

**T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARIN BEYİN  
DOKUSUNDA OLUŞAN OKSİDATİF STRESE KARŞI  
ANTIOKSİDAN ÖZELLİĞİ OLAN MADDELERİN  
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**Semih SAYIN**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ŞANLIURFA  
2013**



**T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

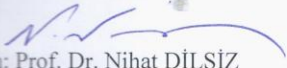
**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARIN BEYİN  
DOKUSUNDA OLUŞAN OKSİDATİF STRESE KARŞI  
ANTIOKSİDAN ÖZELLİĞİ OLAN MADDELERİN  
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

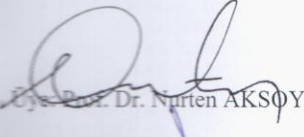
**Semih SAYIN**

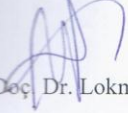
**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ŞANLIURFA  
2013**

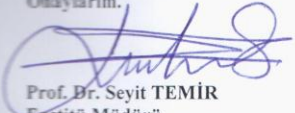
Prof. Dr. Nihat DİLSİZ danışmanlığında, Semih SAYIN'ın hazırladığı "Deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanların beyin dokusunda oluşan oksidatif strese karşı antioksidan özelliği olan maddelerin etkilerinin incelenmesi" konulu bu çalışma 28/06/2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

  
Danışman: Prof. Dr. Nihat DİLSİZ

  
Üye Doç. Dr. Nürten AKSÖY

  
Üye Yrd. Doç. Dr. Lokman VARIŞLI

Bu Tezin Biyoloji Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım.

  
Prof. Dr. Seyit TEMİR  
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	v
SİMGELER DİZİNİ .....	vi
1. GİRİŞ .....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	3
2.1. Pankreas.....	3
2.2. İnsülinin .....	3
2.3. Diabetes Mellitus (DM)'un Tanımı ve Tarihçesi .....	3
2.4. Diabetes Mellitus'un Tipleri .....	5
2.4.1. Tip I diabetes mellitus .....	5
2.4.2. Tip II diyabetes mellitus .....	5
2.4.3. Spesifik nedenlere bağlı diyabet .....	6
2.4.4. Gestasyonel diyabet .....	6
2.5. Diyabet Teşhisi .....	6
2.6. Hayvanlarda Deneysel Diyabet Oluşturma Modelleri .....	7
2.7. Merkezi Sinir Sistemi .....	7
2.7.1. Beyin .....	8
2.7.2. Ön beyin .....	8
2.7.3. Orta beyin (Mezensephalon).....	8
2.7.4. Arka beyin (Rhombensephalon).....	9
2.7.5. Omurilik (Medulla Spinalis).....	9
2.8. Serbest Radikaller.....	9
2.8.1. Süperoksit radikali .....	10
2.8.2. Hidrojen peroksit.....	11
2.8.3. Hidroksil radikali.....	11
2.8.4. Singlet oksijen.....	12
2.8.5. Nitrik okside.....	12
2.9. Antioksidan Sistemler .....	12
2.9.1. Enzimatik antioksidanlar .....	13
2.9.1.1 Süperoksit dismutaz (SOD) .....	13
2.9.1.2. Katalaz (CAT) .....	13
2.9.1.3. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) .....	14
2.9.1.4. Glutasyon S transferaz (GST) .....	14
2.9.1.5. Glutasyon redüktaz (GR) .....	14
2.9.2. Nonenzimatik Antioksidanlar .....	14
2.9.2.1. Glutasyon (GSH) .....	14
2.9.2.2 Vitamin E .....	15
2.9.2.3. Vitamin C (Askorbik asit) .....	15
2.10. Serbest Radikallerin Etkileri .....	15
2.10.1. Serbest radikallerin membran lipidleri üzerine etkileri .....	15
2.10.2. Serbest radikallerin proteinler üzerine etkileri .....	16
2.10.3. Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine etkileri .....	16
2.10.4. Serbest radikallerin nükleik asitler ve DNA üzerine etkileri .....	17
2.11. Kullanılan Maddeler .....	17
2.11.1. NADH(Nikotin Adenin Dinükleotid Hidrit) .....	17
2.11.2. Resveratrol.....	18
2.11.3. Oxovanadium şalat.....	19
3. MATERYAL ve YÖNTEM .....	20
3.1. Materyal .....	20
3.1.1. Deney hayvanlarının yetiştirilmesi .....	20
3.1.2. Hayvanların deneye hazırlanması .....	20
3.2. Yöntem .....	20

3.2.1. STZ'nin hazırlanması .....	20
3.2.2. Deneysel uygulamalar .....	20
3.2.3. Beyin dokusunun alınması ve hazırlanması .....	22
3.2.4. Beyin dokusundan MDA analizi .....	22
3.2.5. Beyin dokusunda GSH analizi .....	23
3.2.6. DNA fragmentasyonu (Apoptozis) analizi .....	23
3.2.7. Nitrik oksit analizi .....	23
3.2.8. Protein karbonil analizi.....	24
3.3. İstatistiksel Yöntemler .....	25
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA .....	26
4.1. Araştırma Bulguları .....	26
4.1.1. Ağırlık değişim .....	26
4.1.2. Glikoz değişim .....	27
4.1.3. MDA analizi sonuçları .....	28
4.1.4. GSH analizi sonuçları .....	30
4.1.5. Protein karbonil (PCO) analizi sonuçları .....	32
4.1.6. Nitrik oksit analizi sonuçları .....	35
4.1.7. DNA fragmentasyonu (Apoptozis) analizi sonuçları .....	37
4.2. Tartışma .....	38
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER .....	41
5.1 Sonuçlar .....	41
5.2. Öneriler .....	43
KAYNAKLAR .....	45
ÖZGEÇMİŞ .....	49

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

#### DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARIN BEYİN DOKUSUNDA OLUŞAN OKSİDATİF STRESE KARŞI ANTİOKSİDAN ÖZELLİĞİ OLAN MADDELERİN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Semih SAYIN

Harran Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nihat DİLSİZ  
Yıl: 2013, Sayfa: 49

*Diabetes mellitus* hipoglisemi ve insülin salgısında düşüşle ortaya çıkan metabolik bir hastalıktır. Yükselen glikoz seviyesi böbrek karaciğer beyin ve göz hasarlarına neden olur. Araştırmacılar yeni doğal yada doğal olmayan maddeler ve antioksidanlar bulmaya çalışıyorlar ayrıca bu maddelerin etkileride araştırılıyor. Bu çalışmada STZ ile deneysel diyabet modeli oluşturuldu ve antioksidan olarak bilinen bazı maddeler (Resveretrol, NADH, Vanadyum) kullanıldı. Diyabet oluşturmak için STZ (50 mg/kg) kontrol grubu hariç, intraperitoneal olarak enjekte edildi. STZ enjeksiyonundan sonra kan glikoz düzeyleri kontrol edildi ve hayvanlardan 200 mg/dl yüksek kan glikoz seviyesine sahip hayvanlar diyabetik kabul edildi. Hayvanlar her grupta 6 erkek Winstar albino sıçan bulunan 5 gruba ayrıldı. (Gruplar 1. grup: Kontrol, 2. grup: Diyabetik+kontrol, 3. grup Diyabetik+Resveratrol (10 mg/kg), 4.grup: Diyabetik+NADH (10 mg/kg olacak), 5.grup: Diyabetik+Vanadium (0,2 mM/kg). 15 gün sonunda MDA, GSH, NO, Protein Karbonil seviyeleri ölçüldü. Dahası DNA hasarı tespiti için DNA fragmantasyonuna bakıldı.

**ANAHTAR KELİMELER:** Resveratrol, NADH, Vanadyum, *Diabetes mellitus*, Oksidatif stres.

## ABSTRACT

Master Thesis

### INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF VARIOUS ANTIOXIDANT SUBSTANCES AGAINST TO THE OXIDATIVE STRESS IN THE BRAIN TISSUES WHICH ARE EXPERIMENTALLY INDUCED DIABETES RATS.

Semih SAYIN

Harran University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Nihat DİLSİZ  
Year: 2013 , Page:49

*Diabetes mellitus* is a metabolic disorder which appear by hyperglycemia and also decrease in insulin secretion. Increase glikocose level cause damage in kidney, liver, brain and eyes. Researcher try to investigate new natural or unnatural matter and antioksidants also these matters effects are resarching. In this study experimental diabetes models developed by STZ and some substance (Resveratrol, NADH, Vanadium ) used which are known as antioxidants. To induce diabetes STZ (50 mg/kg) was injected intraperitonally except control. After STZ injection blood glucose level were checked and animals having blood consantration higher than 200 mg/dl was consired as diabetic. Animals are divided into 5 groups and each contains 6 male Wistar albino rats (1. Group: Control, 2. Group: Diabetic control, 3. Group: Diabetic + Resveratrol(10 mg/kg), 4. Group: Diabetic + NADH, 5. Group: Diabetic + VOL.). After 15 days GSH, MDA, NO, Protein carbonyl level were measured. Moreover for determination of damage in DNA, DNA fragmantation was performed.

**KEY WORDS:** Resveratrol, NADH, Vanadyum, *Diabetes mellitus*, Oxidative stress



## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimini aktararak her zaman yanımda olan ve bu sürede sabır ve anlayışını esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Nihat DİLSİZ'e emek ve katkılarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin her aşamasında destek ve yardımlarını gördüğüm sevgili arkadaşlarım Aslı YÜRÜKOĞLU'na ve Uzman Çiğdem GÖVER'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam süresince hep yanımda hissettiğim ve her konuda destek olan sevgili eşim Fatma SAYIN'a, hayatım boyunca maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen anne ve babama, ayrıca her konuda yoldaşım, sırdaşım ve her zaman yanımda hissettiğim sevgili kardeşim İsa SAYIN'a sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
Şekil 2.1. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu .....	10
Şekil 2.3. Resveratrolün yapısı .....	19
Şekil 4.1. Deneş gruplarının şeker değışimi .....	27
Şekil 4.2. Deneş gruplarının % şeker değışimi .....	28
Şekil 4.3. MDA standartlarından elde edilen değerler ve kalibrasyon eğrisi .....	28
Şekil 4.4. Deneş gruplarının MDA miktarı .....	30
Şekil 4.5. GSH standartlarından elde edilen değerler ve kalibrasyon eğrisi .....	30
Şekil 4.6. Deneş gruplarının GSH miktarı.....	32
Şekil 4.7. Protein standartlarından elde edilen değerler ve kalibrasyon eğrisi .....	32
Şekil 4.8. Deneş grupların PCO değerleri .....	35
Şekil 4.9. Nitrit standartından elde edilen değerler ve kalibrasyon eğrisi .....	35
Şekil 4.10. Deneş grupların NO değeri.....	37
Şekil 4.11. Beyin dokusu apoptozis görüntüsü .....	38

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
Çizelge 4.1. Deney süresi boyunca gruplardaki ağırlık değişimi .....	26
Çizelge 4.2. Deney sonuna kadar kaybedilen net ağırlık ve yüzdesi .....	26
Çizelge 4.3. Deney süresi boyunca grupların glikoz miktarları .....	27
Çizelge 4.4. Deney başlangıcında ve sonunda şeker miktarı ve yüzdesi .....	27
Çizelge 4.5. Beyin dokusunda MDA değerleri .....	29
Çizelge 4.6. Beyin dokusunda GSH değerleri .....	31
Çizelge 4.7. Beyin dokusunda protein değerleri .....	33
Çizelge 4.8. Beyin dokusunda protein karbonil değerleri .....	34
Çizelge 4.9. Beyin dokusunda nitrik oksit değerleri .....	36

## SİMGELERİN DİZİNİ

ADA	Amerika diyabet derneği
ATP	Adenozin trifosfat
BCA	Bovin serum albümin
Ca	Kalsiyum
Cu	Bakır
D	Diyabet grubu
DM	<i>Diabetes mellitus</i>
DMSO	Dimetil sülfooksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
DNPH	Dinitrofenilhidrazin
Fe	Demir
GR	Glutatyon redüktaz
GSH	Glutatyon
GSH-Px	Glutatyon peroksidaz
GSSG-R	Glutatyon redüktaz
GST	Glutatyon S transferaz
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen peroksid
K <sup>+</sup>	Potasyum
K	Kontrol grubu
LPO	Lipid peroksidasyonu
MDA	Malondialdehit
Mn-SOD	Mangan ihtiva eden süperoksid dismutaz
N	NADH grubu
Na	Sodyum
NAD <sup>+</sup>	Okside nikotinamid adenin dinükleotid
NADH	Redükte nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat redükte formu
NO	Nitrik oksit
OH	Hidroksil radikali
OGTT	Oral glikoz tolerans testi
PBS	Phosphate buffered saline
R	Resveratrol grubu
ROS	Reaktif oksijen metabolitleri
ROT	Reaktif oksijen türleri
SDS	Sodyum dodesil sülfat
SOD	Süperoksid dismutaz
STZ	Streptozotosin
TBA	Tiyobarbitürik asit
TBE	Tris borat edta
TBARS	Thiobarbitürik asit reaktif maddeleri
TCA	Triklorasetik asit
UV	Ultraviöle
V	VOL grubu
VOL	Oxovanadium şalat
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

## 1.GİRİŞ

*Diabetes mellitus* (DM), pankreasın yeterli insülin üretememesi veya ürettiği insülini etkili bir şekilde kullanamaması sonucunda oluşan, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında bozukluklara yol açan ayrıca hiperglisemi ile karakterize endokrin bir hastalıktır (Singh ve ark., 2008). Hastalık süresince hiperglisemi nedeni ile başta beyin, böbrek, göz gibi organlarda hasar oluşturmasının yanı sıra damar ve sinirler üzerinde de zararlı etkiler oluşturur (Salahuddin ve Jalalpure, 2010; Stephens ve ark., 2009).

Diyabet, insanların yaşamını olumsuz yönde etkileyen ve yüksek oranda ölüm riski taşıyan bir hastalıktır. Dünya nüfusunun yaklaşık % 2,5-3'ü bu hastalıkla karşı karşıyadır (Seghrouchni ve ark., 2002). Yapılan çalışmalarda hücrelere yeterli miktarda glikoz alınamaması ile birlikte hücrelerin oksijensiz solunuma yönelmesi ve bunun sonucunda artan serbest radikallerin diyabetin ilerlemesinde ve komplikasyonların da önemli role sahip olduğu düşünülmektedir (Kataya ve Hamza, 2008). Ayrıca artan serbest radikaller karbonhidrat, yağ, protein ve nükleik asitlere büyük zararlar vermektedir (Akkuş, 1995).

Diyabet, genellikle insülin salınımındaki azlık ya da etki mekanizmasında ki sorunlarla ortaya çıkan bir hastalıktır. İnsülinin salınmadığı diyabet şekli Tip I diyabet olarak ifade edilirken, insülin azlığı ve/veya reseptör duyarlılığının azlığı sonucu oluşan diyabet, Tip II diyabet olarak adlandırılmaktadır (Quinn, 2002; ADA, 2005). İnsülinin yokluğunun veya duyarlılığının azalması glikozun hücreler tarafından alınamamasına neden olmaktadır. Hücrelerin glikozsuz kalması sonucunda yağ ve proteinler sindirilmeye başlar ve son ürün olarak zararlı maddeler oluşmaya başlar.

Diyabetin en belirgin komplikasyonları arasında yer alan hiperglisemi, antioksidan oksidan dengesinde bozulmasına neden olur. Bu dengenin bozulması sonucunda ortamda serbest radikal miktarı artmaya başlar.

Canlı hücrelerde serbest radikaller oksijenli ve oksijensiz solunumla oluşur. Buna ek olarak kimyasal maddeler, radyasyon, stres, hastalıklar da serbest radikal oluşturabilir. Serbest radikaller normal olarak canlı organizmada lökositlerin yabancı molekülleri ya da patojenleri yok etmesinde kullanılır. Ancak fazla üretilmeleri halinde lipid, protein, karbonhidrat ve nükleik asitler üzerinde önemli hasarlar oluşturur. Bu şekilde reaktif oksijen türlerindeki birikime ‘oksidatif stres’ denir. Son yıllarda oksidatif stresin, başta diyabet olmak üzere kronik kalp rahatsızlıkları, kanser, katarakt gibi daha birçok hastalığın patojenitesine neden olduğu saptanmıştır (Akkuş, 1995; Basu, 1999).

Hastalıklar ya da çevresel etmenlerle oluşan serbest radikaller ortamdan bulunan enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar aracılığı ile ortamdan uzaklaştırılır. Bu amaçla ortamdaki serbest radikallerin, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların seviyelerinin ölçümü hastalık nedenleri, oluşumu ve tedavisi hakkında bilgiler vermektedir (Cho ve ark., 2002).

Son yıllarda artan diyabet vakaları yüzünden Dünya Sağlık Örgütü (WHO)’ nün hastalıkla ilgili gelişmeleri büyük bir dikkatle takip etmektedir. Bu nedenle diyabette kullanılan ilaç ve bitkiler büyük önem taşımaktadır. Var olan ilaçlara ek olarak sentetik ve yarı sentetik ilaçların diyabetle olan ilişkileri hala araştırılmaktadır (Sheweita ve ark., 2002 ).

DeneySEL diyabet oluşturularak yapılan çalışmalar diyabet tanı ve tedavisine büyük katkılar sağlamıştır. Bu amaçla ortaya konan çalışmalarda hastalıkta şeker, ağırlık değişimleri, serbest radikal, antioksidan miktarları incelenmiştir. Karbonhidrat, yağ, protein ve nükleik asitlerin bu hastalıkta gördükleri hasarlar tespit edilmeye çalışılmıştır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2.1. Pankreas

Pankreas, midenin arka yüzünde 12-15 cm uzunluğunda, yumusak, pembe renkli hem endokrin hem ekzokrin bir bezdir. Endokrin salgısı insülin, glukagon ve somatostatin olup doğrudan kana verilir. Ekzokrin salgısı ise amilaz, lipaz ve tripsin olup duodenuma açılır. Bu salgılar karbonhidrat, yağ ve proteinlerin sindirilmesinde rol oynar. Langerhans adacıkları tarafından salgınana insülin ve glukagon hormonları olup karbonhidrat metabolizmasının düzenlenmesinde önemli işlevlere sahiptirler. İnsanlarda en az dört farklı hücre tipi vardır:  $\alpha$  hücrelerinden glukagon,  $\beta$  hücrelerinden insülin salgılanır (Cumhur, 2001).

### 2.2. İnsülin

İnsülin saflaştırılan ilk hormondur. İnsülin 6000 dalton büyüklüğünde, 21 amino asitli A ve 30 amino asitli B zinciri olmak üzere iki adet polipeptit zincirinden oluşur. Bu zincirler 2 adet disülfid köprüsü ile bağlanmıştır. İnsülinin biyolojik aktivitesi bu disülfid köprüleri tarafından gösterilir. İnsülin bir prohormon olarak sentezlenir.  $\beta$  hücrelerinin uyarılması ve insülin salınımındaki bağlantıda  $Ca^{2+}$  önemli rol oynar. İnsülinin en önemli özelliği hipoglisemik etkili bir hormondur. Bu etkiyi de karaciğer ve kaslarda glikoz'dan glikojen yapımını uyarmak suretiyle kan glikoz seviyesini düşürerek yapar. Bunlara ek olarak fazla glikoz yağ dokularında yağ asitlerine dönüşmesini uyarır. İnsülin proteinleride etkiler. Protein yapımını uyarır ve yıkımını engeller (Montgomery ve ark., 1996; Koolman ve Roehm, 2005).

### 2.3. Diabetes Mellitus (DM)'un Tanımı ve Tarihçesi

Diabetes mellitus insülin salgılama yetersizliği ya da insülinin etkili bir şekilde kullanılmaması sonucunda ortaya çıkan kronik bir hastalıktır (Walter ve ark., 1991). Hastalıkta glikozun hücrelere alımı bozulur. Bu durum kan şekeri düzeyinin artması, normalden fazla idrar yapma, aşırı susama, zayıflama, ağız kuruluğu, aşırı yeme gibi semptomlarla ortaya çıkan bir hastalıktır. Artan şekeri konsantrasyonu doku ve organlara zarar verdiği gibi yağ, karbonhidrat, protein ve nükleik asit gibi organik birleşiklerde zarar verebilmektedir. Ayrıca serbest radikal düzeyinde bozulma sinir dokularına ve beyin hücrelerine zarar vermektedir (Leelavinothan ve Muniappan, 2004).

Diyabet, dünya toplumunun yaklaşık olarak % 2,5-3 gibi bir kısmının karşı karşıya olduğu metabolik bir hastalıktır. Özellikle günümüz beslenme şekli ve yaşam tarzı göz önüne alındığında hastalığın 2030'lu yıllarında 366 milyon kişiye ulaşacağı öngörülmektedir. Buna bağlı olarak başta dünya sağlık örgütü olmak üzere birçok devlet ve sivil toplum kuruluşları diyabetin önlenmesi ya da hastalığın tedavi edilmesi amacı ile çalışmalar yapılmaktadır (Seghrouchni ve ark., 2002; Doupis ve Vaves, 2008).

Diyabetin ilk tarifine milattan 1500 yıl önce Mısır Ebers papirüslerinde rastlanmıştır. M.S 150 yıllarında, Kapadokyalı Arataeus çok su içme, çok idrara çıkmayı vurgulayarak hastalığı erime hastalığı olarak izah etmiştir. Büyük Türk İslam alimi İbn-i Sina da şekeri hastalığını bugünkü tanımına yakın bir şekilde tarif etmiş ve hastaların idrarlarını kaynatarak kahverengi tortu kaldığını bildirmektedir. 1869 yılında Paul Langerhans pankreastaki hücre tiplerini belirlemiş ve Langerhans adacıklarını tanımlamıştır. 1889 yılında Minkowski, hayvan modelleri üzerinde yaptığı çalışmalarda pankreatektomi yapılan hayvanlarda diyabet geliştiğini göstermiştir. 1922'de Best ve Banting pankreas ekstrelerinden insülini izole etmişler ve hastalığın tedavisinde yeni bir çığır açmışlardır.

Diyabet, bugün dünyada yaklaşık 180 milyon kişiyi direkt olarak etkileyen bir sağlık problemidir. Protein, karbonhidrat ve yağ metabolizmasındaki komplikasyonlara ek olarak sistemin elektrolit metabolizması, Alzheimer gibi hastalıklar ve ciddi hasarlar



oluşturduğu bildirilmiştir (Kumar ve Clark, 2002; Steen ve ark., 2005). 2009 sonu itibarı ile tüm dünyadaki diyabet nüfusu 285 milyon iken bu sayının 2030 yılında 438 milyona ulaşması beklenmektedir (International Diabetes Federation, 2009). Bunun başlıca nedenleri nüfus artışı, yaşlanma ve kentleşmenin getirdiği yaşam tarzı değişimi sonucu obezite ve fiziksel inaktivitenin artmasıdır (Sekikawa ve LaPorte, 1997). Birçok ülkede ölüme neden olan hastalıklar içinde diyabet beşinci sırada yer almaktadır. Çeşitli ülkelerde toplam sağlık hizmeti harcamalarının %3-12'sini diyabet giderleri oluşturmaktadır (Donovan, 2002).

#### **2.4. Diabetes Mellitus'un Tipleri**

Diyabet Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve uluslar arası diyabet federasyonu tarafından farklı farklı sınıflandırılmıştır. Bu sınıflandırmalar kesin sınırlarla birbirlerinden ayrılmamakla beraber, bazı durumlarda hastada iç içe geçmiş bir tablo gösterirler. Genel olarak dört ana başlık altında incelenebilir.

##### **2.4.1. Tip 1 diabetes mellitus**

İnsüline bağımlı veya genç tipi diyabet olarak bilinmektedir. Ayrıca insülinin salınmadığı ya da az salındığı diyabet olarakta tanınır. İnsülin yeterli miktarda olmadığı için reseptörlerini dolduramaz ve bunun sonucunda şeker seviyesi yükselir. Hiperglisemi ve ketoasidoz oluşumunu engellemek için insülin tedavisine gereksinim gösteren diyabet tipidir. Bu tipte pankreasın insülin salgılayan  $\beta$  hücrelerinin virüs enfeksiyonlar veya otoimmüitedeki değişimlerden dolayı tahrip olduğu gösterilmiştir (ADA 2005).

Tip 1 diyabetli hastalar, diyabetli bütün hastaların yaklaşık olarak % 5-10'unu meydana getirmektedir. Bu hastalığın insidansı çocukluk ve genç erişkinlikte en fazladır ve hastaların yaklaşık olarak %75'inde hastalık 30 yaşından önce başlar (Sacks, 2005).

##### **2.4.2. Tip II diabetes mellitus**

İnsüline bağımlı olmayan diyabet yada erişkin diyabet olarak isimlendirilen tip II diyabet pankreasın insülin ürettiği ancak ihtiyaçtan az olması yada reseptörlerin duyarlılığının azalmasıyla oluşan diyabet türüdür (ADA, 2005).

Hastalık genellikle kilo problemi olan kişilerde ve yaş ilerlemesi ile ortaya çıkabilmektedir. Dünya üzerindeki diyabetlilerin % 90'ı tip 2 diyabetli olup 40 yaş üzeri ve kilolu kişilerde sıklıkla görülür. Bu hastalıkta insülin salgılanmasına rağmen hücre reseptörlerine bağlanamaz ve glikoz hücre içine alınamaz. Bu nedenle bu hastaların oral olarak insülin ya da hipoglisemik ajan almalı gerekmektedir (Anonymous, 2007)

#### **2.4.3. Spesifik nedenlere bağlı diyabet**

Nadir karşılaşılan bir diyabet şeklidir ve tüm diyabetlilerin %1'inden daha az bir kısmı bu sınıfa girmektedir. Bu tip diyabete bazı hastalıkların sebep olduğu düşünülmektedir. Bunlara örnek olarak ekzokrin pankreas hastalıkları endokrinopatiler glukagonoma, hipertiroidi, ilaç ve kimyasal ajanlara bağlı gelişen diyabetler enfeksiyonlar ve diyabetle birlikte görülebilen bazı genetik sendromlar (Down sendromu, Klinefelter sendromu, Turner sendromu) gösterilebilir (ADA, 2005).

#### **2.4.4. Gestasyonel diyabet**

Gebelik sırasında fark edilen diyabettir. İlk kez gebelik sırasında ortaya çıkan diyabet formudur. 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; Serlin ve Lash 2009).

### **2.5. Diyabet Teşhisi**

Diyabet teşhisinde kullanılan yöntemler arasında rastgele plazma glikoz ölçümü, açlık plazma glikoz ölçümü, oral glikoz tolerans testi ve hemoglobin A1c kullanılabilir. Amerika Diyabet Derneğine (2013) göre;

- Rasgele plazma glikoz düzeyi  $\geq 200$  mg/dL
- Açlık plazma glikozunun  $\geq 126$  mg/dL
- Oral glikoz testi esnasında 2. Saat değerinin  $\geq 200$  mg/dL
- HbA1c  $\geq \% 6.5$

durumlarından birinin olması durumunda diyabet olarak kabul edilir. Ayrıca açlık kan şekerinin 100 - 125 mg/dL yada OGTT de 2. Saatte 140 – 200 mg/dL arasında olması bozulmuş glikoz toleransı olarak adlandırılır.

## 2.6. Hayvanlarda Deneysel Diyabet Oluşturma Modelleri

Fare, sıçan, tavşan, kobay, hamster, maymun, domuz, köpek ve kedi gibi deney hayvanları deneysel diyabet oluşturmak amacıyla kullanılabilir. Deney hayvanlarında deneysel diyabet oluşturulması kimyasal ajanlarla, cerrahi, spontan olarak veya virüs aracılığıyla yapılabilir. Bu yöntemler arasında en çok tercih edilen yöntem kimyasal ajanlarla oluşturulan diyabet modelidir. Bu amaçla en çok kullanılan kimyasallar alloksan ve streptozotosindir.

Alloksan, monohidrat yapısında bir ürik asit türevidir ve suda kolayca erimektedir. Bu molekül, seçici olarak pankreas beta hücrelerini hasarlayarak insüline bağımlı diyabete neden olur. Streptozotosin, glikozamine yapısında bir moleküldür ve ışık ile nötral pH'da bozulmaktadır. Bu nedenle streptozotosin pH'ı 4-4.5 olan sitrat tamponunda hazırlanmaktadır. Pankreas  $\beta$  hücrelerine hasar vererek hem insüline bağımlı hem de insülinde bağımsız diyabete neden olmaktadır (Szkudelski, 2001; Öntürk ve Özbek, 2007).

## 2.7. Merkezi Sinir Sistemi

Beyin (cerebrum) ve omurilikten (medulla spinalis) oluşan merkezi sinir sistemi sinir hücreleri aracılığı ile vücudun kontrol sistemini oluşturur. Tüm hayatsal faaliyetler merkezi sinir sisteminin kısımları tarafından yürütülür.

### 2.7.1. Beyin

Beyin düşünme ve hafıza gibi temel olayları kontrol etmesi yanı sıra uyarıları alma ve değerlendirme görevi de vardır. Ayrıca organların çalışması ve motor aktiviteleri sağlama özelliği vardır.

Beyin, kafatası boşluğunda yer alır. Yetişkin bir insan beyni yaklaşık olarak 1300-1500 gr kadardır. Yumuşak bir doku formunda olmasına rağmen beyni çevreleyen zarlar sayesinde korunması sağlanır. Sert zar, kafatası kemiklerinin hemen altında bulunur. Sert zarın hemen altında örümceksi zar yer alır. Taşıdığı bağ doku lifleri sayesinde içteki ince zar ile dıştaki sert zarı birbirine bağlar. Beyin zarının en içte bulunan tabakası ise ince zardır. İnce zar beynin bütün kıvrımlarını örter. Taşıdığı kan damarları sayesinde beynin beslenmesini de sağlar (Arıncı ve Elhan, 2001).

### 2.7.2. Ön beyin

Beynin hacimsel olarak en büyük alanıdır. Diğer beyin kısımlarını üstten örter. Embriyo gelişimi sırasında ön beyinin büyük bir bölümü telensefalonun geri kalanı da diensefalonun yapısına katılmaktadır.

Telensefalon beynin en geniş kısmı olan telencephalon iki yarım küreden ve koklama lobundan oluşur. Beyin yarım küreleri korpus kallozum ile birbirlerine bağlanmaktadır. Koklama, dokunma gibi duyguların yanı sıra motor fonksiyonlar da bu yapı tarafından kontrol edilir (Taner, 2002).

Diensefalon beyin yarım küreleri tarafından çevrelenmiş alandır. Bu alan epitalamus, hipotalamus ve talamus yapılarından meydana gelir. Epitalamus kuş ve memelilerde salgı organı olarak gelişmiştir. Talamus koku duyusu impulsarı hariç diğer tüm duyu impulslarının kortekse gitmeden önce toplandığı yerdir. Hipotalamus otonom sistem ile endokrin sistemi kontrol eder (Arıncı ve Elhan, 2001).

### 2.7.3. Orta beyin (Mezensephalon)

Orta beyin, ponsun üzerinde, beyincik ve ara beyin arasında kalan bölgedir ve beynin en küçük parçasıdır.. Serebellum, pons, medulla oblongata ve medulla spinalis arasında bağlantı kuran sinir liflerinin geçit bölgesidir (Arı, 2003).

#### **2.7.4. Arka beyin (Rhombensephalon)**

Pons, Bulbus ve Cerebellum olmak üzere üç önemli bölümden meydana gelir. Pons ve bulbusta (medulla oblongata) kafa sinirleri ve sonlanma çekirdekleri yerleşmiştir. Cerebellum (beyincik) ise vücudun dengesi, kas tonusunun regülasyonu ve hareketlerin koordinasyonu cerebellum'un ana fonksiyonlarını oluşturur (Arı, 2003).

#### **2.7.5. Omurilik (Medulla Spinalis)**

Medulla spinalis, vertebra kanalının içerisinde bulunur ve medulla oblongata ile birleşir. Alt ucu ise, gittikçe incelik ve conus medullaris adını alır. Omurilikte ventral kök, dorsal kök ve yan boynuz bulunur ayrıca burdan otonom sinir sistemine ait sinirler çıkar. Omurilik refleks merkezidir. Beyne gelen ve çıkan impulsları iletir (Arı, 2003).

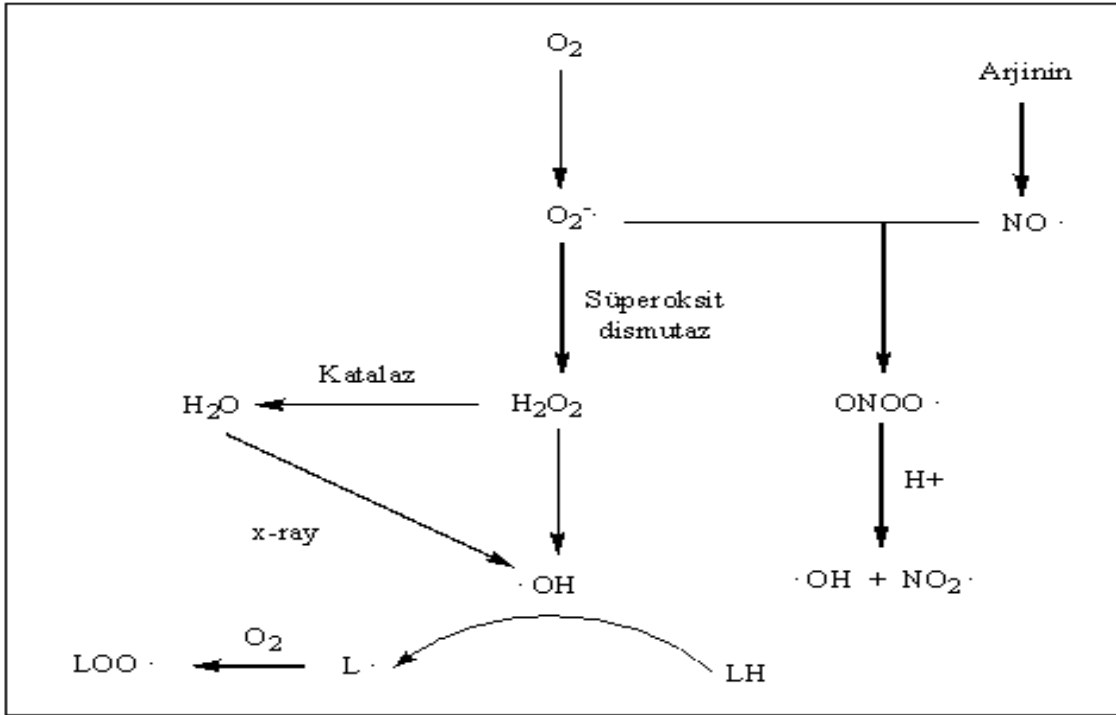
### **2.8. Serbest Radikaller**

Atomlar, nötron ve protondan oluşan bir çekirdekle, bu çekirdeğin çevresinde dönen elektronlardan oluşurlar. Elektronların orbital adı verilen yörüngede çekirdeğin etrafında dönerler. Elektronlar orbitallerde genellikle çiftler halinde bulunur. Bu yapının bozulması ile yani eşlenmemiş elektron bulundurmaları durumunda etrafındaki moleküllerde elektron koparılır. Bu gibi durumlarda son yörüngelerinde çiftleşmemiş elektron bulunduran molekül ya da atomlara serbest radikaller denir (Akkuş 1995).

Organizmalarda normal olarak serbest radikaller oluşmaktadır. Bu durum oksijenli solunum sonucunda doğal olarak meydana gelir. Fagositoz hücreleride fonksiyonlarını

yerine getirebilmek için serbest radikaller üretirler. Ancak bu iki süreçte de antioksidanlar ile oksidanlar denge halindedir. Hastalık, kullanılan ilaçlar, sigara, stres gibi durumlar serbest radikal miktarının artmasına ve oksidan antioksidan dengesinin bozulmasına yol açar. Ortamda bulunan serbest radikaller kararlı hale geçebilmek için çevrelerindeki moleküllerden elektron koparırlar. Bu kopardıkları elektronlar karbonhidrat, yağ, protein ve nükleik asitlerden olabilir. Bunun sonucunda ciddi hücre ve doku hasarları ya da hastalıklar ortaya çıkabilir (Aruoma, 1998).

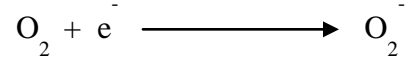
Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşmuş radikallerdir. Oksijen atomunun dış yörüngesinde eşlenmemiş elektron bulunduğu için diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlar. Oksijen bu kararsız yapısını giderebilmek için başka bir oksijen atomunun dış yörüngesindeki iki elektronu ortaklaşa kullanarak 'Oksijen Radikalleri'ni oluşturur (Stahl ve ark., 2002).



Şekil 2.5. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu (Stahl ve ark., 2002).

### 2.8.1. Süperoksit radikali ( $O_2^{\cdot -}$ )

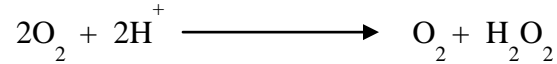
Moleküler oksijen dış yörüngesinde iki elektron içerir. Bu dış orbitallerden her biri birer elektron daha kabul edebilir. Bu orbitallerin bir elektron alması ile süperoksit radikali oluşur.



Süperoksit kendisi direkt olarak biyolojik yapılara fazla zarar vermez. Asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksit düşük pH değerinde daha reaktiftir Fagositik hücreler serbest radikalleri biyolojik hedeflerin parçalamasında kullanabilir (Akkuş, 1995).

### 2.8.2. Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması sonucu peroksit meydana gelir. Peroksit molekülü de iki hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksidi (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) oluşturur (Akkuş, 1995). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, süperoksid dismutaz tarafından katalizlenen dismutasyon reaksiyonu sonucu ortaya çıkabilir



H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> membranlardan geçebilen uzun ömürlü bir oksidandır. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimi, hücrelerde mitokondride, mikrozomlarda ve kloroplastlarda olur. Ayrıca peroksizomlar çok önemli hücre içi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynağıdır. Fakat, peroksizomlarda katalaz aktivitesi çok yüksektir. Bu sebeple bu organelden sitozole ne kadar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> geçtiği bilinmemektedir (Akkuş, 1995; Gutteridge ve Halliwell, 1998).

### 2.8.3. Hidroksil radikali (OH<sup>-</sup>)

Hidroksil radikali çekirdek membran zarını kolayca geçmesi ve DNA'yı etkilemesi onu kimyada en aktif radikal yapar. Hidroksil radikali farklı yollarla

oluşabilir. Bunlar arasında suyun hidrolizi ve hidrojen peroksitin demirle birleşmesi sayılabilir (Gutteridge ve Halliwell, 1998)

#### 2.8.4. Singlet oksijen ( $\dot{O}_2$ )

Singlet oksijen, yarı ömrü kısa bir radikaldir. Ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Oksijenin eşleşmemiş elektronlardan birinin verilen enerji sonucu bir üst enerji seviyesine çıkması ile oluşur (Giardino, 2005).

#### 2.8.5. Nitrik oksit

Nitrik oksit (NO) düz kasların gevşemesi, vazadilatasyon gibi fizyolojik olaylarda görev alır. Düşük konsantrasyonda bu görevleri üstlenirken, yüksek konsantrasyonda oksijen ile azotun birleşmesinden dolayı radikal tanımına uymaktadır. Bu özelliğinden dolayı lipitlere ve nükleik asitler üzerinde hasar meydana getirir (Lieberman ve Marks, 2008).

### 2.9. Antioksidan Sistemler

Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı organizmada koruyucu mekanizmalar vardır. Bu mekanizmalardan bir kısmı serbest radikal oluşumunu, bir kısmı ise oluşmuş serbest radikallerin zararlı etkilerini önler. Bu işlevleri yapan maddelerin tümüne birden genel olarak antioksidanlar denir (Akkuş, 1995). Antioksidanlar serbest radikallerin etkilerini farklı yollarla yok ederler. Bunlar:

- Toplayıcı (scavenging) Etki: Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine toplayıcı etki denir. Antioksidan enzimler, trakeo-bronşial mukus ve küçük moleküller bu tip bir etki gösterirler (Akkuş, 1995).

- Bastırıcı (quencher) Etki: Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan veya inaktif şekle dönüştüren olaya bastırıcı etki



adı verilir. Vitaminler, flavanoidler, trimetazidin ve antosiyanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler (Akkuş, 1995).

- Onarıcı (repair) Etki: Hasar görmüş biyomolekülü onarırlar (Akkuş, 1995).

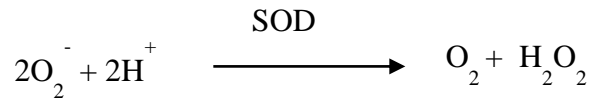
- Zincir Kırıcı (Chain Breaking) Etki: Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye zincir kırıcı etki denir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler (Akkuş, 1995).

Antioksidanlar sadece lipitlerin değil, ortamda bulunan tüm moleküllere etki ederler. Oluşan hasarları önlemede görev alan antioksidanlardan bazılarını deyinelim.

### 2.9.1. Enzimatik antioksidanlar

#### 2.9.1.1. Süperoksid dismutaz (SOD)

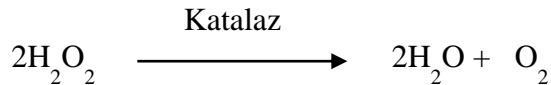
Antioksidan enzimlerden en önemlisi olan SOD, hepatositlerin, eritrositlerin ve beyin hücrelerinin mitokondri matriksinde bulunur. Kararlı bir yapıya sahiptir. Ortamda bulunan süperoksiti  $O_2^-$  ve  $H_2O_2$ 'ye dönüştürür (Armstrong, 1998).



SOD enzimi kofaktör olarak içerdiği metal iyonu tipine göre Cu-Zn SOD, Mn-SOD ve Fe-SOD olmak üzere üç sınıfta toplanır (Landis ve Tower, 2005).

#### 2.9.1.2. Katalaz (CAT)

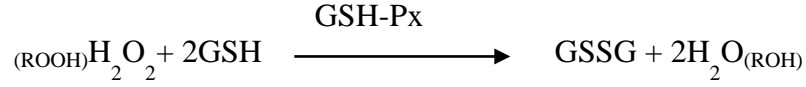
Katalaz (CAT), dört tane hem grubu içeren bir hemoproteindir. Molekül ağırlığı 248,000 Dalton'dur. Hidrojen peroksidi moleküler oksijen ve suya katalizler.



CAT enzimi hepatositlerin mitokondrisinde ve eritrositlerin sitoplazmasında bol miktarda bulunur (Akkuş, 1995).

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

Hücrelerde oluşan hidroperoksitlerin uzaklaştırılmasından sorumlu olan bir enzimdir ve selenyum içerir. Selenyum eksikliği bu enzimin aktivitesini etkiler. Enzim aktivitesinin en fazla olduğu yapılar eritrositler ve karaciğerdir (Brigelius-Flohe, 1999).



### 2.9.1.4. Glutatyon S transferaz (GST)

Selenyuma bağlı olmayan GSH-Px olarak bilinir. Araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipit peroksitlerine karşı Se bağımsız GSH peroksidaz gibi aktivite gösterir (Akkuş, 1995).

### 2.9.1.5. Glutatyon redüktaz (GR)

Hidroperoksitlerin ortamdan uzaklaştırılması esnasında okside glutatyonun, glutatyon redüktaz tarafından tekrar redükte haline dönüşmesi basamağında görev alır. Reaksiyonun gerçekleşmesi için NADPH'a ihtiyaç vardır (Akkuş, 1995).

## 2.9.2. Nonenzimatik antioksidanlar

### 2.9.2.1. Glutatyon (GSH)

Glutatyon (GSH); glutamik asit, sistein ve glisin içeren bir tripeptittir. Vücuttaki GSH'nun büyük bölümü karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç duyulmadan sentezlenir. Bu

özelliği bakımından hemen oluşabilen ve hücreleri serbest radikallere karşı korur (Akkuş, 1995; Benzie 2003).

### **2.9.2.2. Vitamin E**

E vitamini dokularda en önemli zincir kırıcı antioksidandır. Özellikle vitamin E yağda çözünme özelliği sayesinde serbest radikallerin yağlara zarar vermesini engellemeye ilk karşı koyan moleküldür. Bunu ortamda ki serbest radikallere bir elektron vererekten de yapabilir (Akkuş, 1995; Benzie 2003).

### **2.9.2.3. Vitamin C (Askorbik asit)**

C vitamini (askorbik asit) suda çözünen bir vitamindir. Bu nedenle su konsantrasyonunun yüksek olduğu dokularda bol miktarda bulunur. İnsan vücudunda sentezlenmediği için dışarıdan diyetle alınmak zorundadır. Süperoksit ve hidroksil radikalini ortamdan temizler. Ancak düşük konsantrasyonlarda ortamdaki demir ile etkileşime girmesi ve bu demiri hidroksil radikali oluşturabilecek forma dönüştürmesi nedeni ile oksidan gibi davrandığı durumlarda olur. Fakat bu duruma çok sık rastlanılmaz (Kojo, 2004; Seo ve Lee, 2002; Benzie 2003)

## **2.10. Serbest Radikallerin Etkileri**

Serbest radikaller ile antioksidanlar arasındaki denge bozulduğu zaman çeşitli hasarlara yol açar. Karbonhidrat, lipit, protein ve DNA gibi moleküller saldıran serbest radikaller eğer ortamdaki antioksidanlar yetersiz kalırlarsa bu moleküller üzerinde geri dönüşümsüz hasarlar meydana getirirler (Akkuş, 1995).

### **2.10.1. Serbest radikallerin membran lipitleri üzerine etkileri**

Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenirler, fakat lipitler en hassas olanlarıdır (Akkuş, 1995). Özellikle hücre zarının yapısında ki yağlar serbest radikaller tarafından çok çabuk etkilenirler (Esterbauer ve ark., 1991). Böyle hücre bütünlüğü bozulmaya ya da hücre için zararlı maddeler olan malondialdehit (MDA), akrolein, 4- hidroksi-2-hekzenal (HHE) ve 4-hidroksi-2-nonenal (HNE) gibi kimyasallar açığa çıkar. (Malekirad ve ark., 2005). Mesela oluşan MDA iyon alışverişini, enzim aktivitesini ve DNA'yı olumsuz yönde etkiler.

### **2.10.2. Serbest radikallerin proteinler üzerine etkileri**

Proteinler serbest radikallere karşı lipitlerden daha az hassastır ancak etkilenme dereceleri içerdikleri aminoasit kompozisyonuna bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren aminoasitlerden oluşan proteinler serbest radikallerden çok çabuk etkilenir.

Protein yapısında ki bozukluklar önemli hastalıklara sebep olmaktadır. Alzheimer, katarakt oluşumu, böbrek yetmezliği, kistik fibrozis, diyabet, iskemi ve reperfüzyon hasarı, bu hastalıklar arasında yer alır. Ayrıca serbest radikallerin meydana getirdiği hasar sonucunda proteinlerde fragmantasyon, çapraz bağlanmalar ve proteinlerin agregasyonu meydana gelir. Yapıları bozulan proteinler normal fonksiyonlarını meydana getiremezler. Enzimler protein yapısında olduklarından enzim aktivitelerinde değişiklikler meydana gelir (Stadtman, 2006).

Proteinlerde yapısal değişiklik protein karbonil (PCO) türevlerinin oluşumu, protein oksidasyonu, protein tiyol gruplarının kaybı, nitrotirozin (NT), radyasyon aracılı oksidasyon ve ileri protein oksidasyon ürünlerinin (AOPP) oluşumu olarak sıralanabilir (Limaye ve ark., 2003; Bhor ve ark., 2004).

Serbest radikallerin proteinlere vermiş olduğu hasarlar karbonillenmiş grupların tespiti, amino grup asit dizi analizi, western blot gibi tekniklerle tespit edilebilir. PCO düzeylerinin saptanması protein oksidasyonunu belirlemede genel olarak kabul görmüş bir yöntemdir (Donne ve ark., 2003).

### **2.10.3. Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine etkileri**

Serbest radikaller monosakkaritlerin otooksidasyonunun, protein çapraz bağlanmalarına hatta nükleik asitlerin yapısında ki 5 karbonlu şekerleri de etkileyerek canlı organizmada büyük hasarlara neden olmaktadır (Akkuş, 1995).

#### **2.10.4. Serbest radikallerin nükleik asitler üzerine etkileri**

Canlı organizmalar hayatları boyunca X-ışınları, ısı, stres ve kimyasal maddeler ile tehdit altındadır. Bu etkiler aracılığıyla oluşan hasarlar hayatsal boyutta değil ise hücrelerde bulunan tamir mekanizmaları ile tamir edilir. Ağır DNA hasarı bu tamir mekanizmaları ile tamir edilemez boyuta ulaştığında hücre kendi kendini ölüme götürür. Serbest radikaller bu şekilde hasar oluşturabilecek yapılar arasındadır. Serbest radikallerin DNA üzerinde oluşturdukları hasarlar arasında tek ve çift zincir kırıkları, mutasyon, şeker hasarı şeklinde olabilir (Bohr ve ark., 1998; Dilsiz, 2009)

Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona giren ve değişikliklere yol açan bir radikaldir. Süperoksid ise, guanin ile kolayca tepkimeye girme özelliğine sahiptir. (Akkuş, 1995).

DNA da oluşan oksidatif hasar DNA fragmentasyonu, western blot, oluşan ürün tespiti gibi yöntemler kullanılabilir. DNA fragmentasyonunu uygulamalar arasında sıkça başvurulan yöntemler arasındadır. Bu yöntem oksidatif hasar ürünü olan 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine miktarının tespitiyle de yapılabilir.

### **2.11. Kullanılan Maddeler**

#### **2.11.1. NADH(Nikotin adenin dinükleotid hidrit)**

NADH, (Nikotin Adenin Dinükleotid Hidrit) insan vücudunda tüm canlı hücrelerde doğal olarak bulunan, bir koenzimdir. NADH aynı zamanda hücrenin enerji

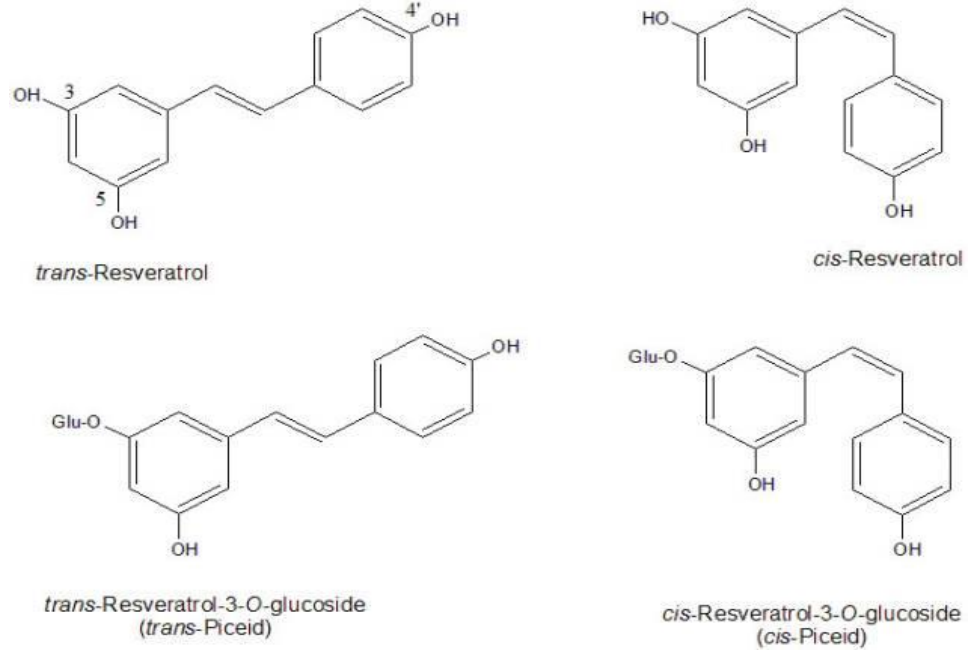
üretiminde önemli rol oynar. Avrupa’da yapılan bazı çalışmalar oral yolla NADH takviyesi yapılan depresyon, parkinson ve alzimer hastalarında bu hastalıkların sebep olduğu semptomların önemli derecede azaldığı görülmüştür (Birkmayer ve 1991).

### 2.11.2. Resveratrol

Resveratrol doğal olarak oluşan bir fitoaleksindir. Özellikle siyah üzüm çekirdeğinde ve kabuğunda bol miktarda bulunur (Soleas ve ark., 1997; Silan ve ark., 2007).

Resveratrol cis ve trans izomer şekillerde bulunur. Resveratrol yağ, di metil sülfoksit (DMSO) ve alkolde çözünen bileşiktir. Molekül ağırlığı 228 g/mol, erime sıcaklığı 253-255 °C dir. (Prokop ve ark., 2006).

Yapılan çalışmalarda oksidatif stresi, lipit peroksidasyonunu engellediği, ayrıca kalp damar hastalıklarına ve kansere karşı olan etkileri sıklıkla araştırılmıştır. (Alkan, 2007). Mikroorganizmalarla yapılan çalışmalarda *Staphylococcus*, *Pseudomonas* ve *Helicobacter* gibi bakterilerin büyüme ve gelişimlerini engellediği de belirtilmektedir. Bu sebeplerden ötürü ticari olarak sentezlenmesi ve satılması Çin, Hindistan ve Japonya gibi ülkelere önemli ticari kazanç sağlamıştır.



Şekil 2.7. Resveratrolün yapısı

### 2.11.3. Oxovanadium şalat

Vanadyum atom numarası 23 olan bir geçiş elementidir. Yapılan çalışmalarda bu elementin antidiyabetik, antitümör ve antiamebic gibi birçok etkisinin olduğu görülmüştür. Elementin sahip olduğu toksik etkide göz önünde bulundurularak son yıllarda yapılan çalışma sayısı hızla artmıştır ( Boden ve ark., 1996; Yanardağ ve Tunalı, 2006).

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Deney hayvanlarının yetiştirilmesi

Çalışmada kullanılan sıçanlar Harran Üniversitesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarına bağlı hayvan laboratuvarından temin edildi. Hayvanların bulunduğu oda  $22 \pm 2$  °C'de, 12 saat karanlık 12 saat ışık ortamında tutuldu. Hayvanlar standart kafeslerde barındırıldı, standart yem ile beslenen hayvanların su alımı serbest bırakıldı. Çalışmaya başlamadan önce Harran Üniversitesi (HADYEK) Etik Kurulu'ndan onay alındı (Karar sayısı: 2012/270-132).

##### 3.1.2. Hayvanların deneye hazırlanması

8 hafta sonunda yaklaşık olarak 178-183 g olan *Winstar albino* sıçanlar çalışmaya uygun kabul edildi. Tamamı erkeklerden oluşan sıçanlar ayrı kafeslere konularak, penceresinde havalandırma tertibatı bulunan, sıcaklığı 22 °C'de sabit tutulmaya çalışılan ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık siklusu sağlanacak şekilde özel olarak hazırlanmış odada deneysel uygulamaya kadar beslenme tarzları değiştirilmeden tutuldu.

#### 3.2. Yöntem

##### 3.2.1. STZ'nin hazırlanması

Deneysel olarak diyabet oluşturmak için seçilen STZ pH'ı 4 olacak şekilde hazırlanan sitrat tamponu içerisinde hazırlandı.

##### 3.2.2. Deneysel uygulamalar

Diyabette antioksidan etkisi olduğu bilinen maddelerin etkilerinin incelenmesi için sıçanlar 5 gruba ayrılmış ve her bir grupta 6 sıçanın bulunduğu deney protokolü oluşturuldu.



1. **Grup:** Kontrol grubu (n= 6, erkek)
2. **Grup:** STZ (diyabetik) grubu (n= 6, erkek)
3. **Grup:** STZ+ Resveratrol (n= 6, erkek)
4. **Grup:** STZ+ NADH (n= 6, erkek)
5. **Grup:** STZ+ VOL (n=6, erkek)

Sıçanlar rastgele yukarıdaki gibi gruplara ayrıldıktan sonra ayrı ayrı kafeslere konuldu. Kontrol grubu hariç diğer gruplara intraperitoneal olarak streptozotosin (65mg/kg) uygulandı. Uygulamadan 2 gün sonra açlık kan şekeri seviyesi 200 mg/dl olan sıçanlar diyabetik kabul edildi ve rastgele gruplara ayrıldı. Diyabetik ve kontrol grup hariç diğer gruplara gün aşırı olarak madde uygulamaları (Resveratrol, NADH, VOL) yapıldı ve bu süre boyunca açlık kan şekerleri ve ağırlıkları kaydedildi. Diyabetik gruba ise sadece serum fizyolojik verildi. 15 günlük deney süresinden sonra desikatörde CO<sub>2</sub> gazı ile öldürülüp beyin dokusu uygun şekilde alınarak phosphate buffered saline (PBS) ile yıkandıktan sonra analizler yapılana kadar -80 °C'de tutuldu.

**1.Grup; Kontrol grubu:** 6 adet erkek sıçandan oluşan bu gruba deney süresince serum fizyolojik intraperitoneal yolla verildi. Deney gruplarıyla beraber bunların da açlık kan şekerleri ve ağırlıkları ölçülerek tabloya kaydedildi. 15 günün sonunda desikatörde CO<sub>2</sub> gazı ile öldürülüp beyin uygun şekilde alınarak phosphate buffered saline ile yıkandıktan sonra analizler yapılana kadar -80 °C'de tutuldu.

**2.Grup; Diyabetik (STZ) grup:** 6 adet erkek sıçandan oluşan bu gruba deney süresince serum fizyolojik intraperitoneal yolla verildi. Deney gruplarıyla beraber bunların da açlık kan şekerleri ve ağırlıkları ölçülerek tabloya kaydedildi. 15 günün sonunda desikatörde CO<sub>2</sub> gazı ile öldürülüp beyin uygun şekilde alınarak phosphate buffered saline ile yıkandıktan sonra analizler yapılana kadar -80 °C'de tutuldu.

**3.Grup; STZ+Resveratrol:** 6 adet erkek sıçandan oluşan bu gruba deneyin başlangıcından itibaren resveratrol (10 mg/kg) intraperitoneal yolla verildi. Deney gruplarıyla beraber bunların da açlık kan şekerleri ve ağırlıkları ölçülerek tabloya

kaydedildi. 15 günün sonunda desikatörde CO<sub>2</sub> gazı ile öldürülüp beyin uygun şekilde alınarak phosphate buffered saline ile yıkandıktan sonra analizler yapılana kadar -80 °C’de tutuldu.

**4.Grup; STZ+NADH:** 6 adet erkek sıçandan oluşan bu gruba deneyin başlangıcından itibaren NADH (10 mg/kg) intraperitoneal yolla verildi. Deney gruplarıyla beraber bunların da açlık kan şekerleri ve ağırlıkları ölçülerek tabloya kaydedildi. 15 günün sonunda desikatörde CO<sub>2</sub> gazı ile öldürülüp beyin uygun şekilde alınarak PBS ile yıkandıktan sonra analizler yapılana kadar -80 °C’de tutuldu.

**5.Grup; STZ+VOL:** 6 adet erkek sıçandan oluşan bu gruba deneyin başlangıcından itibaren VOL (10 mM/kg) intraperitoneal yolla verildi. Deney gruplarıyla beraber bunların da açlık kan şekerleri ve ağırlıkları ölçülerek tabloya kaydedildi. 15 günün sonunda desikatörde CO<sub>2</sub> gazı ile öldürülüp beyin uygun şekilde alınarak phosphate buffered saline ile yıkandıktan sonra analizler yapılana kadar -80 °C’de tutuldu.

### **3.2.3. Beyin dokusunun alınması ve hazırlanması**

Streptozotosin uygulandıktan 15 gün sonra dekapite edilen hayvanların beyin kafatası dikkatlice açıldı ve beyin kısmı tüm olarak alındı. PBS ile yıkandıktan sonra üzerindeki fazla suyun uzaklaştırılması için kurutma kağıdı ile kurutulduktan sonra önceden daraları alınmış olan tüplere alınarak analizler yapılana kadar zaman kaybedilmeden -80 °C’de muhafaza edildi.

### **3.2.4. Beyin dokusundan MDA analizi**

Beyin dokusunda bulunan sinir hücrelerinin izolasyonda yer alan yağ dokusunda meydana gelen hasarı belirlemek için Liaudet ve ark. kullanmış olduğu yöntem kullanıldı.

Önceden tartılan beyin örnekleri 1/10 oranında potasyum klorür ile homojenizasyonları yapıldı. Bu homojenattan 200 µl alınarak üzerine %0,8 lik tiyobarbütik asit, % 8,1 lik sodyum dodesil sülfat, % 20’lik asetik asit ve saf su

ilave edildi. 90 °C’de ki su banyosunda 45 dakika bekletilen tüpler oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı ve 10.000 g de 10 dk santrifüj edildi. Süpernatant mikrotellere alınarak 532 nm de okuması yapıldı. Beyin homojenatlarındaki MDA miktar tayini, kalibrasyon eğrisine göre hesaplandı.

### **3.2.5. Beyin dokusunda GSH analizi**

Beyin dokusunda GSH ölçümü Liaudet ve ark. (2000) kullanmış olduğu yöntem göre yapıldı.

Tartılıp deney tüplerine alınan beyin örnekleri % 5’lik sülfosalisilik asit içerisinde 1/10 oranında seyreltilerek homojenize edildi. 10.000 g de 20 dk homojenize edilen örneklerin süpernatant kısmından 20 µl alınarak üzerine 0.3 M sodyum hidrojen fosfat ve % 1 lik sodyum sitrat içerisinde hazırlanmış % 0.04 lük 5,5’ dithiobis ilave edildi. 10 dk inkubasyon sonunda mikrotellere alınan örnekler 405 nm de okundu. Örneklerin GSH miktarı, redükte GSH kullanılarak oluşturulan standart grafiğine göre mg/GSH olarak hesaplanmıştır.

### **3.2.6. DNA fragmentasyon (Apoptozis) analizi**

Bu çalışma için Roche firmasına ait Apoptotic DNA ladder kit kullanıldı. Kit manüeline geçilmeden önce ağırlıkları bilinen dokular SDS, NaCl, ve Tris EDTA dan oluşan lysis buffer ile 1/10 oranında seyreltilerek IKA T10 ULTRA-TURRAX marka bıçaklı homejenizator kullanılarak homojenize edildi. Bu aşamadan sonra kit prosedürü izlenildi ve 50 µl elüsyon buffer içinde stok DNA elde edildi. Stok DNA dan alınan örnekler DNA yükleme boyası ile karıştırılarak önceden hazır olan Mini-PROTEAN precast (Bio-Rad) jelin her yuvasına 10 µl örnek yüklenerek dikey elektroforezde 1XTBE’de 150 V’de yaklaşık 40 dakika yürütüldü ve Bio-Rad Chemidoc görüntüleme sisteminde jel görüntüsü alındı.

### **3.2.7. Nitrik oksit analizi**

Bu çalışmada Abcam firmasına ait Nitric Oxide Assay Kit (Colorimetric) kullanıldı. Önceden tartımları yapılan beyin dokuları 1/10 oranında pro-prep protein extraction solüsyonu (ABC scientific) ile bıçaklı homojenizatörde homojenizasyon yapıldı. Daha sonra örnekler 13.000 rpm de 10 dk santrifüj edildi. Protein miktarı yüksek örneklerin hatalı sonuçlar oluşturmasını engellemek için örnekler 10 kDa (Amicon- Milipore) filitre tüplerinden geçirilerek proteinlerin uzaklaştırılması sağlandı. Örneklerle çalışmaya başlamadan önce standart grafiğinin çizilmesi için 1mM'lık nitrit standartı hazırlandı. Bu standartlar mikropate alınarak istenen konsantrasyonlar oluşturuldu. Daha sonra standart ve örneklere nitrat redüktaz ve enzim kofaktörü eklenerek ortamdaki nitratin nitrite dönüşümü sağlandı. Ortama enhancer (pekiştirici) eklendi. Bu aşamadan sonra ortamdaki nitrit ile reaksiyona girerek renkli bileşik oluşumunu sağlayan GRIESS reaktifleri eklendi ve renk oluşumu 540 nm de okunarak alınan sonuçlar hesaplamada kullanıldı.

### 3.2.8. Protein karbonil analizi

Önceden tartımları yapılan beyin dokuları 1/10 oranında pro-prep protein ekstraksiyon solüsyonu ile bıçaklı homojenizatörde homojenize edildi. Daha sonra örnekler 10 dk inkübe edildi ve 13000 rpm de 10 dk santrifüj edildi. Örnekler içinde yer alan nükleik asitleri çöktürmek için tüplere streptomisin ilave edildi. Örnekler 15 dk bekletildikten sonra 13000 g de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatantlar ikiye ayrılarak birinci kısım protein karbonil ikinci kısım ise protein miktarının belirlenmesi için kullanıldı. Protein karbonil analizi şu şekilde devam etmiştir:

- Saf su ile 300 µl'ye tamamlanan örneklere % 20'lik TCA eklendi.
- 500g de 2 dk santrifüj edildi.
- Süpernatantlar döküldü.
- Tüpler kontrol ve örnek olarak ikiye ayrıldı.
- Örnek grubuna 0,5 ml DNPH, kontrol grubuna ise 0,5 ml HCl eklendi.
- Sonikatörde parçalama yapıldı ve 10 dk inkübe edildi.
- Her örneğe 0,5 ml TCA eklendi.

- Tüpler 5 dk buzda bekletildi, ardından +4 °C'de 5000 g de 2 dk santrifüj edildi.
- Süpernatantlar döküldü.
- 1 ml 1/1 oranında etil asetat etanol çözeltisi eklendi.
- Süpernatantlar döküldü.
- 1 ml 1/1 oranında etil asetat etanol çözeltisi eklendi.
- Süpernatantlar döküldü.
- Peletler üzerine 1 ml Guanidin-HCl 500 mM KPO<sub>4</sub> pH 2,5 eklendi ve tüm örnekler vortekslendi.
- 5000 g de 3 dk santrifüj edildi.
- Tüm örnekler mikropleytlere yüklenerek 370 nm de okuma yapıldı.

Protein analizi ise Abcam marka BCA Protein Quantification kiti ile yapıldı. 1 mg/ml stok solüsyondan değişik konsantrasyonlarda standartlar hazırlandı. Daha sonra bakır içeren çalışma solüsyonu ile standartlar karıştırıldı ve 50 °C de 60 dk inkübe edildi. Standart grafiğindeki absorbanslara göre protein miktarları hesaplandı.

### **3.3. İstatistiksel Yöntemler**

Sonuçlar ortalama  $\pm$ SD olarak verildi. İstatistik değerlendirmeler için grupların dağılımı paired Student's t test ile incelendi.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

### 4.1. Araştırma Bulguları

Çalışmada sırasıyla kontrol grubu  $180,83 \pm 1,74$  g (n=6), diyabetik grubu  $178,33 \pm 1,33$  g (n=6), resveratrol grubu  $178,33 \pm 1,33$  g (n=6), NADH grubu  $182,00 \pm 1,13$  g (n=6), VOL grubu  $179,83 \pm 1,87$  g (n=6) olmak üzere erkek şıçanlar kullanıldı.

Grupların beyin dokusunda bulunan indirgenmiş glutatyon (GSH), nitrik oksit (NO<sup>•</sup>), protein miktarı, protein karbonil (PCO), Malondialdehit (MDA) BMG Labtect FLUOStar Omega cihazı yardımı ile ölçülüp kaydedildi.

Grupların beyin dokusunda apoptotic DNA Ladder kit ile apoptoze bakılıp ‘‘Mini-PROTEAN precast gel’’ de yzrlerek Bio-RAD Chemidoc cihazı yardımı ile görüntü elde edilmiştir.

#### 4.1.1. Ağırlık değişimi:

Çizelge 4.1. Deney süresi boyunca gruplardaki ağırlık değişimi (gram)

	0. Gün	1. Gün	4. Gün	7. Gün	10. Gün	13. Gün	15. Gün
<b>K</b>	$180,83 \pm 1,74$	$180,83 \pm 1,74$	$180,83 \pm 1,74$	$181,17 \pm 1,78$	$181,50 \pm 1,77$	$181,67 \pm 1,86$	$181,67 \pm 1,86$
<b>D</b>	$178,33 \pm 1,33$	$174,67 \pm 1,05$	$170,33 \pm 1,15$	$167,83 \pm 1,01$	$165,50 \pm 1,23$	$160,50 \pm 1,09$	$156,83 \pm 1,49$
<b>R</b>	$178,33 \pm 1,33$	$175,17 \pm 1,19$	$172,00 \pm 1,44$	$169,33 \pm 1,28$	$167,17 \pm 1,58$	$164,83 \pm 1,49$	$162,67 \pm 1,26$
<b>N</b>	$182,00 \pm 1,13$	$179,00 \pm 1,13$	$175,67 \pm 0,95$	$172,17 \pm 1,25$	$169,50 \pm 1,06$	$167,00 \pm 1,13$	$164,17 \pm 1,19$
<b>V</b>	$179,83 \pm 1,87$	$175,67 \pm 2,14$	$171,83 \pm 2,41$	$169,33 \pm 2,51$	$169,33 \pm 2,51$	$162,67 \pm 2,44$	$160,00 \pm 2,44$

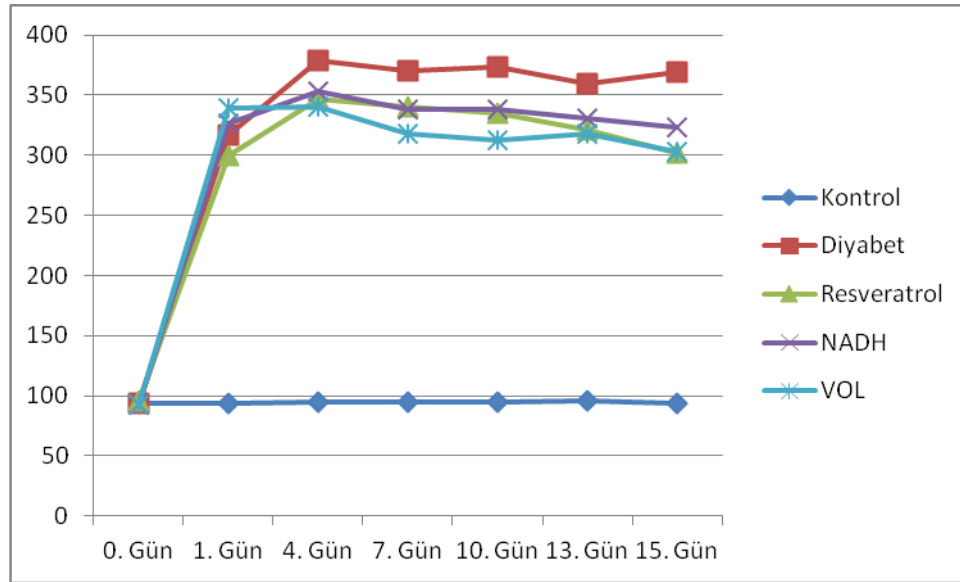
Çizelge 4.2. Deney sonuna kadar kaybedilen net ağırlık ve yüzdesi

Gruplar	İlk ağırlık(g)	Son ağırlık(g)	Fark(g)	% g değişim
<b>K</b>	180,83	181,67	0,84	0,46
<b>D</b>	178,33	156,83	-21,5	-12,06
<b>R</b>	178,33	162,67	-15,66	-8,78
<b>N</b>	182	164,17	-17,83	-9,80
<b>V</b>	179,83	160	-19,83	-11,03

## 4.1.2. Glikoz değişim

Çizelge 4.3. Deney süresi boyunca grupların glikoz miktarları (mg/dl)

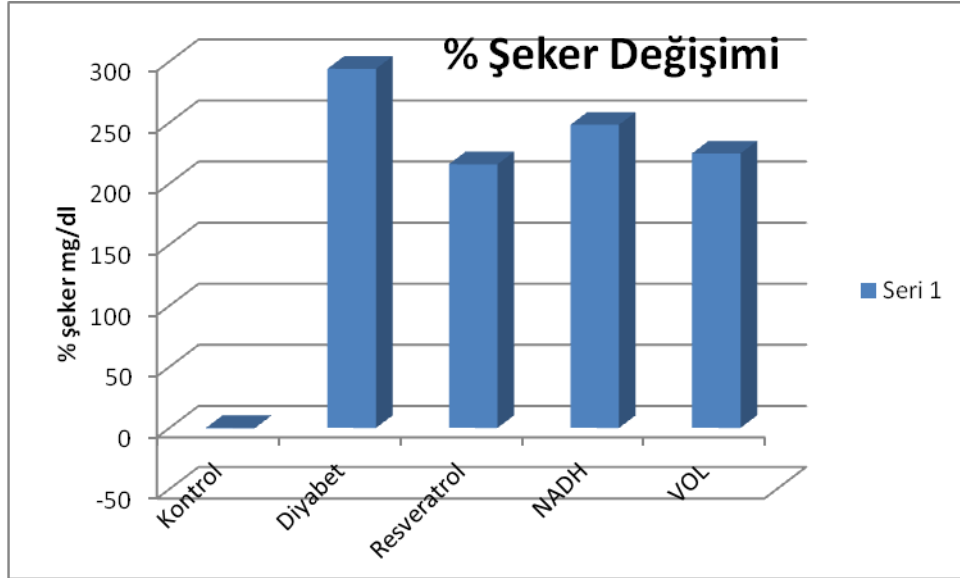
	0. Gün	1. Gün	4. Gün	7. Gün	10. Gün	13. Gün	15. Gün
<b>K</b>	93,83±3,3	93,5±3,34	94,67±3,9	94,5±3,76	94,33±3,22	96,17±4,15	93,5±2,86
<b>D</b>	93,83±3,66	316,7±11,5	378,8±17	370±19	373,2±18,4	359,2±13,4	369,7±15,4
<b>R</b>	95,67±3,13	299,33±7,87	347,2±16,7	340,5±15,7	334,5±9,26	320,83±5,83	302,17±8,32
<b>N</b>	92,83±3,75	326,5±15,9	353,2±14,7	338,3±11,3	337,7±11	330,3±13,6	323,17±6,46
<b>V</b>	93,17±3,23	339,2±14,6	340,83±9,13	317,67±8,15	312,33±7	317,83±4,83	302,5±4,49



Şekil 4.1: Deney gruplarının şeker değişimi (mg/dl)

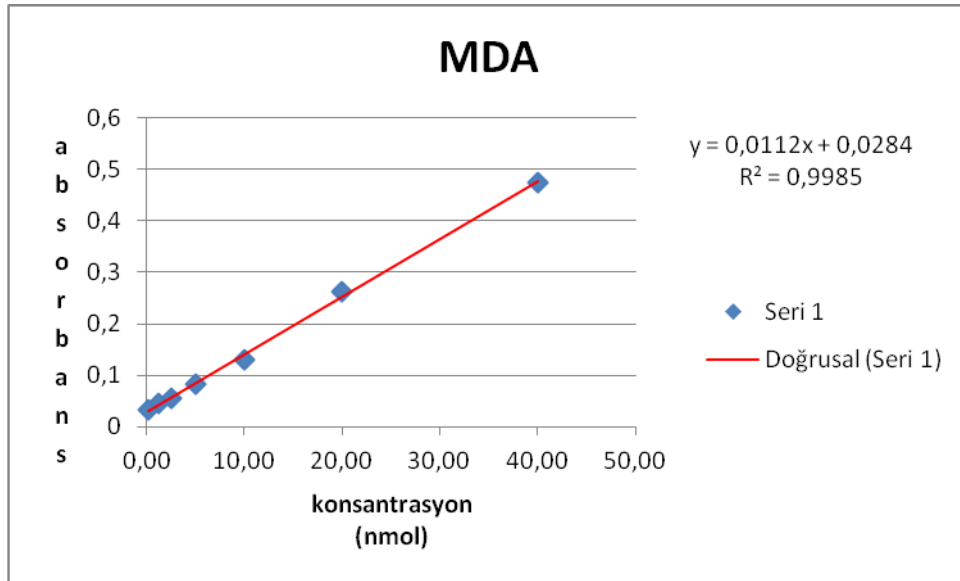
Çizelge 4.4. Deney başlanğıcında ve sonunda şeker miktarı ve yüzdesi (mg/dl)

Gruplar	İlk ölçüm(mg/dl)	Son ölçüm(mg/dl)	Fark(mg/dl)	% mg/dl değişim
<b>K</b>	93,83	93,5	-0,33	-0,35
<b>D</b>	93,83	369,7	275,87	294,01
<b>R</b>	95,67	302,17	206,5	215,85
<b>N</b>	92,83	323,17	230,34	248,13
<b>V</b>	93,17	302,5	209,33	224,68



Şekil 4.2: Deney gruplarının % şeker değişimi (mg/dl)

#### 4.1.3. MDA analizi sonuçları:

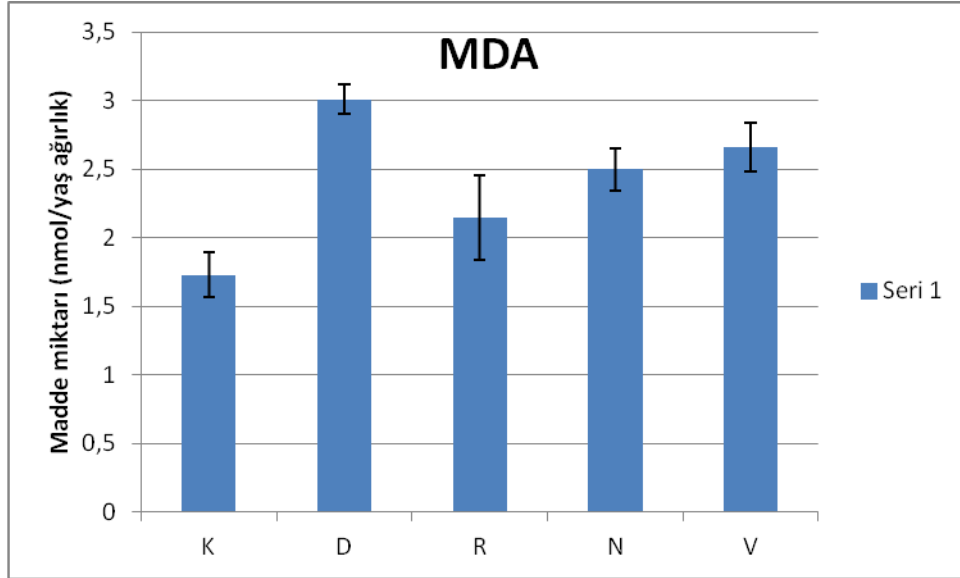


Şekil 4.3: MDA standartlarından elde edilen değerler ve kalibrasyon eğrisi



Çizelge 4.5: Beyin dokusunda MDA değerleri (nmol/g doku yaş ağırlık)

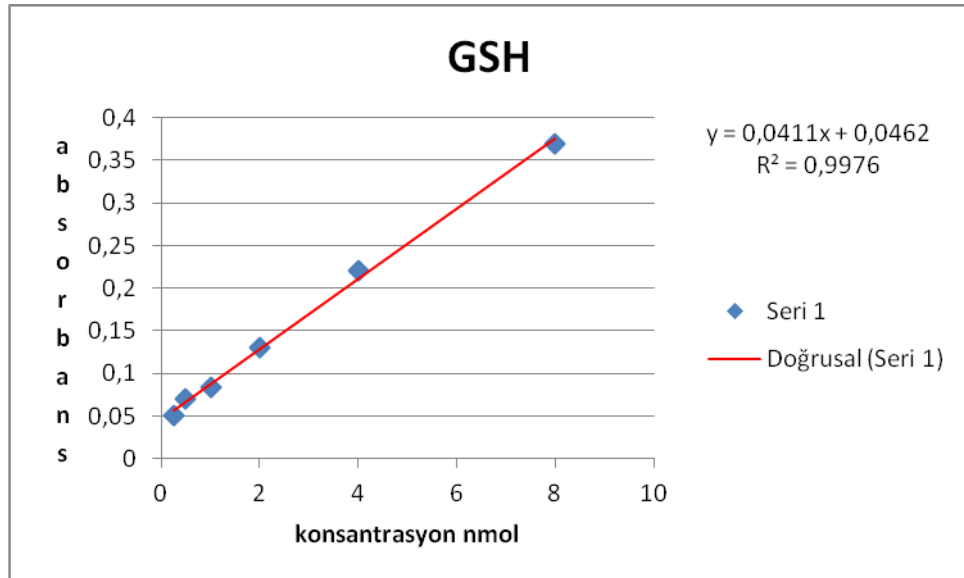
Grup	Absorbans	Madde miktarı (nmol/g yaş ağırlık)	Ortalama (nmol/g dokuyaş ağırlık)
K	0,31	1,09	1,73±0,160
K	0,62	2,31	
K	0,49	1,79	
K	0,50	1,83	
K	0,47	1,71	
K	0,46	1,66	
D	0,74	2,76	3,01±0,104
D	0,75	2,78	
D	0,80	2,99	
D	0,82	3,08	
D	0,92	3,46	
D	0,80	3,00	
R	0,47	1,73	2,15±0,309
R	0,56	2,05	
R	0,56	2,07	
R	0,43	1,55	
R	0,51	1,85	
R	0,97	3,64	
N	0,60	2,22	2,50±0,153
N	0,82	3,07	
N	0,71	2,66	
N	0,70	2,62	
N	0,54	2,00	
N	0,66	2,43	
V	0,81	3,02	2,66±0,178
V	0,85	3,18	
V	0,74	2,78	
V	0,53	1,96	
V	0,66	2,45	
V	0,69	2,59	



Şekil 4.4: Deney gruplarının MDA miktarı (nmol/g doku yaş ağırlık)

#### 4.1.4. GSH analizi sonuçları:

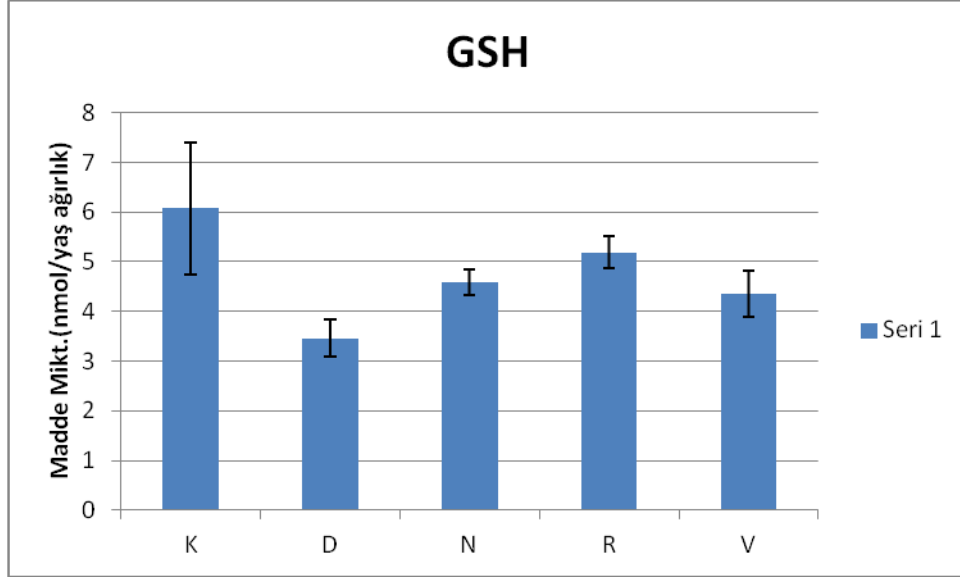
Standart GSH kullanılarak hazırlanan örneklerle kalibrasyon eğrisi çizildi ve bu grafiğe göre hesaplamalar yapıldı.



Şekil 4.5: GSH standartlarından elde edilen değerler ve kalibrasyon eğrisi.

Çizelge 4.6: Beyin dokusunda GSH değerleri

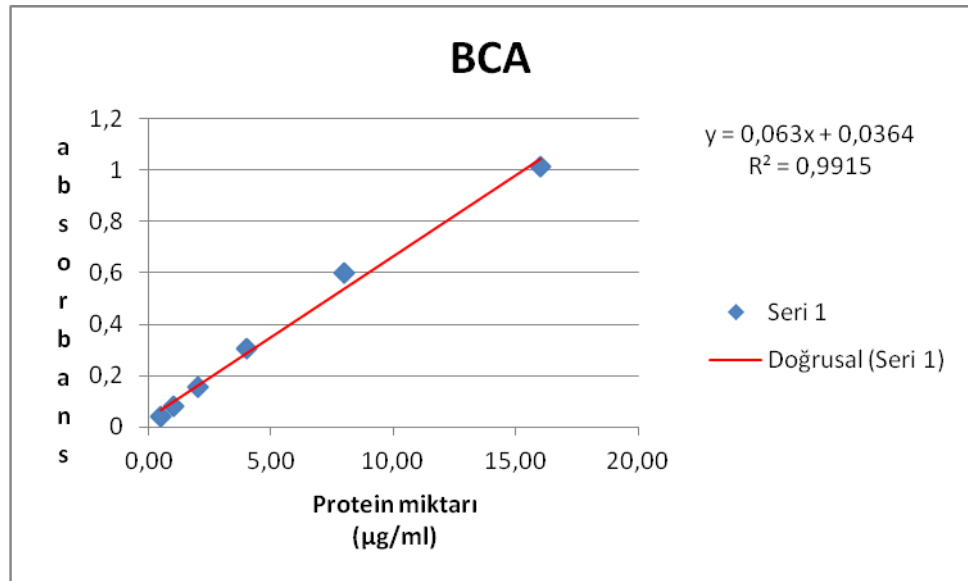
Grup	Absorbans	Madde miktarı (nmol/g doku yaş ağırlık)	Ortalama (nmol/g doku yaş ağırlık)
K	0,16	5,75	6,07±1,32
K	0,09	2,33	
K	0,18	6,49	
K	0,29	11,86	
K	0,13	4,05	
K	0,17	5,93	
D	0,11	2,93	
D	0,13	3,88	
D	0,14	4,63	
D	0,12	3,72	
D	0,12	3,64	
D	0,11	2,93	
N	0,13	4,06	4,59±0,26
N	0,14	4,53	
N	0,14	4,73	
N	0,13	3,90	
N	0,14	4,56	
N	0,16	5,73	
R	0,14	4,68	
R	0,17	5,96	
R	0,14	4,74	
R	0,13	4,27	
R	0,18	6,36	
R	0,15	5,15	
V	0,17	5,93	4,35±0,46
V	0,13	3,98	
V	0,16	5,42	
V	0,11	2,86	
V	0,13	3,83	
V	0,13	4,08	



Şekil 4.6: Deney gruplarının GSH miktarı (nmol/g doku yaş ağırlık)

#### 4.1.5. Protein karbonil (PCO) analizi sonuçları:

Beyin dokusundaki protein karbonil miktarını belirlemek için öncelikle protein miktarı belirlendi. Protein seviyeleri mikropilaka okuyucuda 562 nm dalga boyunda okunarak absorbans değerleri kaydedildi



Şekil 4.7: Protein standartlarından elde edilen değerler ve kalibrasyon eğrisi.

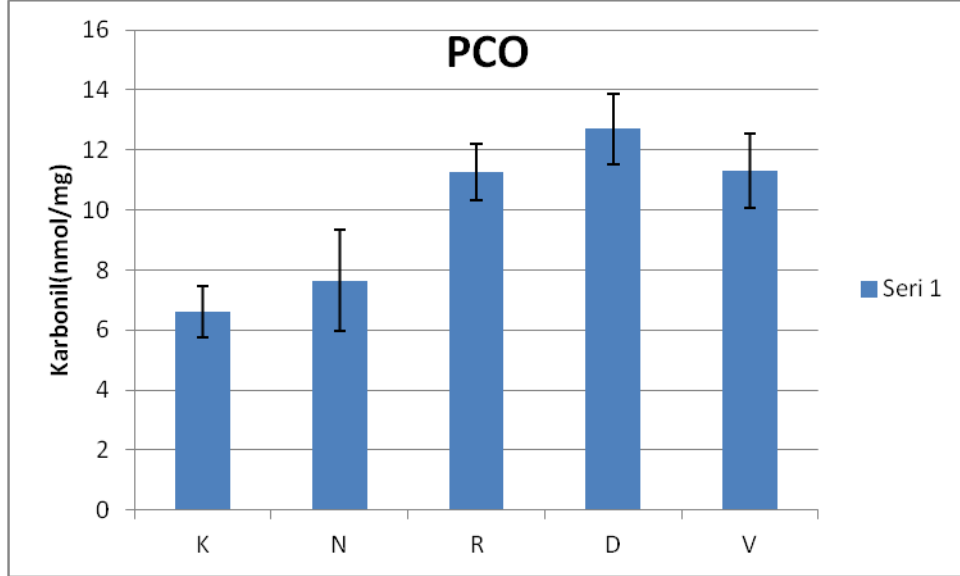
Çizelge 4.7: Beyin dokusunda protein değerleri

Grup	Ortalama Absorbans	Madde miktarı (µg/ml)	Ortalama (µg/ml)
K	0,11	1,09	1,27± 0,0489
K	0,12	1,25	
K	0,11	1,20	
K	0,12	1,36	
K	0,13	1,42	
K	0,12	1,33	
N	0,12	1,37	1,59± 0,0974
N	0,13	1,55	
N	0,17	2,04	
N	0,14	1,64	
N	0,13	1,49	
N	0,13	1,45	
R	0,13	1,53	1,73± 0,143
R	0,12	1,28	
R	0,17	2,06	
R	0,13	1,45	
R	0,16	2,03	
R	0,17	2,04	
D	0,12	1,30	1,47± 0,0664
D	0,14	1,66	
D	0,14	1,60	
D	0,13	1,50	
D	0,13	1,50	
D	0,12	1,25	
V	0,12	1,37	1,65± 0,0637
V	0,14	1,60	
V	0,15	1,83	
V	0,15	1,72	
V	0,14	1,71	
V	0,14	1,64	

Beyin dokusu PCO seviyeleri mikropilaka okuyucuda 370 nm dalga boyunda okunarak absorbans değerleri kaydedildi.

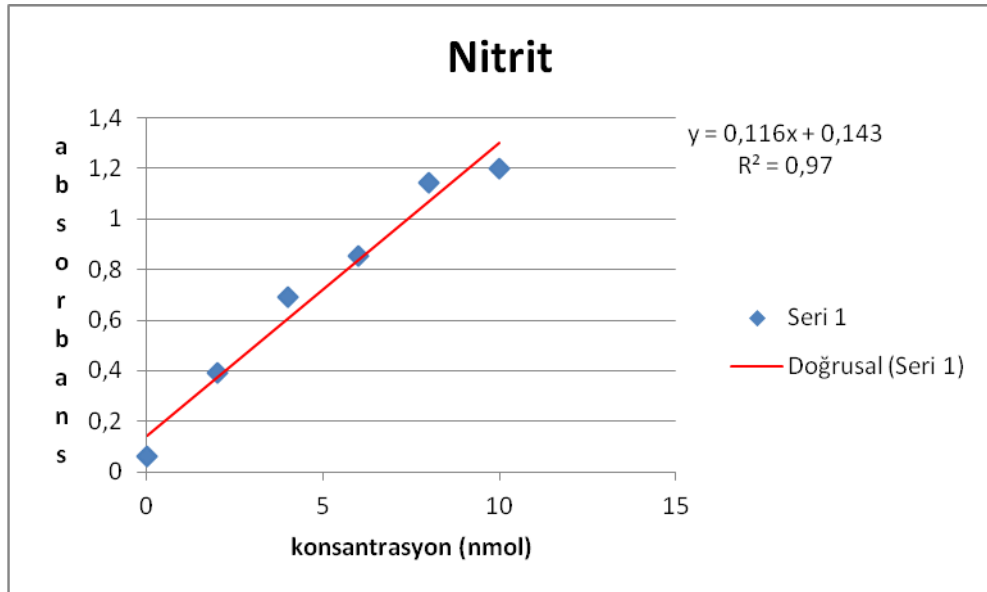
Çizelge 4.8: Beyin dokusunda protein karbonil (nmol karbonil/mg protein) değerleri

Grup	Karbonil absorbans	Karbonil (nmol karbonil/mg protein)	Ortalama (nmol karbonil/mg protein)
K	0,011	9	6,61±0,859
K	0,008	5,76	
K	0,011	8,32	
K	0,012	8	
K	0,007	4,5	
K	0,006	4,08	
N	0,001	0,58	7,65±1,70
N	0,017	9,02	
N	0,017	7	
N	0,022	12,12	
N	0,01	6,04	
N	0,018	11,16	
R	0,012	7,04	11,27±0,959
R	0,018	12,6	
R	0,028	12,38	
R	0,022	13,78	
R	0,025	11,12	
R	0,024	10,68	
D	0,015	10,46	12,7±1,17
D	0,019	10,36	
D	0,017	9,62	
D	0,027	16,26	
D	0,025	15	
D	0,02	14,5	
V	0,017	11,14	11,3±1,25
V	0,01	5,62	
V	0,023	11,36	
V	0,027	14,42	
V	0,025	13,28	
V	0,022	12,12	



Şekil 4.8: Deney gruplarının PCO değerleri (nmol karbonil/mg protein)

#### 4.1.6. Nitrik oksit analizi sonuçları:

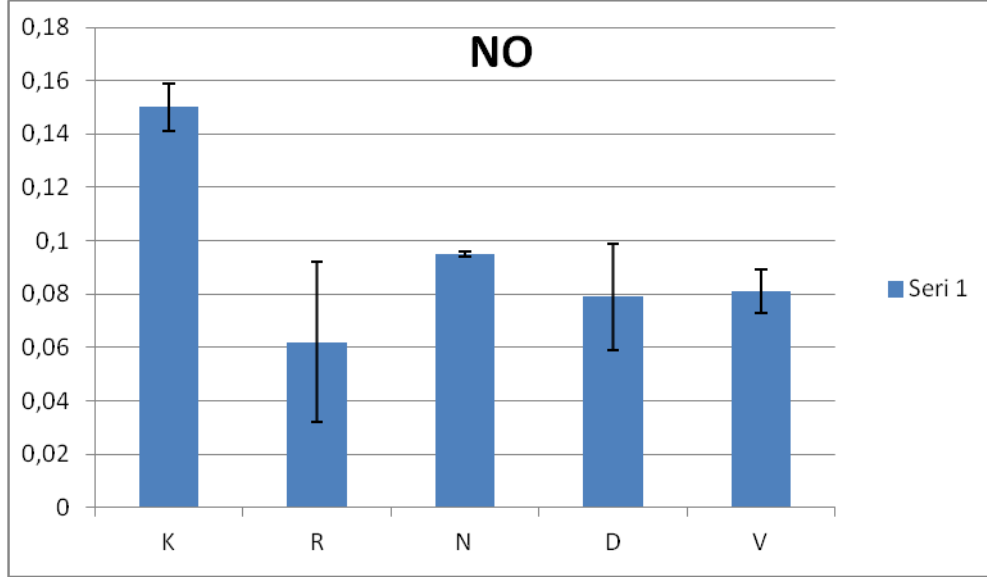


Şekil 4.9:Nitrit standartından elde edilen değerler ve kalibrasyon eğrisi.

Çizelge 4.9: Beyin dokusunda nitrik oksit değerleri

Grup	Absorbans	Madde Miktarı(nmol/ $\mu$ l)	Ortalama
K	0,317	0,176471	0,15095 $\pm$ 0,00918
K	0,312	0,1714	
K	0,272	0,130832	
K	0,289	0,148073	
K	0,3	0,159229	
K	0,261	0,119675	
R	0,239	0,097363	0,0625 $\pm$ 0,0318
R	0,165	0,022312	
R	0,232	0,090264	
R	0,198	0,055781	
R	0,222	0,080122	
R	0,172	0,029412	
N	0,236	0,09432	0,09500 $\pm$ 0,00116
N	0,242	0,100406	
N	0,235	0,093306	
N	0,237	0,095335	
N	0,236	0,09432	
N	0,234	0,092292	
D	0,272	0,130832	0,0791 $\pm$ 0,0206
D	0,282	0,140974	
D	0,196	0,053753	
D	0,186	0,043611	
D	0,233	0,091278	
D	0,157	0,014199	
V	0,247	0,105477	0,08181 $\pm$ 0,00833
V	0,228	0,086207	
V	0,191	0,048682	
V	0,237	0,095335	
V	0,229	0,087221	
V	0,21	0,067951	



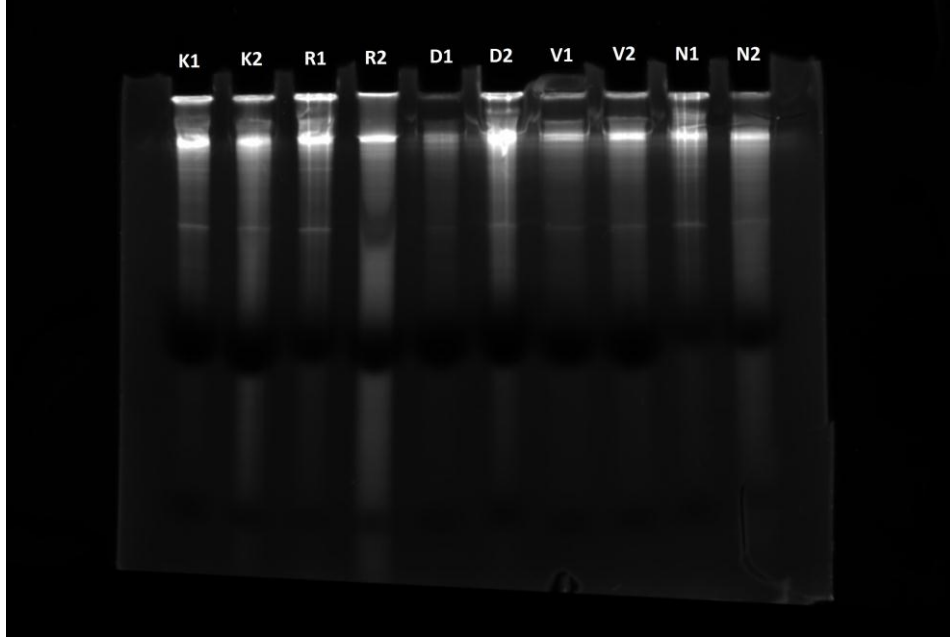


Şekil 4.10: Deneş gruplarının NO değerleri (nmol/ $\mu$ l).

Grupların beyin nitrik oksit seviyelerindeki değişimler incelendiğinde istatistikî olarak anlamlı bulunmuştur.

#### 4.1.7. DNA fragmentasyonu (Apoptozis) analizi sonuçları:

Apoptozisin en önemli özğün yönü DNA'nın internukleozomal bölgelerden yaklaşık 180-200 baz çifti veya bunun katları boyutunda DNA parçaları oluşturacak şekilde parçalanmasıdır. Küçük molekül yapısına sahip DNA bantları ağır olanlardan daha hızlı bir şekilde hareket ettiğinden daha hızlı bir şekilde ilerler. Bu durum agaroz jel elektroforezinde merdiven görüntüsünün ortaya çıkmasına neden olur.



Şekil:4.11: Beyin dokusu apoptozis görüntüsü (K: Kontrol, R: Resveratrol, D: Diyabet, V: VOL, N: NADH)

#### 4.2. Tartışma

Hiperglisemi ile oksidatif stres arasında yakın bir ilişki olduğu görüşü *in vivo* çalışmalar ile de desteklenmiştir. Deneysel diyabet oluşturmak için kullanılan streptozotosin, oksidan maddeler meydana getirerek langerhans adacıklarını selektif olarak tahrip etmektedir (Altan ve ark., 1998; Das ve Chainy, 2001). Diyabetik hastaların uzun süreli yüksek kan glukoz konsantrasyonlarına maruz kalmaları oksidatif stresi arttırır ve antioksidan savunma sistemlerinde değişimlere sebep olur. (Altan ve ark., 2006).

Deney sonunda grupların ağırlık değişimlerine bakıldığında diyabet hastalığı sonucunda en belirgin komplikasyonlar arasında yer alan kilo kaybı bizim deney sistemimizde de görülmüştür. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diyabet grubunda % 12 gibi bir düşüş görülmüştür. Ancak madde grupları bu düşüşü kısmı olarak azaltmıştır. Madde grupları arasında ise en yüksek etkiyi resveratrol göstermiştir.

Kan glikoz düzeylerine bakıldığında ise pankreas hücrelerinde oluşturulan doku harabiyeti ile insülin salınımındaki azalmaya bağlı olarak glikoz miktarı

diyabetik grupta gözle görülür derecede artmıştır. Madde uygulamalarından sonra ise düşüşler görülmüştür. Madde grupları arasında en fazla bu etkiyi gösteren grup ise resveratrol grubu olmuştur.

Canlı organizmalarda çeşitli hastalıklar, stres, kimyasal maddeler gibi çeşitli sebeplerden dolayı artan serbest radikallerin yağlara saldırması nedeniyle MDA gibi son ürünler ortaya çıkabilir. Bu gibi zararlı son ürünlerin oluşumunu engellemek için bitkisel, hayvansal ya da sentetik maddeler sıklıkla kullanılmakta ve diyabetle ilişkileri araştırılmaktadır. Bu amaçla yapmış olduğumuz inceleme sonunda diyabet grubu sıçanlarda şeker miktarının yükselmesi nedeniyle ortamda serbest radikal miktarının arttığı daha önceki çalışmalardan bilinmektedir. Bu serbest radikallerin artması ile birlikte MDA seviyesi diyabetik grupta artmıştır. Antioksidan özelliği olan maddelerin verilmesi ile birlikte MDA seviyesinde azalma olmuştur. Ancak bu azalma incelendiğinde resveratrol maddesinde ki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p < 0,05$ ). VOL ve NADH grubu ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Resveratrol grubunun istatistiksel olarak anlamlı bulunmaması ise değerler arasında ki farklılıktan kaynaklanıyor olabilir.

Hücre içerisinde serbest radikal düzeyinin artması ile birlikte karbonhidratlar, proteinler, yağlar ve nükleik asitler üzerinde hasarlar meydana gelmektedir. Diyabet sonrasında da artan serbest radikal miktarı ortamda bulunan antioksidanlar tarafından yok edilmeye çalışır. GSH bu noktada önemli bir göreve sahiptir. Özellikle 3 amino asitten ve kendiliğinden oluşması nedeni serbest radikaller ilk tepki mekanizması içerisinde alır. Bu nedenle bilimsel çalışmada serbest radikallerin etkileri incelenirken GSH başvurulan bir sonuç olmuştur. Bizde bu çalışmada deney gruplarına uygulamış olduğumuz maddelerin sonuçlarını inceleme açısından önemli bir sonuç teşkil eden GSH miktar değişimlerini inceledik.. GSH seviyesine bakıldığında kontrol grubu değerleri arasında yer alan değer nedeni ile standart hata çok artmış ve bu nedenle kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ( $p < 0,05$ ). Ancak diyabetik gruba göre karşılaştırıldığında resveratrol, NADH ve VOL grupları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).

Serbest radikallerin tespiti için kullanılan parametrelerden bir tanesi de NO'tir. NO özellikle nörotransformasyon, vasküler düzenleme ve apoptozis de önemli görev alır. Canlı organizmada oluşan NO hızlı bir şekilde nitrit ve nitrata dönüştürülür. Nitrat ise ortamda Griess reaktifinin bulunması durumunda bu madde ile reaksiyona girerek mor renkli ürünler elde edilir. Gruplar arasında NO değerlerine bakıldığında kontrol grubuna göre kıyaslandığında resveratrol, NADH, VOL gruplarında ki azalma istatikselsel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

Serbest radikallerin proteinlerle etkileşmesi sonucunda amino asitler, peptit omurgası yada tiyol gruplarında hasara neden olur. Özellikle proteinlerin canlı organizmanın temel taşlarını oluşturması enzim, hormon gibi yapılarında protein yapısında olmasıyla bu moleküllerin oksidasyonu önemli hastalıkları tetiklemektedir. Bu amaçla DNPH ortamdaki proteinlerin karbonillenmiş grupları ile reaksiyona girerek renkli birleşikler oluşturur ve bu da kolorimetrik olarak incelenebilir. PCO seviyesine bakıldığında diyabetik grupta bu oranın kontrol grubuna göre arttığı resveratrol, NADH ve VOL uygulaması ile birlikte bu seviyenin düştüğü görülmüştür ve istatikselsel olarak anlamlı bulunmuştur.

Apoptozis hücrelerde yer alan fizyolojik bir olaydır. Ancak ortamda ki serbest radikaller miktarının artması ile birlikte bu fizyolojik olay hızlanmakta ve sağlıklı hücrelere de hasar görebilmektedir. Bu amaçla serbest radikallerin nükleik asitlere etkilerinin incelenmesi için apoptozis miktarının tespiti büyük öneme sahiptir. Bu amaçla DNA fragmantasyonuna bakılarak bu etki hakkında bilgi edinilmeye çalışılmıştır. Jel görüntümüze baktığımızda jel üzerinde oluşan merdiven şeklindeki yapı apoptozis varlığını göstermektedir. Bantlar arasındaki kalınlık farkı da bu olay hakkında bilgi vermektedir.

## 5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

### 5.1. Sonuçlar

*Diabetes mellitus* insülin salgılama yetersizliği ya da insülinin etkili bir şekilde kullanılamaması sonucunda ortaya çıkan kronik bir hastalıktır. Bu hastalık sonucunda kanda şeker konsantrasyonunun artmasına rağmen insülin yetersizliğinden yada etkili şekilde kullanılamaması nedeniyle hücreler glikozu hücre içine alamaz. Enerji üretiminde ilk tercih olan glikoz hücre içine alınmadığında hücreler protein yada yağ moleküllerini parçalamaya başlar. Bu da son ürün olarak aldehit ve keton grubu moleküllerin artmasına bunlara ek olarak glikozun kandaki yüksek konsantrasyonu böbrek, göz, beyin başta olmak üzere birçok dokuya zarar vermektedir (Walter ve ark., 1991). Son yıllarda yapılan çalışmalarda diyabet hastalarının komplikasyonlarının azaltılması için ya da tedavi amaçlı kullanılabilecek bitki ve ilaç araştırmaları hız kazanmıştır. Bizim çalışmamızda daha önce ki çalışmalarda kullanılan maddelerin bir arada incelenmesi açısından önemli bir yere sahip deney ortamı oluşturulmuştur

Yapmış olduğumuz çalışmada STZ enjeksiyonundan sonra şıçanlar da kan şekeri artmıştır. Buna ilaveten takip ettiğimiz ağırlıkları da özellikle diyabet grubunda büyük oranda düşmüştür. Bu durum diyabet gruplarında beklenen bir olaydır. Ayrıca deney gruplarımız da poliüri ve yem tüketimlerinde artış olmuştur. Fakat bunlar deney sonuçları içerisinde yer verilmemiştir. Çünkü bunlar genel diyabet komplikasyonları arasında yer alır.

Deney gruplarımızda ilk dikkat ettiğimiz olaylardan bir tanesi glikoz seviyesinde ki değişikliktir. Diyabet hastalarında da görülen ilk belirtiler arasında yer alan glikoz seviyesi deney gruplarımızda STZ ile oluşturulmaya çalışılmıştır. STZ nin enjeksiyonundan sonra diyabet grubumuzda bariz değişiklik görülmüştür. Resveratrol, NADH ve VOL uygulaması ile bu seviye nispeten biraz daha düşürülmüştür.

Ağırlık değişimleri ise şeker hastalığının bir sonucu şeklindedir. Şeker miktarının yükselmesine rağmen insülin yetersizliği veya insülinin etkili şekilde kullanılamaması

glikozun hücre içine alınamamasına neden olmaktadır. Bunun sonucunda enerji ihtiyacının karşılanması için proteinler ve yağlar kullanılabilen buda kilo kaybının en önemli sebebinin oluşturmaktadır. Deney gruplarında genel olarak düşüş görülmüş ancak vermiş olduğumuz maddeler insülin gibi görev yaparak yada insülin etkisini arttırarak glikozun hücre içine alınmasına yardımcı olmuş ve kilo kaybından diyabet grubuna kıyasla daha az etkilenmişlerdir.

Canlı organizmalarda çeşitli hastalıklar, stres, kimyasal maddeler gibi çeşitli sebeplerden dolayı artan serbest radikallerin yağlara saldırması nedeniyle MDA gibi son ürünler ortaya çıkabilir. Bu gibi zararlı son ürünlerin oluşumunu engellemek için bitkisel, hayvansal ya da sentetik maddeler sıklıkla kullanılmakta ve diyabetle ilişkileri araştırılmaktadır. Bu amaçla yapmış olduğumuz inceleme sonunda diyabet grubu sıçanlarda şeker miktarının yükselmesi nedeniyle ortamda serbest radikal miktarının arttığı, bu amaçla da kulanmış olduğumuz maddelerin etkileri olduğu ve bu etkilerin karşılaştırmalı olarak ortaya konmuştur. Antioksidanlar serbest radikallerin etkilerini azaltır ya da tamamen yok edebilir. Bizim kullandığımız maddelerin de antioksidan özelliği olduğu bilinmektedir. Çalışma sonucunda kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında diyabet grubunda MDA miktarı arttığı ancak kimyasal madde verilen gruplarda azaldığı görülmüştür. Bu maddeler arasında ise resveratrol diğerlerine göre daha fazla etki göstermiştir.

Hücre içerisinde serbest radikal düzeyinin artması ile birlikte karbonhidratlar, proteinler, yağlar ve nükleik asitler üzerinde hasarlar meydana gelmektedir. Bu hasarların önlenmesinde görev alan moleküllerden bir tanesinde GSH dır. Özellikle 3 amino asitten ve kendiliğinden oluşması nedeni serbest radikaller ile ilk tepki mekanizması içerisinde alır. Bu nedenle bilimsel çalışmada serbest radikallerin etkileri incelenirken GSH başvurulan bir sonuç olmuştur. Bizde bu çalışmalarda deney gruplarına uygulamış olduğumuz maddelerin sonuçlarını inceleme açısından önemli bir sonuç teşkil eden GSH kullandık. Kontrol grubu ile diyabet grubu karşılaştırıldığında diyabet grubunun GSH miktarı önemli oranda azalmıştır. Kulanmış olduğumuz maddelerin genel olarak GSH miktarını diyabet grubuna kıyasladığında arttırdığı ve özellikle resveratrolün diğerlerine göre daha etkili olduğu görülmüştür.

Serbest radikallerin tespiti için kullanılan parametrelerden bir tanesi de NO'tir. Özellikle nörotransformasyon, vasküler düzenleme ve apoptozis de önemli görevler alır. Canlı organizmada oluşan NO hızlı bir şekilde nitrit ve nitrata dönüştürülür. Nitrat ise ortamda Griess reaktifinin bulunması durumunda bu madde ile reaksiyona girerek mor renkli ürünler elde edilir. Deney gruplarımızda NO seviyesi diyabet grubunda azaldığı resveratrol, NADH ve VOL kullanımı ile kontrol grubuna yakın değerlere geldiği görülmüştür.

Apoptozis hücrelerde yer alan fizyolojik bir olaydır. Kanseri, diyabet, AIDS, iskemi gibi hastalıkların başlangıcında apoptozis sonucu aşırı vezikül artışı olduğundan immün sistem bunları yok etmede yetersiz kalabilir ve sonuçta apoptozis mekanizması belli bir aşamadan sonra işleyemez hale gelir. Böylece patolojik durumlar ortaya çıkar (Dilsiz, 2009). Bu amaçla serbest radikallerin nükleik asitlere etkilerinin incelenmesi için apoptozis miktarının tespiti büyük öneme sahiptir. Bu nedenle DNA fragmentasyonuna bakılarak bu etki hakkında bilgi edinilmeye çalışılmıştır. Kendi deney setimizde gözlemlediğimiz apoptozis sonuçlarında diyabet gruplarında oluşan apoptozis miktarının arttığı, madde gruplarımızda ise bu oranın düşürüldüğü görülmüştür. Özellikle hücre bölünmesi sırasında meydana gelen organizmada hastalıkların yanı sıra fizyolojik süreçte de yer alır.

Serbest radikallerin proteinlerle etkileşmesi sonucunda amino asitler, peptit omurgası yada tiyol gruplarında hasara neden olur. Özellikle proteinlerin canlı organizmanın temel taşlarını oluşturması enzim, hormon gibi yapılarında protein yapısında olmasıyla bu moleküllerin oksidasyonu önemli hastalıkları tetiklemektedir. Bu amaçla DNPH ortamdaki proteinlerin karbonilleşmiş grupları ile reaksiyona girerek renkli birleşikler oluşturur ve bu da kolorimetrik olarak incelenebilir. Protein karbonil seviyesine bakıldığında diyabet grubunda bu seviyenin oldukça fazla olduğu, uygulanan kimyasal maddeler ile birlikte bu durumun azaldığı görülmüştür.

## 5.2. Öneriler

Bu çalışmada genellikle siyah üzümde elde edilen resveratrol, bir koenzim olan NADH ve kimyasal yolla elde edilen VOL maddelerinin diyabet üzerine olan etkilerini karşılaştırmalı olarak araştırmaya çalıştık. Deney sonuçlarımıza göre özellikle diyabet sonucunda kanda şeker miktarının aşırı yükselmesi ile birlikte bir çok doku ve organ hasar görmekte bu da

kişilerin yaşam kalitelerini olumsuz etkilemektedir. Ayrıca bu hastalıkların tedavi süresince tedavi masrafları devlet üzerinde ekstra giderlere sebep olmaktadır. Bu amaçla son yıllarda gerek devlet, gerekse özel kurum, kuruluş ve dernekler aracılığı ile diyabet tanıtımı, kilo kontrolü, diyabet hastalarına biliçlendirmek üzere bir çok toplantılar düzenlenmektedir. Bilimsel çalışmalarla bu olaylar desteklenmeye çalışılmaktadır. Son yıllarda diyabet üzerine yapılan çalışmaların yanı sıra diyabet sonucu oluşan semptomların azaltılması yada tamamen ortadan kaldırılmasına yönelik çalışmalar devam etmektedir. Bunların bir sonucu olarak ortaya çıkan bitkisel kaynaklı araştırmalar yada sentetik ilaçlar üzerine yönelik çalışmalar artmaktadır. Bizde bu çalışmalara katkıda bulunmak üzere resveratrol, NADH ve VOL maddelerini kullandık. Yaptığımız çalışmada resveratrol diğer maddelerimize göre etki olarak daha fazla ön plana çıkmaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda resveratrolün yaşlanma ve iskemi gibi durumlarda da etkili olduğu görülmüştü. İlaveten NADH ve VOL ün de etkileri görülmüştür. Ancak bu maddelerle ilgili yapılan çalışmaların sayısının artırılması gerekmektedir. Günümüzde resveratrol ve NADH'ın tabletleri ticari olarak satılmaktadır. Ülkemizin bağlık alanlarının fazla ve zengin olması nedeni ile üzüm çeşitlerine yönelik resveratrol miktarları incelenebilir. Resveratrolü bol olan üzümde veya diğer ürünlerden ticari olarak ilaç yapılabilir. Ayrıca pekmez üretimi sırasında atık olarak ayrılan resveratrol miktarı yönünden zengin olan üzüm kabukları bu yönde değerlendirilebilir ve ekonomiye katkı sağlanmış olur.

Ancak her maddenin farklı bireylerde göstereceği etkinin farklı olacağından kesinlikle doktor kontrolü olmadan kullanılmasına dikkat edilmelidir. VOL ise daha yeni bir madde olması nedeni ile daha çok araştırma yapılması gerekmektedir. Özellikle VOL içinde bulunan vanadyum fazla tüketilmesi durumunda toksik etki yaptığı görülmüştür. Bu amaçla daha çok araştırmaya gerek vardır.



## KAYNAKLAR

- ADA(American Diabetes Association), 2005. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, *Diabetes Care*, 28:37-43.
- AKKUŞ, İ., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınları.
- ALKAN, R., 2007. Doğal bitki antibiyotiği: resveratrol.Gıda Teknolojisi Derneği, 32(5): 259-265.
- ALTAN, N., BUĞDAYCI, G., TUTKUN-KOSOVA, F., SANCAK-ÇAYCI, B. and NAZAROĞLU, N. K., 1998. The Influence of the Sulfonylurea Glyburide on Nitric Oxide in Streptozotocin Induced Diabetic Rat. *General Pharmacology* 31(2): 319-321.
- ALTAN, N., SEPİCİ DİNÇEL, A. and KOCA, C., 2006. Diabetes Mellitus and Oxidative Stress. *Turkish Journal of Biochemistry*. 31(2): 51-56.
- ANONİM, 1994. International Diabetes Federation. Triennial Report (1991-1994) and Directory 1984. IDF, 4DRue Washington, 1050 Brussels Belgium.
- ANONYMOUS 2007. Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus, *Diabetes Care*, 30:42-47.
- ANONYMOUS, 2009. International Diabetes Federation. *Diabetes Atlas*, 4th Edition, Brussels.
- ARI, İ. ve GÖKMEN, F. G., 2003. *Sistematik Anatomi*. İzmir Güven Kitabevi, 24:703– 704.
- ARINCI, K. ve ELHAN, A., 2001. *Anatomi–2.cilt*. Ankara Güneş Kitabevi, 212–352.
- ARMSTRONG, D. A., 1998. *Methods in Molecular Biology*. Humana Press.
- BASU, T. K., TEMPLE, N. J. and GARG, M. L., 1999. Antioxidant in Human Health and Disease. New York, CABİ Publishing, department of : 15-17.
- BENZİE, I. F. F., 2003. Evolution of dietary antioxidants. *Comp Biochem Physiol Part A*, 136:113-126.
- BIRKMAYER, J. G. D. and Birkmayer, W., 1991. The coenzyme nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) as biological antidepressive agent: experience with 205 patients. *New Trends Clin Neuropharmacology*, 5:19-25.
- BRIGELIUS – FLOHE R., 1999. Tissue-specific functions of individual glutathione, peroxidases. *Free radical biology and medicine*, 27:951-965
- BODEN G., CHEN, Z., RUIZ, J., VAN ROSSUM G. D. V. and TURCO, S., 1996. Effects of vanadyl sulfate on carbohydrate and lipid metabolism in patients with non-insulin- dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 45:1130-1135
- BOHR, V., ANSON, R. M., MAZUR, S. and DIANOV, G., 1998. Oxidative DNA damage processing and changes with aging. *Toxicology Letters*, 102–103:47–52
- BHOR, V. M., RAGHURAM, N. and SIVAKAMİ, S., 2004. Oxidative damage and altered antioxidant enzyme activities in the small intestine of streptozotocininduced diabetic rats. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 36: 89-97
- CHO, S. Y., PARK, J. Y, PARK, E. M., CHOI, M. S., LEE, M. K., JEON, S. M., JANG, M. K., KIM, M. J. and PARK, Y. B., 2002. Alternation of hepatica antioxidant enzyme activities and lipid profile in streptozotocin-induced

- diabetic rats by supplementation of dandelion water extract. *Clin chim acta*, 317:109-117.
- CROSS, C. E., HALLIWEL, B., BORSH, E. T., PRYOR, W. A., AMES, B. N., SAUL, R. L., McCORD, J. M. and HARMAN, D., 1987. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med*; 107: 526-45.
- CUMHUR, M., 2001. *Temel Anatomi*, METU Press, Ankara, 248-250.
- DAS, K. and CHAINY, G. B. N., 2001. Modulation of Rat Liver Mithochondrial Antioxidant Defense System by Thyroid Hormone. *Biochemica Et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1537(1), 1-13.
- DİLSİZ, N., 2009. *Moleküler Biyoloji*. Palme yayıncılık.146-151.
- DONNE, I. D., ROSSİ, R., GIUSTARİNİ, D., MİLZANİ, A. and COLOMBO, R., 2003. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress *Clinica Chimica Acta*, 329: 23–38.
- DONOVAN, D. S., 2002. *Epidemiology of diabetes and its burden in the World and in the United States. Principles of Diabetes Mellitus*. Kluwer Academic Publishers.
- DOUPIS, J. and VEVES, A., 2008. DPP4 Inhibitors: a new approach in diabetes treatment *Advances in Therapy*, 25:627-643.
- ESTERBAUER, H., SCHAUR, R. J. and ZOLLNER, H., 1991. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radical Biology & Medicine*, 11:81–128.
- GIARDINO, F. J., 2005. Oxygen, oxidative stress, hypoxia and heart failure. *The journal of clinical investigation*, 115:500-508.
- GUTTERIDGE, J. M. and HALLIWELL, B., 1988. The deoxyribose assay: an assay both for 'free' hydroxyl radical and for site-specific hydroxyl radical production. *BBiochem J*, 253:932-3.
- KATAYA, H. A. and Hamza, A. A., 2008. Red Cabbage (*Brassica oleracea*) Ameliorates Diabetic Nephropathy in Rats, 5:7-281.
- KOJO, S., 2004. Vitamin C: basic metabolism and its function as an index of oxidative stres. *Curr med chem*, 11:1041-1064.
- KOOLMAN, J. and ROEHM, K. H., 2005. *Color Atlas of Biochemistry*, Second Edition, New York, 161-234.
- KUMAR, P., and CLARK, M., 2002. Diabetes Mellitus and Other Disorders of Metabolism, In *Clinical Medicine*. Eds.: 1069-1121. WB Saunders.
- LANDIS, G. N. and TOWER, J., 2005. Superoxide dismutase evolution and life span Regulation, *Ech ageing dev.*, 126:365-379.
- LE BOURG, E., 2001. Oxidative stress, aging and longevity in *Drosophila melanogaster*. *FEBS Lett*: 498:183.
- LEELAVINOTHAN, P. and MUNIAPPAN, L., 2004. Protective role of *Scoparia dulcis* plant extract on brain antioxidant status and lipid peroxidation in STZ diabetic male Wistar rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2:4–16.
- LIEBERMAN, M. A. and MARKS, A., 2008. *Marks' Basic Medical Biochemistry: A Clinical Approach*. Lippincott Williams & Wilkins; 3rd edition; 439-57.
- LIMAYE, P. V., RAGHURAM, N. and SIVAKAMI, S., 2003. Oxidative stress and gene expression of antioxidant enzymes in the renal cortex of streptozotocin-induced diabetic rats. *Molecular and Cellular Biochemistry* 243:147-152.

- MONTGOMERY, R., CONWAY, T. W., SPECTOR, A. A. and CHAPPELL, D., 1996. *Biochemistry A Case-Oriented Approach*, 6th ed, The Clarinda Company, St. Lous. Missouri, Çeviri Ed. Altan N, Palme Yayıncılık, Ankara, 13-596.
- ARUOMA, O. I., 1998. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *J Am Oil Chem Soc* 75:199–212.
- ÖNTÜRK, H. ve ÖZBEK, H., 2007. Deneysel diyabet oluşturulması ve kan şeker seviyesinin ölçülmesi. *Genel tıp dergisi* 17:231-236.
- PROKOP, J., ABRMAN, P., SELIGSON, A. L. and SOVAK, M., 2006. Resveratrol and Its glycon piceid are stable polyphenols. *Journal of Medicinal Food*, 9:11-14.
- PRYOR, W. A., 1987. Free radical biology: xenobiotics, cancer, and aging. *Ann N Y Acad Sci* 393: 1-22.8.
- QUINN, L., 2002. Mechanism in the Development of Type II Diabetes Mellitus. *Journal of Cardiovascular Nursing*, 16(2); 1-16.
- SACKS, D., 2005. Karbonhidratlar. In: BURTIS, C. A, ASHWOOD, E. R Tietz *Fundamentals of Clinical Chemistry*, SACKS, D., Fifth Edition. s.427-462.
- SALAHUDDIN, M. and JALALPURE S.S., 2010. Antidiabetic activity of aqueous fruit extract of *Cucumis trigonus* Roxb. in streptozotocin-induced-diabetic rats. *J.Ethnopharmacol.*, 127: 565-567.
- SEGHROUCHNI, I., DRAI, J., BANNIER, E., RIVIERE, J., CALMARD, P., GARCIA, I., ORGIAZZI, J. and REVOL, A., 2002. Oxidative stress parameters in type I, type II and insulin-treated type 2 diabetes mellitus; insulin treatment efficiency. *Clin chim acta*, 321:89-96.
- SEKIKAWA, A. and LAPORTE, R.E., 1997. Epidemiology of insulin dependent diabetes mellitus. *International Textbook of Diabetes Mellitus*, 2nd Ed., Volume I, New York, John Wiley & Sons Ltd, , s 89-96.
- SEO, M. Y. and LEE, S. M., 2002. Protective effect of low dose of ascorbic acid on hepatobiliary function in hepatic ischemia/reperfusion in rats. *J. Hepatol.* 36: 72–77.
- SERLIN, D. C. and LASH, R. W., 2009. Diagnosis and management of gestational diabetes mellitus. *Am Fam Physician*, 80:57–62.
- SILAN, C., UZUN, O., COMUNOGLU, N. U., GOKCEN, S., BEDIRHAN. S. and CENGİZ. M., 2007. Gentamicin-induced nephrotoxicity in rats ameliorated and healing effects of resveratrol. *Biol Pharm Bull* 30:79–83.
- SINGH, S. K., RAJ, P. K., JAISWAL, D. and WATAL, G., 2008. Evidence-Based Critical Evaluation of glycemic potential of *Cynodon dactylon*. *Evid Based Complement Altern Med.* 5: 415-420.
- STADTMAN, E. R., 2006. Proteinlerin etkisi sonucu oluşan zararlarla ilgili Protein oxidation and aging. *Free Radical Research* 40:1250–1258.
- STAHL, W. and SIES, H., 2002. Introduction: Reactive Oxygen Species. *Research Monographs*, 1-2.
- STEEN, E., TERRY, B. M. and RIVERA, E. J., 2005. Impaired insulin and insulin like growth factor expression and signaling mechanisms in Alzheimer's disease is this type 3 diabetes? *Journal of Alzheimer's Disease*, 7:63-80.
- STEPHENS, P. J., MCBRIDE, D. J., LIN, M. L., VARELA, I., PLEASANCE, E. D., SIMPSON, J. T., STEBBINGS, L. A., LEROY, C., EDKINS, S. and

- MUDIE, L. J., 2009. Complex landscapes of somatic rearrangement in human breast cancer genomes. *Nature* 462:1005–1010.
- SOLEAS, G. J., DIAMONDIS, E. P. and GOLDBERG, D. M., 1997. Resveratrol a molecule whose time has come? And gone?. *Clinical Biochemistry*, 30:91-113.
- SZKUDELSKI, T., 2001. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas *Physiol. Res.* 50: 536-546.
- ŞENTÜRK, H., 2004. Serbest radikal hasarının hepato-biliyer sistem hastalıklarındaki rolü. *Kocatepe tıp dergisi*, 5:1-8.
- TANER, D., 2002. Fonksiyonel Nöroanatomi. Ankara Metu Pres, 248– 282.
- WALTER, R. M., URIU, HARE, J. Y. and OLIN, K. L., 1991. Copper, zinc, manganese, magnesium status and complications of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 14: 1050-1056.
- YANARDAĞ, R. and TUNALI, S., 2006. Vanadyl sulfate administration protects the streptozotocin-induced oxidative damage to brain tissue in rats. *Molecular and cellular biochemistry*, *Molecular and Cellular Biochemistry* 286:153-159.

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı Soyadı** : Semih SAYIN  
**Uyruğu** : T.C.  
**Doğum Yeri ve Tarihi** : Güdül 20.02.1985  
**Telefon** : 05462486432  
**Faks** :  
**e-mail** : semihsayin06@gmail.com

### EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Beypazarı N. K. V. Anadolu Lisesi, Beypazarı/ANKARA	2002
Üniversite	: Abant İzzet Baysal Üniversitesi, BOLU	2009
Yüksek Lisans:		
Doktora	:	

### İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2009-2010	Güdül Safiye Akdede Çok Programlı Lisesi	Ücretli Öğretmen
2010-2013	Harran Ü. Fen Edebiyat Fak. Biyoloji Bölümü	Araştırma Görevlisi
2013-	Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü	Biyolog

### UZMANLIK ALANLARI

Moleküler Biyoloji

### YABANCI DİLLER

İngilizce