

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULAN RATLARDA LİKOPEN
UYGULAMASININ PARAOKSONAZ AKTİVİTESİ ÜZERİNE
ETKİSİ**

Hemşire Hatice KAYMAZ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Fatmagül YUR

VAN- 2011

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULAN RATLARDA LİKOPEN
UYGULAMASININ PARAOKSONAZ AKTİVİTESİ ÜZERİNE
ETKİSİ**

Hemşire Hatice KAYMAZ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Jüri Başkanı

Üye

Üye

TEZ KABUL TARİHİ

... / ... /2011

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında yol gösteren, tezin yapılmasında büyük katkıları olan ve her türlü desteğini esirgemeyen Danışman Hocam Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Fatmagül YUR' a, yüksek lisans eğitimim sırasında benden yardımlarını esirgemeyen ve tez çalışmam sırasındaki değerli katkılarından dolayı sayın hocam Prof. Dr. Semiha DEDE'ye ve Prof. Dr. Yeter DEĞER'e ve Anabilim Dalı öğretim üyelerine, numune almadaki yardımlarından dolayı sayın Yrd. Doç. Dr. Gökhan OTO' ya, tezin deneme ve laboratuvar aşamasındaki yardımlarından dolayı anabilim dalındaki yüksek lisans ve doktora öğrencisi arkadaşlarım Sevim ÇİFTÇİ, Enver CANER, ve Ethem YÜZTAŞ'a, ayrıca beni yetiştiren ve her zaman destekleyen aileme teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay.....	II
Teşekkür.....	III
İçindekiler.....	IV
Simgeler ve Kısaltmalar.....	VI
Şekiller.....	VIII
Çizelgeler.....	IX
1. GİRİŞ.....	2
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Diabetes mellitus	4
2.1.1. Diabetes mellitusun tanımı.....	4
2.1.2 Diabetes mellitusun tarihçesi	4
2.1.3 Diabetes mellitusun epidemiyolojisi	5
2.1.4 Diabetes mellitusun sınıflandırılması.....	6
2.1.5. Pankreas.....	7
2.1.6. İnsülin.....	9
2.2. Glikoproteinler	11
2.2.1. Glikolize Hemoglobin (HbA1c)	12
2.3. Karotenoidler	15
2.3.1. Likopen.....	16
2.4. Paraoksonaz Enzimi	18
2.4.1. PON Tipleri	29
2.4.2.Yapı ve Etki	20

2.4.3. PON1'in Biyokimyasal Fonksiyonları.....	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	23
3.1. Gereç.....	23
3.1.1. Deneme Grupları	23
3.1.2. Kullanılan Alet ve Malzemeler.....	24
3.1.3. Kimyasal Maddeler.....	25
3.2. Yöntem.....	25
3.2.1. Hemoglobin A1c Tayini.....	25
3.2.2. Paraoksonaz Enzim Aktivite Tayini	25
3.3. İstatiksel Analiz.....	27
4. BULGULAR.....	28
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	31
ÖZET.....	37
SUMMARY.....	38
KAYNAKLAR.....	39
ÖZGEÇMİŞ.....	47

SİMGELER VE KISALTMALAR

µl	: Mikrolitre
AsCoA	: Asetil koenzim A
Ca	: Kalsiyum
cAMP	: Siklik adenozin monofosfat
Co	: Kobalt
DCCT	: Diyabet Kontrol Komplikasyon Çalışması
DM	: Diabetes Mellitus
DNA	: Deoksiribonukleik Asit
g	: Gram
GHb	: Glikolize Hemoglobin
GTB	: Glukoz Tolerans Bozukluğu
Hb	: Hemoglobin
HbA1c	: Glikolize Hemoglobin
HDL	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
IUBMB	: Biyokimya ve Moleküler Biyolojinin Uluslararası Nomenklatür Komitesi
K	: Potasyum
KAH	: Koroner Arteriosklerozis Hastalığı
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein

Mg	: Magnezyum
Mn	: Manganez
Na	: Sodyum
O₂	: Oksijen
PAF	: Platelet Aktive Edici Faktör
PON	: Paraoksonaz
RNA	: Ribonukleik Asit
TÜDEP	: Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışması
VLDL	: Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER

Şekil 1. Pankreas Langerhans adacıkları α ve β hücreleri	8
Şekil 2. Proinsülin ve insülinin yapısı	9
Şekil 3. İnsülinin reseptöre bağlanması	11
Şekil 4. Hemoglobinin kimyasal yapısı.....	12
Şekil 5. HbA1c sentezi.....	14
Şekil 6. Likopenin yapısı	17
Şekil 7. Paraoksonaz (PON 1) enziminin yapısı	21
Şekil 8. Kontrol ve deneme gruplarındaki PON aktivite düzeyleri.....	29
Şekil 9. Kontrol ve deney gruplarındaki HbA1c düzeyleri	30

ÇİZELGELER

Çizelge 1. Kontrol ve deneme gruplarındaki PON aktivite düzeyleri.....	28
Çizelge 2. Kontrol ve deneme gruplarındaki HbA1c düzeyleri.....	29

1.GİRİŞ

Yirminci yüzyılın en büyük halk sağlığı problemlerinden olan Diabetes Mellitus (DM), 21. yüzyılda da sorun olmayı sürdürmektedir. Günümüzde, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre aşikar diyabetik insan sayısı 110.4 milyondur. Bu rakamın 2010 yılında 2 kat artacağı tahmin edilmektedir (King ve ark., 1993). DM, yurdumuzda da önemli bir sağlık sorunudur ve yapılan bir çalışmada diyabet prevalansı % 7.2, glukoz tolerans bozukluğu (GTB) ise % 6.7 bulunmuştur (Satman ve ark., 2002).

DM; karbonhidrat, protein ve lipid metabolizmalarının bozukluğu ile seyreden, hiperglisemi ile karakterize, kronik ve progresif bir hastalıktır (Başkal, 2003). Pankreas beta hücresinden insülin sekresyonunun azalması ile karakterize olan Tip 1 DM, çoğunlukla genetik yatkınlığı olan bireylerde tetikleyici çevresel faktörlerin etkisi ile ortaya çıkan otoimmün bir hastalıktır (Başkal, 2003).

Tip 1 DM, diyabetik popülasyonun yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır (Başkal, 2003). Heterojen bir hastalık olan Tip 2 DM, karaciğer, kas ve adipöz dokuda insülin duyarlılığının azalması ve beta hücre fonksiyon bozukluğu ile karakterizedir. Genellikle 30 yaşından sonra görülmekteyse de her yaşta ortaya çıkabilmektedir. Diyabetik popülasyonun % 90'ını oluşturmaktadır (Başkal, 2003).

Hemoglobin, kanda alyuvar hücrelerimizin içinde bulunan ve oksijenin dokulara taşınmasını sağlayan ana maddedir. Hemoglobin protein yapısında olup, kanda şeker ile birleşme eğilimi gösterir. Şekerle bağlanmış hemoglobine glikolize hemoglobin adı verilir. Hemoglobin A1c ölçümü, bize "glikolize hemoglobin" miktarını gösterir (Anonim, 2009a).

“HbA1c=Açlık kan şekeri+tokluk kan şekeri” şeklinde bir formül HbA1c'nin anlamını en iyi gösterir. HabA1c bu formülde görüldüğü gibi hem açlık kan şekerinden hem tokluk kan şekerinden etkilenir. Ortalama kan şekeri son 3 ayda yüksek ise HbA1c yüksek çıkar (Anonim, 2009b).

Likopen, sebze ve meyvelerde doğal olarak bulunan karotinoit (carotenoid) ailesine ait bir pigmenttir. Likopen birçok meyve ve sebzenin yapısında yer almasına rağmen en fazla domates ve domates ürünlerinde bulunur. 1903 yılında, Schunck, domateslerde

yoğun olarak bulunan bu pigmentin, havuçlarda bulunan karotenlerden farklı bir absorpsiyon spektrumuna sahip olduğunu göstermiş ve bu pigmente likopen adını vermiştir (Nguyen ve Schwartz, 1999).

Likopen; simetrik bir düzleme sahip olup, alifatik, yani düz zincirli, bir hidrokarbondur. Diğer karatonoidler gibi likopen; tetraterpen ($C_{40}H_{64}$) yapıda olup, 8 tane izopren (C_5H_8) ünitesinin birleşmesinden meydana gelmektedir. Likopen, yapısında 11 tane konjuge ve 2 tane konjuge olmayan toplam 13 tane çift bağ içermekte ve β -iyonon halkası içermemektedir. Buna karşın, β -karoten yapısında 9 tane konjuge ve 2 tane konjuge olmayan toplam 11 tane çift bağ ve 2 tane de β -iyonon halkası içermektedir (Sevindik, 2007).

Paraoksonaz, Aldridge sınıflama sistemine göre A grubu arildialkilfosfataz sınıfı ester hidrolaz enzimidir. Önceleri organofosfat bileşiklerini hidroliz etme özelliği nedeni ile toksikoloji alanında çalışılmış, son yıllarda ise antioksidan etkileri nedeni ile KAH (koroner arteriosklerozis hastalığı) riskinden korunulabileceği düşünülerek güncellik kazanmıştır (Erden, 2004). İnsan serum paraoksonaz enzimi HDL (high density lipoprotein) ile ilişkili, antioksidan fonksiyona sahip olduğu düşünülen bir enzimdir. Deneysel çalışmalar, PON1 enziminin HDL-K' nın Apo-A1 ve APO-J (Clustrein) proteinleri ile ilişkili olduğunu göstermiştir (McElveen ve ark., 1986; Kelso ve ark., 1994; Abbot ve ark., 1995; Mackness ve ark., 1997; Hasselwander ve ark., 1998; Mackness ve ark., 1998; Heijmans ve ark., 2000).

Bu çalışma, pro-enflamatuar ve antioksidan olarak koruyuculuğu bilinen likopenin diyabetik ratlara uygulanarak, diyabete bağlı komplikasyonlara karşı etkisini incelemek ve antioksidan fonksiyona sahip olduğu düşünülen paraoksonaz enzimi üzerine diyabet ve likopenin koruyucu etkisini araştırmak amacıyla planlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diabetes Mellitus

2.1.1. Diabetes mellitusun tanımı

Diabetes eski Yunanca'da "sifon" anlamına gelir ve aşırı idrar yapımını anlatır. Mellitus ise yine Yunanca'da "bal" anlamına gelen "mel" kelimesinden geliştirilmiştir (Sodeman, 1992).

DM kanda glikoz seviyesinin artması ve glikozüri ile karakterize kronik bir hastalıktır. Sebebi endojen insülinin mutlak veya göreceli eksikliği veya periferik etkisizliğidir. Bunun sonucu olarak hiperglisemi, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozuklukları, kapiller membran değişiklikleri ve hızlanmış arteriosklerozis oluşur. Bu hastalarda en özgün klinik semptomlar aşırı sıvı tüketimi, aşırı yemek yemek ve çok idrar çıkarmadır. Bazı hastalarda izah edilemeyen kilo kaybı, bazılarında da kronik komplikasyonlara bağlı göz, merkezi sinir sistemi, kardiyovasküler sistem veya ürogenital sistemle ilgili yakınmalar ön planda olabilmektedir (Blom ve İrelend, 1982; Watkins ve ark., 1996; Tanyeri, 1996).

2.1.2. Diabetes mellitusun tarihçesi

Diabetes mellitus poliüri (çok idrar çıkarma), polifaji (aşırı yemek yemek), polidipsi (aşırı sıvı tüketimi) gibi kardinal belirtileri; zayıflama, çevre organlarda trofik (vücudun bir bölümünün kanlanamaması) bozukluklar ve enfeksiyonlar ile karakterize bir hastalık olduğundan eski hekimlerin de gözünden kaçmamıştır. Mısır uygarlığında, M.Ö. 1500 yılına ait Ebers papirüsünde diabetten söz edilmektedir. Eski Hint Uygarlığında, "Charak samhira" adlı tıp kitabında, M.Ö. 600 yılında diabetin yeri üriner hastalıklar arasında yer almaktadır. M.Ö. 400 yılında eski Hint hekimleri, bu hastaların idrarlarına karınca ve sineklerin üşüşüğünü görerek idrarın tatlı olduğundan şüphelenmişler ve bu hastalığa tatlı idrar anlamına gelen "madhume" adını vermişlerdir (Turhan, 2007).

M.Ö. 150 yılında, Kapadokya'da Areteus, ilk defa "diabetes" adını kullanmıştır (Hatemi, 1996; Yılmaz, 1997). M.S. 9. y.y.'da İslam hekimi Razi ve 10-11. y.y. İslam hekimi İbn-i Sina, bu hastaların idrarının tatlı olduğundan ve susuzluk hissinden söz

etmişlerdir. 18. y.y.'da William Cullen "Diabetes" kelimesinin yanına, tatlı veya ballı, anlamına gelen "Mellitus" u ekledi. 1815'de Chevreul idrardaki bu şekerin "glikoz" olduğunu açıkladı. 19. y.y.'da Claude-Bernard glikozun karaciğerde glikojen olarak depolandığını tespit etti. 1869'da Paul Langerhans pankreastaki adacık hücrelerini tanımladı. 19. y.y.'ın son kısmında Kussmaul komanın klinik belirtilerini tanımlamış ve "asidoz" terimini yerleştirmiştir. 1889'da Oskar Minkowski deneyleri ile Diabetes Mellitus'da sorumlu organın pankreas olduğunu kanıtladı (Watkins ve ark., 1996; Hatemi, 1996).

1940'lı yıllarda orta ve uzun etkili farklı insülinler keşfedildi. 1964 yılında insülin molekülü sentez edilmeye başlandı. 1970'li yıllarda oral antidiyabetik ilaçlar hızla geliştirilmeye ve daha sonra ikinci ve üçüncü kuşak ilaçlar diyabetin ve komplikasyonlarının önlenmesinde ve yaşam kalitesinin yükseltilmesinde kullanılmaya başlandı. Böylece diyabet tedavisinde pankreas transplantasyonundan immunoterapiye doğru uzanan yeni bir dönem başladı (Hatemi, 1998).

2.1.3. Diabetes mellitusun epidemiyolojisi

Diabetes mellitus'un tanınması, ayrıca korunması ve tedavi programlarının belirlenip erken dönemde uygulamaya konulabilmesi için hastalığın epidemiyolojik özelliklerinin bilinmesi şarttır (Yenigün, 2001). Diyabetin sinsi seyirli olması prevalansının saptanmasında güçlük yaratmaktadır. Bugün için diyabet, yeni endüstrileşmekte olan ülkeler için epidemik bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Genetik, çevresel, davranışsal, sosyoekonomik ve kültürel faktörlerin epidemiye eklenmesi özellikle Tip 2 Diabetes mellitus prevelansında artmaya neden olmuştur (Hacıoğlu, 2006).

Ülkemizde 1997-1998 yıllarında yapılan Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışmasına (TÜDEP) göre 20-80 yaş grubu diyabet sıklığı %7,2, bozulmuş glukoz toleransı ise %6,7 bulunmuştur (Satman ve ark., 1998). Yakın zamanda Kuzey Kıbrıs Türk Toplumunda TÜDEP ile aynı yöntemin kullanıldığı diğer bir çalışmada ise diyabet sıklığı %11,3 bozulmuş glukoz toleransının da %13,5 olduğu saptanmıştır (Satman ve ark., 1997). Bahsi geçen her iki çalışmada da bilinmeyen (yeni) diyabet oranının %30 civarında olduğu gözlenmiştir (Çiftçi, 2008).

Tip 2 Diabetes mellitus genel olarak orta yaş grubu ve yaşlıların hastalığıdır. Bununla beraber son yıllarda etnik gruplarda, genç erişkin ve adolesan yaş gruplarında da sıklığı artmaktadır (Eastman ve ark., 1997, Neufeld ve ark., 1998).

2.1.4. Diabetes mellitusun sınıflandırılması

Diabetes mellitusun birçok sınıflaması yapılmış olup en çok kabul gören sınıflaması National Diabetes Data Group tarafından tanımlandıktan sonra Dünya Sağlık Örgütü'nce (WHO) kabul edilen ve 1985 yılında son şekli verilen aşağıda görülen sınıflandırmadır. 1985 yılındaki sınıflama klinik ve etyolojik sınıflama arasında uyum sağlamaktadır. Diabetes mellitusun klinik kriterlere dayanan sınıflandırılmasının etyolojik sınıflama ile birleştirilmesi tavsiye edilen sınıflandırmadır (Altuntaş, 2001).

A. Diabetes mellitusun klinik sınıflandırılması

I. Tip I: İnsuline bağımlı diabetes mellitus

II. Tip II: İnsuline bağımlı olmayan diabetes mellitus

a) Obez olmayan

b) Obez olan

III. Malnütrisyonu bağımlı diabetes mellitus

IV. Bazı durum ve sendromlarla ilişkili diğer diabet tipleri

a) Pankreas hastalığı,

b) Hormonal nedenli hastalıklar,

c) İlaç veya kimyasal maddelere bağımlı durumlar,

d) İnsulin veya insulin reseptörü anormallikleri,

e) Bazı genetik sendromlar ve diğerleri.

V. Bozulmuş glukoz toleransı

- a) Obez olmayan
- b) Obez olan
- c) Bazı durum ve sendromlarla ilişkili

VI. Gestasyonel diabetes

B. Diabetes mellitusun etyolojik sınıflaması

I. Tip 1

- a) Otoimmün
- b) İdiopatik

II. Tip 2

III. Diğer spesifik tipler

- a) Beta hücre fonksiyonundaki genetik defektler
- b) İnsulin etkisindeki genetik defektler
- c) Endokrin pankreasın hastalıkları
- d) Endokrinopatiler
- e) İlaç ve kimyasal
- f) İnfeksiyonlar
- g) İmmün kaynaklı diabetesin nadir şekilleri
- h) Diabetesle ilgili diğer genetik sendromlar

IV. Gestasyonel Diabet

2.1.5. Pankreas

Pankreas, karın boşluğunun iç kısmında, midenin hemen arkasında bulunan, yassı, uzun ve yaprak biçiminde bir organdır. Onikiparmak bağırsağı (duodenum) boyunca

uzanır. Pankreas, hem dışsalgı ve hem de içsalgı (hormon) üreten bir bezdir. Bu nedenle mikroskopta iki ayrı görünümü vardır (Çiftçi, 2008).

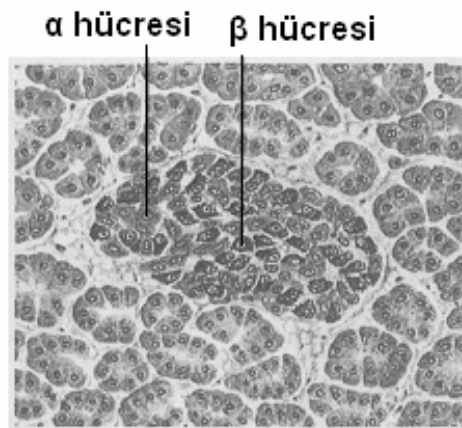
Dış salgı üreten kesimi bileşik tübül-alveoler (asiner) bez yapısındadır ve bağırsaktaki sindirimle ilgilidir. Dış salgı, Wirsung kanalı ile onikiparmak bağırsağına gelir ve buradaki alkali ortamın sürdürülmesini sağlar (Yılmaz, 1999).

Pankreasın iç salgı (hormon) üreten bölümü Langerhans adacıkları adı verilen özel hücre kümelerinden oluşur. Bu bölümde salgı kanalı bulunmadığı için salınan hormonlar doğrudan hücreler arasına verilir, buradan da çevredeki kılcal damarlardan kana geçer (Çiftçi, 2008).

Langerhans adacıklarında dört farklı tipte hücre bulunmaktadır (Yılmaz, 1999). Bunlar;

1) Alfa (A) hücreleri: Diğerlerine oranla hücreleri daha büyüktür. Bunlar dış kesimde ve kılcal damarların çevresinde bulunur. Bunlar kan glukozunu yükselten glukagon salgılar. Glukagon, karbonhidrat metabolizmasının düzenlenmesinde insülinle birlikte en önemli rol oynayan hormondur.

2) Beta (B) hücreleri: Orta kısımda yer alır. Bu hücreler insülin salgılar. Bu hormon ise kan şekerini düşürücü etki yapar. Beta hücreleri alfa hücrelerinden glukagonun salınımını kısıtlarken; alfa hücreleri, beta hücrelerinden insülin salınımını uyarır.



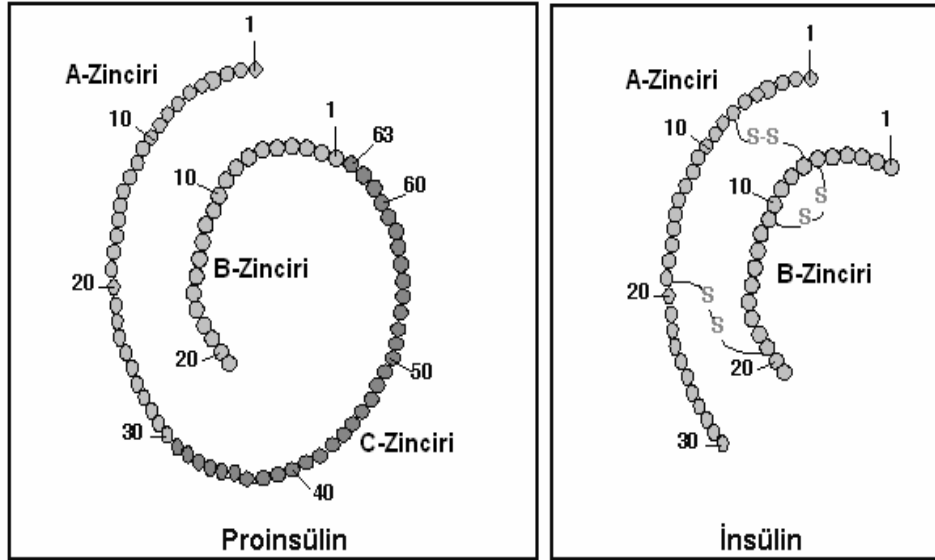
Şekil 1. Pankreas Langerhans adacıkları α ve β hücreleri (Keeton ve Gold, 2000).

3) Delta (D) hücreleri: Somatostatin adı verilen hormonu salgılar.

4) Gama (F) hücreleri: Bu hücreler pankreatik polipeptit salgılar (Yılmaz, 1999).

2.1.6. İnsülin

İnsülin, kimyasal olarak saflaştırılıp kristalleştirilen ilk hormondur. İnsülin, pankreastan salgılanan, protein yapıda, küçük globüler bir hormondur. 21 amino asitli A ve 30 amino asitli B zinciri olmak üzere iki adet polipeptit zinciri, 2 adet disülfid köprüsü ile bağlanmıştır. İnsülinin biyolojik aktivitesi bu disülfid köprüleri tarafından gösterilir. İnsülin bir prohormon olarak sentezlenir. Granüllü endoplazmik retikulumda sentezlenen prohormon, sistaerna bölümünde proinsülin haline gelir. Bu yapıda disülfid köprülerinin oluşumu için gerekli olan yapıya sahiptir. Daha sonra golgi sistemine aktarılır. Golgi aygıtından sitozole geçerek plazma membranına doğru yol alırken aynı zamanda granül yapısında bulunan çinko ile altıgen kristaller oluşturur (Yazar, 2008).



Şekil 2. Proinsülin ve insülinin yapısı (Garber, 2005).

İnsülinin spesifik bir taşıyıcı molekülü yoktur ve yarı ömrü 5-10 dakika kadardır. Karaciğer, böbrek ve plasentada, ayrıca yıkımından sorumlu enzimlerin bulunduğu tüm dokularda yıkılır. İnsülinin disülfid köprüleri glutatyon-insülin transhidrogenaz enziminin

katalitik etkisiyle yıkılır. Serbest kalan A ve B zincirleri ise insülinaz adlı bir proteazın etkisiyle hızla yıkılır (Montgomery ve ark., 1996).

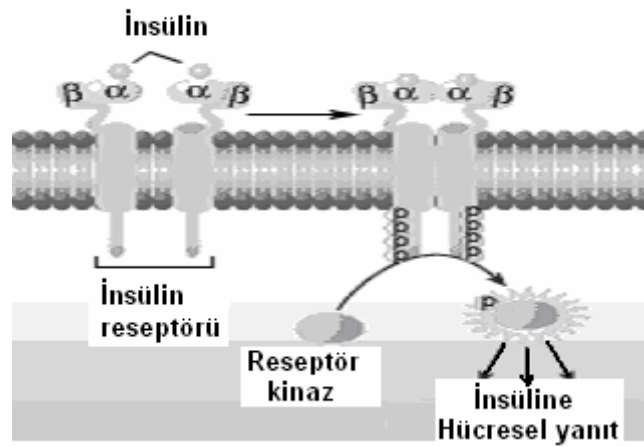
İnsülinin bilinen en önemli özelliği organizmanın tek hipoglisemik etkili hormonu olmasıdır. İnsülin karbonhidrat metabolizması üzerine etkisini, kan glikoz seviyelerini düşürerek gösterir. İnsülin başta glikoz olmak üzere bazı şekerleri fosfor ile bağlayarak, hücre membranından taşınmasını kolaylaştırır. İnsülin, glikozun hücre içine alınmasını kolaylaştırdığı gibi, kullanılmasını da etkilemektedir. Bu etkisini glukokinaz, fosfofruktokinaz ve piruvat kinaz gibi glikoliz enzimlerini aktive ederek gösterir. Bu şekilde glikoz kullanımı artar ve dolayısı ile plazmaya kan akımı yavaşlamış olur. Glikoz, glikoz-6-fosfat halinde iken plazma membranını geçemez. İnsülin bu formun membranı geçişini sağlayarak kan glikoz seviyelerini düşürür. Ayrıca insülin kas ve karaciğerde glikojen yapımını uyararak glikoz seviyelerini düşürür. Glikozun diğer organik maddelerden sentezlenmesini (glukoneogenez) uyarıcı glukagon ve enzimlerin sentezlenmesi, glukokortikoidlerin uyarıcı etkisini engelleyerek, glikoz seviyelerini kontrol altında tutarlar (Mert ve ark., 1999).

İnsülin lipojenik bir hormondur. Lipolitik hormonların (epinefrin, glukagon), cAMP düzeyleri ve lipaz aktivitesini azaltarak lipolizi engeller. Bu sayede serbest yağ asitlerinin miktarı azalır ve dolayısı ile karbonhidrat metabolizmasına katkıda bulunur. Glikozun adipoz dokuda yağ asidi ve trigliseridlere dönüşerek lipid depolarının artmasına yol açar. İnsülin noksanlığında lipoliz artar. Buna bağlı olarak karaciğerde serbest yağ asitlerinin miktarı artar, glukagon artar ve yağ asitlerinden oluşan AsCoA sitrik asit döngüsüne katılır. Diyabetlilerde ise AsCoA keton cisimlerine dönüşür (Mert ve ark., 1999).

İnsülinin protein metabolizması üzerinde de etkisi vardır. Protein sentezini uyarır ve yıkımını baskılar. İnsülin amino asitlerin hücre içine taşınmasını kolaylaştırır. Taşıyıcı membran proteinlerinin sentezini hızlandırır. Bu etkisini DNA ve RNA sentezini arttırmasına borçludur. Ayrıca kas ve karaciğerde K^+ alımını uyarır, buna karşılık Na^+ 'nın hücre dışına çıkarılmasını arttırır. Hedef hücrelerde immunglobulin benzeri, yaklaşık olarak 20000 kadar insülin reseptörü bulunur. Bunlar birbirlerine disülfid köprüleri ile bağlı alfa ve beta polipeptit zincirleridir (Koolman ve Roehm, 2005).

İnsülinin lipid metabolizması üzerine de etkisi vardır. Doğrudan doğruya

yıkılmadığı ve oksitlenmediği sürece, besinlerle alınan glikozun %3'ü glukojene, %30'u lipidlere çevrilir. Bu iki olay insülinin etkisiyle hızlandırılır. Pentoz-fosfat döngüsü aracılığıyla fazla miktarda NADPH₂ üretildiğinden, yağ asitleri veya lipidlerin sentezinin artması söz konusudur. Buna, lipid biyosentezindeki çeşitli enzimlerin (asetil-COA karboksilaz, enoil hidrataz, açil-COA taşıyan enzimler gibi) aktivitelerinin artması da eklenir. Aynı zamanda yağ doku ve karaciğer hücrelerinin serbest yağ asitlerini kandan alarak trigliserid halinde depo etmeleri nedeniyle keton cisimlerinin oluşumu ve asidozis önlenir (Sözbilir Bayşu ve Bayşu, 2008).



Şekil 3. İnsülinin reseptöre bağlanması (Koolman ve Roehm, 2005).

Pankreasta depolanan insülin her gün 40-50 ünite kadar salgılanır. Kan glikoz konsantrasyonu insülin salgılanmasını düzenleyen en önemli etkidir. Kan glikozu artınca insülin salgılanması artar. Tam tersi olarak azalırsa insülin salgılanması için % 80-100 mg arasındaki glikoz insülin salınımı için eşik değerdir (Mert ve ark., 1999).

2.2. Glikoproteinler

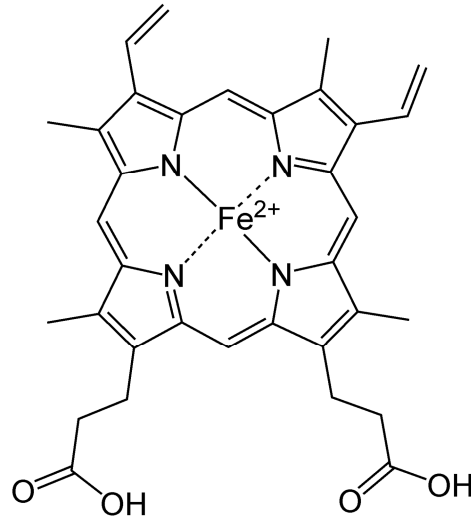
DM tanısı konulduktan ve uygun tedavi başladıktan sonra kan glukoz düzeyinin kontrolü gerekmektedir. Uzun dönem kan glukozunun izlenmesinde ve glisemik kontrolün değerlendirilmesinde glikoprotein konsantrasyonları oldukça yararlı olup, kan glukoz ölçümlerine ek olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bunlar glikolize hemoglobin olan HbA1c ve fruktozamin dir. Serum fruktozamin düzeyi 2-3 haftalık glukoz kontrolünü

yansıtırken, HbA1c, 2-3 aylık bir periyodu içine almaktadır. Bu bakımdan daha çok tercih edilmektedir (Özkan, 2006).

Glikozilasyon, proteinlerin amino grubuna bir glukoz rezidüsünün non-enzimatik olarak eklenmesi ile gerçekleşir. Proteinlerin amino grupları glukozun karbonil grubu ile kararsız aldiminleri (schiff bazı) oluşturur. Oluşan bu ürün Amadori reaksiyonu ile kararlı ketoaminlere (fruktozamin, HbA1c) dönüşür (Harris ve Crabb, 2002; Scaks ve Path, 2006).

2.2.1 Glikolize Hemoglobin (HbA1c)

Hemoglobin (Hb), kanda, eritrositlerin yapısında bulunan ve O₂ ile reversibl bağlanabilen bir proteindir. Hemoglobin' deki demirli protoporfirin, merkezdeki demir atomu üzerinden bir protein molekülüne bağlanmıştır. Proteinsiz hem' in aksine hemoglobin' deki demir heteropolar bağlar aracılığıyla pirol azotlarına bağlanmıştır. Demir, hemoglobin' de altı koordinasyon bağı ile bağlanmış durumdadır. Bunlardan dördü pirol azot atomlarına, ikisi protein komponentindeki iki histidin artığının imidazol grubunun azotuna bağlanmıştır (Sözbilir Bayşu ve Bayşu, 2008).



Şekil 4.- Hemoglobinin kimyasal yapısı (Anonim, 2011a)

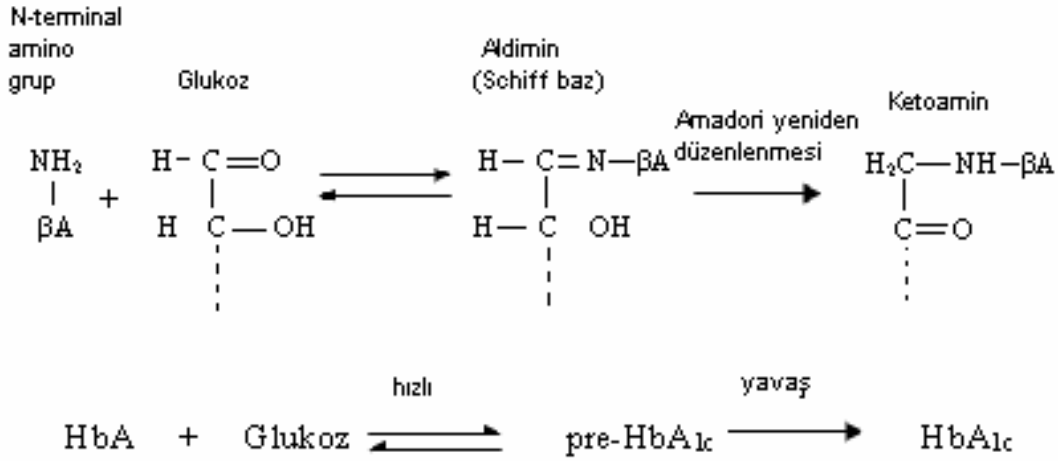
Yetişkinlerde total hemoglobinin %97' sini oluşturan HbA (HbA1) 2 alfa ve 2 beta olmak üzere dört polipeptit zincirinden oluşur. HbA1'in kromatografik analizi sonucu ortaya çıkan ve HbA1a, HbA1b ve HbA1c olarak isimlendirilen minor hemoglobinlere

glikolize hemoglobinler denir. HbA1c; total glikoproteininin %80 ini oluşturmaktadır (Özkan, 2006).

Hemoglobin Tipleri;

- 1) HbA1a1: Beta zincirinin N-terminal ucuna Fruktöz-1,6-Bifosfat'ın ekli olduğu HbA1.
- 2) HbA1a2: Beta zincirinin N-terminal ucuna Glukoz-6-fosfat'ın ekli olduğu HbA1.
- 3) HbA1a: HbA1a1 ve HbA1a2'den oluşur.
- 4) HbA1b: Beta zincirinin N-terminal ucuna pirüvik asidin ekli olduğu HbA.
- 5) HbA1c: Beta zincirinin N-terminal ucundaki valine glukozun ekli olduğu HbA.
- 6) Pre-HbA1c: Aldimin (schiff baz) HbA1c'nin sentezindeki kararsız ara ünite.
- 7) HbA1: HbA1a, HbA1b ve HbA1c den oluşur.
- 8) Total glikohemoglobin: HbA1c ve diğer hemoglobinlerden oluşur.

HbA1c beta zincirinin N-terminal ucundaki valin aminoasidine glukoz eklenmesi ile kararsız bir schiff bazı (Aldimin, pre-HbA1c) oluşur. Meydana gelen bu shiff bazı parçalanabilir veya Amadori reaksiyonuna girerek kararlı ketoamin, HbA1c oluşturur (Özkan, 2006).



Şekil 5. HbA_{1c} Sentezi (Özkan, 2006).

Glikasyon, beta zincirinde olduğu gibi, aynı zamanda lizin kalıntıları veya alfa zinciri gibi başka yerlerde de oluşabilir (Scaks ve Path, 2006; Harris ve Crabb, 2002).

GHb (glikolize hemoglobin) sentezi geri dönüşümsüzdür ve GHb düzeyi eritrositlerin yaşam süresi ve glukoz konsantrasyonuna bağlıdır. Plazma glukoz konsantrasyonunun zamana bağlı olarak GHb oluşumuna katkısı değişmektedir. Son dönemlerdeki glukoz değerleri önceki değerlere göre daha fazla katkıda bulunmaktadır. Şöyle ki; son bir aydaki plazma glukoz düzeylerinin HbA_{1c} oluşumuna katkısı %50 olmasına rağmen, daha önceki günlerdeki plazma glukoz düzeylerinin HbA_{1c} oluşumuna katkısı sadece %25'tir (Özkan, 2006).

GHb oluşum hızı kandaki glukoz konsantrasyonu ile doğrudan ilişkili olduğundan total kanda ölçülen GHb düzeyleri önceki 6-8 hafta süresindeki toplu glukoz düzeylerini temsil eder. Bu durum serum glukoz kontrolünün değerlendirilmesinde çok önemli yararlar sağlamaktadır. Çünkü GHb düzeyleri egzersiz ve beslenmeden ve gün içi veya günden güne olan glukoz konsantrasyonlarındaki oynamalardan etkilenmez. HbA_{1c}, özellikle DM'li vakalarda uzun dönemde kan glukozunun değerlendirilmesi ve komplikasyonların gelişimindeki riskin belirlenmesinde kullanılan indeks bir parametredir. DCCT (Diyabet Kontrol Komplikasyon Çalışması) HbA_{1c} düzeyi ile DM'deki komplikasyon riski arasında doğrudan bir ilişki olduğunu vurgulamaktadır (Scaks ve Path, 2006). HbA_{1c} düzeyindeki

%10 luk azalma komplikasyon riskinde %45 oranında bir azalmaya neden olmaktadır. Bu nedenle DM tedavisinde primer temel hedef normale yakın kan glukoz düzeyi ile birlikte HbA1c düzeyinin en azından %7 mg/dL'nin altında tutulması olmalıdır (Başkal, 2005; Scaks ve Path, 2006).

2.3. 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 Packer, 1996). Karotenoidler tetrapenten 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 süreçlere karşı görev alırlar. Karotenoidlerin, hayvan denemelerinde ve insanlarda in vitro kanser hücrelerinin inhibisyonunda rol aldığı saptanmıştır (Giron ve ark., 1997; Kim ve ark., 1998; Okajima ve ark., 1998; Pastori ve ark., 1998; Amir ve ark., 1999).

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 tetraterpen yapısında uzamalarının bir sonucu olduğu düşünülmektedir (Aydın, 2008).

Molekülün bu özelliği singlet oksijen toplamalarına izin verir. Karotenoidlerin bu radikal toplama özellikleri sayesinde, çoğu epidemiyolojik çalışmalarda, kanser, kalp rahatsızlıkları, dejeneratif göz hastalıkları gibi ciddi rahatsızlıklara karşı koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir (Kozuki ve ark., 2000; Kucuk ve ark., 2002; Stahl ve Sies, 2005).

Son yıllarda deneysel verilerden sağlanan delillere göre insanlar 50 den fazla diyetle bağlı karotenoidi absorbe ve metabolize edebilme yeteneğindedir. α -karoten, β - karoten, β -kriptoksantin, lutein ve likopen insan kanında en bol bulunan karotenoidler arasındadır (Aydın, 2008).

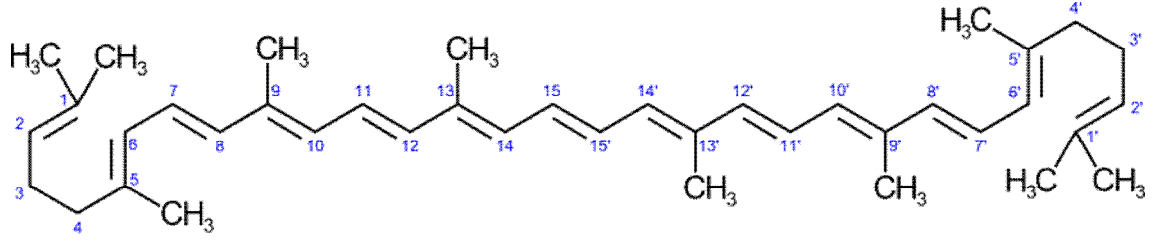
Yüksek oranda likopence zengin sebze ve meyve alımının, insanlarda en yaygın görülen akciğer, mide, kolon, göğüs ve prostat kanserlerinin oluşumunu engellediği birçok araştırmacı tarafından ortaya konulmuştur. Karotenoidler, yapılarındaki çift bağların eşleşmemiş elektronlarla bağlanması sonucu antioksidan aktivite gösterirler (Van Poppel, 1993; Van Poppel ve Gooldbohm, 1995; Giovannucci, 1999; Dorgan ve ark., 2000; Erhardt ve ark., 2003).

Yüksek konsantrasyonlarda, 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. α -karoten zincirinin sonunda açık bir β -halkası bulunur. Kimyasal reaksiyonlarda yüksek ve düşük enerjilerde bu bağlar trans formundan mono veya poli cis izomerizasyonuna maruz kalabilir (Aydın, 2008).

2.3.1. Likopen

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 greylift ve pembe kavun likopen içeren diğer besin kaynaklarıdır ve onlara kırmızı rengini verir (Nguyen ve Schwartz, 1999; Edwards ve ark., 2003).

Likopen, düz bir sıra halinde düzenlenmiş 11 adet çift ve 2 adet tekli bağ içeren hidrokarbon zincirin açık formundan oluşur. α -karoten zincirinin sonunda açık bir β -halkası bulunur. Kimyasal reaksiyonlarda yüksek veya düşük enerjide bu bağlar trans formundan mono veya poli cis izomerizasyonuna maruz kalabilir (Aydın, 2008).



Şekil 6. Likopenin Yapısı (Anonim 2011b).

Enzimatik ve enzimatik olmayan yapılardan oluşan, radikaller ve reaksiyonları önlemeye çalışan maddeler antioksidan olarak tanımlanır (Byung, 1994; Davies, 1988; Heffner ve Repine, 1989). Antioksidan savunma; radikal metabolit üretiminin önlenmesi, üretilmiş radikallerin temizlenmesi, oluşan hücre harabiyetinin onarılması, sekonder radikal üreten zincir reaksiyonlarının durdurulması ve endojen antioksidan kapasitenin artırılması olarak ayrımlanan beş değişik blokta yürür (Gutteridge, 1995; Çiftçi, 2008).

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 ve 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 (Aydın, 2008).

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).

2.4. Paraoksonaz Enzimi

Canlı hücreler tarafından meydana getirilen, ancak etki yapabilmesi için hücrenin varlığını gerektirmeyen, ısıya dayanıksız, protein yapısında organik bir katalizördür. Enzimler, oldukça özel yapı kazanmış ve genellikle büyük protein molekülleridir. Enzim proteininde bulunan amino asitlerin özel dizilişi, enzimin belirli bir konformasyonu ve kuarterner yapıyı kazanmasında en önemli rolü oynar. Enzim proteinlerinin yapısı sadece enzimin biyolojik aktivitesi için değil, aynı zamanda metabolik olayların kontrolünü sağlamak içinde gereklidir (Sözbilir Bayşu ve Bayşu, 2008).

Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Uluslararası Nomenklatur Komitesi (NC-IUBMB)'nin enzim isimlendirmesinde paraoksonaz (PON) iki numaraya (EC 3.1.1.2 ve EC 3.1.8.1.) sahiptir. 1990'lı yıllardan sonra, paraoksonazın arilesterazdan farklı olarak yalnız fenolik esterleri değil, fosforik ve fosfinik asit esterlerini de hidroliz ettiği anlaşılmış ve EC 3.1.8.1 ile tanımlanmıştır. Bu numaralandırmaya göre; EC3 hidrolazları, EC 3.1. ester bağları üzerine etki eden hidrolazları, EC 3.1.1. karboksilik ester hidrolazları, EC 3.1.1.2 arilesterazı, EC 3.1.8. fosforik triester hidrolazları, EC 3.1.8.1 arildialkilfosfatazi göstermektedir. PON'un diğer isimleri; organofosfat hidrolaz; paraoksonaz; A-esteraz; organofosfat esteraz; esteraz B1; esteraz E4; paraokson esteraz; pirimifos- metilokson esteraz; OPA anhidraz; organofosforöz hidrolaz; fosfotriesteraz; paraokson hidrolaz; OF; organofosforöz asit anhidrazdır (Erden, 2004).

PON, ilk olarak 1953 yılında Aldridge (1953) tarafından p-nitrofenil asetat, propiyonat ve bütirat'ı hidroliz eden A-esteraz olarak teşhis edilmiştir. İnsan serumunda ilk kez 1961'de Uriel ve ark. (1961) tarafından elektroforez sonrası HDL immunopresipitatlarında saptanmıştır. 1973 yılında bir grup Alman araştırmacı, ilk olarak insan serum paraoksonazı genetik olarak saptamışlardır (Erden, 2004). Mackness ve ark. (1985) ilk olarak HDL-ayırımı için santrifüj rotorunu geliştirdikten sonra koyunlarda paraoksonaz aktivitesinin çoğunlukla apo AI içeren partiküllerde HDL ile birlikte bulunduğunu ve insan serumunun ultra santrifüjlenmesi ile enzimin kanda HDL yapısında taşındığını ortaya koymuşlardır. Saflaştırılmış sığır serum paraoksonazının lipidlerle ilişkili ve HDL ile aynı moleküler kütleyle sahip olduğunu göstermişlerdir. Saflaştırma sırasında apo A-I'in paraoksonazdan ayırımının zor olması, ikisinin sıkı ilişkili olduğunu

düşündürmüş ve HDL- kolesterol tayini sırasında lipoprotein fraksiyonunda aril-esteraz aktivitesine rastlamışlardır (Mackness ve ark., 1985).

Enzim, paraokson, metil paraokson ve klormetil paraoksona yüksek derecede seçicilik gösterdiği için, paraoksonaz olarak adlandırılmıştır (Mackness ve ark., 1985). İmmunoaffinite kromatografi çalışmaları insan serum paraoksonazının gerçekte apolipoprotein AI ve klusterin (apolipoprotein J) içeren HDL tipleri ile ilişkili olduğunu ve PON'un total HDL'nin çok küçük bir bölümünü oluşturduğunu göstermiştir (Mackness ve ark., 1996). Sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda, farklı kardiyovasküler hastalıklarda enzim aktiviteleri incelenmiş, lipoproteinlerle ve lipid peroksidasyon arasındaki ilişkisi araştırılmış, enzimin aminoasit dizisi belirlenmiştir (Erden, 2004).

Paraoksonaz, Aldridge sınıflama sistemine göre A grubu arildialkilfosfataz sınıfı ester hidrolaz enzimidir. Önceleri organofosfat bileşiklerini hidroliz etme özelliği nedeni ile toksikoloji alanında çalışılmış, son yıllarda ise antioksidan etkileri nedeni ile KAH riskinden korunulabileceği düşünülerek güncellik kazanmıştır (Erden, 2004). İnsan serum paraoksonaz enzimi HDL ile ilişkili, antioksidan fonksiyona sahip olduğu düşünülen bir enzimdir. Deneysel çalışmalar, PON1 enziminin HDL-K' un Apo-A1 ve APO-J (Clustrein) proteinleri ile ilişkili olduğunu göstermiştir (McElveen ve ark., 1986; Kelso ve ark., 1994; Abbot ve ark., 1995; Mackness ve ark., 1997; Hasselwander ve ark., 1998; Mackness ve ark., 1998; Heijmans ve ark., 2000).

2.4.1. PON Tipleri

İnsanda 7. kromozomun uzun kolunda q 21.3 ve q 22.1 arasında tanımlanabilen paraoksonaz gen ailesinin PON1, PON2 ve PON3 şeklinde 3 üyesi bulunur. Gelişimsel açıdan bakıldığında, gen duplikasyonu sonucu oluşarak yapısal benzerlik gösteren genlerdir. PON1, PON2 ve PON3 genlerinin memeliler arasında; nüklelotid seviyesinde benzerlikleri %81-90 iken aminoasit seviyesindeki benzerlikleri %79-90 dır. PON1'de 106. kodonda (lizin) bulunurken, PON2 ve PON3'te lizin bulunmamaktadır. Yıllarca PON1 ile yapılan çalışmalarda, insan serum kapasitesi, ksenobiotikleri hidrolize etmesi ve aterosklerozis arasındaki ilişki araştırılmıştır (Erden, 2004).

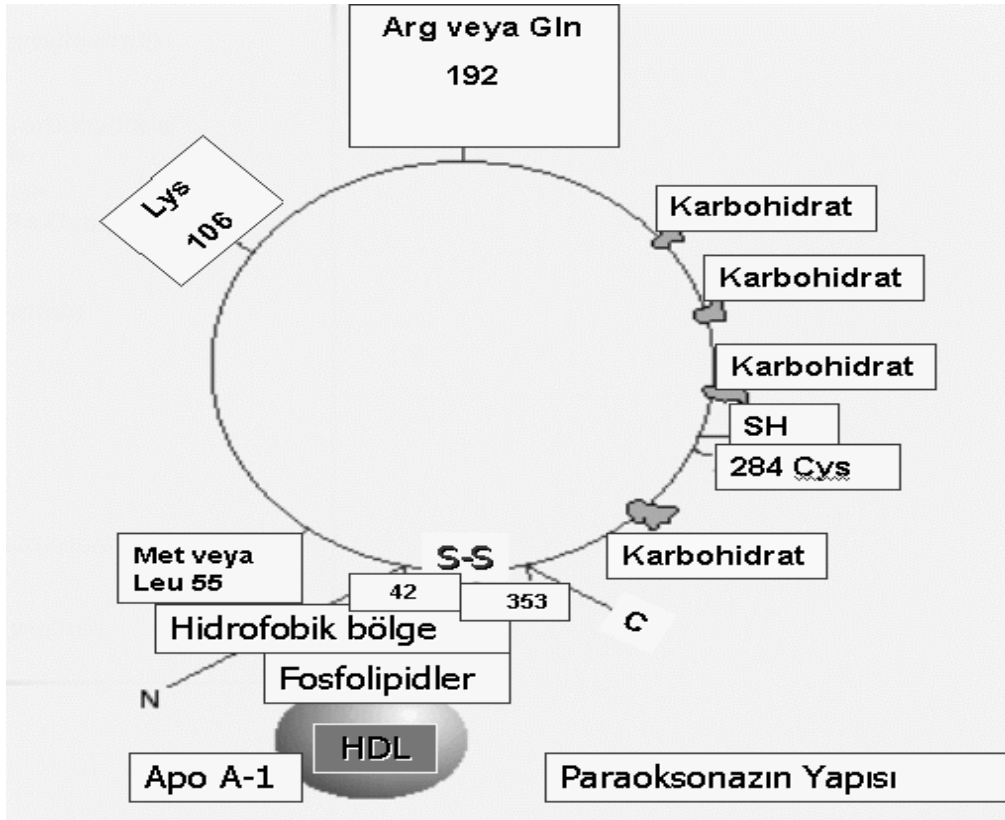
2.4.2. Yapı ve Etki

PON1, molekül ağırlığı 44 kDa olan 354 amino asitli bir proteindir. PON1'in genetik yapısı, insanlar, populasyonlar arasında ve çevre şartları regülasyonunda çok çeşitlilik gösterir. Serumda HDL'ye bağlı olarak bulunur. Memelilerde bulunmasına rağmen omurgasızlar, kuşlar ve balıklarda bulunmaz. Her molekül toplam ağırlığın % 15.8'ini oluşturan üç karbohidrat zinciri içerir (Erden, 2004; Balcı Ekmekçi ve ark., 2004).

Paraoksonaz, paraoksonun P=O bağıını polarize ederek fosforun nükleofilik saldırıya yatkınlığını sağlar, böylece dietil fosfatın aktif alandan ayrılmasını kolaylaştırır. E52 ve D53 aminoasitlerinin kalsiyumu (Ca^{+2}) bağladığı, histidin ve triptofan başta olmak üzere en az yirmi aminoasit ile disülfid bağının arilesteraz ve paraoksonaz aktivitesi için temel olduğu ortaya konmuştur. Enzim aktivitesi sülfhidril bileşikleri ile inhibe olur ve bu inhibisyon sistein ile geri döner. Enzim aktivitesini ölçmede, serum ya da EDTA'sız plazma gereklidir. İnsan serumunda tek gen ürünü enzim hem arilesteraz hem de paraoksonaz aktivitesi içerir. Aktif bölgelerinin benzerliği açık olmasa da kompetitif olmaları aynı aktif merkezin özelliklerinin paylaşıldığını gösterir. İnsan serum paraoksonaz; HDL'nin içerdiği apo A-I ile yakın ilişkileri olan, lipid peroksidasyon ürünlerinin birikmesini azaltan diğer bir deyişle LDL'deki okside olmuş lipidleri hidroliz eden, antioksidan etki gösterdiği çeşitli kaynaklarda belirtilen, enzim aktivitesi kalsiyuma bağımlı karaciğerden sentezlenen esterazdır. Paraoksonaz enzim aktivitesinin Ca^{+2} 'a bağımlı olma özelliğiyle Co^{+2} , Mn^{+2} , Mg^{+2} kullanan diğer A esteraz tipi enzimlerden ayrılır. Kalsiyumun direk olarak katalitik reaksiyonda yer aldığı veya aktif alanın uygun konformasyonunu sağlayarak korunmasında rol oynadığı düşünülmüştür (Erden, 2004).

Düşük paraoksonaz aktivitesi ve diyabetlilerin de içinde bulunduğu KAH olanlarda görülür. Diyetle bulunan yüksek seviyedeki lipid peroksidasyon ürünleri, hayvanlarda aterosklerozis'in gelişimini hızlandırır ve insan şilomikronlarında lipid oksidasyon ürünlerini artırır. Sadece PON1 gen ürünü plazma da yer alırken, PON2 ve PON3 genlerinin ürünü hücre içi yerleşimlidir. PON1, 2 aminoasit polimorfizmine sahiptir. Bunlardan biri 55. pozisyonda metionin ile lösin (M/L) aminoasitlerinin yer değişmesiyle, diğeri 192. pozisyondaki arginin ve glutamin aminoasitlerinin yer değiştirmesinden meydana gelir (Erden, 2004; Baskol ve Köse, 2004).

Polimorfizm arilesteraz aktivitesini etkilemez, arilesteraz aktivitesi PON1 aktivitesindeki değişikliklerden bağımsız, esas protein konsantrasyonunun göstergesi olarak kabul edilebilir. 55. pozisyonda lösin (L genotip) yerine metionin (M genotip) gelmesinin aktivite üzerine etkisinin çok az olduğu belirtilmiştir. Türk populasyonunda oldukça düşük oranda görülen RR alleli; doğu populasyonlarından düşük, Avrupa ırkına yakın değerler göstermiştir. Düşük aktivite görülen Q alleli Avrupa, Kanada ve Amerika’da yüksek, Avustralya, Aborjin, Zambiya ve Zimbabve’de düşüktür. Avrupa populasyonlarında izlenen %50 civarında düşük aktivite izoformu ve bimodalite Avrupa’dan uzaklaştıkça azalır. Afrika ve doğu ülkelerinde dağılım unimodaldır, bu ırklarda düşük aktiviteli genotip sıklığı az görülür (Erden, 2004).



Şekil 7. Paraoksonaz (PON 1) Enziminin Yapısı (Erden, 2004).

2.4.3. PON1'in Biyokimyasal Fonksiyonları

PON1'in aterosklerozisten koruma mekanizması hakkında yeni görüşler ortaya atılmıştır. Saflaştırılmış insan serum PON1'in, proinflamator mediatör olan platelet-aktive edici faktör (PAF)'ü hidroliz etmesi, LDL' nin fosfolipaz A2 ile ilişkili olan PAF asetil hidrolaz'ı kullanarak PAF' ı hidroliz etmesi gibi HDL'nde PAF' ı hidroliz etme aktivitesi, HDL'ye bağımlı olan PON1 ile ilişkilidir (Jarvik ve ark., 2003). HDL'nin oksidasyonu sırasında anlamlı miktarda lisofosfotidilkolin bulunmuş ve PON1'in fosfotidilkolin üzerine fosfolipaz A2 ye benzer aktiviteye sahip olduğu sonucuna varılmıştır (Mackness ve Durrington, 1995).

Deakin ve ark. (2003) Çin hamster ovaryum hücresinden PON1'in salınımını gerçekleştirmişler ve HDL gibi uygun reseptör olmadan PON1'in çok az salgılandığını ve lipidçe zayıf apoAI, apoAII veya LDL'nin, HDL'nin yerini tutamayacağını göstermişlerdir. Brushia ve ark. (2003) yapı ve fonksiyon çalışmaları yapmak için, yüksek miktarda gerekli olan PON1 oluşturabilecek baculovirus ekspresyon sistemini kullanmışlardır. Çalışmalarında belirtildiğine göre; glikolizasyon PON1 antioksidan aktivitesi için gerekli olmazken, arilesteraz aktivitesinin temel olduğu gözlenmiştir. Aynı grup, Çinli hamster ovaryum hücrelerine insan PON1 transferleri (aktarımı) ve apoA-I sistein değişimini araştırmış ve araştırmalar sonucunda optimal PON1 aktivitesi için HDL'nin gerekli olduğu ve apoAI için N-terminal bölgesinin önemli olduğunu bulmuşlardır. Kısmen okside olmuş fosfolipidlerin bulunmasının, PON1'in ekspresyonunu azalttığı, inflamatuvar sitokin (IL- 6)'nin apoJ' yi artırdığı ve IL-6'nın PON1 regülasyonu için uzun dönemde değil, kısa dönem için etkili olduğu bulunmuştur. MCP-1'in okside olmuş fosfolipidlerin regülasyonu için gerekli olmadığı belirtilmiştir (Erden, 2004).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Deneme Grupları

Bu çalışmada Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Laboratuvarı'ndan temin edilen 7-8 haftalık 28 adet 200-250 g ağırlığında erkek rat kullanıldı. Denekler rastgele her biri yedi rattan oluşan; kontrol (K), diyabet oluşturulup likopen verilmeyen (D), diyabet oluşturulup likopen verilen (DL) ve likopen verilen grup (L) olmak üzere dört gruba ayrıldı. Ratlar dört haftalık deneme süresince 12 saat karanlık/aydınlatma uygulanmış, sıcaklığı $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ olarak ayarlanmış odalarda, önlerinde sürekli olarak yem ve taze su bulunan kafeslerde barındırıldı.

Gruplar aşağıda belirtilen şekilde oluşturuldu;

1) Kontrol grubu (K)

Yedi adet 200-250 g ağırlığında erkek rattan oluşan hayvanların deney öncesi kan şekerleri ölçüldü. İntraperitoneal (i.p) yoldan 45 mg/kg tek doz serum fizyolojik enjekte edildi.

2) Diyabet oluşturulup likopen verilmeyen grup (D)

Yedi adet 200-250 g ağırlığında erkek rattan oluşan hayvanların deney öncesi kan şekerleri ölçüldü. Ratlara 45 mg/kg tek doz streptozosin (STZ) (Sigma, USA) pH: 4,5 olan soğuk sitrat tamponu içinde çözündürülüp, intraperitoneal (i.p) yoldan uygulandı (Vardı ve ark., 2005). 72 saat sonra kuyruk veninden alınan kan örneklerinde glukoz düzeyleri, PlusMED Accuro marka biosensor şeker ölçüm cihazı ve stripleri vasıtasıyla saptandı. Diyabetik guruptaki ratların kan şekerleri 270 mg/dl ve üzerinde tespit edildi.

3) Diyabet oluşturulup likopen verilen grup (DL)

Yedi adet 200-250 g ağırlığında erkek rattan oluşan hayvanların deney öncesi kan şekerleri ölçüldü. Ratlara 45 mg/kg tek doz streptozosin (STZ) (Sigma, USA) pH: 4,5 olan soğuk sitrat tamponu içinde çözündürülüp, intraperitoneal (i.p) yoldan uygulandı. 72 saat

sonra kuyruk veninden alınan kan örneklerinde glukoz düzeyleri, PlusMED Accuro marka biosensor şeker ölçüm cihazı ve stripleri vasıtasıyla saptandı. Kan şeker düzeyleri 270 mg/dl ve üzerinde olan ratlara mısır özü yağında çözödürölen likopen çözöltisi çözödürölenek 10 mg/kg/gün olarak 28 gün boyunca ağız yolundan (gavaj yöntemi ile) uygulandı.

4) Likopen verilen grup (L)

Yedi adet 200-250 g ağırlığında erkek rattan oluşın hayvanların deney öncesi kan şekerleri ölçöldü. Likopen mısır özü yağında çözödürölenek 10 mg/kg/gün olarak 28 gün süresince ağız yoluyla uygulandı.

Deneme sürecinden sonra eter anestezisi altında, ratların kalbinden EDTA'lı ve jelli tüplere, kan örnekleri alındı. HbA1c miktarı tayinleri tüm kanda aynı gün, Paraoksonaz Enzim aktivitesi ölçöümü, ticari kit kullanılarak spektrofotometre cihazında yapıldı. Paraoksonaz aktivitesinin ölçöümü için elde edilen serumlar -20° C de bekletildi.

3.1.2. Kullanılan alet ve malzemeler

Boeco S-22 UV/Vis, Spektrofotometre,

HITACHI-911 Otoanalizör,

Universal 320R Soğutmalı Santrifuj,

Bosch S 2000 Hassas Terazi,

Eppendorf micropipette otomatik pipet,

Socorex macropipette otomatik pipet,

Derin dondurucu (İndesit),

Watman süzgeç kâğıdı No:42,

Jelli tüp,

EDTA'lı tüp,

Ependorf tüp,

Sartorius Hassas terazi.

3.1.3. Kimyasal Maddeler

Paraoxonase Kit Reagent 1: Buffer solution (Rel Assay Diagnostic),

Paraoxonase Kit Reagent 2: Substrate solution (Rel Assay Diagnostic),

HbA1c Kit Reagent (Roche Diagnostic),

Likopen (Redivivo-%10 FS (DSM Besin Maddeleri Ltd. Şti.),

Sodyum sitrat (Merck),

Sitrik asit (Merck),

Streptozotosin (Sigma, USA).

3.2. Yöntem

3.2.1.Hemoglobin A1c Tayini

Ratların kalbinden EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinde HbA1c miktarları tayinleri tüm kanda aynı gün yapıldı. %HbA1c düzeyleri Roche (Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim, Germany) firmasının ticari kiti kullanılarak otoanalizör ile tayin edildi. Kullanılan yöntem immunotürbidimetrik olup (Tina-quant), spesifik olarak sonuçlar elde edilmektedir. Bu yöntem ile %HbA1c düzeyi 4.8-6.0 arasında normal kabul edilmekte ve 6.0'dan yukarısı patolojik olarak değerlendirilmektedir (Fairbanks ve Klee, 1994).

3.2.2. Paraoksonaz Enzim Aktivite Tayini

Prensip

Tamamen otomatilize edilmiş pon aktivite ölçüm metodu iki farklı sekans reagent içerir. Birinci reagent tris bufferdir ve kalsiyum iyonu içerir, ki bu PON 1 enziminin

kofaktörüdür. İkinci reagent yeni geliştirilmiş stabil substrat solüsyonudur. Örnekler reagent 1 ile karıştırılır ve substrat solüsyon eklenir.

Paraoksonazdan üretilen p-nitrofenol absorbanasının linear artışı kinetik ölçüm metodunu takip eder.

Paraoksonazın enzimatik olmayan hidrolizi, hidrolizin total oranından substrakte edildi. P- nitrofenolün molar absortivitesi 18,290 M ve paraoksonaz aktivitesinin 1 ünitesi 37 derecede her litresinde her dakika da hidroliz olan paraoksonazın 1 mikromolüne eşittir.

Ayrıçlar

Kit Reagent 1: Buffer solution

Kit Reagent 2: Substrate solution

Deneyin Yapılışı

Paraoksonaz enzim aktivitesi, Rel Assay Diagnostics enzim kitleri ile tespit edildi. Spektrofotometrede (uv) 412 nm dalga boyunda 30 sn' de ilk okuma, 150. sn' de ikinci okuma yapıldı. Analiz materyali olarak, derin dondurucuda muhafaza edilen serumları kullanıldı.

Reagent 1 : 500 µl

Örnek Serum : 25 µl

Reagent 2 : 25 µl

Analiz için önce Reagent 1'den 500 µl mikropipete alındı, sonra üzerine serum örneğinden 25 µl alındı ve son olarak Reagent 2'den 25 µl alınarak bir defa alt üst edildi. Spektrofotometrede (uv) 412 nm dalga boyunda okuma gerçekleşti.

Hesaplama

A1: 30. sn deki okuma

A2: 150. sn deki okuma

$$\{(A2-A1/2)*22\} \setminus 18290*10^6 = \text{SONUÇ}$$

3.3. İstatistiksel Analiz

Çalışma sonucunda elde edilen sonuçlar; kontrol, diyabet, diyabet+likopen ve likopen gruplarının verilerinin karşılaştırıldığı çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirildi. Tüm analizlerden elde edilen ham değerler, grupların ortalaması \pm standart hata şeklinde sunuldu.

4. BULGULAR

Yapılan bu çalışmada kontrol ve deney gruplarındaki PON aktivite düzeyleri çizelge 1’ de, kontrol ve deney gruplarındaki PON düzeyi ortalama değerleri arasındaki farklılık şekil 8’ de, kontrol ve deneme gruplarındaki HbA1c düzeyleri çizelge 2’ de ve kontrol ve deney gruplarındaki HbA1c düzeyi ortalama değerleri arasındaki farklılık da şekil 9’ da gösterilmektedir.

Kan glukoz değerleri istatistiksel olarak değerlendirildi. En yüksek kan glukoz konsantrasyonu, deneysel diyabet oluşturulan grupta 516,71 mg/dl olarak ($p<0.05$) saptandı. Diyabet oluşturulduktan sonra likopen uygulanan grupta ise kan glukoz düzeyleri (422,02 mg/dl), kontrol (157,29 mg/dl) ve sadece likopen uygulanan gruplara (147,57 mg/dl) göre artmış olmakla beraber ($p<0.05$), diyabet grubundan önemli oranda düşük ($p<0.05$) bulundu. Kontrol ve likopen gruplarının kan glukoz düzeyleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

Çizelge 1. Kontrol ve deney gruplarındaki PON aktivite düzeyleri ($X\pm SD$)

Gruplar	n	PON (U/L)
Kontrol	7	17,01 \pm 2,69b
Diyabet	7	4,20 \pm 0,85a
Diyabet+Likopen	7	19,76 \pm 2,43b
Likopen	7	17,69 \pm 1,20b

Farklı harfler istatistiksel olarak farklılığı ifade etmektedir (a,b: $p<0.05$)

Diyabet grubunun paraoksonaz aktivitesinin diğer üç grup ile arasında istatistikî olarak önemli ($p<0.05$) oranda fark olduğu ve aktivite değerlerinin diğer gruplara göre düşük olduğu saptandı. Diyabet+likopen grubunun PON aktivitesinin hem kontrol hem de likopen grupları ile arasında istatistikî olarak önemli fark olmadığı gözlemlendi.

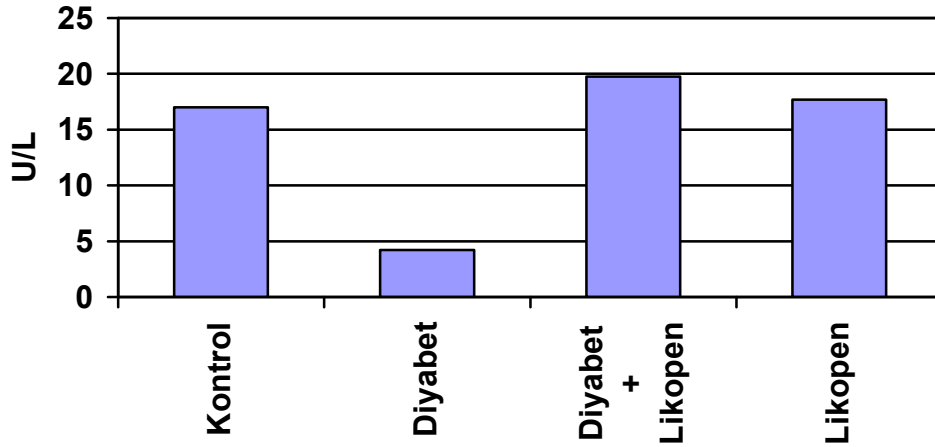
Çizelge 2. Kontrol ve deneme gruplarındaki HbA1c düzeyleri (X±SD)

Gruplar	n	HbA1c (%)
Kontrol	7	1,52±0,04b
Diyabet	7	6,04±0,24a
Diyabet+Likopen	7	2,11±0,23b
Likopen	7	4,34±0,13c

Farklı harfler istatistiksel olarak farklılığı ifade etmektedir (a,b,c: p<0.05)

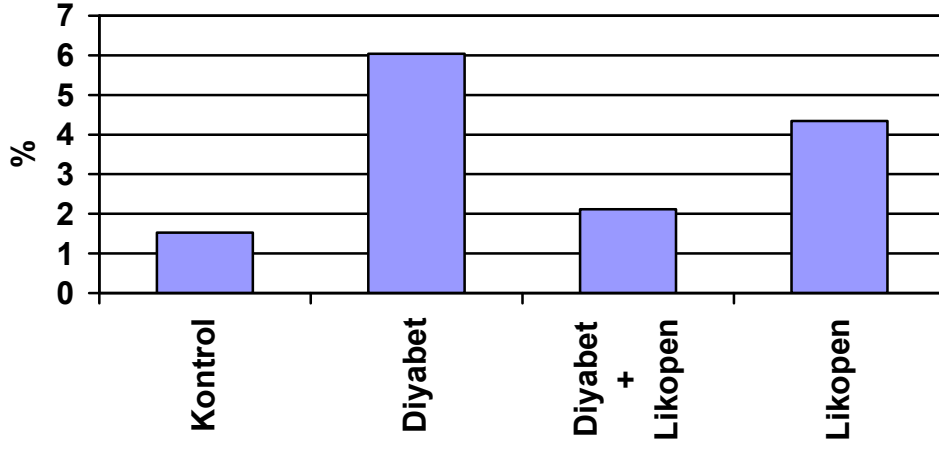
Hba1c düzeylerinin diyabetli grupta en yüksek (p<0.05) olduğu, diyabet+likopen uygulanan grupta değer kontrolle yakın olduğu ve istatistiki olarak önemli fark olmadığı gözlemlendi. Likopen uygulanan grupta ise bu değer kontrolle ve diyabet+likopen uygulanan gruba göre önemli oranda yükseldiği görüldü (p<0.05).

PON Düzeyleri



Şekil 8. Kontrol ve deney gruplarındaki PON düzeyi ortalama değerleri arasındaki farklılık.

HbA1c Düzeyleri



Şekil 9. Kontrol ve deney gruplarındaki HbA1c düzeyi ortalama değerleri arasındaki farklılık.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Diabetes mellitus kanda glukoz seviyesinin artması ve glukozüri ile karakterize kronik bir hastalıktır. Günümüzde en sık görülen ve komplikasyonları oldukça yüksek olan hastalıklardan birisidir. Sebebi endojen insülinin mutlak veya göreceli eksikliği veya periferik etkisizliğidir. Bunun sonucu olarak hiperglisemi, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozuklukları, kapiller membran değişiklikleri ve hızlanmış arteriosklerozis oluşur. Bu hastalarda en özgün klinik semptomlar polidipsi, polifaji ve poliüridir. Bazı hastalarda izah edilemeyen kilo kaybı, bazılarında da kronik komplikasyonlara bağlı göz, merkezi sinir sistemi, kardiyovasküler sistem veya ürogenital sistemle ilgili yakınmalar ön planda olabilir (Öztürk , 2008).

Diyabet (Diabetes mellitus, DM), insülin sekresyonu, insülin aktivitesi veya her ikisinden kaynaklanan bozukluklar sonucunda, kronik hiperglisemi, karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasındaki düzensizliklerle karakterize bir hastalıktır (Bennett ve Knowler, 2005). DM yaşam boyu süren, sürekli izlem ve tedavi gerektiren, akut ve kronik komplikasyonları nedeniyle hastanın yaşam kalitesini oldukça azaltan morbiditesi, mortalitesi ve topluma ekonomik yükü yüksek bir hastalıktır (Önderci, 2007).

Reaktif oksijen türlerinin oksidatif hasarı tetikleyerek, insanların çeşitli kronik hastalıklarının patogenezinde rol oynadığı tespit edilmiştir (Pincemail, 1995). Son yıllarda yoğun olarak yapılan deneysel ve epidemiyolojik çalışmalar, karotenoidler bakımından zengin olan sebze ve meyvelerin düzenli tüketiminin, insanlarda yaygın olarak görülen, kolon, mide ve prostat kanserine karşı korunmada önemli rolünün olabileceği hipotezinin güçlendirir niteliktedir. Likopen en güçlü antioksidanlardan biridir ve lipidler, düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL), proteinler ve DNA gibi kritik biyomolekülleri koruyarak karsinogenez ve aterogenezi önlediği ileri sürülmüştür. Çeşitli çalışmalar likopenin etkili bir antioksidan ve serbest radikal tutucu olduğunu göstermiştir (Miller ve ark., 1996). Konjuge çift bağların sayısı yönünden zengin olduğu için likopen karoten veya β tokoferol' e oranla daha yüksek singlet oksijen bağlama kapasitesine sahiptir. İnvitro sistemde de likopen hidrojen peroksit ve nitrojen dioksiti inaktive etmektedir (DiMascio ve ark., 1989; Bohm ve ark., 1995; Lu ve ark., 1995).

Bugüne kadar yapılan çalışmalar, oksidatif stresin tip 2 diyabet ve komplikasyonlarının patogenezinde önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Karotenoidler grubundan çok güçlü antioksidan olan likopen, oksidatif strese bağlı kronik hastalıkların önlenmesinde potansiyel rolünden dolayı, son yıllarda oldukça ilgi çekmektedir (Narisawa ve ark., 1998; Giovannucci, 1999; Dorgan ve ark., 2000; Erhardt ve ark., 2003; Li ve ark., 2010). Likopen, hücreleri serbest radikal hasarından korumasının yanı sıra, hücreler arasındaki bağları güçlendirmekte ve hücre metabolizmasını geliştirmektedir. (Boileau ve ark., 2001; Mashima ve ark., 2001).

Tip 2 diyabetik hastalar enfeksiyon ve koroner arter hastalığı gibi damar hastalığının gelişmesi riski altındadırlar. Tip 2 diyabetik hastalarda likopenin fizyolojik dozu ile yapılan tedavi sonucunda total antioksidan kapasitede önemli artış görüldüğü bildirilmektedir (Neyestani ve ark., 2007). Neyestani ve arkadaşları (2007), artan likopen düzeylerinin IgM düzeylerini artırdığı ve serum IgG seviyelerinde de düşüşe neden olduğunu saptamışlardır. Yine diyabetli hastalarda nöropatik ağrılar nedeniyle nöropatik bozukluklar artmaktadır. Bunun nedeni de sinirlere kan sağlayan küçük damarların yaralanmasıdır. Kuhad ve arkadaşları (2007) tarafından yapılan bir çalışmada STZ ile diyabet oluşturulmuş ratlarda, bir guruba uyuşturucu ile likopen birlikte verilmiş ve diğer guruba da yalnız uyuşturucu uygulaması yapılması sonucunda; diyabetli grupta ağrı hassasiyetinde ve kan şekeri düzeyinde artış, likopen uygulanan ve diyabet oluşturulmuş grupta ise ağrı hassasiyetinde azalma bildirilmiş. Ağrı hassasiyetini azalması tümör nekroz faktör alfanın ve nitrik oksit salınmasının inhibe edilmesinden kaynaklanabileceği şeklinde açıklanmıştır. Streptozotosin (STZ) ile deneysel diyabet oluşturulan ratlarda, hiperaljezi ve soğuk allodini üzerinde likopenin etkisini araştırmak amacıyla, 4 hafta süreyle likopen uygulayan araştırmacılar (Kuhad ve Chopra, 2008); çalışmanın sonucunda, soğuk allodini ve termal hiperaljezinin hafiflediğini gözlemlemişlerdir. Sonuç olarak, diyabetik nöropati tedavisinde adjuvan tedavi olarak likopen gibi antioksidanlarının önemli olduğunu vurgulamaktadırlar.

Li ve arkadaşları (2010), diyabetik hastalarda serum likopen düzeylerini araştırdıkları çalışmada, diyabetik grupta likopen düzeylerinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu, korelasyon analizinde HbA1c ve serum likopen düzeyleri arasında negatif bir korelasyon bulunduğunu bildirdiler. Diyabetik hastalarda, özellikle ilerlemiş diyabetik

retinopatili olanlarda, serum likopen düzeylerinin anlamlı olarak düşük bulunduğu görülmüştür. Bu verilere dayanarak, likopenin diyabetik retinopatinin tanı, şiddeti ve tedavi değerlendirilmesi için yararlı olabileceği iddiası ortaya konulmuştur. Wang ve ark. (2006) ise, orta yaşlı kadınlarda plazma likopen düzeyleri ve tip 2 diyabet riski arasında az da olsa bir ilişki olabileceğini ve bu durumun ve nedenlerinin daha ileri çalışmalarda kanıtlanması gerektiğini ileri sürmüşlerdir. Tip 2 diyabet hastalarında domates suyunun kullanılmasıyla plazma likopen seviyesinde gözlenen belirgin artışa bağlı olarak, LDL-kolesterolün oksitlenerek damarlar için zararlı metabolik ürünlerin belirgin bir biçimde azaldığı görülmüştür. Aralarında likopenin de bulunduğu serum karotenoidleri, tip 2 diyabet ile yakından ilgilidir. Glukoz metabolizması ve serum karotenoid düzeylerinin, glukoz tolerans anormalliklerine bağlı olarak lineer bir azalma gösterdiği bildirilmektedir (Coyne ve ark., 2005).

Shidfar ve arkadaşları (2010), tip 2 diyabetli hastalarda domates tüketiminin, serum glikoz apolipoprotein (apo) B, apoA-I ve kan basıncı üzerinde etkilerini değerlendirdikleri çalışmada, elde edilen değerleri başlangıç değerleri ile karşılaştırarak, sistolik ve diyastolik kan basıncında anlamlı düşme ve apoA-I miktarında önemli bir artış olduğunu saptamışlardır. Buna göre, diyabetik hastalarda, kardiyovasküler komplikasyon riskinin azaltılmasında likopenden zengin domates tüketiminin faydalı olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Domates ektraktının, kontrolsüz kan basıncı düzeyleri ve hipertansiyonun, sahip; ACE inhibitörü, kalsiyum kanal blokerleri veya düşük doz diüretikler ile kombine tedavisi yapılan bireylerin diyetlerine katıldı. Kan basıncı klinik olarak anlamlı bir azalma gösterirken, sistolik kan basıncı değerleri ve likopen düzeyi arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır (Paran ve ark., 2009).

Deneysel olarak STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlarda, farklı dozlarda likopen uygulanmasının, hipoglisemik, hipolipidemik ve antioksidan aktivite üzerine etkileri incelenmiştir. Normal grupla karşılaştırıldığı zaman, STZ grubunda total antioksidan aktivite azalırken, plazma hidrojen peroksit ve tiyobarbitürik asit reaktif maddelerin (TBARS) arttığı görülmüştür. Hiperglisemik ratlara, likopenin kademeli olarak eksojen uygulanması ile glukoz düzeyinin doza bağımlı olarak azaldığı ve toplam antioksidan kapasitenin ise arttığı ortaya konuldu. Bu verilere dayanarak, likopen serbest radikal

düzeylerini düşüren ve normal seviyeye ulaştıran, serum prooksidan/antioksidan dengesi üzerinde düzeltici etkiye sahip, bir antidiyabetik ajan olarak değerlendirildi (Ali ve Agha, 2009).

Abbot ve arkadaşları (1995) tip 1 diyabetli 78 hasta, tip 2 diyabetli 92 hasta ve 82 diyabetik olmayan kontrol gurubunda serum paraoksonaz aktivitelerini araştırdıkları çalışmalarında, paraoksonaz aktivitesini kontrol guruplarına göre daha düşük seviyede tespit etmişlerdir. Paraoksonaz aktivitesinin periferal nöropatili hastalarda en düşük olduğu, bunun da paraoksonazın nöropati ile ilişkisinden kaynaklanmış olabileceğini söylemektedirler. Yapılan araştırmalar diyabette lipid peroksitleri detoks kapasitesindeki azalmaya bağlı olarak periferal nöropati gelişmesine, düşen paraoksonaz aktivitesine ve artmış arteroskleroz duyarlılığına neden olduğu fikrini desteklemektedir.

Çalışmada; serum PON1 enzim aktivitesinin diyabetli gurupda kontrol gurubu, likopen gurubu ve likopen+diyabet gurubuna göre anlamlı biçimde düşük olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Mackness ve arkadaşları (2002), Abbot ve arkadaşları (1995) ve Öztürk (2008)' ün çalışmalarında da bu çalışmayı destekler şekilde diabetik hastalardaki PON1 değeri kontrole göre anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. Azalmış PON1 aktivitesinin, azalmış spesifik aktivite veya artan oksidan maddelerden dolayı glikasyon veya dolaşımdaki bir inhibitör nedeniyle serum konsantrasyonunun azalması sonucu meydana gelebileceği önceki çalışmalarda da belirtilmiştir (Valabhji ve ark., 2001; Gürsu ve Özdin, 2002; Öztürk, 2008).

Daha önce de belirtildiği gibi PON1 enzimi, özellikle aterogenezde major rol oynadığı kabul edilen lipid peroksitlerin oksidasyonunu önlediğinden antioksidan savunma sistemi içinde yer almaktadır. Aynı zamanda likopen kuvvetli bir antioksidan yangı giderici ve antikanserojen özelliklere sahip bir vitamindir. Hücreleri serbest radikal hasarından korumasının yanı sıra, hücreler arasındaki bağları güçlendirmekte ve hücre metabolizmasını geliştirmektedir. Likopen aynı zamanda kolesterol düşürücü özelliğe de sahiptir. Yapılan çalışmada da likopen uygulanan ve likopen+diyabet gurubunda PON1 aktivitesi değerleri diyabet gurubuna göre daha yüksek tespit edildi ve bu guruplardaki değerler kontrol gurubuna yakın bulundu.

HDL üzerindeki proteinler enzimatik (genellikle hidrolitik) aktivite gösterirler. Durrington ve arkadaşları (2002), LDL üzerinde birikme gerçekleşmeden PON1' in lipit peroksidleri parçalamakla sorumlu olduğu hipotezini gerçekleştirmek için yaptıkları kontrollü çalışmada, saflaştırılmış PON1' in LDL' nin lipit peroksidasyonunu engellemede yüksek oranda etkili olduğunu gözlemlemiştir. HDL bağımlı PON, LDL yi oksidasyona karşı korur. HDL'ye bağlı olduğu için invivo serum PON'un başlıca görevi HDL'yi oksidatif stresin zararlı etkilerinden korumaktır (Durrington ve ark., 2002).

Aterosklerotik apoprotein-E eksikliği oluşturulan fareler üzerinde yapılan çalışmada, serum PON aktivitesi ve serum lipitlerinin oksidatif düzeyi arasında negatif korelasyon saptanmıştır. Apo-E eksik olan farelerde hızlı arteroskleroz oluşumu ve oksidatif stres artışı belirgin olarak gözlenmiştir. Benzer şekilde aterojenik diyet uygulanan fareler üzerinde yapılan çalışmada farelerin serum PON düzeyleri baskılanmış, oksidasyona karşı savunma yeteneğini kaybetmiş ve kısmen okside olmuş LDL'nin bu farelere enjeksiyonunun serum PON aktivitesini belirgin şekilde düşürdüğü görülmüştür (Akçay, 2006).

Yavuz ve arkadaşları (2003a), hipertiroidili kişilerde kontrol gurubuna göre paraoksonaz enzim aktivitesinin düştüğünü gözlemlemiştir.

Tip I diyabetli hastalarda yapılan bir diğer çalışmada da endotel fonksiyon ve PON aktivitesi arasında pozitif korelasyon olduğu belirlenmiştir (Yavuz ve ark., 2003b).

Juretic (2001), Slavonski Broad çevresinde yaptığı çalışmasında, paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesinin hemodiyaliz hastalarında kontrol gurubu ile karşılaştırıldığında istatistiki olarak anlamlı düzeyde azaldığını saptamıştır.

Yine kireçlenme görülen romatizma hastalarında kontrol gurubu ile karşılaştırıldığında serum paraoksonaz aktivitesinde önemli bir azalma olduğu belirlenmiştir (Sinan, 2005).

PON1 enzimi üzerine yapılan çalışmalarda enzimin LDL ve HDL partiküllerinin oksidasyonunu önleyerek ve diğer mekanizmalarla ateroskleroz oluşumunu engellediği gösterilmiştir. Yapılan çalışmalar ateroskleroz ve diyabet gibi serbest radikallerin

patogenezinde rol oynadığı hastalıklarda PON enziminin önemini ortaya çıkarmıştır (Balci Ekmekçi ve ark., 2004).

Sıçanlarda düzenli egzersizin oksidatif stres ve PON aktivitesi üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada orta şiddette egzersizde PON aktivitesinde böbreklerde önemli azalışın gözleendiği diğer dokularda kontrole oranla egzersiz gurubu arasında istatistiki olarak önemli bir farklılık olmadığı bildirilmektedir (Durrington ve ark., 2002).

Oksidatif stress pek çok hastalığın patogenezinde önemli rol oynamaktadır. Antioksidan tedavi de oksidatif stresi azaltmaktadır. Bu yüzden antioksidan tedavi pek çok hastalık için potansiyel tedavi yöntemidir. Çalışmada diyabet oluşturulup likopen verilen grupta HbA1c miktarlarının ve PON1 aktivite değerlerinin kontrol gurubu ile yakın olması ve diyabet gurubu ile farklılık göstermesi ($p<0.05$) bunun göstergesidir. Likopenin diyabet üzerine antioksidan olarak olumlu etkisi olduğu söylenebilir. Oksidatif stresin diabet patogenezini ve komplikasyonlarının oluşumunda oynadığı rol göz önüne alınırsa tedavi için alternatif yöntemler ve destekleyici yaklaşımlar geliştirilmelidir.

Çalışmadaki amaç; Diyabetes mellitus' da paraoksonaz aktivitesinin likopen uygulaması ile ilişkisini gözlemektir, ve Diyabetes mellitus'un paraoksonaz ile likopen uygulaması arasında anlamlı bir ilişki bulundu. Bu bilgilerin ışığında, paraoksonaz aktivitesinin belirlenmesinin diyabetin erken komplikasyonlarını gösterebileceği ve diyabet hastalığında likopen uygulanmasının, komplikasyonları hafifletebileceği düşünülebilir. Bunun için, paraoksonaz ve likopenin birlikte değerlendirildiği, uzun süreli ve materyal sayısı fazla çalışmalara ihtiyaç vardır.

ÖZET

Kaymaz H., Deneysel Diyabet Oluşturulan Ratlarda Likopen Uygulamasının Paraoksonaz Aktivitesi Üzerine Etkisi, Y. Y. Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Van, 2011. Paraoksonaz (PON1) apolipoprotein AI içeren HDL alt grupları ile ilişkili kalsiyum bağımlı bir esterazdır. Bu çalışmada Diabetes Mellitus'ta PON aktivitesi ve likopenin PON aktivitesi ile diyabet üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla 7-8 haftalık 28 adet 200-250 g ağırlığında erkek rat kullanıldı. Denekler rastgele her biri yedi rattan oluşan; kontrol grubu , diyabet oluşturulup likopen verilmeyen grup , diyabet oluşturulup likopen verilen grup ve sadece likopen verilen grup olmak üzere dört gruba ayrıldı. Deneysel diyabet oluşturmak için 45 mg/kg düzeyinde streptozotosin intraperitoneal uygulandı. Likopen ayçiçeği yağında çözdürülerek 10 mg/kg/gün olarak uygulandı. 28 günlük deneme sürecinden sonra eter anestezi altında hayvanların kalplerinden vakumlu tüplere kan alındı ve bu kan örneklerinde Paraoksonaz Enzim aktivitesi ve %HbA1c düzeyleri tayin edildi. HbA1c nin diyabetli grupta en yüksek nokta ($p<0.05$) olduğu, diyabet+likopen uygulanan grupta değer kontrolle yakın olduğu bulundu. Likopen uygulanan grupta ise bu değer kontrolle göre yükseldiği görüldü. Diyabet grubunun paraoksonaz aktivitesinin diğer üç grup ile arasında istatistikî olarak önemli ($p<0.05$) oranda fark olduğu ve aktivite değerlerinin diğer gruplara göre düşük olduğu saptandı. Diyabet+likopen grubunun PON aktivitesinin hem kontrol hem de likopen grupları ile arasında önemli fark olmadığı gözlemlendi. Düşük PON1 aktivitesi DM'de oksidatif hasar artışını göstermektedir. Sonuç olarak Diabetes Mellitus ile PON aktivitesi ve likopen uygulanması sonucu elde edilen değerler arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur.

Anahtar Sözcükler: Diabetes Mellitus, Hemogloblin A1c, Paraoksonaz, Likopen.

SUMMARY

Kaymaz H., The Effect of Lycopene Application on the Paraoxonase Activiy at the Rats carrying out for the Experimental Diabetes , Y Y U. Institute of Health Sciences , Department of Biochemisrty Main Science Branch , Master Thesis ,Van, 2011. Paraoxonase (PON1) is a calcium-dependent esterase containing apolipoprotein AI associated with HDL sub-groups. In this study, the purpose is to determine PON activities on Diabetes Mellitus and Lycopene with Diabete itself. For this purpose, 7-8 weeks of 28 male rats weighing 200-250 g have been used. The subjects have been randomly divided into four groups as each of them consisting of seven rats; control group, diabetic group without lycopene, diabetic group with lycopene and the group which is given only lycopene. The 45 mg / kg of streptozotocin intraperitoneal has been applied to make experimental diabetes. Lycopene has also been applied by melting in the oil of sunflower for 10 mg/ kg/day. After the 28-day trial process, blood has drawn from the hearts of the animals to the vacuum tubes under the ether anesthesia. Paraoxonase Enzyme activity and %HbA1c levels have been placed in these blood samples. It is determined that HbA1c is the highest point in the diabetic group ($p < 0,005$) and the value in the group with diabete + lycopene is so close to the control point. It is seemed that value including to the other group which is applied just lycopene has increased to the control point. It is confirmed that there is a statistically huge difference ($p < 0,05$) between the Paraoxonase activity of diabetic group and the other three groups beside with the values of the activities are low according to the other groups. It is noticed that there is not an important difference between both control group and lycopene group in the PON activity of the diabete + lycopene. The low PON1 activity indicates an increase of the oxidative damage on DM. Consequently, It is found that there is an significant connection between the values resulted from the Diabetes Mellitus, the activity PON and lycopene application.

Key Words: Diabetes mellitus, Hemoglobin A1c, Paraoxonase, Lycopene.

KAYNAKLAR

Abbot CA, Mackness MI, Kumar S, Boulton AJ, Durrington PN (1995). Serum paraoxonase activity, concentrations and phenotype distribution in diabetes mellitus its relationship to serum lipids and lipoproteins. *Arterioscler Thromb. Vasc. Bio.*, 15, 1812-18.

Akçay F (2006). İnsan serum paraoksonaz enzimi (PON1) 192 GLN-ARG gen polimorfizminin belirlenmesi. Balıkesir Ün. Fen Bil. Enst. Biyoloji ABD, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir.

Aldridge WN (1953). Serum esterases. II. an enzyme hydrolysing diethyl p-nitrophenylphosphate (EGOO) and its identity with A-esterase of mammalian sera. *Biochem. J.*, 53, 110–117.

Ali MM, Agha FG (2009). Amelioration of streptozotocin-induced diabetes mellitus, oxidative stress and dyslipidemia in rats by tomato extract lycopene. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 69(3), 371-379.

Altuntaş Y (2001). Diabetes Mellitus'un Tanımı, Tanısı ve Sınıflaması. In: Yenigün M, Altuntaş Y. Her Yönüyle Diabetes Mellitus. 2. Baskı Nobel Tıp Kitabevi İstanbul, 51-61.

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 cell cycle progression and induction of differentiation in HL-60 leukemic cells. *Nutr. Cancer*, 33, 105-112.

Anonim (2009a). www.noktamedikal.net/diabet-hakkında/hemoglobin-a1c-nedir-neden-bakıyoruz.php. Erişim tarihi 03.09.2009.

Anonim (2009b). http://www.tavsiyeyorum.com/makale_2701.htm. Erişim tarihi 03.09.2009.

Anonim (2011a). http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Heme_b.png. Erişim Tarihi 01.25.2011.

Anonim (2011b). http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Likopen_007.svg. Erişim Tarihi 02.09.2011.

Aydın M (2008). Ratlarda diyabetik nöropatide rol oynayan oksidatif hasarın önlenmesinde likopenin etkinliği. Mustafa Kemal Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Hatay.

Balcı Ekmekçi Ö, Donma O, Ekmekçi H (2004). Paraoksonaz. *Cerrahpaşa J. Med.*, 35, 78-82.

Baskol G, Köse K (2004). Paraoksonaz: biyokimyasal özellikleri, fonksiyonları ve klinik önemi. *Erciyes Med. J.*, 26 (2), 75-80.

Başkal N (2003). Diabetes Mellitus Tanım, Klasifikasyon, Tanı, Klinik, Laboratuar ve Patogenez., in 'Klinik Endokrinoloji'. Editör, G Erdoğan, 3.Baskı, Baran Ofset, Ankara.

Başkal N (2005). Diabetes Mellitus'un Sınıflandırılması. İçinde: Koloğlu. Endokrinoloji Temel ve Klinik; Prof Dr. Gürbüz Erdoğan (Editör)., MN Medikal and Nobel. Ankara. 342-348.

Bennett PH, Knowler WC (2005). Definition, diagnosis, and classification of diabetes mellitus and glucose homeostasis. Khan CR, Weir GC, King GL, Jacobson AM, Moses AC, Smith RJ (editors). Joslin's Diabetes Mellitus. 14th ed. Boston. Lippincott William and Wilkins, 333-339.

Blom A, Ireland J (1982). Diabet Atlası.

Bohm F, Tinkler JH, Truscott TG (1995). Carotenoids protect against cell membrane damage by the nitrogen dioxide radical. Nature Med., 1, 98-99.

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.

Brushia E, Montali A, Vega GL (2003). Grundy SM Production of recombinant proteins using multiple-copy gene integration in highcell-density fermentations of Ralstonia eutropha. Biotechnol. Bioeng., Oct., 5, 84(1), 114-20.

Byung PY (1994). Cellular defenses against damage from reactive species. Physiol. Rev., 74(1), 139-172.

Cadenas E, Packer L (1996). Handbook of antioxidants. Marcel dekker. inc. New York. Concentrations in Male F344 rats. J. Nutr., 131(6), 1746-1752. Çevirenleri: V. Cesur, N. Kemal, 1. Baskı Hekimler Birliği Vakfı, Türkiye Klinikleri Yayınevi, Ankara, Cild 2.

Coyne T, Ibiebele TI, Baade PD, Dobson A, McClintock C, Dunn S, Leonard D, Shaw J (2005). Diabetes mellitus and serum carotenoids: findings of a population-based study in Queensland. Aust. Am. J. Clin. Nutr., 82(3), 685-693.

Çiftçi S (2008). Diyabet oluşturulmuş sıçanlarda HbA1c, MDA, GSH-Px ve SOD miktarlarının tayini. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Van.

Davies KJA (1988). Proteolytic Systems As Secondary Antioxidant Defenses, Cellular Antioxidant Defense Mechanisms. Edited By CK Chow, Boca Raton, FL, Crc, 25-67.

Deakin I, Edwards JE, Frye RL, Gensini GG, Gott VL (2003). Expression of human paraoxonase (PON1) during development. Pharmacogenetics, 13(6), 357-64.

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.

Durrington P N, Mackness B , Mackness M I (2002). The hunt for nutritional and pharmacological modulators of paraoxonase. *Arterioscler Thromb Vasc. Biol.*, 22, 1248-1250.

Eastman RC, Cowie CC, Harris MI (1997). Undiagnosed diabetes or impaired glucose tolerance and cardiovascular risk. *Diabetes Care*, 20, 127-128.

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

Erden İ (2004). St Elevasyonlu Miyokard İnfarktüsülü (Stemi) Hastalarda İnsan Paraoxonase Geni Met-Leu/55 Polimorfizmi. T.C. Sağlık Bakanlığı Dr. Siyami Ersek Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Merkezi Uzmanlık Tezi, İstanbul.

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

Fairbanks VF, Klee GG. (1994). Biochemical Aspects of Hematology. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry Second edition. Edited by CA Burtis&ER Ashwood, W. B. Saunders Company Philadelphia, 1974-2072

Garber AJ (2005). Pharmacologic modifications of hormones to improve their therapeutic potential for diabetes management. *Diabetes Obes. Metab.*, 7, 666-674.

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

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.

Gutteridge JM (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage, *Clin. Chem.*, 41(12), 1819-1828.

Gürsu M F, Özdin M (2002). Lipoprotein (A) düzeyleri ile PON1 aktivitelerinin komplikasyonlu ve komplikasyonsuz Tip 2 diabetik hastalarda araştırılması. *Fırat Tıp Derg.*, 7, 2, 720-726.

Hacıoğlu B (2006). Tip 2 diabetes mellituslu hastalarda andropometrik ölçümler ile hepatosteatoz ilişkisinin değerlendirilmesi, Fatih Sultan Mehmet Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İç Hastalıkları Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul.

Hadley CW, Clinton SK, Schwartz SJ (2003). The consumption of processed
Harris RA, Crabb D. W (2002). Metabolic Interrelationships. In Devlin TM. Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations, New York, Wiley-Liss, 862- 902.

- Hasselwander O, McMaster D, Fogarty AD, Maxwell AP, Nicholls DP, Young JS (1998). Serum paraoxonase and platelet-activating factor acetylhydrolase in chronic renal failure. *Clin. Chem.*, 44, 179-82.
- Hatemi H (1996) Diabetes mellitus tarihçesi . *Aktüel Tıp Derg.*, 7, 497-499.
- Hatemi H (1998). Diabetes mellitus tarihçesi. *Diabetes mellitus*, 357-359.
- Heffner JE and Repine JE (1989). Pulmonary strategies of antioxidant defense, *Am. Rev. Respir. Dis.*, 140, 531-554.
- Heijmans BT, Westendorp RGJ, Lagaay AM, Knook DL, Kluit C, Slagboom PE (2000). Common paraoxonase gene variants, mortality risk and fatal cardiovascular events in elderly subjects. *Atherosclerosis*, 149, 91-7.
- Jarvik GP, Hatsukami TS, Carlson C, Richter RJ, Jampsa R, Brophy VH, Margolin S, Rieder M, Nickerson D, Schellenberg GD, Heagerty PJ, Furlong CE (2003). Paraoxonase activity, but not haplotype utilizing the linkage disequilibrium structure, predicts vascular disease. *Arterioscler Thromb. Vas. Biol.*, 23, 1465–1471.
- Juretic D (2001). Serum paraoxonase activities in hemodialyzed uremic patients: chort study. *Croat. Med. J.*, 42(2), 146-150.
- Keeton W, Gold JL (2000). *Genel Biyoloji*, 5. Baskıdan Çeviri, Palme Yayıncılık, Ankara, 948-949.
- Kelso GJ, Stuart WD, Richter RJ, Furlong CE, Jordon-Starck TJ, Harmony JAK (1994). Apolipoprotein J is associated with paraoxonase in human plasma. *Biochemistry*, 33, 832-39.
- 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.
- King H, Rewers M (1993). and WHO ad hoc Diabetes Reporting Group, Global estimates for prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in adults. *Diabetes Care* 16, 157-177.
- Koolman J, Roehm KH (2005). *Color Atlas of Biochemistry*, Second Edition, New York, 161-234.
- 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.
- 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.

- Kuhad A, Chopra K (2008). Lycopene ameliorates thermal hyperalgesia and cold allodynia in STZ-induced diabetic rat. *Ind. J. Exp. Biol.*, 46(2), 108-111.
- Kuhad A, Sharma S, Chopra K (2007). Lycopene attenuates thermal hyperalgesia in a diabetic mouse model of neuropathic pain. *Eur. J. Pain.*, 3.
- Li ZZ, Lu XZ, Ma CC, Chen L (2010). Serum lycopene levels in patients with diabetic retinopathy. *Eur. J. Ophthalmol*, 20(4), 719-723.
- Lu Y, Etoh H, Watanabe N (1995). A new carotenoid, hydrogen peroxide oxidation products from lycopene. *Biosci Biotech Biochem.* 59, 2153–2155.
- Mackness B, Durrington P.N, Boulton A.J.M, Hine D (2002). Serum paraoxonase activity in patients with type 1 diabetes compared to healthy controls. *Eur. Clin. Invest.*, 32 (4), 259-264.
- Mackness B, Hunt R, Durrington PN, Mackness MI (1997). Increased immunolocalization of paraoxonase, clusterin, and apolipoprotein A-I in the human artery wall with the progression of atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 17, 1233-38.
- Mackness B, Mackness M, Arrol S, Turkie W, Durrington PN (1998). Effect of the serum paraoxonase 55 and 192 genetic polymorphisms on the protection by high density lipoprotein against low density lipoprotein oxidative modification. *FEBS Lett.*, 423,57-60.
- Mackness MI, Durrington PN (1995). HDL, its enzymes and its potential to influence lipid peroxidation. *Atherosclerosis*, 115, 243–253.
- Mackness MI, Hallam SD, Peard T, Warner S, Walker CH (1985). The separation of sheep and human serum “A-esterase activity into the lipoprotein fraction by ultracentrifugation. *Comp. Biochem. Physiol B.*, 32: 671-3.
- Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Connelly PW, Hegele A (1996). Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoprotein. *Curr Opin. Lipidol.*, 7,69–76.
- Mashima R, Witting PK, Stocker R (2001). Oxidants and antioxidants in atherosclerosis. *Curr. Opin. Lipidol*, 12(4), 411-418.
- McElveen J, Mackness MI, Colley CM, Peard T, Warner S, Walker CH (1986). Distribution of paraoxon hydrolytic activity in the serum of patients after myocardial infarction. *Clin. Chem.*, 32, 671-3.
- Mert N, Bildik A, Ertekin A, Dede S (1999). *Biyokimya*, Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Yayını, Van, 162-164.
- Miller NJ, Sampson J, Candeias LP, Bramley PM, Rice-Evans CA (1996). Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Lett.*, 384, 240–246.

Montgomery R, Conway TW, Spector AA, Chappell D (1996). *Biochemistry A Case-Oriented Approach*, 6th ed, The Clarinda Company, St. Louis, Missouri, Çeviri Ed. Altan N, Palme Yayıncılık, Ankara, 13-596.

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

Narisawa T, Fukaura Y, Hasebe M, Nomura S, Oshima S, Sakamoto H, Inakuma T, Ishiguro Y, Takayasu J, Nishino H (1998). Prevention of N-methylnitrosourea-induced colon carcinogenesis in F344 rats by lycopene and tomato juice rich in lycopene. *Jpn. J. Cancer Res.*, 89(10), 1003-1008.

Neufeld N.D., Raffel L.J., Iandroni C., Ida Chen Y-D., Vadhem CM (1998). Early presentation of type 2 diabetes in Mexican-American youth. *Diabetes Care*, 21, 80-86.

Neyestani TR, Shariat-Zadeh N, Gharavi A, Kalayi A, Khalaji N (2007). The opposite associations of lycopene and body fat mass with humoral immunity in type 2 diabetes mellitus: a possible role in atherogenesis. *Iran J. Allergy Asthma Immunol*, 6(2), 79-87.

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

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) nitrosamine initiation. *Jpn. J. Cancer Res.*, 89, 22-26.

Önderci M (2007). Tip 2 Diyabetli Hastalarda Paraoksonaz 1, L/M 55 Ve Q/R 192 Polimorfizmlerinin Paraoksonaz 1 ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri ile Lipid Düzeyleri Üzerine Etkileri. Fırat Üniv. Sağlık Bil. Enst. Biyokimya ABD, Doktora Tezi, Elazığ.

Özkan A (2006). Tip 2 Diabetes Mellitus'lu Vakalarda Hemoglobin A_{1c} Düzeyi ile Kemik Yapımı ve Yıkım Belirteçlerinin İlişkisi, Atatürk Üniversitesi, Uzmanlık Tezi, Erzurum.

Öztürk H (2008). Diabetes Mellitus'ta Paraoksanaz Aktivitesi ve AOPP Düzeyleri. T.C. Sağlık Bakanlığı Haseki Eğt. ve Arş. Hast., Biyokimya ve Klinik Biyokimya Böl., Tıbbi Biyokimya Uzmanlık Tezi, İstanbul.

Paran E, Novack V, Engelhard YN, Hazan-Halevy I (2009). The effects of natural antioxidants from tomato extract in treated but uncontrolled hypertensive patients. *Cardiovasc Drugs Ther.*, 23(2), 107-108.

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

Pincemail J (1995). Free radicals and antioxidants in human disease. In Favier AE, Cadet J, Kalyanaraman B, Fontecave M, Pierre J-L (eds): "Analysis of Free Radicals in Biological Systems." Basel, Switzerland, Birkhäuser Verlag, 83-98.

Rao AV, Agarwal S (1999). Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review. *Nutr. Res.*, 19, 199-203.

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.

Sacks DB, Path FR.C (2006). Carbohydrates. In Carl A. Burtis, Edward R. Ashwood, David E, Bruns Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, Philadelphia, Elsevier Saunders, 837-902.

Satman I, Dinççağ N, Yılmaz MT, Şengül AM, Yıllar G, Salman S, Salman F, Tütüncü Y, Gedik S, Karşıdağ K, Karadeniz Ş, Taşyürek A, Sav H (1997). Northern Cyprus, Another high prevalence area of diabetes and impaired glucose tolerance in the Mediterranean, *Cerrahpaşa J.Med.*, 40, 723.

Satman I, Yılmaz MT, Baştar I, Şengül A, Sargın M, Salman F, Salman S, Karşıdağ K, Dinççağ N, Yıllar G, Tütüncü Y and TURDEP Group (1998). Diabetes epidemiology study in Turkey, *Cerrahpaşa J.Med.*, 47, 384-1480.

Satman I, Yılmaz T, Baştar I, Şengül A (2002). Population-Based Study of diabetes and Risk Characteristics in Turkey. Results of the Turkish Diabetes Epidemiology study (TURDEP). *Diabetes Care*, 25, 1551-1556.

Sevindik H (2007). Pembe greyfurt suyu ve domates pulpunda likopen ve β -karotenin ısı stabiliteleri. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.

Shidfar F, Froghifar N, Vafa M, Rajab A, Hosseini S, Shidfar S, Gohari M (2010). The effects of tomato consumption on serum glucose, apolipoprotein B, apolipoprotein A-I, homocysteine and blood pressure in type 2 diabetic patients. *Int. J. Food Sci. Nutr.*

Sinan M.J.T.S (2005). İnsan serum paraoksonaz enziminin ekspresyonu, saflaştırılması ve bazı ilaçların enzim üzerine etkilerinin araştırılması. Balıkesir Üniv. Fen Bil. Enst. Kimya ABD, Balıkesir.

Sodeman WA (1992). Sodeman's Pathologic Physiology mechanisms of disease. Çevirenleri: V. Cesur, N. Kemal, 1. Baskı Hekimler Birliği Vakfı, Türkiye Klinikleri Yayınevi. Ankara, Cild 2.

Sözbilir Bayşu N, Bayşu N (2008). *Biyokimya, Güneş Tıp Kitabevleri*, 215-218, 330-368, Ankara.

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. *Biochim Biophys Acta.*, 1740(2), 101-107.

Tanyeri F (1996). Diabetes Mellitusun sınıflandırılması ve Prevelansı. *Aktüel Tıp Derg.*, 7, 500 – 503.

Turhan H (2007). Tip 2 Diabetes Mellitus'lu hastalarda tedavi şekline ve hastalık süresine göre depresyon ve anksiyete. Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği Koordinatörü, Uzmanlık Tezi, İstanbul.

Uriel A (1961). Characterization of cholinesterase and other carboxylic esterases after electrophoresis and immunoelectrophoresis on agar. I. Application to the study of esterases of normal human serum. Ann. Inst. Pasteur., 101-1, Paris.

Valabhji J, McColl A J, Schachter M, Dhanjil S, Hanjil W R, Elkeles R (2001). High density lipoprotein composition and paraoxonase activity in Type I diabetes. Clin. Sci., 101, 659-670.

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 carotene and cancer prevention. Am. J. Clin. Nutr., 62, 1393-402.

Vardı N, Iraz M, Öztürk F, Uçar M, Gül M, Eşrefoğlu M, Otlı A (2005). Deneysel diyabetin sıçan böbreklerinde meydana getirdiği histolojik değişiklikler üzerine melatoninin iyileştirici etkileri. İ. Ü. Tıp Fak. Derg., 12, 45-52.

Wang L, Liu S, Pradhan AD, Manson JE, Buring JE, Gaziano JM, Sesso HD (2006). Plasma lycopene, other carotenoids, and the risk of type 2 diabetes in women. Am. J. Epidemiol, 164(6), 576-585.

Watkins PJ, Drury PL, Howell SL (1996). Diabetes and its a managenant 5th ed. Blackwell Co., 3.

Yavuz D, Yüksel M, Toprak A, Aydın H, Akalın S (2003a). Tip1 diyabetik hastalarda serum paraoksonaz aktivitesinin endotel fonksiyonu ile ilişkisi. Turk. J. Endocrinol. Metabol., 7(1).

Yavuz D, Y.İ.A, Yüksel M, Aydın H, Deyneli O, Akalın S (2003b). Hipertiroidide serum paraoksonaz aktivitesi azalmaktadır. Turk. J. Endocrinol. Metabol., 7(1).

Yazar M (2008). Deneysel diabet oluşturulan ratlarda serum sitokin ve vitamin düzeylerinin incelenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Doktora Tezi, Van.

Yenigün M (2001). Her Yönü ile Diabetes Mellitus. 2. Baskı, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul.

Yılmaz B (1999). Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi. Feryal Matbaacılık, Ankara.

Yılmaz M.T (1997). Editörden. Galenos Aylık Sağlık Meslek Derg., 1:3.

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Malatya' nın Doğanşehir ilçesinde doğdu. İlkokul, ortaokul ve lise eğitimini Malatya-Doğanşehir'de tamamladı. 2002 yılında Dicle Üniversitesi Atatürk Sağlık Yüksek Okulu Hemşirelik bölümünü kazandı ve 2006 yılında mezun oldu. 2008 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimine başladı. Halen Sağlık Bakanlığı' na bağlı bir hastanede hemşire olarak çalışmaktadır.