

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

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DİABETİK SIÇAN LENS VE KAN DOKUSUNDA OLUŞAN OKSİDATİF  
STRES VE ANTİOKSİDAN ENZİM DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ**

**Erel SÜTPAK**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ŞANLIURFA  
2007**

Prof. Dr. Nihat DİLSİZ'in danışmanlığında, Erel SÜTPAK'ın hazırladığı "Diabetik sıçan lens ve kan dokusunda oluşan oksidatif stres ve antioksidan enzim düzeylerinin incelenmesi" konulu bu çalışma 12.06.2007 tarihinde aşağıdaki juri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Nihat DİLSİZ

Üye : Doç. Dr. Kadriye AKGÜN DAR

Üye : Yrd. Doç. Dr. Yasin TÜLÜCE

**Bu Tezin Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım.**

**Prof. Dr. İbrahim BOLAT**  
**Enstitü Müdürü**

**Bu çalışma HÜBAK tarafından desteklenmiştir.**  
**Proje No: 746**

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

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZ .....	I
ABSTRACT .....	II
TEŞEKKÜR .....	III
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	V
SİMGELER DİZİNİ .....	VI
1. GİRİŞ .....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	7
2.1. Diabetes Mellitus (DM) .....	7
2.1.1. Diabetes mellitus'un tanımı ve tarihçesi .....	7
2.1.2. Diabetes mellitus'un tipleri ve klinik özellikleri .....	9
2.1.2.1. Tip I diabetes mellitus (IDDM) .....	10
2.1.2.2. Tip II diabetes mellitus (NIDDM) .....	11
2.1.2.3. Malnutrisyonla ilişkili diabetes mellitus .....	12
2.1.2.4. Bozulmuş glukoz toleransı ile beraber seyreden diabet .....	12
2.1.2.5. Gestasyonel diabet (GDM) .....	13
2.1.3. Hipergliseminin genel komplikasyonları .....	13
2.1.3.1. Poliöl yolunun aktivasyonu .....	14
2.1.3.2. İleri glikasyon son ürün (AGE) oluşumunun artması .....	14
2.2. İnsülin .....	15
2.2.1. İnsülinin moleküler yapısı ve sentezi .....	15
2.2.2. Langerhans adacıkları .....	17
2.2.3. Pankreasta insülin salgılanması .....	17
2.2.4. İnsülin salınımının düzenlenmesi .....	18
2.2.5. Yetersiz insülin sekresyonu .....	20
2.2.6. İnsülin reseptörü ve post reseptör olaylar .....	20
2.2.7. İnsülinin glukoz metabolizmasındaki rolü .....	21
2.2.7.1. Glukoz taşıyıcıları .....	21
2.2.7.2. Hücre içine giren glukozun fosforilasyonu .....	22
2.2.8. İnsülin direnci .....	22
2.3. Göz .....	23
2.3.1. Göz anatomisi .....	23
2.3.1.1. Tunica fibrosa .....	24
2.3.1.2. Tunica vasculosa (uvea) .....	24
2.3.1.3. Tunica nervosa (retina) .....	25
2.3.2. Lens .....	26
2.3.2.1. Kapsül .....	27
2.3.2.2. Epitel hücreleri .....	27
2.3.2.3. Lens içeriği .....	28
2.4. Katarakt .....	29
2.4.1. Konjenital katarakt .....	33
2.4.2. Senil katarakt .....	33
2.4.3. Travmatik katarakt .....	33
2.4.5. Metabolik katarakt .....	33
2.5. Serbest Radikaller .....	34
2.5.1. Serbest oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türleri .....	36
2.5.1.1. Süperoksid anyon radikali .....	39
2.5.1.2. Hidrojen peroksit .....	41
2.5.1.3. Hidroksil radikali .....	43
2.5.1.4. Singlet oksijen .....	44
2.5.2. Serbest radikallerin kaynakları .....	44
2.5.2.1. Endojen serbest radikal kaynakları .....	45
2.5.2.1.1. Küçük moleküllerin otooksidasyonu .....	45
2.5.2.1.2. Enzimler ve proteinler .....	45
2.5.2.1.3. Mitokondriyal elektron transferi .....	46

2.5.2.1.4. Mikrozomal membran elektron transfer zinciri .....	46
2.5.2.1.5. Peroksizomlar .....	47
2.5.2.1.6. Plazma membranı .....	47
2.5.2.1.7. Aşırı egzersiz .....	48
2.5.2.1.8. Stres .....	48
2.5.2.1.9. Yaşlanma .....	48
2.5.2.1.10. Doku hasarı ve kronik hastalıklar .....	48
2.5.2.2. Ekzojen serbest radikal kaynakları .....	49
2.5.2.2.1. Alkol .....	49
2.5.2.2.2. Kalori .....	49
2.5.2.2.3. Sigara .....	50
2.5.2.2.4. Hava kirleticileri .....	50
2.5.3. Serbest radikallerin etkileri .....	50
2.5.3.1. Serbest radikallerin membran lipidleri üzerine etkileri .....	51
2.5.3.2. Serbest radikallerin proteinler üzerine etkileri .....	54
2.5.3.3. Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine etkileri .....	54
2.5.3.4. Serbest radikallerin nükleik asitler ve DNA üzerine etkileri .....	55
2.5.4. Vücudun antioksidan savunma sistemi .....	56
2.5.4.1. Enzimatik antioksidanlar .....	61
2.5.4.1.1. Süperoksid dismutaz (SOD) .....	61
2.5.4.1.2. Katalaz (CAT) .....	62
2.5.4.1.3. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) .....	63
2.5.4.1.4. Glutasyon S transferaz (GST) .....	65
2.5.4.1.5. Glutasyon redüktaz (GR) .....	65
2.5.4.1.6. Mitokondriyal sitokrom oksidaz .....	65
2.5.4.2. Nonenzimatik antioksidanlar .....	66
2.5.4.2.1. Glutasyon (GSH) .....	66
2.5.4.2.2. Vitamin E .....	67
2.5.4.2.3. Vitamin C (askorbik asit) .....	68
2.5.4.2.4. Karotenler .....	69
2.5.4.2.5. Flavonoidler .....	69
2.5.4.2.6. Ürat (ürik asit) .....	69
2.5.4.2.7. Bilirubin .....	70
2.5.4.2.8. Albumin .....	70
2.5.4.2.9. Seruloplazmin .....	70
2.5.4.2.10. Transferin .....	71
2.5.4.2.11. Melatonin .....	71
2.5.4.2.12. Sistein .....	71
2.5.4.2.13. Übikinonlar .....	71
2.6. Çalışmada kullanılan bitkiler .....	72
3. MATERYAL ve YÖNTEM .....	74
3.1. Materyal .....	74
3.1.1. Deney hayvanlarının yetiştirilmesi .....	74
3.1.2. Hayvanların deneye hazırlanması .....	74
3.1.3. Bitkilerin temini ve teşhisi .....	75
3.1.4. Çalışma için gerekli malzeme ve kimyasallar .....	75
3.2. Yöntem .....	77
3.2.1. Bitki ekstraktlarının hazırlanması .....	77
3.2.2. Deneysel uygulamalar .....	78
3.2.3. Lens ve kan dokusunun alınması ve hazırlanması .....	80
3.2.4. Lens ve kan dokusunda MDA analizi .....	81
3.2.4.1. Stok standartın hazırlanması .....	81
3.2.5. Lens ve kan dokusunda GSH analizi .....	83
3.2.6. Eritrosit CAT, GR ve GST enzim aktivitelerinin ölçümü .....	84
3.2.6.1. Eritrosit katalaz (CAT) enzim aktivitesinin ölçülmesi .....	84
3.2.6.2. Eritrosit glutasyon redüktaz (GR) enzim aktivitesi ölçümü .....	85
3.2.6.3. Eritrosit glutasyon S transferaz (GST) enzim aktivitesi ölçümü .....	86
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA .....	87

4.1. Araştırma Bulguları .....	87
4.1.1. Ağrılık değişim takibi .....	88
4.1.2. Glukoz değişim takibi .....	90
4.1.3. Lipid profilinin incelenmesi .....	92
4.1.4. Karaciğer fonksiyon testlerinin incelenmesi .....	95
4.1.5. Bbbrek fonksiyon testlerinin incelenmesi .....	96
4.1.6. Lens MDA olęum sonuçları .....	98
4.1.7. Plazma MDA olęum sonuçları .....	100
4.1.8. Lens GSH olęum sonuçları.....	101
4.1.9. Plazma GSH analiz sonuçları.....	102
4.1.10. Eritrosit katalaz (CAT) enzim aktivitesi olęümü .....	104
4.1.11. Eritrosit glutatyon reduktaz (GR) enzim aktivitesi olęümü .....	105
4.1.12. Eritrosit glutatyon S transferaz (GST) enzim aktivitesi olęümü .....	106
4.2. Tartışma .....	107
5. SONUçLAR ve ONERILER .....	113
KAYNAKLAR .....	117
ÖZGEÇMİŞ .....	124
ÖZET .....	125
SUMMARY .....	128

## ÖZ

### Yüksek Lisans Tezi

## DİABETİK SIÇAN LENS VE KAN DOKUSUNDA OLUŞAN OKSİDATİF STRES VE ANTIOKSİDAN ENZİM DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ

Erel SÜTPAK

Harran Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nihat DİLSİZ

Yıl: 2007, Sayfa: 131

Yaptığımız çalışma sonucunda, Kontrol (K) grubunun kolesterol değeri 48 mg/dl ölçülürken, diabet (D) grubu 77 mg/dl, *Gingko biloba* (D/G) grubu 71 mg/dl, *Tagetes patula* (D/KA) 63 mg/dl, *Gentiana olivieri* (D/A) 63 mg/dl, *Olea europaea* (D/Z) 100 mg/dl ve *Aristolochia maurorum* (D/L) 48 mg/dl olarak ölçülürken, D/L grubu hariç tüm gruplarda bu değer in yükseldiği görüldü. K grubu trigliserid değeri 67 mg/dl olarak ölçülürken, D grubu 170 mg/dl, D/G 179 mg/dl, D/KA 180 mg/dl, D/A 183 mg/dl, D/Z 310 mg/dl ve D/L 131 mg/dl ölçülerek, tüm gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı ( $p<0.05$ ) bir artış in olduğu ölçüldü. Kontrol grubu HDL-C değeri 50 mg/dl çıkarken, D grubu 34 mg/dl, D/G 56 mg/dl, D/KA 47 mg/dl, D/A 37 mg/dl, D/Z 39 mg/dl ve D/L 34 mg/dl olarak ölçüldü. D grubunda anlamlı bir düşüş gözlenirken, D/G ve D/KA gruplarında anlamlı bir artış görüldü. Kontrol grubu VLDL-C değeri 15 mg/dl ölçülürken, D grubu 32 mg/dl, D/G 45 mg/dl, D/KA 36 mg/dl, D/A 43 mg/dl, D/Z 63 mg/dl ve D/L 25 mg/dl ölçüldü. Tüm grupların kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gösterdikleri tespit edildi. K grubu  $\gamma$ -glutamil transferaz (GGT) seviyesi 1.6 U/L ölçülürken, D grubu 7.29 U/L, D/G 7.2 U/L, D/KA 8.17 U/L, D/A 6.57 U/L, D/Z 24.17 U/L ve D/L 6.14 U/L ölçüldü. Tüm grupların GGT seviyesi K grubuna göre anlamlı bir artış gösterdi. K grubu aspartat aminotransferaz (AST) 120 U/L olarak ölçülürken, D grubu 187 U/L, D/G 113 U/L, D/KA 205 U/L, D/A 469 U/L, D/Z 1183 U/L ve D/L 174 U/L olarak ölçüldü. Tüm grupların K grubuna göre anlamlı bir artış gösterdikleri görüldü. K grubu alanin aminotransferaz (ALT) miktarı 53 U/L olarak ölçülürken, D grubu 132 U/L, D/G 119 U/L, D/KA 147 U/L, D/A 289 U/L, D/Z 386 U/L ve D/L 66 U/L olarak ölçüldü. D/L grubunun ALT seviyesini anlamlı derecede azaltarak K grubuna yaklaştırdığı görüldürken, diğer tüm gruplarda bu değerin K grubuna göre yüksek çıktığı görüldü. K grubunun üre değeri 48 mg/dl ölçülürken, D grubu 100 mg/dl, D/G 85 mg/dl, D/KA 101 mg/dl, D/A 122 mg/dl, D/Z 92 mg/dl ve D/L 76 mg/dl ölçüldü. Tüm gruplarda K grubuna göre anlamlı bir artış olurken, D/L grubu bu artışı azaltarak anlamlı oranda K grubuna yaklaştırmıştır. K grubu kan üre azotu (BUN) seviyesi 22 mg/dl ölçülürken, D grubu 47 mg/dl, D/G 39 mg/dl, D/KA 47 mg/dl, D/A 57 mg/dl, D/Z 47 mg/dl ve D/L 36 mg/dl ölçüldü. Tüm grupların K grubuna göre anlamlı derecede artış gösterdikleri, D/L grubunun ise bu yüksek değeri anlamlı oranda azaltarak K grubuna yaklaştırdığı görüldü. K grubunun kreatinin (CREA) değeri 0.51 mg/dl çıkarken, D grubu 0.4 mg/dl, D/G 0.43 mg/dl, D/KA 0.43 mg/dl, D/A 0.48 mg/dl, D/Z 0.42 mg/dl ve D/L 0.34 mg/dl çıktı. D/A grubu hariç tüm grupların CREA değerinin K grubuna göre azaldığı görüldü. K grubu lens malondialdehid (MDA) miktarının 16.75 (nmol/100 mg lens yaş ağırlığı) olduğu, D grubunun 19.1, D/G grubunun 11.5, D/KA grubunun 22, D/A grubunun 22.8, D/Z grubunun 39.55 ve D/L grubunun 21.5 olduğu görüldü. D/G grubunda anlamlı derecede azalmanın olduğu görüldü. K grubunun lens glutatyon (GSH) miktarı (nmol GSH/100 mg lens yaş ağırlığı) 45.85 iken, D grubu 6.3, D/G grubu 8.78, D/KA grubu 8.9, D/A grubu 9.7, D/Z grubu 7.28 ve D/L grubu 9.75 olarak ölçüldü. Tüm grupların GSH değeri K grubuna göre anlamlı derecede düşük ölçüldü. D/G, D/A ve D/L gruplarının azalan GSH miktarını anlamlı derecede arttırarak kontrol grubuna yaklaştırdıkları görüldü.

**ANAHTAR KELİMELER:** Diabetes mellitus, Oksidatif stres, *Gingko biloba*, *Aristolochia maurorum*, *Gentiana olivieri*

## ABSTRACT

### Master Thesis

## INVESTIGATION ON OXIDATIVE STRESS AND ANTIOXIDANT ENZYMES ACTIVITY IN DIABETIC RAT LENS AND BLOOD TISSUE

Erel SÜTPAK

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

Supervisor: Prof. Dr. Nihat DİLSİZ

Year: 2007, Page 131

As a result of our study, control (K) group's cholesterol value was measured as 48 mg/dl, Diabetic (D) group 77 mg/dl, *Gingko biloba* (D/G) group 71 mg/dl, *Tagetes patula* (D/KA) 63 mg/dl, *Gentiana olivieri* (D/A) 63 mg/dl, *Olea europaea* (D/Z) 100 mg/dl and *Aristolochia maurorum* (D/L) 48 mg/dl, in the all group this value was increased expect in D/L group. In K group triglyceride value was measured as 67 mg/dl, D group 170 mg/dl, D/G 179 mg/dl, D/KA 180 mg/dl, D/A 183 mg/dl, D/Z 310 mg/dl and D/L 131 mg/dl. The level of triglyceride in all groups were found significantly higher than the K group ( $p < 0.05$ ). HDL-C value in K group was found as 50 mg/dl, D group 34 mg/dl, D/G 56 mg/dl, D/KA 47 mg/dl, D/A 37 mg/dl, D/Z 39 mg/dl and D/L 34 mg/dl found. It was decreased significantly in D group, but increased in D/G and D/KA groups. The VLDL-C level was established as 15 mg/dl in K group, 32 mg/dl in D, 45 mg/dl in D/G, 36 mg/dl in D/KA, 43 mg/dl in D/A, 63 mg/dl in D/Z and 25 mg/dl in D/L. In all groups it was found to be higher than the K group. In the K group  $\gamma$ -glutamyl transferase (GGT) level was found as 1.6 U/L, D group 7.29 U/L, D/G 7.2 U/L, D/KA 8.17 U/L, D/A 6.57 U/L, D/Z 24.17 U/L and D/L 6.14 U/L. GGT level of all investigated groups were significantly increased when compared to control group. Aspartate aminotransferase (AST) level of K group was evaluated as 120 U/L, D group 187 U/L, D/G 113 U/L, D/KA 205 U/L, D/A 469 U/L D/Z 1183 U/L and D/L 174 U/L. AST level of all groups were observed higher than K group. Alanine amino transferase (ALT) level of K group was found as 53 U/L, D group 132 U/L, D/G 119 U/L, D/KA 147 U/L, D/A 289 U/L, D/Z 386 U/L and D/L 66 U/L. The level of ALT in D/L group was lower than K group but observed as close to K group, in other all groups this value found higher than K group. In the K group urea value was measured as 48 mg/dl, D group 100 mg/dl, D/G 85 mg/dl, D/KA 101 mg/dl, D/A 122 mg/dl, D/Z 92 mg/dl and D/L 76 mg/dl. It was found to be in high level in all groups when compared to K group. D/L group was decreased to this value, on the other hand close significantly to K group. K group blood urea nitrogen (BUN) level was found as 22 mg/dl, D group 47 mg/dl, D/G 39 mg/dl, D/KA 47 mg/dl, D/A 57 mg/dl, D/Z 47 mg/dl and D/L 36 mg/dl. BUN levels in investigated groups were observed higher than the K group. But as D/L group was decreased this value which was elevated, significantly rate, and was observed close to K group. In the K group, level of creatinine was found as 0.51 mg/dl, D group 0.4 mg/dl, D/G 0.43 mg/dl, D/KA 0.43 mg/dl, D/A 0.48 mg/dl, D/Z 0.42 mg/dl and D/L 0.34 mg/dl. Without D/A group, level of all group creatinine were observed depletion than K group. Lens malondyaldehyde (MDA) level was observed as 16.75 in K group, 19.1 in D group, 11.5 in D/G, 22 in D/KA, 22.8 in D/A, 39.55 in D/Z and 21.5 (nmol MDA/100 mg lens wet weight) in D/L. In the D/G group was established depletion significantly. Lens glutathione (GSH) level of K group was observed as 45.85, D group 6.3, D/G 8.78, D/KA 8.9, D/A 9.7, D/Z 7.28 and D/L 9.75 (nmol GSH/100 mg lens wet weight). In all groups, GSH levels were found lower than the K group. D/G, D/A and D/L groups' GSH values were increased, other side were observed close to the K group levels.

**KEY WORDS:** Diabetes mellitus, Oxidative stress, *Gingko biloba*, *Aristolochia maurorum*, *Gentiana olivieri*

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisansıma baŐlamamdan tamamlamama kadar geöen süre iöerisinde bilgilerinden faydalanma imkanı bulduğum ve deneysel öalıŐmalarımın tamamını yaptığım Harran Üniversitesi 'Biyoteknoloji laboratuvarı'nı rahatlıkla kullanmama izin verdiği iöin danıŐmanım Prof. Dr. Nihat DİLSİZ'e teŐekkürlerimi sunmayı bir borö bilirim. Deneysel öalıŐmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen ArŐ. Gör. İsmail KOYUNCU'ya, ArŐ. Gör. AyŐe ŐAHABOėLU'na, tecrübe ve bilgilerini benimle paylaŐan Yrd. Doö. Dr. Yasin TÖLÖCE'ye, tez sınavım iöin davetimizi kabul edip İstanbul'dan gelen Doö. Dr. Kadriye AKėÜN DAR'a, sorularımı sabırla dinleyip cevaplayan Doö Dr. Davut MUSA'ya ve Biyoloji Bölümün'deki tüm akademik personele sayėı ile teşekkür ediyorum. Ayrıca destekleri ile her zaman yanımda olan ailem ile niŐanlıma ve projemi kabul edip destek sağladığı iöin HÖBAK'a, zamanlarını ayırarak tez savunmamda bulunacak olan tüm katılımcılara Őimdiden teşekkür ediyorum.



## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
Şekil 2.1. İnsülin biosentezi ve Zn'nin insülin yapısına katılması .....	16
Şekil 2.2. İnsülin salınışının düzenlenmesi .....	20
Şekil 2.3. Serbest radikal oluşumu ve antioksidan enzimler .....	36
Şekil 2.4. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu .....	37
Şekil 2.5. Lipid peroksidasyonunun kimyasal yolu .....	53
Şekil 2.6. Glutasyonun yapısı .....	67
Şekil 4.1. Deney süresi boyunca gruplardaki ağırlık değişimi .....	88
Şekil 4.2. Deney sonuna kadar kaybedilen ağırlık yüzdesi .....	89
Şekil 4.3. Deney süresi boyunca grupların şeker takibi .....	90
Şekil 4.4. Aç bırakılan sıçanlarda ekstraktların akut hipoglisemik etkisi .....	91
Şekil 4.5. Grupların glukoz düzeyi .....	92
Şekil 4.6. Grupların kolesterol düzeyi .....	93
Şekil 4.7. Grupların VLDL-Kolesterol düzeyi .....	93
Şekil 4.8. Grupların trigliserid (TG) düzeyi .....	93
Şekil 4.9. Grupların HDL-Kolesterol düzeyi .....	94
Şekil 4.10. Grupların plazma GGT düzeyleri .....	95
Şekil 4.11. Grupların plazma AST düzeyleri .....	95
Şekil 4.12. Grupların plazma ALT seviyeleri .....	96
Şekil 4.13. Grupların plazma üre miktarları .....	97
Şekil 4.14. Grupların plazma BUN miktarları .....	97
Şekil 4.15. Grupların plazma CREA miktarları .....	97
Şekil 4.16. MDA standart serisinden elde edilen değerler ve kalibrasyon eğrisi .....	98
Şekil 4.17. Grupların lens MDA miktarları .....	99
Şekil 4.18. MDA standart grafiği ve kalibrasyon eğrisi .....	100
Şekil 4.19. Grupların plazma MDA miktarları .....	100
Şekil 4.20. GSH standart eğrisi ve formülü .....	101
Şekil 4.21. Grupların lens dokusu GSH miktarları .....	102
Şekil 4.22. GSH standart eğrisi ve formülü .....	102
Şekil 4.23. Grupların plazma GSH miktarları .....	103
Şekil 4.24. Grupların eritrosit CAT enzim aktivitesi .....	104
Şekil 4.25. Grupların eritrosit GR enzim aktivitesi .....	105
Şekil 4.26. Grupların GST enzim aktivitesi .....	106

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
Çizelge 2.1. Reaktif oksijen türleri .....	38
Çizelge 2.2. Reaktif oksijen ürünlerinin tahmini yarı ömürleri .....	38
Çizelge 2.3. Hücredeki serbest oksijen radikali kaynakları .....	44
Çizelge 2.4. Serbest radikallerin hücredeki başlıca zararlı etkileri .....	51
Çizelge 2.5. Biyoloji sistemlerde tespit edilmiş bazı antioksidanlar ve etki mekanizmaları .....	57
Çizelge 2.6. Biyolojik sistemlerde antioksidan savunma sistemi .....	59
Çizelge 3.1. Deney hayvanlarına verilen yemin bileşimi .....	74
Çizelge 3.2. Kullanılan bitkilerin Latince, Türkçe adları ve ekstraksiyon işlemleri .....	77
Çizelge 3.3. Stok solüsyondan çalışma standart solüsyonunun hazırlanması .....	81
Çizelge 3.4. MDA standart serisinin hazırlanması .....	81
Çizelge 3.5. GSH analizi için çalışma solüsyonu hazırlama .....	83
Çizelge 3.6. GSH standart serisinin hazırlanması .....	83
Çizelge 3.7. CAT enzimi aktivitesini ölçmek için çalışma reaktifi hazırlanması .....	84
Çizelge 3.8. Eritrosit GR ölçüm küvetine eklenen maddeler .....	86
Çizelge 3.9. GST ölçüm küvetine eklenen maddeler .....	86
Çizelge 4.1. Deney süresi boyunca gruplardaki ağırlık değişimi .....	88
Çizelge 4.2. Deney sonuna kadar kaybedilen net ağırlık ve yüzdesi .....	89
Çizelge 4.3. Deney süresi boyunca grupların glukoz miktarları .....	90
Çizelge 4.4. Aç karna uygulanan ekstraktın akut hipoglisemik etkisi .....	90
Çizelge 4.5. Grupların glukoz düzeyi ve lipid profili .....	92
Çizelge 4.6. Karaciğer fonksiyon testleri .....	95
Çizelge 4.7. Grupların böbrek fonksiyon testleri .....	96
Çizelge 4.8. Grupların lens MDA değerleri .....	99
Çizelge 4.9. Grupların ortalama plazma MDA değerleri .....	100
Çizelge 4.10. Grupların ortalama lens GSH değerleri .....	101
Çizelge 4.11. Grupların ortalama plazma GSH miktarları .....	103
Çizelge 4.12. Grupların ortalama eritrosit CAT enzim aktivitesi .....	104
Çizelge 4.13. Grupların ortalama eritrosit GR enzim aktivitesi .....	105
Çizelge 4.14. Grupların ortalama eritrosit GST enzim aktivitesi .....	106

## SİMGELER DİZİNİ

AGE	İleri glikasyon son ürünleri
ALT	Alanin aminotransferaz
AOPP	İleri oksidasyon protein ürünleri
AST	Aspartat aminotransferaz
ATP	Adenozin trifosfat
BUN	Kan üre azotu
Ca	Kalsiyum
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
CAT	Katalaz enzimi
Cl	Klor
CREA	Kreatinin
Cu	Bakır
D	STZ ile diabet oluşturulmuş grup
D/A	STZ ile diabet oluşturularak gūnaşırı <i>Gentiana olivieri</i> ekstraktı uygulanan grup
D/G	STZ ile diabet oluşturularak gūnaşırı <i>Gingko biloba</i> ekstraktı uygulanan grup
D/KA	STZ ile diabet oluşturularak gūnaşırı <i>Tagetes patula</i> ekstraktı uygulanan grup
D/L	STZ ile diabet oluşturularak gūnaşırı <i>Aristolochia maurorum</i> ekstraktı uygulanan grup
D/Z	STZ ile diabet oluşturularak gūnaşırı <i>Olea europaea</i> ekstraktı uygulanan grup
DAG	Diaçil gliserol
DM	Diabetes Mellitus
DNA	Deoksiribonükleik asit
Fe	Demir
Fe-SOD	Demir içeren süperoksid dismutaz
GDM	Gestasyonel diabestes mellitus
GGT	$\gamma$ -glutamil transferaz
GİP	Gastrik inhibitör polipeptid
GLUT	Glukozun membran dış yüzünden içeri taşınmasını sağlayan glukoz taşıyıcıları
GP	Glikolize protein
GR	Glutasyon redüktaz
GSH	Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
GSSG-R	Glutasyon redüktaz
GST	Glutasyon S transferaz
HbA <sub>1c</sub>	Glikolize hemoglobin
HDL-C	Yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol
HO <sub>2</sub>	Perhidroksil
IDDM	İnsüline bağımlı diabetes mellitus
IP <sub>3</sub>	İnozitol trifosfat
IRS1	İnsülin reseptör substrat 1
K	Deneysel çalışmalarda kontrol olarak kullanılan grup
K <sup>+</sup>	Potasyum
KVH	Kardiyovasküler hastalık
LDL-C	Düşük dansiteli lipoprotein kolesterol
LPO	Lipid peroksidasyonu
MDA	Malondialdehit
Mn-SOD	Mangan ihtiva eden süperoksid dismutaz
Na	Sodyum
NAD <sup>+</sup>	Okside nikotinamid adenin dinukleotid
NADH	Redükte nikotinamid adenin dinukleotid
NADPH	Nikotinamid adenin dinukleotid fosfat redükte formu
NF-kB	Nüklear faktör kappa B
NIDDM	İnsüline bağımlı olmayan diabetes mellitus
NO	Nitrik oksit
NO <sub>2</sub>	Azot dioksit
O <sub>3</sub>	Ozon
OGTT	Oral glukoz tolerans testi

OH	Hidroksil radikali
P	Fosfor
PKC	Protein kinaz
PP	Peroksidasyon potansiyeli
RCO	Dikarbonil bileşikleri
ROS	Reaktif oksijen metabolitleri
ROT	Reaktif oksijen türleri
SDS	Sodyum dodesil sülfat
SO <sub>2</sub>	Kükürt dioksit
SOD	Süperoksid dismutaz
STZ	Streptozotosin
TBA	Tiyobarbitürik asit
TBARS	Tiobarbitürik asit reaktif maddeleri
TET	Tetraetoksipropan
TG	Trigliserid
TH	Total hidroperoksid
UCP-1	Proton gradientini azaltan kenetlenmeyi bozucu protein
UV	Ultraviyole
VLDL-C	Çok düşük dansiteli lipoprotein kolesterol
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
ZnCu-SOD	Çinko-Bakır ihtiva eden süperoksid dismutaz
$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta

## 1. GİRİŞ

Diabetes Mellitus (DM), mutlak ya da bağıl insülin eksikliği veya insülin direnci nedeniyle ortaya çıkan ve karbonhidrat, lipid ve protein metabolizması bozukluğu ile karakterize, endokrin ve metabolik bir hastalıktır. Hastalığın seyri sırasında retinopati, nefropati, nöropati ve ateroskleroz gibi spesifik komplikasyonlar gelişmekte ve dünyada her yıl binlerce kişi diabet komplikasyonlarından ölmektedir.

Diabet, günümüz insanının yaşam şartlarından dolayı tüm dünyada hızla yayılan, yüksek mortalite ve morbidite riski taşıyan bir hastalıktır. Yapılan çalışmalarda deneysel olarak diabet oluşturulan sıçanlarda ve diabetik hastalarda serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun önemli derecede arttığı ve oksidatif stresin diabet etiyolojisinde ve ilerlemesinde rolü olduğu bildirilmiştir (Pitkanen ve ark., 1992). Bunlara ilave olarak, uzamış oksidatif stresin ve antioksidan kapasitede görülen değişikliklerin, diabetin kronik komplikasyonlarının ortaya çıkışı ile de ilişkili olabileceği araştırmacılar tarafından vurgulanmaktadır (Van Dam ve ark., 1995; Bukan ve ark., 2003). Diabette reaktif oksijen türlerinin rolü 1980'li yıllardan beri geniş çapta tartışılan bir konu olmuştur (Baynes, 1991). Bu hastalık çok eski yıllardan beri bilinmesine rağmen, idrarda şekerin bulunduğu ancak 18. yy'da Dopson tarafından saptanmış ve bu hastalığın pankreasla olan ilişkisi 1889 yılında Mering ve Minkowski'nin pankreatektomi yapılmış köpeklerde diabet oluştuğunu gözlemlenmesi ile anlaşılmıştır. 1921 yılında Banthing ve Best'in insülini pankreastan ekstre etmeleri sonucunda da bu ilişkinin şekli kesin olarak ortaya çıkmıştır (Avcı, 2001).

Diabette serbest oksijen radikali üretimi ve LPO'nun arttığı, antioksidan savunma sisteminin yetersiz olduğu bildirilmektedir. Serbest radikal üretiminin artması ise diabet komplikasyonlarının başlamasına ve ilerlemesine katkıda bulunmaktadır. Diabette

yüksek glukoz düzeyi nedeniyle oksidatif hasara yol açan reaktif oksidanlar meydana gelmektedir.

Diabet, insülin salınımının veya etkisinin ya da hücrelerde insülin reseptör duyarlılığının azalması sonucu oluşan bir hastalıktır. İnsülinin salınmadığı diabet şekli Tip I diabet olarak ifade edilirken, insülin azlığı ve/veya reseptör duyarlılığının azlığı sonucu oluşan diabet, Tip II diabet olarak adlandırılmaktadır (Guyton ve Hall, 2001; Quinn, 2002; American Diabetes Association, 2005). İnsülinin yokluğunun veya insülin reseptör duyarlılığının azalmasının glukoz metabolizmasına başlıca etkisi, glukozun birçok hücre tarafından alımı ve kullanımının engellenmesidir. Bu durumda, kan glukoz konsantrasyonu artar, glukozun kullanımı giderek azalır ve hücreler enerji kaynağı olarak yağları ve proteinleri kullanmaya başlar (Guyton ve Hall, 2001).

Diabet sonucu oluşan hiperglisemi, glukozun otooksidasyonuna ve proteinlerin glikolizasyonuna bağlı olarak, serbest radikallerin oluşmasına neden olur. Serbest radikaller, mitokondriyal solunum, fagositlerin aktivasyonu ve bazı enzimlerin [(nikotinamid dinükleotid hidrojen fosfat (NADPH) oksidaz ve ksantin oksidaz gibi)] ve/veya Fe ve Cu gibi metallerin katalizlediği oksidasyon reaksiyonları sonucunda oluşurlar. Oluşan bu serbest radikaller, özellikle reaktif oksijen türleri (ROT), lökositlerin yabancı maddeleri yoketmeleri sırasında, biyolojik olarak aktif olan önemli aracı moleküllerdir ve yangı ile ilgili temel bileşiklerin oluşmasında da rol oynarlar. Bununla beraber aşırı üretilmeleri halinde toksiktirler ve hücrelerdeki lipidleri, proteinleri ve DNA'yı oksitleyerek peroksidasyona ve modifikasyonlara neden olabilirler. Bu prooksidanların, özellikle de ROT'ların birikmesine 'oksidatif stres' denir. Son yıllarda oksidatif stresin, başta diabet olmak üzere koroner kalp rahatsızlıkları, kanser, katarakt gibi daha birçok hastalığın patogenezinin neden olduğu saptanmıştır (Basu, 1999).

Diabet ve diabet komplikasyonlarının reaktif oksijen türleri ile olan ilişkisini gösteren çalışmalarda, nonenzimatik glikasyon, enerji metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan metabolik stres, sorbitol yolu aktivitesi, hipoksi ve iskemi-

reperfüzyon sonucu oluşan doku hasarının serbest radikal üretimini arttırdığı ve antioksidan savunma sistemini değiştirdiği vurgulanmaktadır (Baynes, 1999).

Hidrojen peroksidin, yüksek reaktiviteye sahip bir ROS ürünü olan OH radikaline dönüşmesi sonrası insülin reseptör sinyal sistemi üzerinde etkili olduğu ve insülin tarafından reseptör aracılığı ile düzenlenen sinyal transdüksiyon yollarında anahtar bir rol oynayabileceği görüşü araştırmacıların savları arasında bulunmaktadır (Houslay, 1991). Glikasyon aracılı serbest radikal üretiminin insülinin gen transkripsiyonunu azalttığını ve beta hücre apoptozuna yol açtığını gösteren çalışmaların bulguları bu görüşü destekler niteliktedir (Donalath, 1999).

Katarakt, saydam olan göz merceğinin bu saydamlığını yitirmesi ve göz bebeğinden normalde alınan saydam refletin, yerini opak-beyaz refleye bırakması ile karakterize bir hastalıktır. Özellikle diabet hastalarında normal bireylere oranla katarakt görülme olasılığı daha fazladır. Ayrıca yaşlanmayla beraber gelen katarakt, diabet hastalarında daha erken yıllarda başlamaktadır.

Superoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonlarının ve antioksidan kapasitenin pankreas adacık hücrelerinde, karaciğer, böbrek, iskelet kası ve adipoz doku gibi diğer dokularla kıyaslandığında en düşük düzeyde olduğu bilinmektedir (Tiedge ve ark., 1998). Oksidatif strese en duyarlı yapılardan biri olduğu da bilinen beta hücrelerinde gözlenen hasarın, hipergliseminin toksik etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Robertson ve ark., 2004). T ve B lenfositlerin, makrofajlar gibi inflamatuvar hücrelerin, beta hücrelerine toksik etkilerini de serbest radikaller aracılığıyla yaptığı düşünülmektedir (Eizirik ve ark., 1996).

Serbest radikal oluşumunun hipergliseminin direkt sonucu olduğunu destekleyen çalışmaların yanı sıra endotel ve düz kas hücreleri yüksek konsantrasyonda glukoz içeren ortamda inkübe edildiğinde de serbest radikal oluşumunun başladığı gözlenmiştir (Rosen ve ark., 1998).

Atomlarda elektronlar orbital adı verilen uzaysal bölgede çiftler halinde bulunurlar. Atomlar arasında etkileşim ile bağlar meydana gelmekte ve moleküler yapı oluşmaktadır. Serbest radikal, atomik ya da moleküler yapılarda çiftlenmemiş tek elektron bölümlerine verilen isimdir. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere ‘oksidan moleküller’ veya ‘reaktif oksijen partikülleri’ denmektedir. Glukoz gibi maddeler reaktif oksijen moleküllerini oluşturacak şekilde proteinlerle reaksiyona girerler. Bu durum diabetik hastaların seneler boyunca yüksek kan glukozuna maruz kalması nedeniyle hipergliseminin yan etkilerini kolaylaştırıcı “oksidatif stres” oluşumuyla sonuçlanır (Çavdar ve ark., 1997).

Serbest radikaller, hücrelerde endojen ve eksojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak oluşurlar. Eksojen kaynaklı etmenler arasında parakuat, alloksan gibi kimyasalların etkisi altında kalma, karbondotetraklorür, parasetamol gibi ilaç toksikasyonları, iyonize ve ultraviyole radyasyon, hava kirliliği yapan fitokimyasal maddeler, sigara dumanı, solventler gibi çevresel faktörler, nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin ve adriamisin gibi antineoplastik ajanlar, alkol ve uyuşturucular gibi alışkanlık yapıcı maddeler bulunması nedeniyle serbest radikaller toksikolojik açıdan da önemlidir (Abdollahi ve ark., 2004; Özden ve Şadan, 1994; Sinclair ve ark., 1990; Yagi, 1994).

Oksijenin dış yörüngesine bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron eklenmesiyle bu molekül güçlü bir toksine yani bir serbest oksijen radikaline dönüşür. Bu bileşikler de son yörüngelerinde ortaklanmamış elektron içerdikleri için kolayca diğer moleküllerle reaksiyona girerek onları tahrip edebilen bileşikler oluştururlar ve organizmada çok etkili bir hasar meydana getirirler (Yanbeyi, 1999).

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanır. Çoğu olayda serbest radikal üretimi, pato-mekanizmanın bir parçasıdır ve pek çok ksenobiyotiğin toksisitesi serbest radikal üretimi ile ilgilidir (Abdollahi ve ark., 2003).



Süperoksid gruplarının hızlı bir şekilde oluşturduğu singlet oksijen, hücre zarlarının fosfolipid, glikolipid, gliserid ve sterol yapısındaki doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girerek peroksitler, alkoller, aldehytler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli lipid peroksidasyon ürünlerini oluşturur. Lipid peroksitler, indirgenmiş glutatyona (GSH) bağımlı selenyumlu bir enzim olan GSH-peroksidaz tarafından lipid alkollere çevrilerek inaktive edilirse de, gerek süperoksid gruplarıyla fazla miktarda lipid peroksitlerin şekillendirilmesi ve gerek selenyum eksikliği ve gerekse ortamdaki GSH'nın tükenmesine neden olabilen dietilmaleat, dioksin gibi maddelerin bulunması, lipid hidroperoksidlerinden serbest lipid grupların oluşmasına yol açar. Serbest lipid grupları da, ayrıca doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olur. Lipid hidroperoksidlerin yıkımı ile oluşan ve biyolojik olarak aktif olan aldehidler ya hücre düzeyinde metabolize olurlar ya da başlangıçtaki etki alanlarında diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarak sekonder bozuklukların da göstergesi olabilirler (Güven ve ark., 2003; Kaya ve ark., 1998; Gültekin ve ark., 2001).

Bir geçiş elementinin varlığında glukoz, reaktif ketoaldehitlere ve süperoksid anyonuna çevrilir. Reaksiyonlar zinciri, süperoksid radikalinin hidrojen peroksit üzerinden son derece reaktif olan hidroksil radikali oluşturması ile sonuçlanır. Hücre içi glukoz oksidasyonu NADH'nın açığa çıkmasına yol açar. NADH solunum zincirinde oksidatif fosforilasyon yolu ile ATP üretimi için gerekli enerjiyi sağlamak üzere kullanılır. Solunum zincirindeki bu reaksiyon sırasında süperoksid radikali açığa çıkar. Yüksek glukoz konsantrasyonu varlığında bu yolla süperoksid radikali üretimi artar. Mitokondri solunum zinciri başlıca hücre içi ROS üretim kaynağıdır. Normal solunum zinciri olayları sırasında sürekli olarak süperoksid radikali oluştuğu düşünülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, diabetteki patojenlerin birçoğunun artmış mitokondriyal ROS üretimi ile ilintili olduğunu göstermektedir (Brownlee, 2001; Green ve ark., 2004; Altan ve ark., 1997).

Serbest radikaller ve oksijen türevi serbest radikaller, nükleik asitler, proteinler, lipidler, lipoproteinler, karbonhidratlar ve bağ dokusu makromolekülleri de dahil olmak

üzere, canlı organizmaların yapısında bulunan hemen hemen bütün sınıflara dahil bileşiklerle reaksiyona girerek tersinir veya tersinmez hasar meydana getirilebilmektedirler. Bunların iltihap (Merry ve ark., 1989), iskemi ve reperfüzyon, kanserogenez (Cerutti, 1985), yaşlanma (Pasfici ve Davies, 1991) gibi temel hastalık proseslerinde çok büyük öneme sahip oldukları bu konulardaki çalışmalar ilerledikçe daha iyi anlaşılmaktadır.

**2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR****2.1. Diabetes Mellitus (DM)****2.1.1. Diabetes mellitus'un tanımı ve tarihçesi**

Diabetes mellitus (DM) çeşitli klinik ve biyokimyasal bulgularla seyreden, birçok sistemi etkileyebilen kronik bir metabolizma hastalığıdır. Hiperglisemi ve buna eşlik eden birçok metabolik bozuklukla çeşitli komplikasyonlara (makrovasküler ve mikrovasküler) sebep olan endokrin bir hastalıktır.

Diabetes mellitus, genetik ve immün yapının neden olduğu bir seri patolojik olaylar sonucu, pankreas beta hücrelerinden salgılanan insülin hormonunun, mutlak veya göreceli azlığı veya etkisizliği sonucu karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmalarında bozukluklara yol açan, hemen tüm sistemlerde komplikasyonlara neden olan, kronik hiperglisemik, metabolik bir hastalıktır (Yenigün ve Altuntaş, 2001).

Diabetes mellitus (DM), insülin salgılanması ya da insülinin etkisindeki tam veya kısmi yetersizlikle ilişkili olarak ortaya çıkan kronik hiperglisemi; karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki bozukluklar ve bu bozuklukları takiben ileri dönemde ortaya çıkan çeşitli komplikasyonlarla (anjyopati, kardiyomiyopati, nörapati, nefropati ve retinopati gibi) karakterize bir sendromdur (Avcı, 2001).

Diabet, dünya toplumunun yaklaşık olarak %4 gibi bir kısmını derinden etkileyen kronik metabolik bir hastalıktır. Bu oranın 2025 yıllarında %5.4'e yükseleceği öngörülmüyor (Kim ve ark., 2006). Anormal bir karbonhidrat, lipid ve lipoprotein metabolizması ile karakterize olup, sadece hiperglisemi değil, hiperlipidemi, hiperinsülinemi, hipertansiyon ve aterosklerozis gibi birçok komplikasyonu da

beraberinde getiren bir hastalıktır. Günümüzde oral olarak alınıp hipoglisemik ve aynı zamanda diabetin sekonder komplikasyonlarına da etki edebilen uygun bitkilerin bulunma çalışmalarına olan merak ve ilgi artmaktadır (Kim ve ark., 2006). Glukoz düşürücü etkisi olan 400'den fazla bitki bilinmektedir (Ernst, 1997).

Diabetes mellitusun ilk tarifine milattan 1500 yıl önce Mısır Ebers papirüslerinde rastlanmıştır. M.Ö 150 yıllarında, Kapadokyalı Arataeus çok su içme, çok idrara çıkmayı vurgulayarak hastalığı erime hastalığı olarak izah etmiştir (Yılmaz, 1997). Büyük Türk İslam bilgini İbn-i Sina da şeker hastalığını bugünkü tanımına yakın bir şekilde tarif etmiştir. 1674 yılında Thomas Willis adlı anatomist bir bilim adamı, ilk kez diabetik hastaların idrarlarının tatlı olduğunu göstermiştir. İdrarla şeker atıldığını ilk kez 1776 yılında İngiliz Matthew Dobsoy göstermiştir. 1777'de Pool ve 1778'de Cawley kimyasal olarak idrarda şeker bulmuş ve idrardaki şekerin glukoz olduğunu kanıtlamışlardır. İdrarda kantitatif olarak şeker arama metodunu, Fehling, 1850 yılında tarif etmiştir. Diabetik komada idrarda aseton bulunduğunu ilk kez Prague'den Lerch tanımlamış, onu 1857 yıllarındaki çalışmalarıyla Williams Paters izlemiştir. Claude Bernard 1849-1855 tarihleri arasında yaptığı çalışmalarda hastalığın klinik bulgularının yanı sıra, biyokimyasal bulgularıyla da ilgilenmiş ve glukozun karaciğerde glikojen olarak depolandığını göstermiştir. 1869 yılında Paul Langerhans pankreastaki hücre tiplerini belirlemiş ve Langerhans adacıklarını tanımlamıştır.

1889 yılında Minkowski, hayvan modelleri üzerinde yaptığı çalışmalarda pankreatektomi yapılan hayvanlarda diabetes mellitus geliştiğini göstermiştir. 1922'de Best ve Banting pankreas ekstresinden insülini izole etmişler ve hastalığın tedavisinde yeni bir çığır açmışlardır. 1926 yılında Frank bugünkü oral antidiabetiklerin atası Synthalin'i bulmuştur. 1942'de Laubatie, sülfonamidlerin hipoglisemik etkisini bulduktan sonra Sulfanilüre türevleri tıp dünyasına girdiler. 1946-1950 yıllarında çeşitli uzun etkili insülinler bulunmuştur. 1973'de Nova ve Leo firmaları antikor oluşturmayan ileri derecede saf insülini geliştirmişler. Bu günümüzde kullanılan DNA teknolojisiyle yapılmış olan insülinlere öncülük etmiştir (Hatemi, 1996).

Diabet, gözyaşı yapımında ve kornea hassasiyetinde azalma, epitelial keratopati, gecikmiş yara iyileşmesi, katarakt, kornea endotelial değişiklikleri gibi komplikasyonların yanı sıra, makula ödemi ve iskemisinden, vitre hemorajisi ve traksiyonel retina dekolmanına kadar uzanan değişik patolojilere yol açabilmektedir. (Davidson, 1991).

Diabetes mellitus, bugün dünyada yaklaşık 180 milyon kişiyi direkt olarak etkileyen bir sağlık problemidir. Protein, karbonhidrat ve yağ metabolizmasındaki komplikasyonlara ek olarak sistemin elektrolid metabolizmasında da ciddi hasarlar oluşturduğu bildirilmiştir (Kumar ve Clark, 2002).

Hiperglisemi ile indüklenen mikrovasküler değişiklikler daha sonraki normal glukoz homeostazi dönemlerinde de kalıcı olur veya ilerlerler. Mitokondride oluşan ROS'ların mitokondriyel DNA'da hasara neden olduğu gösterilmiştir. Mitokondriyel elektron transport sistem komponentlerinden bazılarını kodlayan mitokondriyel DNA'nın hasarlanması bu komponentlerin yapılarının ve fonksiyonlarının bozulmasına yol açar. Defektif komponentler nedeni ile normoglisemide bile superoksid oluşumu artar. Hiperglisemik hafızanın mitokondriyel DNA'daki oksidatif hasar ile açıklanabileceği öne sürülmektedir (Mana ve ark., 1998).

### 2.1.2. Diabetes mellitus'un tipleri ve klinik özellikleri

DM'un bütün tipleri ya dolaşımdaki insülin konsantrasyonlarının azalmasından (insülin yetersizliği) ya da hedef dokuların insüline yanıt verebilirliğinin azalmasından (insülin direnci) kaynaklanmaktadır. Dünyada en çok kabul gören diabetes mellitus sınıflaması Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından önerilen ve DM'u 3 ana başlık altında toplayan sınıflamadır. Bu sınıflandırmalar kesin sınırlarla birbirlerinden ayrılmamakla beraber, bazı durumlarda hastada iç içe geçmiş bir tablo gösterirler (Huysal, 1999). Bu sınıflamaya göre;

- I. Grup:** Bu ilk grup 4 alt başlıktan oluşmaktadır.
- Tip-1 Diabetes Mellitus: İnsülin Bağımlı Tip (IDDM)
  - Tip-2 Diabetes Mellitus: İnsülin Bağımsız Tip (NIDDM)
  - Malnutrisyonla ilişkili DM
  - Bazı koşullar ve sendromlarla beraber olan DM
- II. Grup:** Bozulmuş glukoz toleransı ile beraber seyreden tip DM
- III. Grup:** Gebelik diabeti (Gestasyonel DM )

### 2.1.2.1. Tip 1 diabetes mellitus (IDDM)

İnsüline bağımlı, insulin dependent diabetes mellitus (IDDM) veya genç tipi (juvenile onset) diabet olarak anlatılmaktadır. Bu tip diabet total veya kısmi insülin yetmezliği olarak da tanımlanmaktadır. Polidipsi, poliüre, zayıflama ve ketoasidoz gibi klasik diabet semptomları gösterir. Hiperglisemi ve ketoasidoz oluşumunu engellemek için insülin tedavisine gereksinim gösteren diabet tipidir. Bu tipte pankreasın insülin salgılayan  $\beta$  hücrelerinin virütik enfeksiyonlar veya otoimmüitedeki değişimlerden dolayı tahrip olduğu gösterilmiştir (Avcı, 2001).

Diabetes mellituslu bireylerin yaklaşık %5-10'u tip 1 diabetiktirler. Semptomlar (örneğin; poliüri, polidipsi ve hızlı kilo kaybı) genellikle akut olarak ortaya çıkar. Pankreas adacık beta hücreleri kaybından dolayı diabetik bireylerde insülin yetersizliği mevcut olduğundan yaşamlarını sürdürebilmek ve ketozu önlemek için insüline bağımlıdırlar. Bu hastalığın insidansı çocukluk ve genç erişkinlikte en fazladır. Yaklaşık olarak %75'inde hastalık 30 yaşından önce başlar (Sacks, 2005).

Tip 1 diabetes mellitus, insülin salgılayan pankreas beta hücrelerinin hücresel aracılı otoimmün harabiyeti sonucu oluşur. Diğer adacık hücreleri korunmuştur. Adacık hücreleri, mononükleer hücrelerce oluşturulan immün saldırıya maruz kalırlar ki; bu saldırının beta hücrelerindeki patolojik görünümü insülitis olarak adlandırılmaktadır. Tip 1 diabete öncülük eden otoimmün olay klinik belirtilerin ortaya çıkmasından yıllar önce

başlar. Semptomatik tip 1 diabetin ortaya çıkması için beta hücreleri hacminde %80-90 kadar azalma olması gereklidir (Sacks, 2005).

Tip 1 diabeti olan bir annenin çocuğunda aynı tipte diabet gelişmesi riski yüksektir. 25 yılda %1 ile 2 civarında bir artış olur, eğer babada diabet varsa bu risk üç kat artar. Eğer hem annede hem babada hastalık varsa risk daha da artar ve bu nadir karşılaşılan çiftlere genetik danışmanlık verilmesi gerekmektedir.

### 2.1.2.2. Tip II diabetes mellitus (NIDDM)

İnsüline bağımlı olmayan, insulin nondependent diabetes mellitus (NIDDM) veya erişkin tipi (Maturity onset) diabet olarak anlatılmaktadır. Bu tip diabetin obesite ve kalıtımla ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu hastalıkların başlıca karakteristikleri; insülinin sentez, salgı ve depolanmasında bir bozukluk olmadığı halde periferik dokularda insüline karşı rezistans söz konusudur. İnsülin rezistansı; hedef hücrelerde insülin reseptör sayısının azalması veya hücre içinde postreseptör düzeyde insülin etkinliğinin azalması ile direnç gelişmesi şeklinde tanımlanabilir (Avcı, 2001).

Tip II diabetes mellitus, diabetes mellituslu bireylerin yaklaşık %90'ını oluşturur. Bireyler minimal semptomlara sahiptirler, ketoza eğilimli değildirler ve ketonüriyi önlemek için insüline bağımlı değildirler. Obesite sıklıkla birlikte bulunur, kilo kaybı çoğunlukla tek başına hiperglisemiyi düzeltir. Bununla birlikte tip II diabetli bazı bireyler hiperglisemiyi kontrol etmek için diyet manipülasyonu, oral bir hipoglisemik ajan ya da insüline gereksinim duyabilir. Bu hastalık genellikle 40 yaşından sonra gelişir, fakat tip II diabet özellikle obez olanlarda olmak üzere gençlerde de meydana gelebilir (Sacks, 2005).

Tip II diabetli bireylerde en azından iki ana tanımlanabilir patolojik defekt vardır. Bunlardan bir tanesi insülinin periferik dokuları etkileme yeteneğindeki azalmadır. Bu bozukluk insülin direnci olarak isimlendirilir ve bazı araştırmacılar tarafından primer patolojik olay olarak düşünülmektedir. Diğer beta hücre disfonksiyonudur. Bu, insülin direncini kompanse etmek için yeterli insülin üretmede pankreasın yetersizliğidir.

Böylece hastalıkta önce insülinin göreceli yetersizliği oluşur ve sonra mutlak insülin eksikliği gelişir. İnsülin direnci ve insülin sekresyonundaki temel moleküler defektler çevresel ve genetik faktörlerin kombinasyonundan kaynaklanmaktadır (Sacks, 2005).

Tip II diabetin nedenleri çok çeşitli olup gidişatı, görünümü ve sonuçları farklı olan çeşitli bozuklukları kapsadığı artık bilinmektedir. Altta yatan mekanizma ya insülin salgılanmasının azalmasına bağlı (periferik glukoz kullanımının azalmasıyla sonuçlanan insülinin etkilerine karşı artmış periferik dirençle beraber bir adacık kusuru), ya da hepatik glukoz üretiminin (output) artmasıyla ilişkilidir. Tip II diabet hastalarının muhtemelen %98 kadarı idiopatikdir ve neden olan hiçbir spesifik kusur tanımlanmamıştır. İnsülin salgısının azalmasının mı yoksa insülin direncinin artmasının mı önce meydana geldiği bilinmemektedir, ancak olayların sırası bireyden bireye değişkenlik gösterebilir. İnsülin direncinin en sık nedeni obezitedir (Watkins, 2003).

#### **2.1.2.3. Malnutrisyonla ilişkili diabetes mellitus**

Bu klinik alt grup tropikal ve gelişmekte olan ülkelerde genç erişkinler arasında görülür. Farklı klinik özellikleri, seyri ve belli bölgelerde çok fazla sayıda vakaların olması sınıflandırmada diabete ayrı bir sınıfın girmesine yol açtı.

#### **2.1.2.4. Bozulmuş glukoz toleransı ile beraber seyreden diabet**

Bozulmuş glukoz toleranslı kişilerin plazma glukoz konsantrasyonları normal değerler ile diabet için tanı koydurucu olan değerler arasında seyreder. Bu gibi bireylerin plazma glukoz konsantrasyonları belli bir zaman periyodundan sonra belirgin diabete doğru ilerler. Ancak büyük bir kısmında aynı kalır. Bazılarında ise glukoz konsantrasyonları normale döner (Huysal, 1999).

Bozulmuş glukoz toleransı sadece oral glukoz tolerans testi (OGTT) ile belirlenir. Bozulmuş glukoz toleransı, OGTT'de ikinci saatteki plazma glukoz konsantrasyonunun 126-200 mg/dl (7-11.1 mmol/L) arasında olmasıyla belirlenir (Huysal, 1999).



### 2.1.2.5. Gestasyonel diabet (GDM)

Gebelik sırasında fark edilen diabetdir. GDM, genellikle ilerleyen gebelik haftalarında görüldüğü için gebeliğin ilk trimesterinde görülen diabet, overt diabet olarak kabul edilir. Gebeliğin en sık görülen medikal komplikasyonu olup, tüm gebelerin yaklaşık %2-3'ünde görülür. Her ne kadar gestasyonel diabet doğumdan sonra kaybolduysa da GDM'li kadınların %30'u 7-10 yıl içinde diabet veya bozulmuş glukoz intoleransı tanısı alırlar (Coustan, 1995). Tanı konulmaz ve önlem alınmaz ise perinatal morbidite ve mortalite riski artar. Gestasyonel diabeti olan annelerin doğurduğu bebekler sıklıkla makrozomiktir. Daha önemlisi bu gibi hastaların sonraki hamilelik dönemlerinin yaklaşık %2'sinde gestasyonel diabet, oluşur. Gestasyonel diabetli kişilerin doğumdan sonra glukoz düzeyleri genellikle normale döner veya bozulmuş glukoz toleransına sahip olurlar ya da diabet oluşur (Huysal, 1999). Tanı için her hamile bayanda 26 ile 28. haftalarda rutin kan glukoz ölçümleri yapılmalıdır.

### 2.1.3. Hipergliseminin genel komplikasyonları

Nonenzimatik glikozilasyon, otooksidatif glikozilasyon, enerji metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan metabolik stres, sorbitol yolu aktivitesi, inflamatuvar mediatörlerin düzeyleri, antioksidan savunma sistemindeki değişiklikler sonucu oluşan doku hasarı diabette oksidatif stresi artıran mekanizmalardır (King ve Banskota, 1994; Giugliano ve ark., 1996; Maxwell ve ark., 1997; Orei ve ark., 2000).

Yüksek glukoz konsantrasyonu, poliol yolu ile sorbitol üretimine neden olur. Bu yoldaki aldoz redüktaz enzim aktivitesi için NADPH kullanıldığından hücre içi NADPH tüketilir. Okside glutatyonun redükte forma çevrilebilmesi ve nitrik oksit (NO) sentezi için NADPH gereklidir. Bu nedenle sorbitol yolunun aktif olması ve sonuçta NADPH'nın yokluğu hücrenin antioksidan kapasitesinin sınırlanması anlamına gelmektedir. Redükte glutatyonun ve vazodilatasyonda görev yapan NO sentezinin azalması diabetin vasküler komplikasyonlarının ortaya çıkışında rol oynar (Das ve Chainy, 2001). Vazodilatör mediatörlerin kaybı endonöronal kan akımının azalmasına

dolayısıyla endonöronal hipoksi veya iskemiye yol açmaktadır. Bu olayın sonucunda nöronal hücre, schwann hücrelerde hasar meydana gelmektedir (Cameron ve Cotter, 1997). Glukozun polioliol yolu ile fruktoza ve sorbitola çevrilmesinin bir sonucu olarak hücrede miyoinozitol düzeylerinde azalma ve bunun sonucunda da Na-K ATP-az enzim aktivitesinde düşme olduğu gözlenmiştir ki bu enzim aktivitesi sinir sistemi iletim hızı için önem taşımaktadır (Greene ve ark., 1990).

### 2.1.3.1. Polioliol yolunun aktivasyonu

Aldoz redüktaz sitozolik bir oksiredüktazdır. Glukoz da dahil olmak üzere çeşitli karbonil bileşiklerini indirgeyen NAD(P) bağımlı bir enzimdir. Substratlarından olan glukozu ilgisiz az olduğundan diabetli olmayan hastalarda normal glukoz konsantrasyonlarında glukozun bu metabolizma ile kullanımı azdır. Hiperglisemide hücre içi glukoz konsantrasyonunun artması bir polioliol olan sorbitolün oluşumunu artırır. Bu sırada NADPH da azalır. Sorbitol, sorbitol dehidrogenaz ile fruktoza okside olurken NAD de NADH'a indirgenir. Sorbitolün NAD<sup>+</sup> ile oksidasyonu sonucunda sitozolde NADH/NAD oranı yükselir. Gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz inhibisyonuna uğrar, trioz fosfatların konsantrasyonları artar (Baynes ve Thorpe, 1999; Dunlop, 2000).

Trioz fosfat artışı metil glioksal (AGE'lerin öncülü) ve diaçil gliserol (DAG) (protein kinaz C aktivatörü) oluşumlarını artırır. Glukozun sorbitole dönüşümü NADPH harcadığından NAD(P) bağımlı bir enzim olan glutatyon redüktaz aktivitesi azalır ve glutatyon rejenerasyonu azalır. Oksidatif stres indüklenir veya şiddetlenir. Aldoz redüktazı aşırı eksprese eden transgenik farelerin lenslerinde indirgenmiş glutatyonun azaldığı saptanmıştır. Polioliol yolunun zararlı etkilerini bu mekanizma en doğru açıklar (Giugliano ve ark., 1996; Nishikawa ve ark., 2000; Yabe-Nishimura, 1998).

### 2.1.3.2. İleri glikasyon son ürün (AGE) oluşumunun artması

Proteinler yüksek glukoz konsantrasyonları ile karşılaştıklarında, glukoz bir enzimin aracılığına gereksinim duymadan proteine bağlanarak kontrolsüz glikasyon reaksiyonlarına neden olur. Glikasyona uğramış protein, moleküler oksijene bir elektron

vererek serbest oksijen radikali oluşumuna neden olur. Glukoz ve proteinlerin amino grupları arasında kendiliğinden gelişen enzimatik olmayan glikasyon reaksiyonları yoluyla önce Schiff bazları, sonrasında daha stabil olan Amadori ürünleri oluşur. Amadori ürünlerinin oluşumundan sonra ileri glikasyon son ürünleri (AGE) meydana gelir. AGE'ler, endotelin-1 aracılığıyla vazokonstriksiyonu arttırarak endotel hasarına yol açtığı gibi, kompleks biyokimyasal mekanizmalarla serbest radikal üretebilme kapasitesine de sahiptirler (Giardino ve ark., 1996).

Glikasyon, serbest karbonil grubu taşıyan bileşikler ile protein, nükleik asit ve lipidlerin serbest amino gruplarının nonenzimatik reaksiyonlaşmaları ile başlar. Erken glikasyon ürünleri (amadori ürünü) aralarında oksidasyonun da yer aldığı ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluştuğu bir seri geri dönüşümsüz reaksiyonla ileri glikasyon son ürünlerine (AGE) dönüşür (Baynes ve Thorpe, 2000).

Diabette dislipidemi olduğu ve lipid peroksidasyonunun arttığı bilinmektedir. Lipid peroksidasyonu ile oluşan RCO bileşikleri, malondialdehit ve hidroksinonenal de glikasyona katılmaktadır. Hücre içinde RCO bileşiklerinin konsantrasyonları çok yüksek düzeylere ulaştığında oluşan karbonil stres hücre metabolizmayı etkiler. AGE ile modifikasyon sonucunda hücre içi proteinlerin fonksiyonları değişir. Glikasyon proteinleri lizin amino asitlerini de modifiye ettiğinden, ubikitinasyon ve proteazomal yıkım gerçekleşemez. RCO'ler doğrudan genotoksik, sitotoksik ve apoptotik etki gösterirler. Glukoz türevli AGE'lerin moleküller arasında kovalent bağ oluşturduğu ilk olarak kollajen üzerinde gösterilmiş ve diabet, kollajenin glikatif oksidatif stres altında hızla yaşlandığı bir hastalık olarak tanımlanmıştır (Miyata ve ark., 2000).

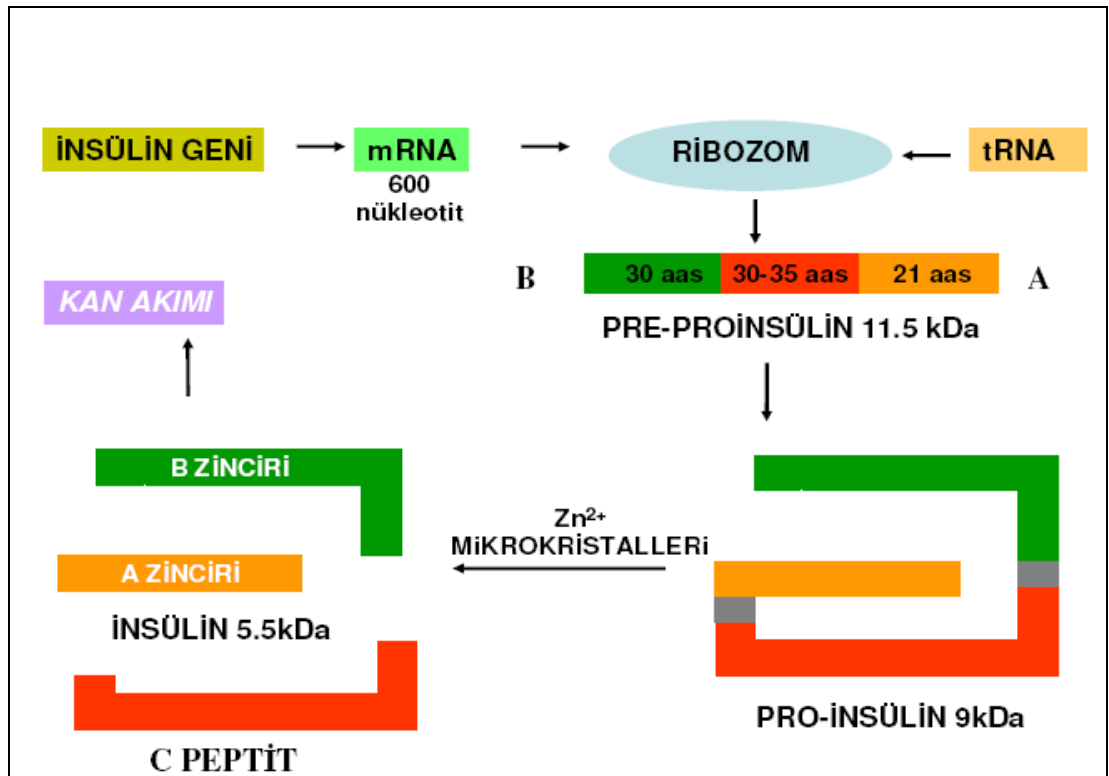
## 2.2. İnsülin

### 2.2.1. İnsülinin moleküler yapısı ve sentezi

İnsülin yaklaşık olarak 6000 dalton büyüklüğünde polipeptid yapılı bir hormondur. Kısa (A) ve uzun (B) iki amino asit zincirinden oluşmaktadır. A zinciri 21, B zinciri 30 amino asit içerir. Bu iki zincir birbirine sistein rezidüleri arasında yer alan iki adet

disülfür köprüsü ile bağlıdır. A zincirinde ise zincir içi bir disülfür köprüsü daha bulunur.

İnsülin, pankreasta Langerhans adacıklarındaki  $\beta$  hücrelerinde sentez edilir. Bu hücrelerdeki ribozomlarda önce prepro-insülin adı verilen tek zincirli, 110 aminoasitli bir öncü molekül sentezlenir. Preproinsülin granüllü endoplazmik retikulum membranını geçip lümene ulaştığında 24 aminoasitlik N terminali kopar ve proinsülin meydana gelir. Bu molekül kendi içinde kıvrılır ve üç disülfür köprüsü oluşur. Sonra bu molekül golgi aygıtına transfer olur ve burada yer alan proteazların etkisiyle 35 aminoasitlik bir segmentinden (C peptid) daha ayrılır ve veziküller içinde insülin olarak depolanır. C peptidin ayrılmasıyla oluşan insülin proinsülininden daha kararlı bir molekül haline gelir ve  $Zn^{2+}$  iyonu ile birlikte hegzamerik kristaller halinde çöker. Parsiyel endositozla insülin salgılanırken  $Zn^{2+}$ , ekimolar C peptid ve az bir miktarda proinsülin de salgılanır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. İnsülin biosentezi ve  $Zn^{2+}$ 'nin insülin yapısına katılması (Düzgüner, 2005)

$\beta$  hücrelerinin uyarılması ve insülin salınımındaki bağlantıda  $Ca^{2+}$  önemli rol oynar.  $Ca^{2+}$  insülin yüklü veziküllerin hücrenin içinden membranın iç yüzeyine taşınmasını ve ekzositozla salgılanmak üzere yapışmalarını sağlar. Siklik adenzin mono fosfat (cAMP) ve inozitol trifosfat ( $IP_3$ ) ise endoplazmik retikulum ve mitokondrilerden  $Ca^{2+}$  salınımını sağlar (Kayaalp, 2005).

### 2.2.2. Langerhans adacıkları

Pankreas içinde bulunan Langerhans, hücre adacıklarından ibarettir ve erişkinlerde 1-1.5 g ağırlığındadır. 4 major ve 2 minör hücre tipi vardır.

#### **Majör hücre tipleri;**

1. Beta ( $\beta$ ) hücreleri: %70'lik kısmını oluşturarak, insülin üretirler.
2. Alfa ( $\alpha$ ) hücreleri: %20'lik kısmı oluşturup, glukagon üretirler.
3. Gama ( $\gamma$ ) hücreleri: %8'lik kısmını oluşturup, somatostatin üretirler.
4. Pankreatik polipeptid (PP) hücreleri: %2'lik bir kısmını oluşturup, pankreatik polipeptid içerirler. İntestinal motoliteyi ve gastrointestinal sistem (GİS) enzimlerinin salınımını inhibe ederler.

#### **Minör hücre tipleri;**

1. D1 hücreleri: Vazoaktif intestinal polipeptid (VIP) üretirler. Bu da glikojenoliz ve hiperglisemiye indükler.
2. Enterokromoffin hücreleri: Serotonin sentezlerler.

### 2.2.3. Pankreasta insülin salgılanması

İnsanda pankreasta depo edilmiş olarak bulunan insülinin miktarı yaklaşık olarak 10 mg kadardır. Bu havuzdaki insülinin, salgılanma kinetiği açısından, erken salınan küçük bir havuz ve daha geç salınan büyük bir havuz halinde depolandığı öngörülmektedir. Pankreas bazal olarak, yani bir uyarı olmadan, 1 ünite/saat (yaklaşık 40  $\mu$ g) insülin salgılar. Bunun %50'si karaciğerden ilk geçişte metabolize edilirken,

kalan kısmı böbrek ve çizgili kas olmak üzere diğer hedef dokularda yıkıma uğrar. Günde salgılanan miktarı yaklaşık olarak 2 mg (50 IU) kadardır. İnsülinin plazma yarı ömrü ise ortalama 5-6 dakikadır ve karaciğer, böbrekler ve çizgili kaslardaki hedef hücreler tarafından yakalanmış insülinin yarı ömrü 3 saate kadar uzar.

#### 2.2.4. İnsülin salınımının düzenlenmesi

İnsülin salınımında etkili birçok faktör bulunmaktadır. Pankreas Langerhans adacıklarında bulunan  $\beta$  hücrelerinden insülinin salgılanması, besinler ve bazı hormonlar gibi bir takım faktörlerden etkilenir. Besinler insülin salgılatıcılarının temelini oluştururlar. Fruktöz sindirim sistemindeki absorpsiyonu ile glukozla dönüşerek etki eder. Glukoz ise  $\beta$  hücreleri için temel uyarandır. Proteinlerin sindirimi ile oluşan amino asitlerin tümü insülin salgılatırlar. Bunların içinde en güçlü etkinliğe sahip olanı arginindir ve neredeyse glukozla eşdeğer bir etki gösterir. Yağ sindirimi sonucu oluşan yağ asitleri de insülin salgılanmasını artırır. Yağ asitleri bu etkilerini sindirim sisteminde salgılanmasını arttırdıkları gastrik inhibitör polipeptid (GİP) aracılığı ile yaparlar.

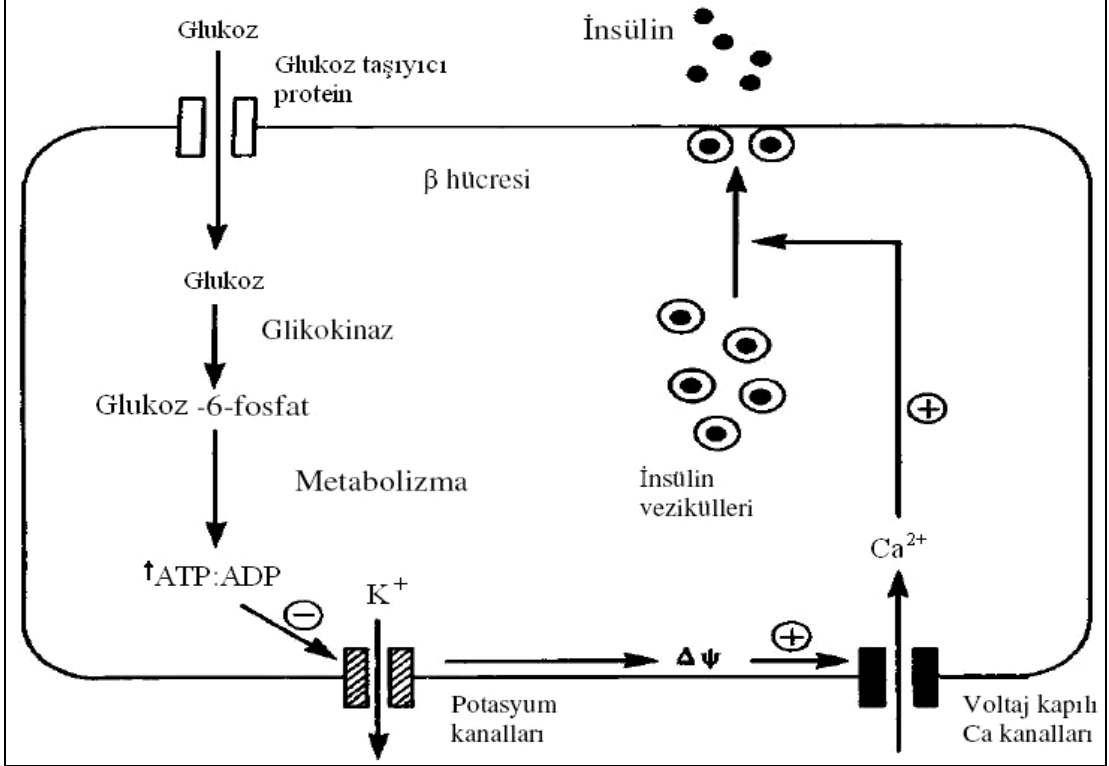
Glukagon, pankreasın  $\alpha$  hücrelerinde sentez edilir ve inselin ile birlikte karbonhidrat metabolizmasında önemli bir role sahiptir. Glukoz glukagon salınımını inhibe eder, glukagon ise glisemiye arttırarak indirekt yolla insülin salınımını artırır. İnsülin ise  $\alpha$  hücrelerin üzerine parakrin etki göstererek glukagon salgısını direkt olarak azaltır. Bu hormon aşırı insülinin yol açtığı hipogliseminin düzeltilmesinde en önemli faktördür.

Hipotalamus insülin salgısının nöronal düzenlenmesinde etkili bir yapıdır. Büyüme hormonu ve somatomedinler, kortizol, östrojenler, progesteron ve somatomamotropin gibi hormonlar indirekt yolla insülin salgısında değişikliğe yol açarlar. Bu etkilerini plazmadaki substrat miktarını değiştirerek yaparlar. Somatostatin pankreas Langerhans adacıklarındaki delta hücresinden salgılanır. İnsülin, glukagon ve pankreatik polipeptidin güçlü bir inhibitörü olarak görev yapar. Ayrıca mide-barsak

mukozasının kan akımını ve motilitesini azaltarak yağların absorpsiyonunu geciktirir. Bu mekanizmalarla insülin salgısını azaltır. Dopamin ve serotonin de insülin salgısını inhibe ederler ve pankreas adacık hücrelerinde bulunurlar. Langerhans adacıkları  $\beta$  hücrelerinden salgılanan bir inhibitör de adacık amiloid polipeptittir.

İnsülinin salınması, Langerhans adacıklarındaki  $\beta$  hücrelerine glukozun girişi ile başlar. Glukoz  $\beta$  hücrelerine girdikten sonra glukoz-6-fosfata dönüştürülür. Glukoz-6-fosfattan oluşturulan ATP, ATP-kapılı potasyum kanallarını uyararak potasyumun hücre dışına çıkmasını sağlar. ATP-kapılı potasyum kanallarının kapanması ile meydana gelen depolarizasyon, voltaj kapılı kalsiyum (Ca) kanallarının açılmasına ve hücre içine Ca girişine neden olur (Şekil 2.2). Bu olay, insülin veziküllerini membrana doğru hareket ettirir ve insülin hücre dışına salınmış olur (Champe ve Harvey, 1997; Quinn, 2002).

Sağlıklı bireylerin kas, yağ ve karaciğer doku hücrelerindeki glukoz transportu, doku hücrelerine spesifik protein yapısındaki glukoz taşıyıcıların rol aldığı kolaylaştırılmış diffüzyonla gerçekleşir. Bu mekanizmadan önce insülin, hücre yüzeyindeki reseptöre bağlanarak tirozin kinazı aktive eder. Reseptörün  $\beta$  alt ünitesinin tirozin birimleri otofosforilasyona uğrar. Reseptör, tirozin kinaz insülin reseptör substrat 1 (IRS1)'i fosforile eder. Fosforile edilmiş IRS1, diğer protein kinaz ve fosfatazların aktivasyonunu destekler. Aktive olmuş reseptör, spesifik glukoz taşıyıcılarının, translokasyonla hücre içi havuzdan hücre membranına hareket etmesine neden olur (Quinn, 2002). Bu taşıyıcıların, glukoz bağlayan bölgesi hücre dışına yönelmiştir. Glukoz buraya bağlanınca, oluşan yapısal değişikliğe bağlı olarak, glukoz bağlayan bölgenin yönü sitoplazmaya doğru döner ve glukoz taşıyıcıdan ayrılıp içeri girer. İnsülin düzeyi düşünce glukoz taşıyıcıları, hücre membranından hücre içi depo havuzlarına hareket ederler. Kısaca, insülinin glukoz transportundaki görevi, glukoz taşıyıcılarının yön değiştirmesini ve konsantrasyonlarının artmasını sağlamaktır (Quinn, 2002).



Şekil 2.2. İnsülin salınışının düzenlenmesi (Düzgüner, 2005)

### 2.2.5. Yetersiz insülin sekresyonu

Yetersiz insülin sekresyonu NIDDM gelişmesinde önemlidir. Çünkü sağlıklı  $\beta$  hücreleri insülin rezistansını dengeleyebilirler. Major defekt glukozla bağlı insülin salınımının kaybı ve arjinine bağlı insülin salınma fonksiyonundaki kayıptır.  $\beta$  hücre defektinin primer veya insülin rezistansına sekonder olup olmadığı bilinmemektedir (Huysal, 1999).

### 2.2.6. İnsülin reseptörü ve post reseptör olaylar

İnsülin aracılığı ile sinyal iletiminin temel mekanizması, büyüme faktörleri ailesinin diğer üyelerinde olduğu gibidir. Tüm büyüme faktörleri hücre yüzeyindeki reseptörleri uyarırlar. İnsülin salgılanıp sistemik dolaşıma verince hedef hücrelerindeki reseptörlere bağlanarak etki eder. Bu reseptörler hücre membranında yer alan tirozin kinaz tipi reseptörlerdir. Bu reseptöre insülin bağlandığında insülinin etkisini başlatan



sinyal oluşur, aynı zamanda insülin-reseptör kompleksi membrandan ayrılarak hücre içine girer. Burada lizozomlarda insülin yıkılır ve reseptör tekrar kullanılmak üzere hücre yüzeyine döner. İnsülin reseptörü genellikle tek bir prekürsör proteinden gelişen hücre dışında yer alan iki  $\alpha$  ve transmembran yerleşimli iki  $\beta$  alt biriminden oluşan bir tetramer yapısındadır. İki  $\alpha$  alt birimi reseptörün hücre dışı bağlanma bölgesini oluştururken  $\beta$  alt birimlerinin membran ve sitoplazmaya uzanım gösteren kısmı tirozin kinaz aktivitesi gösterir. İnsülin reseptörün  $\alpha$  alt birimine bağlanınca  $\beta$  biriminde otofosforilasyon gerçekleşir. Otofosforilasyon tirozin kinaz aktivitesini artırır. Bu olaydan sonra insülinin hücre içindeki etkilerinden sorumlu olan reseptör substrat-1 (IRS-1) adlı protein tirozin, serin ve treonin rezidülerini fosforile eder. IRS-1 ayrıca birçok fonksiyonel proteini de aktive eder. İnsülin bağımlı dokularda membrandan glukoz transportunu IRS-1'in IP<sub>3</sub>-kinaz aracılığı ile fosfatidilinozitol 3,4,5-trifosfat oluşumunu artırarak gerçekleştirdiği düşünülmektedir. İnsülin sitoplazmada yerleşmiş bulunan ve glukozun hücre içine taşınmasını sağlayan glukoz transporterlarının (GLUT) translokasyonunu sağlayarak onları işlevsel duruma getirir (Kayaalp, 2005).

### 2.2.7. İnsülinin glukoz metabolizmasındaki rolü

İnsülin temel olarak hücrelerde glukoz kullanımını artırıcı etkiye sahiptir. Glukozun hücrelere girişi kolaylaştırılmış difüzyonla olur. Bu olayda insülinin birkaç rolü vardır. Bunlardan birincisi hücre membranındaki glukoz taşıyıcılarının (GLUT) sayısını arttırmak yoluyla, diğeri de hücre içindeki glukozun fosforilasyonu ile hücre içi serbest glukoz miktarını azaltarak, hücre dışı ve içi arasında glukoz konsantrasyon gradiyentini arttırmak suretiyle olur.

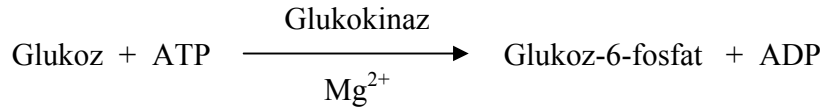
#### 2.2.7.1. Glukoz taşıyıcıları

Bunlar, birden beşe kadar numaralandırılmış integral proteinlerdir. GLUT-1 ve GLUT-4 insülinle uyarılabilen alt gruplardır. Bu iki alt grup çizgili kaslar, yağ dokusu, meme bezi hücreleri ve fibroblastlarda bulunur. İnsülin yokluğunda sitoplazmada veziküller içinde yerleşik bulunan bu proteinler ortama insülin gelince translokasyon ile

hücre membranına transfer edilirler, ayrıca insülin bu moleküllerin sentezini de artırır. Bu yüzden bu dokulara glukozun girişi insüline bağımlıdır. GLUT-1 ve GLUT-4'ün dışındaki taşıyıcılar insülinle stimüle edilemezler. Bu nedenle barsak epitel hücreleri, karaciğer, pankreas  $\beta$  hücreleri gibi GLUT-2 içeren hücrelerde, nöronlar, eritrositler, böbrek tubulus hücrelerinde hücre içine glukoz transportu birincil olarak insülin bağımsızdır. Fakat hücre içinde glukozun fosforilasyonundan sorumlu enzimlerin aktive olması yani glukoz konsantrasyon gradiyentini arttırmak için insülin gereklidir.

### 2.2.7.2. Hücre içine giren glukozun fosforilasyonu

İnsülin hücre içinde glukozun fosforilasyonundan sorumlu heksokinazların sentezini artırarak glukoz konsantrasyon gradiyentini artırır ve bu sekonder etkisiyle hücre içine glukoz girişi artar. Heksokinazlar I'den IV'e kadar numaralandırılırlar. Heksokinaz IV'ün diğer bir ismi glukokinazdır ve glukoz metabolizmasında önemli role sahip karaciğer ve pankreas  $\beta$  hücrelerinde yer alır. Oysa bu hücrelerde bulunan GLUT-2'ler insülin bağımsız çalışırlar. Yani insülin yokluğunda glukoz hücre içine girer fakat kullanılmaz. İskelet kası, yağ dokusu ve miyokarda bulunan enzim heksokinaz II'dir. Bu hücrelerde bulunan GLUT-4 ise insüline bağımlı çalışır.



### 2.2.8. İnsülin direnci

İnsülin direnci, insülinin kendisine duyarlı dokulardaki karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasını düzenleme yeteneğinin bozulmuş olduğunu anlatan bir terimdir. İnsülin direncinin derecesi kişiden kişiye değişir. İnsülin direnci olan bireylerde belirli bir biyolojik fonksiyonun yerine getirilebilmesi için ihtiyaç duyulan insülin miktarı artmıştır (Reaven ve Strom, 2003). İnsülin direnci için normal konsantrasyondaki insülinin normalden daha az biyolojik yanıt oluşturması durumudur da denebilir. Başka bir anlatım ile, belirli bir konsantrasyondaki insülinin glukoz uptake'ini uyarma etkisinin

azalmasıdır. Normalde insülin karaciğerde glukoneogenezi ve glukojenolizi inhibe ederek hepatik glukoz üretimini baskılar. Ayrıca glukozu kas ve yağ dokusu gibi periferik dokulara taşıyarak burada ya glikojen olarak depolanmasını ya da enerji üretmek üzere okside olmasını sağlar. İnsülin direncinde insülinin karaciğer, kas ve yağ dokusundaki bu etkilerine karşı direnç oluşarak hepatik glukoz sekresyonu bozulur. Kas ve yağ dokusunda da insülin aracılığı ile olan glukoz uptake'ı azalır. Bu durumda oluşan insülin direncini karşılayacak ve dolayısıyla normal biyolojik yanıtı sağlayacak kadar insülin salgısı artışı ile metabolik durum dengelenir. Böylelikle hipergliseminin önlenmesi için beta hücreleri sürekli olarak insülin salgısını arttırmaya yönelik bir çaba içerisine girer. Sonuçta normoglisemi sağlanırken insülin düzeylerinde 1.5-2 kat hatta bazen daha da yüksek bir seviye oluşur.

İnsülin direncinden sorumlu diğer bir mekanizma da insülin genindeki yapısal mutasyonlar sonucu anormal defektif insülin moleküllerinin oluşumudur. Bunun sonucunda proinsülin molekülünde proteolitik parçalanma bölgesindeki yapısal anomaliye bağlı olarak proinsülin-insülin dönüşümü tam olmaz. Bu nedenlerden dolayı da endojen insüline karşı doku yanıtı azalarak direnç oluşur.

İnsülinin biyolojik etkisini gösterebilmesi için mutlaka kendi insülin reseptörüne bağlanması gerekir. Reseptör sayısının azalması ve reseptör mutasyonlarının oluşması gibi nedenlerin hepsine birden 'reseptör düzeyindeki insülin direnci' diyoruz.

## **2.3. Göz**

### **2.3.1. Göz anatomisi**

Orbita boşluğu, tabanı dışa bakan koni şeklindedir. Her iki orbitanın medial duvarları birbirine paraleldir. Medial ve lateral duvar arasında 45 derecelik bir açı bulunmaktadır. Orbita duvarları 7 adet kemikten yapılmıştır. Bunlar; etmoid, frontal, lakrimal, maksillar, palatin, sfenoid, zigomatik kemiklerdir. Orbitanın tavanını büyük ölçüde frontal kemiğin orbital parçası oluştururken arka kısmını sfenoid kemiğin küçük kanalı tamamlar. Orbitanın lateral duvarının ön kısmını zigomatik kemik, arka kısmını

ise sfenoid kemiğin büyük kanadı oluşturur. Göz küresi (bulbus oculi), orbita boşluğu içinde bağ dokusundan zengin bir yağ yastığı içine yerleşmiş, görme fonksiyonu ile görevli, ön-arka uzunluğu 22-27 mm olan küresel bir organdır. Ortalama 6.5 cc hacminde ve 7.5 gram ağırlığındadır. Her göz küresi için dört rektus kası (iç-dış-üst-alt rektuslar) ve iki oblik kas (üst ve alt oblikler) ile tüm yönlere bakış sürdürülür. Göz kapakları (palpebra oculi) kırpma refleksi ile koruyucu olarak görev yaparken, üst kapak temporal kısmın arkasında yerleşmiş gözyaşı bezi (glandula lacrimalis) de gözyaşı salgısı ile hem koruyucu, hem de saydamlığın sürdürülmesi ile ilgili görev yapar.

Anatomik olarak göz küresi dıştan içe doğru üç tabakadan oluşur:

#### **2.3.1.1. Tunica fibrosa**

Göz küresinin en dışında yer alan bu koruyucu fibröz tabaka arkada gözün altıda beşini oluşturan sklera, önde altıda birinin oluşturan kornea ve bunları birleştiren limbus (halka)'tan meydana gelir. Optik sinirin arkada gözden ayrıldığı yerde sklera, sinir lifleri paketlerinin geçebildiği lamina cribrosa adı verilen ağ şeklinde bir yapılanma gösterir.

Kornea kesiti eliptik, saat camı şeklinde saydam bir tabaka olup önden arkaya doğru gözün ilk kırıcı dokusudur. Vertikal meridyeni 10.5 mm, horizontal meridyeni 11.5 mm civarında olup santraldeki kalınlığı 0.65 mm'dir ve 1.376 refraktif indeksi ile 43 diyoptrilik kırıcılık gösterir. Kırıcılığın en fazla olduğu dokudur.

#### **2.3.1.2. Tunica vasculosa (uvea)**

Yoğun pigmentli ve damarlı bu tabaka önden arkaya iris, corpus ciliare ve koroid olarak ayrılır. İris, stromasındaki pigment granül miktarı gözün rengini belirleyen, ortada oluşturduğu pupilla açıklığı ile göze giren ışık yoğunluğunu etkileyen yapıdır. Pupil kenarına yakın sirküler sfinkter kas ile miyozis oluşturur. Tunica vasculosanın iris ile koroid arasında kalan kısmı olan corpus ciliare, bir yandan prosesuslarında ön kamara sıvısının yapımını sürdürürken, öte yandan bu çıkıntıların devamı olan Zinn lifleri ile

kristalin lensi yerinde tutar. Ayrıca silier kasın yardımıyla akomodasyon denilen yakına bakışta lensin kırıcılığını artırma olayını yönetir. Silier cismin pigmentsiz epitelden aktif sekresyon ve ultrafiltrasyon ile plazmadan derive edilen ön kamara sıvısı, arka kamaradan pupil açıklığından ön kamaraya geçer. Ön kamara sıvısı bir yandan gözün tonüsünü sağlarken diğer yandan komşu yapıların beslenmesini sürdürür.

Koroid, vasküler bir pleksus olup aynı zamanda pigmentli bir tabakadır. Dışta sklera ile sınırlıdır ve dıştan içe doğru büyük damarlar, orta damarlar ve koriokapsillaris tabakalarından oluşur. Dolaşımını kısa ve uzun arka silier arterlerden sağlar. Retina pigment epiteli ve retinanın dış segmentlerinin beslenmesi ve retina pigment epitelinde ısı regülasyonundan sorumludur.

### 2.3.1.3. Tunica nervosa (retina)

Tunica nervosa, gözün embriyolojik gelişimi sırasında optik vezikülün içe invaginasyonu ile ortaya çıkan iki katlı bir oluşumdur. Dışta tek katlı retina pigment epiteli, içte de sensoryel retina yer alır. Retina histolojik olarak 10 tabakadan oluşur.

**Fotoreseptör hücre tabakası:** Fotoreseptör hücreleri gözün dioptrik sistemi tarafından yönlendirilen imajı nöral sinyallere çevirerek görme olayını başlatan özelleşmiş hücrelerdir. Retinada koniler ve basiller olmak üzere iki fotoreseptör hücresi vardır. Basiller karanlıkta, koniler aydınlıkta işlev yaparlar. Foveada hiç basil bulunmazken koniler en yüksek konsantrasyona sahiptir.

**Dış limitan membran (ELM):** Müller destek hücrelerinin uzantılarından oluşur. Gerçek bir membran değildir. Koni ve basil hücreleri bu membranı delerek geçerler. Periferik retinada bu membran ora serrata pigment epiteli ile birleşir.

**Dış nükleer tabaka (ONL):** Fotoreseptör hücrelerinin (koni ve basil) nukleuslarının bulunduğu tabakadır.

**Dış pleksiform tabaka (OPL):** Fotoreseptör terminalleri ile bipolar hücrelerin sinaps tabakasıdır.

**İç nükleer tabaka (INL):** Bipolar, amakrin horizontal ve Müller hücrelerinin nukleuslarının bulunduğu tabakadır.

**İç pleksiform tabaka (IPL):** Bipolar veya amakrin hücreleriyle ganglion hücreleri arası sinaptik tabakadır.

**Ganglion hücre tabakası (GCL):** Makulada 6-8 kat ganglion hücresi mevcuttur ama perifoveada tek kata iner.

**Sinir lifleri tabakası (NFL):** Ganglion hücrelerinin aksonları tarafından oluşturulan tabakadır.

**İç limitan membran (ILM):** Vitreusun yüzey modifikasyonu ve Müller hücrelerinin son çıkıntılarının ortaklaşa oluşturduğu bir membrandır.

**Retina pigment epiteli:** Koroideanın bruch zarına yapışık tek sıralı, küboid yapıda melanin pigmenti içeren hücrelerdir.

### 2.3.2. Lens

Lens iris gerisinde, zonüla lifleriyle korpus siliare'ye asılı durumdadır. Bikonveks yapıda ancak arka yüzey konveksitesi ön yüzeyden fazladır. Saydam ve damarsızdır. Gözün önemli kırıcı ortamlarından biridir ve yaklaşık 20 dioptrilik kırma gücü akomodasyonla daha da artar. Normalde lensin %65'i su ve %35'i proteinlerden oluşur.

Lens, iris ve papilin arkasında ve gözün ön bölümünde yerleşmiştir. Ön yüzeyi aköz sıvısı ile arka yüzeyi ise vitre ile temas halindedir. Ön yüzey ile kornea arasında yaklaşık 3.5 mm'lik mesafe bulunur. Lensi yerinde tutan zonüler liflerdir. Bu lifler lens ile ciliyer cisim arasında uzanır. Fibrilince zengin olan bu lifler ciliyer cisim tarafından yapılır ve lensin ekvator bölgesi ile ekvatorün 1-2 mm ön ve arkasına yapışır. Yapıştıkları yer lens kapsülünün 1-2 mikron içindedir (Saude, 1993).

Histolojik olarak lens kapsül, epitel hücreleri ve lens içeriği olmak üzere üç kısımdan oluşur.

### 2.3.2.1. Kapsül

Lens kapsülü dış kısmında aselüler elastik zarf ile sarılmıştır. Bu zarf lensin ideal şeklini korumasını sağlarken, aynı zamanda küçük moleküllerin geçişine de izin verir. Lens kapsülünün kalınlığı yaşa ve bulunduğu bölgeye göre değişir. Kapsülün kalınlığı genellikle yaş ile artar. Lens kapsülünün en kalın kısmı ekvatora yakın olan kısımdır ve yaklaşık 23 mikrondur. En ince kısmı ise arka kutuptadır ve 4 mikrondur (Forrester, 1996). Bazal membrana benzeyen bu yapı, lens epitel ve uzayan fibröz hücreler tarafından devamlı olarak sentez edilmektedir.

Lens kapsülü uçuca eklenmiş lamellerden oluşmuştur. Dış yüze yakın lameller ince olmakla beraber hücrelere yakın lameller daha kalındır. Lamellerin içinde tip-4 kollajen, laminin, heparin sülfat, proteo glikan ve antaktin gibi ana yapı proteinleri ile az miktarda fibronektin bulunur.

### 2.3.2.2. Epitel hücreleri

Lens epiteli ön kapsül altında tek sıra olarak ekvatora kadar uzanır. Küp şeklinde olan bu hücreler 10x15 mikron boyutlarındadır. Bazal yüzleri ön kapsüle sıkıca yapışır. Ön yüzleri ise yeni oluşmuş olan lens fibrilleriyle komşuluk yapar. İki komşu hücre arasında desmozom ve tight junction ile sıkı bağlantılar bulunur (Kuzsak ve Brown, 1994; Lo ve Harding, 1983).

Desmozomlar bağlantı oluşturmanın dışında mekanik stres iletiminde rol oynarlar. İleti sırasında vimentin filamentleri de rol alır. Tight junctionlar ise makromoleküllerin geçişini kontrol ederler. Su ve iyon gibi ufak moleküller ise gap junction aracılığıyla geçmektedir. Gap junctionlar konnexin-43 içerirler (Kuzsak, 1995).

Lens epitel hücresinin iskeleti aktin, vimentin ve tubulin gibi elemanlardan oluşmuştur. Beta ve gama aktinler hücre membranı ile ilişki içindedirler. Poligenol

arrays oluşturmak için miozin ile de ilişki içindedir (Rafferty ve Rafferty, 1992). Diğer epitel hücrelerinden farklı olarak lens epitel hücrelerinde sito keratin yerine vimentin bulunur. Alfa ve beta olarak ayrılan tubulinler ise eser miktarda bulunur.

### 2.3.2.3. Lens içeriği

Sıkıca paketlenmiş liflerden ve az miktarda ekstraselüler matriksten oluşur. Lens lifleri ekvatordaki lens epitel hücrelerinin uzaması ile oluşmaktadır. Bu hücreler 80 yaşına kadar 200 milyon lens fibrili üretirler. Hücreler bölünerek uzar ve 180 derece U şeklinde dönerler. Nükleusları ekvatora yakın olduğu için uzayan kısımda organellerinin olmaması nedeniyle lens şeffaflığını sağlar. İntrauterin hayatın ilk üç ayında lens vezikülünden gelişen birincil lens fibrillerinin yaptığı embriyonik nükleus etrafını saran ikincil lens fibrilleri, doğuma kadar fetal nükleusu oluşturur. Bu dönemde fibriller birleşir ve önde Y, arkada ters Y şeklini alırlar. Sekizinci aya kadar küre şeklinde olan lens doğumdan sonra yassılaşır. Dört yaşına kadar devam eden bu kabuklaşma olayı sonucu infantil nükleus ortaya çıkar. Bu oluşumda yeni ve genç olan hücreler en üstte ve kapsüle yakın paketler halindedirler. Hücreler arası alan sadece lensin %1.3'üdür. liflerin uzunlukları 10 mm, kalınlıkları 10 mikron ve genişlikleri 2 mikrondur. Kapsül elastikiyetinin fazla olmaması fibril katmanlarının basınç oluşturup en içteki nükleusun sıkışmasına neden olur. Bunun sonucunda su kaybı meydana gelir ve skleroza bağlı sertleşme olur. Lens merkezinde kolesterol/fosfolipid oranı %65 iken periferde %35 oranında olması merkezdeki sklerozun bir göstergesidir. Zamanla sertleşen embriyonik ve fetal nükleusa epinükleus, etrafındaki daha yumuşak olan infantil ve yetişkin nükleusa ise yumuşak korteks diyebiliriz. Bu durumda altmış beş yaşındaki bir insan lensinin %65'i nükleus ve %35'i korteks haline dönüşür (Özçetin, 2003).

Lensin ağırlığı doğumda 65 mg olmasına karşılık, yaşam süresince artarak yaşlılarda 220 mg'a ulaşır. Gençlerde lens ağırlığının %65'i su iken yaşlılarda bu oran giderek azalır.



Lens proteinleri suda eriyenler ve suda erimeyenler olarak iki gruba ayrılırlar. Suda eriyen proteinler; hücre içindedirler ve proteinlerin %90'ını oluştururlar. Alfa, beta ve gamma kristalinler olarak üç grupta toplanmışlardır. Alfa kristalinler toplam proteinlerin %32'sini oluştururken, %55 oranı ile en fazla beta kristalinler bulunurlar. En az miktarda ise %15 oranı ile gama kristalinler bulunurlar.

Suda erimeyen proteinler ise, ürede eriyen ve ürede erimeyen proteinler olarak da iki gruba ayrılır. Suda erimeyen proteinler lens liflerinin zarında bulunurlar. Epitel hücrelerinde yoktur. Yaşlanma ile birlikte suda eriyen proteinlerin bir bölümü suda erimeyen proteinlere dönüşür. Yaşlı ve kataraktlı lenslerde, oksidasyon mekanizmasının artmasıyla birlikte, ürede ve suda erimeyen proteinlerde artma görülür.

Lenste ayrıca, kan plazmasına ve kamaralar sıvısına göre daha az olmak üzere, K, Na, Cl, P ile lens metabolizmasında kullanılan glukoz vardır. Lenste bulunan glutatyon ve askorbik asit oksidoredüksiyon reaksiyonlarında önemli rol oynar. Askorbik asit oranı plazmaya göre daha yüksektir ve kataraktlı gözler ile yaşlılarda azalma gösterir. Lenste mukopolisakkaridler yoktur.

Lenste ATP üretimi glukoz metabolizmasıyla gerçekleşir. Glukoz metabolizmasının anaerobik, aerobik (krebs siklusu) ve heksomonofostak şekilleri vardır. Lensteki metabolizmanın %80'i anaerobiktir. Anaerobik glikolizde her bir glukoz molekülü 2 ATP molekülünün üretimine neden olur. Bu yol ile ortaya çıkan laktik asit moleküllerinin bir bölümü, Krebs siklusunda kullanılır. Artık kalan kısmı da kamaralar sıvısına dökülerek gözü terk eder. Gözden çıkan kamaralar sıvısındaki laktik asit oranının yeni üretilendekine göre daha fazla oluşu bu nedendir.

#### **2.4. Katarakt**

Kataraktın kelime anlamı 'hızla aşağı doğru akan su' ya da başka bir deyimle 'çağlayan'dır. Bu benzetmenin ilk kullanımı 11. yüzyıla kadar dayanmakta olup, arapça

aynı anlama gelen ‘nuzul-el-ma’ kelimesinin latince ifade edilmesiyle ortaya çıkmıştır. Halkımız arasında da yine aynı benzerlikten dolayı ‘ak su’ ifadesi kullanılmaktadır.

Katarakt hastalığı, saydam olan göz merceğinin bu saydamlığını yitirmesi ve gözbebeğinden normalde alınan siyah refletin, yerini opak-beyaz refleyle bırakması ile karakterizedir. Tarih boyunca, bu beyaz refle, hızla akan suyun aldığı renge benzetilerek “katarakt” terimi kullanılmıştır. Halen de tüm dünyada aynı ortak terim kullanılmaktadır.

Normal sağlıklı bir lenste askorbik asit, glutasyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, katalaz ve peroksidaz gibi aktif ve etkili antioksidan maddeler mevcuttur. Oksidatif stresin arttığı ya da antioksidan maddelerin azaldığı dokularda moleküler ve fonksiyonel hasar başlar. Lens, metabolik aktivitesi çok yavaş olduğu için, normal metabolik aktiviteli dokulardan kolayca elimine edilebilecek kronik az düzeydeki, bu tür streslerden çok daha fazla etkilenir.

Dokulardaki reaktif oksijen ürünleri 2 yolla oluşmaktadır. Bunlardan birincisi olan fotodinamik yolda, ışık absorpsiyonuyla yüksek elektronik faza geçen sensitize molekülden, diğer yol ise fenton reaksiyonuyla O<sub>2</sub>’nin daha toksik olan serbest oksijen radikaline ve hidrosil radikallerine indirgenmesiyle oluşur (Avunduk ve ark., 1999). Oksidatif hasarın karanlık fazı tüm dokularda aynıdır. Ancak ışıktan etkilenen fazı ışığa direkt maruz kalan cilt ve gözde belirgindir. Cildin yenilenme kapasitesinin yüksek olması hasarın kolayca elimine edilebilmesini sağlamaktadır. Oysa lensteki oksidatif stres lipidlerin oksidasyonuna yol açmakta, Na-K ATP’ase aktivitesini, elektrolit transportunu bozmakta, hücre membranını eritmekte, lipoproteinleri modifiye etmekte, lens kapsül permeabilitesini arttırıp lens rengini değiştirmekte, lenste opasifikasyonlara ve lentiküler DNA’da hasara neden olmaktadır (Shalini ve ark., 1994).

Kataraktla birlikte renkler canlılığını kaybeder, görme azalır. Bulanıklaşan göz merceği, dışarıdan gelen ışıkların göz içine, görme noktasına ulaşmasını engeller,

böylelikle kataraktlı hastalarda görme bulanıklaşır ve görme kalitesi düşer. Başlangıçta kataraktlı hastaların görmeleri henüz belirgin olarak azalmasa da dünyayı daha soluk ve cansız görürler. Başka bir deyişle katarakt gelişimi ile dünyaya açılan pencelerimize yavaş yavaş bulanık bir perde inmektedir. Diğer belirtiler ise özellikle aydınlık ortamlarda gözlerde kamaşma, gözlük numaralarında hızla değişme şeklinde özetlenebilir. Yaşlılık kataraktında bir yandan görme bulanırken, diğer yandan da özellikle mavi renkte azalma, sarı renkte artma şeklindeki renk görme bozukluğu belirir.

Diabetik kataraktta ise, loş ortamda normale yakın görmeye karşın ışıklı ortamda azalan ve ışıkların etrafında halolar görmeyle karakterize görme yakınması belirgindir. Bu kişiler araç kullanırken, otomobil farlarından fazlaca etkilenirler. Bazen bu yakınma, normal oda aydınlatmasında ve loş ortamda iyi görebilen bir araç sürücüsü için ameliyat nedeni olabilir.

Katarakta neden olabilecek pek çok hastalık, ilaç ve çevresel faktör mevcuttur. Katarakt gelişiminin önemli nedenlerinden birisi de yaşın ilerlemesidir. İlerleyen yaş, nasıl bazı insanları diğerlerinden daha erken ve daha fazla etkiliyorsa, katarakt da bazı insanlarda daha erken ve belirgin olarak ortaya çıkar, ama yaşlanma önlenemedikçe, kataraktın da önlenmesi mümkün görünmemektedir. Günümüzde henüz katarakt gelişimini engelleyecek veya bulanıklaşan lensi tekrar saydamlaştıracak tedavi yöntemi bulunamamıştır.

Diabetik kişilerde katarakt iki kat sık görülür. Bazı hastalıklarda, özellikle de diabette katarakt sıklığı artmaktadır. Diabetli hastalarda hem yaşa bağlı katarakt daha erken ortaya çıkmakta, hem de yaşlılık kataraktından çok daha erken yaşlarda diabete bağlı katarakt görülmektedir. Diabetli hastalarda hastalık süresi, kan şekeri kontrolü ve yaş, katarakt gelişiminde etkilidir. Gelişiminde çok sayıda faktörün etkili olduğu kataraktın, önlenmesi de buna bağlı olarak güçleşmektedir. Ancak, diabet hastalarında iyi kan şekeri kontrolü kataraktın ilerlemesini yavaşlatabilir.

Oldukça sık görülen bir hastalık olduğundan, katarakt ameliyatının tarihçesi de milattan önce 2000 yıllarına kadar uzanmaktadır. Yani 4.000 yıl önce de katarakt ameliyatı yapılıyordu. Tarih kitaplarında ilk katarakt ameliyatının Babil'de, bulanıklaşan göz merceğinin göze uygulanan bir darbe ile göz içine düşürülmesi şeklinde yapıldığı bildirilmektedir. Bulanıklaşan ve bağları güçsüzleşen mercek, gözün içine (vitreusa) düşürülerek, görme hattında yarattığı bulanıklık ortadan kaldırılıyordu. Yüzyıllarca bu ilkel, ancak başarılı teknik kullanıldıktan sonra 1747'de, yani bilinen ilk katarakt ameliyatından 3750 yıl sonra, daha modern bir teknik geliştirilmiş, bulanıklaşan mercek, göz içine düşürülmek yerine gözün dışına alınmaya başlanmıştır. Alınan merceğin yerine, bir başka mercek konulmadığı için, katarakt ameliyatı olan hastalar 1950'li yıllara kadar çok kalın camlı (10-13 dioptri) gözlüklere ihtiyaç duymuşlardır. İkinci dünya savaşında İngiliz savaş uçaklarının gölgeliklerinin yapımında kullanılan plastiğin, çatışmalar sırasında pilotların gözüne kaçtığı ve gözde yabancı cisim reaksiyonu yaratmadığı gözlenmiş, ilk göz içi merceği fikri bu şekilde doğmuştur. 1990'lı yıllara kadar sert göz içi mercekleri başarıyla uygulanmış, son yıllarda katlanabilen (yumuşak) merceklerin geliştirilmesiyle günümüzdeki modern ameliyat tekniklerine ulaşılmıştır. Göz içi mercekleri, diğer organ protezlerinin aksine, bir daha değiştirilmesine gerek olmamak üzere, göz içine yerleştirilmekte, kişinin eskitemeyeceği kadar uzun süre yerinde kalmaktadır.

Diabetli hastaların yarısı hayatında bir kez ameliyat olmaktadır ve katarakt ameliyatı yapılan hastaların %10'unu diabetliler oluşturmaktadır. Lokal anestezi, diabetik olguların da sistemik durumlarına bağlı herhangi bir kısıtlama olmaksızın ameliyat olabilmelerine imkan sağlamaktadır. Bazen hastaların görme ihtiyaçları, bazen diabetik retinopatinin takibi ve laser fotokoagülasyon ile tedavisi için katarakt ameliyatı kaçınılmazdır. Ancak modern teknolojinin, tıbbı sunduğu olanaklarla, katarakt ameliyatı bugün korkulacak bir girişim olmaktan çıkmış, en konforlu ameliyat haline gelmiştir.

Kısaca kristal yapıdaki lensin herhangi bir faktörün etkisiyle saydamlığını kaybedip opaklaşmasına 'katarakt' denir. Konjenital, senil, travmatik, metabolik

(patolojik), gelişimsel ve juvenil, komplike ve sekonder olmak üzere farklı tipleri mevcuttur.

#### **2.4.1. Konjenital katarakt**

Göz anomalileri ve sistemik bulgularla birlikte olabildiği gibi tek başına da görülebilir. Konjenital kataraktların bir kısmı genetik, bir kısmı sendromlarla birlikte. Annenin hamileliği sırasında bazı viral enfeksiyonlar geçirmesi, bazı ilaçların kullanımı, radyasyon, galaktozemi ve çeşitli travmalar bu kataraktın gelişiminde etkin rol oynar.

#### **2.4.2. Senil katarakt**

Yaşlılarda katarakt oluşumu multifaktoriyeldir. Yaş ilerledikçe lensin ağırlığı ve kalınlığı artarken elastikiyetinin de bozulmasıyla birlikte akomodasyon gücü azalır. Normal lens metabolizmasında elektrolit sıvı pompası relatif dehidratasyonu sabit tutar. Böylelikle epitel hücreleri ve lens fibrilleri arasındaki iyonik-osmotik denge sağlanır. Bu dengenin bozulması su tutulmasına neden olur. Bundan, serbest radikallerin lens korteksindeki proteinleri etkileyerek (oksidasyon) agregasyona (bir araya gelme) uğratmaları sorumludur. Sonuçta lensin saydamlığı azalır ve refraksiyon (ışığın kırılması) indeksi değişir.

#### **2.4.3. Travmatik katarakt**

Her türlü künt ve delici göz yaralanması sonrası, radyasyon, ultraviyole (UV) gibi nedenlerle bu tip katarakt gelişebilir.

#### **2.4.5. Metabolik katarakt**

Sistemik ve metabolik hastalıklar (diabet, paratiroid hormon disfonksiyonları, galaktozemi v.b) bu tip katarakta neden olabilirler. Diabette kan şekeri yüksekliği humör

aköz ve lenste glukoz konsantrasyonunu artırır. Bu da osmotik basıncı arttırarak lenste su tutulmasına (hidrops) yol açar. Sorbitol yolunun aşırı kullanımı ile diabetik olgularda özellikle arka subkapsüler lens yoğunluğu şeklinde katarakt gelişir

### 2.5. Serbest Radikaller

Atomlar, nötron ve protondan oluşan bir çekirdekle, bu çekirdeğin çevresinde dönen elektronlardan oluşurlar. Atom çekirdeğinin çevresindeki, elektronların bulunduğu boşluğa da ‘orbital’ denir. Her bir orbitalde spinleri birbirine zıt ( $\uparrow\downarrow$ ) olan iki elektron bulunur. Bu elektronlara eşleşmiş veya ortaklanmış elektronlar denir.

Atom veya moleküller, yörüngelerindeki elektronlar eşleşmiş ve ters pozisyonda yer aldıklarında kararlı bir yapı gösterirler. Bu kararlı yapı eşleşmemiş elektron bulunduklarında bozulur (Halliwell, 1987; Basaga, 1990; Di Mascio ve ark., 1991; Fırat, 1997).

Serbest radikaller; bu şekilde atomik veya moleküler yörüngesinde bir veya daha fazla sayıda eşleşmemiş ‘elektron’ bulduran basit bir molekül, atom veya iyondur. Başka bir ifadeyle serbest radikaller, negatif yüklü elektron sayısının, pozitif yüklü proton sayısı ile eşit olmadığı moleküllerdir (Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999).

Serbest radikaller bu ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktif olup, çevrelerindeki atom ve moleküllere adeta saldırırlar. Çok kısa ömürlü olmalarına karşın, radikal olmayan maddeler ile reaksiyona girip onları da radikal yapmaları ve bir dizi zincir reaksiyonu başlatıp, birçok radikal oluşturmalarından dolayı oldukça tehlikelidirler. Serbest radikaller, ortaklanmamış elektronunun belirtilmesi amacıyla üst kısımlarına yazılan bir nokta (x) ile gösterilirler (Akkuş, 1995; Dikici, 1999).

Biyomoleküllerin çoğu, atomları birbirlerine kovalent bağlarla bağlı ve nonradikal yapılardır. Atomlararası kovalent bağlar, elektron çiftlerinin paylaşılmasıyla

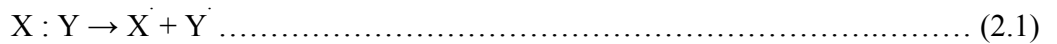
oluştduğundan serbest radikallerde yarım bağ oluştuğu düşünülebilir. Bu özellik onları kimyasal olarak reaktif yapar (Wheeler ve Salzman, 1990; Maxwell, 1995; Fırat, 1997).

Serbest radikaller hidroksil, süperoksit, nitrik oksit ve lipid peroksit radikalleri gibi değişik kimyasal yapılara sahiptir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Oksijen, süperoksit grubuna ( $O_2^-$ ) bazı demir-kükürt içeren yükseltgenme-indirgenme enzimleri ve flavoproteinlerin etkisiyle indirgenir. Son derece etkin olan ve hücre hasarına yol açan süperoksit grubu, bakırlı bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) aracılığında hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve oksijene çevrilir. Süperoksit grubundan daha zayıf etkili olan  $H_2O_2$ , dokularda bulunan katalaz, peroksitaz ve glutatyon peroksitaz (GSH-Px) gibi enzimlerle su ve oksijen gibi daha zayıf etkili ürünlere dönüştürülerek etkisiz kılınır (Şekil 2.3). Dietilditiyokarbamat gibi süperoksit dismutazın etkinliğini engelleyen maddeler, süperoksit gruplarının zararsız hale getirilmesini sınırlandırırken, lipid peroksidasyonunu hızlandırır. Ayrıca katalazın etkinliğini engelleyen maddeler (aminotriazol gibi herbisidler) de etkin oksijen gruplarına veya bu grupları oluşturan maddelere duyarlılığı artırır (Kaya ve ark., 1998; Mates, 2000).

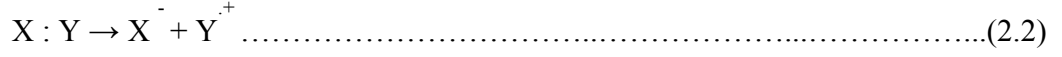
Radikaller aerobik hücrelerin tüm fraksiyonlarında, metabolizma sırasında veya patolojik durumlarda birer yan ürün olarak meydana gelebilir ve hücrelerde tersinir ya da tersinmez değişikliklere neden olabilirler. Bu değişiklikler oksidasyon, fragmentasyon (parçalanma), agregasyon (disülfit bağlantısı, protein-protein bağlantısı, protein-lipid bağlantısı), protein amino asitlerinin kopması şeklinde olur. Bunun sonucunda ciddi hücre, doku ve/veya organ hasarı meydana gelebilir (Ames ve ark., 1993; Yanbeyi, 1999).

Serbest radikaller 3 yolla meydana gelir;

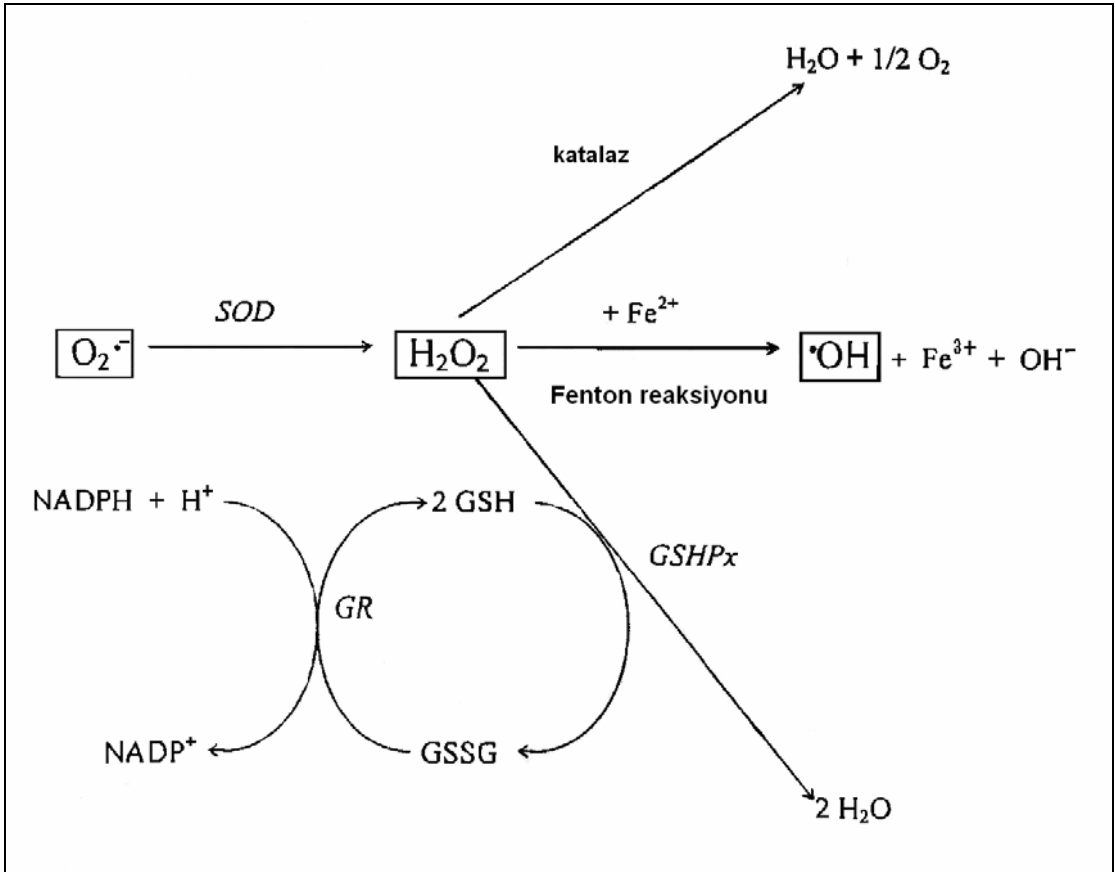
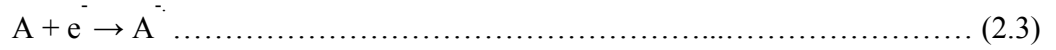
1. Kovalent bağlı normal bir molekülün her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi (Homolitik ayrılma ile radikal oluşumu):



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi (Heterolitik ayrılma ile iyon oluşumu):



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi veya transferi (Elektron transferi ile radikal oluşumu):



Şekil 2.3. Serbest radikal oluşumu ve antioksidan enzimler

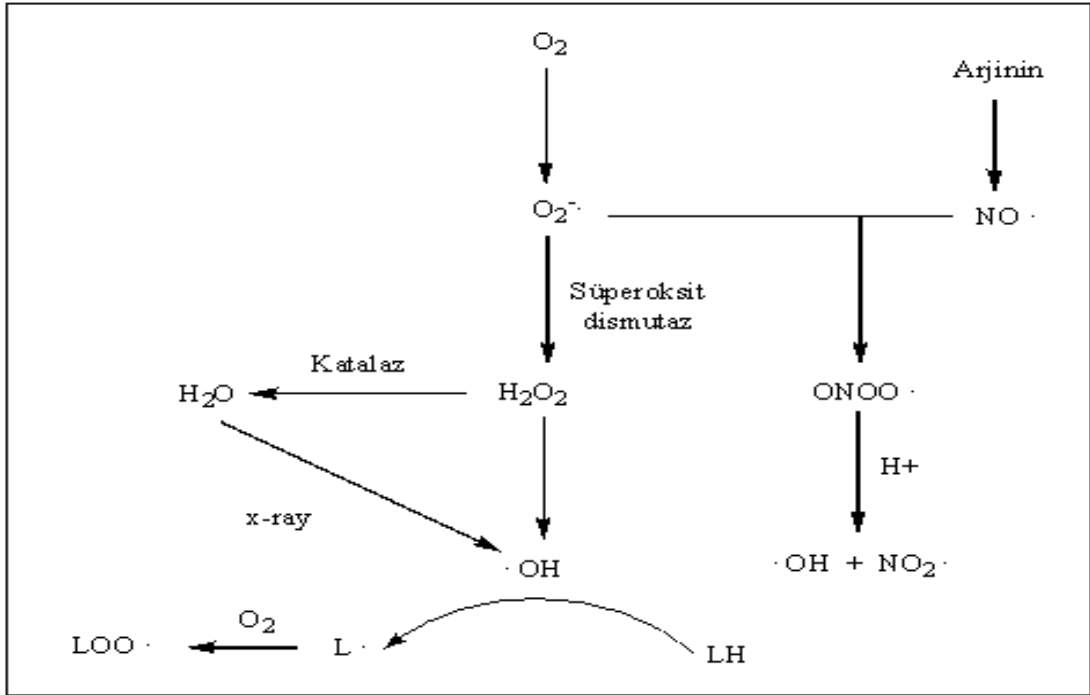
### 2.5.1. Serbest oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türleri

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşmuş radikallerdir (Cheeseman ve Slater, 1993; Akkuş, 1995). Oksijen atomunun dış



yörüngesini oluşturan p orbitalinde iki elektron eksik olmasından ötürü ‘diradikal’ olarak değerlendirilir. Bu özelliği onun diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlar. Radikal olmayan maddelerle ise daha yavaş reaksiyona girer. Oksijen metabolizmasında en son suya indirgenirken, kısmi olarak indirgenmesi ile de çok sayıda reaktif oksijen türleri oluşmaktadır (Cheeseman ve Slater, 1993; Akkuş, 1995; Dikici, 1999).

Oksijen bu kararsız yapısını giderebilmek için başka bir oksijen atomunun dış yörüngesindeki iki elektronu ortaklaşa kullanarak ‘Oksijen Radikalleri’ni oluşturur (Şekil 2.4) (Grisham ve Granger, 1989; Fırat, 1997; Stahl ve ark., 2002). Serbest oksijen radikalleri, oksijenin belirli koşullarda kısmen indirgenmesi sonucu çok kısa ömürlü ve güçlü oksidan nitelikli oksijen metabolitleridir. Bu reaktif maddeler bazı biyolojik molekülleri hasara uğratabilirler. Etraflarındaki moleküller ile reaksiyona girerek onlardan elektron alıp kararlı hale gelirler (Battal ve ark., 1995; Yanbeyi, 1999).



Şekil 2.4. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu (Stahl ve ark., 2002)

Oksijen serbest radikalleri sonlarına -i veya -il eki getirilerek isimlendirilirler; Hidroksi/hidroksil, peroksi/peroksil gibi (Yanbeyi, 1999). Reaktif oksijen türleri, maruz kalınan miktar ve süreye bağlı olarak hücre fonksiyonlarını bozarlar (Battal ve ark., 1995). Oksijen serbest radikali teriminin  $O_2^-$  ve  $OH^-$  gibi radikallerin yanında,  $H_2O_2$  ve  $^1O_2$  gibi reaktif, fakat radikal olmayan türleri ifade etmek için de kullanılması doğru değildir, bunun yerine daha genel olan reaktif oksijen türleri teriminin kullanılması uygun olur. Oksidan terimi ise  $H_2O_2$ ,  $OH^-$  ve  $HOCl$  gibi moleküller için geçerlidir. Oysa  $O_2$  hem oksidan, hem redüktandır (Di Mascio ve ark., 1991; Bast ve ark., 1997; Fırat, 1997; Yanbeyi, 1999).

Çizelge 2.1. Reaktif oksijen türleri (Türe, 1998; Yanbeyi, 1999)

Radikaller	Radikal olmayanlar
Süperoksid radikal ( $O_2^-$ )	Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )
Hidroksil radikal ( $OH^-$ )	Lipid hidroperoksit (LOOH)
Peroksil radikal ( $ROO^-$ )	Hipohaloz asit (HOX)
Alkoksil radikal ( $RO^-$ )	N-Halojenli aminler (R-NH-X)
Semikinon radikal (HQ)	Singlet Oksijen ( $^1O_2$ )
Hemoproteine bağlı serbest radikaller	Ozon ( $O_3$ )
	Azotdioksit ( $NO_2$ )

Çizelge 2.2. Reaktif oksijen ürünlerinin tahmini yarı ömürleri (Rachmilewitz ve ark.,1994; Dikici, 1999)

Reaktif oksijen ürünleri	Yarı ömrü (saniye)	
$O_2^-$	Süperoksid anyon radikali	Enzimatik
$H_2O_2$	Hidrojen peroksit	Enzimatik
$OH^-$	Hidroksil radikali	$10^{-9}$
$^1O_2$	Singlet oksijen	$10^{-6}$
$RO^-$	Alkoksil radikali	$10^{-6}$
$ROO^-$	Peroksil radikali	7
$Q^-$	Semikinon radikali	Günler
$NO^-$	Nitrik oksit radikali	1-10 (5,6) kalpte 0.1 sn
$ONOO^-$	Peroksinitrit	0.05-1

### 2.5.1.1. Süperoksid anyon radikali ( $O_2^{\cdot-}$ )

Moleküler oksijen dış orbitallerinde paylaşılmamış iki elektron içerir. Bu elektronlar paylaşılmadığında, ayrı ayrı orbitallerde bulduklarında ve spinleri aynı yönde olduğu zaman en düşük enerji seviyesindedirler. Bu dış orbitallerden her biri birer elektron daha kabul edebilir. Bu orbitallerin tek elektron alması ile süperoksid anyonu (süperoksid radikali,  $O_2^{\cdot-}$ ), iki elektron alması ile de peroksi anyonu  $O_2^-$  oluşur.

Hem çevresel etkenler hem de organizmalardaki enzimatik ve enzimatik olmayan tepkimelerle en çok ve en kolay oluşan oksijen radikali süperoksid radikaldır. Serbest süperoksid radikal anyonu ( $O_2^{\cdot-}$ ) hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu meydana gelir (Jialal ve Fuller, 1993; Yanbeyi, 1999).

Süperoksid radikali normalde mitokondriyal solunum esnasında oluşmaktadır. Mitokondrilerde kullanılan oksijenin %2'si süperoksid haline gelir. Oksijen mitokondride redükte olduğunda primer ürün sudur. Su, sitokrom oksidaz moleküler oksijene 4 elektron eklediğinde oluşan nontoksik bir moleküldür (Ferrari ve ark., 1991; Çakır, 1997).

Süperoksid anyonu ve hidroksil radikali diğer moleküllerden elektronları çekerek enerji gereksinimlerini karşılayabildiklerinden, oksitleyici ajanlar olarak kabul edilirler. Ayrıca süperoksid radikali aldığı elektronu başka bir elektron alıcıya vererek tekrar oksijene oksitlenebilir ve böylece bir indirgeyici (redüktör) olarak davranabilir (Yanbeyi, 1999).

Canlılarda, süperoksid radikallerinin oluşumuna neden olan olayları iki grupta toplayabiliriz:

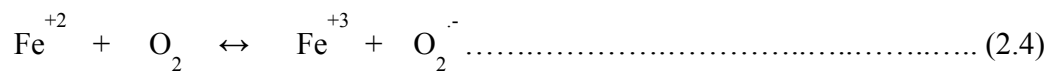
I. Çeşitli çevresel etkilerle (fiziksel ve kimyasal) süperoksid radikali oluşabilir. Örneğin, yüksek enerjili ışıklardan beta, gama ve X ışınları süperoksid radikalleri yanında diğer radikallerin oluşumunu da gerçekleştirirler (Çakır, 1997).

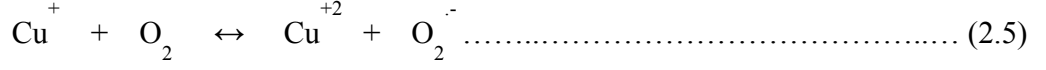
II. Canlı sistemler radikal oluşumuna neden olan çevre koşullarından tümüyle izole edilseler bile; eğer moleküler oksijeni metabolize ediyorsa, canlı sistemdeki yükseltgenme-indirgenme tepkimeleri sırasında süperoksid radikali ( $O_2^-$ ) üretebilirler. Örneğin, hidrokinonların, lökoflavinlerin, katekolaminlerin, tiyollerin, indirgenmiş boyalarnın, tetrahidropteridin, ferrodoksin ve hemoproteinlerin otooksidasyonu tepkimelerinde oksijen radikalleri üretilebildiği gibi, ksantin oksidaz, thidroorolat dehidrogenaz, bir grup flavoprotein dehidrogenaz, bazı oksidaz ve hidrosilaz enzimlerinin katıldığı tepkimelerde, ara ürün olarak oksijen radikalleri üretilebilirler.

Aerobik organizmalar reaktif oksijen türlerinin sebep olduğu toksisiteye karşı hem kimyasal hem de enzimatik korunma sistemlerine sahiptir. Süperoksid radikalleri, sulu ortamda önemli ölçüde birikmezler ve kendiliğinden dismutasyon ile ortamdan temizlenirler (Çakır, 1999).

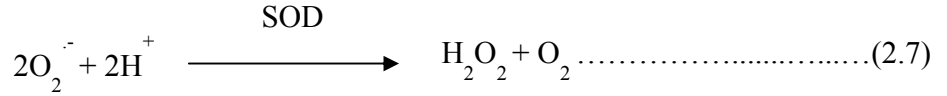
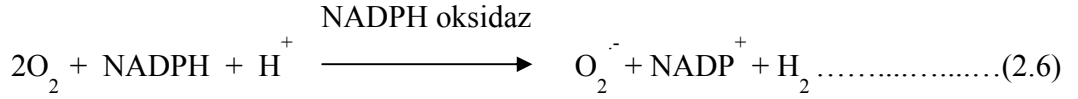
Mitokondriyal  $O_2$  elektron transport zincirinden elektron iki yerde sızar. Birincisi, NADH-dehidrogenaz basamağı, ikincisi ise koenzim Q ya da ubikinon basamağıdır. En son basamakta elektronların  $O_2$ 'e taşınmasından sorumlu olan sitokrom oksidaz enzimi oksijenin %97-99'unu harcayarak suya indirger. Fakat,  $O_2$ 'nin %1-3'ünden, transport zincirinden sızan elektronlarla  $O_2^-$  oluşur. Bu da yaklaşık olarak insan vücudunda her yıl iki kilogramdan fazla  $O_2^-$  yapıldığı anlamına gelir (Mc Cord, 1984; Fırat, 1997; Dikici, 1999). Süperoksid radikali düşük pH'larda daha etkili bir radikal olan  $HO_2^-$  (perhidroksil) radikali meydana getirir. Fizyolojik pH'larda ise sadece %1 kadarı protonlanmış haldedir (Cheeseman ve Slater, 1993; Dikici, 1999).

$O_2^-$  ile  $HO_2^-$  reaksiyona girince, biri okside olurken diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonunda  $O_2$  ve  $H_2O_2$  meydana gelir.  $O_2^-$  ayrıca geçiş metallerinin otooksidasyonu sonucunda da meydana gelebilir. Bu reaksiyonlar redoks reaksiyonları olduğu için tersine de dönebilir.





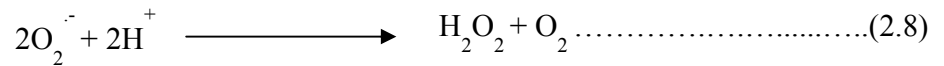
Fagositik hücreler (nötrofiller, monositler, makrofajlar ve eozinofiller), çeşitli biyolojik hedeflerin parçalanmasına sebep olan ve enfeksiyona karşı hücre sel cevabı başlatan hücrelerdir. Solunumsal patlama esnasında fagositik hücrelerde diğer reaktif oksijen ürünleriyle beraber süperoksid radikali de oluşmaktadır. Nötrofillerde süperoksid radikali plazma membranının dış yüzeyine yerleşmiş bulunan NADPH oksidaz aracılığı ile olur. Uygun bir uyarı ile fagositik hücre uyarıldıktan sonra NADPH oksidaz aktive olur. NADPH'tan iki elektron alınarak iki molekül oksijene aktarılır. Böylece iki molekül  $\text{O}_2^-$  oluşur (Winrow ve ark., 1993; Akkuş, 1995; Dikici, 1999).



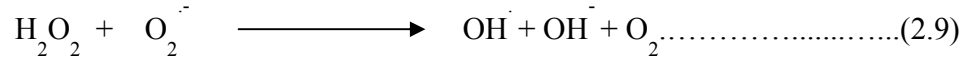
### 2.5.1.2. Hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )

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 ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) oluşturur (Cross ve ark., 1987; Cheeseman ve Slater, 1993; Akkuş, 1995; Fırat, 1997).

$\text{H}_2\text{O}_2$ , süperoksid dismutaz tarafından katalizlenen dismutasyon reaksiyonu sonucu ortaya çıkar. İki süperoksid molekülü iki proton alarak  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve moleküler oksijeni oluştururlar. Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden bu bir dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir.

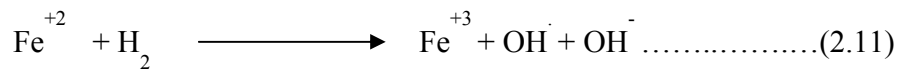
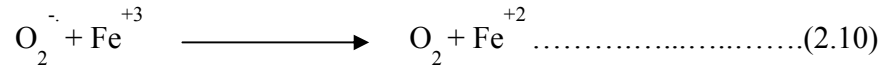


$H_2O_2$ , membranlardan geçebilen uzun ömürlü bir oksidandır. Kendisi bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Geçiş metal iyonları varlığında daha da hızla gerçekleşen bir reaksiyonla süperoksit anyon radikali ile birlikte en reaktif radikal olan hidroksil radikalini oluşturur (Palmer, 1990; Akkuş, 1995; Dikici, 1999).



Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir. Haber-Weiss reaksiyonu katalizörlü veya katalizörsüz oluşabilir. Fakat, katalizörsüz reaksiyon oldukça yavaş ilerler. Katalizör olmayınca ortamdaki  $H_2O_2$  ve  $O_2^{\cdot -}$  antioksidanlar tarafından kolayca kaldırılır. Demir gibi geçiş metalleri ile katalizlenen ikinci şekli ise çok hızlıdır (Akkuş, 1995; Fırat, 1997; Yanbeyi, 1999).

Bu reaksiyonda önce ferri demir ( $Fe^{+3}$ ), süperoksit tarafından ferro demire ( $Fe^{+2}$ ) indirgenir. Sonra bu ferro demir kullanılarak 'Fenton Reaksiyonu' ile hidrojen peroksitten  $OH^{\cdot}$  ve  $OH^{\cdot}$  üretilir. Reaksiyon mekanizması aşağıdaki gibidir. (Akkuş, 1995; 1997; Fırat, 1997; Yanbeyi, 1999).

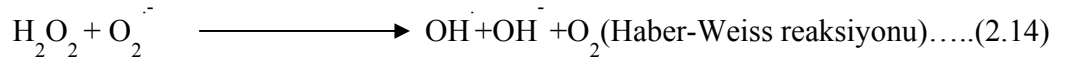
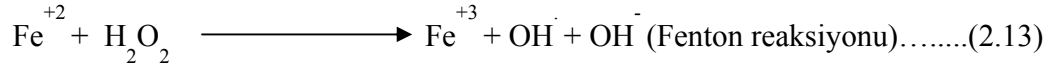
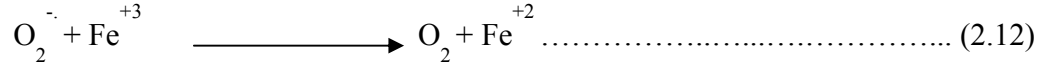


Peroksizomlar çok önemli hücre içi  $H_2O_2$  kaynağıdır. Bu organellerdeki D-amino asit oksidaz, urat oksidaz, L-hidroksil asit oksidaz ve yağ asidi açıl- CoA oksidaz gibi oksidazlar süperoksit üretmeden, bol miktarda  $H_2O_2$  üretimine sebep olurlar. Fakat, peroksizomlarda katalaz aktivitesi çok yüksektir. Bu sebeple bu organellerden sitozole ne kadar  $H_2O_2$  geçtiği bilinmemektedir (Oyanagui, 1991; Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999).

### 2.5.1.3. Hidroksil radikali (OH<sup>·</sup>)

Hidroksil radikali, kimyada en aktif radikal olarak bilinir. Hidroksil radikalının en etkili radikal olmasının nedeni hücre nükleusundaki membran bariyerleri kolayca geçmesi ve mutajenik olarak DNA'yı etkilemesidir. Bu nedenle *in vivo* oluşan bir OH<sup>·</sup> radikali hemen her moleküle saldırır ve olduğu yerde de büyük hasara neden olur. Nonradikal biyolojik moleküllerle zincirleme reaksiyonları başlatır (Jialal ve Fuller, 1993; Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999).

Hidroksil radikali, hidrojen peroksitin geçiş metalleri varlığında indirgenmesi ile (Fenton reaksiyonu) oluşan son derece reaktif bir radikaldir. Ayrıca hidrojen peroksitin süperoksit radikali ile reaksiyonu sonucunda da (Haber-Weiss reaksiyonu) meydana gelir. Bu reaksiyon katalizörsüz çok yavaş olduğu halde Fe<sup>+3</sup> katalizörlüğünde çok hızlı oluşur (Akkuş, 1995; Dikici, 1999).



Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda da hidroksil radikali oluşur (Akkuş, 1995; Fırat, 1997; Dikici, 1999). Bir hidroksil radikali, yüzlerce yağ asidini ve yan zincirini lipid hidroperokside çevirebilir. Bu oluşan hidroperoksitler birikerek membran bütünlüğünü bozar ve hücrenin kollabe olmasına neden olur. Ayrıca bu hidroperoksitlerden son ürün olarak toksik ve reaktif olan aldehitler de oluşabilir. Bunlardan en önemlilerden biri de MDA'dır (Uysal, 1998; Dikici, 1999).

Hidroksil radikali, organik ve inorganik bileşiklerde elektron transfer tepkimelerine neden olur. Ancak normalde OH<sup>·</sup> radikali oluşamaz. Çünkü OH<sup>·</sup> oluşumu için moleküler oksijenin üç değerlikli olarak indirgenmesi gerekir ki, bu oldukça zordur.

OH<sup>-</sup> meydana gelebilmesi için O<sub>2</sub><sup>-</sup> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gereklidir. Bunlarda SOD, CAT veya GSH-Px sistemiyle uzaklaştırılır. Böylece fizyolojik şartlarda fazla miktarda OH<sup>-</sup> oluşamaz. Bu üç enzim intrasellüler major antioksidanlardır (Wheler ve Salzman, 1990; Yanbeyi, 1999).

#### 2.5.1.4. Singlet oksijen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)

Singlet oksijen, ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Oksijenin yüksek enerjili ve mutajenik formudur (Yanbeyi, 1999). Oksijenin eşleşmemiş elektronlardan birinin verilen enerji sonucu bulunduğu orbitalden başka bir orbitale veya kendi spininin ters yönünde yer değiştirmesiyle oluşur (Fırat, 1997; Yanbeyi, 1999; Dikici, 1999).

#### 2.5.2. Serbest radikallerin kaynakları

Biyolojik sistemlerde serbest radikal oluşumu, normal metabolik olayların seyri sırasında gelebildiği gibi, organizmada bazı yabancı maddelerin (ksenobiyotikler) metabolize edilmesi sırasında ve organizmanın radyasyon gibi dış etkenlere maruz bırakılmasıyla da meydana gelebilir (Yanbeyi, 1999). Bu nedenle serbest radikal oluşturan mekanizmalar endojen ve ekzojen olarak ikiye ayrılmaktadır (Fırat, 1997; Yanbeyi, 1999).

Çizelge 2.3. Hücredeki serbest oksijen radikali kaynakları (Cross ve ark.,1987)

Endojen Kaynaklar	Eksojen Kaynaklar
-Mitokondriyal elektron transport zinciri	-İlaç oksidasyonları(Ör.Parasetamol, CCl <sub>4</sub> )
-Kloroplast elektron transport zinciri	-İyonize radyasyon
-Oksidan enzimler:	-Güneş ışığı
Ksantin oksidaz	-X- ışınları
İndolamin dioksijenaz	-UV- ışınları
Tryptofan dioksijenaz	-Isı şoku
Galaktoz oksidaz	-Glutasyonu okside eden maddeler
Siklooksijenaz	-Ortam havası
Lipooksijenaz	-Sigara dumanı
Mono aminooksidaz	-Ozon
-Fagositik hücreler	-Kükürtdioksit
Nötrofiller	-Egzoz gazları
Monosit ve makrofajlar	
Eozinofiller	
Endotelyal hücreler	
-Oto-oksidasyon reaksiyonları (Fe <sup>+2</sup> , epinefrin)	



### 2.5.2.1. Endojen serbest radikal kaynakları

Normal metabolizma sırasında çeşitli basamaklarda serbest radikal yapısına sahip ara ürünler meydana gelmektedir. Metabolik sürecin ilerleyebilmesi için bu bileşiklerin ara ürün olarak oluşmaları kaçınılmazdır (Fırat, 1997).

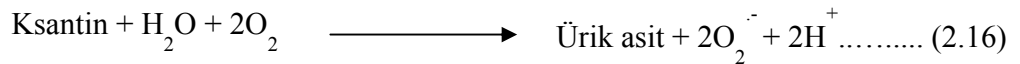
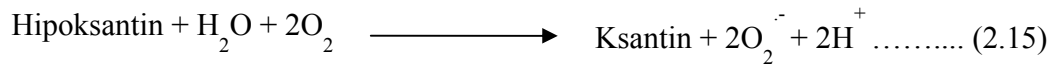
#### 2.5.2.1.1. Küçük moleküllerin otooksidasyonu

Nötral ortamda tiyoller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler, tetrahidrobiopterin gibi pek çok bileşik otooksidasyon ile serbest radikalleri oluşturur. Tüm bu bileşikler ile önce  $O_2^-$ , daha sonra  $O_2^{2-}$ 'nin reaksiyonları ile diğer radikaller oluşur (Akkuş, 1995; Fırat, 1997; Dikici, 1999).

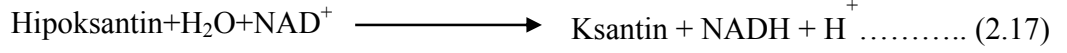
#### 2.5.2.1.2. Enzimler ve proteinler

Birçok enzimin katalitik siklusları sırasında da serbest radikaller açığa çıkar. Ksantin oksidaz, aldehit oksidaz ve triptofan dioksijenaz böyle enzimlerden olup,  $O_2^-$  oluşumuna neden olurlar (Akkuş, 1995; Dikici, 1999).

Ksantin oksidaz normalde NAD-bağımlı dehidrogenaz olarak etki eder ve herhangi bir serbest radikal üretimine sebep olmaz. Fakat, *in vivo* olarak oluşturulan iskemi, enzimin dehidrogenaz formundan oksidaz formuna dönüşmesine ve süperoksid radikalının üretimine sebep olur. Ksantin oksidaz enzimi oksijen varlığında hipoksantini ksantine veya ksantini ürik aside oksitler. Bu reaksiyonda elektron alıcısı moleküler oksijendir (Fırat, 1997).



Ksantin oksidaz iskemik dokuların reperfüzyon hasarında rol alır (Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999). Hipoksantin- ksantin arasındaki bu tepkime sonucu oluşan süperoksidin yarattığı en büyük hasar vasküler sistemdedir (Ames ve ark., 1993; Yanbeyi, 1999).



Ksantin oksidaz özellikle barsak, akciğer, karaciğer, böbrek gibi dokularda yaygın olarak bulunur ve ksantin dehidrogenaz (Tip D) olarak sentezlenir. Enzimin bu tipi, sağlıklı bir dokuda total aktivitenin %90'ını oluşturur (Bast ve ark., 1991).

Aldehit oksidaz yapı itibarıyla ksantin oksidaza benzer ve substratlarının çoğu aynı olup, süperoksit radikali üretir. Benzer şekilde dihidroorotat dehidrogenaz, flavoprotein dehidrogenaz, amino asit oksidaz ve triptofan dioksijenaz gibi enzimler de radikal oluşmasına sebep olurlar (Prasad ve Lee, 1992; Ames ve ark., 1993; Yanbeyi, 1999).

#### 2.5.2.1.3. Mitokondriyal elektron transferi

Mitokondriyal solunum zinciri sırasında NADH; FADH<sub>2</sub> gibi indirgeyicilerin elektronlarının moleküler oksijene aktarılması sırasında, solunum zinciri taşıyıcılarının indirgenmesi sonucu serbest radikal yapısına sahip ürünler oluşmaktadır (Freeman ve Crapo, 1982; Grisham ve Granger, 1989; Basaga, 1990; Fırat, 1997).

İskemi, hemoraji, travma, enfeksiyonlar, radyoaktivite etkisi veya alerjik durumlarda mitokondrilerdeki oksidatif fosforilasyon dengesi etkilenir ve elektron taşıma sisteminden elektron kaçakları daha fazla olur ve oksidan moleküllerin düzeyi artar (Huysal, 1999).

#### 2.5.2.1.4. Mikromozal membran elektron transferi zincirleri

Endoplazmik retikulum ve golgi kompleksinin yer aldığı mikrozomal membran sistemi, birçok sentez ve yıkım enzimleri yanında, flavaprotein (NADH-sit c redüktaz ve NADH-sit b5 redüktaz) ve hemoproteinlerin (sitb5, sit p450) rol aldığı iki elektron transport sistemini içerir (Fırat, 1997).

Mikrozomlarda yer alan bu elektron transport sistemleri, bir yandan normal metabolizma sonucu oluşan nonpolar bileşikleri hidroksillenmiş türevlerine dönüştürüp bunlara daha polar özellik kazandırırken, diğer yandan organizmaya yabancı maddeleri de metabolize ederler (Grisham ve Granger, 1989; Fırat, 1997).

Elektron transport sistemlerinin aktivitesi sırasında sadece oksijen türevi radikaller meydana gelirken, ksenobiyotiklerin metabolizması sırasında ek olarak yüksek toksisiteye sahip karbon merkezli radikaller de meydana gelebilir. Nükleer membran kaynaklı radikaller özellikle DNA hasarına neden olabilirler (Akkuş, 1995; Maxwell, 1995; Yanbeyi, 1999).

#### 2.5.2.1.5. Peroksizomlar

Çok önemli hücre içi hidrojen peroksit kaynağıdır. Bu organeldeki D-aminoasid oksidaz, urat oksidaz, L-hidroksilizin oksidaz ve yağ asidi açıl-CoA oksidaz gibi oksidazlar  $O_2^-$  üretmeden, bol miktarda  $H_2O_2$  üretimine sebep olurlar. Ancak CAT aktivitesi çok yüksek olduğu için bu organelden sitozole ne kadar  $H_2O_2$  geçtiği bilinmemektedir (Freeman ve Crapo, 1982; Akkuş, 1995; Fırat, 1997).

#### 2.5.2.1.6. Plazma membranı

Fagositik hücre membranının NADPH oksidaza bağlı serbest radikal üretimi serbest radikallerin önemli bir kaynağıdır. Fagositik hücrelerin uyarılması fosfolipaz ve protein kinazın aktivasyonuna ve plazma membranında araşidonik asidin salınımına yol açar. Araşidonik asidin enzimatik oksidasyonu da çeşitli serbest radikal ara ürünler meydana gelebilir. Mikrozomal ve plazma membranı tarafından radikal üretiminin önemli enzimleri olan lipoksijenaz ve siklooksijenaz (araşidonik asit metabolizması) aktivitesi, serbest radikaller için önemli bir kaynaktır (Akkuş, 1995; Freeman ve Crapo, 1982; Huysal, 1999).

### 2.5.2.1.7. Aşırı egzersiz

Özellikle yoğun egzersizde organizmada oksijen türevi radikal oluşumu artmaktadır. Buna karşılık, düzenli yapılan egzersizde bir adaptasyonun oluştuğu, antioksidan enzim aktivitelerinin arttığı, inflamasyon eğiliminin ve serbest demir düzeylerinin azaldığı, DNA tamir mekanizmalarının indüklendiği ve LDL-Kolesterol'ün oksidasyona duyarlılığının azaldığı bulunmuştur (Erdem, 1992).

### 2.5.2.1.8. Stres

Soğukta bırakma veya hareketsiz bırakma gibi stres modellerinde çeşitli dokularda lipidler, proteinler ve DNA'da hasar bulunmuştur. Gerçekten, stres sonrası lipid peroksid düzeylerinin, protein karbonil gruplarının ve 8-dehidroksiguanozin düzeylerinin arttığı bulunmuştur (Erdem, 1992). Streste katekolamin düzeyi artar. Katekolaminlerin oksidasyonu ise serbest radikal kaynağıdır (Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999).

### 2.5.2.1.9. Yaşlanma

Serbest radikaller yaşlanmada önemli bir rol oynamaktadır. Bu ilişkiyi doğrulayan önemli deneysel bulgular bulunmaktadır. DNA'da oksidatif hasarın göstergesi olan 8-deoksiguanozin düzeyleri yaşlanmış deney hayvanlarında artmaktadır. Ayrıca yaşlanma ile dokularda protein karbonil gruplarında ve lipit peroksid düzeylerinde artış tespit edilmiştir. Oksidatif strese duyarlılık ile yaşam süresi arasında da bir ilgi bulunmuştur. Kısa yaşam süreli organizmalarda oksidatif strese duyarlılık fazladır. Birçok canlı türünün ortalama yaşam süresinin diyetle antioksidan eklenmesi ile uzatılabildiği bildirilmektedir (Erdem, 1992).

### 2.5.2.1.10. Doku hasarı ve kronik hastalıklar

Ateroskleroz, kanser, kronik inflamasyon, iskemi-reperfüzyon hasarı gibi durumlarda organizmada oksidan antioksidan dengesi oksidanlar lehine bozulmaktadır.

İştahsızlık, kolestaz malabsorbsiyon gibi koşullarda da antioksidan alımı olumsuz yönde etkilenmektedir (Uysal, 1998).

### 2.5.2.2. Ekzojen serbest radikal kaynakları

Organizmanın doğasından kaynaklanmayan, sadece dış etkenlerin varlığında oluşan reaksiyonlar sonucunda da serbest radikaller açığa çıkabilir. Bunlar şu şekilde sıralanabilir;

-Antineoplastik ajanlar

-Radyasyon

-Alışkanlık yapan maddeler: Alkol ve uyuşturucular.

-Çevresel ajanlar: Ksenobiyotikler (Hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, hiperoksi, pestisitler, sigara dumanı, solventler, anestezi maddeler, aromatik hidrokarbonlar).

#### 2.5.2.2.1. Alkol

Fazla miktarda ve uzun süre alkol alınmasıyla birçok toksik etki ortaya çıkmaktadır. Bunlar içinde özellikle karaciğer hastalığı önemlidir ve kentlerde yaşayan 25-65 yaş arası nüfusta dördüncü ölüm nedenidir. Alkolün hepatotoksik etkisi büyük oranda karaciğerde serbest radikal oluşumundaki artışa bağlanmaktadır. Bu radikaller gerek etanolün asetaldehide, gerekse asetaldehidin asetata dönüşmesi sırasında oluşmaktadır. Ayrıca etanolden doğrudan etoksi radikalleri de oluşmaktadır. Alkol, karaciğerde lipid peroksidasyonunu arttırmakta, antioksidan sistemi etkilemektedir (Köse ve Doğan, 1998; Petkau, 1987).

#### 2.5.2.2.2. Kalori

Fazla kalorili beslenme ile radikal oluşumu arasında doğrudan bir ilişki vardır. Yüksek kalorili diyet özellikle mitokondri kaynaklı serbest radikal oluşumunu arttırmaktadır. Düşük kalorili diyetle beslenen sığırcılarda yaşam süresinin uzadığı, DNA,

protein ve lipidlerde daha az okdidatif hasar görüldüğü, DNA tamir kapasitesinin yükseldiği bulunmuştur. Buna karşılık yüksek kalorili diyetle beslenen sıçanlarda DNA hasarı daha fazla kaydedilmiştir (Doğan, 2004).

### 2.5.2.2.3. Sigara

Sigaradan duman ve katran fazında çeşitli radikaller oluşmaktadır. Sigara kullanımı DNA hasarına yol açmaktadır ve bu olay yalnız aktif sigara içenleri değil, pasif içicileri de kapsamaktadır. Sigara organizmanın antioksidan kapasitesini azaltmaktadır.

### 2.5.2.2.4. Hava kirleticileri

Ozon (O<sub>3</sub>), azot dioksit (NO<sub>2</sub>), kükürt dioksit (SO<sub>2</sub>) ve hidrokarbonlar bunlardan bazılarıdır. Ayrıca asbest ve böcek ilaçları da önemli hava kirleticileri olarak kabul edilebilir (Petkau, 1987). Ozon gerçekte bir serbest radikal değildir, ancak güçlü bir oksitleyicidir. Doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek lipidlerin otooksidasyonuna sebep olmaktadır. NO<sub>2</sub> ise egzoz gazında mevcut olup ozon oluşturmaktadır. O<sub>2</sub> ve NO<sub>2</sub>'ye maruz kalan deney hayvanlarında akciğer hasarının olduğu ve bu hasarın antioksidanlar tarafından önlenemediği bildirilmektedir. SO<sub>2</sub> akciğer hastalıklarının önemli bir nedenidir. Sülfür trioksit radikalinin oluşumuna neden olmaktadır. Yiyeceklerde de koruyucu olarak sülfür kullanılmaktadır, ki bu da sülfür trioksit radikale dönüşmektedir.

### 2.5.3. Serbest radikallerin etkileri

Serbest radikaller vücutta antioksidan savunma mekanizmasının kapasitesini aştıkları zaman çeşitli bozukluklara yol açarlar. Karbonhidrat, lipid, protein ve DNA gibi biyomoleküllerin tüm sınıfları ve tüm hücre komponentleri ile etkileşme özelliği göstererek hücrede yapısal ve metabolik değişikliklere neden olurlar (Cheeseman ve Slater, 1993; Akkuş, 1995; Gutteridge, 1995; Yanbeyi, 1997; Dikici, 1999).

Çizelge 2.4. Serbest radikallerin hücredeki başlıca zararlı etkileri (Yanbeyi, 1999)

Doymamış yağlar	-Kolesterol ve yağ asitlerinde oksidasyon -Lipidlerde çapraz bağlanmalar -Organel ve hücrelerde çapraz bağlanmalar
Karbonhidratlar	-Polisakkaritlerin depolimerizasyonu
Nükleik asit bazları	-Hidroksilasyonlar -Mutasyonlar, kimyasal modifikasyonlar -Şekerlerde benzer reaksiyonlar
Kükürtlü amino asitler	-Protein denatürasyonu ve çaprazlanma -Enzimlerde inhibisyon
Proteinler	-Peptid zincirlerinde kopma -Denatürasyon
Nükleik asitler	-Tek ve çift iplikçik kırılmaları -Proteinlerde çapraz bağlar -Baz içermeyen bölgeler
Hyaluronik asit	-Sinovyal sıvı akışkanlığında değişme

### 2.5.3.1. Serbest radikallerin membran lipidleri üzerine etkileri

Serbest radikallerin en belirgin etkileri, lipid peroksidasyonu (LPO)'na neden olarak, DM'un da aralarında bulunduğu bir dizi hastalığın komplikasyonlarının ortaya çıkmasında ve progresyonunda rol oynamalarıdır. Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenirler, fakat lipidler en hassas olanlarıdır (Yanbeyi, 1999).

Serbest radikallerin etkisiyle ortaya çıkan bozuklukların başında çeşitli zarlardaki LPO gelmektedir. LPO, serbest radikaller tarafından başlatılan ve zarların yapısındaki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan kimyasal bir olay olarak tanımlanmaktadır (Çakır, 1997).

Tüm biyolojik zarlar, poliansatüre yağ asitleri ile amfipatik lipidler ve zar proteinlerinin birleşmesinden oluşur. LPO, çoklu doymamış yağ asitlerinin radikaller ile oksidasyonu sonucu başlayan ve otokatalitik zincir reaksiyonları şeklinde uzayan, lipid peroksidlerinin aldehit türevleri, hidrokarbon radikalleri ve uçucu bazı ürünlere çevrilmesi şeklinde sonlanan süreçtir (Gutteridge, 1995; Yanbeyi, 1999; Dikici, 1999).

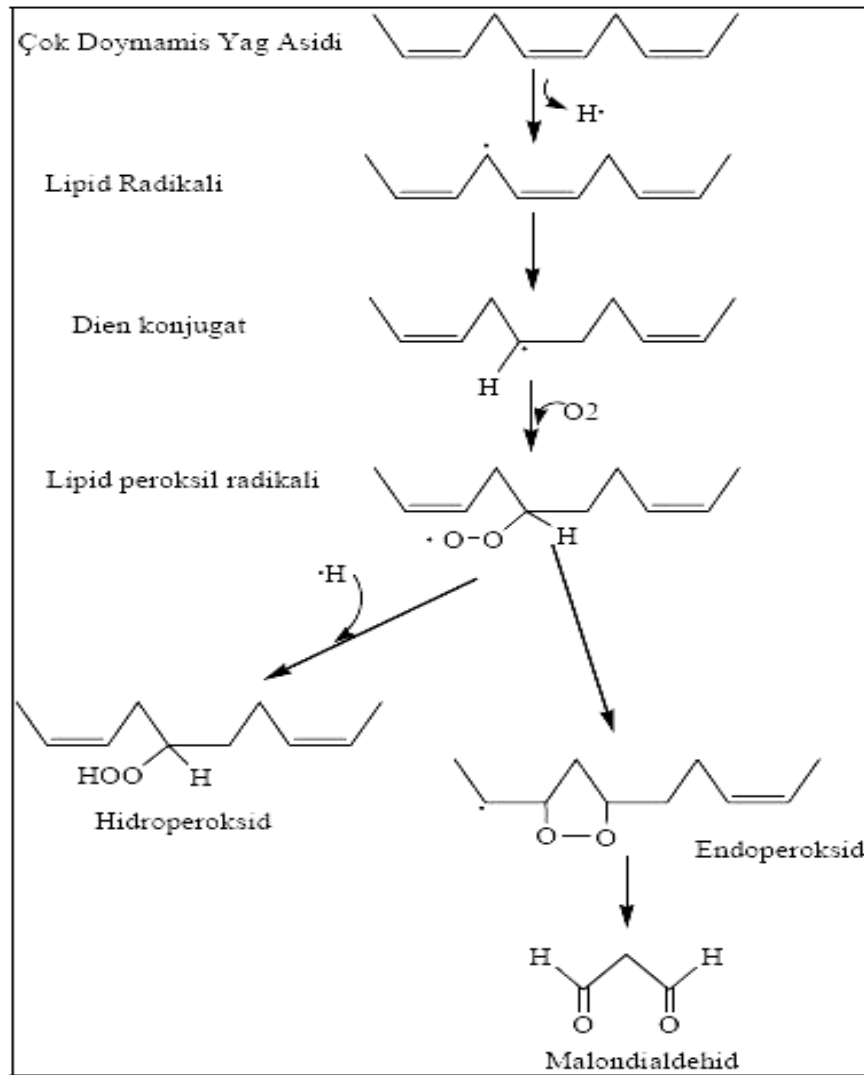
LPO ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. LPO, membranlara yakın bölgelerde ortaya çıkan OH<sup>•</sup> radikalının membran fosfolipidlerinin yağ asidi yan zincirlerine saldırmasıyla oluşur. Reaksiyon OH<sup>•</sup> radikalini ortadan kaldırır, fakat membranda “C” merkezli lipid radikali oluşur. Oluşan lipid radikali dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesiyle konjuge dien yapıları ve daha sonra lipid radikallerinin moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipid peroksil radikali meydana gelir. Lipid peroksil radikalleri, membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitleri ile reaksiyona girerek yeni karbon merkezli radikaller oluştururken, kendileri de açığa çıkan H<sup>•</sup> parçacığı ile birleşerek lipid hidroperoksitlerine dönüşürler. Böylece olay kendi kendine katalizlenerek devam eder (Gutteridge, 1995; Dikici, 1999).

Lipid peroksidasyonunun en önemli ürünü malondialdehid (MDA) dir. Üç yada daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda MDA meydana gelir (şekil 2.5). Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA bu özelliği nedeniyle, DNA'nın nitrojen bazlarıyla reaksiyona girebilir ve bundan dolayı genotoksik ve karsinojenik bir etki gösterir.

Lipid hidroperoksitlerinin membranlarda birikimi sonucu, membran fonksiyonları bozulur ve hücre kollabe olur. Ayrıca lipid hidroperoksitleri geçiş metalleri katalizi ile yıkıldığında çoğu zararlı olan aldehitler oluşurlar. LPO sonucunda ortaya çıkan çeşitli aldehitlerden en iyi bilinenleri MDA ve 4-hidroksinonenal (HNE)'dir. MDA ölçümü ile LPO'nun değerlendirilmesi yapılabilmektedir. Bu bileşikler ya hücrel olarak metabolize olurlar ya da başlangıçta etkili oldukları bölgeden diffüze olup hasarı hücrenin diğer bölümlerine yayarlar. Lipid radikallerinin hidrofobik yapıda olması dolayısı ile reaksiyonların çoğu membrana bağlı moleküllerde meydana gelir.



Peroksil radikalleri ve aldehitler, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Böylece membranlarda, reseptörleri ve membrana bağlı enzimleri inaktive etmek suretiyle membran proteinlerinde de ciddi hasarlar meydana getirebilirler. İyon transportunu etkileyebilirler. Plazma lipoproteinleri ve özellikle düşük dansiteli lipoproteinler de oksidasyona uğrayabilirler. Okside lipoproteinler hücre fonksiyonlarının bozulmasına aracılık edebilirler (Rice-Evans ve ark., 1991; Akkuş, 1995; Dikici, 1999).

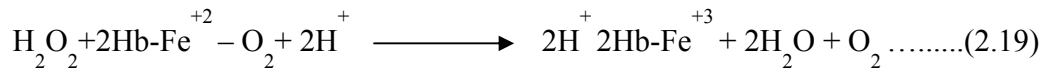


Şekil 2.5. Lipid peroksidasyonunun kimyasal yolu (Murray ve ark., 1996)

Lipidlerden, araşidonik asit metabolizması sonucu serbest radikal üretimine ‘enzimatik lipid peroksidasyonu’, diğer radikallerin sebep olduğu LPO’na ise ‘non-enzimatik lipid peroksidasyonu’ adı verilir (Akkuş, 1995; Fırat, 1997; Yanbeyi, 1999).

### 2.5.3.2. Serbest radikallerin proteinler üzerine etkileri

Proteinler serbest radikallere karşı lipidlerden daha az hassastır. Etkilenme dereceleri içerdikleri aminoasit kompozisyonuna bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren amino asitlerden (triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin, sistein gibi) meydana gelmiş proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenir. Karbon merkezli radikaller ve sülfür radikalleri meydana gelir. Bu karbon merkezli radikallerden karbonillerin ölçülmesi ile proteinlerin oksidatif hasarı ölçülebilir. Serbest radikallerin meydana getirdiği hasar sonucunda proteinlerde fragmentasyon, çapraz bağlanmalar ve proteinlerin agregasyonu meydana gelir. Yapıları bozulan proteinler normal fonksiyonlarını meydana getiremezler. Enzimler protein yapısında olduklarından enzim aktivitelerinde değişiklikler meydana gelir. Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobin  $O_2^-$  veya  $H_2O_2$  ile reaksiyona girerek methemoglobini oluşturur (Akkuş, 1995; Dikici, 1999).



### 2.5.3.3. Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine etkileri

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Glukoz, mannoz ve deoksi şekerler fizyolojik şartlarda otooksidasyona uğrayarak, süperoksid ve hidrojen peroksiti meydana getirirler. Monosakkaritlerin otooksidasyonunun, protein çapraz bağlanmalarına yol açarak agrege olmalarına sebep olduğu gibi bazal membran kalınlaşmasına ve sonuçta katarakt, mikroanjiopati gelişimine de sebep oldukları ileri sürülmektedir (Yanbeyi, 1999).

Serbest radikaller, buna benzer etkilerinden dolayı çok çeşitli hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynarlar. Diabet ve diabet komplikasyonlarının gelişimi, koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, psoriasis, romatoid artrit, behçet hastalığı, çeşitli deri, kas ve göz hastalıkları, kanser ve yaşlılık gibi birçok hastalıkta serbest radikal üretiminin arttığı ve antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu gösterilmiştir (Ames ve ark., 1993; Maxwell, 1995; Yanbeyi, 1999).

Glikozaminoglikan olan ve sinovyal sıvının viskozitesinde önemli rol oynayan hyalüronik asitin reaktif oksijen türleri ile etkilenmesi ile bağ dokusu stabilitesi bozulur. Hyaluronik asit parçalanması inflamatuvar eklem hastalıklarında sinovyal sıvının karakteristik bir özelliğidir. Gözün vitreous humourunda da bol miktarda hyaluronik asit bulunur. Bunun da oksidatif hasara uğraması katarakt oluşumunu hızlandırır (Fırat, 1997; Yanbeyi, 1999).

#### **2.5.3.4. Serbest radikallerin nükleik asitler ve DNA üzerine etkileri**

İyonize edici radyasyona bağlı hücre ölümünün başlıca nedeni nükleik asitlerin reaktif oksijen türleri ile reaksiyonudur. Reaktif oksijen türleri DNA çift sarmalının ayrılmasına veya nükleik asit baz değişimlerine neden olabilir. Bu da kromozal mutasyonlar ve sitotoksosite ile sonuçlanır (Halliwell, 1993; Frei, 1994; Halliwell, 1994; Yanbeyi, 1999).

Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Eğer hidroksil radikali DNA'nın yakınında meydana gelirse pürin ve primidin bazlarını etkileyerek mutasyonlara neden olabilir. Hidroksil radikali, nükleik asitlerde doymuş karbon atomlarından hidrojen çıkarır veya çift bağlara katma tepkimeleri ile sonuçlanan tepkimelere girer. Singlet oksijenin nükleik asitlerle tepkimeye girme yeteneği daha sınırlıdır. Süperoksid anyonu güçlü bir oksitleyici olduğundan, guanin gibi yüksek elektron yoğunluklu bölgeler içeren moleküllerle daha kolay tepkimeye girer (Halliwell ve Gutteridge, 1984; Yanbeyi, 1999).

Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir (Oğuz, 1990; Akkuş, 1995; Taşdemir, 1997; Yanbeyi, 1999). Reaktif oksijen türleri, DNA'nın oksidative hasarı sonucu karsinogenesis, hastalıklar ve yaşlanmada önemlidir (Winrow ve ark., 1993; Yanbeyi, 1999).

#### 2.5.4. Vücudun antioksidan savunma sistemi

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 (Çizelge 2.5). Bu işlevleri yapan maddelerin tümüne birden genel olarak antioksidanlar denir (Akkuş, 1995; Dikici, 1999).

Etkilerini lokal oksijen konsantrasyonunu azaltarak, hidroksil radikallerini temizleyip LPO'nun başlamasını önleyerek, geçiş metal iyonlarını bağlayıp etkisizleştirerek, peroksitlerin alkol gibi nonradikal ürünlere dönüşümünde etkin rol oynayarak ve zincir reaksiyonlarına neden olan tüm radikallerle reaksiyona girip zinciri kırarak gösteren antioksidanlar; intrasellüler ve ekstrasellüler olmak üzere iki grupta incelenirler. En belirgin özellikleri okside olan substratlara oranla çok daha az konsantrasyonlarda bile, substratın oksidasyonunu geciktirmeleri ve inhibe etmeleridir (Halliwell ve Gutteridge, 1990; Yanbeyi, 1999).

Oksijen radikallerinin etkisiyle ortaya çıkabilecek oksidatif hasarları önlemek amacıyla canlı sistem tarafından gerçekleştirilen pek çok korunma mekanizması vardır. Bunlar intrasellüler ve ekstrasellüler olmak üzere iki gruba ayrılır (Halliwell, 1994; Yanbeyi, 1999).

Çizelge 2.5. Biyolojik sistemlerde tespit edilmiş bazı antioksidanlar ve etki mekanizması

Albumin	HOCL radikalini toplar, hem proteini ve bakır metal iyonlarını bağlar.
Askorbik asit	Hidroksil radikal giderici ve tokoferolü indirgeyici antioksidan vitamindir.
Bilirubin	Önemli bir peroksil radikali toplayıcısıdır.
Demir şelatörleri	Serbest demiri bağlamak suretiyle onu etkisizleştirirler.
Desferroksamin	Serbest Fe <sup>3+</sup> ü bağlar.
Dimetil sülfoksit	Birçok dokuda antioksidan özelliği deneysel olarak tespit edilmiştir.
Ebselen	Glutasyon peroksidaz aktivitesini güçlendirir.
Ferritin	Doku demiri bağlayıcısıdır.
Flavonoidler	ROO ve RO <sup>-</sup> radikalini parçalar.
Glikoz	Hidroksil radikali giderici antioksidan molekülüdür.
Glutasyon	Serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri Okdiadif hasara karşı korur.
Glutasyon peroksidaz	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 'nin düşük konsantrasyonlarının giderilmesinde kullanılır.
Glutasyon redüktaz	Disülfidleri indirger.
Haptoglobulinler	Hemoglobin bağlayarak 'hem'in salınmasını önler.
Hemopeksin	Ortamdaki serbest hem proteinlerini bağlayarak oksidasyonu inhibe eder.
Hidroperoksidaz	Enzimatik bir antioksidandır.
Katalaz	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 'nin yüksek konsantrasyonlarının giderilmesini katalizler.
Koenzim Q	Mitokondriyal enerji metabolizmasında bir antioksidan olarak rol oynar.
Laktoferrin	Nötrofillerde radikal oluşumunu önleyen bir ajan olduğu gösterilmiştir. Düşük pH'lı ortamlardaki demir iyonlarını bağlar.
Likopen	Son yıllarda antioksidan aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir.
Mannitol	Özellikle hidroksil radikallerine karşı antioksidan özelliği vardır.
Melatonin	Hidroksil radikalini ortadan kaldıran, günümüze kadar bilinen en güçlü antioksidandır.
Metionin	GSH düzeyinin düşüşünü önleyerek etkili olan bir bileşiktir.
Miyoglobin	Nonenzimatik bir antioksidandır.
Mukus	Hidroksil radikali toplayıcısı olarak işlev yapar.
Oksipürinol	OH <sup>-</sup> ve HOCL radikallerini azaltıcı yönde etki eder.
Probukol	OH <sup>-</sup> radikalini toplar, lipid peroksidasyonunu önler, okside LDL oluşumunu azaltır.
Selenyum	Kan hücreleri, kalp, karaciğer ve akciğerleri serbest radikallere karşı korur.
Seruloplazmin	Süperoksid radikalini nötralize eder, bakır iyonların bağlar.
Sistein	Organik bileşikleri indirger.
Sitokinler	Antioksidan enzimleri aktive ederler.
Sitokrom oksidaz	Oksijen indirgenmesi basamaklarında reaktif tür oluşmasını önler.
Süperoksid dismutaz	Süperoksidin giderilmesi reaksiyonlarında katalizördür.
Transferin	Demir bağlayıcı protein transferin bire üç demir bağlayarak plazma serbest demir konsantrasyonunu düşürür. Böylelikle bağlı demir ve bakır iyonları serbest radikal reaksiyonlarını katalizleyemez ve tepkime sayısı azaltılmış olur.
Ürik asit	Genelde metal bağlayıcı olarak çalışırken, değişik radikalleri de toplar.
Vitamin E	Membran lipidlerinde çözünerek peroksidasyon zincirini kırar.
β-karoten	Radikal türlerinin toplar, ayrıca singlet oksijen oluşumunu inhibe eder.

Antioksidanlar, hem direkt hem de dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların, karsinojenlerin ve toksik radikal reaksiyonlarının istenmeyen etkilerine karşı hücreleri koruyan maddelerdir. Vitamin C, E, A, beta-karoten, metallothionin, poliaminler, melatonin, NADPH, adenzin, koenzim Q-10, ürat, ubikuinol, polifenoller, flavonoidler, fitoöstrojenler, sistein, homosistein, taurin, metionin, s-adenozil-L-metionin, resveratrol, nitroksidler, glutatyon, glutatyon peroksidaz, katalaz, süperoksid dismutaz, tioredoksin redüktaz, nitrikoksid sintaz, hem oksijenaz-L ve eozinofil peroksidaz bu gruba girer (Akkuş, 1995; Gültekin ve ark., 2001; Mates, 2000).

Antioksidan savunma enzimatik veya nonenzimatik olarak gerçekleşebilir (Çizelge 2.6.). İlk ve temel antioksidan savunma, enzimatik olarak yapılmaktadır. En önemli intrasellüler enzimlerin; SOD, GSH-Px, glutatyon redüktaz (GSSG-R) ve katalaz (KAT) olduğu bilinmektedir. Sonraki savunma hattı ise ekstrasellüler nonenzimatik antioksidanlar tarafından oluşturulur. Bunlar; vitamin E, vitamin C,  $\beta$ -karoten, transferrin, seruloplazmin, albumin, haptoglobin gibi bileşiklerdir (Halliwell ve Gutteridge, 1990; Bast ve ark., 1997; Yanbeyi, 1999).

Spesifik metal-bağlayıcı proteinler,  $H_2O_2$  ve  $OH^-$  oluşumunda etkili olan metalleri bağlayarak serbest radikal oluşumunu önlerler (Chan ve ark., 1999). Bunlara örnek verecek olursak; transferin plazmadaki serbest Fe'i bağlayarak, ferrokسيدaz aktivitesi olan seruloplazmin ise, iki değerlikli Fe iyonlarını daha az reaktif olan üç değerlikli Fe iyonlarına dönüştürerek (Noyan, 2003) serbest radikal oluşumunu dolayısıyla lipid peroksidasyonunu önler. Albumin ise, antioksidan etkisini yapısındaki sülfidril grubu aracılığıyla Cu iyonlarını sıkıca bağlayıp,  $OH^-$  oluşumunu engelleyerek yapar.

Antioksidanlar, selüler lokalizasyonları yanında fonksiyonlarına göre de sınıflandırılmaktadır. Genelde, radikal oluşumunu önleyen (metal şelatörler, SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz) ve oluşan radikallerin dokudaki etkilerini önleyen (E vitamini, ubikinin, retinoik asit, betakaroten, glutatyon, ürat) antioksidanlar olarak iki

kategoride incelenirler. Ayrıca enzim ve enzim olmayanlar şeklinde de sınıflandırılırlar. Hücrelerin hem sıvı hem de membran kısımlarında bulunabilirler (Yanbeyi, 1999).

Çizelge 2.6. Biyolojik sistemlerde antioksidan savunma sistemi (Yanbeyi, 1999; Dikici, 1999)

Enzimatik	Nonenzimatik	
-Süperoksid dismutaz (SOD) -Katalaz (KAT) -Glutasyon peroksidaz(GSH-Px) -Fosfolipid hidroperoksit glutasyon Peroksidaz (PLGSH-Px) -Glutasyon S-transferaz (GST) -Glutasyon redüktaz (GSSG-R)	-Glutasyon (GSH) -α-Tokoferol(vit E) -Askorbat (vit C) -β-Karoten -Flavonoidler -Ürat -Bilirubin	-Albümin -Seruloplazmin -Transferrin -Ferritin -Laktoferrin -Melatonin -Sistein

Antioksidanlar etkilerini, şimdiye kadar tesbit edilebilen altı değişik mekanizma ile gösterirler (Cross ve Halliwell, 1987; Halliwell, 1990; Gueumori ve ark., 1991; Yanbeyi, 1999). Bu mekanizmalar, birbirinden bağımsız veya bir arada işleyebilmektedirler. Antioksidanlar;

1. Oksijen ile reaksiyona girerek ya da onun yerini alarak lokal oksijen konsantrasyonunu azaltabilirler.
2. Hidroksil (OH<sup>•</sup>) radikali yapısında yer alan hidrojen atomları ile bağ oluşturabilecek yapıdaki ürünleri temizleyerek peroksidasyonun başlamasını önleyebilirler.
3. Membran lipidlerine direkt etkiyerek peroksit oluşturabilen singlet oksijeni <sup>1</sup>O<sub>2</sub> baskılayabilir ya da temizleyebilirler (Halliwell ve Gutteridge, 1990; Yanbeyi, 1999).
4. Metal iyonlarını bağlamak yoluyla reaktif grupların (OH<sup>•</sup>, ferril ya da Fe<sup>+2</sup>/Fe<sup>+3</sup>/O<sub>2</sub> kompleksleri gibi) ve /veya lipid peroksitlerden peroksil ve alkoksil radikallerinin oluşumunu önleyebilirler. Membranlarda LPO'nun başlamasına hangi reaktif ürünlerin neden olduğu tartışılmaktadır, ancak hem başlangıç için ve hem de oluşan lipid peroksitlerinin dekompozisyonu için transisyonel metal iyonlarına ihtiyaç olduğu konusunda genel bir kanı vardır.

5. Peroksitleri, alkol gibi nonradikal ürünlere çevirebilirler. Örneğin; GSH-Px, peroksitleri bu yolla temizleyen bir antioksidandır.
6. Zinciri kırabilirler. Yani; zincir oluşumuna neden olabilen serbest radikallerle reaksiyona girebilirler ve yağ asidi zincirlerinden sürekli hidrojen iyonu salınımını önleyebilirler. Zincir kırıcı antioksidanlar için de fenoller, aromatik aminler ve en yaygın olanı  $\alpha$ - tokoferol yer almakla birlikte başka lipid solubl zincir kırıcı antioksidanlar da vardır (Halliwell, 1990; Yanbeyi, 1999).

LPO'nu yukarıdaki mekanizmalardan ilk dört tanesi ile önleyenler “koruyucu antioksidanlar” olarak kabul edilmektedir. Dördüncü mekanizma ile etki edenler reaksiyon sırasında tüketilemezler. Beşinci mekanizma ile etki eden antioksidanlar ise koruyucu olmakla birlikte reaksiyon sırasında kimyasal karakterlerine göre, tüketilebilir ya da tüketilemezler. Altıncı mekanizma ile etki eden zincir kırıcı antioksidanlar ise zincir uzama reaksiyonlarına neden olan radikallerle kompleks yaptıklarından kırma reaksiyonu sürecinde tüketilirler. Burada, özellikle vurgulanması gereken nokta antioksidanların pek çoğunun tek bir mekanizma üzerinden etki etmediği, birden fazla mekanizma ile asıl etkisini oluşturduğudur. Ek olarak oksidatif hasarın hızlı tamiri ki bu, peroksidize yağ asitlerinin membran lipidleri arasından temizlenmesi şeklinde olur, LPO'nu yavaşlatabilir. Membrandaki yapısal değişiklikler de peroksidabiliteye etki edebilir. Antioksidanlar sadece lipidlerin değil, belki okside olmaları çok daha zararlı olabilen DNA ve proteinlerin de korunmasında etkindirler (Craig ve ark., 1986; Halliwell, 1987; Halliwell ve Gutteridge, 1990; Jialal ve Fuller, 1993; Halliwell, 1994; Akkuş, 1995; Maxwell, 1995; Yanbeyi, 1999).

Bu mekanizmalar normal biyokimyasal olaylar sırasında az miktarda oluşan radikalleri nötralize edebilirler. Ancak hiperoksi, iskemiden sonra reperfüzyon, dokularda reaktif oksijen radikalleri oluşturan ksenobiyotiklere maruz kalma ve bu radikalleri bol miktarda oluşturan aktive edilmiş nötrofillerle diğer fagositlerin dokuda toplanması gibi durumlar oksidan/antioksidan dengesinin bozulmasına, antioksidan



mekanizmaların tükenmesine (deplezyon) ve sonuçta sitotoksik radikal etkinliğinin artmasına bağlı olarak hücre zedelenmesine ve ölümüne yol açar (Yanbeyi, 1999).

Antioksidanlar, yiyecek katkıları olarak, hücresel komponentler veya plazma bileşenleri olarak çok önemli rol oynamaktadırlar. Çok sayıda yiyecek katkılarının günümüzde koruyucular, antioksidanlar, renk vericiler, tatlandırıcılar, koyulaştırıcı ajanlar, besleyici olmayan şekersiz tatlandırıcılar olarak kullanıldığı açıklanmıştır. Yiyecek katkısı olarak kullanılanların bazılarının yiyeceklerde kullanılmasının yasaklandığı ve bunların mutajenik, karsinojenik ve toksik etkili olduğu belirtilmiştir (Fujise, 1982).

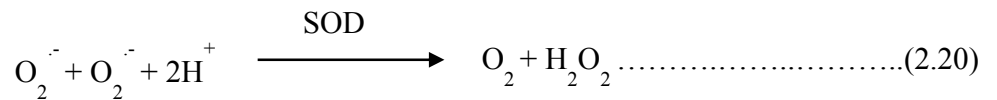
Antioksidanların oksidatif hasarlara karşı dokuları veya hücreleri koruyucu özellikleri göz önüne alındığında, yaşlanmaya, doku hasarlarına ve toksik ajanlar ile zehirlenmeye karşı koruyucu ajanlar olarak gösterilmektedir (Ito ve Hirose, 1989).

#### 2.5.4.1. Enzimatik antioksidanlar

##### 2.5.4.1.1. Süperoksid dismutaz (SOD)

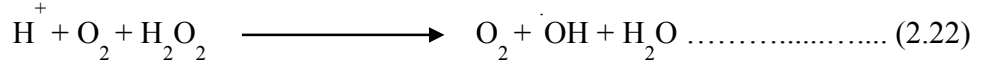
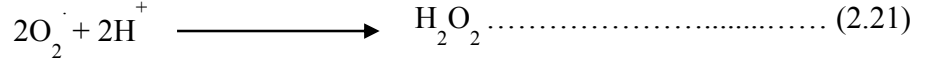
Antioksidan enzimlerden en önemlisi olan SOD, hepatositlerin, eritrositlerin ve beyin hücrelerinin mitokondri matriksinde bulunur. Kararlı bir yapıya sahiptir.  $O_2^{\cdot-}$ 'i  $H_2O_2$ 'ye dönüştüren reaksiyonu katalizler (Armstrong, 1998).

Antioksidan savunmanın ilk basamağı süperoksidin  $H_2O_2$ 'e dismutasyonunu katalizleyen süperoksid dismutaz enzimidir (Gonzales ve ark., 1984; Cerutti ve ark., 1988; Wheeler, 1990; Çakır, 1997).



Süperoksid radikallerinin dismutasyonunu katalizleyen bu enzim ilk olarak inek eritrositlerinden saflaştırılmıştır. Bu enzimin ksantin-ksantin oksidaz deney sistemine

eklendiğinde sitokrom c'nin indirgenmesini inhibe ettiği bulunmuştur (Mc Cord ve Fridovich, 1969).



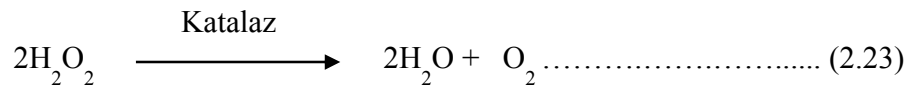
SOD aerobik hücrelerde oksijen radikalinin zararına karşı intrasellüler savunmada büyük rol oynar. SOD'un aktivitesinde yaşlanmaya bağlı olarak bir azalma olmaktadır (Çakır, 1997).

İnsanda SOD'un iki tipi bulunmaktadır; sitozolde bulunan, dimerik, Cu ve Zn içeren izomer (Cu-Zn SOD) ile mitokondride bulunan tetramerik Mn içeren izomerdir (Mn-SOD). Prokaryotlarda bulunan ve Fe içeren bir izomeri daha vardır (Fe-SOD). Ayrıca 1982 yılında glikoprotein yapısında olan ekstrasellüler SOD (EC-SOD) tanımlanmıştır (Marklund, 1984; Dikici, 1999).

Cu-Zn SOD; ilk kez 1969 yılında Mc Cord ve Fridovich tarafından tanımlanmıştır. Cu-Zn SOD, hayvansal hücrelerin sitozolünde yer alan enzimin molekül ağırlığı yaklaşık olarak 32000 Dalton'dur. Birbirinin aynı olan iki alt üniteden meydana gelir. Her subünitede bir Cu atomu, bir Zn atomu, bir zincir içi disülfür köprüsü, bir sülfidril grubu ve bir asetilenmiş terminal amino grubu bulunduğu tesbit edilmiştir (Freeman ve Crapo, 1982; Fırat, 1997).

#### 2.5.4.1.2. Katalaz (CAT)

Katalaz (CAT), tüm hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan dört tane hem grubu içeren bir hemoproteindir. Molekül ağırlığı 248.000 Dalton'dur. Hidrojen peroksidi moleküler oksijen ve suya katalizler (Tudhope, 1967; Palmer, 1990; Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999; Dikici, 1999).



CAT enzimi hepatositlerin mitokondrisinde ve eritrositlerin sitoplazmasında bulunurken, diğer hücrelerin daha çok peroksizomlarında lokalizedir.  $H_2O_2$ 'i su ve oksijene çevirerek etkisiz hale getirir (Chan ve ark., 1999). CAT'ın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit ile metil, etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerine etki etmez. Kan, kemik iliği, mukoz membranlar, karaciğer ve böbreklerde yüksek miktarda bulunmaktadır (Gonzales ve ark., 1984; Rice-Evans ve ark., 1991; Rachmilewitz ve ark., 1994; Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999; Dikici, 1999).

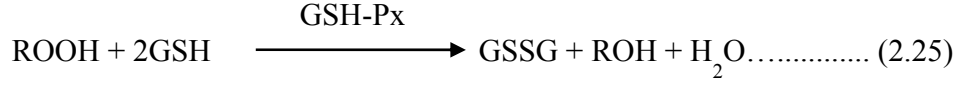
#### 2.5.4.1.3. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)

Hücrelerde oluşan hidroperoksitlerin uzaklaştırılmasından sorumlu olan bir enzimdir. Molekül ağırlığı yaklaşık olarak 85000 Dalton'dur. Birbirinin aynı dört subünitten oluşan tetramerik bir enzimdir. Her subünit bir selenyum atomu içerir. Bu nedenle hücreleri çeşitli hasarlara karşı koruyan bir selenoenzim olduğu düşünülür (McMillan ve Stell, 1993; Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999; Dikici, 1999).

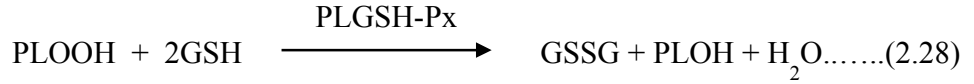
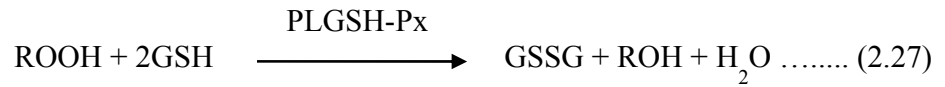
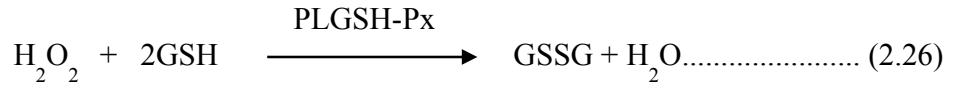
Bu enzimin varlığı ilk defa Mills tarafından 1957 yılında memeli eritrositlerinde saptanmıştır. Endotel hücrelerinde özellikle akciğerde en etkili enzimdir (Mungan, 1996). Enzim aktivitesinin %60-75'i ökaryot hücrelerin sitoplazmasında bulunur. %25-40'ı ise mitokondridedir. Enzim aktivitesinin en fazla olduğu dokular ise eritrositler ve karaciğerdir (Fırat, 1997).

GSH-Px, intrasellüler mesafede lipidleri peroksidasyondan koruyan en önemli enzimdir. Bu nedenle hücrenin özellikle sitozolik kompartmanında yer alan bu enzim hücrenin yapısını ve fonksiyonunu korur (Nechales ve ark., 1968; Michiels ve ark., 1994; Akkuş, 1995; Fırat, 1997; Yanbeyi, 1999).

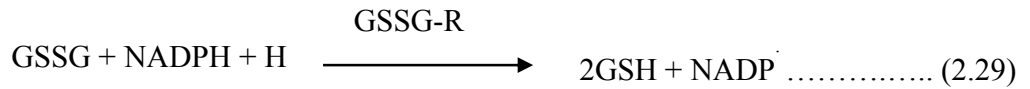
GSH-Px, aşağıdaki reaksiyonları katalizler (Michiels ve ark., 1994; Akkuş, 1995; Fırat, 1997; Dikici, 1999).



Membran fosfolipid hidroperoksitlerini alkole indirgeyen fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PLGSH-Px) da selenyum atomu içerir ve monomerik yapıdadır. Ayrıca sitozolik bir enzimdir. Membrana bağlı antioksidan olan vitamin E'nin yetersiz olduğu durumlarda PLGSH-Px membranın peroksidasyonuna karşı korunmasını sağlar (Gonzales ve ark., 1984; Takahashi ve Cohen, 1986; Halliwell, 1994; Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999; Dikici, 1999).



Hidroperoksitlerin redükte olması ile meydana gelen GSSG, glutatyon redüktazı (GSSG-R) katalizlediği reaksiyon ile tekrar GSH'a dönüşür.



#### 2.5.4.1.4. Glutasyon S transferaz (GST)

Selenyuma bağlı olmayan GSH-Px olarak adlandırılır. Membran LPO'nu yalnızca fosfolipaz A<sub>2</sub>'nin varlığında inhibe eder. Öncelikle araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı Se bağımsız GSH peroksidaz gibi aktivite göstererek antioksidan etki gösterir (Akkuş, 1995; Fırat, 1997; Dikici, 1999).



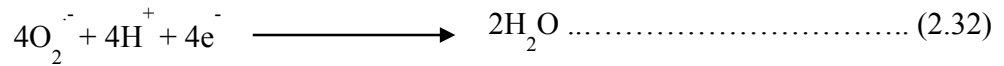
#### 2.5.4.1.5. Glutasyon redüktaz (GR)

Hidroperoksitlerin redükte olması esnasında meydana gelen okside glutasyon (GSSG), GSSG-R'ın katalizlediği reaksiyonla tekrar redükte hale (GSH) dönüşür. Reaksiyonun gerçekleşmesi için NADPH'a ihtiyaç vardır (Rice-Evans ve ark., 1991; Akkuş, 1995; Dikici, 1999).



#### 2.5.4.1.6. Mitokondriyal sitokrom oksidaz

Mitokondrielerde solunum zincirinin en son basamağında yer alan ve bakır içeren bir enzimdir. Solunum zincirindeki görevini sürdürürken , aşağıdaki reaksiyonla süperoksit radikalinin suya dönüşümünü sağlar.

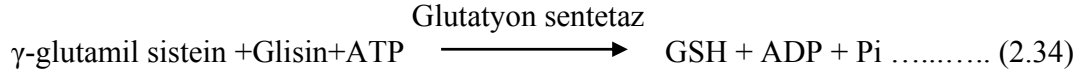
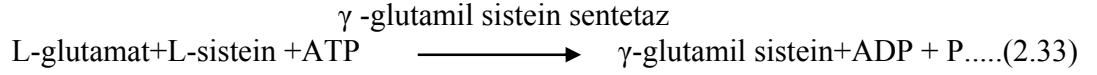


Bu reaksiyon, fizyolojik şartlarda sürekli cereyan eden normal bir reaksiyon olup, bu yolla yakıt maddelerinin oksidasyonu tamamlanır ve bol miktarda enerji üretimi sağlanır (Frei, 1994; Halliwell, 1994; Akkuş, 1995; Bast ve ark., 1997; Yanbeyi, 1999; Dikici, 1999).

### 2.5.4.2. Nonenzimatik antioksidanlar

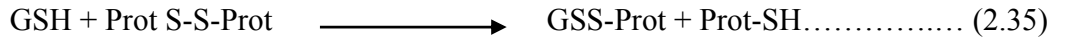
#### 2.5.4.2.1. Glutasyon (GSH)

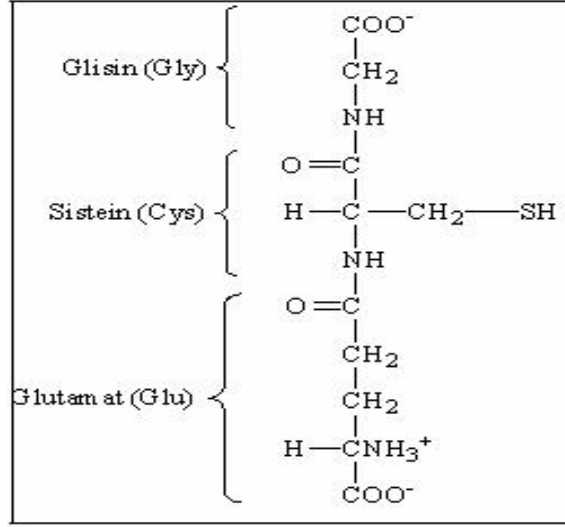
İndirgenmiş (redükte) glutasyon (GSH); glutamik asit, sistein ve glisin içeren bir tripeptit olup, aktif bir sülfidril (-SH) grubuna sahiptir (Şekil 2.7.). Vücuttaki GSH'ın büyük bölümü karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç duyulmadan iki aşamada sentezlenebilen bir tripeptittir (Akkuş, 1995; Fırat, 1997; Dikici, 1999; Yanbeyi, 1999).



Vücutta enzimatik olmayan önemli bir antioksidan olan GSH, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur (Beutler ve Duron, 1963; Akkuş, 1995; Fırat, 1997; Dikici, 1999; Yanbeyi, 1999).

En önemli görevi, enzim ve proteinlerin tiyol gruplarının (-SH) indirgenmesi ile redükte formlarının yeterli düzeylerde kontrolünü sağlamaktır. Tiyol grubuna sahip birçok enzim düşük hızda fakat okside olarak ya da O<sub>2</sub>'nin direkt etkisiyle hızla aktiviteyi yitirirler. İşte GSH kendisi okside olup tiyol gruplarını tekrar indirgeyerek bunların aktivasyonunu sağlar. Özellikle H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin elimine edilmesinde de GSH'ın oksitlenebilirliğinden faydalanılır (Calberg ve Mannervik, 1985; Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999).





Şekil 2.6. Glutasyonun yapısı (Champe, 1997)

#### 2.5.4.2.2. Vitamin E

1925 yılında Evans ve Bishop isimli araştırmacılar bazı lipidlerin eksikliğine bağlı olarak üreme yetersizliği olduğunu keşfetmişler ve bu eksik olan maddeye de D vitamininden sonra alfabetik sıraya göre E vitamini adını vermişlerdir (Evans, 1922; Çakır, 1997).

E vitamini ‘Tokoferoller’ ve ‘Tokotrienoller’ olarak iki ana grupta toplanabilen, 6 kromonal türevleri olan 8 doğal bileşiği içerir. Bu bileşikler molekülün kromonal halkasındaki metil gruplarının sayısı ve pozisyonuna göre  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ve  $\delta$  tokoferoller olarak adlandırılır (Fritsma ve ark., 1983; Yanbeyi, 1999).

Yapısında bulunan fenolik hidroksil grubuna ait aromatik halka, vitaminin kimyasal olarak aktif kısmını oluşturur ve antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır.  $\alpha$ -Tokoferol dokularda değişik konsantrasyonlarda bulunur. En yüksek vitamin E konsantrasyonları, mitokondri ve mikrozomlar gibi membrandan zengin hücre fraksiyonlarında bulunur. E vitamini, süperoksid ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni, lipid peroksi radikallerini ve diğer radikal örneklerini indirger (Rice-Evans ve ark., 1991; Akkuş, 1995; Tanakol, 1998; Dikici, 1999; Yanbeyi, 1999).

E vitamini dokularda en önemli zincir kırıcı antioksidandır ve lipid peroksidasyonuna karşı ilk sıradaki korunma mekanizmasıdır (Schmidtmann, 1990; Akkuş, 1995; Çakır, 1997; Yanbeyi, 1999). E vitamini özellikle yağlı bitkilerde bulunduğundan, temel görevi bitkilerdeki yağları oksidatif hasarlardan (yağların bozulması) korumaktır.

Soğukta preslenmiş bitkisel yağlar, kuru fasulye, soya fasulyesi, ayçiçeği çekirdeği, badem, yerfıstığı, ceviz, fındık, mısır yağı, kabuklu yemiş, kepekli tahıllarda çok fazla miktarda ve değişik oranlarda bulunur (Çakır, 1997).

Glutatyon peroksidaz ile E vitamini serbest radikallere karşı birbirlerine tamamlayıcı etki gösterirler. Enzim, oluşan peroksitleri ortadan kaldırırken E vitamini peroksitlerin sentezini engeller (Fırat, 1997; Yanbeyi, 1999).

E vitamininin emilimi bireyin emilim düzeyi ile doğrudan ilgilidir. E vitamini besinlerden lipidlerle birlikte ince barsaklardan safra asitlerinin yardımıyla emilir. Daha sonra lipoprotein ve şilomikronlara bağlanarak lenf sıvısıyla plazmaya taşınır. Böylece tüm organizmaya dağılır (Bjorneboe ve ark., 1990; Çakır, 1997).

#### **2.5.4.2.3. Vitamin C (askorbik asit)**

C vitamini (askorbik asit) bir ketolaktondur. L-askorbik asit ve L-dehidroaskorbik asit gibi iki aktif formu olan askorbik asit iyi bir redüktandır. Redükleyici bir ajan ve radikal süpürücü olarak askorbik asit, reaktif oksijen türlerine karşı koruyucu etki sağlar. Bununla birlikte, askorbik asit; serbest radikal kaynağı gibi hareket edebilen çeşitli işlevleri olan bir bileşimdir (Yanbeyi, 1999).



#### 2.5.4.2.4. Karotenler

Doğada yaygın olarak bulunan ve hücreleri korumada önemli görevleri olan pigmentlerdir (Bast ve ark., 1991; Yanbeyi, 1999). A vitamininin metabolik ön maddesi olan  $\beta$ -karotenin, singlet oksijeni bastırabildiği, süperoksid radikalini temizlediği ve peroksi radikalleri ile direkt olarak etkileşerek antioksidan işlev gördüğü tesbit edilmiştir (Akkuş, 1995; Fırat, 1997; Di Mascio ve ark., 1991; Yanbeyi, 1999).

#### 2.5.4.2.5. Flavonoidler

Lipidlerde çözünen antioksidanlar sınıfından olan flavonoidler bitkilerdeki kırmızı, mavi ve sarı renk pigmentlerini oluşturan polifenollerdir. Başlıca besinsel kaynakları elma, portakal, limon gibi meyveler ile patates, karnıbahar gibi sebzelerdir. Şarap, üzüm suyu ve çay gibi bitkisel kaynaklı içeceklerde de bulunurlar (Dikici, 1999). Peroksidasyonu başlatan radikalleri tutarak, metal iyonlarını bağlayarak ve radikal oluşturucu enzimleri inhibe ederek lipid peroksidasyonunu engellerler.

Flavonoidler, 3'- 4' dihidroksi yapısı ile antioksidan aktiviteye sahiptir. Fenolik antioksidan, lipid radikallere hızla H<sup>•</sup> vermesi şeklinde lipid oksidasyonu ile etkileşir. Görevi ROO<sup>•</sup> ve RO<sup>•</sup> radikalini parçalamak ve böylece LPO zincir reaksiyonunu sonlandırmaktadır. Ayrıca bakır iyonlarıyla kompleks oluşturabilirler; bu durum antioksidan etkilerine bağlanabilir (Feredioon ve ark., 1992; Avcı, 2001).

#### 2.5.4.2.6. Ürat (ürik asit)

Süperoksid, hidroksil, peroksi radikallerini ve singlet oksijeni temizler. Demir ve bakır iyonlarını bağlayarak etkisizleştirir fakat lipid radikalleri üzerine etkisi yoktur. C vitamini oksidasyonunu da engeller. Normal plazma konsantrasyonunda antioksidan etki gösterir (Akkuş, 1995; Dikici, 1999).

#### 2.5.4.2.7. Bilirubin

Hem proteinlerinin yıkım ürünü olan bilirubin aynı zamanda çok efektif bir lipid antioksidandır. Bilirubinin mikromolar konsantrasyonlarda dahi peroksil radikalini yakaladığı ve zincir kıran antioksidan olarak davrandığı gösterilmiştir (Gutteridge, 1995; Krinsky, 1988; Fırat, 1997).

#### 2.5.4.2.8. Albumin

Plazmanın zincir kırıcı antioksidan aktivitesine yol açan plazma sülfidril gruplarının major komponentidir. Plazmada hipokloröz asitin güçlü bir temizleyicisidir (Halliwell ve Gutteridge, 1990; Avcı, 2001).

Yapısında bulunan çok sayıdaki sülfidril grubu aracılığıyla bakır iyonlarını bağlar ve lipid peroksidasyonunun başlamasını engeller. Bakır iyonlarının bağlanmasıyla protein yapısında hasar ortaya çıkar, ancak albuminin yarı ömrü oldukça kısa olduğundan kolaylıkla yenilenebilmektedir. Böylece, bakır iyonlarının diğer proteinlerdeki sülfidril gruplarına bağlanması ve proteinleri hasara uğratması engellenmiş olur. Albumin kanda serbest yağ asitlerinin ve bilirubinin taşıyıcısıdır. Bilirubinin lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği ve süperoksid ve hidroksil radikallerinin toplayıcısı olduğu bildirilmiştir (Yalçın, 1998).

#### 2.5.4.2.9. Seruloplazmin

Hem doku homojenatları, hem de basit lipid emilasyonlarında güçlü bir serbest radikal inhibitörüdür. Demirin transferrine bağlanmasını kolaylaştırır ve ekstrasellüler SOD gibi davranır. Ayrıca ferrik demiri ferro demire yükseltgeyerek fenton reaksiyonunu önler (Akkuş, 1995; Dikici, 1999).

#### 2.5.4.2.10. Transferin

Dolaşımdaki serbest demiri bağlar (Akkuş, 1995; Rice-Evans ve ark., 1991; Dikici, 1999).

#### 2.5.4.2.11. Melatonin

En zararlı radikal olan hidroksil radikalini ortadan kaldıran, günümüze kadar bilinen en güçlü antioksidandır. Lipofilik özelliğe sahiptir. Böylece hücrenin bütün organellerine ve hücre çekirdeğine ulaşabildiği gibi kan-beyin bariyerini de kolayca geçer. DNA hasarını da çok etkili bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir. Yaş artımı ile birlikte melatonin üretimi de azalmaktadır. Bu durumun yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı hastalıkların patogeneğinde önemli olabileceği düşünülmüştür (Akkuş, 1995; Dikici, 1999).

#### 2.5.4.2.12. Sistein

Süperoksid ve hidroksil radikallerinin toplayıcısıdır (Akkuş, 1995; Dikici, 1999).

#### 2.5.4.2.13. Übikinonlar

Übikinonlar, lipidlerde çözünen ve izoprenoid yapı içeren kinon türevleridir. Soya yağı, et ve balık gibi besinlerde ve bazı sebzelerde bulunurlar. İndirgenmiş şekilleri olan übikinoller übikinonlara kıyasla antioksidan olarak çok daha etkilidirler. İnsanlarda bulunan temel übikinon, übikinon-10 (Koenzim-Q)'dur. Esas görevi olan solunum zincirindeki redoks taşıyıcılığının yanında, oksijen kaynaklı radikaller ve singlet oksijen ile etkileşerek lipid peroksidasyonunun başlamasını ve biyomoleküllerin hasar görmesini engeller (Yalçın, 1998).

## 2.6. Çalışmada kullanılan bitkiler

***Gingko biloba L. (Mabet ağacı):*** Bugün yaşamakta olan tohumlu bitkilerin en eskisi olarak bilinir. 40 m'ye kadar ulaşabilen uzun boylu ve kalın gövdeli ağaçlardır. Kısa sürgünler üzerinde sarmal dizilişli yapraklar içerirler. Yelpaze biçiminde bazen iki loplolu olan bu yapraklar çatalsı damarlanma gösterirler ve kışa doğru dökülürler. Ülkemizde Batı ve Güney Anadolu'da park ve bahçelerde yetiştirilir. Tohum veya çelikle üretilse de, çelikle üretilmesi çok güçtür.

***Tagetes patula L. (Kadife çiçeği):*** Bir yıllık, 20-40 cm boyunda, çalimsı, kokulu, otsu bir bitkidir. Yapraklar almaçlı veya karşılıklı dizilişte. Tüysü yaprakçıklar tek sayıda, sapsız, mızraksı, kenarları testere dişlidir. Çiçekler tek, terminal, kapitula 3.5-5 cm büyüklüğünde, uzun saplı, altın sarısı-kırmızımsı kahverengi renklidir. Yaz-sonbahar aylarında çiçek açarlar. Tohumlarla üretilir. Güneşli yerlerde ve ılıman iklimlerde yetişir. Her türlü toprakta yetişmekle beraber, organik maddece zengin, geçirgen toprakları tercih ederler. Vatanı Meksika'dır.

***Gentiana olivieri L. (Afat):*** Çok yıllık otsu bir bitkidir. Nisan-Temuz aylarında çiçeklenir. Kireçli ve killi toprakları sever. 1-3 çiçekli, çiçekleri dik, gövde 10-30 cm, dallanma tabandan rozet biçimindedir. İnternodyumları birkaç tane, yapraklar rozet şeklindedir. Çiçekleri 3-10 arasında olup, kafa şeklinde topluluklar oluşturur. Kaliks 12-15 mm'dir. Korolla mavi renktedir ve iç kısmında belirli belirsiz beyaz çizgiler vardır. İran-Turan elementidir. Karasal Anadolu, Çankırı, Tokat, Sivas, Erzurum, Bitlis, Gaziantep, Şanlıurfa, Siirt, Mardin ve Hakkari bölgelerinde yetişir.

***Olea europaea L. (Zeytin):*** Daha ziyade Akdeniz ikliminin hüküm sürdüğü yerlerde yayılış gösteren 10-15 m boyunda ağaçlardır. Yapraklar eliptik yoğun lepidot pullarla örtülü. Çiçekler yaprak koltuklarında panikula veya kümeler halinde korolla tüpü loplolarında kısa. Meyva ovattan oblonga kadar değişen bir drupa.

*Aristolochia maurorum* L. (**Lohusa otu**): Çok yıllık otsu veya odunsu sürünücülerdir. Çiçekler zigomorf. Perigon üç parçalı, kıvrık ve ibrik şeklinde, perigon tüpünün içi aşağıya doğru kıvrık tüylerle örtülü olduğundan tozlaşmayı sağlayacak böcekler çiçek içinde tutulmuş olur. Ovaryum altı bölmeli. Meyva çok tohumlu kapsüle şeklindedir. Yapraklar mızrak, şerit-mızrak şeklinde. Periant U şeklinde, koyu kahverengiden koyu morumsu kahverengiye kadar. İçbatı ve İç Anadolu'da kayalık yerlerde, bağlarda ve steppe bulunur.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Deney hayvanlarının yetiştirilmesi

Çalışmada kullanılacak hayvanlar Almanya'dan getirilip Harran Üniversitesi'nde hayvanların yaşamasına ve sağlıklı gelişmesine uygun bir şekilde dizayn edilen ortamda çiftleştirilerek çoğaltıldılar. Özel olarak sipariş edilen kafeslere konularak, su ve yemlerini sürekli temin edebilecekleri bir mekanizma oluşturuldu. Deneyin sonuna kadar Gebze Yem Fabrikası'ndan temin edilen ve bileşiminde çizelge 3.1'de gösterilen katkı maddeleri bulunan yem ile beslendiler.

Çizelge 3.1. Deney hayvanlarına verilen yemin bileşimi

Yem içeriğindeki madde	Yüzdesi
Ham protein	24.00
Ham selüloz	4.78
Ham kül	5.04
Ham yağ	5.87
Kalsiyum	0.90
Total fosfor	0.78
Hazm olabilir fosfor	0.38
Lizin	1.31
Metionin	0.45
Metionin+Sistein	0.82
Sodyum	0.14
Linoleik asit	2.52
Metabolik enerji	2900 Kcal

##### 3.1.2. Hayvanların deneye hazırlanması

8 hafta sonunda yaklaşık olarak 200-220 g olan 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. Çalışmaya

alınacak ve kontrol gurubunu oluşturacak sıçanların hepsinin benekli olmasına dikkat edildi.

### 3.1.3. Bitkilerin temini ve teşhisi

Lohusa otu, Haziran ayında araziden toplanarak kök kısmı gölgede kurutularak deney zamanına kadar muhafaza edildi. Şanlıurfa'daki zeytin ağaçlarından toplanan yapraklar yıkandıktan sonra distile su ile durulanarak etüvde 45 °C'de kurutularak kullanıldı. *Ginkgo biloba*, 'Gineksin F' ticari adıyla (Deva İlaç A.Ş) film tablet şeklinde eczaneden temin edildi. Bunların dışındaki bitkiler Şanlıurfa'da bulunan aktarlardan kurutulmuş halde alınarak, Harran Üniv. Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalı'ndaki hocalar tarafından teşhisleri yapıldı. Bitkinin kullanılacak organına göre ayıklama yapıldı. Kaba tozları alındıktan sonra distile su ile durulanarak etüvde 45 °C'de kurumaları sağlandı.

### 3.1.4. Çalışma için gerekli malzeme ve kimyasallar

#### **Kullanılan cihaz ve malzemeler**

- Benmari (GLF 1086)
- Bıçaklı homojenizatör (Heidolph, Silent Crusher M)
- Buz yapma makinesi (Hoshizaki, FM-120EE)
- Derin dondurucu (Sanyo, MDF 592)
- Distile su cihazı (Barnstead, easypure UV/UF)
- Hassas terazi (Precisa, 262 SMA-FR)
- Filtre kağıdı (Watman)
- Glukometre (Roche, Accu-Chek Active)
- Kaba terazi
- Manyetik karıştırıcı (Precisa, Heating stirrer SH-3A)
- Otoanalizör (Roche, Cobas Integra 400 plus)
- Parçalayıcı robot (Sinbo)
- pH metre (Thomas, Cyberscan 2500)
- Pipetler (Eppendorf)

Rotary evaporatör (Heidolph, Laborata 4002)

Santrifüj (Hettich, Mikro 22 R)

Spektroflorometre (Jasco, FP 6300)

Spektrofotometre (Shimadzu, UV-1700)

Ultrasonikatör (Bandelin, UW 2070)

Vorteks (Stuart Scientific)

### **Kullanılan kimyasallar**

CDNB

GSH

GSH buffer

GSSG

Heparin

Hidrojen peroksit

MDA

Metanol

NADPH

OPA

PBS

Perchloric acid

Potasyum buffer

SDS

Streptozotosin

TBA

TCA

TET



### 3.2. Yöntem

#### 3.2.1. Bitki ekstraktlarının hazırlanması

Afat otu dal, çiçek ve yapraklarıyla birlikte robotta iyice çekilerek toz haline getirilmiştir. Zeytin yaprağı robotta çekilmiş ve toz haline getirilmiştir. Lohusa otu, kök kısmı yıkanıp temizlendikten sonra kabukları ince bir tabaka şeklinde soyularak ortası alınmış, pres uygulanarak parçaladıktan sonra robotta toz haline getirilmiştir. *Ginkgo biloba* ise, hazır tablet şeklinde eczaneden temin edilmiştir.

Toz haline getirilen tüm bitkiler ayrı ayrı cam şişelere konulmuş ve üzerlerine Çizelge 3.2’de görüldüğü gibi çeşitli oranlarda metanol ve distile su eklenerek 24 saat oda ısısında tutulduktan sonra filtre kağıdı (Whatman, grade 1) yardımıyla süzme işlemi gerçekleştirilmiştir. Süzüntü, rotary evaporatör (Heidolph, Laborata 4002) yardımıyla tamamen Metanolün uzaklaştırıldığından emin oluncaya ve kalan bitki ekstraktlarının pekmez kıvamına gelmesine üzen gösterilerek evapore edilmiştir.

Çizelge 3.2. Kullanılan bitkilerin Latince, Türkçe adları ve ekstraksiyon işlemleri

Bitkinin Latince adı	Bitkinin Türkçe adı	Alınan bitki miktarı (g)	Eklenen metanol (ml)	Eklenen su (ml)	Süzüntü (ml)	Evaporasyon sonrası kalan miktar (ml)
<i>Gentiana Olivieri</i>	Afat otu	100	330	30	330	30
<i>Olea europaea</i>	Zeytin ağacı	50	250	20	220	30
<i>Tagetes patula</i>	Kadife çiçeği	120	580	70	500	40
<i>Aristolochia Maurorum</i>	Loğusa otu	100	150	200	300	20
<i>Ginkgo biloba*</i>	Mabet ağacı	-	-	-	-	-

\* *Ginkgo biloba*, piyasada satılan hazır tabletler alınarak hazırlandığı için bu aşamalardan geçirilmedi.

*Ginkgo biloba* tabletleri havanda toz haline gelinceye kadar dövüldü. Bir miktar distile su ilave edilerek partiküller eriyinceye kadar manyetik karıştırıcıda karıştırıldı.

Evaporasyon sonrası kalan özütler ve *Ginkgo biloba* süspansiyonunun özkütleleri hesaplandıktan sonra, %10'luk gum arabic kullanılarak, 1 birim madde / 3 birim gum arabic olacak şekilde homojenize edildi.

### 3.2.2. Deneysel uygulamalar

Diabette oksidatif stres ve antioksidanların rolüne ilaveten çeşitli bitki ekstraktlarının olumlu etkilerini gözlemleyebilmek için, elimizdeki 40 adet sıçanı kontrol ve diabetik grup dahil olmak üzere toplam 7 gruba ayırdık.

1. **Grup:** Kontrol grubu (n= 6, erkek)
2. **Grup:** STZ (diabetik) grubu (n= 7, erkek)
3. **Grup:** STZ+ *Ginkgo biloba L.* (n= 5, erkek)
4. **Grup:** STZ+ *Tagetes patula L.* (n= 6, erkek)
5. **Grup:** STZ+ *Gentiana olivieri L.* (n=5, erkek)
6. **Grup:** STZ+ *Olea europaea L.* (n=5, erkek)
7. **Grup:** STZ+ *Aristolochia maurorum L.* (n= 6, erkek)

Şeklinde gruplar oluşturulup ayrı ayrı kafeslere konuldu. Kontrol grubu hariç diğer gruplara intraperitoneal olarak streptozotosin uygulandı. Diabetik grup hariç diğer gruplara günaşırı bitki ekstraktları verildi. Dört hafta boyunca belli aralıklarla bir gece açlıktan sonra sıçanların ağırlıkları ve açlık kan şekerleri alınarak tablolar oluşturuldu.

**1.Grup; Kontrol grubu:** 6 adet erkek sıçandan oluşan bu grup deneyin başlangıcında oluşturularak hiçbir madde veya bitki ekstraktı uygulanmadan tutuldu. Deney gruplarıyla beraber bunların da açlık kan şekerleri ve ağırlıkları ölçülerek tabloya kaydedildi. 5. haftanın sonunda desikatörde CO<sub>2</sub> gazı ile öldürülüp lens ve kan dokuları uygun şekilde alınarak analizler için -70 °C'de tutuldu.

**2.Grup; Diabet (STZ) grubu:** 7 adet erkek sıçandan oluşan bu gruba, bir gece açlıktan sonra ağırlıkları ve kan şekerleri ölçülerek kaydedildikten sonra, sodyum sitrat tamponu içerisinde 65 mg/kg olacak şekilde streptozotosin (STZ) hazırlanıp

intraperitoneal (i.p) olarak verildi. Calbiochem marka ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  = 294,1 g/mol) sodyum sitrat dihidrattan elektronik terazi ile 1.47 g alınarak distile su ile 100 ml'ye tamamlanarak pH'sı 4.5'e ayarlandı. Hazırlanan 0.05 M'lık tamponun içerisine 13 mg/0.5 ml olacak şekilde STZ çözündürülerek taze bir şekilde intraperitoneal olarak hayvanlara uygulandı. Bir hafta sonra açlık kan şekerleri glukometre (Roche) ile ölçülerek 250 mg/dl'nin üzerindeki değerler diabet olarak kabul edildi ve çalışmaya dahil edildi. Haftada bir olmak üzere açlık kan şekerleri ve ağırlıkları alınan bu gruba hiçbir ekstrakt verilmedi.

**3.Grup; STZ+*Ginkgo biloba L.* grubu:** STZ uygulandıktan bir hafta sonra açlık kan şekerlerine bakılan ve diabet olduğu görülen bu gruba hemen 0.5 ml distile su-gum arabik karışımı içerisinde çözündürülmüş 20 mg *Ginkgo biloba* süspansiyonu, hazırlanan özel bir tertibat ile orogastrik yol ile vermeye başlandı. Deney bitimine kadar gün aşırı olarak sabah saat 9:00' da bu uygulamaya devam edildi. Haftada bir defa olmak üzere ekstrakt verilmeden hemen önce açlık kan şekerleri ve ağırlıkları da alınarak kaydedildi.

**4.Grup; STZ+*Tagetes patula L.* grubu:** 6 adet erkek sıçandan oluşan bu gruba hazırlanan kadife çiçeği ekstre süspansiyonu deney bitimine kadar gün aşırı olarak sabah 9:00'da orogastrik yol ile verildi. Her bir hayvana 0.5 ml distile su içerisindeki 21.5 mg madde, üzeri plastikle kaplanmış kılcal metal boru yardımıyla uygulandı. Birer hafta aralıklarla grubun açlık kan şekerleri ve ağırlıkları alınıp kaydedildi.

**5.Grup; STZ+*Gentiana olivieri L.* grubu:** 5 adet erkek sıçandan oluşan bu gruba Şanlıurfa'daki aktarlardan alınarak ekstre edilen afat (korku otu) bitkisi deney bitimine kadar, gün aşırı olarak orogastrik yol ile verildi. 26.6 mg afat özütü ihtiva eden 0.5 ml'lik süspansiyon (distile su ve gum arabik karışımı) hazırlanmış özel tertibatla hayvanlara verildi. 5. haftanın sonunda desikatörde öldürülerek hızlı bir şekilde lens ve kan dokusu alınarak analizler için  $-70\text{ }^\circ\text{C}$ 'de tutuldu.

**6.Grup; STZ+*Olea europaea L.* grubu:** Metanol ve distile su karışımında bekletilip evapore edilen zeytin yaprağı ekstresinin uygulandığı bu grup 5 adet erkek sıçandan oluşturuldu. 22.5 mg yaprak özütü gün aşırı olacak şekilde 0.5 ml distile su

ve gum arabik süspansiyonu içerisinde orogastrik yolla hayvanlara verildi. Haftada bir defa, ekstrakt uygulanmadan hemen önce sabah saat 09:00'da açlık kan şekerleri ve ağırlıkları ölçülerek kaydedildi.

**7.Grup; STZ+Aristolochia maurorum L. grubu:** STZ uygulandıktan bir hafta sonra diabet oldukları görülen bu gruptaki hayvanlara, daha önce tarladan toplanıp kurutulan lohusa otu kök ekstraktı 20 mg/0.5 ml distile su ve gum arabik karışımı olacak şekilde uygulandı. Aynı şekilde grup hayvanlarının açlık kan şekerleri ve ağırlıkları haftada bir kez olacak şekilde alınarak kaydedildi. Deney bitiminde tüm hayvanlarla birlikte bu gruptaki sıçanlar da desikatörde öldürülüp gerekli dokular uygun yöntemlerle alınarak analiz edilinceye kadar -70 °C'de tutuldu.

### 3.2.3. Lens ve kan dokusunun alınması ve hazırlanması

Streptozotosin uygulandıktan beş hafta sonra hayvanlar kesim için laboratuvara taşındı. Desikatörde CO<sub>2</sub> gazı verilerek bayıltılmış ve heparin ile ıslatılmış enjektör yardımıyla kalp ventrikülüne girilerek yaklaşık 5 cc kan alınmıştır. Zaman kaybedilmeden gözler enükle edilmiştir.

Alınan kanlar hemen bir tüpe boşaltılarak hafifçe altüst edilmiştir. 3 dakika 3000 rpm'de santrifüj edilerek plazma kısmı yeni bir tüpe transfer edilmiş ve ileride çalışılmak üzere -80 °C'de tutulmuştur. Kalan eritrosit süspansiyonunun üzerine hematokrit 35 olacak şekilde %0,9 NaCl eklenerek tekrar 3000 rpm/3 dakika santrifüj edilerek süpernatant pipet yardımıyla alınarak atılmış. Bu yıkama işlemi 3 defa tekrarlandıktan sonra, elde edilen eritrosit paketlerinden çalışmada kullanılmak üzere yeterli miktar alınarak -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

Biyokimyasal analizler için alınan gözler enükle edildikten sonra zaman kaybetmeden buz kabı üzerine alınıp bisturi yardımıyla pars plana bölgesinden ikiye ayrılmıştır. Ortaya çıkan lens bir pens yardımıyla alınmış ve hassas terazi ile daha önceden darası alınmış 'u tabanlı' tüplere alınarak biyokimyasal çalışmalarda kullanılmak üzere -80 °C'de tutulmuştur.

### 3.2.4. Lens ve kan dokusunda MDA analizi

Ağırlıkları alınan lenslerin üzerine 1/9 olacak şekilde buffer eklenerek bıçaklı homojenizatör yardımıyla iki defa tekrarlanacak şekilde 20 saniye homojenize edilerek, 6000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar yeni tüplere aktarılarak gerekli analizler yapılincaya kadar -80 °C'de bekletilmiştir.

#### 3.2.4.1. Stok standartın hazırlanması

**Birinci çalışma solüsyonu ( $W_1$ ):** 4.05 M konsantrasyonlu orijinal stok tetraetoksipropan (TET, Sigma) solüsyonundan 2,47  $\mu$ l alınarak 997.53  $\mu$ l ultra saf suda direkt ışık temasından korunarak seyreltildi.

**İkinci çalışma solüsyonu ( $W_2$ ):** Birinci çalışma solüsyonundan 10  $\mu$ l alınıp 990  $\mu$ l ultra saf su ilave edilerek vortekslendi.

**Üçüncü çalışma solüsyonu ( $W_3$ ):** İkinci çalışma solüsyonundan 10  $\mu$ l alınarak üzerine 990  $\mu$ l ultra saf su eklendi.

Çizelge 3.3. Stok solüsyondan çalışma standart solüsyonunun hazırlanması

Standartlar	TET ( $\mu$ l)	n(H <sub>2</sub> O) ( $\mu$ l)	Konsantrasyon (nmol)
$W_1$	2.47	997.53	10.000
$W_2$	10	990	100
$W_3$	10	990	1

Çizelge 3.4. MDA standart serisinin hazırlanması

Standart No	n(H <sub>2</sub> O) ( $\mu$ l)	$W_3$ ( $\mu$ l)	Konsantrasyon (nmol)
0	100	-	0.0
1	90	10	0.1
2	80	20	0.2
3	60	40	0.4
4	20	80	0.8
5	-	100	1.0

Çalışma (W<sub>3</sub>) standardı (Çizelge 3.2) hazırlandıktan sonra standart serisi için tüpler hazırlanarak daha önce hazırlanıp dondurulmuş lens süpernatantları ve ayrıştırılmış plazmalar çıkartılarak buz kabında erimeleri sağlandı. Bundan sonra standart serisindeki (Çizelge 3.3) her bir tüpe ve örnek tüplerine sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulandı:

1. Örnek ve standartların her birinden 100'er µl alınarak üzerlerine sırasıyla aşağıdaki solüsyonlar ilave edildikten sonra 20 saniye vortekslenerek, daha önceden hazırlanmış su banyosunda 97 °C'de 60 dakika inkübe edilmiştir.

- Örnek ve standartların her birinden.....100 µl
- Perklorik asit( 0,1125 N).....300 µl
- TBA (8 mg TBA 1 ml metanolde çözüldü).....300 µl

2. Sıcak su inkübasyonundan çıkarılan tüpler, 60 saniye musluk suyuna tutularak -20 °C'de 20 dakika tutulmuştur. Buradan alınan tüplerin her birisine aşağıdaki solüsyonlar eklenmiştir.

- Metanol.....600 µl
- Trikarboksilik asit (%20).....200 µl

3. Bu ilavelerden sonra tüpler 10 saniye vortekslenip 13.000Xg'de 6 dakika santrifüj edilmiştir.

4. Santrifüjden sonra üst fazdan yaklaşık 1000 µl alınıp spektroflorete (Jasco FP-6300), eksitasyon 525 nm ve emisyon 560 nm'de absorbans değerleri okundu.

5. Distile su ile 'auto zero' yapıldıktan sonra konsantrasyonları bilinen standartlar sırasıyla okunarak, madde miktarı (x) ve absorbans (y) olacak şekilde lineer bir standart grafiği oluşturuldu. Excel programı kullanılarak oluşan standart eğrisi grafiğinin denklemi bulundu. Buradan madde miktarını temsil eden x yalnız bırakılarak okunan absorbanslar tek tek denklemde yerine konularak gerçek madde miktarı nmol cinsinden tespit edildi.

### 3.2.5. Lens ve kan dokusunda GSH analizi

**Stok solusyonu:** 3.073 mg indirgenmiş GSH (Sigma) 10 ml saf suda çözülerek 1 mM'lık stok solusyonu hazırlanmış oldu.

**Çalışma solusyonu:** Stok solusyondan 100 µl alındı. Üzerine 900 µl saf su ilave edilip (direkt ışıktan sakınarak) iyice vortekslenerek 100 µM konsantrasyonlu çalışma solusyonu hazırlandı.

Çizelge 3.5. GSH analizi için çalışma solusyonu hazırlama

Standart	1 mM stok GSH(µl)	nH <sub>2</sub> O (µl)	Konsantrasyon (µM)
W <sub>1</sub>	100	900	100 µM (100 nmol)

Çizelge 3.6. GSH standart serisinin hazırlanması

Standart No	nH <sub>2</sub> O (µl)	W <sub>1</sub> (µl)	Konsantrasyon(nmol)	Diğer solusyolar
0	100	0	0	900
1	99	1	0.1	900
2	98	2	0.2	900
3	96	4	0.4	900
4	92	8	0.8	900
5	84	16	1.6	900
6	68	32	3.2	900

Standartlar 6'ya kadar artan konsantrasyonlarda hazırlandıktan sonra analiz edilecek numuneler -70 °C'den çıkarılıp erimeleri sağlandıktan sonra buz kabına alındılar. Homojenize edilen lens örneklerinin üzerine toplam hacmin 1/10'u olacak şekilde %60'lık perklorik asit ilave edilerek 6000 rpm/10 dakika santrifüj edildikten sonra GSH analizi için süpernatantlar alındı. Plazma örnekleri ise herhangi bir ön işlem uygulanmadan analize alındılar. Sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulandı:

Örnek veya standart ..... 100 µl  
 GSH buffer ..... 890µl  
 OPA ..... 10 µl

Eklendikten sonra tüm örnekler 2-3 saniye vortekslendikten sonra RT'de 5-6 dakika, direkt ışık etkisinden korunarak bekletildikten sonra spektrofloreometrede

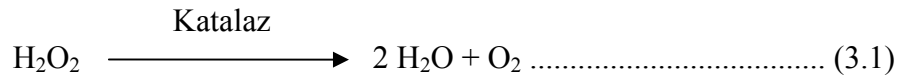
(Jasco, FP-6300) dalga boyu eksitasyon 345 nm ve emisyon 425 nm’de okunarak absorbans değerleri kaydedildi. Okunan standartlardan elde edilen standart eğri formülünde değerler yerine konularak numunemizdeki madde miktarları hesaplanmıştır.

### 3.2.6. Eritrosit CAT, GR ve GST enzim aktivitelerinin ölçümü

Deney sonunda hayvanlar desikatör ile öldürüldükten sonra heparinli enjektör yardımıyla kalp ventrikülünden alınan kan, tüplere konularak hematokrit 35 olacak şekilde üç defa serum fizyolojik ile yıkandı. Hazırlanan eritrosit paketleri analizlerde kullanılmak üzere -70 °C’de saklandılar. Enzim aktivitesi ölçüm deneyleri için dondurulmuş olan eritrosit paketleri çıkarılarak, çalışmada pipetaj hatasını minimize etmek için, üzerlerine 10 katı olacak şekilde distile su eklendi. Böylece stok eritrosit süspansiyonu hazırlanmış ve oldu. Çalışma solüsyonu hazırlamak üzere bu stoktan 50 µl alınarak üzerine 950 µl soğuk distile su ilave edilerek hemolizasyon ve aynı zamanda dilüsyon işlemi tamamlandı. Bu çalışma solüsyonu 4°C/6000 rpm/5 dakika santrifüj edilerek süpernatant alınmış ve enzim ölçümlerinde kullanılmıştır.

#### 3.2.6.1. Eritrosit katalaz (CAT) enzim aktivitesinin ölçülmesi

Daha önce hazırlanmış olan eritrosit süpernatantı taze hazırlanan çalışma reaktifi ile birlikte 1/1 oranında spektrofotometre küvetine konularak 230 nm’de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>’nin tüketilme esasına dayanan metoda göre katalaz enzim aktivitesi ölçülmüştür. Katalaz, reaksiyon 3.1’de görüldüğü gibi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>’in suya ve moleküler oksijene ayrılmasını katalizler.



Çizelge 3.7. CAT enzimi aktivitesini ölçmek için çalışma reaktifi hazırlanması

Eklenen madde	İçerikteki miktarı
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (40 mM)	34 µl
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (50 mM)	0,17 g
n(H <sub>2</sub> O) ile son hacim tamamlandı	25 ml
pH	7



Eritrosit hemolizat supernatantı hazırlandıktan sonra çalışma reaktifi taze olarak çizelge 3.7’de gösterildiği gibi hazırlandı. Spektrofotometre, dalgaboyu 230 nm’ye ayarlanarak distile su ile sıfırlandı. Sonra küvete 500 µl çalışma reaktifi konularak üzerine 500 µl süpernatant eklendi ve hemen küvet alt üst edilerek karışmaları sağlanarak zaman kaybedilmeden okuma yuvasına konuldu. Her 15 saniyede bir azalan absorbans kaydedilerek iki dakika sonunda okuma bitirildi. Absorbans değerleri kaydedilerek aktivite, EU/ml eritrosit cinsinden hesaplandı.

### 3.2.6.2. Eritrosit glutatyon redüktaz (GR) enzim aktivitesi ölçümü

Çalışma solüsyonları ve numune hazırlandıktan sonra spektrofotometrede 340 nm dalga boyu ile ölçümlere başlandı.

#### -50 ml PBS hazırlama:

<u>Eklenecek madde</u>	<u>Miktar</u>
EDTA .....	29.2 mg
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	1,3609 g
Distile su .....	50 ml

Uygun bir tüpte karışmaları sağlanarak pH 7’ye ayarlandı.

#### - 5 ml NADPH hazırlama:

NADPH (2 mM).....	0,0083 g
Tris HCl (10 mM) .....	5 ml

Kapaklı bir tüpte karışmaları sağlandıktan sonra çalışma alanına bırakıldı.

#### -50 ml GSSG hazırlama:

GSSG (20mM) .....	0,0613 g
Deiyonize su .....	50 ml

Çalışma solüsyonları ve ölçüm yapılacak numune ile birlikte spektrofotometrenin başına geçildi.

**-Ölçümün yapılması:**

Çizelge 3.8. Eritrosit GR ölçüm küvetine eklenen maddeler

PBS çalışma solüsyonu	600 µl
NADPH çalışma solusyonu	60 µl
GSSG çalışma solusyonu	60 µl
Nunume	480 µl

Çizelge 3.8'deki miktarlar aynı sıralamaya göre seri bir şekilde spektrometre küvetine konularak hafifçe alt üst edildi ve 340 nm dalga boyuna bırakılarak 30 saniye aralıklarla 3 dakika boyunca absorbans değerleri kaydedildi. Buradan çıkarılan grafikte absorbansın lineer olan kısmı alınarak dakika başına tüketilen NADPH miktarından GR aktivitesi (EU) hesaplandı.

**3.2.6.3. Eritrosit glutatyon S transferaz (GST) enzim aktivitesi ölçümü**

340 nm dalgaboyunda spektrofotometrede 15 saniye aralıklarla 3 dakika boyunca değişen absorbansların kaydedilmesi ve hesaplanmasıyla bulundu.

**-Ölçümün yapılması:**

Çizelge 3.9. GST ölçüm küvetine eklenen maddeler

Eklenen madde	Miktarı
PBS (0,1 M)	1080 µl
CDNB (30 mM)	40 µl
GSH (30 mM)	40 µl
Numune	40 µl

Çizelge 3.9'deki maddeler aynı miktar ve sıralamaya göre zaman geçirmeden ölçüm küvetine konuldular. Numune eklendikten sonra hızlı bir şekilde altüst edilerek dalga boyu 340 nm'ye ayarlanmış spektrofotometreye bırakıldı. 3 dakika boyunca kaydedilen değerler ile oluşturulan grafiğin lineer olan kısmı kullanılarak GST enzim aktivitesi (EU) hesaplandı.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

### 4.1. Araştırma Bulguları

Kontrol grubu, diabet oluşturulmuş grup ve diabet oluşturularak gūnaşırı sabah saatlerinde 33 gün boyunca çeşitli bitki ekstraktları uygulanan grupların lens ve kan dokusunda bulunan indirgenmiş glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA) miktarları spektroflore metre (Jasco, FP 6300) yardımıyla ölçölüp kaydedildi. Ayrıca eritrosit katalaz (CAT), glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon S transferaz (GST) aktiviteleri spektrofotometre (Shimadzu, UV-1700) yardımıyla ve plazmada lipit parametreleri, karaciğer fonksiyon testleri, böbrek fonksiyon testleri ise otoanalizör (Roche, Cobas Integra 400 plus) yardımıyla ölçölüdü.

Dokulardaki GSH miktarı, GSH ve o-phthaldialdehyde'in oluşturulduğu renkli kompleksin eksitasyon 345 nm ve emisyon 425 nm dalga boyunda spektroflore metrede okunması ile ölçölüdü. MDA miktarı ise, MDA ve thiobarbitirik asit arasında oluşan pembe rengin spektroflore metre ile eksitasyon 520 nm, emisyon 555 nm dalga boyunda okunması ile ölçölüdü. CAT enzim aktivitesi, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin 37°C'de 230 nm'de tüketilme esasına göre, GR enzim aktivitesi 340 nm'de dakika başına harcanan NADPH miktarının hesaplanmasından ve GST enzim aktivitesi ise ortama eklenen GSH ve CDNB arasındaki reaksiyonu katalizlemesi sonucu oluşan absorbans değişiminin 340 nm'de spektrofotometrede ölçölmesi esasına dayandı. Biyokimyasal parametreler ise hazır kitler yardımıyla otoanalizörde otomatik olarak ölçölüdü.

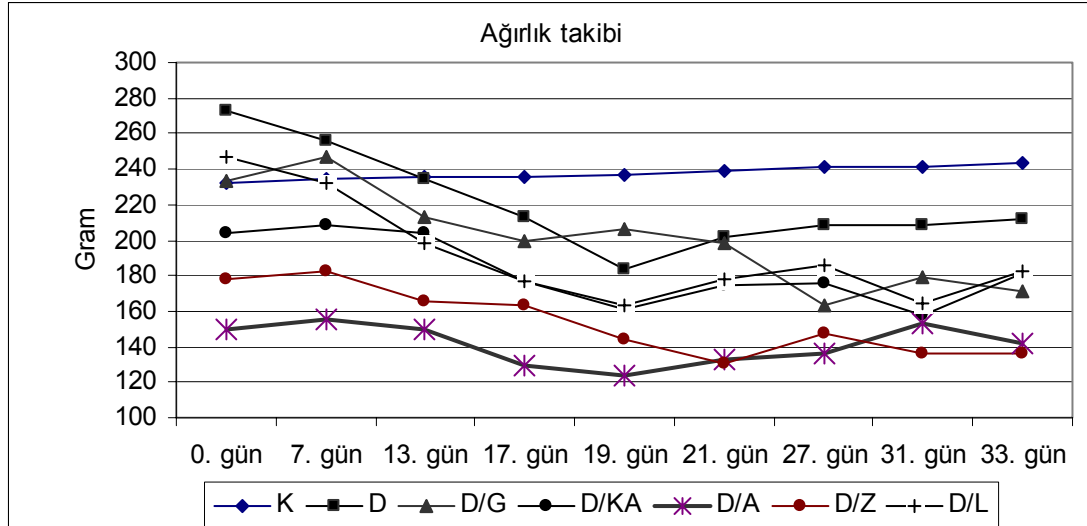
Çalışma süresi boyunca gruplarda gözlemlenebilen değişiklikler (hareketlilik, yemlere ilgi, su tüketimi vb.), haftada bir sabah saat 09:00'da açlık kan şekerleri ve ağırlıklar alınarak tablolar halinde kaydedildi.

Diabet oluşturulmuş grupların hepsinde aşırı bir su tüketiminin ve aynı oranda poliüri'nin olduğu görüldü. Bitki ekstraktı verilen gruplarda daha az olmak üzere tüm gruplarda kontrol grubuna göre bir uyuşukluk ve uyku halinin yanında yemlere olan ilginin azaldığı görüldü.

#### 4.1.1. Ağırlık değişim takibi

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

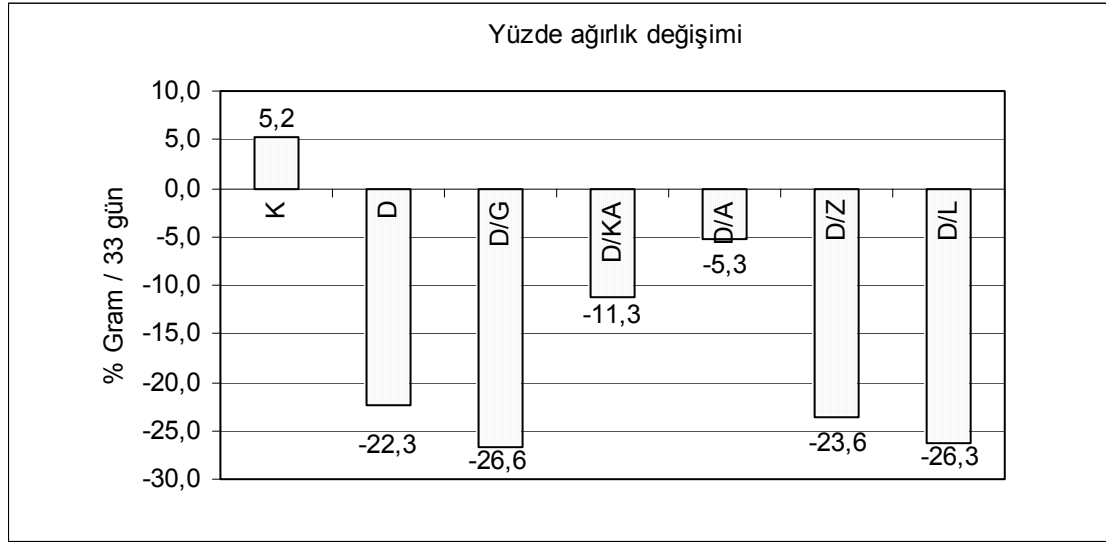
	0. gün	7. gün	13. gün	17. gün	19. gün	21. gün	27. gün	31. gün	33. gün
K	232	234	236	236	237	239	241	241	244
D	273	256	234	213	184	202	209	209	212
D/G	233	247	213	200	206	198	163	179	171
D/K A	204	208	204	177	161	175	176	158	181
D/A	150	155	150	129	124	133	136	153	142
D/Z	178	183	166	163	144	130	147	136	136
D/L	247	232	198	177	163	178	186	164	182



Şekil 4.1. Deneş süresi boyunca gruplardaki ağırlık değişimi

Çizelge 4.2. Deney sonuna kadar kaybedilen net ağırlık ve yüzdesi

Gruplar	İlk ağırlık (g)	Son ağırlık (g)	Fark (g)	% gram değişimi
K	232	244	12	5,2
D	273	212	-61	-22,3
D/G	233	171	-62	-26,6
D/KA	204	181	-23	-11,3
D/A	150	142	-8	-5,3
D/Z	178	136	-42	-23,6
D/L	247	182	-65	-26,3



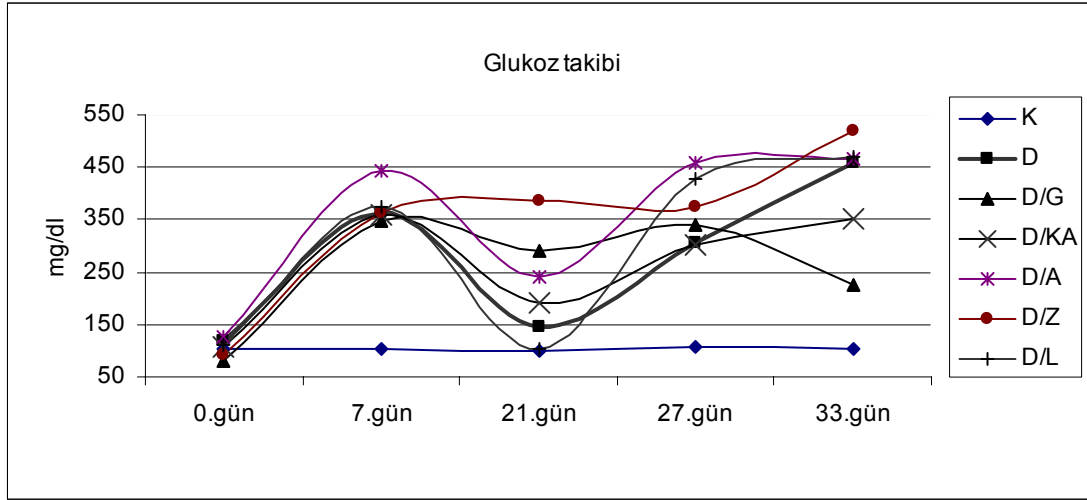
Şekil 4.2. Deney sonuna kadar kaybedilen ağırlık yüzdesi

Hayvanlara Streptozotosin uygulanan günden başlamak üzere haftada bir defa grupların ağırlıkları ölçüldü (Çizelge 4.1). Çalışmanın ikinci haftasından sonra ağırlıkların hızlı bir değişim gösterdiği görülünce gün aşırı ölçülmeye başlandı. Çalışmanın ilk haftasında çok fazla ağırlık kaybı olmaz iken, ikinci hafta ile üçüncü haftaki ağırlık kaybının negatif bir pik yaptığı görüldü (Şekil 4.1). Üçüncü haftadan sonra bir toparlanma gözlenen hayvanlarda deneyin sonuna doğru kontrol grubu hariç diğer gruplarda genel bir ağırlık azalması gözlemlendi (Çizelge 4.2). Bu ağırlık kayıpları gruptaki her sıçan için % cinsinden hesaplandığında (Şekil 4.2), kontrol grubunda %5.2 oranında bir artış gözlenirken, D/G grubunda %26.6 oranında, D/L grubunda %26.3 oranında, D/Z grubunda %23.6 oranında, D grubunda %22.3 oranında, D/KA grubunda %11.3 oranında ve D/A grubunda %5.3 oranında ağırlık kaybı gözlemlendi.

## 4.1.2. Glukoz değişim takibi

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

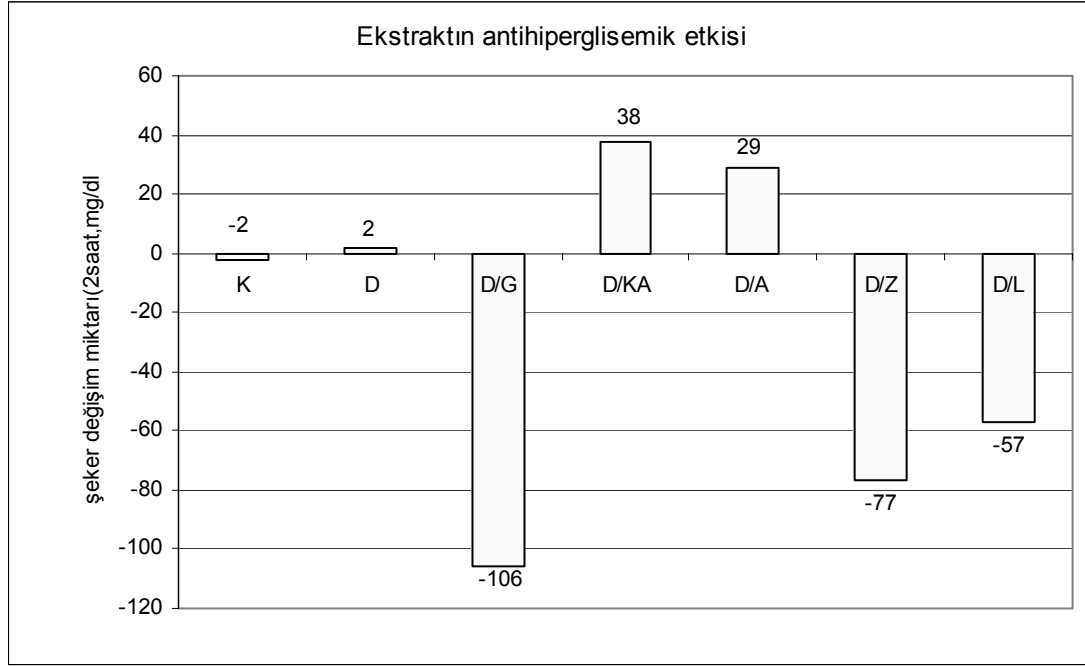
Gruplar	0.gün	7.gün	21.gün	27.gün	33.gün
K	104±3	102±10	99±5	106±5	102±6
D	117±11	363±71	147±64	306±140	460±63
D/G	82±6	347±32	292±91	341±49	227±116
D/KA	107±26	359±86	190±115	301±137	352±123
D/A	128±7	442±70	239±127	459±40	467±97
D/Z	91±10	362±24	385±61	374±92	519±37
D/L	110±16	374±46	102±62	427±31	470±32



Şekil 4.3. Deney süresi boyunca grupların şeker takibi

Çizelge 4.4. Aç karna uygulanan ekstraktın akut hipoglisemik etkisi

Gruplar	A.K.Ş (mg/dl)	Ekstrakt	1.saat (mg/dl)	2. saat mg/dl)	Fark (mg/dl)
K	105	-	103	103	-2
D	413	Distile su	418	415	2
D/G	222	20 mg	172	116	-106
D/KA	352	21mg	380	390	38
D/A	467	26 mg	505	496	29
D/Z	519	22 mg	498	442	-77
D/L	477	20 mg	456	420	-57



Şekil 4.4. Aç bırakılan sıçanlarda ekstraktların akut hipoglisemik etkisi

İntraperitoneal olarak streptozotosin uygulandıktan beş gün sonra kan şekeri  $\geq 250$  mg/dl olan hayvanlar diabetes kabul edilip çalışmaya alındılar. Ayrıca yarı kantitatif idrar stripleri (Roche) ile idrardaki şeker miktarları da  $\geq 250$  mg/dl olarak ölçüldü. Ekstraktlar gūnaşını verildikten sonra birer hafta ara ile bir gece açlıktan sonra sıçanların kuyruk venlerinden alınan bir damla kan ile açlık kan şekerleri ölçülerek kaydedildi (Çizelge 4.3). Grafığe döküldüğünde STZ uygulandıktan sonra ilk yedi gün içerisinde hızlı bir yükseliş gösteren değerlerin, 7. ve 21. günler arasında düşme gösterdiği, 21. günden sonra ise tekrar yükseldiği ve verilen ekstraktlara bağılı olarak değişik seviyelerde seyrettiği görüldü (Şekil 4.3). 33 günlük çalışma sonunda K grubunun şeker seviyesinde anlamlı bir değişiklik olmaz iken, D/Z grubundaki ortalama şeker seviyesinin 519 mg/dl, D/L grubundakinin 470 mg/dl, D/A grubunun 467 mg/dl, D grubunun 460 mg/dl, D/KA grubunun 352 mg/dl ve D/G grubunun 227 mg/dl olduğu görüldü.

Uygulanan bitki ekstraktlarının etkinliğini ölçmekte kullanılan diğeri bir yol ise bir gece açlıktan sonra sabah uygulanan bitki ekstraktlarının akut antihiperglisemik etkisinin ölçülmesidir. Çalışmamıza katkı sunacağını düşünerek bu deneyi de çalışmamızın 25. gününde yaptık. Sabah aç karna tüm hayvanların kan şekerleri

ölçülüp açlık kan şekeri olarak kaydedildikten sonra, kontrol grubu ve diabet grubuna musluk suyu, deney gruplarına ise bitki ekstraktlarını uygulayıp bir saat sonra tüm sıçanların kan şekerlerine tekrar bakılarak birinci saat kan şeker değerleri kaydedildi. Bir saat beklemeden sonra tekrar tüm hayvanların kan şekerleri ölçülerek, bulunan değerler ikinci saat kan şeker değerleri olarak kaydedildi (Çizelge 4.4). Bu değerlerden bir grafik oluşturulup bitki ekstraktlarının antihiperglisemik etkisi incelendi. Açlık kan şekerleri ve ekstrakt uygulandıktan iki saat sonraki kan şekerleri arasındaki farka bakıldığında (Şekil 4.4), K ve D gruplarında bir değişimin olmadığı buna karşılık D/KA grubunda 38 mg/dl, D/A grubunda 29 mg/dl'lik şeker artışının olduğu ve D/G grubunda 106 mg/dl, D/Z grubunda 77 mg/dl, D/L grubunda 57 mg/dl'lik bir azalmanın olduğu görüldü.

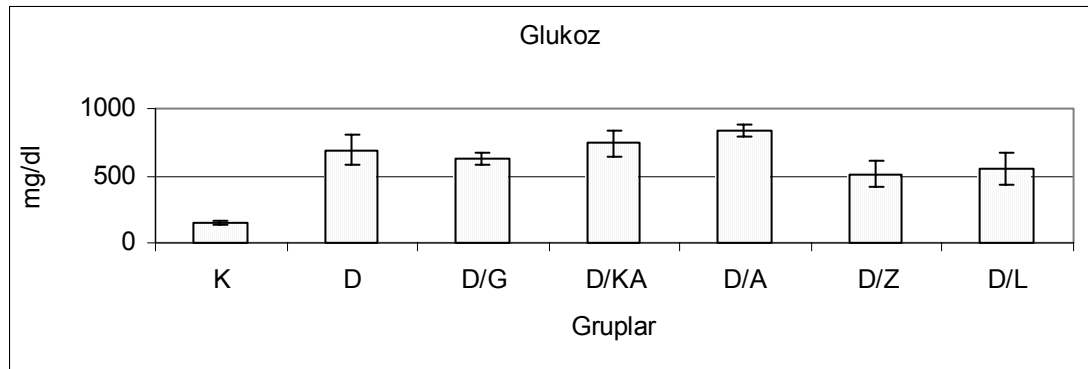
#### 4.1.3.Lipid profilinin incelenmesi

Çizelge 4.5. Grupların glukoz düzeyi ve lipid profili (mg/dl)

Gruplar	K	D	D/G	D/KA	D/A	D/Z	D/L
Glukoz	154±15	691±110 <sup>a</sup>	626±44 <sup>a</sup>	740±97 <sup>a</sup>	840±45 <sup>a</sup>	514±92 <sup>a,b</sup>	552±118 <sup>a,b</sup>
Kolesterol	48±8	77±15 <sup>a</sup>	71±15 <sup>a</sup>	63±7 <sup>a</sup>	63±8 <sup>a</sup>	100±20 <sup>a</sup>	48±14 <sup>b</sup>
Trigliserid	67±15	170±59 <sup>a</sup>	179±84 <sup>a</sup>	180±56 <sup>a</sup>	183±94 <sup>a</sup>	310±142 <sup>a,b</sup>	131±31 <sup>a</sup>
HDL-C	50±7	34±6 <sup>a</sup>	56±12 <sup>b</sup>	47±5 <sup>b</sup>	37±8 <sup>a</sup>	39±7 <sup>a</sup>	34±12 <sup>a</sup>
VLDL-C	15±6	32±14 <sup>a</sup>	45±20 <sup>a</sup>	36±11 <sup>a</sup>	43±13 <sup>a</sup>	63±27 <sup>a,b</sup>	25±8

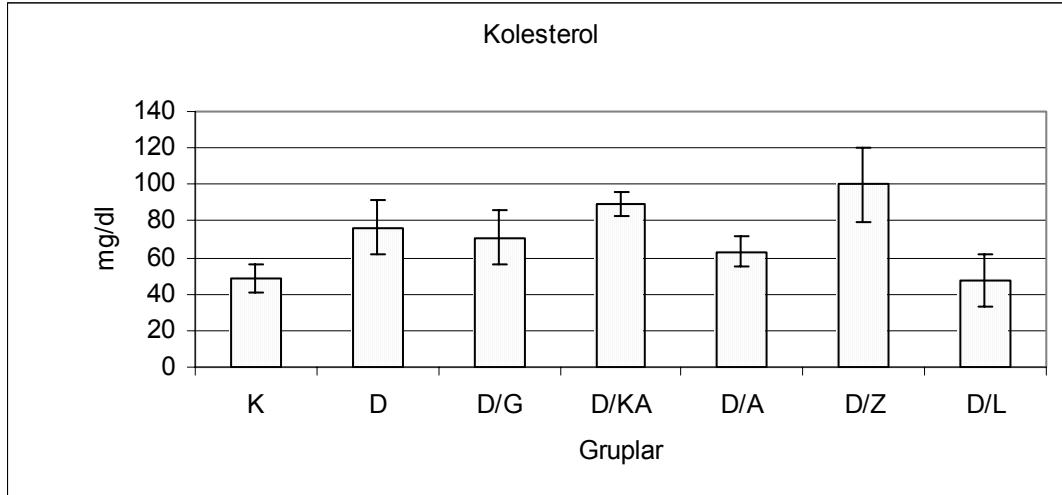
a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında  $p < 0.05$

b: Diabet grubu ile karşılaştırıldığında  $p < 0.05$

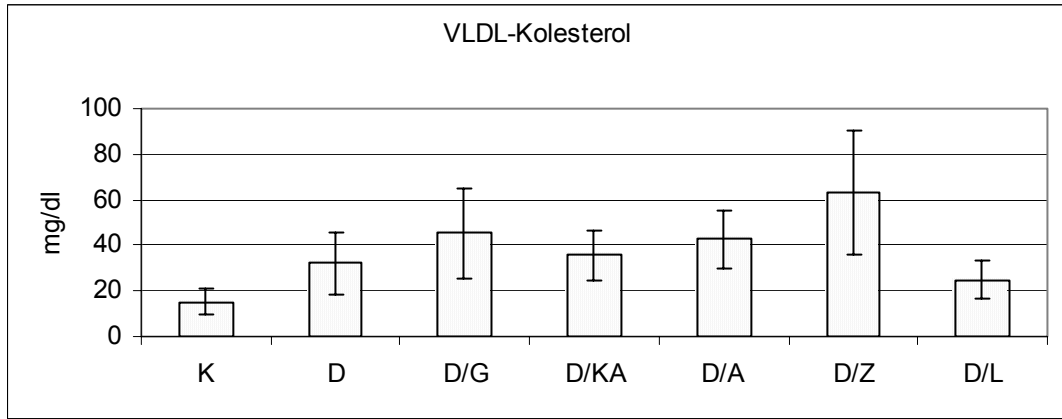


Şekil 4.5. Grupların glukoz düzeyi

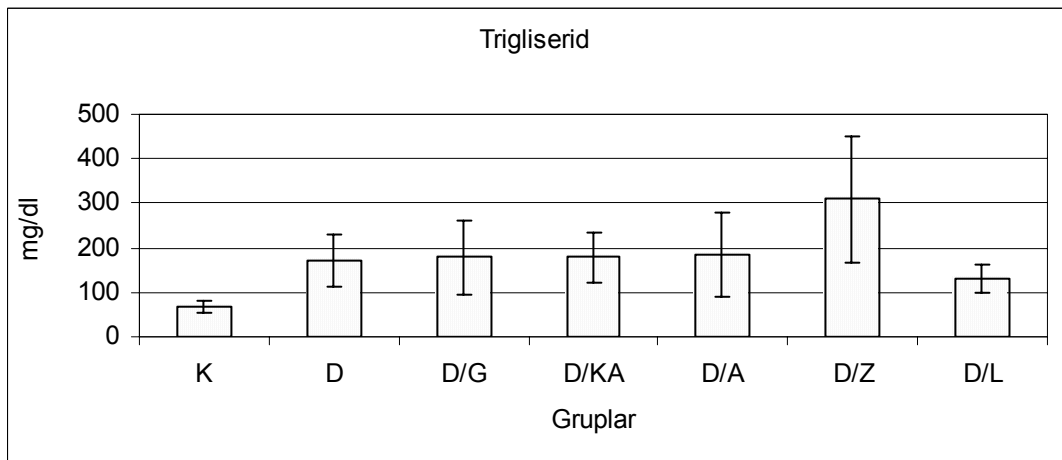




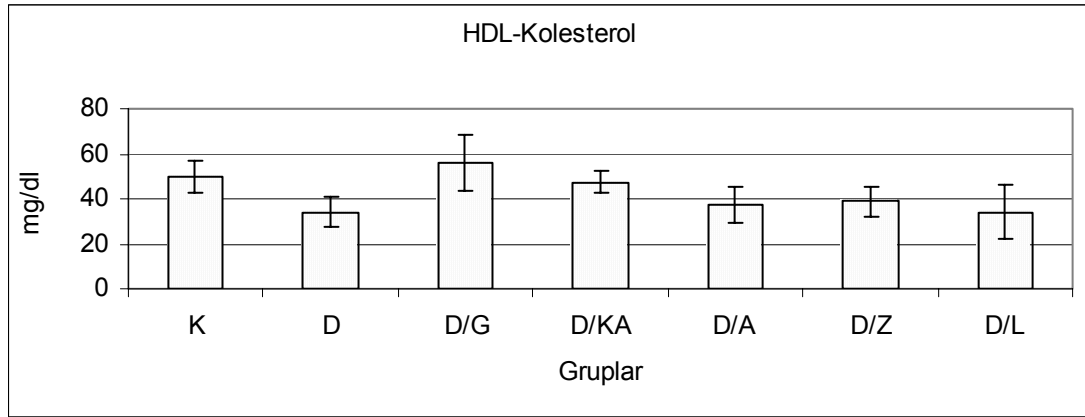
Şekil 4.6. Grupların kolesterol düzeyi



Şekil 4.7. Grupların VLDL-Kolesterol düzeyi



Şekil 4.8. Grupların trigliserid düzeyi



Şekil 4.9. Grupların HDL-Kolesterol düzeyi

Hayvanlar desikatörde öldürüldükten sonra alınan kan plazmasında bakılan lipid parametrelerinde diabetin ve uygulanan bitkilerin etkileri incelendi (Çizelge 4.5). Kontrol grubu dışındaki tüm gruplarda plazmada yüksek düzeyde bulunması zararlı kabul edilen glukozun ve lipid parametrelerinden kolesterol, trigliserid, VLDL-Kolesterolün farklı oranlarda yükseldiği görüldü.

Kontrol grubunda 48 mg/dl çıkan kolesterol D ve bitki gruplarında anlamlı derecede ( $p < 0.05$ ) yüksek çıktı. D/L grubunda ise 48 mg/dl çıkarak diabet grubundan anlamlı derecede düşük çıktı (Şekil 4.6). K grubunda 67 mg/dl olarak ölçülen trigliserid diğer tüm gruplarda K grubuna göre anlamlı derecede yüksek ölçüldü (Şekil 4.8). K grubunda 50 mg/dl ve D grubunda 34 mg/dl çıkan HDL-C'ün anlamlı derecede düştüğü görülmesine karşılık, D/G grubunda 56 mg/dl ve D/KA grubunda 47 mg/dl çıkarak D grubuna göre anlamlı bir yükselme gösterdiği görüldü (Şekil 4.9). K grubuna göre tüm gruplarda anlamlı derecede ( $p < 0.05$ ) yüksek çıkan VLDL-C'ün verilen bitki ekstraktlarından etkilenmediği görüldü (Şekil 4.7). İstatistiksel olarak anlamlı olmamasına karşılık D/L grubunda VLDL değerinin K grubuna yaklaştığı görüldü.

Karaciğerden yağ asiti sentezi yoluyla VLDL'nin kana verilmesi ve sonrasında adipoz dokuya iletilmesi, adipoz dokudan yağ asitleri kanda albümine bağlı olarak kan yolu ile karaciğere iletilmesi esasına dayanır. Diabetik canlı organizmanın enerji kaynağı olan glukozu tam olarak kullanamadığından dolayı, yağ metabolizmasından enerji elde etme stratejisinin bir sonucu olarak TG ve VLDL-C seviyelerinde değişim görülmüştür.

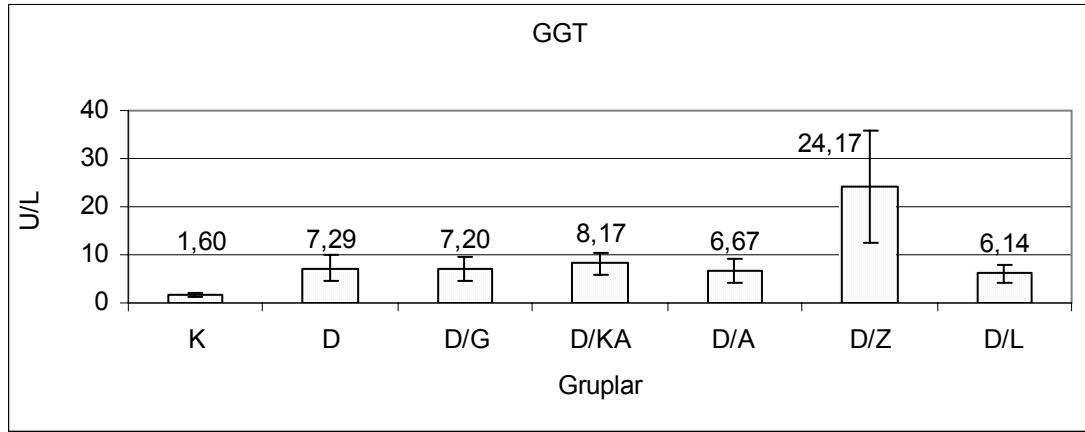
## 4.1.4. Karaciğer fonksiyon testlerinin incelenmesi

Çizelge 4.6. Karaciğer fonksiyon testleri (U/L)

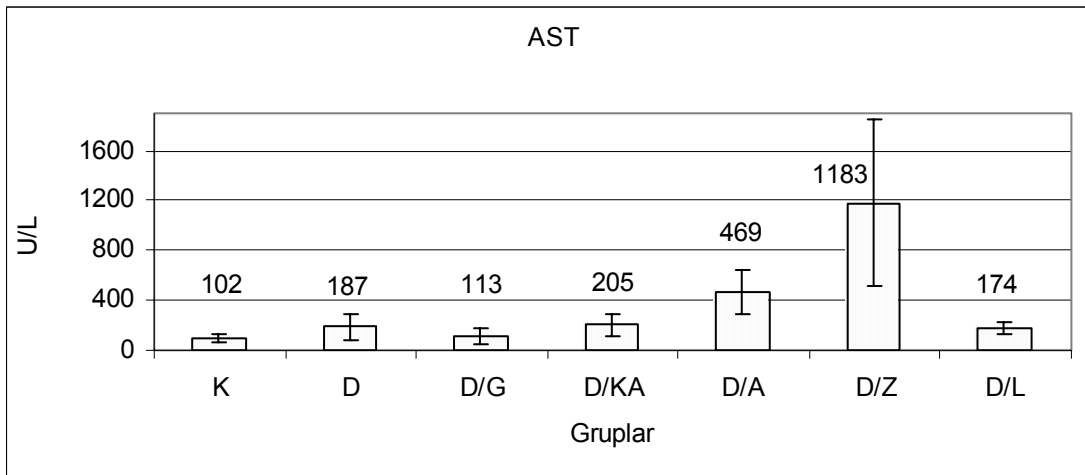
Gruplar	K	D	D/G	D/KA	D/A	D/Z	D/L
GGT	1.6±0.5	7.29±2.7 <sup>a</sup>	7.2±2.5 <sup>a</sup>	8.17±2.1 <sup>a</sup>	6.67±2.5 <sup>a</sup>	24.17±11 <sup>a,b</sup>	6.14±2 <sup>a</sup>
AST	102±30	187±110 <sup>a</sup>	113±57	205±85 <sup>a</sup>	469±178 <sup>a,b</sup>	1183±668 <sup>a,b</sup>	174±48 <sup>a</sup>
ALT	53±10	132±51 <sup>a</sup>	119±17 <sup>a</sup>	147±48 <sup>a</sup>	289±120 <sup>a,b</sup>	386±207 <sup>a,b</sup>	66±13 <sup>b</sup>

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında  $p < 0.05$

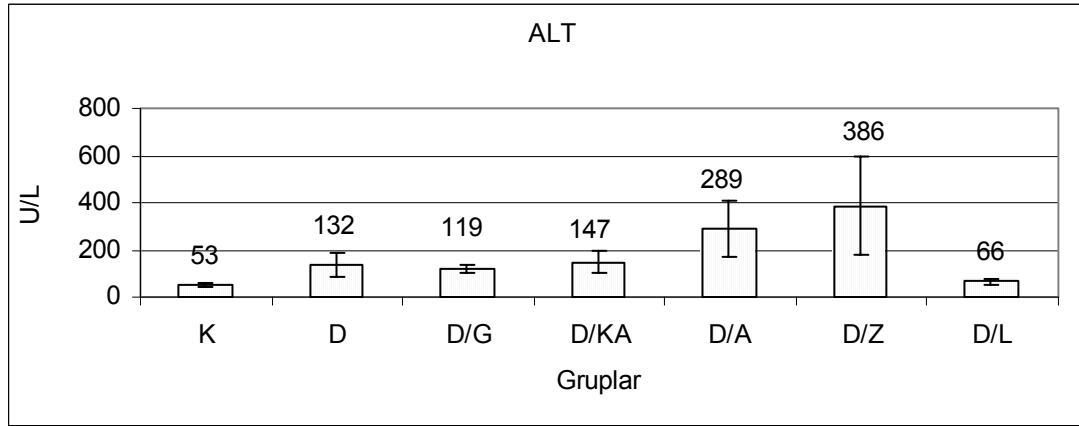
b: Diabet grubu ile karşılaştırıldığında  $p < 0.05$



Şekil 4.10. Grupların plazma GGT seviyeleri



Şekil 4.11. Grupların plazma AST düzeyleri



Şekil 4.12. Grupların plazma ALT seviyeleri

Daha çok karaciğer kaynaklı tahribatlarda değişim gösteren GGT, AST ve ALT seviyeleri otoanalizörde hazır kit yardımıyla ölçüldü (Çizelge 4.6).  $\gamma$ -glutamil transferaz (GGT) miktarının K grubuna göre diğer tüm gruplarda anlamlı derecede yükseldiği görüldü (Şekil 4.10). Aspartat aminotransferaz (AST) enzim miktarına bakıldığında, G grubu hariç diğer tüm grupların K grubuna göre anlamlı bir yükseliş gösterdiği görüldü (Şekil 4.11). G grubunun ise istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir oranda azalarak K grubuna yaklaştığı görüldü. Alanin aminotransferaz (ALT) enzim miktarına bakıldığında, K grubunda 53 U/L çıkarken, D/G grubu hariç diğer tüm gruplarda K grubuna göre anlamlı bir yükselme ( $p < 0.05$ ) görüldü. D/G grubu ise D grubuna göre azalma göstererek K grubuna istatistiksel olarak anlamlı derecede bir yaklaşma gösterdi (66 U/L) gösterdi (Şekil 4.12).

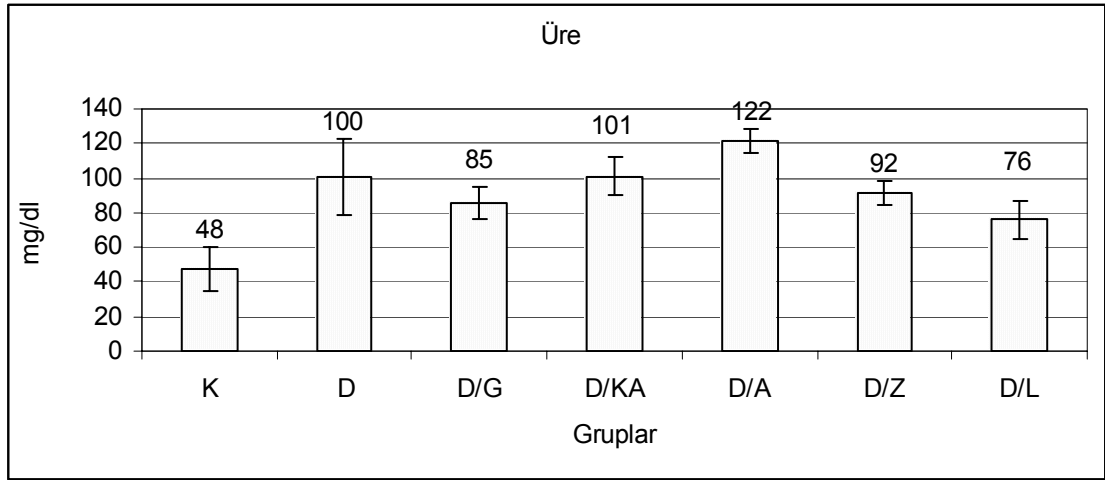
#### 4.1.5. Böbrek fonksiyon testlerinin incelenmesi

Çizelge 4.7. Grupların böbrek fonksiyon testleri (mg/dl)

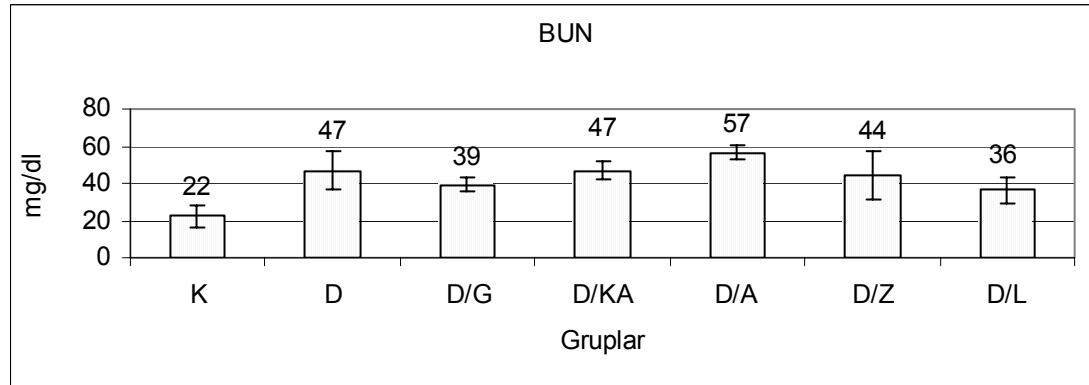
Grup	K	D	D/G	D/KA	D/A	D/Z	D/L
Üre	48±13	100±22 <sup>a</sup>	85±9 <sup>a</sup>	101±11 <sup>a</sup>	122±7 <sup>a</sup>	92±7 <sup>a</sup>	76±11 <sup>a,b</sup>
BUN	22±6	47±10 <sup>a</sup>	39±4 <sup>a</sup>	47±5 <sup>a</sup>	57±4 <sup>a</sup>	47±13 <sup>a</sup>	36±7 <sup>a,b</sup>
Krea	0.51±0.09	0.4±0.08 <sup>a</sup>	0.43±0.04 <sup>a</sup>	0.43±0.02 <sup>a</sup>	0.48±0.01	0.42±0.08 <sup>a</sup>	0.34±0.08 <sup>a</sup>

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında  $p < 0.05$

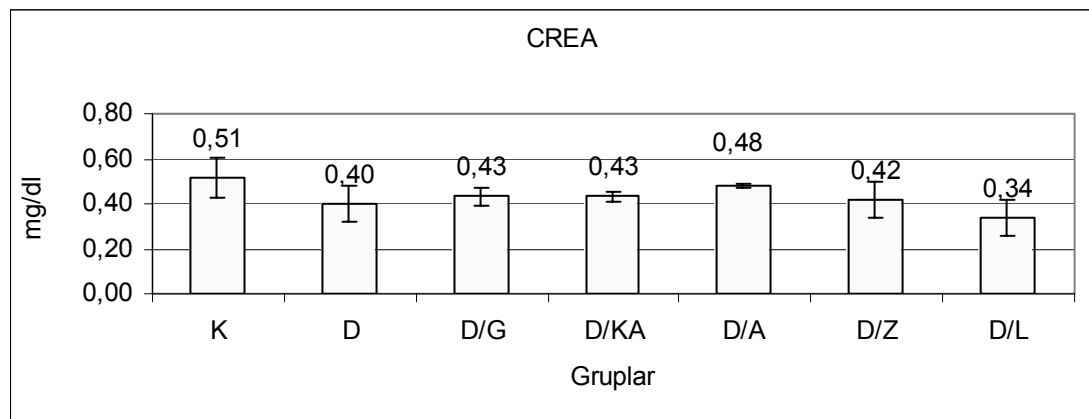
b: Diabet grubu ile karşılaştırıldığında  $p < 0.05$



Şekil 4.13. Grupların plazma üre miktarları



Şekil 4.14. Grupların plazma BUN miktarları



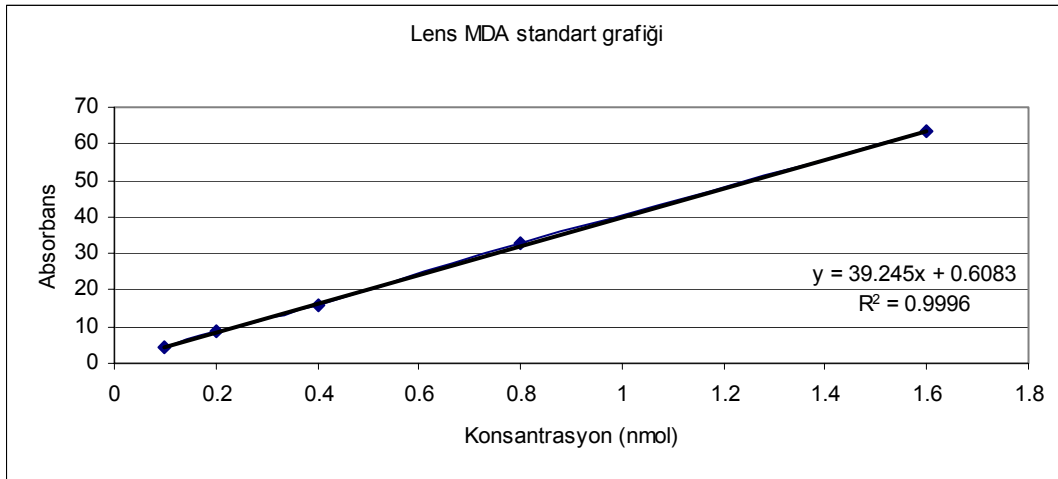
Şekil 4.15. Grupların plazma CREA miktarları

Daha çok böbrek fonksiyonu hakkında bilgi veren üre, kreatinin ve kan üre azotu (BUN) parametrelerinin diabetteki değişimini gözlemleyebilmek için ilgili

parametrelere bakılarak (Çizelge 4.7) grafikler oluşturuldu. Üre (Şekil 4.13) ve kan üre azotu (BUN)'un diabet grubu dahil tüm gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yükseldiği ( $p<0.05$ ), verilen bitki ekstraktlarından ise üre ve BUN (Şekil 4.14) için D/L grubunda kontrol grubuna yaklaşan anlamlı ( $p<0.05$ ) bir düşüşün olduğu görüldü. Grupların kreatinin değerlerine bakıldığında, D/A grubu hariç diğer tüm gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı ( $p<0.05$ ) bir düşüşün olduğu tespit edilirken, verilen bitki ekstraktlarının bu değer üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim göstermedikleri görüldü (Şekil 4.15). Üre ve BUN'daki artışın diabette gelişen dehidratasyon ile ilişkisi muhtemeldir. Azalan kreatinin miktarı ise; diabetle birlikte başlayan hareketsizlik, enerji metabolizmasında yavaşlama, enerjiye ihtiyaç duymama ve sonuçta, normal metabolizma sırasında tüketilen kreatin fostattan sonra oluşan kreatininin artık oluşmaması veya az oluşması şeklinde yorumlanabilir.

Üre ve BUN'un, protein yıkım metabolizması sonucu oluşan  $\text{NH}_4$ 'ün karaciğerde üreye dönüştürülmesiyle artışı gerçekleşir. Bu çalışmamızda plazma üre düzeyi kontrole göre yüksek çıkmıştır. Bu da protein yıkım metabolizmasındaki artışın bir göstergesidir. Kreatin fosfat (metabolizmanın hazır enerji deposu), non enzimatik olarak kreatinin oluşumunun öncü maddesidir. Çalışmamızda kreatinin seviyesinde tespit edilen düşüş, canlının hazır enerji deposu olan kreatin fosfat (aynı zamanda metabolizmanın hazır enerji deposudur)'ı tükettiğinin veya çok fazla kullandığının bir belirtisidir.

#### 4.1.6. Lens MDA ölçüm sonuçları



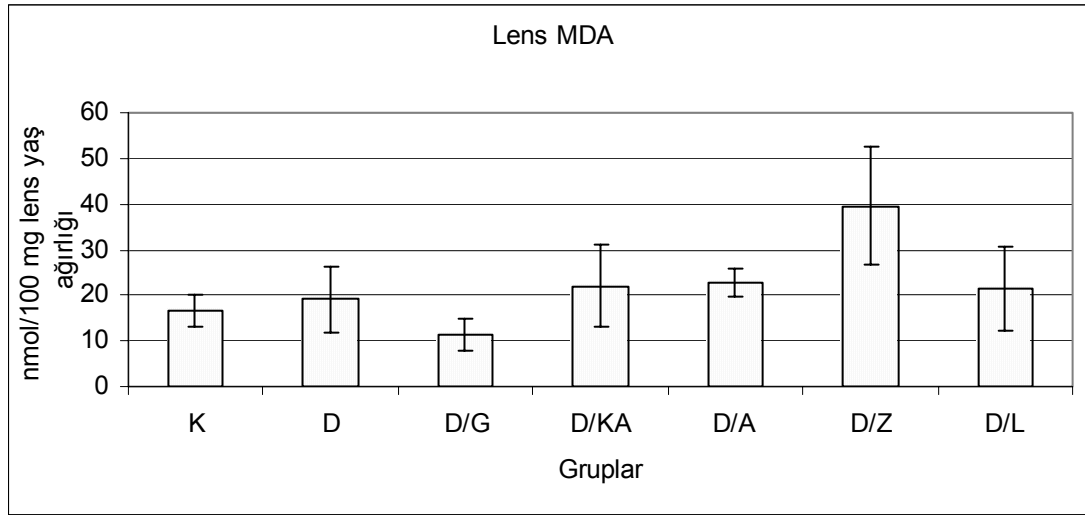
Şekil 4.16. MDA standart serisinden elde edilen değerler ve kalibrasyon eğrisi

Çizelge 4.8. Grupların lens MDA değerleri

Gruplar	Grupların ortalama lens MDA konsantrasyonu (nmol/ 100 mg lens yaş ağırlığı)
Kontrol (K)	16.75 ± 3.49
Diabet (D)	19.1 ± 7.3
Diabet/ <i>Ginkgo biloba L.</i> (D/G)	11.5 ± 3.5 <sup>a,b</sup>
Diabet/ <i>Tagetes patula L.</i> (D/KA)	22 ± 8.9
Diabet/ <i>Gentiana olivieri L.</i> (D/A)	22.8 ± 3 <sup>a</sup>
Diabet/ <i>Olea europaea L.</i> (D/Z)	39.55 ± 13 <sup>a</sup>
Diabet/ <i>Arisholochia maurorum L.</i> (D/L)	21.5 ± 9

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında p<0.05

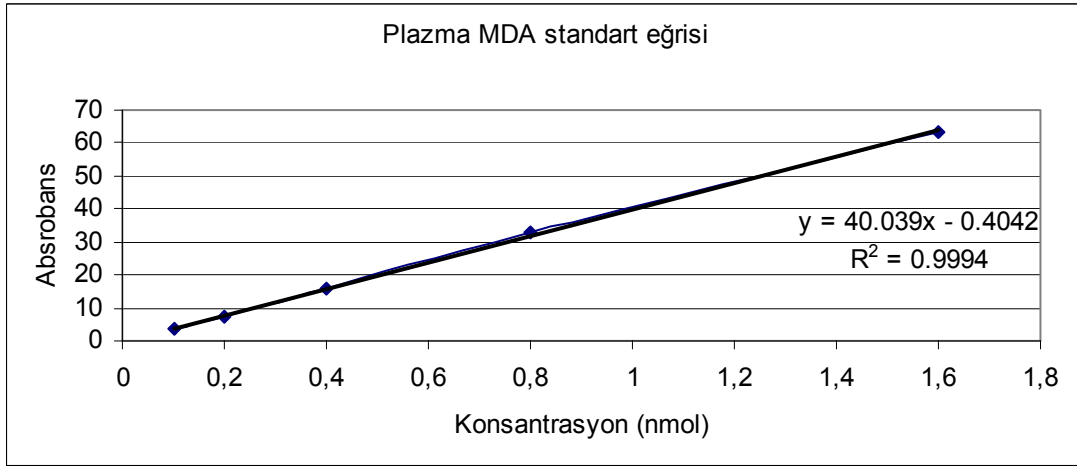
b: Diabet grubu ile karşılaştırıldığında p<0.05



Şekil 4.17. Grupların lens MDA miktarları

Tüm grupların lens MDA değerleri ölçüldükten sonra (Çizelge 4.8) istatistiksel olarak anlamlılık derecelerine bakıldı. Kontrol grubunda 16 nmol/100 mg lens yaş ağırlığı'na karşılık diabet grubunda istatistiksel olarak anlamsız olmasına karşılık hafif bir yükselmenin olduğu görüldü. *Ginkgo biloba* ekstraktı verilen grubun hem kontrol ve hem de diabet grubuna göre anlamlı bir düşüş gösterdiği görüldü (Şekil 4.17). Bunun dışındaki gruplarda kontrol grubuna göre yükselmiş olan MDA değerini anlamlı derecede düşüren bitki grubu görülemedi.

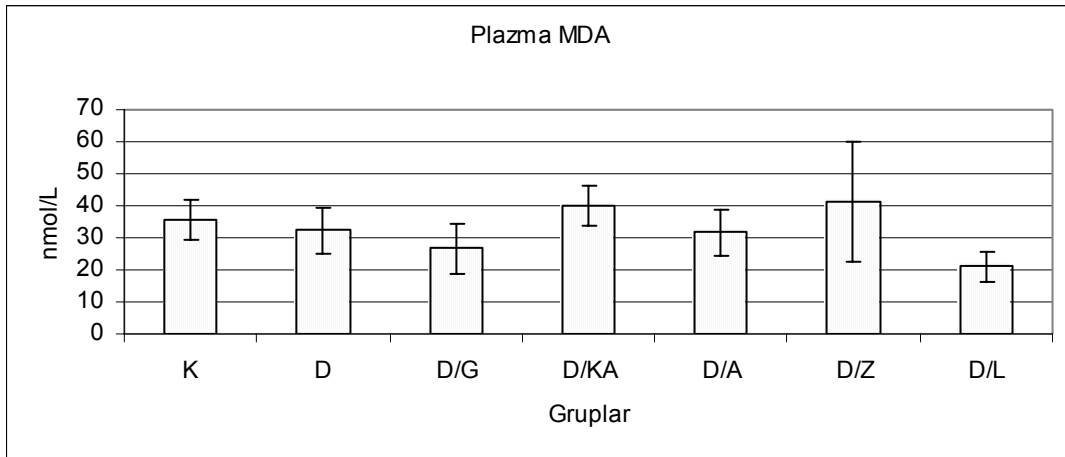
## 4.1.7. Plazma MDA ölçüm sonuçları



Şekil 4.18. MDA standart grafiği ve kalibrasyon eğrisi

Çizelge 4.9. Grupların ortalama plazma MDA değerleri

Gruplar	Konsantrasyon (nmol MDA)
Kontrol (K)	35.5 ± 6.3
Diabet (D)	32.2 ± 7.10
Diabet/ <i>Ginkgo biloba L.</i> (D/G)	26.70 ± 7.9
Diabet/ <i>Tagetes patula L.</i> (D/KA)	39.80 ± 6.2 <sup>b</sup>
Diabet/ <i>Gentiana olivieri L.</i> (D/A)	31.80 ± 7.2
Diabet/ <i>Olea europaea L.</i> (D/Z)	41 ± 18.8
Diabet/ <i>Arisholochia maurorum L.</i> (D/L)	21 ± 4.6 <sup>a,b</sup>

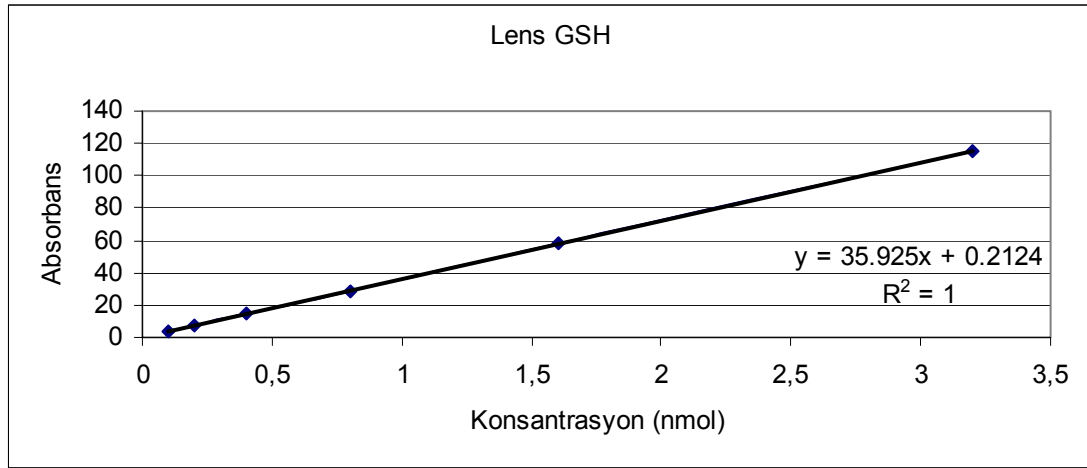
a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında  $p < 0.05$ b: Diabet grubu ile karşılaştırıldığında  $p < 0.05$ 

Şekil 4.19. Grupların plazma MDA miktarları



MDA ölçümü plazmada çok anlamlı sonuçlar vermedi (Çizelge 4.9). Hafif artış veya azalışlara bakıldığında, K grubundaki 35.5 nmol'a karşılık D/L grubunda çıkan 21 nmol MDA, anlamlı bir azalmanın tek göstergesi oldu. Bunun dışında diabet grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma etkisi gösteren D/G ve D/L bitki grupları oldu. Bunların dışındaki bitki gruplarının anlamlı sayılabilecek bir etkilerinin olmadığı görüldü (Şekil 4.19).

#### 4.1.8. Lens GSH ölçüm sonuçları



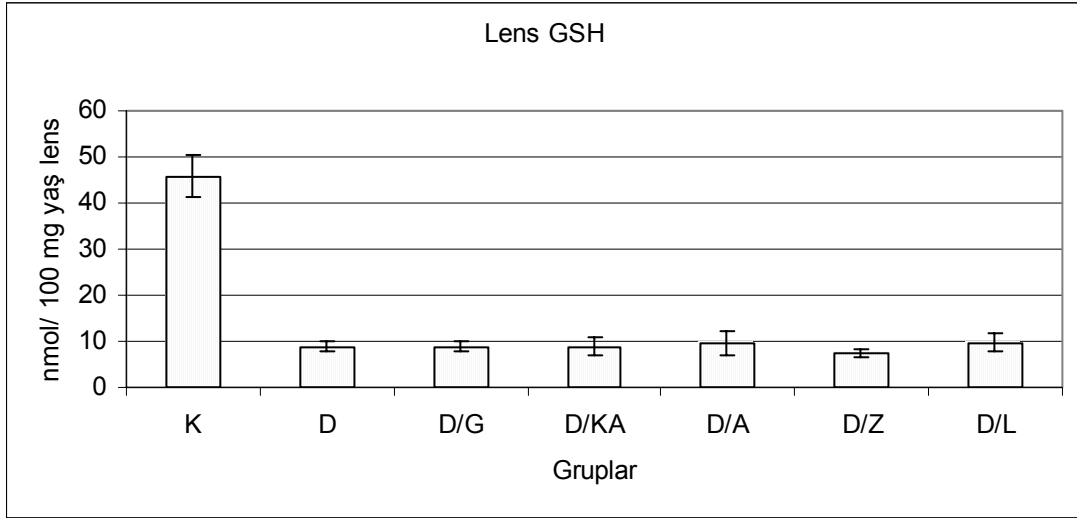
Şekil 4.20. GSH standart eğrisi ve formülü

Çizelge 4.10. Grupların ortalama lens GSH değerleri

Gruplar		nmol GSH/100 mg lens yaş ağırlığı ± SD
Kontrol	(K)	45.85 ± 4.57
Diabet	(D)	6.3 ± 1.77 <sup>a</sup>
Diabet/ <i>Ginkgo biloba L.</i>	(D/G)	8.78 ± 1.08 <sup>a,b</sup>
Diabet/ <i>Tagetes patula L.</i>	(D/KA)	8.9 ± 2.14 <sup>a</sup>
Diabet/ <i>Gentiana olivieri L.</i>	(D/A)	9.7 ± 2.69 <sup>a,b</sup>
Diabet/ <i>Olea europaea L.</i>	(D/Z)	7.28 ± 0.97 <sup>a</sup>
Diabet/ <i>Arisholochia maurorum L.</i>	(D/L)	9.75 ± 1.86 <sup>a,b</sup>

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında  $p < 0.05$

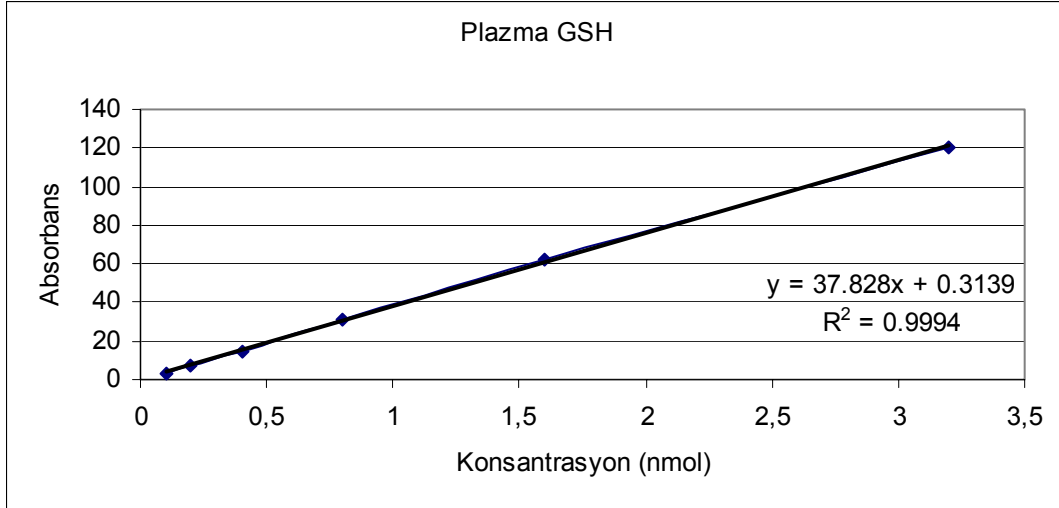
b: Diabet grubu ile karşılaştırıldığında  $p < 0.05$



Şekil 4.21. Grupların lens dokusu GSH miktarları

Grupların lens GSH düzeylerine bakıldığında tüm gruplarda istatistiksel olarak K grubuna göre anlamlı, düşük GSH miktarı ölçüldü (Çizelge 4.10). Bunun yanında D/G, D/KA ve D/L gruplarının diabetik kontrol (D) grubuna göre yükselmiş ( $p < 0.05$ ) GSH seviyesine sahip oldukları görüldü (Şekil 4.21).

#### 4.1.9. Plazma GSH analiz sonuçları



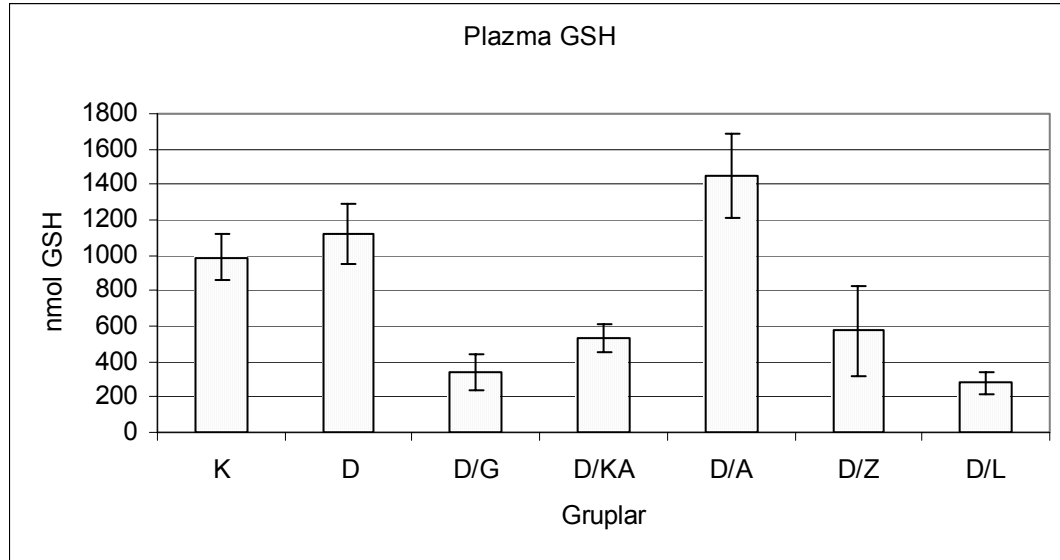
Şekil 4.22. GSH standart eğrisi ve formülü

Çizelge 4.11. Grupların ortalama plazma GSH miktarları

Gruplar		nmol GSH $\pm$ SD
Kontrol	(K)	946 $\pm$ 56
Diabet	(D)	1122 $\pm$ 173 <sup>a</sup>
Diabet/ <i>Ginkgo biloba L.</i>	(D/G)	338 $\pm$ 104 <sup>a,b</sup>
Diabet/ <i>Tagetes patula L.</i>	(D/KA)	531 $\pm$ 83 <sup>a,b</sup>
Diabet/ <i>Gentiana olivieri L.</i>	(D/A)	1450 $\pm$ 238 <sup>a</sup>
Diabet/ <i>Olea europaea L.</i>	(D/Z)	575 $\pm$ 257 <sup>a,b</sup>
Diabet/ <i>Arisholochia maurorum L.</i>	(D/L)	280 $\pm$ 61 <sup>a,b</sup>

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında  $p < 0.05$

b: Diabet grubu ile karşılaştırıldığında  $p < 0.05$



Şekil 4.23. Grupların plazma GSH miktarları

Tüm grupların ortalama değerleri tablo haline getirildi (Çizelge 4.11). K grubuna göre; D grubunda anlamlı bir artış, D/G grubunda anlamlı bir azalış, D/KA grubunda anlamlı bir azalış, D/A grubunda anlamlı bir artış, D/Z grubunda anlamlı bir azalış ve D/L grubunda anlamlı bir azalış tespit edildi. D grubu ile karşılaştırıldığında ise, D/G, D/KA, D/Z ve D/L gruplarında anlamlı bir azalış gözlemlendi (Şekil 4.23).

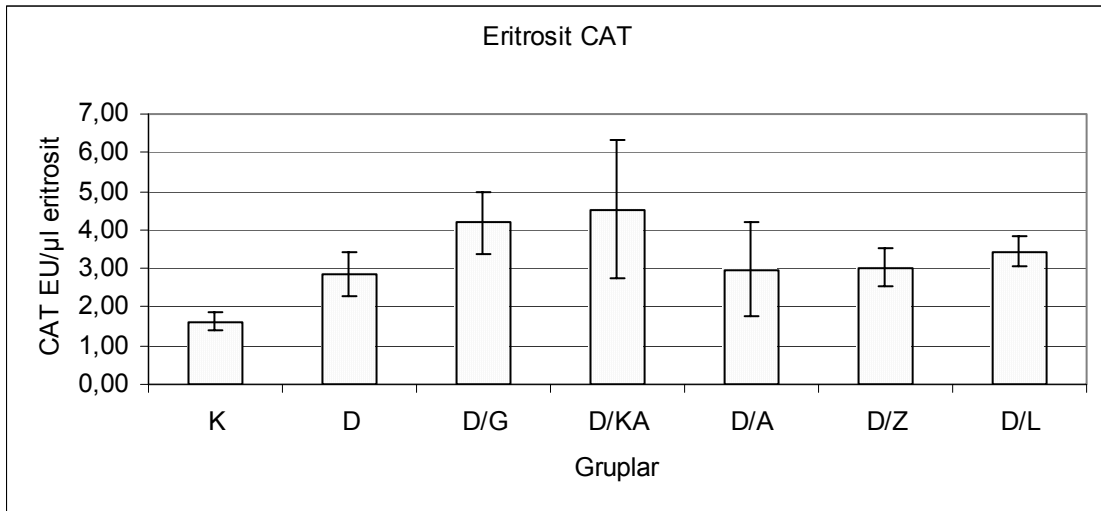
## 4.1.10. Eritrosit katalaz (CAT) enzim aktivitesi ölçümü

Çizelge 4.12. Grupların ortalama eritrosit CAT enzim aktivitesi

Gruplar	Konsantrasyon (EU/ $\mu$ l Eritrosit)
Kontrol (K)	1.62 $\pm$ 0.23
Diabet (D)	2.85 $\pm$ 0.56 <sup>a</sup>
Diabet/ <i>Ginkgo biloba</i> L. (D/G)	4.18 $\pm$ 0.8 <sup>a,b</sup>
Diabet/ <i>Tagetes patula</i> L. (D/KA)	4.53 $\pm$ 1.80 <sup>a,b</sup>
Diabet/ <i>Gentiana olivieri</i> L. (D/A)	2.97 $\pm$ 1.21 <sup>a</sup>
Diabet/ <i>Olea europaea</i> L. (D/Z)	3.03 $\pm$ 0.50 <sup>a</sup>
Diabet/ <i>Arisholochia maurorum</i> L. (D/L)	3.44 $\pm$ 0.39 <sup>a</sup>

a : Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında  $p < 0.05$

b : Diabet grubu ile karşılaştırıldığında  $p < 0.05$



Şekil.4 24. Grupların eritrosit katalaz enzim aktivitesi

Sonuçlar grafiğe döküldüğünde (Şekil 4.24) tüm grupların K grubundan yüksek çıktıkları görüldü. Mann-Whitney testi ile istatistiksel analiz yapıldığında kontrol grubunda 1.62  $\pm$  0.23 EU/ $\mu$ l eritrosit olarak çıkan sonuca karşılık D, D/G, D/KA, D/Z, D/L gruplarındaki değerler anlamlı derecede ( $p < 0.05$ ) yüksek bulunmasına karşılık D/A grubunda bu değer anlamlı çıkmamıştır (Çizelge 4.12). Bitki ekstraktları uygulanan grupları diabet grubu ile karşılaştırdığımızda D/G ve D/KA gruplarının CAT enzimi aktivitesinin daha yüksek çıktığı ve bu sonucun istatistiksel olarak ( $p < 0.05$ ) anlamlı olduğu gözlemlendi.

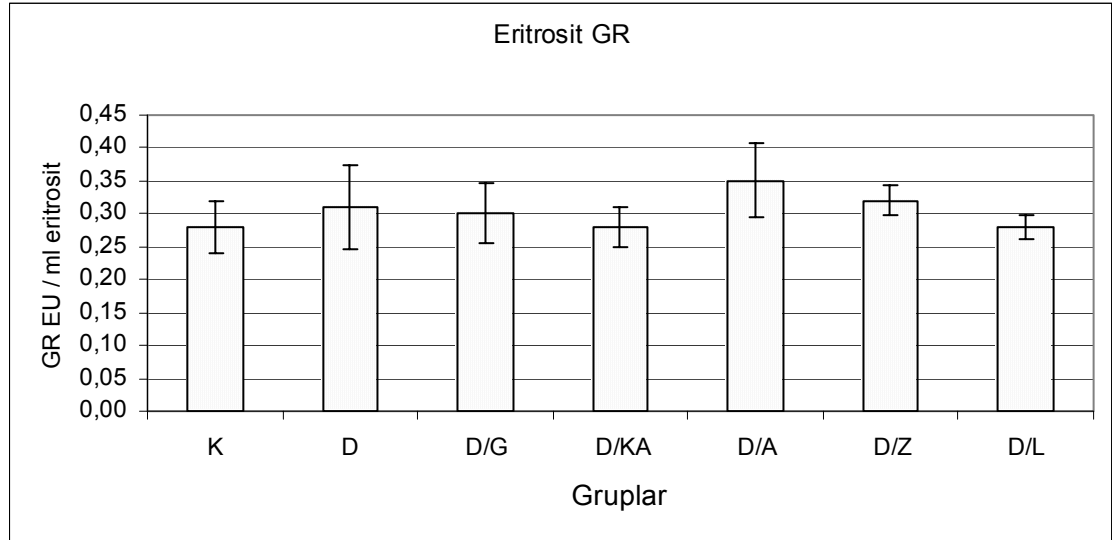
## 4.1.11. Eritrosit glutatyon redüktaz (GR) enzim aktivitesi ölçümü

Çizelge 4.13. Grupların ortalama eritrosit GR enzim aktivitesi

Gruplar	Konsantrasyon (EU/ml eritrosit)
Kontrol (K)	0.28 ± 0.04
Diabet (D)	0.31 ± 0.06
Diabet/ <i>Ginkgo biloba L.</i> (D/G)	0.30 ± 0.03
Diabet/ <i>Tagetes patula L.</i> (D/KA)	0.28 ± 0.02
Diabet/ <i>Gentiana olivieri L.</i> (D/A)	0.35 ± 0.02 <sup>a</sup>
Diabet/ <i>Olea europaea L.</i> (D/Z)	0.32 ± 0.06
Diabet/ <i>Arisholochia maurorum L.</i> (D/L)	0.28 ± 0.05

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında  $p < 0.05$

b: Diabet grubu ile karşılaştırıldığında  $p < 0.05$



Şekil 4.25. Grupların ortalama eritrosit GR enzim aktivitesi

Grupların glutatyon redüktaz (GR) enzim aktivitesi sonuçları grafiğe döküldüğünde sonuçlar arasında hafif farklılıkların olduğu görüldü (Şekil 4.25). Mann-Whitney istatistik analizi ile hesaplandığında K grubuna göre yalnızca D/A grubunda anlamlı ( $p < 0.05$ ) bir artışın olduğu, bitki ekstraktları verilen gruplarda anlamlı bir farkın oluşmadığı görüldü (Çizelge 4.13).

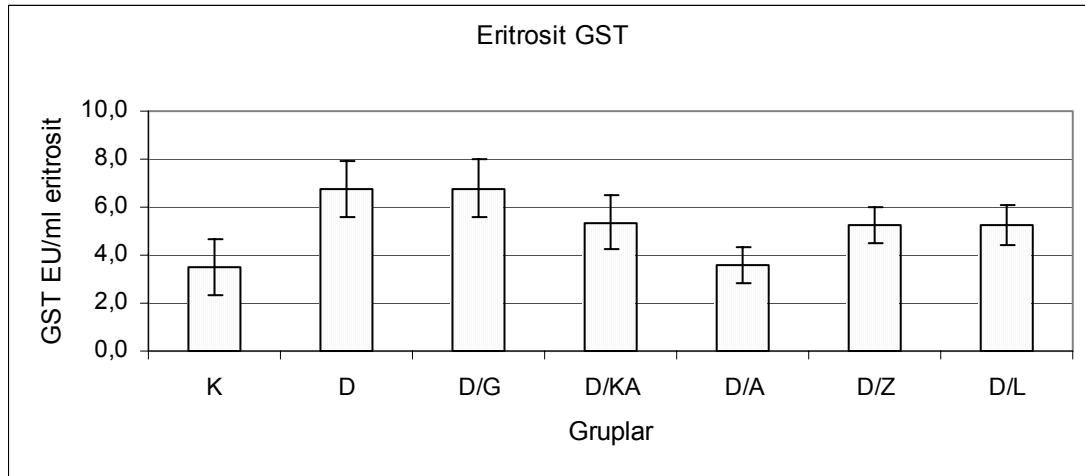
## 4.1.12. Eritrosit glutatyon-S transferaz (GST) enzim aktivitesi ölçümü

Gruplar	Konsantrasyon (EU ml/Eritrosit)
Kontrol (K)	3.5 ± 1.1
Diabet (D)	6.7 ± 1.2 <sup>a</sup>
Diabet/ <i>Ginkgo biloba L.</i> (D/G)	6.8 ± 1.2 <sup>a</sup>
Diabet/ <i>Tagetes patula L.</i> (D/KA)	5.4 ± 1.1
Diabet/ <i>Gentiana olivieri L.</i> (D/A)	3.6 ± 0.8 <sup>b</sup>
Diabet/ <i>Olea europaea L.</i> (D/Z)	5.3 ± 0.7 <sup>a</sup>
Diabet/ <i>Arisholochia maurorum L.</i> (D/L)	5.5 ± 0.8 <sup>a</sup>

Çizelge 4.14. Eritrosit glutatyon S transferaz enzim aktivitesi

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında  $p < 0.05$

b: Diabet grubu ile karşılaştırıldığında  $p < 0.05$



Şekil 4.26. Grupların glutatyon S transferaz enzim aktivitesi

Ölçülen glutatyon S transferaz enzim aktivitesi sonuçları ile bir tablo oluşturularak yorumlandı (Şekil 4.26). Değerler Mann-Whitney istatistik programına göre yorumlandı. K grubu ile karşılaştırıldığında D, D/G, D/Z, D/L gruplarında istatistiksel olarak ( $p < 0.05$ ) anlamlı bir artış gözlemlendi. Ekstrakt verilen gruplardan D/A grubu GR düzeyinin anlamlı derecede düşüş göstererek ( $p < 0.05$ ) K grubuna yaklaştığı görüldü (Çizelge 4.14).

## 4.2. Tartisima

Hiperglisemi ile oksidatif stres arasında yakin bir iliski olduğu görüşü *in vivo* çalışmalar ile de desteklenmiştir. Deneysel hayvan çalışmalarında insanlardakine benzer diabet oluşturmak için kullanılan N-nitroso türevi D-glukozamin yapısındaki streptozotosin, oksidan maddeler meydana getirerek langerhans adacıklarını selektif olarak tahrip etmekte ve uygun olmayan NO cevapları vererek diabeti başlattığı düşünölmektedir (Davidoff ve Rodgers , 1990; Das ve Chainy, 2001; Altan ve ark., 1998).

Diabetik olguların plazma lipoproteinlerinde, eritrosit membran lipidlerinde ve çeşitli dokularda lipid peroksidasyonunun arttığı, yapılan çalışmalar sonucu görölmüştür. Bu artışın daha fazla enzimatik (araşidonik asit yolu) ya da nonenzimatik lipid peroksidasyonundan mı kaynaklandığı bilinmemektedir. Lipid peroksidasyonu, hem yaygın vasköler inflamasyon sonucu aktiveleşen lipooksijenaz yolu ile prostoglandinlerden, hem de serbest radikaller ve geçiş metallerinin etkisi ile endotelial ve fagositik hücrelerin membranlarında bulunan lipidlerden, nonenzimatik yolla oluşmaktadır. Daha sonra her iki yola ait ürünlerin, karşılıklı olarak birbirlerini aktive ederek, lipid peroksidasyonunu arttırdıkları bildirilmiştir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, plazma lipid peroksidatörlerindeki artışın, diabetten çok, vasköler hastalığın kendisi ve hipertrigliseridemi ile iliskili olduğunu göstermektedir.

Yine araştırmacıların bulguları, vasköler komplikasyonları olan diabetik hastalarda, hem LDL'nin oksidasyonunda hem de nonenzimatik glikasyonunda, hiperglisemiye bağlı artışlar olduğunu göstermektedir. Diabetik olgularda, lipidlere ilave olarak protein oksidasyonu da artmaktadır. Özellikle kollajen, elastin ve myelin kılıfındaki ekstrasellöler proteinlerin oksidasyonu sonucu; lens, damar, bazal membran gibi dokularda katarakt, mikroanjyopati, ateroskleroz ve nefropati gibi diyabetik komplikasyonlar gelişmektedir (Dillmann, 1989; Diekman ve ark., 1998).

Diabetik hastaların uzun süreli yüksek kan glukoz konsantrasyonlarına maruz kalmaları oksidatif stresi artırır. Nonenzimatik glikozilasyonun glukozun oto-oksidasyonu ile iliskili olduğu ve yine glikozillenmiş proteinlerin serbest radikal oluşumunda çok önemli rol oynayabileceği görölmüştür. Diabette antioksidan

savunma sistemlerinin değiştiği gözlenmiştir. Diabette oluşabilen oksidatif stres yeni terapötik yaklaşımlara yol açabilir. Antioksidanlar, büyük bir olasılıkla diabette bozulan oksidatif stresin, protein glikasyonunun ve glukoz metabolizmasının düzeltilmesinde önemli etkiler oluştururlar (Altan ve ark., 2006).

Çakır (1997), karaciğerde 200 mg/kg dozunda verilen aspirin ve 500 mg/kg dozunda verilen vitamin E'nin etkileriyle serbest radikal oluşumunun engellendiğini bu nedenle radikal süpürücü olarak tanımlanan SOD ve KAT enzimlerinin sentezlerinin uyarılmaması sonucu bu enzim aktivitelerinin kontrol grubuna göre düşük olduğunu belirtmiş ve bu konuda yeni çalışmaların gerektiğini bildirmiştir.

Başaraner (1999), STZ ile diabet oluşturulmuş sıçanlarda deri, böbrek, lens, kalp ve karaciğer proteinlerinin nonenzimatik glikozilasyon ve böbrek, lens, kalp ve karaciğer dokularının LPO değerinin arttığını bildirmiştir.

Huysal (1999), tip II diabetlilerde eritrosit GSSG-R, GSH-Px, SOD, KAT aktiviteleri, hemoglobin glikozilasyonu ve LPO'nu incelemiştir. Bu çalışma sonucunda da DM da serbest radikal üretiminin arttığı ve antioksidan savunma mekanizmasının bozulduğunu bildirmiştir.

Jang ve ark. (2000), STZ ile diabet oluşturulmuş sıçanlarda MDA ve GSH-Px seviyelerinin karaciğer, böbrek ve mitokondrilerinde arttığını bildirmişlerdir. Zhang ve ark. (2000), diabetik sıçanların böbreklerinde MDA seviyelerinin arttığı bildirmişlerdir.

Avcı (2001), diabet oluşturulmuş sıçanların böbreklerinde SOD ve KAT aktivitelerinin düşük, MDA ve GSH-Px aktivitesinin ise yüksek olduğunu belirtmiştir.

Hundal ve ark. (2002), tip II diabetik hastalarda yüksek doz (7g/gün) aspirin tedavisi sonucunda açlık plazma glukozunun yaklaşık olarak %25, total kolesterol ve bir inflamasyon markırını olan C reaktif proteinin %15 ve trigliseridin ise %50 kadar düştüğünü belirtmişlerdir. Buna ilaveten aspirin tedavisinin hepatik glukoz yapımını %20 kadar azalttığını bildirmişlerdir.



Du ve ark. (2003), aspirin, aminoguanidin ve vitamin E verilen diabetik sıçanlarda, retinada, diabete (hiperglisemiye) bağı olarak görülen süperoksid üretimindeki artışın inhibe edildiğini, böyle bir uygulama sonucu, süperoksid üretiminin önlenmesi suretiyle diabetik retinopatinin gelişmesinin önlendiğini bildirmişlerdir.

Sacco ve ark. (2003), diabetik hastalarda düşük doz aspirin vererek aspirinin kardivasküler hastalık (KVH) kanıtlarının önlenmesine etkisini araştırmışlardır. Ancak, aspirinin bu etkisinin diğer KVH risk faktörlü kişilere göre diabetik hastalarda daha düşük olduğunu görmüşler ve bu konuda yeni çalışmaların gerektiğini belirtmişlerdir.

Subash Baba ve ark. (2006) Hindistan'dan topladıkları tarçını (*Cinnamomum zeylanicum*) organik çözücülerle muamele ederek cinnamaldehit elde etmişler. Bunu streptozotosin (60 mg/kg bw) ile diabet oluşturdukları Wistar cinsi sıçanlarda kontrol grubu eşliğinde 20 mg/kg bw olacak şekilde 45 gün boyunca oral olarak vermişler. Daha sonra bu hayvanların kanlarını alarak plazma insülini, total hemoglobin, glikozile hemoglobin, kolesterol, alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, laktat dehidrogenaz, alkalın fosfataz, asid fosfataz, total protein konstantrasyonu gibi parametreleri ölçmüşler. Deneyin başlangıcında normal değerlerine göre yüksek oranda sapma gösteren bu değerler, deney sonunda kontrol grubuna anlamlı bir yaklaşma göstermişler. Çalışma oral yolla verilen cinnamaldehitin yüksek kan şekerini, kolesterolü ve trigliseridi düşürerek diabetin primer ve sekonder etkilerini azalttığını göstermiştir.

Abou-Seif ve Youssef (2004), diabet hastalarının plazmalarında SOD, CAT, Cp aktivitelerinin düştüğü,  $\alpha$ -amilaz aktivitesinin yükseldiğini tespit etmişler. Ayrıca plazma MDA, NO ve  $\text{Cu}^{2+}$  miktarlarındaki artışa karşı GSH,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  ve  $\text{Ca}^{2+}$  miktarlarında da anlamlı bir azalmanın olduğunu görmüşler. Serum total kolesterol, trigliserid ve düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol (LDL-C) seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gösterdiğini, buna karşın yüksek dansiteli lipoprotein-kolesterol (HDL-C) seviyesinde ise bir azalmanın olduğunu bildirmişlerdir.

Valle ve ark. (2005), yaptıkları bir çalışmada kronik tip I diabetes mellitus'lu hastaların glukoz, fruktozamin, HbA<sub>1c</sub>, MDA parametrelerinin uyumlu bir korelasyon ve normal bireylere göre anlamlı bir artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada değişik cins, yaş ve ırktan oluşturulan hasta gruplarının total hidroperoksit (TH), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), ileri oksidasyon protein ürünleri (AOPP), peroksidasyon potansiyeli (PP) gibi parametrelerin de kontrol grubuna göre anlamlı derecede artış gösterdiği ve bunun kronik diabette oksidatif strese maruz kalmanın sonucu olduğunu bildirmişlerdir.

Musa ve ark. (2006), diabet oluşturulmuş tavşanlara *Artemisia herba-alba* (85 mg/kg) ekstraktı uygulayarak, diabetik kontrol grubuna göre anlamlı derecede bir hipoglisemi elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Halifeoğlu ve ark. (2005), diabetik hastalarda oluşan oksidatif durumun tedavi ile birlikte nasıl bir seyir izlediğini araştırmak üzere 30 kronik diabetli hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, tedavi öncesi serum açlık kan glukoz, malondialdehit (MDA), likopen, vitamin A, vitamin E, vitamin C, trigliserid (TG), total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol düzeyleri, eritrositte HbA<sub>1c</sub>, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktivitelerini tespit etmişler. Tedavi sonrası dönemde kan glukoz düzeyindeki düşüşe paralel olarak HbA<sub>1c</sub>, MDA ve trigliserid düzeylerinde anlamlı bir azalmayla beraber; CAT, SOD, vitamin A ve vitamin E düzeylerinde anlamlı bir artış gözlemlenmiştir. Buradan hareketle diabetik hastaların hiperglisemiyle beraber gelişen oksidatif stresten daha fazla zarar görmemeleri için en kısa zamanda tedavi olmaları gerektiğini bildirmişlerdir.

Sacco ve ark. (2003), diabetik hastalarda düşük doz aspirin vererek aspirinin kardivasküler hastalık (KVH) kanıtlarının önlenmesine etkisini araştırmışlardır. Ancak, aspirinin bu etkisinin diğer KVH risk faktörlü kişilere göre diabetik hastalarda daha düşük olduğunu görmüşler ve bu konuda yeni çalışmaların gerektiğini belirtmişlerdir.

Changrani ve ark. (2006) diabet oluşturdukları sıçanların çeşitli dokularında elektrolit metabolizmasını incelemişler. Gözyaşı bezlerinde çinko ( $Zn^{2+}$ ) seviyesinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı ve bunun da lenste muhtemel katarakt gelişimine yol açtığını bildirmişlerdir.

Hegde ve ark. (2002), diabetik kataraktın patogenezi tespit edebilmek için diabet oluşturdukları sıçanlardan lens dokusunu izole ederek, glutatyon (GSH), malondialdehid (MDA), glikolize protein (GP) ve adenozin trifosfat (ATP) miktarlarını ölçmüşler. Araştırmacılar, glikozile protein ve malondialdehid miktarlarındaki artışa karşılık, glutatyon ve adenozin trifosfat miktarlarındaki anlamlı azalmayı, lenste katarakt oluşumunda rol oynayan temel faktörlerden ikisinin oksidatif stres ve glikozile protein olduğu şeklinde yorumlamışlardır.

Kardiyo vasküler hastalıklar (KVH)'ın diabette sıkça görülen bir komplikasyon olması nedeniyle diabetiklerde aspirin kullanılarak KVH'nin önlenmesi önem arz etmektedir (Montori ve ark., 2003). Bunların yanı sıra, diabetin inflamasyonla ilişkisinden söz edilmekte ve bu konu yaygın olarak araştırılmaktadır. Bazı araştırmacılar tarafından diabetin gelişmesi ile çeşitli inflamasyon markırları arasında bir ilişkinin bulunduğu belirtilerek, diabetin inflamasyonla ilişkili olduğu öne sürülmektedir (Festa ve ark., 2003; Duncan ve ark., 2003). Diğer taraftan aspirinin antioksidan özellikleri de bildirilmekle (Shi ve ark., 1999) birlikte bu durum tartışmalıdır.

Khanam ve Masud Rana (2002), tümör oluşturdukları farelerde, kilogram başına 50 mg olacak şekilde 45 gün süreyle *Aristolochia indica* ekstraktı vererek bu bitkinin antineoplastik etkisini araştırdıklarını, çalışma sonucunda tümör hücre potansiyelinin %94.12 oranında ( $p<0.001$ ) azaldığı ve ölçülen diğer kan parametrelerinin de bunu desteklediğini bildirmişler.

Cengiz ve Cengiz'in (2000) tip II diabetik hastalarda vitamin C'nin eritrosit HbA1c ve GSH düzeyleri üzerine olan etkisini araştırmak amacıyla günlük 1000 mg C vitamini eşdeğer kalsiyum askorbat vererek, ilk gün, 30. gün ve 60. günlerde

yaptıkları ölçümlerde GSH miktarında anlamlı bir artışla beraber HbA<sub>1c</sub> miktarında da anlamlı bir azalma olduğunu bildirmişler.

Savaşlı (2005), STZ ile diabet oluşturduğu sıçanlarda oluşan oksidatif stresi ve bazı bitki ekstraktlarının antioksidatif etkilerini araştırarak lens GSH ve MDA değerlerini ölçmüştür. Kontrol grubu dışındaki tüm sıçanların lens MDA'sında anlamlı derecede bir artma tespit ettiğini ve buna karşın GSH miktarında ise anlamlı bir azalmanın görüldüğünü bildirmiştir.

Sezik ve ark. (2004) *Gentiana olivieri*'nin hipoglisemik etkisini araştırmak amacıyla bir gece açlıktan sonra normal glukoz seviyeli, 2 g/kg şeker uygulayarak hiperglisemi oluşturdukları ve 55 mg/kg STZ uygulayarak diabet oluşturdukları sıçanlarda oral gastrik gavaj yardımıyla 15 mg/kg olacak şekilde ekstrakt uygulayarak akut hipoglisemik etkisini araştırmak için ½, 1 ve 2. saatlerde glukoz düzeyini ölçmüşlerdir. 2 saat sonunda normal glukoz seviyeli ve OGTT (2g/kg) grubunda sırasıyla %18 ve %22 oranında glukoz inhibisyonu gözlemlenmelerine karşılık, diabet oluşturdukları grupta bu sonucu alamamışlardır.

## 5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Diabetin sayısız makro ve mikro komplikasyonları olduğu ve iç içe geçmiş bir tablo sergilediği kabul görmüştür. İnsülün metabolizmasındaki bozukluk zamanla diğer enzimlerin ve dokuların fonksiyonlarında değişikliğe sebep olur. Vücudun herhangi bir bölgesindeki hücrenin insülin ile olan ilişkisi değişebilmekte, dirençlik, duyarlılık, tanımama gibi reaksiyonlar ortaya çıkabilmektedir. Sonuçta, etkisini organizmanın tüm dokularında hissettiren diabet kapillerleri, beyni, sinir dokusunu, gözü, lensi, karaciğeri, böbreği, akciğerleri, kasları, kalbi etkileyebilmekte, bu organ ve dokularda oksidatif stres ile birlikte değişik komplikasyonlar oluşturabilmektedir.

Çalışmamızda diabetin komplikasyonlarının yanında oksidatif stres ve antioksidan savunma sisteminin diabetle olan bağlantısını araştırdık. Antioksidan savunma sistemini dışarıdan verdiğimiz bazı bitki ekstraktlarıyla güçlendirmeye ve diabetin yan etkileriyle verilen mücadeleyi antioksidanlar lehine çevirmeye çalıştık. Diabet oluşturduğumuz grupların lens ve kan dokusunda redükte glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA), glukoz, kolesterol, trigliserid, HDL-C, VLDL-C, GGT, AST, ALT, CAT, GR, GST, üre, BUN, kreatinin parametrelerine bakarak, kontrol grubu, diabet grubu ve bitki ekstraktlarını verdiğimiz grupları karşılaştırdık.

Deney ortamını her gün kontrol ederek çalışmamızla ilgili klinik gözlemleri yaptık. Kilo kayıplarını, fiziksel aktivite durumlarını, haftada bir şeker ölçümlerini, sıçanların yeme olan ilgilerini, su tüketimlerini, altlarını ıslatma durumlarını kaydederek çalışmamızı oluşturduk.

Aynı ortam ve şartlarda yaşayan kontrol grubunda deney sonuna kadar (33 gün) %5.2 oranında ağırlık artışı olduğu görüldü. Diabet (D) grubunda %22.3 oranında, *Ginkgo biloba* (D/G) ekstraktı verilen grupta %26.6, *Tagetes patula* (D/KA) ekstraktı verilen grupta %11.3, *Gentiana olivieri* (D/A) ekstraktı verilen grupta %5.3, *Olea europaea* (D/Z) ekstraktı verilen grupta %23.6, *Aristolochia*

*maurorum* (D/L) ekstraktı verilen grupta %26.3 oranında ağırlık kaybı olduğu görüldü.

Verdiğimiz bitki ekstraktlarının akut hipoglisemik etkisini incelemek amacıyla çalışmamızın sonuna doğru bir gece aç bırakılan sıçanlara sabah saat 09:00'da açlık kan şekerleri ölçüldükten hemen sonra ekstraktlar uygulandı. Bir saat bekledikten sonra tekrar kan şekerlerine bakıldı. Bu arada gruplara su dışında bir şey verilmedi. Bir saat bekledikten sonra tekrar kan şekerlerine bakıldı. Böylece iki saatlik bir kan şekeri tablosu oluşturuldu. K grubunda bu iki saat boyunca sıçan başına 2 mg/dl şeker azalması görüldü. D grubunda 2 mg/dl şeker artışı oldu. 20 mg/sıçan *Ginkgo biloba* ekstraktı verilen grupta 106 mg/dl, 22.5 mg/sıçan *Olea europaea* yaprağı verilen grupta 77 mg/dl, 20 mg/sıçan *Aristolochia maurorum* kök ekstraktı verilen grupta ise 57 mg/dl oranında istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.05$ ) bir glukoz azalması oldu.

Diabetik vakaların kaçınılmaz sonucu metabolik bozukluktur. Değişen insülin miktarı başta karaciğeri etkileyerek bu olumsuzluğu vücudun her tarafına yayılır. Değişen glukoz oksidasyon yolları ve karaciğerde başlayan yağlanma kan dokusuna geçerek dolaşım sistemini de etkisi altına alır. Böylece damar endotel hücrelerinden başlayarak tüm hücre, organ ve dokularda insülin reseptörü merkezli değişim süreci başlar.

Diabetteki metabolik bozukluk ile ilgili bilgi almak için grupların lipid parametrelerine bakıldı. Kontrol grubuna göre tüm gruplarda anlamlı derecede ( $p<0.05$ ) artan kolesterol miktarı tespit edildi. Yine kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diabet ve bitki gruplarının trigliserid miktarının anlamlı olarak arttığı görüldü. Metabolizmada iyi huylu kolesterol olarak tanımlanan HDL-C düzeyi de diabet grubunda anlamlı bir azalma gösterdi. *Ginkgo biloba* (mabet ağacı) ve *Tagetes patula* (kadife çiçeği) ekstraktları verilen gruplarda HDL-C seviyesinin diabet grubuna göre anlamlı derecede yükseldiği görüldü. Metabolizma için fazlası zarar olan VLDL-C, kontrol grubuna göre diğer tüm gruplarda anlamlı derecede yüksek bulundu.

Diabette oluşan yağlanma sonucunda etkilenen organlarda biri de karaciğerdir. Bu hasarı gözlemleyebilmek için karaciğer fonksiyon testlerine bakıldı. Kontrol grubuna göre diğer tüm gruplarda istatistiksel olarak ( $p<0.05$ ) anlamlı şekilde  $\gamma$ -glutamil transferaz (GGT), alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) enzim miktarlarının arttığı görüldü.

Diabet komplikasyonlarının etkilediği organlardan biri de böbrektir. Bunun için böbrek fonksiyon testlerine bakıldı. Kontrol grubuna göre diğer tüm gruplarda üre ve kan üre azotu (BUN)'nun anlamlı ( $p<0.05$ ) derecede arttığı görüldü. Buna karşılık kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm grupların kreatinin miktarlarının anlamlı derecede azaldığı görüldü.

Lens dokusunda diabet ile oluşan oksidatif stresi incelemek için bu dokudaki malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) seviyelerine bakıldı. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında *Ginkgo biloba* grubu hariç diğer tüm gruplarda artmış MDA seviyesi görüldü. *Ginkgo biloba* ekstraktı verilen grupta ise diabet grubuna göre anlamlı düşüş görüldü. Lens GSH miktarına bakıldığında kontrol grubuna göre anlamlı oranda azalış tespit edildi. *Ginkgo biloba*, *Gentiana olivieri* ve *Aristolochia maurorum* ekstraktları verilen gruplarda diabet grubuna göre anlamlı GSH artışı tespit edildi.

Grupların plazma MDA miktarlarına baktığımızda istatistiksel olarak, *Ginkgo biloba*'da gözlenen kontrol ve diabetten daha düşük çıkan MDA seviyesi dışında anlamlı sonuçlara ulaşamadık. Plazma GSH seviyesi incelendiğinde; kontrol grubuna göre diabet grubunda anlamlı bir artış izlenirken, *Ginkgo biloba* (D/G), *Tagetes patula* (D/KA), *Olea europaea* (D/Z) ve *Aristolochia maurorum* (D/L) gruplarında diabet grubuna göre anlamlı bir düşüşün olduğunu gördük.

Eritrosit katalaz (CAT) enzim aktivitesi sonuçlarına baktığımızda, kontrol grubuna göre tüm grupların istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdikleri ( $p<0.05$ ) görüldü. Eritrosit glutatyon redüktaz (GR) enzim aktivitesine baktığımızda *Gentiana olivieri* grubunun anlamlı derecede bir artış gösterdiği, bununla birlikte hafif artışlar

gösteren diğer grupların istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0.05$ ) kabul edilemeyeceği görüldü. Eritrosit glutatyon S transferaz (GST) enzim aktivitesine baktığımızda tüm gruplarda istatistiksel olarak görülen enzim aktivite artışına karşın *Gentiana olivieri* grubunda ise diabet grubuna göre azalan, kontrol grubuna yaklaşan değerde ölçüldü.

Kimyasal ilaçlara göre kullanımı daha kolay, çeşitli şekillerde (çay, yemek, salata vb.) ve daha yan etkisiz olabilen bitki ekstraktları hastalıklarla mücadelede başvuracağımız birer kaynak olacaktır. Hastalık teşhisinden sonra değil, hastalanmadan önce de 'koruyucu sağlık' kapsamında kullanılabilir olmalarından dolayı, bitki özütleri önümüzdeki yıllarda ilaçlara oranla daha fazla tercih edileceklerdir.

Çalışmamıza konu olan bitkilerdeki etken maddelerin izole edilmesi ve bunların değişik dozlarda deney hayvanlarına uygulanması halinde daha verimli sonuçlar alınacağını gördük. Böylece bitki total ekstraktı içeriğinde toksik etki gösteren maddeler uzaklaştırılarak, hem bir doz ayarlaması ve hem de insanlara uygulanabilirliği sağlanacaktır.

Sonuç olarak diabette; artan glukoz miktarı, oksidatif stres ve bununla birlikte çeşitli metabolik bozuklukların oluştuğu, enzimatik sistemde, dokularda, kan parametrelerinde olumsuz değişimlerin meydana geldiğini gördük. Uyguladığımız bitki ekstraktlarından özellikle *Ginkgo biloba* (mabet ağacı)'nın, *Aristolochia maurorum* (lohusa otu)'un ve *Gentiana olivieri* (afat)'nin olumsuz komplikasyonları azaltarak deney hayvanlarına hastalıkla mücadelede bir destek sağladığını gördük. *Tagetes patula* (kadife çiçeği) ve *Olea europaea* (zeytin) uygulanan hayvanlarda, bazı parametrelerde olumlu sonuçlar alınırken genel olarak bu bitkilerin etkileri ile ilgili çalışmaların devam etmesi gerektiğini gördük.



## KAYNAKLAR

- ABDOLLAHI, M., BAHREINI-MOGHADOM, A., EMMAMI, B., FOOLADIAN, F., and ZAFARIET, K., 2003. Increasing Intracellular cAMP and cGMP Inhibits Cadmium-Induced Oxidative Stress in Rat Submandibular Saliva. *Comp. Biochem. Physiol. C*, 135:331-336.
- ABDOLLAHI, M., RANJBAR, A., SHADNIA, S., NIKFAR, S., and REZAIE, A., 2004. Pesticides and Oxidative Stress: A Review. *Med. Sci. Monit.*, 10:141-147.
- ABOU-SEIF, M. A., YOUSSEF, A. A., 2004. Evaluation of Some Biochemical Changes in Diabetic Patients. *Clinica Chimica Acta* 346:161-170.
- ADA (American Diabetes Association), 2005. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, *Diabetes Care*, 28 (suppl 1), pp.37-43.
- AKKUŞ, İ., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimosza Yayınları No 38, Sağlık Dizisi 5, Konya.
- ALTAN, N., SEPİCİ DİNÇEL, A., ve KOCA, C., 2006. Diabetes Mellitus and Oxidative Stress. *Turkish Journal of Biochemistry*. 31(2):51-56.
- AVCI, A., 2001. Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Böbrek Antioksidan Savunma Sistemi ve E Vitaminin Etkileri. Ankara Üni. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara, 56s.
- AVUNDUK, A., M., YARDIMCI, S., AVUNDUK, M., C., ve KURNAZ, L., 1999. Cataractous Changes in Rat Lens Following Cigarette Smoke Exposure is Prevented by Parenteral Deferoxamine Therapy. *Arch Ophthalmol*, 117:1368-72.
- BASAGA, H. S., 1990. Biochemical Aspects of Free Radicals. *Biochem. Cell Biol.* 68:989-998.
- BATTAL, A., BAYKAL, Y., ERİKÇİ, S., SAĞLAM, K., ÜNAL, T., KOCABALKAN, F., AYDIN, A., ve İŞŞİMER, A., 1995. Serbest Radikal Temizleyici Süperoksit Dismutaz Enziminin ve Serum, Bakır, Çinko, Selenyum Düzeylerinin Diabetes Mellitus'un Kronik Komplikasyonları ile İlişkisi. *GATA Bülteni*, 37:218-222.
- BAYNES, J. W., and THORPE, S. R., 1999. Role of Oxidative Stress in Diabetic Complications: A New Perspective on an Old Paradigm. *Diabetes* 48(1):1-9.
- BROWNLEE, M., 2001. Biochemistry and Molecular Cell Biology of Diabetic Complications. *Nature* 414(6865):813-820.
- BUKAN, N., SANCAK, B., YAVUZ, Ö., KOCA, C., TUTKUN, F., ÖZÇELİKAY, T. A., ve ATLAN, N., 2003. Lipid Peroxidation and Scavenging Enzyme Levels in the Liver of Streptozotocin-Induced Diabetes Rats. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics* 40(6):447-450.
- ÇAKIR, M., 1997. Aspirin ve Vitamin E ( $\alpha$ -Tokoferol)'nin Farelerde (Mus musculus) Karaciğer Total Süperoksit Dismutaz ve Katalaz Aktivitelerine Etkileri. Ondokuz Mayıs Üni. Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Samsun, 50s.
- CAMERON, N. E., and COTTER, M. A., 1997. Metabolic and Vascular Factors in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Diabetes* 46(Supplement 2):31-37.

- ÇAVDAR, C., SİFİL, A., ve ÇAMSARI, T. 1997. Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*; 3-4:92-95.
- CENGİZ, M., ve CENGİZ, S., 2000. Tip 2 Diyabet Hastalarda C Vitamini Uygulamasının Eritrosit, Glutasyon ve HbA<sub>1c</sub> Düzeyleri Üzerine Etkisi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*. 31:211-215.
- CERUTTI, A. P., M.C CORD, J. M., and FRIDOVICH, I., (EDS) 1988. *Oxy-Radicals in Molecular Biology and Pathology*. Alan R. Liss. Inc. New York. pp.183-193.
- CHAMPE, P. C., and HARVEY, R. A., 1997. Glikozaminoglikanlar. A. TOKULLUGİL, M. DİRİCAN, E. ULUKAYA. *Lippincott's Illustrated Reviews Serisinden: Biyokimya. İkinci Baskı, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul*, s.147-156.
- CHAN, A. C., CHOW, C. K., and CHIU, D., 1999. Interaction of Antioxidants and Their Implication in Genetic Anemia. *Proceeding Society of Experimental Biology and Medicine*. 222(3):274-282.
- CHANGRANI, N. R., CHONKAR, A. , ADEGHATE, E., and SINGH, J., 2006. Effects of Streptozotocin-Induced Type I Diabetes Mellitus on Total Protein Concentrations and Cation Contents in the Isolated Pancreas, Parotid, Submandibular and Lacrimal Glands of Rats. *Ann. N.Y. Acad. Sci*. 1084:503-519.
- COUSTAN, D. R., 1995. Gestational Diabetes. *Diabetes in America*, National Institutes of Health. 95:703-717.
- DAS, K., and CHAIŃY, 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.
- DAVIDSON, J. K., 1991. *Clinical Diabetes Mellitus, Diabetic Eye Disease*, Thime Medical Puplichers. pp.427-444.
- DOĞAN, Y., 2004. *Ratlarda Meyan Kökünün Oksidatif-Antioksidatif Sistem Üzerine Etkileri*. Harran Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi. s.15.
- DONALD, M. Y., GROSS, D. J., CESARİ, E., and KAİSER, N., 1999. Hyperglycemia-Induced  $\beta$ -Cell Apoptosis in Pancreatic Islets of Psammoyes Obesus During Development of Diabetes. *Diabetes* 48(4):738-744.
- DU, Y., MILLER, C. M., and KERN, T. S., 2003. Hyperglycemia Increases Mitochondrial Superoxide in Retina and Retinal Cells. *Free Radic Biol Med*. Dec 1; 35(11):1491-1499.
- DUNLOP, M., 2000. Aldose Reductase and the Role of Poliol Pathway in Diabetic Nephropathy. *Kidney Int.*: 58 (Suppl 77):3-12.
- DÜZGÜNER, V., 2005. *Deneysel Olarak Diabet Oluşturulan Tavşanlarda Çinkonun Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Sistem Üzerine Etkisi*. M.K.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. 70s.
- EİZİRİK, D. L., FLODSTRÖM, M., KARLSEN, A. E., and WELSH, N., 1996. The Harmony of the Spheres: İnducible Nitric Oxide Synthase and Related Genes in Pancreatic  $\beta$  Cells. *Diabetologia*. 39(8):875-890.
- ERNST, E., 1997. *Plants With Hypoglysemic Activity in Humans*. *Phytomedicine* 4:73-78.

- FERRARI, R., CECONI, K., and CURELLO, S., 1991., Oxygen Free Radicals and Myocardial Damage Protective Role of Thiol Containing Agents. *Am. Med.* 91 (suppl 3c):95-105, p.199.
- FESTA, A., HANLEY, A. J., TRACY, R. P., D'AGOSTINO, R. J. R., and HAFFNER, S. M., 2003. Inflammation in the Prediabetic State is Related to Increased Insulin Resistance Rather Than Decreased Insulin Secretion. *Circulation.* Oct 14;108(15):1822-30.
- FIRAT, S., 1997. Kobaylarda Radyasyonla Oluşan Akciğer Hasarında Doku Glutasyon , Glutasyon Peroksidaz, Glutasyon- S-Transferaz Düzeyleri ve N-Asetil Sistein'in Bu Sistem Üzerindeki Etkisi. Gazi Üni. Tıp Fak. Biyokimya A.B.Dalı, Uzm.Tezi, Ankara, 95s.
- GIARDINO, I., EDELSTEIN, D., BROWNLEE, M., 1996. Bcl-2 Expression or Antioxidants Prevent Hyperglycemia-Induced Formation of Intracellular Advanced Glycation and Products in Bovine Endothelial Cells. *The Journal of Clinical Investigation* 97(6):1422-1428.
- GONZALES, R., AUCLAIR, C., VOISIN, E., GAUTERO, H., DHERMY, D., and BOIVIN, P., 1984. Superoxide Dismutase, Catalase, and Glutathione Peroxidase in Red Blood Cells From Patients With Malignant Diseases. *Cancer Res.* Sep. 44(9):4137-9.
- GREEN, K., BRAND, M. D., and MURPHY, M. P., 2004. Prevention of Mitochondrial Oxidative Damage as A Therapeutic Strategy in Diabetes. *Diabetes* 53( Supplement 1):110-118.
- GREENE, D. A., SİMA, A. A. F., ALBERTS, J. W., and PFEİFER, M. A., 1990. Diabetic Neuropathy. in *Diabetes Mellitus Theory and Practice* (4th ed) Rifkin H, Porte D (Eds), Elsevier, New York.
- GUIGLIANO, D., PAOLISSO, G., and CERIELLO, A., 1996. Oxidative Stress and Diabetic Vascular Complications. *Diabetes Care*; 19(3):257-267.
- GÜLTEKİN, F., DELİBAŞ, N., YAŞAR, S., ve KILINÇ, İ., 2001. *In Vivo* Changes in Antioxidant Systems and A Combination of Vitamin C and Vitamin E on Oxidative Damage in Erythrocytes Induced by Chlorpyrifos-Ethyl in Rats. *Arch. Toxicol.*, 75:88-96.
- GÜVEN, A., ERGINSOY, S., ve KAYA N., 2003. Kazlarda Karbon Tetraklorür Zehirlenmesinin Biyokimyasal ve Patolojik Parametrelere Etkisi. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 9:131-136.
- GUYTON, A. C., and HALL, J. E., 2001. *Medical Physiology.* 10<sup>th</sup> Ed., Philedelphia, W. B. Saunders Company.
- HALİFEOĞLU, İ., KARATAŞ, F., ÇOLAK, R., CANATAN, H., ve TELO, S., 2005. Tip 2 Diyabetik Hastalarda Tedavi Öncesi ve Tedavi Sonrası Oksidan ve Antioksidan Durum. *Fırat Tıp Dergisi.* 10(3):117-122.
- HALLIWELL, B., 1994. Free Radicals, Antioxidants, and Human Disease: Curiosity, Cause, or Consequence. *Lancet.* Sep 10; 344(8924):721-4.
- HATEMİ, H., 1996. Diabetes Mellitus Tarihçesi. *Aktüel Tıp Dergisi.* 7:497-499.
- HEGDE, K. R., HENEIN, M. G., and VARMA, S. D., 2002. Establishment of Mouse as an Animal Model for Study of Diabetic Cataracts: Biochemical Studies. Departments of Ophthalmology and Biochemistry, Universty of Maryland School of Medicine, Baltimore, MD, USA.

- HOUSLAY, M. D., 1991. 'Crosstalks': A Pivotal Role FOR Protein Kinase C in Modulating Relationships Between Signal Transduction Pathways. *European Journal of Biochemistry* 195(1):9-27.
- HUNDAL, R. S., PETERSEN, K. F., MAYERSON, A. B., RANDHAWA, P. S., INZUCCHI, S., SHOELSON, S. E., and SHULMAN, G. I., 2002. Mechanism by Which High-Dose Aspirin Improves Glucose Metabolism in Type 2 Diabetes. *J Clin Invest.* May; 109(10):1321-6.
- HUYSAL, K., 1999. Tip II Diabetlilerde Eritrosit Glutatyon Redüktaz, Glutatyon Peroksidaz, Süperoksit Dismutaz, Katalaz Aktiviteleri, Hemoglobin Glikozilasyonu ve Lipid Peroksidasyonunun İncelenmesi. Atatürk Üni. Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Erzurum, 81s.
- JANG, Y. Y., SONG, J. H., SHIN, Y. K., HAN, E. S., and LEE, C. S., 2000. Protective Effect of Boldine on Oxidative Mitochondrial Damage in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Pharmacol Res.* Oct; 42(4):361-71.
- JIALAL, I., and FULLER, C. J., 1993. Oxidized LDL and Antioxidants. *Clin Cardiol.* Apr; 16(4 Suppl 1):16-19.
- KAYA, S., PİRİNÇÇİ, İ., ve BİLGİLİ, A., 1998. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. *Medisan Yayın Serisi:35*, Ankara. s.222-355.
- KAYAALP, O. S., 2005. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji (Hacettepe-TAŞ 9. baskı. Cilt 2; s.1252-1264.
- KHANAM, J. A., and MASUD RANA, A.Y. K. M., 2002. *Aristolochia indica* Whole Plant Extract as an Antineoplastic Agent. University of Rajshahi. Department of Biochemistry. *J. Med. Sci.*, 2 (4):202-205.
- KIM, S. H., HYUN, S. H., and CHOUNG, S. Y., 2006. Anti-Diabetic Affect of Cinnamon Extract on Blood Glucose in db/db Mice. *J. Ethnopharmacol.* 104:119-123.
- KING, G. L., and BANSKOTA, N. K., 1994. Mechanism of Diabetic Microvascular Complications. In: Kahn, C.R., Weir G.C. eds, *Joslin's Diabetes Mellitus (International Ed. Thirteenth Ed. Company)*: pp.634-648.
- KÖSE, K., ve DOĞAN, P., 1998. Lipit Peroksidasyonu., *Erciyes Tıp Dergisi Ek I*:340-350.
- KRINSKY, N. I., 1988. Membrane Antioxidants. *Ann N Y Acad Sci*, 551:17-32; Discussion. p.32-33.
- KUMAR, P., and CLARK, M., 2002. Diabetes Mellitus and Other Disorders of Metabolism. In *Clinical Medicine*. Eds.:1069-1121. WB Saunders.
- KUZSAK, J. R., 1995. The Ultrastructure of Epithelial and Fiber Cells in the Crystalline Lens. *Int Rev Cytol*; 163:305-350.
- MANA, S. K., ZHANG, H. J., and YAN, T., 1998. Overexpression Manganase Superoxide Dismutase Tumor Necrosis Factor-Induced Apoptosis and Activation of Nuclear Transcription Factor-B and Activated Protein-1. *J Biol Chem*; 273:13245-13254.
- MATES, J. M., 2000. Effects of Antioxidant Enzymes in The Molecular Control of Reactive Oxygen Species Toxicology. *Toxicology*, 153:83-104.
- MAXWELL, S. R., 1995. Prospects for the Use of Antioxidant Therapies. *Drugs.* Mar; 49(3):345-61.
- MC CORD, J. M., 1984. Human Disease, Free Radicals and Oxidant Balance. *Clin Bichem*, 26:351-357.

- MERRY, P., WINYARD, P. G., MORRIS, C. J., GROOTVELD, M., BLAKE, D. R., 1989. Oxygen Free Radicals, Inflammation, and Synovitis: and Synovitis: The Current Status. *Ann Rheum Dis.* Oct; 48(10):864-70.
- MICHIELS, C., RAES, M., TOUSSAINT, O., and REMACLE, J., 1994. Importance of Se-Glutathione Peroxidase, Catalase, and Cu/Zn-SOD for Cell Survival Against Oxidative Stress. *Free Radic Biol Med.* Sep; 17(3):235-48.
- MIYATA, T., KURUKAWA, K. and DE STRIHOU, C. V. Y., 2000. Advanced Glycation and Lipoxidation and Products: Role of Reactive Carbonyl Compounds Generated During Carbohydrate and Lipid Metabolism. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11:1744-1752.
- MONTORI, V. M., BRYANT, S. C., O'CONNOR, A. M., JORGENSEN, N. W., WALSH, E. E., and SMITH, S. A., 2003. Decisional Attributes of Patients With Diabetes: the Aspirin Choice. *Diabetes Care.* Oct; 26(10):2804-9.
- MUSA, D., İRİADAM, M., GÜMÜŞHAN, H., ve BABA, F., 2006. Effects of Two Turkish Medicinal Plants *Artemisia Herba-Alba* And *Teucrium Polium* on Blood Glucose Levels and Other Biochemical Parameters in Rabbits. Haliç University. *Journal of Cell and Molecular Biology* 5:19-24.
- NISHIKAWA, T., EDELSTEİN, D., and BROWNLEE, M., 2000. The Missin Link: A Single Unifying Mechanism for Diabetic Complications. *Kidney Int.* 2000; 58(suppl 77):26-30.
- NOYAN, A., 2003. Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji. 13. baskı, Ankara, Meteksan.
- OĞUZ, M., 1990. Oksijen Radikalleri. *C.Ü.Tıp Fak.Der.*, 12, 2.
- OREI, N. N., ZIDEK, W., and TEPEL, M., 2000. Increased Intracellular Generation of Reactive Oxygen Species in Mononuclear Leukocytes From Patients With Diabetes Mellitus Type 2. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 108(3):175-80.
- OYANAGUI, Y., 1991. Active Oxygen Research of Today Future. *The Journal of Toxicological Sciences*, 16, Supp II:65-69.
- OZÇETİN, H., 2003. Klinik Göz Hastalıkları, Nobel, s.105-109.
- ÖZDEN, S. S., ve ŞADAN, G., 1994. Serbest Oksijen Radikallerinin Oluşumu ve Klinik Açıdan Önemi. *Akdeniz Ün. Tıp Fak. Derg.*, 11:63-71.
- PALMER, T., 1990. Understanding Enzymes.
- PETKAU, A., 1987. Role of Superoxide Dismutase in Modification of Radiation Injury. *Br. J. Cancer*; 55:87-95.
- PİTKANEN, O. M., MARTİN, J. M., HALLMAN, M., AKERBLUM, H. K., SARIOLA, H., and ANDERSSON, S. M., 1992. Free Radical Activity During Development of İnsulin Dependent Diabetes Mellitus in the Rat. *Life Science* 50(5):335-339.
- PRASAD, K., and LEE, P. 1992. Detection of ischemia- Reperfusion Cardiac Injury by Cardiac Muscle Chemiluminescence. *Mol. Cell Biochem*, 115,49-58.
- QUINN, L., 2002. Mechanism in the Development of Type II Diabetes Mellitus. *Journal of Cardiovascular Nursing*, 16(2):1-16.
- RAFFERTY, N. S., and RAFFERTY, K. A., 1992. Lens Cytoskeleton and After-Cataract. *Acta Ophthalmol.* 70:34-45.
- RAMESH, B., and PUGALENDİ, K. V., 2006. Antioxidant Role of Umbelliferone in STZ-Diabetic Rats. *Life Sciences*.
- REAVEN, G., and STROM, T., 2003. Tip II diabet- sorular ve cevaplar. s.36.

- RICE-EVANS, C. A., DIPLOCK, A. T., and SYMONS, M. C. R., 1991. Techniques in Free Radicals Research. Elsevier, Amsterdam, Vol 22.
- ROBERTSON, R. P., HARMON, J., TRAN, P. O., and POÏTOUT, V., 2004.  $\beta$ -cell Glucose Toxicity, Lipotoxicity and Chronic Oxidative Stress in Type II Diabetes. *Diabetes* 53(Supplement 1):119-124.
- ROSEN, P., DU, X., and TSCHÖPE, D., 1998. Role of Oxygen Derived Radicals for Vascular Dysfunction in the Diabetic Heart: Prevention by A Tocopherol. *Molecular And Cellular Biochemistry*. 188(1-2):103-111.
- SACKS, D., 2005. Karbonhidratlar. In: BURTIS, C. A., ASHWOOD, E. R Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, SACKS, D., Fifth Edition. p.427-462.
- SAUDE, T. 1993. The Internal Ocular Media. in: *Ocular Anatomy and Physiology*. Oxford: Blackwell Scientific. p.36-52.
- SAVAŞLI, Z., 2005. Diabetik Siçan Lens ve Retinasında Moleküler Seviyede Meydana Gelen Değişiklikler ve Antioksidanların Rolü. Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 68s. (Yayınlanmamış).
- SEVEN, A., GÜZEL, S., SEYMEN, O., CİVELEK, S., UNCU, M., ve BURÇAK, G., 2004. Effects of vitamin E supplementation on Oxidative Stres in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Yonsei Med*. 45(4):703-710.
- SEZİK, E., ASLAN, M., YESİLADA, E., and ITO, S., 2004. Hypoglycaemic activity of *Gentiana olivieri* and Isolation of the Active Constituent Through Bioassay-Directed Fractionation Techniques. Gazi University, Faculty of Pharmacy. Etiler, Ankara.
- SHALINI, V., K., LUTHRA, M., SRİNİVAS, L., RAO, S. H., BASTI, S., REDDY, M., and BALASUBRAMANIAN, D., 1994. Oxidative Damage to the Eye Lens Caused by Cigarette Smoke and Fuel Smoke Condensates. *Ind J. Biochme. Biophys*. 31:261-266.
- SINCLAIR, A. J., BARNET, A. H., and JUNEC, J., 1990. Free Radicals and Antioxidant Systems in Health and Disease. *British J. Hosp. Med.*, 43:334-344.
- STAHL, W., and SIES, H., 2002. Introduction: Reactive Oxygen Species. *Research Monographs*, 1-2.
- SUBASH BABU, P., PRABUSEENİVASAN, S. and IGNACIMUTHU, S., 2006. Cimmanaldehyde- A Potential Antidiabetic Agent. *Phytomedicine* 14:15-22.
- TAKAHASHI, K., and COHEN, H. J., 1986. Selenium-Dependent Glutathione Peroxidase Protein and Activity:İmmunological Investigations on Cellular and Plasma Enzymes. *Blood*, 68(3):640-645.
- TANAKOL, R., 1998. Antioksidan Vitaminler: Hastalıkta ve Sağlıkta Önemleri. *Klinik Gelişim*, 11:347-357.
- TAŞDEMİR, B., 1997. Behçet Hastalığında Lipit Peroksidasyonu, Antioksidan Durum ve Nitrik Oksit Düzeylerinin Değerlendirilmesi.O.M.Ü.Tıp Fak. Dermatoloji A.B.Dalı Uzm.Tezi, 53s (yayınlanmamış)
- TİEDGE, M., LORTZ, S., MUNDAY, R., and LENZEN, S., 1998. Complementary Action of Antioxidant Enzyme in the Protection of Bioengineered İnsulin-Producing RIN m5f Cells Against the Toxicity of Reactive Oxygen Species. *Diabetes* 47(10):1578-1585.
- UYSAL, M., 1998. Serbest Radikaller, Lipid Peroksitleri ve Organizmada Prooksidan-Antioksidan Dengeyi Etkileyen Koşullar. *Klinik Gelişim II*:336-341.

- VALLE GIL-DEL, L., MILIAN, L. C., TOLEDO, A., VILARO, N., TAPANES, R., and OTERO, M. A., 2005. Altered Redox Status in Patients With Diabetes Mellitus Type I. *Pharmacological Research* 51:375-380.
- WATKINS, P. J., 2003. *Abc of Diabetes*. Bmj Books. Fifth Edition, p.2-4.
- WHEELER, C. R., and SALZMAN, J. A., 1990. Automated Assays for Superoxide Dismutase, Catalase, Glutathione Peroxidase and Glutathione Reductase Activity. *Analytical Biochemistry*. 184:193-199.
- WINROW, V. R., WINYARD, P. G., MORRIS, C. J., and BLAKE, D. R., 1993. Free Radicals in Inflammation. Second Messengers and Mediators of Tissue Destruction. *British Medical Bulletin*, 49(3):506-522.
- WINYARD, P., LUNEC, J., BRAILSFORD, S., and BLAKE, D., 1984. Action of Free Radical Generating Systems Upon the Biological and Immunological Properties of Caeruloplasmin. *Int.J.Biochem.*, 46:1273-1278.
- YABE-NISHIMURA, C., 1998. Aldose Reductase in Glucose Toxicity: A Potential Target for the Prevention of Diabetic Complications. *Pharmacol Rew;* 50:21-23.
- YAGI, K., 1994. Lipid Peroxidase and Related Radicals in Clinical Medicine. In: *Free Radicals in Diagnostic Medicine*. D. Armstorng (editor), pp.17-27. Plenum Press, New York.
- YALÇIN, A. S., 1998. Antioksidanlar. *Klinik gelişim II*. s.342-346.
- YANARDAĞ, R., ve CAN, Ş., 1994. Effect of *Laurus Nobilis* L. Leaves on Blood Glucose Levels in Normal and Alloxan-Diabetic Rabbits. *Chimica Acta Turcica* 22:169-175.
- YANARDAĞ, R., ve ÇOLAK, H., 1998. Effect of Chard (*Beta Vulgaris* L. VAR. Cicla) on Blood Glucose Levels in Normal and Alloxan-Induced Diabetic Rabbits. *Pharm. Pharmacol. Commun.* 4:309-311.
- YANBEYİ, S., 1999. Aspirin ve Antioksidant Buthylated Hydroxyanisole'ün Tavşanlarda Eritrosit Total Katalaz, Süperoksit Dismutaz ve Glutatyon Peroksidaz Aktiviteleri Üzerine Etkileri. *Ondokuz Mayıs Üni. Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Samsun, 88s*
- YENİGÜN, M., ve ALTUNTAŞ, Y., 2001. *Her Yönüyle Diabetes Mellitus*. 2. Baskı. İstanbul.
- YILMAZ, M. T., 1997. Editörden. *Galenos Aylık Sağlık Meslek Dergisi*. 1:3.
- ZHANG, X. F., and TAN, B. K., 2000. Antihyperglycaemic and Antioxidant Properties of *Andrographis Paniculata* in Normal and Diabetic Rats. *Clin. Exp. Pharmacol Physiol*, 27(5-6):358-63.

## **ÖZGEÇMİŞ**

1978 yılında Siverek'te doğdu. İlkokulu Hilvan'da, ortaokul ve liseyi Şanlıurfa'da okudu. 1998 yılında Harran Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Tıbbi Laboratuvar Bölümü'ne girip, 2000 yılında mezun oldu. 2000 yılında İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne girip 2003 yılında mezun oldu. 2004 yılında bir kamu kurumunda işe başladı ve halen devam etmekte. 2005 yılında Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde Moleküler Biyoloji alanında yüksek lisansa başladı.



## ÖZET

Almanya'dan getirilen deney hayvanları çoğaltılarak yedi grup oluşturuldu. Birinci grup kontrol grubu olarak kabul edildi ve deney sonuna kadar bu gruba hiçbir işlem yapılmadı. İkinci gruba 65 mg/kg Streptozotosin uygulanarak (i.p) diabet oluşturuldu. Üçüncü gruba STZ uygulanıp diabet olduğu görüldükten sonra gūnaşırı 20 mg/sıçan *Ginkgo biloba* (mabet ağacı) ekstraktı oral gastrik gavaj yardımıyla verildi. Dördüncü gruba STZ uygulanıp diabet olduğu görüldükten sonra gūnaşırı olarak 21.5 mg/sıçan olacak şekilde *Tagetes patula* (kadife çiçeği) ekstraktı verildi. Beşinci gruba gūnaşırı 26.6 mg/sıçan olacak şekilde *Gentiana olivieri* (afat) ekstraktı verildi. Altıncı gruba, diabet oluştuğu anlaşıldıktan sonra 22.5 mg/sıçan *Olea europaea* (zeytin) ekstraktı uygulandı. Yedinci gruba STZ uygulandıktan beş gün sonra 20 mg/sıçan *Aristolochia maurorum* (loğusa otu) ekstraktı uygulandı.

Deney süresi boyunca grupların ortalama ağırlık değişimi ve kan glukoz miktarı değişimi ölçülerek kaydedildi. Lens dokusunda malondialdehid (MDA) ve glutatyon (GSH) ölçümleri yapıldı. Plazmada MDA, GSH, glukoz, kolesterol, yüksek dansiteli lipoprotein-kolesterol (HDL-C), çok düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol (VLDL-C), trigliserid (TG), üre, kan üre azotu (BUN), kreatinin (CREA), aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) ve  $\gamma$ -glutamil transferaz (GGT) parametreleri ölçüldü. Hazırlanan eritrosit paketlerinden, eritrosit katalaz (CAT), glutatyon S transferaz (GST) ve glutatyon redüktaz (GR) enzim aktiviteleri ölçüldü. Çıkan sonuçlar istatistiksel olarak Mann-Whitney testine göre yorumlandı.

Oluşturduğumuz kontrol grubunda (K) deney sonuna kadar %5.2 oranında bir ağırlık artışı gözlemlenirken, farklı bitki ekstraktları uygulanan ama aynı koşul ve yemlerle beslenen gruplardan *Ginkgo biloba* grubunda (D/G) % 26.6, *Tagetes patula* grubunda (D/KA) %11.3, *Gentiana olivieri* grubunda (D/A) %5.3, *Olea europaea* grubunda (D/Z) %23.6, *Aristolochia maurorum* grubunda (D/L) %26.3 ve diabet grubunda (D) %22.3 oranında ağırlık azalması kaydedildi.

K grubunun kolesterol değeri 48 mg/dl ölçülürken, D grubu 77 mg/dl, D/G grubu 71 mg/dl, D/KA 63 mg/dl, D/A 63 mg/dl, D/Z 100 mg/dl ve D/L 48 mg/dl olarak ölçüldü. D/L grubu hariç tüm gruplarda bu değerler yükseldiği görüldü. K grubu TG değeri 67 mg/dl olarak ölçülürken, D grubu 170 mg/dl, D/G 179 mg/dl, D/KA 180 mg/dl, D/A 183 mg/dl, D/Z 310 mg/dl ve D/L 131 mg/dl ölçüldü. Tüm gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı ( $p<0.05$ ) bir artışın olduğu görüldü. Kontrol grubu HDL-C değeri 50 mg/dl olarak ölçülürken, D grubu 34 mg/dl, D/G 56 mg/dl, D/KA 47 mg/dl, D/A 37 mg/dl, D/Z 39 mg/dl ve D/L 34 mg/dl olarak ölçüldü. D grubunda K grubuna göre anlamlı bir düşüş gözlenirken, D/G ve D/KA gruplarında D grubuna göre anlamlı bir artış gözlemlendi. Kontrol grubu VLDL-C sonucu 15 mg/dl ölçülürken, D grubu 32 mg/dl, D/G 45 mg/dl, D/KA 36 mg/dl, D/A 43 mg/dl, D/Z 63 mg/dl ve D/L 25 mg/dl ölçüldü. Tüm grupların kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gösterdikleri tespit edildi.

Kontrol grubu GGT seviyesi 1.6 U/L ölçülürken, D grubu 7.29 U/L, D/G 7.2 U/L, D/KA 8.17 U/L, D/A 6.57 U/L, D/Z 24.17 U/L ve D/L 6.14 U/L ölçüldü. Tüm grupların GGT seviyesi K grubuna göre anlamlı bir artış gösterdi. K grubu AST değeri 120 U/L olarak ölçülürken, D grubu 187 U/L, D/G 113 U/L, D/KA 205 U/L, D/A 469 U/L, D/Z 1183 U/L ve D/L 174 U/L olarak ölçüldü. Tüm grupların K grubuna göre anlamlı bir artış gösterdikleri görüldü. K grubu ALT miktarı 53 U/L olarak ölçülürken, D grubu 132 U/L, D/G 119 U/L, D/KA 147 U/L, D/A 289 U/L, D/Z 386 U/L ve D/L 66 U/L olarak ölçüldü. D/L grubunun ALT seviyesini anlamlı derecede azaltarak K grubuna yaklaştırdığı görülürken, diğer tüm gruplarda bu değerler K grubuna göre yüksek çıktığı görüldü.

Kontrol grubunun üre değeri 48 mg/dl ölçülürken, D grubu 100 mg/dl, D/G 85 mg/dl, D/KA 101 mg/dl, D/A 122 mg/dl, D/Z 92 mg/dl ve D/L 76 mg/dl ölçüldü. Tüm gruplarda K grubuna göre anlamlı bir artış olurken, D/L grubu bu artışı azaltarak anlamlı oranda K grubuna yaklaştırmıştır. K grubu BUN seviyesi 22 mg/dl ölçülürken, D grubu 47 mg/dl, D/G 39 mg/dl, D/KA 47 mg/dl, D/A 57 mg/dl, D/Z 47 mg/dl ve D/L 36 mg/dl ölçüldü. Tüm grupların K grubuna göre anlamlı derecede artış gösterdikleri, D/L grubunun ise bu yüksek değeri anlamlı oranda azaltarak K

grubuna yaklaştırdığı görüldü. K grubunun CREA değeri 0.51 mg/dl çıkarken, D grubu 0.4 mg/dl, D/G 0.43 mg/dl, D/KA 0.43 mg/dl, D/A 0.48 mg/dl, D/Z 0.42 mg/dl ve D/L 0.34 mg/dl çıktı. D/A grubu hariç tüm grupların CREA değerinin K grubuna göre istatistiksel olarak azaldığı görüldü.

Kontrol grubu Lens MDA miktarının 16.75 (nmol/100 mg lens yaş ağırlığı) olduğu, D grubunun 19.1, D/G grubunun 11.5, D/KA grubunun 22, D/A grubunun 22.8, D/Z grubunun 39.55 ve D/L grubunun 21.5 olduğu görüldü. D/G grubunda anlamlı derecede azalmanın olduğu görüldü.

Kontrol grubunun lens GSH miktarı (nmol GSH/100 mg lens yaş ağırlığı) 45.85 iken, D grubu 6.3, D/G grubu 8.78, D/KA grubu 8.9, D/A grubu 9.7, D/Z grubu 7.28 ve D/L grubu 9.75 olarak ölçüldü. Tüm grupların GSH değeri K grubuna göre anlamlı derecede düşük ölçüldü. D/G, D/A ve D/L gruplarının azalan GSH miktarını anlamlı derecede arttırarak kontrol grubuna yaklaştırdıkları görüldü.

Kontrol grubu plazma MDA değeri 35.5 nmol iken, D grubu 32.2, D/G grubu 26.7 nmol, D/KA grubu 39.8 nmol, D/A grubu 31.8 nmol, D/Z grubu 41.0 nmol ve D/L grubu 21.0 nmol olarak ölçüldü.

Kontrol grubu plazma GSH miktarı 988 nmol ölçülürken, D grubu 1122 nmol, D/G grubu 338 nmol, D/KA grubu 531 nmol, D/A grubu 1450 nmol, D/Z grubu 575 nmol ve D/L grubu 280 nmol olarak ölçüldü.

Tip I diabetes mellitusta oksidatif stresin zamanla tüm dokularda artarak tahribat oluşturduğunu ve antioksidan savunmanın bu hasarı kısmen de olsa engellediği sonucuna vardık. Uyguladığımız bitkilerden özellikle *Ginkgo biloba* (mabet ağacı), *Aristolochia maurorum* (lohusa otu) ve *Gentiana olivieri* (afat otu)'nin diabetik komplikasyonları anlamlı derecede azalttığı, *Olea europaea* (zeytin) ve *Tagetes patula* (kadife çiçeği)'nin da bazı parametrelerde olumlu sonuçlar verdiğini gördük.

## SUMMARY

Reproducing the test animals that were brought from Germany, seven groups were assigned. The first group was accepted as control group and no treatment was applied to this group until the end of the experiment. The second group was treated with 65 mg/kg streptozotocin (i.p) and diabetes was induced. The third group was treated with STZ and after observing that diabetes was induced, 20 mg/rat *Gingko biloba* (maidenhair tree) extract was given through gastric gavage every other day. The fourth group was treated with STZ and after observing that diabetes was induced, 21.5 mg/rat *Tagetes patula* (marigold) extract was given every other day. The fifth group was given 26.6 mg/rat *Gentiana olivieri* (griseb) extract every other day. The sixth group was treated with 22.5 mg/rat *Olea europaea* (olive) extract, after observing that diabetes was induced. Five days after treating the seventh group with STZ 20 mg/rat *Aristolochia maurorum* (bithwort) extract was treated.

During the course of the experiment, average weight change and blood glucose amount changes of the groups were measured and recorded. Malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) measurements were carried out in lens tissue. In the plasma, MDA, GSH, glucose, cholesterol, high density lipoprotein-cholesterol (HDL-C), very low density lipoprotein-cholesterol (VLDL-C), triglyceride (TG), urea, blood urea nitrogen (BUN), creatinin (CREA), aspartate aminotransferase (AST), alanin aminotransferase (ALT) and gamma glutamyl transferase (GGT) parameters were measured. Erythrocyte catalase (CAT), glutathione-S-transferase (GST) and glutathione reductase (GR) enzyme activities were measured from the prepared erythrocyte packs. The results that came out were statistically interpreted according to Mann-Whitney test.

In control group (K) that we assigned, while a 5.2% weight increase was observed until the end of the experiment, among the groups which were treated with different plant extracts but which were fed by same conditions and food, 26.6 % weight decrease was recorded in *Gingko biloba* group (D/G); 11.3% weight decrease was recorded in *Tagetes patula* group (D/KA); 5.3% weight decrease was recorded

in *Gentiana olivieri* group(D/A); 23.6% weight decrease was recorded in *Olea europaea* group(D/Z) 26.3% weight decrease was recorded in *Aristolochia maurorum* group (D/L); and 22.3% weight decrease was recorded in diabetes group (D).

While the cholesterol value of group K was measured as 48 mg/dl, the cholesterol value of group D was measured as 77 mg/dl; cholesterol value of group D/G was measured as 71 mg/dl; cholesterol value of group D/KA was measured as 63 mg/dl; the cholesterol value of group D/A was measured as 63 mg/dl, the cholesterol value of group D/Z was measured as 100 mg/dl and the cholesterol value of group D/L was measured as 48 mg/dl. It was observed that excluding D/L group, this value increased in all groups. While TG value of group K was measured as 67 mg/dl, group D was measured as 170 mg/dl, group D/G was measured as 179 mg/dl, group D/KA was measured as 180 mg/dl, group D/A was measured as 183 mg/dl, group D/Z was measured as 310 mg/dl and group D/L was measured as 131 mg/dl. A significant ( $p < 0.05$ ) increase when compared to the control group was observed in all groups. In control group while HDL-C value was measured as 50 mg/dl, it was measured as 34 mg/dl in group D, 56 mg/dl in group D/G, 47 mg/dl in group D/KA, 37 mg/dl in group D/A, 39 mg/dl in group D/Z and 34 mg/dl in group D/L. While a significant decrease was observed in group D when compared to group K, no significant increase was observed in groups D/G and D/KA when compared to group D. While control group VLDL-C result was measured as 15 mg/dl, group D was measured as 32 mg/dl, group D/G was measured as 45 mg/dl, group D/KA was measured as 36 mg/dl, group D/A was measured as 43 mg/dl, group D/Z was measured as 63 mg/dl and group D/L was measured as 25 mg/dl. It was found that all groups indicated a significant increase when compared to control group.

While GGT level of control group was measured as 1.6 U/L, group D was measured as 7.29 U/L, group D/G was measured as 7.2 U/L, group D/KA was measured as 8.17 U/L, group D/A was measured as 6.57 U/L, group D/Z was measured as 24.17 U/L and group D/L was measured as 6.14 U/L. GGT level of all groups indicated a significant increase when compared to group K. While AST

values of group K was measured as 120 U/L, group D was measured as 187 U/L, group D/G was measured as 113 U/L, group D/KA was measured as 205 U/L, group D/A was measured as 469 U/L, group D/Z was measured as 1183 U/L and group D/L was measured as 174 U/L. It was found that all groups indicated a significant increase when compared to group K. While ALT amount of group K was measured as 53 U/L, group D was measured as 132 U/L, group D/G was measured as 119 U/L, group D/KA was measured as 147 U/L, group D/A was measured as 289 U/L, group D/Z was measured as 386 U/L and group D/L was measured as 66 U/L. While it was observed that ALT level of group D/L significantly decreased and approximated to group K, it was found that in all other groups this value was higher than group K.

While urea value was measured as 48 mg/dl in control group, in group D it was measured as 100 mg/dl, in group D/G it was measured as 85 mg/dl, in group D/KA it was measured as 101 mg/dl, in group D/A it was measured as 122 mg/dl, in group D/Z it was measured as 92 mg/dl and in group D/L it was measured as 76 mg/dl. While there was a significant increase in all groups when compared to group K, group D/L reduced this increase and significantly approximated to group K. While BUN level of group K was measured as 22 mg/dl, group D was measured as 47 mg/dl, group D/G was measured as 39 mg/dl, group D/KA was measured as 47 mg/dl, group D/A was measured as 57 mg/dl, group D/Z was measured as 47 mg/dl and group D/L was measured as 36 mg/dl. It was found that all groups indicated a significant increase when compared to group K, and group D/L significantly reduced this high value and it was observed that approximated it to group K. While CREA value of group K came out to be as 0.51 mg/dl, group D came out as 0.4 mg/dl, group D/G came out as 0.43 mg/dl, group D/KA came out as 0.43 mg/dl, group D/A came out as 0.48 mg/dl, group D/Z came out as 0.42 mg/dl and group D/L came out as 0.34 mg/dl. It was observed that CREA value of all groups except D/A group statistically decreased when compared to group K.

It was found that Lens MDA amount of control group was 16.75 (nmol/100 mg lens wet weight) group D was 19.1, group D/G was 11.5, group D/KA was 22, group D/A was 22.8, group D/Z was 39.55 and group D/L was 21.5. It was observed that there was a significant decrease in group D/G.

While Lens GSH of control group (nmol GSH/100 mg lens wet weight) was 45.85, group D was measured as 6.3, group D/G was measured as 8.78, group D/KA was measured as 8.9, group D/A was measured as 9.7, group D/Z was measured as 7.28 and group D/L was measured as 9.75. The GSH value of all groups was measured as were measured as significantly low when compared to group K. It was found that D/G, D/A and D/L groups increased decreasing GSH amount significantly, and approximated them to control group.

While plasma MDA value of control group was 35.5 nmol, group D was measured as 32.2, group D/G was measured as 26.7 nmol, group D/KA was measured as 39.8 nmol, group D/A was measured as 31.8 nmol, group D/Z was measured as 41.0 nmol and group D/L was measured as 21.0 nmol.

While plasma GSH amount of control group was measured as 988 nmol, group D was measured as 1122 nmol, group D/G was measured as 338 nmol, group D/KA was measured as 531 nmol, group D/A was measured as 1450 nmol, group D/Z was measured as 575 nmol and group D/L was measured as 280 nmol.

We concluded that oxidative stress increased in Type I diabetes mellitus in time and caused damage in all tissues and antioxidant defense prevented this damage even in part. Among the plants that we treated, we observed that especially *Ginkgo biloba* (maidenhair tree), *Aristolochia maurorum* (birthwort) and *Gentiana olivieri* (griseb) reduced diabetic complications significantly, and *Olea europaea* (olive) and *Tagetes patula* (marigold) also had positive results in some parameters.

