancer*. *Exp biol med*, 227(10), 881-885.

**Landis GN, Tower J (2005)**, *Superoxide dismutase evolution and life span regulation*. *Ech ageing dev.*, 126, 365-379.

**Latha M, Pori L (2004)**, *Effect of an aqueous extract of scoparia dulcis on blood glucose, plasma insulin and some polyol pathway enzymes in experimental rat diabetes*. *Brazilian journal of med. and biol. Research*, 37, 577-586.

**Leonard SS, Harris GK, Shi XL (2004)**, *Metal-induced oxidative stress and signal transduction*. *Free rad biol med.*, 37, 1921-1942.

**Limaye PV, Raghuram N, Sivakami S (2003)**, *Oxidative stress and gene expression of antioxidant enzymes in the renal cortex of streptozotocin-induced diabetic rats*. *Mol cell biochem*, 243, 147-152.

**Liochev SI, Fridovich I (2002)**, *The haber-weiss cycle 70 years later: an alternative view redox report.*, 7, 55-57.

**Liu QY, Hhung JC, Heber D, Go VL, Reuter VE, Cordon-Cardo C (2001)**, *Inverse associations between plasma lycopene and other carotenoids and prostate cancer*. *Cancer epidemiol biomarkers prev.*, 10, 749-756.

**Lowe GM, Booth LA, Young AJ, Bilton RF (1999)**, *Lycopene and  $\beta$ -carotene protect against oxidative damage in HT29 cells at low concentrations but rapidly lose this capacity at higher doses*. *Free radical research*, 30(2), 141-151.

**Luck H (1965)**, *Catalase, in: methods in enzyme analysis*. Bergmeyer, H.U. eds. Verlag-chemic. Weinheim/bergstrasse, Germany.

**Maritim AC, Dene BA, Sanders RA, Watkins JB (2002)**, *Effects of  $\beta$ -carotene on oxidative stress in normal and diabetic rats*. *J. Biochem mol toxico.*, 16, 203-208.

**Maritim AC, Sanders RA, Watkins III JB (2003a)**, *Diabetes, oxidative stress and antioxidants: review*. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 17(1), 4-38.

**Maritim A, Dene BA, Sanders RA (2003b)**, *Effects of pycnogenol treatment on oxidative stress in streptozotocin induced diabetic rats*. *J Biochem mol. toxicol*, 17(3), 193-199.

**Mashima R, Witting PK, Stocker R (2001)**, *Oxidants and antioxidants in atherosclerosis*. *Curr opin lipidol*, 12(4), 411-418.

**Mates JM, Perez-Gomez C, De Castro IN (1999)**, *Antioxidant enzymes and human diseases*. *Clin biochem*, 32, 595-603.

**Matos HR, Di Mascio P, Medeiros MH (2000)**, *Protective effect of lycopene on lipid peroxidation and oxidative damage in cell culture*. Arch biochem biophys, 383, 56-59.

**Mayne ST (1996)**, *Beta-carotene, carotenoids and disease prevention in humans*. FASEB J, 10, 690-701.

**Mayo JC, Sainz RM, Antoli I (2002)**, *Melatonin regulation of antioxidant Enzyme gene expression*. Cell mol life sci, 59(10), 1706-1713.

**McClain MR, Bausch J (2003)**, *Summary of safety studies conducted with synthetic lycopene*. Regul toxicol pharmacol., 37(2), 274-285.

**Mc Cord JM, Fridovich I (1969)**, *Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocyte (hemocuprein)*. J Biol chem, 1969, 244, 60409-60455.

**McIntyre M, Bohr DF ve Dominiczak AF (1999)**, *Endothelial function in hypertension: the role of superoxide anion*. Hypertension, 34, 539-545.

**Mellert W, Deckardt K, Gembardt C, Schulte S, Van Ravenzwaay B, Slesinski RS, (2002)**, *Thirteen-week oral toxicity study of synthetic lycopene products in rats*. Food chem toxico, 40, 1581-1588.

**Memisogullari R, Taysi S, Bakan E, Capoglu I (2003)**, *Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus*. Cell biochem func., 21, 291-296.

**Memisogullari R, Bakan E (2004)**, *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.

**Memisogullari R (2005)**, *Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi*. Düzce tıp fakültesi dergisi, 3, 30-39.

**Meral I, Yener Z, Kahraman T, Mert N (2001)**, *Effect of nigella sativa on glucose concentration, lipid peroxidation, antioksidant defence system and liver damage in experimentally-induced diabetic rabbits*. Journal of veterinary medicine, 48, 593-599.

**Miller NJ, Sampson J, Candeias LP, Bramley PM, Rice-Evans CA (1996)**, *Antioxidant activities of carotenes and xantophylls*. FEBS Lett., 384, 240-246.

**Mortensen A, Skibsted LH, Truscott TG (2001)**, *The interaction of dietary carotenoids with radical species*. Arch biochem biophys, 385, 13-19.

**Mulhauser I (1990)**, *Smoking and diabetes*. Diabetic medicine, 7, 10-15.

**Murray RK, Granner DK, Mayes PA ve Rodwell VW (1996)**, Harper's biochemistry, 24th Ed., Connecticut, appleton and lange.

**Nguyen ML, Schwartz SJ (1999)**, *Lycopene: chemical and biological properties*. Food technol, 53, 38-45.

**Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HL, Grandjean P (1997)**, *Plasma malondyaldehyde as a biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life style factors*. Clinical chemistry, 43(7), 1209-1214.

**Novelli M, D'Aleo V, Lupi R, Paolini M, Soleti A, Marchetti P, Masiello P (2007)**, *Reduction of oxidative stress by a new low-molecular-weight antioxidant improves metabolic alterations in a nonobese mouse diabetes model*. Pancreas, 5(4), 10-17.

**Nyska A, Kohen R (2002)**, *Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification*. Toxicol pathol., 30, 620-650.

**Ohly P, Dohle C, Abel J, Seissler J, Gleichman H (2000)**, *Zinc sulphate induces metallothionein in pancreatic islets of mice and protects against diabetes induced by multiple low doses of STZ*. Diabetologia, 43(8), 1020-1030.

**Okajima E, Tsutsumi M, Ozono S Akai H, Denda A, Nishino H (1998)**, *Inhibitory effect of tomato juice on rat urinary bladder carcinogenesis after N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosinamine initiation*. Jpn J cancer res, 89, 22-26.

**Özata M (2005)**, *Diabetes mellitus hakkında temel bilgiler ve tedavisi*. Şekerli yaşam. Epilson yayınevi.

**Özdoğan A, Yanardağ R, Özsoy Ö, Öktem F, Oğuz F, Yener HM, Erdamar S (2002)**, *Diyabetik sıçanlarda ağız mukozasındaki histopatolojik değişiklikler*. Turch arch otolaryngol, 40(3), 180-184.

**Paglia DE, Valentine WN (1967)**, *Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte GSH-Px*. J. lab. clin. med., 70(1), 158-169.

**Palmer JP (1993)**, *Predicting IDDM-1991*. Diabetes reviews, 104-115.

**Parke DV (1999)**, *Nutritional antioxidants and disease prevention; mechanism of action*. In: Basu TK, Temple NJ, Garg ML, antioxidants in human health and disease. UK, CABI Publishing.

**Pastori M, Pfander H, Boscoboinik D, Azzi A (1998)**, *Lycopene in association with a-tocopherol inhibits at physiological concentrations proliferation of prostate carcinoma cells*. Biochem biophys res commun, 250, 582-585.

**Patockova J, Marhol P, Tümová E, Krsiak M, Rokyta R, Stipek S, Crkovska J, Andel M (2003)**, *Oxidative stress in the brain tissue of laboratory mice with acute post insulin hypoglycemia*. Physiological research., 52, 131-135.

- Powell SR (2000)**, *The properties of zinc*. Journal of nutrition, 130: 1447-1454.
- Pellegrini N, Riso P, Porrini M (2000)**, *Tomato consumption does not affect the total antioxidant capacity of plasma*. Nutrition, 16(4), 268-271.
- Phillips M, Cataneo RN, Cheema T, Greenberg J (2004)**, *Increased breath biomarkers of oxidative stress in diabetes mellitus*. Clinica chimica acta, 344, 189-194.
- Pilkis SJ, El-Maghrabi MR, Clauss TH (1988)**, *Hormonal regulation of hepatic gluconeogenesis and glycolysis*. Annu. rev. biochem, 57, 755-783.
- Pincemail J (1995)**, *Free radicals and antioxidants in human disease*. Favier AE, Cadet J, Kalyanaraman B, Fontecave M, Pierre J-L, Analysis of Free Radicals in Biological systems. Basel, birkhäuser verlag, Switzerland, 83-98.
- Priyor WA (2002)**, *Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trial*. Free rad biol med., 28, 141-164.
- Quinn L (2002)**, *Mechanism in the development of type II diabetes mellitus*. Journal of cardiovascular nursing, 16(2), 1-16.
- Ramakrishna V, Jaiikhani R (2007)**, *Evaluation of oxidative stress in insulin dependent diabetes mellitus (IDDM) patients*. Diagnostic pathology, 2, 22.
- Ramanathan M, Jaiswal AK, Bhattacharya SK (1999)**, *Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in the brain of STZ induced diabetic rabbits*. Indian journal of experimental biology, 37(2), 182-183.
- Rao AV, Agarwal S (1999)**, *Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review*. Nutr res, 19, 199-203.
- Reddy R, Yao JK (1999)**, *Schizophrenia-role of oxidative stress and essential fatty acids*. In: Basu TK, Temple NJ, Garg ML, Antioxidants in human health and disease. UK, CABI Publishing.
- Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Tanaka Y, Takahashi H (2003)**, *Glucose toxicity in  $\beta$ -cell: type II diabetes, good radicals gone bad, and the glutathione connection*. Diabetes, 52, 581-587.
- Rousseau EJ, Davison AJ, Dunn B (1992)**, *Protection by beta-carotene and related compounds against oxygen-mediated cytotoxicity and genotoxicity: implications for carcinogenesis and anticarcinogenesis*. Free radic biol med, 13(4), 407-433.
- Ruiz C, Alegria A, Barbera R, Farre R, Lagarda MJ (1999)**, *Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in patients with type I diabetes mellitus*. Scandinavian journal of clinical laboratory investigation, 59(2), 99-105.

**Sadi G, Yılmaz Ö, Güray T (2007)**, *Effect of vitamin C and lipoic acid on streptozotocin-induced diabetes gene expression: mRNA and protein expressions of Cu–Zn SOD and catalase*. Mol cell biochem, 1-8.

**Sailaja YR, Baskar V, Saralakumari D (2003)**, *The antioxidant status during maturation of reticulocytes to erythrocytes in type II diabetes*. Free radical biology and medicine, 35(2), 133-139.

**Schalkwijk CG, Stehouwer CDA (2005)**, *Vascular complications in diabetes mellitus: the role of endothelial dysfunction*. Clinical science, 109, 143-159.

**Seçkin D, İlhan N, İlhan N, Ertugrul S (2006)**, *Glycaemic control, markers of endothelial cell activation and oxidative stress in children with type 1 diabetes mellitus*. Diabetes res clin pract, 73, 191-77.

**Sedlak J, Lindsay RH (1968)**, *Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with ellman's reagent*. Anal biochem., oct 24;25(1), 192-205.

**Seghrouchni I, Draï J, Bannier E, Riviere J, Calmard P, Garcia I, Orgiazzi J, Revol A (2002)**, *Oxidative stress parameters in type I, type II and insulin-treated type 2 diabetes mellitus; insulin treatment efficiency*. Clin chim acta, Jul; 321(1-2), 89-96.

**Sen CK, Packer L (1996)**, *Antioxidant and redox regulation of gene transcription*. FASEB J, 10(7), 709-720.

**Sheweita SA, Newairy AA, Mansour HA, Yousef MI (2002)**, *Effect of some hypoglycemic herbs on the activity of phase I and II drug-metabolizing enzymes in alloxan-induced diabetic rats*. Toxicology, 174(2),131-9.

**Sindhu RK, Koo JR, Roberts CK, Vaziri ND (2004)**, *Dysregulation of hepatic SOD, CAT and GPx in diabetes: response to insulin and antioxidant therapy*. Clinical experimental hypertension, 26(1), 43-53.

**Software Digi Doc-It**, Image acquisition and 1D analysis. Version V 2.1, UVP, Inc. Upland, CA.

**Southorn PA, Powis G (1988)**, *Free radicals in medicine. I. chemical nature and biologic reactions*. Mayo clin proc., 63(4), 381-389.

**Sözmen EY (2002)**, *Yaşlanma biyokimyası*. Onat T, Emerk K, Sözmen EY (Eds) İnsan Biyokimyası, Palme yayıncılık, Ankara, 665-674.

**SPSS Inc. (1999)**, SPSS for windows. Version 9.05, Chicago SPSS Inc.

**Stahl W, Sies H (1992)**, *Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heatprocessed than from unprocessed tomato juice in humans*. J Nutr, 122(11), 2161-2166.

**Stahl W, Sies H (1996)**, *Lycopene: a biologically important carotenoid for humans?* Arch biochem biophys, 336, 1-9.

**Stahl W, Sies H (2005)**, *Bioactivity and protective effects of natural carotenoids.* BBA molecular basis of disease vol., 1740(2), 101-107.

**Steinberg FM, Chait A (1998)**, *Antioxidant vitamin supplementation and lipid peroxidation in smokers.* Am. J. Clin. Nutr, 68, 319-327.

**Steiner G (1981)**, *Diabetes and atherosclerosis : an overview.* Diabetes, 30(2), 1-7.

**Steiner G (1985)**, *Atherosclerosis, the major complication of diabetes.* In : Vranic M, Hollenberg CH, Steiner G, eds. *Comparison of type I and type II diabetes: similarities and dissimilarities in etiology, pathogenesis and complications.* New York, Plenum, 277-297.

**Strange RC, Jones P, Bicknel J, Scarpelo J (1992)**, *Expression of Cu-Zn SOD and GPx in erythrocytes from diabetic and non diabetic subjects.* Clinical chimica acta, 1992, 207, 261-263.

**Sugiura M, Oshima M, Ogawa K, Yano M (2005)**, *Chronic administration of satsuma mandarin fruit (citrus unshiu MARC.) improves oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rat liver.* Biol. pharm. bull., 29(3), 588-591.

**Sun Y, Oberley LW, Ying LA (1988)**, *Simple method for clinical assay of superoxide dismutase.* Clin chem., 34, 497-500.

**Şentürk H (2004)**, *Serbest radikal hasarının hepato-biliyer sistem hastalıklarındaki rolü.* Kocatepe tıp dergisi, 5 (Ek Sayı), 1-8.

**Taysi S, Polat F, Gul M, Sari RA, Bakan E (2002a)**, *Lipid peroxidation, some extracellular antioxidants, and antioxidant enzymes in serum of patients with rheumatoid arthritis.* Rheumatology international, 21 (5), 200-204.

**Taysi S, Kocer I, Memisogullari R, Kiziltunc A (2002b)**, *Serum oxidant/antioxidant status in patients with behcet's disease.* Ann clin lab sci., 32(4), 377-382.

**Tekkes Y (2006)**, *Streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş farelerde aspirin ve E vitamininin dokularda lipid peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkilerinin araştırılması.* Yüksek lisans tezi, Kahramanmaraş.

**Thomas MJ (1995)**, *The role of free radicals and antioxidants.* Crit rev food sci nutr., 35(1-2): 21-39.

**Uchiyama S, Yamaguchi M (2005)**, *Oral administration of  $\beta$ -cryptoxanthin prevents bone loss in streptozotocin-diabetic rats in vivo.* Biol. pharmacol. bull., 28, 1766-1769.

**Ulus N, Sahilli M, Avcı A, Canbolat O, Ozansoy G, Ari N, Bali M, Stefek M, Stolc S, Gajdosik A, Karasu Ç (2003),** *Pentose phosphate pathway, glutathione dependent enzymes and antioxidant defense during oxidative stress in diabetic rodent brain and peripheral organs: effects of stobadine and vitamin E.* Neurochemical research, 28(6), 815-823.

**Urlu Duru N (2005),** *Psödoeksfolyatif sendromlu katarakt olgularının fakoemülsifikasyon cerrahisinde kapsül germe halkası uygulaması. Uzmanlık tezi. İstanbul.*

**VanEenwyk J, Davis FG, Bowen PE (1991),** *Dietary and serum carotenoids and cervical intraepithelial neoplasia.* Int J cancer, 48, 34-38.

**Van Poppel G (1993),** *Carotenoids and cancer: an update with emphasis on human intervention studies.* Eur J cancer, 29A, 1335-1344.

**Van Poppel G, Gooldbohm RA (1995),** *Epidemiologic evidence for  $\beta$ -carotene and cancer prevention.* Am J clin nutr., 62, 1393-402.

**Walter RM, Uriu-Hare JY, Olin KL (1991),** *Copper, zinc, manganese, magnesium status and complications of diabetes mellitus.* Diabetes care, 14: 1050-1056.

**Wang HX, Ng TB (1999),** *Natural products with hypoglycemic, hypotensive, hypocholesterolemic, antiatherosclerotic and antithrombotic activities.* Life sci., 65(25), 2663-77.

**Welsh N, Eizirik DL, Sandler S (1994),** *Nitric oxide and pancreatic beta-cell destruction in insulin dependent diabetes mellitus: don't take no for an answer.* autoimmunity, 18, 285-290.

**Wertz K, Siler U, Goralczyk R (2004),** *Lycopene: modes of action to promote prostate health.* Arch biochem biophys, 430: 127-134.

**West IC (2000),** *Radicals and oxidative stress in diabetes.* Diabetic medicine, 17, 171-180.

**Woods JR, Plessinger MA, Miller RK (2001),** *Vitamins C and E: missing links in preventing premature rupture of membranes.* American journal of obstetrics and gynecology, 185, 5-10.

**Wu YC, Hsu JH, Liu IM, Su HC, Cheng JT (2002),** *Increase of insulin sensitivity in diabetic rats received die-huang-wan a herbal mixture used in chinese traditional medicine.* Acta pharmacol sin, dec; 23(12), 1181-1187.

**Yapıcı Ö (2004),** *Tip 2 diabetes mellituslu hastalarda açlık plazma homosistein seviyesi ile diyabetin kronik komplikasyonları arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi.* Uzmanlık tezi, İstanbul.

**Yaping Z, Suping Q, Wenli Y, Zheng X, Hong S, Side Y, Dapu W (2002),** *Antioxidant activity of lycopene extracted from tomato paste towards trichloromethyl peroxy radical CCl<sub>3</sub>O<sub>2</sub>.* Food chemistry, 77, 209-212.

**Yarsan E (1998),** *Lipid peroksidasyon olayı ve önlenmesine yönelik uygulamalar.* Yüzüncü yıl üniversitesi veteriner fakültesi dergisi, 9(1-2), 89-95.

**Yıldırım G (2005),** *Diyabetik hastalarda aterosklerozun karotid ve poplitead arter doppler ultrasonografi ile değerlendirilmesi; diyabetin ateroskleroz üzerine etkisi ve ateroskleroz risk faktörleri.* Uzmanlık tezi, İstanbul.

**Yılmaz S (2003),** *Normal ve diyabetik rat karaciğer dokusunda piruvat kinazın bazı özelliklerinin karşılaştırılması.* Turk J. vet. anim. sci, 27, 991-997.

**Yılmaz S, Üstündağ B (2002),** *Streptozotosin ile diyabet oluşturulan Ratların karaciğer ve böbrek dokularında pirüvat kinaz aktivite düzeyleri.* Turk J. vet. anim. sci, 26, 549-553.

**Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, Mori M (1979),** *Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygens toxicity in the blood.* Am J obtet gynecol, 135, 372-376.

**Young IS, Woodside JV (2001),** *Antioxidants in health and disease.* J Clin pathol, 54, 176-186.

**Zangen SW, Ryu S, Ornoy A (2006),** *Alterations in the expression of antioxidant genes and the levels of transcriptions factor NF-kappa B in relation to diabetic embryopathy in the cohen diabetic rat model.* Birth edfect research, 76A, 107-114.

**Zima T, Crkovska J, Merta M, , Stipek S, Nemecek K, 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.



## **9. ÖZGEÇMİŞ**

1983 yılında Antakya'da doğdu. 2000 yılında Gazi Osman Paşa Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesini kazandı, 2002 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi'ne geçiş yaptı ve 2005 yılında mezun oldu. Aynı yıl Mustafa Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisansa başladı.