

**T.C.**  
**KAFKAS ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**STREPTOZOTOCIN İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ  
RATLARDA OKSİDATİF STRES VE LİPİT PROFİLİ  
ÜZERİNE ALFA LİPOİK ASİT İLE C VİTAMİNİ  
İLAVESİNİN ETKİLERİ**

**Hamit USLU**

**Fizyoloji Anabilim Dalı**

**DOKTORA TEZİ**

**Danışman**

**Prof. Dr. Ebru BEYTUT**

**2013-KARS**

T.C.  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**STREPTOZOTOCIN İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ  
RATLARDA OKSİDATİF STRES VE LİPİT PROFİLİ  
ÜZERİNE ALFA LİPOİK ASİT İLE C VİTAMİNİ  
İLAVESİNİN ETKİLERİ**

**Hamit USLU**

**Fizyoloji Anabilim Dalı**

**DOKTORA TEZİ**

**Danışman**

**Prof. Dr. Ebru BEYTUT**

**2013-KARS**

**Bu Çalışma KAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü Tarafından Desteklenmiştir.**

**Proje No: 2012-VF-28**

**T.C.**  
**KAFKAS ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Fizyoloji Anabilim Dalı doktora programı çerçevesinde Hamit USLU'nun Prof. Dr. Ebru BEYTUT danışmanlığında doktora tezi olarak hazırladığı **“Streptozotocin ile Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Oksidatif Stres ve Lipit Profili Üzerine Alfa Lipoik Asit ile C Vitamini İlavesinin Etkileri”** adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy....*birleşti*.... ile....*kabul*.... edilmiştir.

**Tez Savunma Tarihi:** 29.03.2013

**Adı ve Soyadı**

**İmza**

**Başkan** : Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ

**Üye** : Prof. Dr. Ebru BEYTUT

**Üye** : Yrd. Doç. Dr. Hüseyin GEY

**Üye** : Yrd. Doç. Dr. Metin ÖĞÜN

**Üye** : Yrd. Doç. Dr. Birkan TOPÇU

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ...../...../ 2013 gün ve ...../..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet ÇİTİL

Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Doktora öğrenimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerini aktararak ve öğrenimim süresince sabır ve anlayışını esirgemeyerek bir yol gösterici görevi üstlenen çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ebru BEYTUT'a, çalışmamın patolojik değerlendirmelerinde yardımlarını esirgemeyen Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Hocalarım Doç. Dr. Serpil DAĞ ve Doç. Dr. Musa KARAMAN'a, histolojik değerlendirmelerde emeği geçen Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Ebru KARADAĞ SARI'ya, çalışmamı maddi yönden destekleyen Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne, Fiziyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Nadide Nabil KAMILOĞLU ve Yrd. Doç. Dr. Birkan TOPÇU ile diğer öğretim elemanlarına, çalışmalarım süresince emeği geçen herkese ve eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme teşekkürü bir borç bilirim.

## SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

*OH	: Hidroksil radikali
$\bar{X}$	: Aritmetik ortalama
AA <sup>-</sup>	: Askorbik Asit
ABS	: Absorbans
ABTS	: 2,2'-azinobis radikali
AGE	: İleri derecede glikasyon son ürünleri
ALA	: Alfa lipoik asit
Apo B-100	: Apolipoprotein B-100
ARE	: Arilesteraz
c.a	: Canlı ağırlık
CAT	: Katalaz
Cu-SOD	: Bakır Süperoksit dismutaz
DHA	: Dehidroaskorbik Asit
DHLA	: Dihidrolipoik asit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDTA	: Etilendiamin tetra asetik asit
eNOS	: Endotelyal nitrik oksit sentaz
FAD	: Flavin Adenin Dinükleotit
Fe-SOD	: Demir Süperoksit dismutaz
GalL	: L-galaktone-1,4-lakton
GLUT 2	: Glikoz taşıyıcısı 2
GR	: Glutasyon Redüktaz
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
GSSH	: Yükseltgenmiş Glutasyon
GST	: Glutasyon S-Transferaz
H&E	: Hematoksilen&Eosin
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrojen peroksit
HDL	: Yüksek Dansiteli Lipoproteinler
HLA	: Human Leukocyte Antigen
HOCl	: Hipokloröz asit

HTGL	: Hepatik lipaz
IDDM	: İnsüline bağımlı diyabet
IDL	: Ara Dansiteli Lipoproteinler
i. p.	: İntraperitoneal
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	: Potasyum dihidrojen fosfat
$K_m$	: Michaelis-Menten Sabiti
LCAT	: Lesitin kolesterol açıl transferaz
$\text{LD}_{50}$	: Akut öldürücü doz
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
LP(a)	: Lipoprotein (a)
LPL	: Lipoprotein lipaz
MDA	: Malondialdehid
Mn-SOD	: Manganez Süperoksit dismutaz
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	: Disodyum hidrojen fosfat
$\text{NAD}^+$	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NADH	: İndirgenmiş Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
Ni-SOD	: Nikel Süperoksit dismutaz
NO	: Nitrik oksit
$\cdot\text{NO}$	: Nitrik oksit radikali
$\cdot\text{O}_2$	: Singlet oksijen
$\text{O}_2^-$	: Süperoksit radikali
$\text{O}_2^{\cdot-}$	: Süperoksit anyonu
$\text{OH}^-$	: Hidroksil radikali
$\text{ONOO}^-$	: Peroksinitrit
OSİ	: Oksidatif stres indeksi
PAS	: Periyodik Asit Shiff
PON	: Paraoksonaz
PON1	: Paraoksonaz 1
PON2	: Paraoksonaz 2
PON3	: Paraoksonaz 3
$\text{ROO}^*$	: Peroksil radikali

ROS	: Reaktif oksijen türleri
SD	: Standart sapma
SOD	: Süperoksit dismutaz
STD	: Standart
STZ	: Streptozotosin
TAS	: Total antioksidan seviye
TOS	: Total oksidan seviye
Vc	: Vena centralis
VLDL	: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein
XOD	: Ksantin oksidaz
Zn-SOD	: Çinko Süperoksit dismutaz

<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>Sayfa No</b>
Şekiller Dizini	I
Tablolar Dizini	II
Grafikler Dizini	III
Resimler Dizini	IV
<b>1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER</b>	<b>1</b>
1.1. Tip I Diyabet ve Oksidatif Stres	5
1.2. Tip I Diyabet ve Lipit Profili	10
1.3. Antioksidan Savunma Sistemleri	12
1.3.1. Enzimatik Antioksidanlar	13
1.3.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	14
1.3.1.2. Katalaz (CAT)	15
1.3.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)	15
1.3.1.4. Glutasyon Redüktaz (GR)	16
1.3.1.5. Glutasyon S-Transferaz (GST)	16
1.3.2. Nonenzimatik Antioksidanlar	17
1.3.2.1. Glutasyon (GSH)	17
1.3.2.2. Alfa Lipoik Asit (ALA)	18
1.3.2.2.1. Alfa Lipoik Asitin Yapısı	18
1.3.2.2.2. Alfa Lipoik Asitin Metabolizması	19
1.3.2.2.3. Alfa Lipoik Asitin Antioksidan Özelliği	20
1.3.2.2.4. Alfa Lipoik Asit ve Diyabet	22
1.3.2.3. C Vitamini (Askorbik Asit)	24
1.3.2.3.1. C Vitamininin Yapısı	25
1.3.2.3.2. C Vitamininin Metabolizması	27
1.3.2.3.3. C Vitamininin Antioksidan Özelliği	28
1.3.2.3.4. C Vitamini ve Diyabet	29
1.4. Lipitler ve Lipoproteinler	30
1.4.1. Lipitler	30



1.4.1.1. Trigliserit	31
1.4.1.2. Kolesterol	31
1.4.2. Lipoproteinler	31
1.4.2.1. Şilomikronlar	32
1.4.2.2. Çok Düşük Dansiteli Lipoproteinler (VLDL)	32
1.4.2.3. Düşük Dansiteli Lipoproteinler (LDL)	33
1.4.2.4. Ara Dansiteli Lipoproteinler (IDL)	33
1.4.2.5. Yüksek Dansiteli Lipoproteinler (HDL)	33
1.4.2.6. Lipoprotein (a) (LP(a))	34
1.5. Paraoksonaz ve Arilesteraz (PON1)	34
1.6. Streptozotosinin Etki Mekanizması	39
<b>2. MATERYAL VE METOD</b>	41
2.1. Materyal	41
2.1.1. Kan Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması	42
2.1.2. Doku Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması	43
2.1.3. Histopatolojik İncelemeler	43
2.2. Metod	43
2.2.1. Kullanılan Araç ve Gereçler	43
2.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	43
2.2.3. Kullanılan Cihazlar	44
2.2.4. Kullanılan Kitler	45
2.2.5. Kullanılan Diğer Malzemeler	45
2.2.6. Çalışmada Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları	45
2.2.6.1. Sodyum Sitrat Çözeltisi	45
2.2.6.2. Streptozotocin Çözeltisi	45
2.2.6.3. Alfa Lipoik Asit Çözeltisi	46
2.2.6.4. C Vitamini Çözeltisi	46
2.2.6.5. Fosfat Tampon Çözeltisi	46
2.2.7. Kan Glikoz Seviyelerinin Belirlenmesi	46

2.2.8. Lipit Profilinin Belirlenmesi	46
2.2.9. Çalışmada Kullanılan Kitlere Ait Prosedürler	47
2.2.9.1. Paraoksonaz (PON) Test Kiti	47
2.2.9.2. Arilesteraz (ARE) Test Kiti	48
2.2.9.3. Total Oksidan (TOS) Test Kiti	48
2.2.9.4. Total Antioksidan (TAS) Test Kiti	49
2.2.10. Oksidatif Stres İndeksinin Hesaplanması	50
2.3. İstatistiksel Analiz	50
<b>3. BULGULAR</b>	<b>51</b>
3.1. Kontrol ve Deneme Grubu Hayvanların Kan Glikoz Düzeylerinin Değerlendirilmesi	51
3.2. Kontrol ve Deneme Grubu Hayvanların Vücut Ağırlıklarının Değerlendirilmesi	53
3.3. Serum Lipit Profili	54
3.4. Serum Paraoksonaz (PON) ve Arilesteraz (ARE) Aktiviteleri	58
3.5. Karaciğer Dokusunun Paraoksonaz (PON) ve Arilesteraz (ARE) Aktiviteleri	60
3.6. Plazma ve Karaciğerin Total Oksidan Düzeyleri (TOS)	62
3.7. Plazma ve Karaciğerin Total Antioksidan Düzeyleri (TAS)	63
3.8. Plazma ve Karaciğer Örneklerinin Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)	65
3.9. Korelasyon Analizleri	66
3.10. Histopatolojik Bulgular	67
3.10.1. Pankreas Dokusu	67
3.10.2. Karaciğer Dokusu	74
<b>4. TARTIŞMA VE SONUÇ</b>	<b>81</b>
5. ÖZET	92
6. ABSTRACT	94
7. KAYNAKLAR	96
8. ÖZGEÇMİŞ	120

<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Şekil 1.</b> Pankreatik $\beta$ Hücrelerinden İnsülin Salınımı	6
<b>Şekil 2.</b> Tip I Diyabetin Patolojisi	7
<b>Şekil 3.</b> Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) Kaynakları ve Hücresel Yanıtlar	9
<b>Şekil 4.</b> Hiperglisemide AGE Oluşumu ve Poliöl Yolu	10
<b>Şekil 5.</b> Lipit Peroksidlerin Oluşumu, Etkileri ve Parçalanması	12
<b>Şekil 6.</b> Lipit Peroksidasyon Ürünleri	12
<b>Şekil 7.</b> Serbest Radikallerin Oluşumu ve Enzimatik Detoksifikasyonu	14
<b>Şekil 8.</b> Lipoik Asit ve Dihidrolipoik Asidin R- ve S- Formları	19
<b>Şekil 9.</b> E Vitamini, C Vitamini, Ubikinol, Glutatyon ve R-Lipoik Asitin Redoks Siklusunda Aralarındaki Etkileşimi Gösteren Antioksidan Ağ	21
<b>Şekil 10.</b> Diyabette Poliöl Yolu ve Lipoik Asit	23
<b>Şekil 11.</b> Diyabetin Vasküler Komplikasyonlarında AGE Oluşumu ve Lipoik Asit	24
<b>Şekil 12.</b> D-Glukoz ve L-Askorbik Asitin Moleküler Yapıları	25
<b>Şekil 13.</b> Bitkilerde Askorbik Asitin Biyosentez ve Oksidasyon Yolağı	26
<b>Şekil 14.</b> Askorbik Asit ile Dehidroaskorbik Asit Arasındaki Denge	26
<b>Şekil 15.</b> İnsüline Duyarlı Hücrelerde Dehidroaskorbik Asitin Glukoz Taşıyıcı Sistemiyle Glukoz ile Birlikte Taşınması	27
<b>Şekil 16.</b> Askorbik Asitin Kan Basıncı, Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz, Tetrahidrobiopterin, Süperoksit Radikali ve Okside Düşük Dansiteli Lipoprotein Üzerindeki Etkileri	29
<b>Şekil 17.</b> Hücre Membranında Bulunan PON1'in HDL'ye Transferi	35
<b>Şekil 18.</b> İnsan Serum Paraoksonaz Enziminin Yapısı	36
<b>Şekil 19-A.</b> Paraoksonazın Paraoksonu Hidrolizi (Paraoksonaz aktivitesi)	38
<b>Şekil 19-B.</b> Paraoksonazın Fenilasetatı Hidrolizi (Ariesteraz aktivitesi)	38
<b>Şekil 20.</b> Streptozotosinin Kimyasal Yapısı	40
<b>Şekil 21.</b> Rat Pankreasının $\beta$ Hücrelerinde Streptozotocinin Toksik Etki Mekanizması	40

<b>TABLolar DİZİNİ</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1.</b> Lipoik Asit ve Dihidrolipoik Asitin Süpürülmesinde Etkili Oldukları Reaktif Oksijen Türleri	21
<b>Tablo 2.</b> Deney Hayvanlarına Verilen Yemin Bileşimi	42
<b>Tablo 3.</b> Kontrol ve Deneme Grubu Hayvanlarının Açlık Kan Glukoz Düzeylerinin Belirlenen Zaman Birimlerine Göre Grup İçi Değişimleri.	52
<b>Tablo 4.</b> Kontrol ve Deneme Grubu Hayvanlarının Açlık Kan Glukoz Düzeylerinin Belirlenen Zaman Birimlerine Göre Gruplar Arası Değişimleri	53
<b>Tablo 5.</b> Deney Hayvanlarının Vücut Ağırlıklarının Grup İçi Günler Arası Değişimleri	54
<b>Tablo 6.</b> Deney Gruplarının Serum Total Kolesterol, HDL, LDL ve VLDL Kolesterol ile Trigliserit Sonuçları	55
<b>Tablo 7.</b> Serum Örneklerinin PON ve ARE Aktiviteleri	59
<b>Tablo 8.</b> Karaciğer Örneklerinin PON ve ARE Aktiviteleri	60
<b>Tablo 9.</b> Plazma ve Karaciğer Örneklerinin Total Oksidan Seviyeleri	62
<b>Tablo 10.</b> Plazma ve Karaciğer Örneklerinin Total Antioksidan Seviyeleri	63
<b>Tablo 11.</b> Plazma ve Karaciğer OSİ Değerleri	65

<b>GRAFİKLER DİZİNİ</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Grafik 1.</b> Serum Total Kolesterol Düzeyleri	55
<b>Grafik 2.</b> Serum Trigliserit Düzeyleri	56
<b>Grafik 3.</b> Serum HDL Kolesterol Düzeyleri	57
<b>Grafik 4.</b> Serum VLDL Kolesterol Düzeyleri	57
<b>Grafik 5.</b> Serum LDL Kolesterol Düzeyleri	58
<b>Grafik 6.</b> Serum Örneklerinin PON Aktiviteleri	59
<b>Grafik 7.</b> Serum Örneklerinin ARE Aktiviteleri	59
<b>Grafik 8.</b> Karaciğer Dokusunun PON Aktivitesi	61
<b>Grafik 9.</b> Karaciğer Dokusunun ARE Aktivitesi	61
<b>Grafik 10.</b> Plazma Örneklerinin Total Oksidan Seviyeleri	62
<b>Grafik 11.</b> Karaciğer Dokusunun Total Oksidan Seviyeleri	63
<b>Grafik 12.</b> Plazma Örneklerinin Total Antioksidan Seviyeleri	64
<b>Grafik 13.</b> Karaciğer Dokusunun Total Antioksidan Seviyeleri	64
<b>Grafik 14.</b> Plazma OSİ Değerleri	65
<b>Grafik 15.</b> Karaciğer OSİ Değerleri	66

<b>RESİMLER DİZİNİ</b>	<b>Sayfa</b>
	<b>No</b>
<b>Resim 1A.</b> Kontrol grubu rat pankreasının histolojik görünümü, H&E	69
<b>Resim 1B.</b> Kontrol grubu rat pankreasının histolojik görünümü, Gomori	69
<b>Resim 2A.</b> Diyabetik kontrol grubu rat pankreasının histolojik görünümü, H&E	70
<b>Resim 2B.</b> Diyabetik kontrol grubu rat pankreasının histolojik görünümü, Gomori	70
<b>Resim 3A.</b> Diyabet + Alfa lipoik asit grubu rat pankreasının histolojik görünümü, H&E	71
<b>Resim 3B.</b> Diyabet + Alfa lipoik asit grubu rat pankreasının histolojik görünümü, Gomori	71
<b>Resim 4A.</b> Diyabet + C Vitamini grubu rat pankreasının histolojik görünümü, H&E	72
<b>Resim 4B.</b> Diyabet + C Vitamini grubu rat pankreasının histolojik görünümü, Gomori	72
<b>Resim 5A.</b> Diyabet + Kombine grup rat pankreasının histolojik görünümü, H&E	73
<b>Resim 5B.</b> Diyabet + Kombine grup rat pankreasının histolojik görünümü, Gomori	73
<b>Resim 6A.</b> Kontrol grubu rat karaciğerinin histolojik görünümü, H&E	76
<b>Resim 6B.</b> Kontrol grubu rat karaciğerinin histolojik görünümü, Gomori	76
<b>Resim 7A.</b> Diyabetik kontrol grubu rat karaciğerinin histolojik görünümü, H&E	77
<b>Resim 7B.</b> Diyabetik kontrol grubu rat karaciğerinin histolojik görünümü, Gomori	77
<b>Resim 8A.</b> Alfa lipoik asit grubu rat karaciğerinin histolojik görünümü, H&E	78
<b>Resim 8B.</b> Alfa lipoik asit grubu rat karaciğerinin histolojik görünümü, Gomori	78
<b>Resim 9A.</b> C Vitamini grubu rat karaciğerinin histolojik görünümü, H&E	79
<b>Resim 9B.</b> C Vitamini grubu rat karaciğerinin histolojik görünümü,	79

Gomori

**Resim 10A.** Diyabet + Kombine grup rat karaciğerinin histolojik görünümü, H&E 80

**Resim 10B.** Diyabet + Kombine grup rat karaciğerinin histolojik görünümü, Gomori 80

## 1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

Diyabetes mellitus, pankreasın insülin sekresyonunun yetersizliği ve/veya hedef dokuların insüline karşı cevabının bozulması sonucu oluşan, karbohidrat, protein ve yağ metabolizmasını etkileyen, hiperglisemi ile teşhis edilen metabolik bir hastalıktır (197). Amerikan Diyabet Birliği'ne göre diyabet; poliüri, polidipsi, kilo kaybı, halsizlik bulgularının yanında günün herhangi bir saatinde alınan kan şekeri düzeyinin 200 mg/dL ve üzerinde olması ya da açlık kan şekerinin (en az 8 saatlik açlıktan sonra) 126 mg/dL ve üzerinde olması şeklinde tanımlanmıştır (4). Şeker hastalığı olarak da adlandırılan Diyabetes mellitus, insülin hormonu yokluğunda meydana gelen Tip I diyabet, insülin yetersizliği, insülin direnci ya da insülin reseptörlerinin azlığından kaynaklanan Tip II diyabet olmak üzere iki çeşittir (26). Diyabetli kişiler, ister Tip I isterse Tip II'li olsun, sağlıklı bireylere kıyasla nefropati, nöropati ve retinopati başta olmak üzere hipertansiyona ve kardiyovasküler hastalıklara daha yatkındırlar (270). Diyabetes mellitus Dünyada yüksek mortalite ve morbidite riski taşıyan hastalıkların başında gelmektedir (164). Dünya Sağlık Örgütüne (WHO) göre tüm ölümlerin %5'inden fazlası diyabetten kaynaklanmaktadır (260).

İnsüline bağımlı diyabet olarak da bilinen Tip I Diyabetes mellitus herhangi bir yaş grubunda görülmekle birlikte 7-15 yaşları arasında daha sık görülmesi nedeniyle juvenil diyabet olarak da adlandırılır (3). Tip I diyabette, pankreasın beta hücrelerinden insülin üretimindeki kayıba bağlı olarak gelişen insülojeni sonucu, yağ ve kas dokularının glukozu enerji ihtiyacı olarak kullanamaması veya depolayamaması sonucu hiperglisemi gelişmektedir. İnsülojeni gelişen olgularda karaciğerdeki glikojenolizis ve glikoneojenezis olgularının artışına bağlı olarak açlık kan şekerlerinin yükselmesine neden olmaktadır (230). Renal eşiği aşan hiperglisemi (>180 mg/dl) glukozüriye neden olmakla birlikte, osmotik diürez etkisi ile dehidratasyona ve elektrolit dengesizliğine de sebep olmaktadır (96). Artan dehidratasyon ve gelişen elektrolit dengesizliği fizyolojik stresi tetikleyerek insülin karşıtı olan (Glukagon, Kortizol, Büyüme Hormonu ve Epinefrin) hormonlarının artmasına ve metabolik dekompanzasyonun ağırlaşmasına neden olur. Bununla birlikte insülin karşıtı hormonların artışı aynı zamanda lipit sentezinin azalmasına ve



lipolizisin hızlanmasına neden olarak serum total lipit kolesterol, trigliserit, ve serbest yağ asitlerinin de artışına neden olmaktadır (230). Keza, diyabet hiperglisemisi hem serbest radikal oluşumunun arttırmakta hem de endojen antioksidan savunma sisteminin bozulmasına neden olabilmektedir (213). Serbest radikal, birçok fizyolojik ya da patolojik proseste üretilen, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektronu bulunan herhangi bir atom veya moleküle denir (42, 148). Herhangi bir bileşik bir elektron kaybederek veya bir elektron alarak serbest radikale dönüşebilir. Serbest radikallerin bir başka oluşum şekli de moleküldeki bağların homolitik olarak parçalanması sonucu elektronlardan her birinin farklı atomlar üzerinde kalması ile olmaktadır (165). Diyabetteki oksidatif stresten süperoksit radikali, hidroksil radikali, hidrojen peroksit, nitrik oksit ve geçiş metalleri sorumlu tutulmaktadır (166). Keza, serbest oksijen radikallerinin artışının başta kardiyolojik hastalıklar, nörolojik hastalıklar, astım, Diyabetes mellitus, romatolojik hastalıklar, kanser ve yaşlanma olmak üzere birçok hastalığa sebep olduğu bilinmektedir (262). İnsan ve diğer bazı organizmalar serbest oksijen radikallerinin neden olduğu oksidatif hasara karşı koruyucu ve onarıcı antioksidan savunma sistemlerine sahip olsalar da yine de bu sistemler sıklıkla oksidatif hasarı önlemede yetersiz kalabilmektedir (265). Bu doğal savunma sisteminin yetersiz kaldığı durumlarda bazı yeni kaynaklardan üretilen antioksidanların kullanımı oksidatif stresle başa çıkmada daha da önemli hale gelmektedir (224). Genel antioksidanlar; A, C, E vitaminleri, Glutasyon, Süperoksit Dismutaz, Katalaz, Glutasyon Peroksidaz ve Glutasyon Redüktaz'dır. Diğer antioksidanlar ise Alfa lipoik asit, karetenoidler, Koenzim Q<sub>10</sub>, biyoflavonoidler, antioksidan mineraller (bakır, çinko, manganez ve selenyum) ve kofaktörlerdir (Folik asit, vitamin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub> ve B<sub>12</sub> gibi) (69).

Son dönemlerde yapılan çalışmalarda sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan diyabette Alfa lipoik asit (ALA) uygulamasının (105, 234) antihiperglisemik, antihiperlipidemik, antioksidan ve detoksifikan özellikleri tespit edilmiştir. Bununla birlikte ALA ve indirgenmiş formu olan Dihidrolipoik asitin (DHHLA) güçlü antioksidan etkinliği sayesinde, pankreastaki Langerhans adacık hücrelerini reaktif oksijen hasarına karşı koruduğu da ifade edilmektedir (105). ALA ve indirgenmiş formu olan DHHLA metal şelatları oluşturarak canlı sistemlerdeki ağır metalleri yok eden, serbest radikalleri süpüren ve aynı zamanda C vitamini, ubikinon ve glutasyon

gibi antioksidanları, radikal veya okside formlarını indirgemek suretiyle yenilenmesini sağlayan güçlü birer antioksidandır (109). Diğer bir adı da 1,2 Dithiolane-3 pentanoic acid olan ALA insanlarda karaciğer ve diğer dokular tarafından sentezlenerek doğal bir kofaktör olarak da görev yapar (67). Lipoik asitin antioksidan aktiviteye sahip olan redükte ve okside formları hem suda hem de yağda çözünebilme özelliğine sahip tek antioksidandır (206, 215). 5-25 nmol/g Lipoik asit içeren memeli dokularında bu Lipoik asitin hemen hemen tamamı proteinlere bağlı formda bulunur. Bu nedenle Lipoik asit dışarıdan alınmadığı sürece hücre içerisinde çok az miktarda bulunan serbest Lipoik asit yeterince etkili olmayabilmektedir (192).

C vitamini (L-Askorbik asit) 2-oxo-L-gulofuranolakton'un enol formudur. Beyaz renkte ve kristal yapıda olan bu vitamin suda kolayca çözünebilir. Geri dönüşümlü olarak dehidroaskorbik asit'e okside olur. Bitkiler ve birçok hayvan D-glukozdan D-glukronik ve L-glukronik asitin laktonları yoluyla C vitamini sentezleyebilirler. Fakat insanlar ve bazı memeliler L-glonolakton oksidaz enzimine sahip olmadığından C vitamini sentezleyemezler (174). Güçlü bir antioksidan olan C vitamininin en önemli fonksiyonlarından biri LDL kolesterolü oksidatif hasardan korumaktır (16). Bu antioksidan maddenin, reaktif oksijen ve peroksil radikalleriyle reaksiyona girmek suretiyle tokoferol radikallerine dönüşen vitamin E'nin tekrar aktif hale dönüşümünü sağlamanın yanısıra birçok metabolik olayda görev yaptığı da bilinmektedir (217, 250). Sinir, glomerül, lens ve retina gibi insüline bağımlı olmayan dokularda hücre içi glukoz seviyesi hiperglisemiye bağlı olarak yükselir. Aldoz redüktaz glukozu sorbitole dönüştürür. Sorbitol hücre zarını geçemediği için hücre içinde birikir ve doku hasarına neden olur (139). C vitamini, polioll yolunun en önemli enzimi olan ve bu yolun aktivitesini sınırlayan Aldoz redüktaz enzimini aktive ettiği rapor edilmiştir (251).

Aldoz redüktaz enzimi, diyabetli kişilerin göz, sinir ve böbreklerinde sorbitol birikmesini engelleyen bir enzimdir. Keza, sorbitolün vücudun bu kısımlarında diyabetin neden olduğu hasarlardan sorumlu olduğuna inanılmaktadır. Artan aldoz redüktaz aktivitesi teorik olarak diyabetli hastaların bu şikayetlerini azaltabileceği ifade edilmektedir (93).

Sonuç olarak; diyabet, serbest radikallerin arttığı ve/veya antioksidan mekanizmaların inhibe olduğu oksidatif stres durumlarından biridir (213). Çeşitli çalışmalarda bazı antioksidan enzim seviyelerinde değişiklikler olduğu bildirilmişse de tüm araştırmacıların hemfikir oldukları konu diyabette lipit peroksidasyonunun arttığı ve antioksidan mekanizmalarının ise bozulduğudur (213). Bu nedenle diyabet tedavisinde antidiyabetiklere takviye olarak verilen eksojen antioksidanların veya antioksidan özellikleri olan antidiyabetiklerin kullanılmasının oksidatif stresle başa çıkabilmede faydalı olabileceği fikrinden yola çıkarak mevcut çalışmada, eksojen olarak kullanılan Alfa lipoik asit ile C vitamininin diyabete bağlı şekillenen oksidatif stres ile hiperlipidemi üzerindeki etkilerini belirlemek amaçlanmıştır.

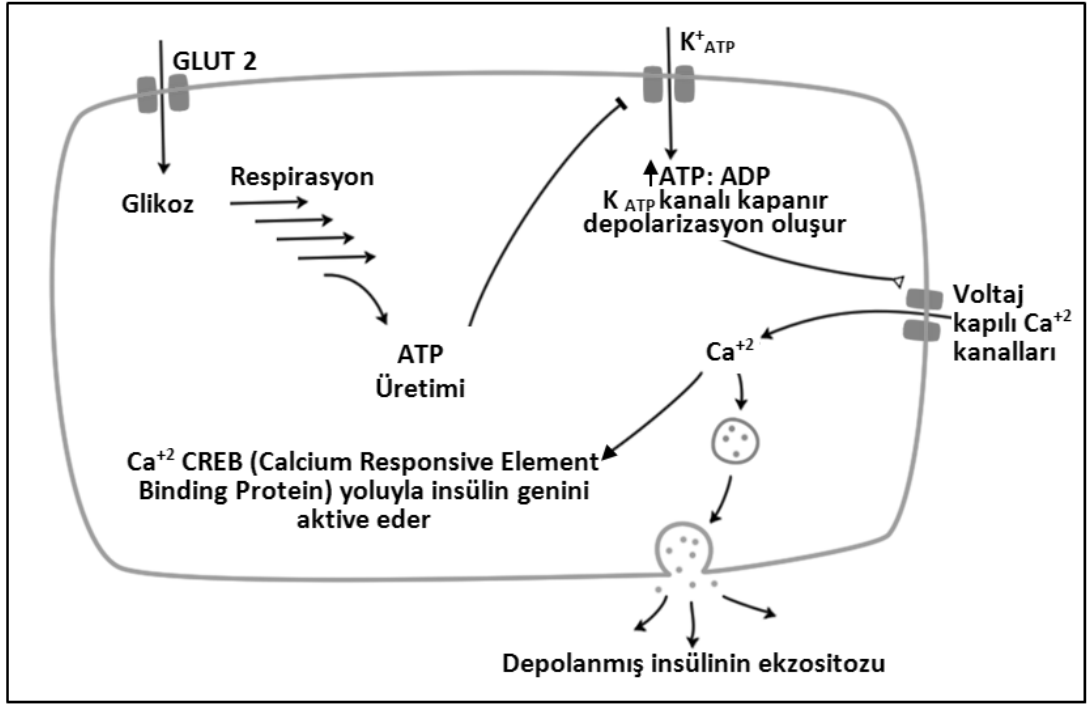
### 1.1. Tip I Diyabet ve Oksidatif Stres

Diyabetes mellitus terimi Yunanca dia (içinden) ve bainein (gitmek) kelimelerinin birleşmesiyle oluşan tam olarak akıp gitmek anlamına gelmektedir. Diyabetli kişilerin idrarlarının tatlı olduğu yüzyıllardır bilinmesine rağmen Diyabetes mellitus deyimini (ballı idrar) 1674 yılında ilk kullanan Dr. Thomas WILLIS olmuştur (248).

En sık görülen metabolik bozukluklardan biri olan “Diyabetes Mellitus” insülinin salınımında, etkisinde ya da hem salınımında hem de etkisindeki bozukluk sonucu meydana gelen hiperglisemi ile karakterize bir hastalıktır. Tip I ve Tip II Diyabet olmak üzere iki büyük gruba ayrılmaktadır. Tip I diyabet insülin salınımındaki yetersizlik sonucu oluşur. Tip II diyabet ise artmış insülin direnci ya da hedef dokulardaki insülin reseptörlerinin azlığından kaynaklanmaktadır. Poliüri, polidipsi, kilo kaybı, halsizlik ile günün herhangi bir anında alınan kan glukoz değerinin 200 mg/dl ve üzerinde olması diyabetin klinik belirtilerinin başında gelmektedir (4).

Karbohidratlar ve özellikle glukoz yaşayan organizmaların çoğunda en önemli enerji kaynağıdır. Açlık durumunda glukozun büyük kısmı karaciğerden sağlanır ve insüline bağımlı olmaksızın beyin tarafından kullanılır. Yemeklerden sonra kan glukoz seviyesinin hızlı yükselmesi insülin sekresyonunu uyarır (Şekil 1). Sonuçta glukozun dakikalar içerisinde taşınması ile kas ve adipositlerde depolanma artar. Bununla birlikte insülin, glukagon sekresyonunu ve serum serbest asit konsantrasyonunu inhibe etmek suretiyle hepatik glukoz üretiminde hızlı bir azalmaya neden olur (121).

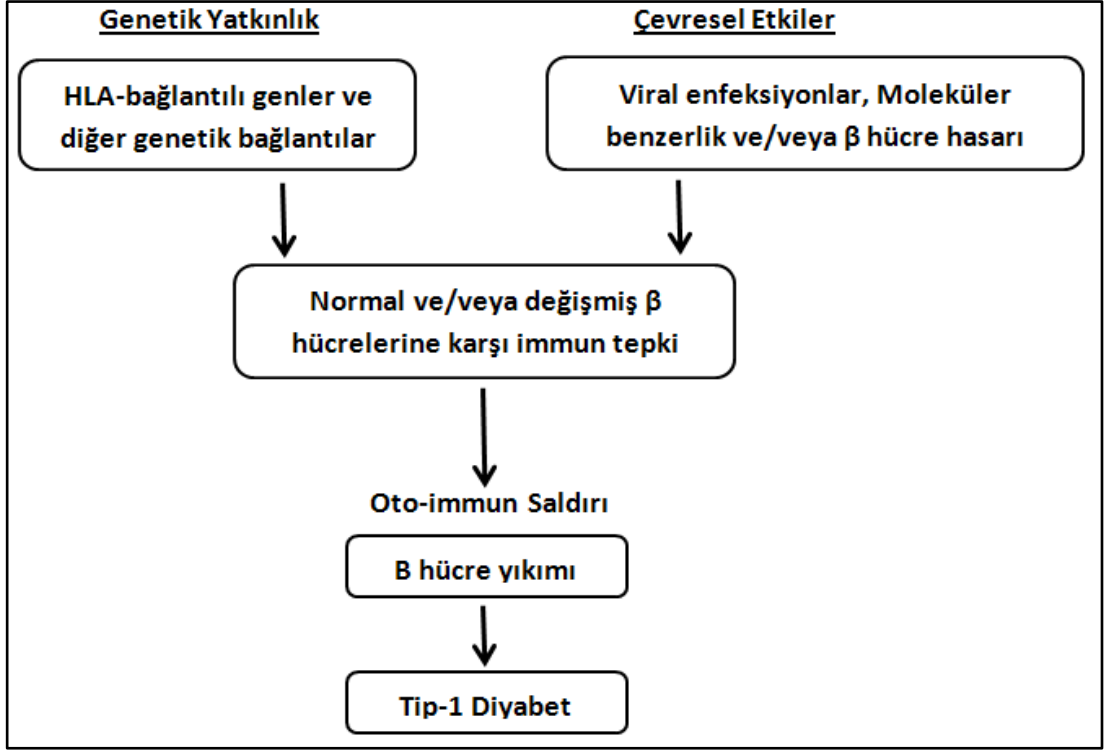
Tip I diyabet; insüline bağımlı diyabet (IDDM) ya da juvenil diyabet olarak ta adlandırılır (4). Tip I diyabet genetik yatkınlığı bulunan, pankreatik  $\beta$  adacık hücrelerinin harabiyeti sonucu insülin hormonu sekresyonunun bozulması ile karakterize otoimmün bir hastalıktır (58).



**Şekil 1.** Pankreatik  $\beta$  Hücresinden İnsülin Salınımı (121)

Tip I diyabetli olguların çoğunluğu otoimmün olup spesifik HLA (Human Leukocyte Antigen) antijenleri ile ilişkilidir (Tip IA diyabet). Fakat Tip I diyabet olgularının %10 kadarında otoimmünite belirtileri saptanamamaktadır. Bunlar da idiyopatik ya da atipik (Tip IB) olarak adlandırılmaktadır (Şekil 2) (4, 33).

Diyabette gözlenen sürekli hiperglisemi, tüm dokularda glukozdan oto-oksidasyon ve protein glukozilasyon ile başta reaktif oksijen türleri (ROS) olmak üzere serbest radikal oluşumunu artırır. Diyabette reaktif oksijen seviyelerinin artışı reaktif oksijen türlerinin artmasından kaynaklanabildiği gibi Katalaz (CAT), Glutasyon (GSH) ve Süperoksit Dismutaz (SOD) antioksidanlarının azalmasından da kaynaklanabilmektedir (146).



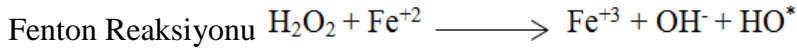
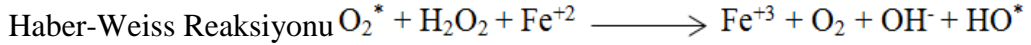
**Şekil 2.** Tip I Diyabetin Patolojisi (121)

Gerschmann ve arkadaşları 1954 yılında oksijen kullanılırken oluşan bazı reaktif ürünlerin iyonize radyasyona benzer toksisiteye neden olabileceğini ileri sürmüşlerdir (82). Serbest radikal olarak adlandırılan bu ürünler, fizyolojik veya patolojik reaksiyonlar esnasında oluşabilen eşlenmemiş elektronu bulunan atom ve moleküllerdir. Oksijen ve nitrojen kaynaklı olan bu moleküller kendilerini nötralize etmek için dışarıdan elektron alırlar (189).

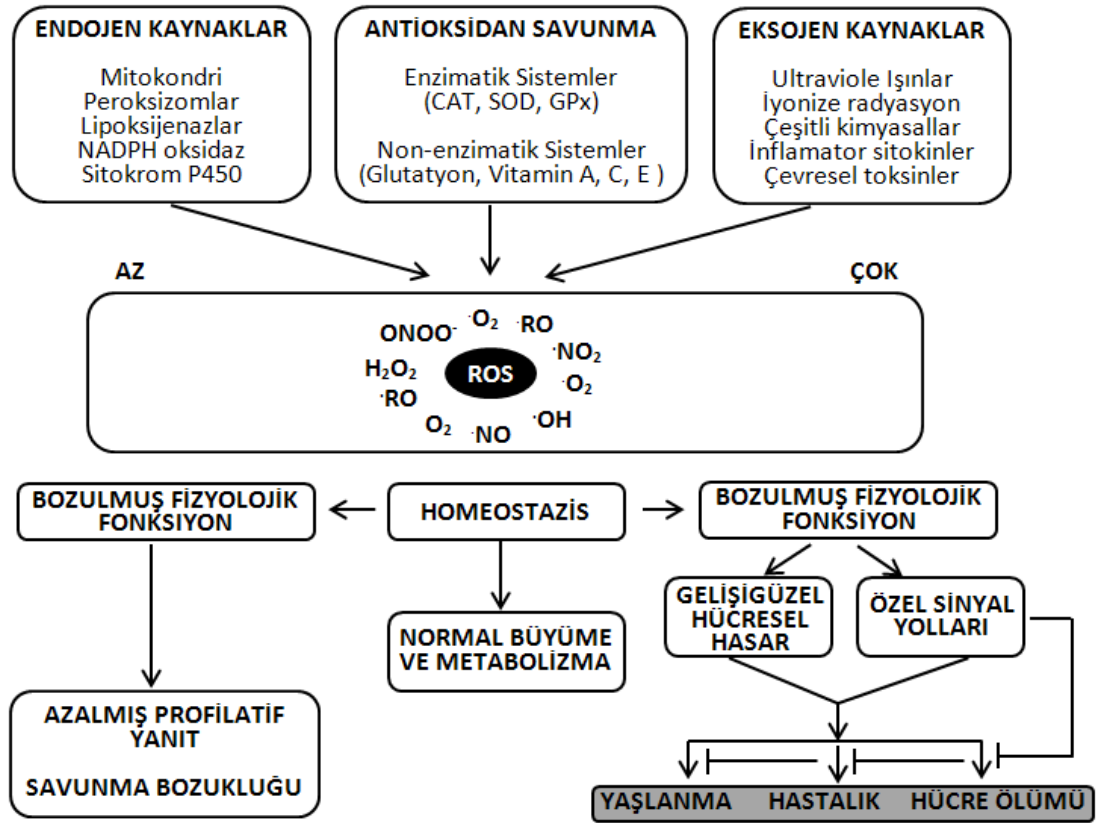
Serbest radikaller, iyonizan radyasyon (88) ile bazı ksenobiyotiklere bağlı oluşabilmenin yanısıra vücuttaki normal oksidoredüksiyon reaksiyonları esnasında da sürekli üretilmektedirler (212). Yine aktif lökosit ve makrofajlar, doku iskemisi ve reperfüzyon ile araşidonik asit kaskadı (168), zorlu egzersiz gibi hücrel metabolizmanın hızlandığı durumlarda, inflamatuvar hücrelerin varlığında (enfeksiyonlar, kronik inflamatuvar hastalıklar, alerjik hastalıklar), yüksek oksijen basıncında, hava kirliliği, sigara dumanı, pestisit, insektisit, bazı ilaç ve çeşitli toksik maddelere maruziyet durumları ile yaşlanma sürecinde de serbest radikal oluşumunda artış gözlenir (188).

Çok sayıda hücrenel bileşenin kontrolsüz oksidasyonu oksidatif stres olarak adlandırılır. Oksidatif stres, lipit peroksidasyonuna, protein oksidasyonuna, DNA mutasyon ve kırıklarına, sitotoksik etkilere ve sinyal iletilerinde bozulmalara neden olabilir (185, 189). Serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarının yaşlanma süreci ve yaşlanmaya bağlı dejeneratif hastalıkların (ateroskleroz, katarakt, diyabet, nörodejeneratif hastalıklar, immun sistem bozuklukları, kanser oluşumu) ilerlemesinde önemli rol oynadığına inanılmaktadır (188).

Canlılığın en temel maddelerinden olan oksijen molekülü hücre için hayati öneme olmakla birlikte; % 2-5 kadarının ise reaktif oksijen türlerinin (ROS) kaynağını oluşturduğu bilinmektedir (Şekil 3) (81). Oksijen molekülünün iki elektronu eşleşmeyen iki elektronundan dolayı bazen oksijen biradikal olarak değerlendirilir. Oksijen molekülünün reaktif bir özelliği olmamasına rağmen diğer radikallerle reaksiyona girme özelliğine sahiptir (250). Oksijen molekülünün kısmi olarak indirgenmesi ile süperoksit anyonu ( $O_2^{\bullet-}$ ) oluşur. Bu molekül, Süperoksit Dismutaz (SOD) enzimi tarafından yarı radikal özellikli bir molekül olan hidrojen perokside ( $H_2O_2$ ) dönüştürülür. Endojen kaynaklı  $H_2O_2$  suya detoksifiye edilmezse metallerin katalizlediği Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonları sonucu  $HO^{\bullet}$  oluşur (266).



Hidrojen peroksit normal şartlarda hücreye zarar vermez. Fakat hücre ortamında kalması ve  $Fe^{++}$  ile  $Cu^{++}$  gibi metal iyonlarının varlığında hidroksil radikalinin ( $^{\bullet}OH$ ) en önemli kaynağını oluşturmaktadır. Hidroksil radikali hücrede oluşunca, hücrenin yapısında yer alan proteinler, lipitler, karbohidratlar ve hatta genetik materyale dahi zarar verici duruma gelir (165, 266).

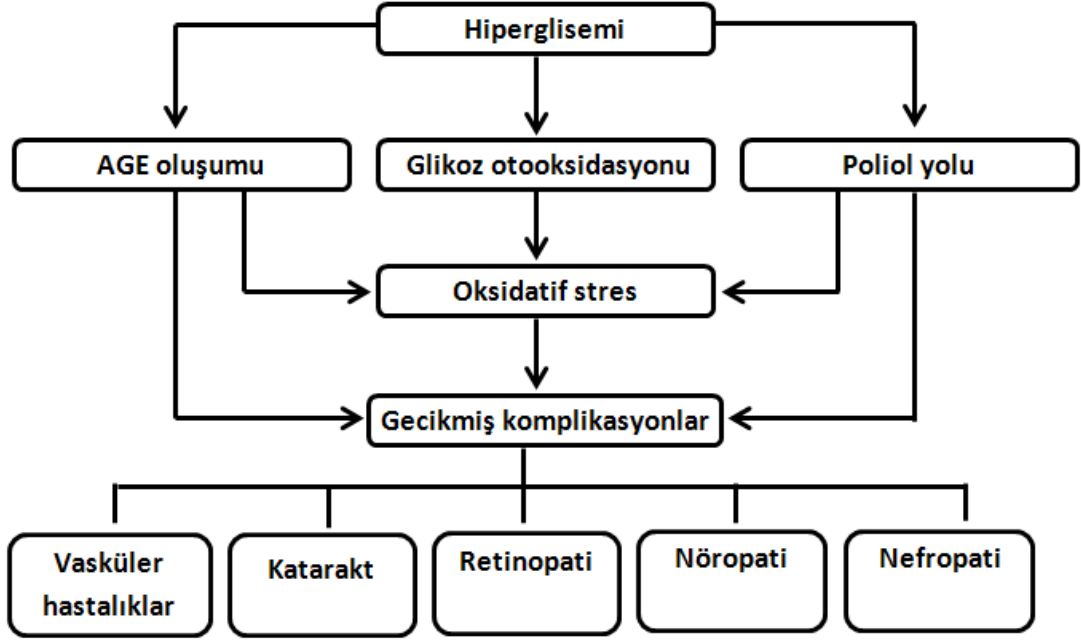


**Şekil 3.** Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) Kaynakları ve Hüresel Yanıtlar (121).

Diyabetteki hiperglisemide reaktif oksijen radikallerinin ve buna bağlı olarak oksidatif stresin artışı başlıca polioll (sorbitol) yolunun ve AGE (ileri derecede glikasyon son ürünleri) oluşumunun uyarılmasıyla olmaktadır (Şekil 4) (181).

Kan şekeri normal değerlerde olduğunda polioll yolunun aktivitesi azalır ya da hiçbir aktivite göstermez (127). Polioll yolunun en önemli enzimi olan ve bu yolun aktivitesini sınırlayan aldoz redüktaz enzimi glukozu sorbitole dönüştürürken, sorbitol dehidrogenaz ise sorbitolü fruktoza çevirir. Sorbitol hücre zarını geçemediğinden hücre içinde birikerek ozmotik etkileriyle piridin nükleotidlerinin redoks durumunu değiştirerek (NADH/NAD<sup>+</sup> oranında ve protein kinaz C'de artış) hücre içi miyoinositol seviyelerini azaltır. Bu durum da vasküler hastalıklar, katarakt, retinopati, nefropati ve nöropati gibi hastalıklara neden olur (241).





Şekil 4. Hiperglisemide AGE Oluşumu ve Poliöl Yolu (181).

## 1.2. Tip I Diyabet ve Lipit Profili

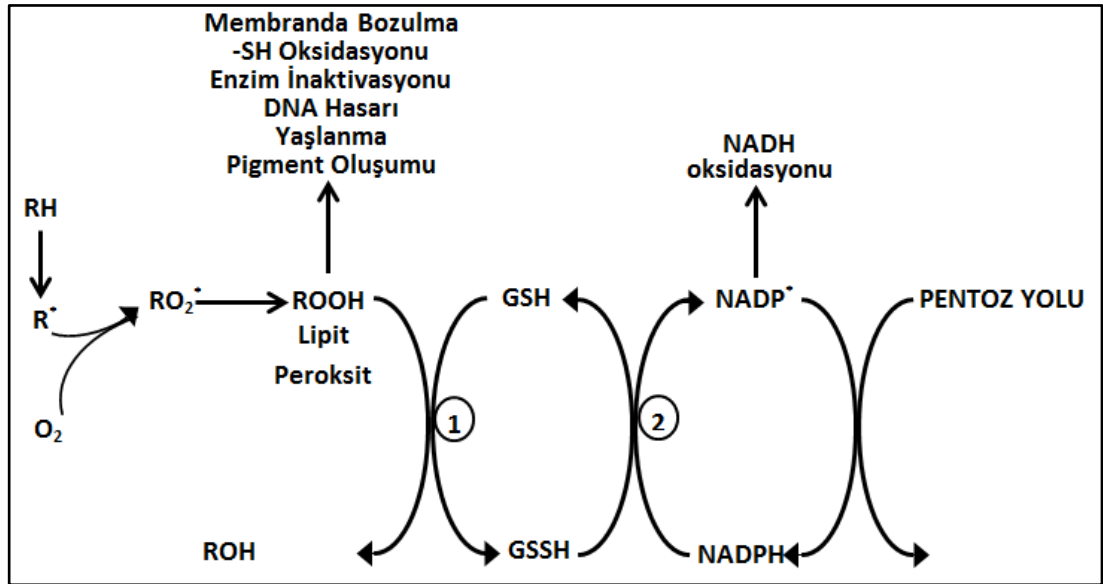
Lipit peroksidasyonu, doymamış yağ asitlerinin moleküler oksijen veya diğer reaktif oksijen türleri ile meydana getirdiği bir serbest radikal reaksiyonudur. Bu reaksiyonda yağ asidi zincirinden  $H^+$  atomlarının koparılması ile yağ asidi zinciri bozularak lipit peroksit moleküllerinin oluşumuna neden olur (266). Bu olayda öncelikle yağ asidi hidrojen ve kendi üzerinde birer elektron kalacak şekilde parçalanır ve lipit radikalini oluşturur. Daha sonra lipit radikali oksijenle reaksiyona girerek lipit peroksil radikalini oluşturur. Lipit peroksil radikali de diğer doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girer. Böylece zincirleme bir reaksiyon başlamış olur. (173, 266). Eğer yağ asidi zinciri doymamış çift bağ içeriyorsa, hidrojen atomlarının koparılması kolaylaşır ve bu durumda da peroksitlerin miktarı artar. Bundan dolayı özellikle hücre zarı ve organellerin yapısında yüksek miktarda bulunan doymamış yağ asitleri reaktif oksijen moleküllerinin ilk tercihleri arasında yer almaktadır (22). Lipit peroksidasyonu membran sertliği, ateroskleroz (170), karsinogenezis (60) ve miyokard enfarktüsü gibi birçok patolojik durumla ilişkili kompleks bir olaydır (147). Ayrıca bir çalışmada (21, 137), diyabette lipit peroksidasyon mekanizmalarının değişebileceği ifade edilmiştir. Diyabet hiperglisemisi lipit

peroksidasyonunu daha fazla tetikler ve bunun sonucu olarak da çeşitli yapısal ve fonksiyonel bozukluklar meydana gelir (Şekil 5) (22).

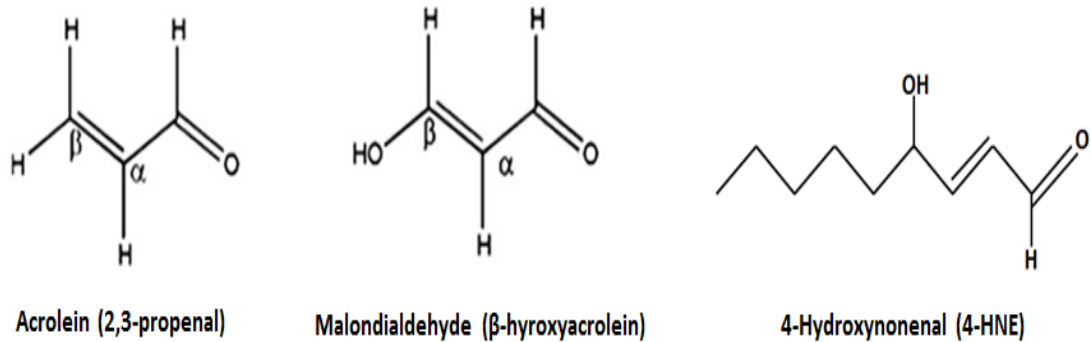
Lipit peroksitler, malondialdehid (MDA) ve 4-hidroksi nonenal gibi yıkım ürünlerine (Şekil 6) dönüştürler. Oluşan bu yıkım ürünleri ise, DNA ve/veya proteinlerle reaksiyona girebilme özelliğine sahiptirler. Üç veya daha fazla çift bağa sahip yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu MDA lipit peroksidasyonunun şiddetiyle orantılı olarak artar. Aynı zamanda MDA oluşumu membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmasına da neden olabilir (173).

Diyabette insülin yetersizliğinin en önemli sonuçlarından biri yağ asitlerinin adipöz dokudan çok hızlı bir şekilde mobilize olmasıdır (142). Yine diyabette artan insülin karşıtı hormonlar (glukagon, kortizol, büyüme hormonu ve epinefrin), lipit sentezinin azalmasına ve lipolizin hızlanmasına neden olmak suretiyle serum total lipit, kolesterol, trigliserit ve serbest yağ asitlerinin de artmasına neden olmaktadır. İnsülin yetersizliği ve glukagon miktarının artışı arasındaki etkileşim sonucu artan serbest yağ asitleri periferik glukozun kullanılamamasına ve keton cisimlerinin (asetoasetat 3-hidroksibütirat ve aseton) üretimin artmasına neden olmaktadır. Artan keton cisimlerinin periferik kullanım ve renal atılım kapasitesini aşması durumunda ise ketoasidoz şekillenmektedir (230).

Çeşitli çalışmalarda bazı antioksidanların (vitamin C ve E, N-asetilsistein, lipoik asit ve glutatyon) lipit peroksidasyon ürünlerini azaltıcı etki gösterdiği ifade edilmiştir (135, 235). Yine lipit peroksidasyon ürünleri (Akrolein (2,3-propenal), Malondialdehit ( $\beta$ -hidroksiakrolein) ve 4-hidroksinonenal) (Şekil 6) olduğu durumlarda; Katalaz, Hem-oksigenaz 1, Süperoksit Dismutaz, Peroksiredoksin ve Glutatyon Redüktaz gibi antioksidan savunma sistemi enzimlerinin önemli derecede azaldıkları bildirilmektedir (223).



Şekil 5. Lipit Peroksitlerin Oluşumu, Etkileri ve Parçalanması (121).



Şekil 6. Lipit Peroksidasyon Ürünleri (200).

### 1.3. Antioksidan Savunma Sistemleri

Canlı hücrelerde bulunan protein, lipit, karbohidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin serbest radikaller tarafından oksidasyonunu önleyebilen veya geciktirebilen maddelere antioksidan (97) ve bu olaya ise antioksidan savunma denir (52).

Antioksidanlar, oksidanları 4 farklı mekanizma ile etkisizleştirirler (87, 266).

**I. Scavenging (temizleme) etkisi:** Oksidanları daha zayıf bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirir. Antioksidan enzimler ve mikromoleküller bu yolla etki eder.

**II. Quencher (baskılama) etkisi:** Oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirir. Vitaminler ve flavonoidler ise etkilerini bu yolla gösterirler.

**III. Repair (onarım) etkisi:** Oksidatif hasar görmüş biyomolekülleri onarmadır.

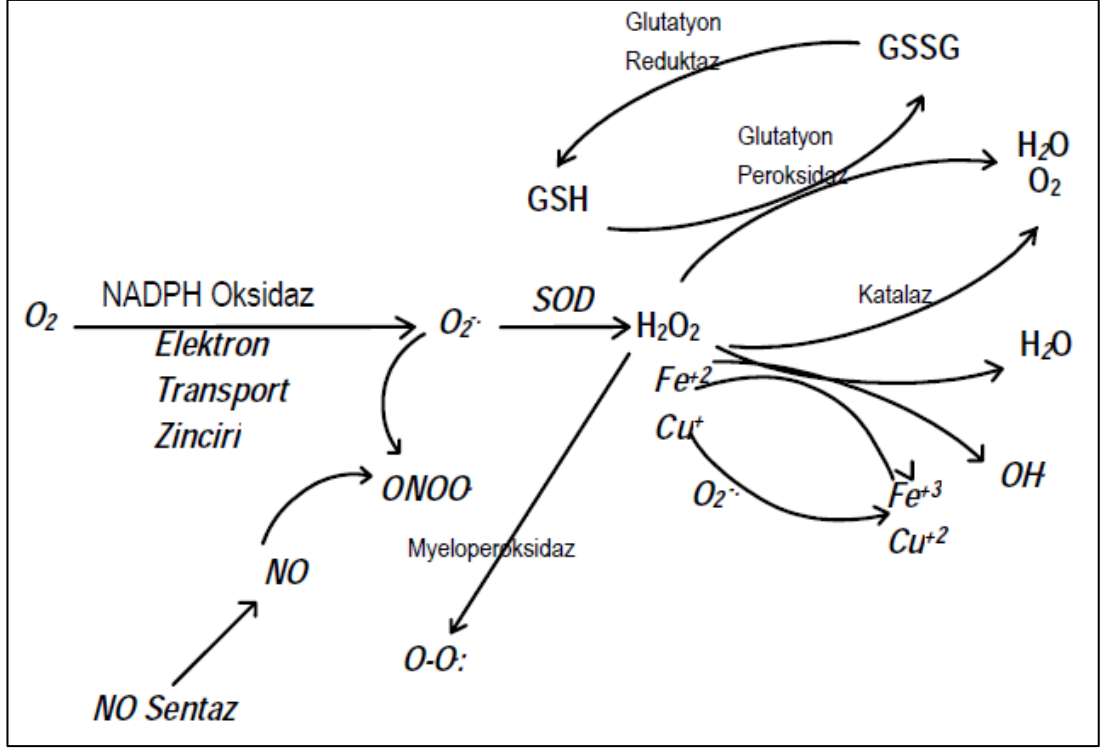
**IV. Chain breaking (zincir koparma) etkisi:** Oksidanları kendilerine bağlayarak fonksiyonlarını engellemez. Bazı ağır metaller, hemoglobin, seruloplazmin ve E vitamini ise etkilerini bu şekilde etki gösterirler.

Antioksidanlar oksijen konsantrasyonunu azaltmak ve hidroksil radikallerini temizlemek suretiyle lipid peroksidasyonunun başlamasını önleyebilirler. Bunun yanında geçiş metal iyonlarını bağlayıp etkisizleştirerek lipid peroksidlerin alkol gibi nonradikal ürünlere dönüşümünde etkin rol oynarlar. Antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayan (non-enzimatik) antioksidanlar olmak üzere iki genel gruba ayrılırlar (87).

### **1.3.1. Enzimatik Antioksidanlar**

Enzimatik yapıda olan bu antioksidanlar vücutta üretildikleri için endojen antioksidanlar olarak da adlandırılırlar (218).

Bu antioksidanlar; Süperoksit Dismutaz (SOD), Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) (47, 86), Katalaz (51, 218), Glutasyon Redüktaz, Glutasyon-S-Transferaz ve Sitokrom Oksidazlardır (155). Bakır, çinko, manganez ve selenyum gibi mineraller de bu antioksidan maddelerin etkinlikleri için gereklidir (220).

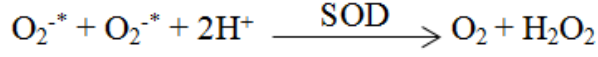


Şekil 7. Serbest Radikallerin Oluşumu ve Enzimatik Detoksifikasyonu (250).

### 1.3.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit Dismutaz (SOD), metalloenzim yapısında bir antioksidandır. Endojen olarak üretilen ve organizmayı oluşturan her hücre için esansiyel olan (18), en etkin intrasellüler antioksidanlardan biridir (57). SOD esas olarak 3 farklı formda bulunmaktadır. Vücutta en bol olarak bulunan Cu-Zn-SOD sitoplazmada yer almaktadır. Mn-SOD mitokondride yerleşmiştir (220, 266). Vasküler endotele bağlı olarak bulunan Cu-SOD ise plazmada bulunan süperoksit radikallerini metabolize etmektedir (266). Bu üç formun dışında *E. Coli*, *Bacteroides fragilis* ve *Propionibacterium shermani* bakterilerinde anaerobik ortamda demir içeren Fe-SOD ve aerobik ortamda ise manganez içeren Mn-SOD özel bir sistem olarak bulunmaktadır. Yine *Streptomyces griseus* bakterilerinde tanımlanan ve homotetramerik yapıda olan ve nikel içeren Ni-SOD bir izoenzim olarak bulunmaktadır (18).

SOD bir süperoksit radikalini  $O_2$  molekülüne yükseltgeyip, diğer bir süperoksit radikalini ise daha az reaktif bir molekül olan hidrojen perokside ( $H_2O_2$ ) indirgenmesini katalize eder (Şekil 7) (132, 164).

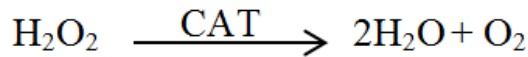


SOD'un antioksidan etkisi süperoksit ile  $Fe^{3+}$  'ün,  $Fe^{2+}$ 'ye indirgenmesi sonucunda hidroksil radikalinin oluşmasının engellenmesi şeklindedir (18). Diyabette SOD düzeylerinin arttığı, değişmediği veya azaldığı şeklinde birbiriyle çelişen çalışmalar vardır (132, 164).

### 1.3.1.2. Katalaz (CAT)

Her biri bir prostetik grup olan ve yapısında  $Fe^{+3}$  bulunduran 4 hem grubundan oluşmuş bir hemoproteindir. Peroksizomlarda lokalize olmuştur. Hayvansal organizmaların aerobik hücrelerinde; özellikle karaciğer, böbrek ve eritrositlerde yoğun olarak bulunmaktadır. Bunun yanında beyin, kalp ve iskelet kasları da düşük miktarlarda CAT içermektedir.

SOD oluşturduğu  $H_2O_2$ 'i katalaz peroksidazlar ile birlikte oksijen ve suya parçalar (Şekil 7) (78, 266). GSH-Px  $H_2O_2$ 'e karşı  $K_m$ 'i katalaza göre daha düşüktür. Yani düşük konsantrasyonlarda  $H_2O_2$ 'i GSH-Px parçalar, yüksek konsantrasyonlarda ise CAT aktivite kazanır (266).

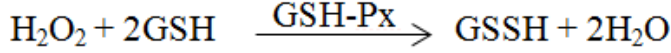


Şayet CAT ve GSH-Px enzimlerinin aktiviteleri artmadan SOD enziminin aktivitesi artarsa  $H_2O_2$  birikmesine ve böylece hidroksil radikallerinin oluşmasına neden olur (78). Tip-2 diyabetli hastalarda yapılan bazı çalışmalarda CAT seviyelerinde artış belirtilirken (164), başka çalışmalarda ise azalış gösterilmiştir (132).

### 1.3.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

Oksidatif strese karşı savunmada önemli rol oynayan Glutatyon Peroksidaz selenyum-bağımlı GSH-Px ve selenyum-bağımsız GSH-Px olmak üzere iki gruba ayrılır (43). Selenyuma bağımlı GSH-Px dört atom selenyum bağladığı için seleno-

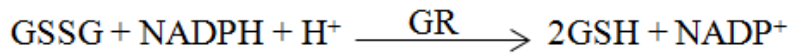
sistein bileşiği sınıfına girer ve sahip olduğu katalitik aktivitesini de bu özelliğine borçludur (78). Selenyum-bağımlı GSH-Px; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve organik hidroperoksitleri indirgeyebilir. Selenyuma bağımlı olmayan GSH-Px ise H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> için inaktif olup yalnızca organik hidroperoksitlerin indirgenmesini katalizlerler (43). Glutasyon Peroksidaz Redükte Glutasyonu yükseltirken hidrojen peroksiti (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) suya çevirir (Şekil 7) (78).



Eritrositlerde bulunan en kuvvetli antioksidan madde olan GSH-Px; E vitamini eksikliğinde hücre membranını lipit peroksidasyonuna karşı korur (78). Yapılan bir çalışmada (132) diyabette GSH-Px aktivitesinde azalış belirtilmiştir.

#### 1.3.1.4. Glutasyon Redüktaz (GR)

Glutasyon Redüktaz (GR), yükseltgenmiş Glutasyonu (GSSH) tekrardan indirgenmiş hale çeviren 2 subüniteden oluşmuş bir dimerdir. Her bir subünite NADPH bağlayan alan, FAD bağlayan alan ve ara yüz alanı olmak üzere 3 tane yapısal alan içerir. Okside glutasyonun (GSSH) bir subünitenin FAD alanı ile diğer subünitenin arayüz alanından oluşan bir bağlanma bölgesi vardır. Glutasyonun indirgenme reaksiyonu sırasında sıklıkla elektronlar NADPH'dan FAD'a transfer edilir. Daha sonra subünitelerdeki iki sistein arasında bulunan disülfid köprüsüne transfer edilmek suretiyle okside glutatona aktarılmış olunur (Şekil 7) (98).



Bazı araştırmacılar (132) diyabette Glutasyon Redüktaz aktivitesinin azaldığını ifade etmişlerdir.

#### 1.3.1.5. Glutasyon S-Transferaz (GST)

Glutasyon S-Transferaz (GST), çok substratlı bir enzimdir. GSH'un kosubstratına özgül olan bir G bölgesi ve hidrofobik elektrofilik substratların bağlandığı H bölgesi vardır. GSH'un tiyol grubu, cebin açık olan kısmına dönüktür. Diğer substratlara bağlanan grup, bu tiyol grubudur (6). Başta karaciğer olmak üzere, incebağırsak,

kalın barsak, böbrek gibi birçok organın sitosolü ve membranında bulunur (95). GST, besinlerle birlikte alınan toksik maddelerin eliminasyonunu sağladığı gibi, prostoglandinlerin izomerizasyonu, hem, bilirubin, safra tuzları ve yağ asitleri gibi nonsubstrat ligandları GSH ile bağlayarak taşınmasını da sağlamaktadır (27). Ayrıca aynı tür bileşikleri birbirine kovalent bağlarla bağlayarak reaktif elektrofilik bileşiklerin vücuda zarar vermesini de önleyebilmektedir (245).

### **1.3.2. Nonenzimatik Antioksidanlar**

Lipofilik ve suda çözünen enzimatik olmayan antioksidanlar olarak iki gruba ayrılmaktadırlar. Lipofilik enzimatik olmayan antioksidanlara örnek olarak E vitamini, karotenoidler ve melatonin verilebilirken; suda çözünen enzimatik olmayan antioksidanlara C vitamini, glutatyon, ürik asit, seroplasmin, transferin, haptoglobulin verilebilir (52).

#### **1.3.2.1. Glutatyon (GSH)**

Bitkiler, hayvanlar ve mikroorganizmalarda bulunan GSH, aynı zamanda en bol bulunan intrasellüler tiyoldür (130). GSH çoğu memeli hücresinde en önemli antioksidandır. Tripeptit yapıdaki bu antioksidan  $\gamma$ -Glutamat(Glu)-Sistein(Sys)-Glisin (Cys)'den oluşmakta olup, önce  $\gamma$ -peptit bağıyla sistein ve glutamatın bağlanması sonrasında ise bu zincire GSH sentaz tarafından glisinin eklenmesiyle oluşur (5).

Memeli hücreleri 0.2-10 mM düzeyinde GSH içerir (5). Bunun yanında karaciğerin GSH içeriği böbrek ve testislerin yaklaşık 2 katı, akciğerin ise yaklaşık 3 katı daha fazladır (198). GSH'nın ana depo organı karaciğerdir. GSH en yüksek oranda karaciğerin hepatositlerinde (10 mM) tespit edilmiştir (149).

GSH aminoasit transportu, deoksiribonükleotit sentezi, protein tiyol gruplarının korunması ile elektrofilik xenobiyotiklerin detoksifikasyonu ve ROS'un hücrelerden uzaklaştırılması gibi çok sayıda hücresel fonksiyona sahiptir (159).

GSH ayrıca askorbat ve  $\alpha$ -tokoferol gibi antioksidan moleküllerin korunmasında, bazı ilaçların inaktivasyonunda, radyasyona karşı korunmada, östrojen, prostoglandin



ve lökotrienler gibi bazı endojen bileşiklerin metabolik işlemlerinde de görev alır (160, 161).

### **1.3.2.2. Alfa Lipoik Asit (ALA)**

Hem yağda hem de suda çözünebilen tek antioksidan olan Alfa lipoik asit; radikal metabolit üretiminin önlenmesi, üretilmiş radikallerin temizlenmesi, oluşan hücre haraplanmasının onarılması, sekonder radikal üreten zincir reaksiyonlarının durdurulması ve endojen antioksidan kapasitenin artırılması gibi antioksidan savunma sisteminin bütün basamaklarında etkili olduğu için evrensel antioksidan olarak adlandırılmaktadır (122, 172). Lipoik asit ilk kez Reed ve ark. tarafından 1951 yılında izole edilmiş olmasına rağmen (199) aslında 1937 yılında *Laktobasilus*'un gelişimi için gerekli olan growth faktör denilen patates ekstresinin bir bileşeni olarak bulunmuştur (227).

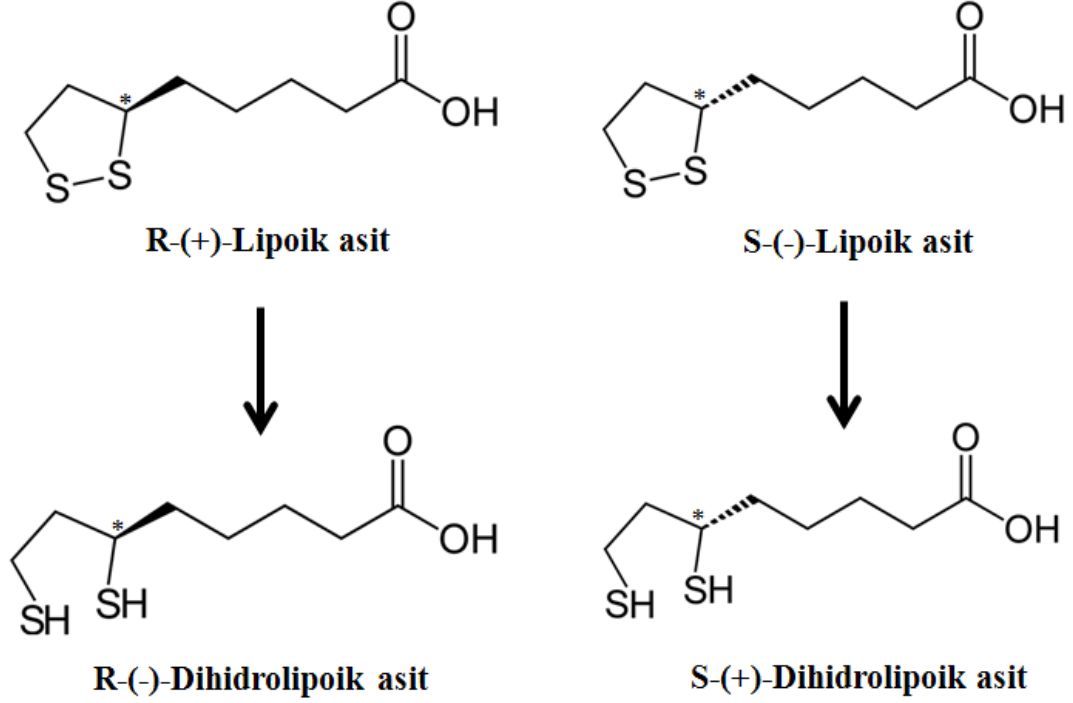
Alfa lipoik asit bazı yiyeceklerde bulunmasının yanısıra aynı zamanda vücutta da sentezlenen doğal bir maddedir. Mitokondriyal kompleksleri bol olan hayvan ve bitki dokularında bol miktarda bulunur. En fazla Lipoik asit içeren bitkiler sırasıyla ıspanak, brokoli ve domatestir. Hayvan dokuları içerisinde ise en fazla böbrek, kalp ve karaciğer dokularında bulunmaktadır (133). Memeli dokuları 5-25 nmol/g Alfa lipoik asit içermekle birlikte bunun neredeyse tamamı proteinlere bağlı formda bulunur. Dışarıdan verilmediği sürece hücrede çok az miktarda serbest Lipoik asit bulunmaktadır (192).

#### **1.3.2.2.1. Alfa Lipoik Asitin Yapısı**

Lipoik asitin; 1,2 dithiolane-3-pentanoic acid, 6,8 thioctic acid ve 1,2 dithiolane-3-valeric acid gibi birçok kimyasal ismi bulunmaktadır (182, 183). Beşli halka yapısı içeren Lipoik asitin bu halkalarında iki sülfür atomu bulunmaktadır. Sülfür atomlarından başka ayrıca birde karboksilik asit grubu da mevcuttur (192). Lipoik asit yapısında bulundurduğu bu disülfid yapıdan dolayı tiyol bileşikleri grubu içerisinde yer almaktadır (9).

Lipoik asit iki formda bulunmaktadır. Bunlardan okside formuna Alfa lipoik asit ya da sadece Lipoik asit denilmektedir. Lipoik asitin birde Dihidrolipoik asit (DHLA)

adı verilen indirgenmiş formu bulunmaktadır. Lipoik asit asimetrik karbon atomu içerdiğinden dolayı S- ve R- olmak üzere 2 ayrı formu bulunmaktadır (Şekil 8) (38).



**Şekil 8.** Lipoik Asit ve Dihidrolipoik Asidin R- ve S- Formları

Lipoik asitin her iki formu da oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları ile birbirlerine dönüşebilme özelliğine sahiptir (184, 211). Gerek redükte gerekse okside formları biyolojik aktivite göstermesine karşın Lipoik asitin en aktif formunun Dihidrolipoik asit formu olduğu belirtilmektedir (32). Lipoik asitin R formunun S formundan 28 kat daha hızlı olduğu, bu nedenle de R formunun daha aktif olduğu ifade edilmektedir (19).

#### 1.3.2.2.2. Alfa Lipoik Asitin Metabolizması

Lipoik asit mitokondrideki oktanoik asit ve bir sülfür kaynağından sentez edilmektedir (122). Prüvat Dehidrogenaz,  $\alpha$ -Ketoglutarat Dehidrogenaz, dallı zincir yapıda  $\alpha$ -ketoasit dehidrogenaz ve glisin karboksilaz gibi farklı multienzim komplekslerini içeren Lipoik asit, enerji metabolizmasında kofaktör olarak önemli rol oynar (67). Oral olarak alındığında %93'ünden fazlası barsaklardan emilir. Lipoik asitin emilimi takiben 1,2 ditiyolen halkasının indirgenmesi daha aktif formu olan

Dihidrolipoik asit formuna indirgenmesine neden olur (46). Lipoik asitin tüm formlarının (kristal, sıvı ya da gaz) biyoyararlılığı oldukça yüksektir (133).

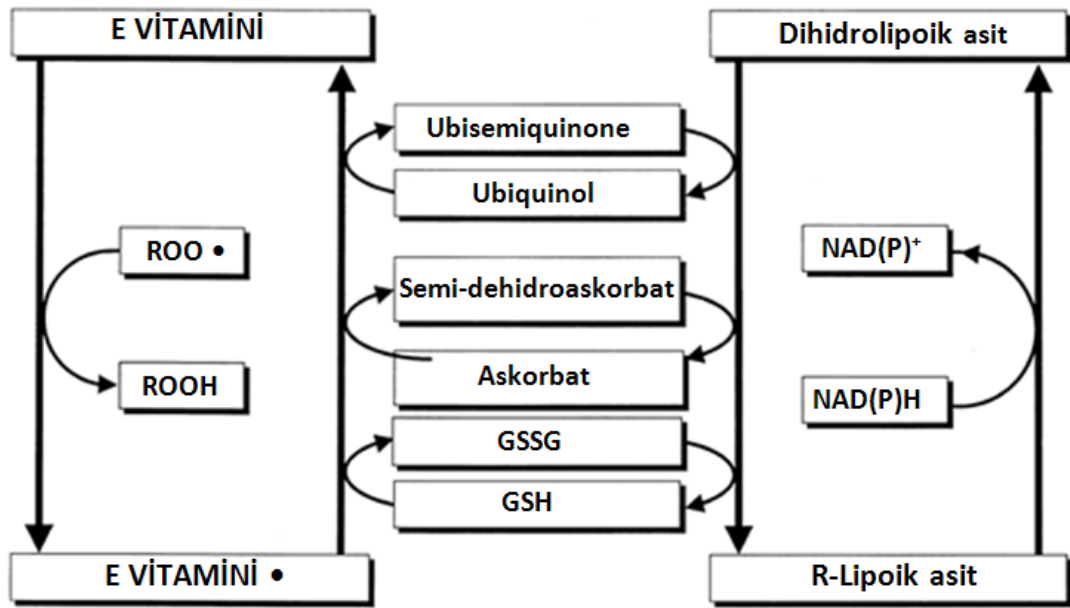
İnsanlar için Lipoik asitin kullanılabilir üst sınırı belirlenmemiş olmasına karşın hayvanlarda LD<sub>50</sub> dozları hayvan türüne bağlı olarak değişiklik gösterir. Bu doz köpeklerde 400-500 mg/kg (184), kedilerde 30 mg/kg (107), farelerde 500 mg/kg (24) ve ratlarda > 2000 mg/kg (46) olarak belirlenmiştir. İnsanlarda intravenöz olarak 600 mg/kg/gün dozunda 3 hafta boyunca (268) ve oral olarak günde 3 defa (600 mg) olmak üzere 6 ay boyunca 1800 mg Lipoik asit uygulaması (267) sonucu herhangi bir yan etki gözlenmemiştir.

### 1.3.2.2.3. Alfa Lipoik Asitin Antioksidan Özelliği

Direkt antioksidan aktivitesinin yanısıra, Alfa lipoik asit ve onun redükte formu olan Dihidrolipoik asitin aktive olmayan okside glutatyon, C vitamini, E vitamini ve koenzim Q10 gibi non-enzimatik antioksidanları aktive ettiği bildirilmiştir (Şekil 9) (24, 133).

Bütün antioksidanları redükte edebilen DHLA'nın, Lipoamid Redüktaz, Glutatyon Redüktaz ve Tiyoredoksin Redüktaz enzimlerini rejenere edebildiği gösterilmiştir. Bu özellikleriyle Lipoik asit ve onun indirgenmiş formu DHLA antioksidan ağda merkezi bir görev üstlenirler (Şekil 9). Lipoik asit suda ve yağda çözünme özelliklerine sahip olduğundan lipit ve su fazları arasındaki okside antioksidanların indirgenmesini sağlar (190, 216).

Lipoik asit, lipit peroksidasyonu gibi birçok süreçte üretilen reaktif oksijen radikallerini süpürücü etki gösterir (Tablo 1) (182). Dihidrolipoik asit endojen antioksidanları rejenere etmek suretiyle oksidatif hasarı tamir ederken, hem dihidrolipoik asit hem de lipoik asit metal şelasyonu ve serbest oksijen ürünlerini uzaklaştırabilme kapasitesine sahiptir. Lipoik asit Mn<sup>+2</sup>, Cu<sup>+2</sup>, Zn<sup>+2</sup> ve Pb<sup>+2</sup> şelasyonu ile antioksidan aktivite gösterirken (221), Dihidrolipoik asit Co<sup>+2</sup>, Ni<sup>+2</sup>, Cu<sup>+2</sup>, Zn<sup>+2</sup>, Pb<sup>+2</sup> ve Hg<sup>+2</sup> ile Fe<sup>+3</sup> ve onun bileşikleriyle Fe<sup>+2</sup>'den daha kararlı şelatlar oluşturabilir (125).



**Şekil 9.** E Vitamini, C Vitamini, Ubikinol, Glutasyon ve R-Lipoik Asitin Redoks Siklusunda Aralarındaki Etkileşimi Gösteren Antioksidan Ağ (181).

**Tablo 1.** Lipoik Asit ve Dihidrolipoik Asitin Süpürülmesinde Etkili Oldukları Reaktif Oksijen Türleri (181, 182).

OKSİDAN	LİPOİK ASİT	DİHİDROLİPOİK ASİT
Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )	Evet	Evet
Singlet oksijen ( $^1O_2$ )	Evet	Hayır
Hidroksil radikali ( $OH^\cdot$ )	Evet	Evet
Nitrik oksit radikali ( $NO^\cdot$ )	Evet	Evet
Süperoksit radikali ( $O_2^\cdot$ )	Hayır	Evet
Hipokloröz asit (HOCl)	Evet	Evet
Peroksinitrit ( $ONOO^-$ )	Evet	Evet
Peroksil radikali ( $ROO^*$ )	Hayır	Evet

Yaşlanma ile birlikte miyokartta oksidan üretimi artmakta, C vitamini seviyeleri önemli şekilde azalmakta ve belirgin olarak oksidatif DNA hasarı gözlenmektedir. Lipoik asit uygulaması ile birlikte yaşlanma ile oluşan bu C vitamini eksikliğinin düzeltildiği, miyokardiyal oksidan üretiminin ve oksidatif DNA hasarının azaltıldığı ifade edilmiştir (237).

Paker ve ark. düşük dozdaki Lipoik asitin (20 mg/kg ip.) bile 3 ay uygulanmasından sonra el sinirlerinde iletim hızını normale çevirdiğini fakat bu etkinin 1 aydan önce

görülmediğini bildirmişlerdir (182). Yine eksojen uygulanan lipoik asit beyin ve periferel sinirlerde birikim göstermektedir. Alfa lipoik asit verilmesinin ratlarda beyinin değişik bölgelerinde lipit peroksidasyon ürünleri birikimini % 50 oranında azalttığı belirtilmiştir. Bu özellikleri ile Lipoik asit diğer antioksidanlar ile kıyaslandığında serbest radikal kaynaklı beyin ve sinir sistemi bozukluklarını tedavi etmek ya da önlemek için ideal terapötik bir tiol bileşenidir (182).

2 ay boyunca diyetle %2 kolesterol ve %6 mısır yağı verilen erkek tavşanlara intraperitoneal enjeksiyonla uygulanan 1 mg/kg Alfa lipoik asitin diyetle ilgili serum kolesterol ve lipoprotein artışı üzerinde, ayrıca aorttaki aterosklerotik plak oluşumunda herhangi bir etkisinin olmadığı; ancak Alfa lipoik asit verilen hayvanların ağırlıklarının diğerlerine oranla daha az olduğu bildirilmiştir (134). Yine yapılan başka bir çalışmada (209) diyabetli hastalarda Alfa lipoik asit uygulamasının trigliserit, kolesterol ve HDL-kolesterol seviyeleri üzerinde herhangi bir etkisi olmadığı ifade edilmiştir. Tüm bunların aksine Zulkhairi ve ark. yapmış oldukları çalışmada %1 oranında yüksek kolesterol içerikli diyetle beslenen tavşanlara 10 hafta boyunca eş zamanlı olarak verilen 4.2 g/kg dozunda Lipoik asitin lipit profilini kontrol grubuna oranla önemli bir şekilde azalttığını, ayrıca yüksek kolesterolle beslenen hayvanlarda aterosklerozun gelişimini engelleyebileceğini belirtmişlerdir (271).

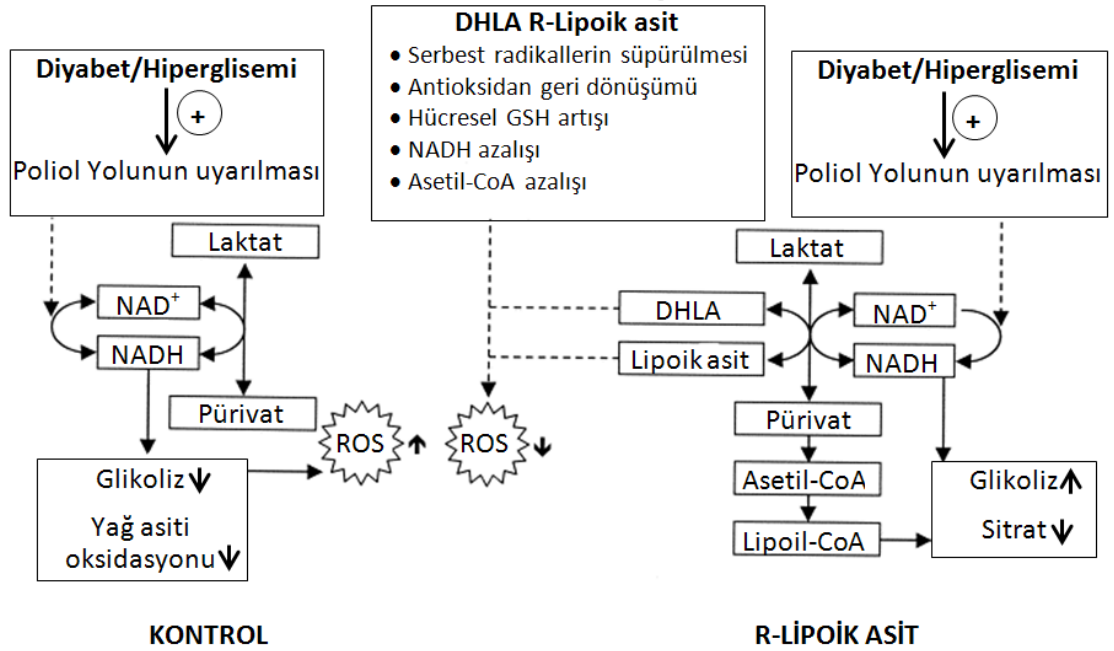
#### **1.3.2.2.4. Alfa Lipoik Asit ve Diyabet**

İn-vitro ve in-vivo birçok çalışma ile Alfa lipoik asitin anti-hiperglisemik etkileri araştırılmış, Alfa lipoik asitin kas hücrelerinin (116), diyafragmanın (101), eritrositlerin (118) kalp kasının (234) ve adipositlerin (263) glukoz alımını artırdığı tespit edilmiştir. Alfa lipoik asit ayrıca glikojen sentezini arttırmasının yanı sıra (106) glikoneogenezisi baskılayarak bu yolla (116) hem sağlıklı hem de diyabetli bireylerde oksidatif stresin azalmasına katkıda bulunmaktadır (25).

Streptozotocin ile diyabet oluşturulmuş ratlara yüksek dozda R ve S Lipoik asit türevlerinin intravenöz verilmesinin hızlı bir şekilde kan glukoz seviyelerini düşürdüğü, buna karşın insülin seviyelerini ise değiştirmedeği belirlenmiştir (128).

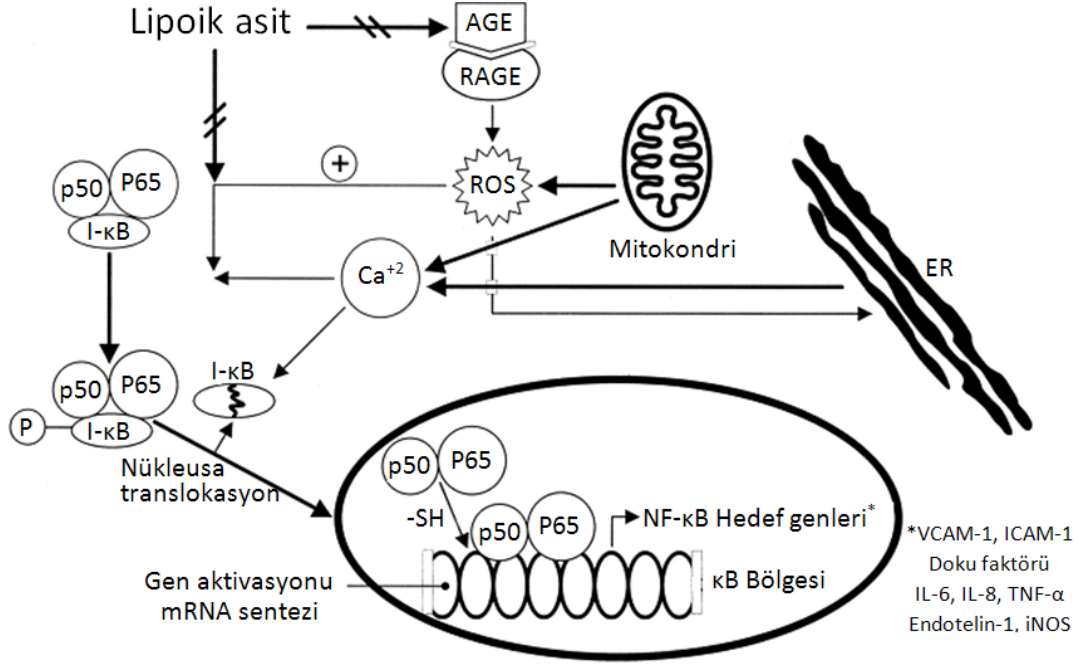
Bhatti ve ark. (23) Lipoik asitin oksidatif stresi azaltmak suretiyle böbreklerde koruyucu etki gösterdiğini, bu etkiyi spesifik olarak NADPH kaynaklı  $O_2^{\cdot-}$  üretimini azaltmak ve NADPH oksidaz subünitelerinin ekspresyonunu düzenlemek yoluyla gerçekleştirdiğini ifade etmektedirler. Yine Melhem ve arkadaşları da (162) diyetle alınan Lipoik asitin streptozotocin ile oluşturulan diyabette görülen glomerular hasarın erken oluşumunu engellediğini ifade etmektedir.

Diyabette NADH seviyelerinin artması poliol yolunun uyarılmasına neden olur. R-Lipoik asiti Dihidrolipoik asite dönüştürmek için NADH kullanılır. Bunun sonucunda  $NAD^+$ 'nin oranı NADH'a göre artar ve bu şekilde glikoliz uyarılmış olur (Şekil 10) (207).



**Şekil 10.** Diyabette Polioll Yolu ve Lipoik Asit (181).

Diyabetteki hiperglisemiye bağlı oluşan AGE'nin (ileri derecede glikasyon son ürünleri) reaktif oksijen radikallerini ve buna bağlı olarak ta oksidatif stresi arttırdığı gözlenmiştir (Şekil 4) (181). Diyabetin ateroskleroz gibi vasküler komplikasyonlarında AGE oluştuğu bildirilmektedir (28, 83). Lipoik asit AGE oluşumunu engellemek suretiyle gerek vasküler komplikasyonları gerekse oksidatif hasarı önleyebilmektedir (Şekil 11) (181).



**Şekil 11.** Diyabetin Vasküler Komplikasyonlarında AGE Oluşumu ve Lipoik Asit (181).

### 1.3.2.3. C Vitamini (Askorbik Asit)

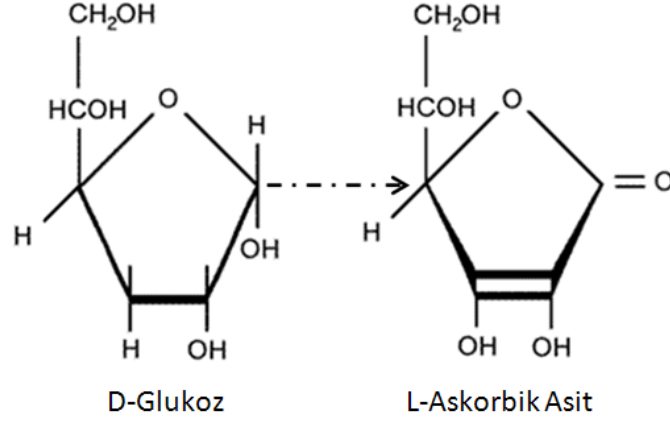
1920 yılında keşfedilen C vitamini askorbik asit adıyla da anılmaktadır (54). C vitamini insanlarda sentezlenemeyen bu nedenle besinlerle dışarıdan alınması gereken çok fonksiyonlu bir antioksidan vitamindir (93, 208). Diyetle alınması zorunlu olan C vitamininin yeterli oranda alınmaması sonucu diş eti çekilmesi diye de adlandırılan ve tedavi edilmediği durumda ölümcül olabilen iskorbüt hastalığı şekillenir (112).

C vitamini sütte ve karaciğerde bir miktar bulunmakla birlikte en önemli kaynağı turuncuğiller, kuşburnu, domates, yeşilbiber, patates, lifli sebzeler ve kuşüzümü gibi taze meyve ve sebzelerdir. 100 gramında 1 g etken madde içeren kuşburnu bilinenin aksine portakal ve limondan 20 kat daha fazla C vitamini içermektedir (54).

C vitamini düzeyleri dokudan dokuya farklılık göstermektedir. Sağlıklı insanlarda plazmada 50-200 µmol/L düzeylerindekiyken, lens, beyin, akciğer ve adrenal bezde daha yüksek seviyelerde bulunur (93, 208).

### 1.3.2.3.1. C Vitamininin Yapısı

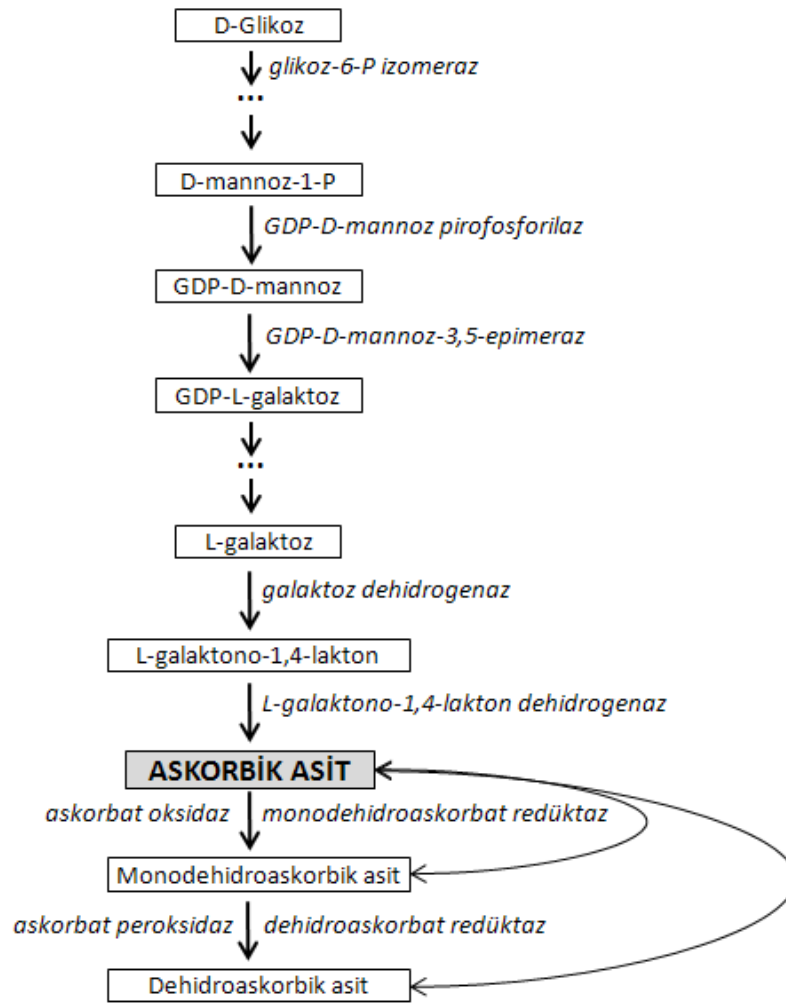
Moleküler formülü  $C_6H_8O_6$  olan grimsi beyaz renkteki C vitamininin diğer bir ismi de Askorbik asit ya da L-Askorbik asittir (54). Bitkiler ve birçok hayvan glukozdan askorbik asit sentezleyebilirler (Şekil 12). İnsanlar ve primatlar L-gulonolakton oksidaz enzimine sahip olmadıklarından askorbik asit sentezleyemezler (174).



Şekil 12. D-Glukoz ve L-Askorbik Asitin Moleküler Yapıları (187).

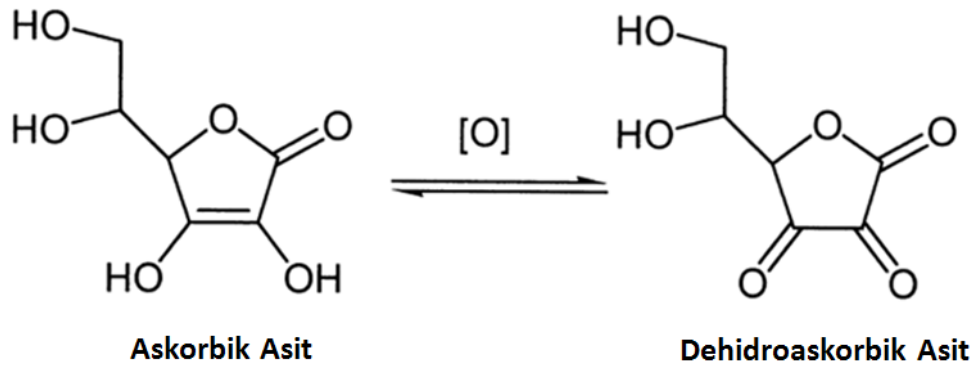
Bütün bitkiler askorbik asiti glukozdan GDP-D-mannoz, GDP-L-galaktoz, L-galaktoz ve L-galaktone-1,4-lakton (GaIL) şeklinde dört adımlık bir yolla (Smirnoff-Wheeler yolağı) sentezlemektedirler (Şekil 13) (225). İnsanlar hariç diğer primatlar, kobaylar, bazı kuşlar ve teleost balıklar ise askorbik asiti UDP-D-glukronik asit, Glukronik asit/Glukronolakton ve L-glukronik asit/L-glono-1,4-lakton yolu ile sentezlerler (40). Bununla birlikte, ratların kendilerine yetecek kadar Askorbik asit sentezleyebilme yetenekleri olduğu ifade edilmektedir (54).





Şekil 13. Bitkilerde Askorbik Asitin Biyosentez ve Oksidasyon Yolağı (17).

Askorbik asit geri dönüşümlü olarak dehidroaskorbik asit'e okside olabilir (Şekil 14) (68).

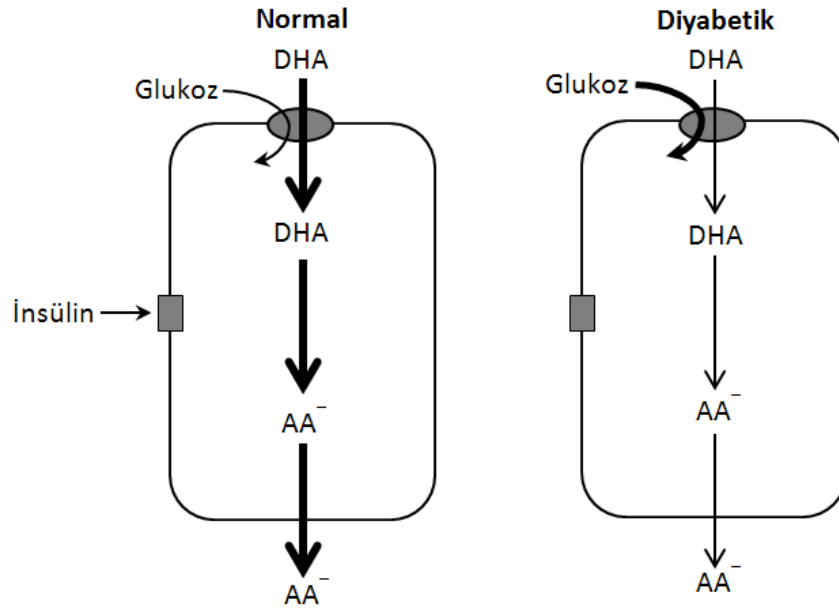


Şekil 14. Askorbik Asit ile Dehidroaskorbik Asit Arasındaki Denge (68).

### 1.3.2.3.2. C Vitamininin Metabolizması

C vitamininin emilimi mideden (93) ve ince barsaktan gerçekleşir (89). C vitamini insan ve hayvanlarda  $\text{Na}^+$ 'a bağımlı olarak taşınır (74). Bunun için de metabolik enerjiye gereksinim vardır (253). Askorbik asitin okside formu olan dehidroaskorbik asit ise  $\text{Na}^+$ 'dan bağımsız olarak metabolik enerjiye gereksinim olmadan taşınır (104).

İnsülinin miktarının artışı glukoz taşıyıcı sistemleri tarafından insüline duyarlı hücrelerde Dehidroaskorbik asit transportunu kolaylaştırır. Böylece intrasellüler askorbik asit konsantrasyonu arttırılır. Tip I diyabet gibi insülinin olmadığı durumlarda Dehidroaskorbik asit alınımı bozulur (Şekil 15) (194). Tip I diyabette insülin yetersizliği ve aşırı glukoz birikimi Dehidroaskorbik asit alınımını engelleyebilir. Askorbik asitin eksikliği kemik dokusunun yenilenmesi için gerekli olan kollojenin sentezini aksatarak osteopeni oluşumuna neden olduğu ifade edilmektedir (258).



**Şekil 15.** İnsüline Duyarlı Hücrelerde Dehidroaskorbik Asitin Glukoz Taşıyıcı Sistemiyle Glukoz ile Birlikte Taşınması (258).

C vitamini, endoplazmik retikulumda yerleşerek kollojen, karnitin, katekolamin, peptit nörohormonlarının biyosentezi (254) ile protil ve lizil hidrolazlar gibi birçok

enzimin kofaktörü olarak görev yapmasının yanı sıra; diyetle alınan  $Fe^{+3}$ 'ün  $Fe^{+2}$ 'ye dönüşümünde oldukça önemli rollere sahiptir (89). Bu özelliklerinin yanı sıra suda iyi çözünen Askorbik asit, reaktif oksijen türlerinin temizlenmesini sağlamasıyla da güçlü bir antioksidan olarak bilinir (89, 258).

Yetişkin kişilerin günlük Askorbik asit ihtiyaçlarının 60 mg/kg düzeyinde olduğu belirtilmektedir (54). Bunun yanında sağlıklı bireylerde 900-1500 mg arasında bir Askorbik asit havuzu bulunduğu da ifade edilmektedir (145). Askorbik asit eksikliğinde başta iskorbüt hastalığı olmak üzere, diş eti kanaması, depresyon, kolay morarma, yara ve kırık iyileşmesinde bozulma, asabiyet, eklem ağrıları, diş çürümesi ve kaybı, huzursuzluk ve yorgunluk gibi semptomlar gözlenmektedir (54). Bunun yanı sıra, günlük 1 g gibi yüksek dozda birkaç hafta süresince alınan Askorbik asit; metabolik asidoz, oksalüri, böbrek taşı oluşumu, gastrointestinal bozukluklar, renal tübüler hastalıklar, duyarlılık reaksiyonları, protrombin ve kolesterol bozuklukları, vitamin B<sub>12</sub> yıkımı, bitkinlik ve kısırlık gibi yan etkilere sebep olabilmektedir (89).

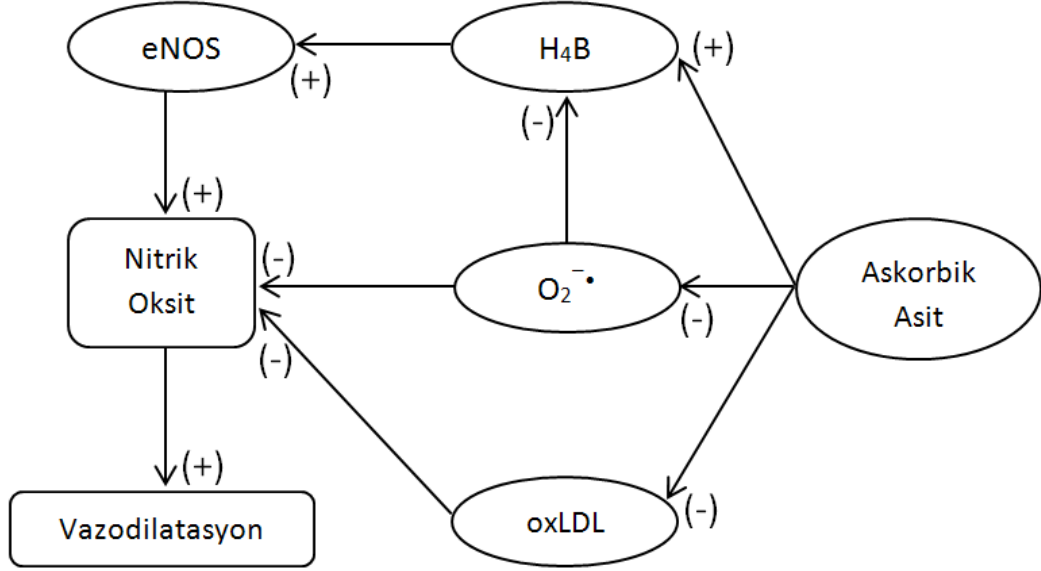
#### **1.3.2.3.3. C Vitamininin Antioksidan Özelliği**

C vitamini potansiyel bir süperoksit radikali ( $O_2^-$ ), singlet oksijen ( $\bar{O}_2$ ) ve hidroksil radikali ( $OH^-$ ) süpürücüsüdür (175). C vitamini; serbest radikallerin neden oldukları kanser, ateroskleroz, kalp krizleri, inme, artrit, katarakt ve yaşlanma dahil birçok oksidatif hasar kaynaklı hastalıkların önlenmesinde fizyolojik bir antioksidan olarak önemli görevleri bulunmaktadır (41).

Güçlü bir antioksidan olan C vitamininin en önemli fonksiyonlarından biri de insanlarda metal iyonlarının tetiklediği düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oksidasyonunun başlamasını ve yayılmasını önleyerek LDL kolesterolü oksidatif hasardan korumasıdır (203). Keza, LDL kolesterolün oksidasyondan korunması ateroskleroz gelişimini önemli oranda azaltır (232). Bunun yanı sıra hücre içi C vitamini miktarındaki artışı gözde katarakt gelişimi riskini önemli oranda azalttığı ifade edilmiştir (117).

Askorbik asit endotelial nitrik oksit sentaz aktivitesini (eNOS) güçlendirmek suretiyle nitrik oksit (NO) sentezini artırabilir. Bunun neticesinde intrasellüler tetrahidrobiopterin konsantrasyonu artar. Artan nitrik oksit damar direncini azaltmak

suretiyle damarlarda vazodilatasyona sebep olur (242). Tetrahidrobiopterin eNOS için kofaktördür ve Askorbik asitin stabilizasyonu ile oksidasyonunu önlenmek için gereklidir (Şekil 16) (153).



**Şekil 16.** Askorbik Asitin Kan Basıncı, Endotelial Nitrik Oksit Sentaz, Tetrahidrobiopterin, Süperoksit Radikali ve Okside Düşük Dansiteli Lipoprotein Üzerindeki Etkileri (153).

Askorbik asit katalitik metal iyonlarının varlığında prooksidan aktivite sergileyebilir (30, 99). Askorbik asit çok iyi bir elektron indirgeyici olarak  $Fe^{+3}$ 'ü  $Fe^{+2}$ 'ye indirgerken kendisi de okside askorbat radikaline dönüşür. Çevresel koşullara bağlı olarak  $Fe^{+2}$   $O_2$  ile kolaylıkla reaksiyon verebilir bunun sonucunda süperoksit radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ) şekillenir. İki adet süperoksit radikalinin iki molekül hidrojen iyonu ile birleşmesi sonucunda hidrojen peroksit ve oksijen açığa çıkar (59).

#### 1.3.2.3.4. C Vitamini ve Diyabet

C vitamininin hücrel alınımını hem glukoz hem de insülin düzenlediğinden, Askorbik asitin biyosentezinde C vitamini-glukoz arasındaki ilişki kadar C vitamini-insülin arasındaki ilişki de oldukça önemlidir. Bu nedenle kanda glukoz seviyesi yükseldiğinde C vitamininin geri emiliminde bozulmalar olduğu belirtilmiştir. Ancak dışarıdan alınan C vitamininin Tip I diyabette kandaki glukoz seviyesini düşürdüğü ifade edilmiştir (48, 257). Keza C vitamini infüzyonunun hem sağlıklı hem de

diyabetli bireylerde glukozun emilimini güçlendirmek suretiyle vücudun glukoz kullanımını arttırdığı ifade edilmiştir (185). Bazı araştırmalar (123, 205, 264) gerek Streptozotocin, gerekse Alloxan ile oluşturulan deneysel diyabette bazı hayvanların çeşitli dokularında C vitamini seviyelerinde azalış bildirmişlerdir.

Glikotoksisite ve hemodinamik stres hücrel fonksiyonu değiştirir bu şekilde polioll yolunda Aldoz redüktaz yönünde artma oluşur. Sinir, glomerül, lens ve retina gibi insüline bağlı olmayan dokularda hücre içi glukoz seviyesi hiperglisemiye bağlı olarak yükselir. Polioll yolunun en önemli enzimi olan ve bu yolun aktivitesini sınırlayan Aldoz redüktaz enzimi glukozu sorbitole dönüştürürken, diğer bir enzim olan Sorbitol Dehidrogenaz, sorbitolu fruktoza çevirir. Sorbitol hücre zarını geçemediği için hücre içinde birikir. Sorbitol birikimi, ozmotik etkilerle piridin nükleotidlerinin redoks durumunu değiştirerek (NADH/NAD<sup>+</sup> oranında ve protein kinaz C'de artış) hücre içi miyoinositol seviyelerini azaltır. Bu durum doku hasarına neden olur (139). C vitamininin, polioll yolunun en önemli enzimi olan ve bu yolun aktivitesini sınırlayan Aldoz redüktazı aktive ettiği rapor edilmiştir (251).

Yapılan bir çalışmada (1) diyabette C vitamini düzeylerinin azaldığı belirtilmiştir.

## **1.4. Lipitler ve Lipoproteinler**

### **1.4.1. Lipitler**

Lipitler plazmada kolesterol, triaçilgliserol, fosfolipit ve serbest yağ asitleri halinde bulunmaktadır. Kolesterol, organizmada bulunan temel steroldür. Triaçilgliseroller, bir gliserol molekülü ile üç yağ asidi molekülünün ester bağı ile birleşmesi sonucu meydana gelmiştir. Fosfolipitler, bir gliserol molekülünün üç hidroksil grubundan ikisinin yağ asitleriyle, diğerinin ise fosforik asit ile esterleşmesi sonucu oluşur. Serbest yağ asitleri ise plazmada albümine bağlı olarak taşınır (39).

Lipitler suda çözünemeyen maddelerdir. Bundan dolayı kanda taşınabilmeleri için bazı protein yapıllı maddelere bağlanmaları gerekir. Plazma proteinleri ile birleşmiş olan bu lipitlere 'lipoproteinler' denilir (126).

#### 1.4.1.1. Trigliserit

Lipitleri oluşturan en küçük yapı taşları yağ asitleridir. Yağ asitleri vücutta depolanabilmek için gliserin ile birleşerek trigliseritleri oluştururlar. Keza, trigliseritler vücudun en önemli enerji kaynaklarından biri oldukları için kanda belirli oranlarda bulunmaları gerekir (126).

Trigliseritler, kolesterol gibi hem vücutta sentezlenebilme hem de besinlerle dışarıdan alınabilme özelliğine sahiptirler. Trigliseritler adipositlerin sitoplazmalarında enerjiye ihtiyaç duyulduğunda hemen kullanılmak üzere depo edilirler. Az miktarda da karaciğerde depolanırlar. Çoğu kolesterol ve kolesterol esterleri, fosfolipit ve protein ile birlikte birleşerek çok düşük yoğunluklu lipoproteinleri (VLDL) oluştururlar (39).

Yapılan çalışmalarda diyabetin ratlarda (1) ve insanlarda (226) trigliserit düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir.

#### 1.4.1.2. Kolesterol

Kolesterol amfifilik (bir ucu hidrofilik diğer ucu hidrofobik) bir lipit olup, gerek membranların gerekse plazma lipoproteinlerinin dış katmanının önemli bir yapı taşıdır. Plazmadaki serbest kolesterol lipoproteinler tarafından taşınmaktadır (156). Kolesterol dışardan alınabildiği gibi organizmada da sentezlenebilir. Kolesterolün sentezini ve katabolizmasını yöneten organ karaciğerdir (39). Kolesterol deride kolekalsiferole dönüşmek suretiyle provitamin-D<sub>3</sub>'ü oluşturur. Ayrıca progesteron ve östrojen sentezinde de kullanılır (143). Kolesterol seviyeleri; kalıtsal faktörler, gıdalar, yaşam tarzı, yaş, diyabet, bazı böbrek ve tiroid hastalıkları ve stres gibi birçok sebebe bağlı olarak yükselmektedir (63). Akkaya ve Çelik yaptıkları bir çalışmada (1), diyabetik ratlarda kolesterol düzeylerinde artış belirlemişlerdir. Yine Smith ve Lall'da diyabetli hastalarda serum kolesterol seviyelerinde önemli derecede artış tespit etmişlerdir (226).

#### 1.4.2. Lipoproteinler

Lipitlerin sulu ortamdaki çözünürlükleri son derece düşük olduğundan dolayı plazmadaki kolesterol, trigliserit, kolesterol esteri ve fosfolipitler lipoproteinler

tarafından taşınmaktadırlar. Lipoproteinler, elektroforetik hareketlilikleri, lipit ve apolipoprotein içerikleri ile yoğunluklarına göre 6 farklı sınıfa ayrılmaktadırlar (129, 240).

- 1- Şilomikronlar
- 2- Çok Düşük Dansiteli Lipoproteinler (VLDL)
- 3- Düşük Dansiteli Lipoproteinler (LDL)
- 4- Ara Dansiteli Lipoproteinler (IDL)
- 5- Yüksek Dansiteli Lipoproteinler (HDL)
- 6- Lipoprotein (a) (LP(a))

#### **1.4.2.1. Şilomikronlar**

Çapı en büyük ve trigliserit içeriği en fazla olan lipoproteinlerdir (129). Majör lipit türü trigliserit olan ve yoğunlukları 0.95'den düşük olan şilomikronlar, barsakta sentez edilip lenfatik sistem aracılığıyla torasik duktusa, oradan da sistemik dolaşıma katılırlar. Ağırlıklarının % 90'ı trigliserit, % 10'u fosfolipit, kolesterol ve kolesterol esterleri ile proteinden oluşmaktadır (53). Şilomikronlar, gıdalarla alınan trigliseritlerin taşınmasını sağlarlar. Besinlerdeki trigliseritler, duodenumda monogliserit ve serbest yağ asitlerine hidrolize olurlar. Bunlar safra asitleri ile birleşerek mukoza hücrelerine girerler (53, 84). Mukoza hücrelerinden lenf dolaşımına alınarak karaciğere getirilip burada katabolize olurlar. Şilomikronların emilimi plazma insülin ve glukagon hormon seviyeleriyle yakından ilişkilidir (84).

#### **1.4.2.2. Çok Düşük Dansiteli Lipoproteinler (VLDL)**

Dansitesi 0.950 -1.006 arasında olan çok düşük dansiteli lipoproteinler karaciğer ve daha az bir oranla da barsaklarda sentezlenirler. Ortalama % 60-70 trigliserit, % 10-15 fosfolipit ile kolesterol ve % 10 proteinden meydana gelirler (120). İnsülin eksikliği VLDL salgılanmasını uyarabilmektedir (259). Karaciğerde sentezlenerek dolaşıma verilen VLDL'nin trigliserit içeriği, dolaşımda lipoprotein lipaz (LPL) ve hepatik lipaz (HTGL) enzimleri tarafından hidroliz edilerek kolesterol esterlerince zengin VLDL kalıntıları oluşturur. VLDL bu hidrolizasyon reaksiyonları sonucunda ara yoğunluklu lipoproteinlere (IDL) dönüşür (129).

Sabunlaşmayı önlemek için karaciğer tarafından sürekli olarak salgılanan ve yağ asitlerinden sentezlenen trigliseritler (günde 40-100 gr) yine enerji ihtiyacını karşılamak için karaciğerde VLDL tarafından okside edilirler (53).

#### **1.4.2.3. Düşük Dansiteli Lipoproteinler (LDL)**

Dansitesi 1.006 - 1.063 arasında olan LDL, primer olarak VLDL'nin yıkımı sonucu ortaya çıkar. LDL'nin ağırlığının % 25'ini apoprotein B teşkil eder. Geriye kalan kısmın % 50'sini kolesterol esterleri, % 30'unu fosfolipitler, % 10'unu esterleşmemiş kolesterol ve % 10'unu ise trigliseritler teşkil eder (120). LDL tüm dokulara kolesterolü taşıyan asıl lipoproteindir. LDL'nin uzun ömürlü bir partikül olması dokular için kolesterol kaynağı olarak kullanılmasına neden olur (201). LDL hücre içine en fazla karaciğerde olmak üzere reseptör aracılı endositoz ile alınır. Yapısında fosfolipit ve çoklu doymamış yağ asiti içeren LDL oksidasyona karşı duyarlıdır (129). Plazmada LDL ölçümü, aterosjenik lipoprotein partiküllerinin bir ölçütü olduğundan aterosklerozun göstergesi olarak kabul edilmektedir (108).

#### **1.4.2.4. Ara Dansiteli Lipoproteinler (IDL)**

Dansitesi 1.006-1019 arasında olan IDL, %20-50 trigliserit, %20-40 kolesterol ve %15-25 oranında fosfolipitten oluşmaktadır. 500.000 daltondan fazla moleküler ağırlığıyla en büyük apoprotein olan Apo B-100; VLDL ve LDL'de olduğu gibi IDL'in önemli bir kısmını oluşturmaktadır (55). VLDL'nin %50'den fazlası lipolitik bir enzim olan hepatik lipaz (HTGL) tarafından plazmada düşük konsantrasyonlarda bulunan IDL'ye dönüştürülür (129). Plazmalarında HTGL eksik olan kişilerde IDL birikimi gözlenir (55).

#### **1.4.2.5. Yüksek Dansiteli Lipoproteinler (HDL)**

Dansitesi 1.063-1.210 arasında olan HDL, %20-30 fosfolipit, %15-20 kolesterol ve %5-10 oranında trigliseritten oluşmaktadır. Karaciğerden ve ince barsak ile diğer dokulardan apoprotein A ve E ile çevrilen fosfolipitlerden meydana gelmiş diskoidal partiküller kana olgunlaşmamış HDL olarak verilirler. HDL'nin bir bölümü ise hücre membranından lipitlerin alınımı ve transferi sonucu meydana gelmektedir (53, 102). Protein içeriğinin yaklaşık %70'ini oluşturan apoprotein A-I, HDL'nin içeriğinde



bulunan en yüksek düzeydeki proteindir. Bundan başka %20 oranında apoprotein A-II, Apo A-IV, Apo J (Clusterin), Paraoksonaz (PON), Haptoglobulin, Lesitin kolesterol açıl transferaz (LCAT) gibi proteinlerde HDL ile ilişkilidirler. HDL'nin ateroskleroza karşı koruyucu özelliğe sahip olduğunun belirtilmesinin yanısıra (231), Tip I diyabette HDL düzeylerinin arttığı da ifade edilmiştir (53, 85).

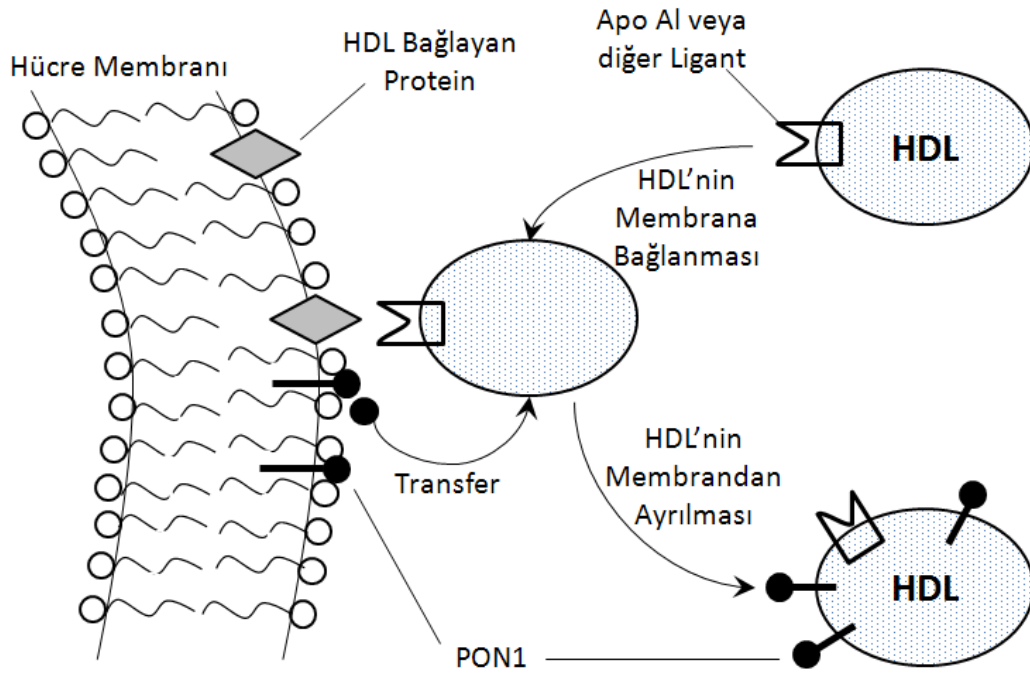
#### **1.4.2.6. Lipoprotein (a) (LP(a))**

Dansitesi 1.055-1.085 arasında olan LP(a), %66 kolesterol, %8 trigliserit ve %26 düzeylerinde fosfolipitten oluşmaktadır. Lp (a); apolipoprotein B-100 (Apo B-100) ve 514 kD ağırlığında yüksek glikolize bir protein olan Apolipoprotein a (Apo (a)) içerir. Serum Lp (a) seviyelerinin yaşa bağlı olarak değişmediği belirlenmiştir (159). Aterojenik bir lipoprotein olan Lp (a)'nın bu özelliğinden dolayı aterosklerotik plak oluşumunda rolü olduğu belirtilmiştir (79, 159).

#### **1.5. Paraoksonaz ve Arilesteraz (PON1)**

Paraoksonaz, ilk olarak 1953 yılında Aldridge W.N. tarafından p-nitrofenil asetat, propiyonat ve bütirat'ı hidroliz eden A-esteraz olarak teşhis edilmiştir. Uriel tarafından insan serumunda ilk kez 1961'de elektroforez sonrası HDL immunopresipitatlarında saptanmıştır (244). Mackness ve ark. (1998) ise koyunlarda Paraoksonaz aktivitesinin çoğunlukla apo A-I içeren partiküllerde HDL ile birlikte bulunduğunu ve insan serumunun santrifüjlenmesi ile enzimin kanda HDL yapısında taşındığını ortaya koymuşlardır (151). Yine deneysel çalışmalarda PON1 enziminin HDL-kolesterol'ün apo A-I'in yanı sıra Apo-J (Clustrein) proteinleri ile ilişkili olduğu; (103) ayrıca hidrofobik N-terminal bölgesi aracılığıyla HDL lipitlerine kolayca bağlanabildiği de gösterilmiştir (Şekil 17) (228).

Paraoksonaz-1 (PON1); 354 aminoasitten oluşan glikoprotein yapısındaki Paraoksonaz, Arilesteraz ve Diazoksonaz enzim aktivitelere sahip olan bir enzimdir (37). Paraoksonaz gen ailesinin PON1, PON2 ve PON3 olmak üzere üç üyesi vardır. PON1'i kodlayan gen, 7. kromozomun q 21-22 bölgesine yerleşmiştir. PON2 ve PON3 ise 105. pozisyonda lizin rezidüsü bulunmadığından paraoksonu hidroliz edemez ve plazmada bulunmazlar (236).



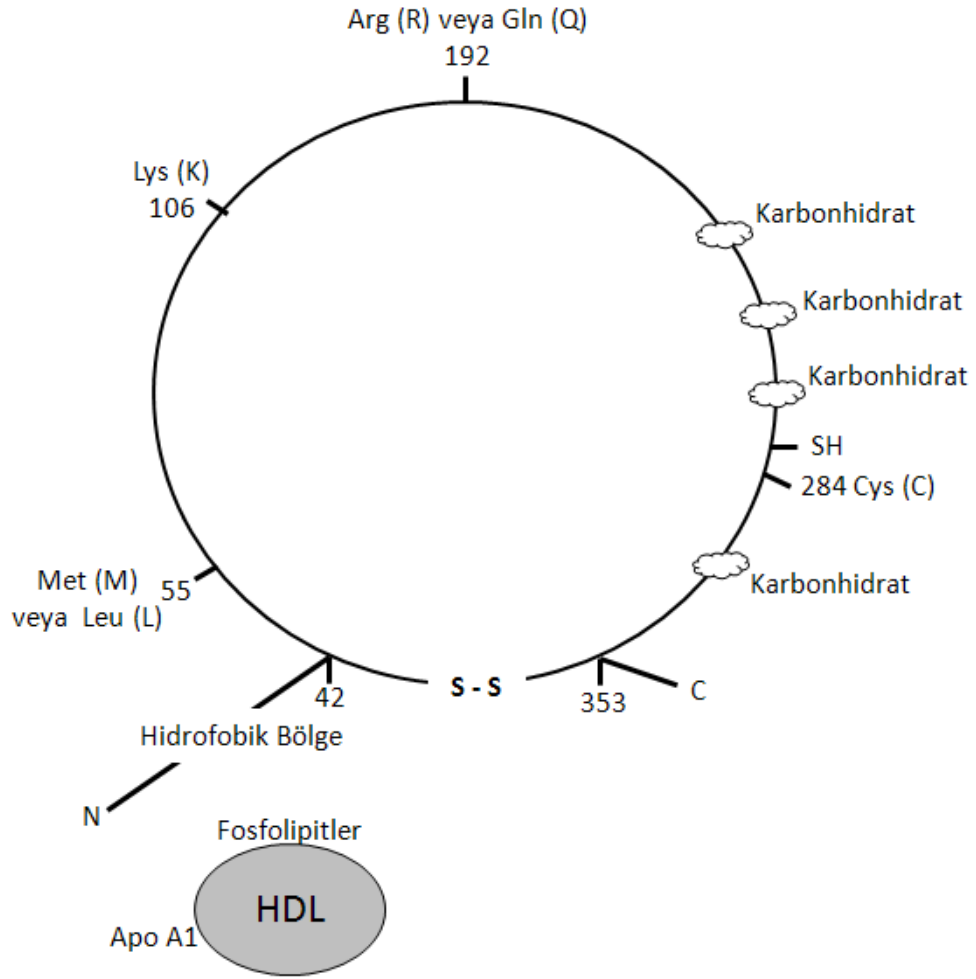
**Şekil 17.** Hücre Membranda Bulunan PON1'in HDL'ye Transferi (180).

PON proteinleri, balıklarda, kuşlarda ve eklem bacaklılar gibi omurgasızlarda bulunmamasına karşın memeli türleri arasında geniş bir dağılıma sahiptir (62). Hemen hemen tüm dokularda görülen PON proteinleri dokulardaki ekspresyonlarına ve dağılımlarına göre, farklılıklar göstermektedir.

Yapılan immunohistokimyasal çalışmalar PON1'in karaciğerin yanı sıra böbrek, kalp, beyin, ince bağırsak ve akciğer dokularının endotel tabakalarında bulunduğunu göstermiştir (191). İnsan serumundaki PON1 enzimi; karaciğerde sentezlenen, arildialkilfosfataz olarak da adlandırılan kalsiyuma (Ca) bağımlı olan ve 43-45 kDa molekül ağırlığında bulunan bir ester hidrolazdır (Şekil 18) (11, 150).

Paraoksonaz ve Arilesteraz her ne kadar iki ayrı enzim olarak algılsa da, yapılan araştırmalar (8, 76) insan serumunda tek gen ürünü olan Paraoksonaz enziminin hem Arilesteraz, hem de Paraoksonaz aktivitesine sahip olduğunu göstermiştir. Paraoksonazın Arilesterazdan farkı; yalnız fenolik esterleri değil aynı zamanda fosforik ve fosfinik asit esterlerini de hidroliz etmesidir (64). Bu sebeple PON1 hem Paraoksonaz hem de Arilesteraz aktivitesinin her ikisine de sahiptir. Paraoksonaz, insektisit ve sinir gazı yapımında yaygın olarak kullanılan organofosfat bileşiklerinin

hidrolizini katalizlemekte ve bu nedenle in vivo ksenobiyotik metabolizması ile toksikolojik çalışmalar için büyük önem taşımaktadır (2).



**Şekil 18.** İnsan Serum Paraoksonaz Enziminin Yapısı (10).

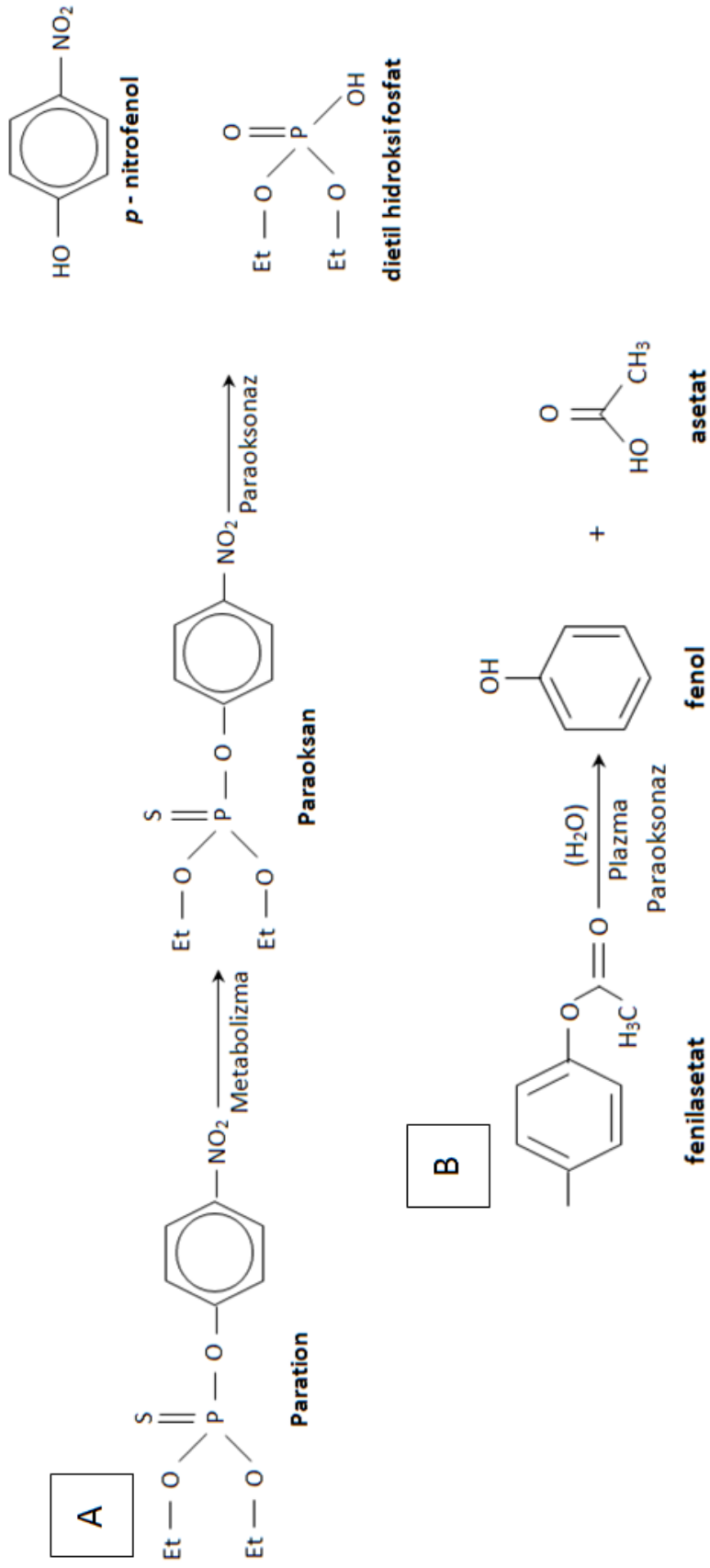
PON1 antioksidan etkisini, bakır (Cu) iyonu ve serbest radikallerin indükleyici oksidasyonundan korumak suretiyle gerçekleştirdiği düşünülmektedir (11). Bir başka özelliği ise oksidatif strese oluşan hidrojen peroksiti %25 oranında hidroliz etmektir. Bu özellik PON1'in peroksidaz aktivitesine de sahip olduğunu göstermektedir (11).

Paraoksonaz enzimi, aktivitesinin ölçümünde ilk olarak paraokson substratı kullanıldığı için paraoksonaz adını almıştır (150). İnsan serumundaki Paraoksonaz enzimi, parationun metabolik ürünü olan paraoksani kataliz etme yeteneğindedir. Pestisit olarak da kullanılan paraoksan organizmaya zararlıdır. Paraoksanın, Paraoksonaz enzimi ile yıkımı sonucu paraoksana oranla göreceli olarak daha az zararlı *p*-nitro fenol ve dietil hidroksi fosfat bileşikleri oluşur (Şekil 19A) (15).

Paraokson, Paroksonazın hem Arilesteraz aktivitesini hem de Paroksonaz aktivitesini ölçmede en sık kullanılan substrattır. Buna karşın Fenil asetat ise sadece Arilesteraz aktivitesini ölçmede kullanılan bir substrattır. PON1 polimorfik dağılımı nedeniyle aynı substrata karşı farklı aktivite gösterir (Şekil 19B) (20).

PON1, HDL'yi oksidasyondan koruyarak HDL kolesterol'ün ters kolesterol taşıma fonksiyonunun devamlılığını sağlar. Bu durum makrofajlarda kolesterol birikimini engelleyerek köpük hücre oluşumunu ve dolayısıyla da ateroskleroz gelişimi yavaşlatır (12).

HDL'ye bağlı olarak taşınan Paraoksonazın (Şekil 17), kalp damar hastalıklarının yanısıra diğer hastalıklarla da ilişkili olduğu birçok çalışmada belirtilmiştir. Hipergliseminin oksidatif stres ve arteroskleroza zemin hazırladığı düşünülürse, Diyabetes mellituslu olgularda serum paraoksonazın rolü ortaya çıkmaktadır. PON1-192RR ve PON1-55LL genotipleri insüline bağımlı olmayan Tip I diyabetli olgularda daha sık görülmüştür (119). Hiperkolesterolemili ve insülin bağımlı Diyabetes mellituslu hasta gruplarının serum PON1 aktivitesinin düşük bulunması bunu kanıtlamaktadır (152). PON1 aktivitesinin azalışı genellikle artan bir oksidatif stres bulgusuyla birlikte seyreder (14, 152).



Şekil 19-A. Paraoksonazın Paraoksonu Hidrolizi (Paraoksonaz aktivitesi) (15)

Şekil 19-B. Paraoksonazın Fenilasetatı Hidrolizi (Ariilesteraz aktivitesi) (159).

### 1.6. Streptozotocin'in Etki Mekanizması

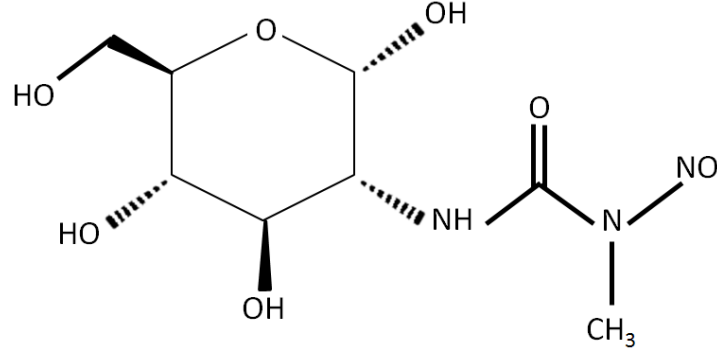
Kimyasal formülü  $C_8H_{15}N_3O_7$  ve ismi 2-deoxy-2-(3-(methyl-3-nitrosoureido)-D-glucopyranose olan streptozotocin (STZ) *Streptomyces achromogenes* bakterileri tarafından sentezlenmektedir (Şekil 20) (256). Temelde antimikrobiyal bir ajan olan (256) STZ uzun yıllar kemoterapötik alkilleyici ajan olarak pankreasın adacık hücrelerindeki tümörlerin metastazının önlenmesinde ve diğer kötü huylu tümörlerin tedavisinde kullanıldı (219). Rakieten ve ark (195) 1963 yılında STZ'in diyabetojenik bir madde olduğunu rapor ettiler. Bu tarihten beri STZ laboratuvar hayvanları üzerinde deneysel diyabet modeli oluşturma amaçlı olarak kullanılmaktadır (202).

STZ intravenöz ve intraperitoneal yolla olmak üzere değişik dozlarda uygulanabilmektedir. Genel olarak ratlarda Tip I diyabet oluşturmak için 40-60 mg/kg dozunda intravenöz ya da intraperitoneal olarak tek enjeksiyonla uygulanmaktadır (77). Tercihen daha yüksek dozlarda kullanılabilirken, 40 mg/kg altındaki dozlarda etkili olmayabilmektedir (124). STZ kullanımında dikkat edilmesi gereken en önemli nokta; nötral pH'da dekompanse olması nedeniyle pH'sı 4-4.5 arasında olan sitrat tamponu içerisinde hazırlanması ve ışıktan korunarak hemen kullanılmasıdır (113).

STZ'in ilk etkisinin  $\beta$  hücrelerinin glukoza yanıtını ortadan kaldırmak olduğu düşünülmektedir (113). Bu olayı ise kalıcı  $\beta$  hücre harabiyeti ve kaybı izlemektedir. STZ enjeksiyonundan 2 saat sonra kan insülin seviyelerindeki düşüşe ilaveten hiperglisemi gözlenir. Enjeksiyonu takiben yaklaşık 6 saat sonra yükselen kan insülin seviyeleri nedeniyle hipoglisemi oluşur. Son olarak yaklaşık 72. saatten sonra insülin miktarı azalır ve buna bağlı olarak da kalıcı hiperglisemi şekillenir (254).

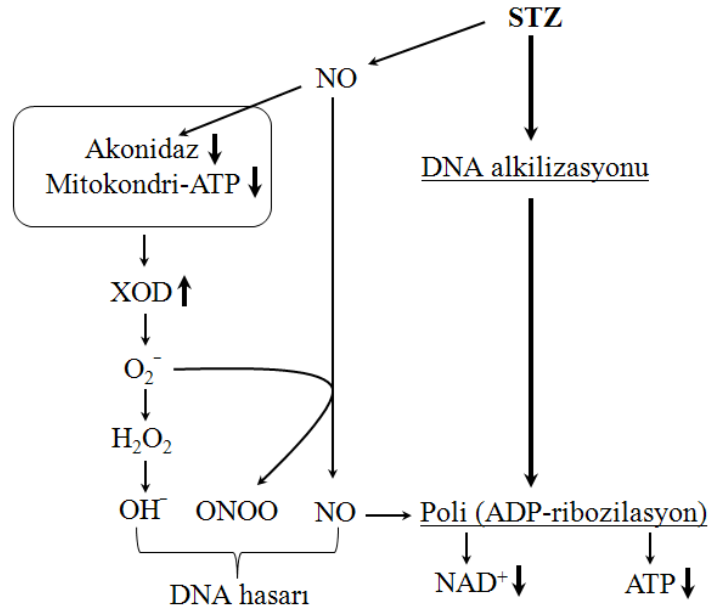
Yapısında glukoz molekülü ihtiva eden STZ pankreasın  $\beta$  hücreleri içerisine GLUT-2 glukoz taşıyıcıları tarafından alınmaktadır (195). STZ'in diyabetojenik etkisinin GLUT-2 üretiminin azaldığı durumlarda ortadan kalktığı gözlenirken (214) tekrarlı dozlarda uygulanan STZ'in GLUT-2 üretimini azalttığı rapor edilmiştir (252).

STZ'in asıl hedefi  $\beta$  hücrelerindeki DNA'dır. STZ'in hücre içinde nitrozüre gruplarının dekompozisyonu ile oluşan reaktif karbonyum iyonlarının DNA bazlarında alkilasyona neden olduğu belirtilmektedir (261).



**Şekil 20.** Streptozotocinin Kimyasal Yapısı (144).

Bu olayı DNA onarımı izler ve onarım sırasında görev alan polipolimeraz hücre içindeki nikotinamid adenin dinükleotidi (NAD) kullanarak NAD depolarını boşaltır ve ATP miktarını azaltır. Bu yolla hücresel enerji depoları tüketildiğinde  $\beta$  hücrelerinde nekroz gözlenmiştir (Şekil 21) (144). Bunun yanısıra STZ uygulamasının ksantin oksidaz enzimini aktive ederek ve hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi oksidanları ürettiği belirlenmiştir (176).



**Şekil 21.** Rat Pankreasının  $\beta$  Hücrelerinde Streptozotocinin Toksik Etki Mekanizması. XOD (ksantin oksidaz) (238).

## 2. MATERYAL VE METOD

### 2.1. Materyal

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (KAÜ-HADYEK) Başkanlığı'nın 20.01.2012 tarihli ve 2012/03 sayılı izni ile yapıldı. Çalışmada her grupta 10 adet (310-365 g ağırlığında) olmak üzere 50 adet 4-5 aylık erkek *Sprague Dawley* cinsi rat kullanıldı. Hayvanlar  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  sıcaklıkta, % 60-65 düzeyinde nemin ve 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık döngüsünün sağlandığı koşullarda, her gün altları temizlenen kafeslerde ve her kafeste 5 hayvan olacak şekilde *ad-libitum* olarak beslendi. Araştırmada kullanılan rasyonun bileşimi Tablo 2'de verilmiştir. Yemler, özel çelik kaplarda ve su ise paslanmaz çelik bilyeli biberonlarda normal çeşme suyu olarak verildi. Uygulamalara 1 haftalık adaptasyon süresinden sonra başlandı ve uygulamalar her gün 17:<sup>00</sup> ile 18:<sup>00</sup> saatleri arasında yapıldı. Gruplar aşağıdaki gibi oluşturuldu.

1. **Kontrol Grubu (n=10):** Hayvanlar *ad-libitum* olarak beslendi.
2. **Diyabetik Kontrol Grubu (n=10):** 50 mg/kg Streptozotocin (STZ) (50 ml sitrik asit + 40 ml disodyum hidrojen fosfat tampon çözeltisinde (pH:4.5) çözüldü) İntraperitoneal (i.p.) olarak uygulandı. Bu gruptaki hayvanlara diğer gruplarla aynı standartı sağlamak için çalışma süresince oral gavaj ile serum fizyolojik verildi.

STZ uygulamasından üç gün sonra 8 saat süresince aç bırakılan ratların kuyruk veninden alınan kan ile açlık kan şekerleri glikometre aracılığı ile ölçüldü ve 250 mg/dL düzeyinde açlık kan şekeri içeren hayvanlar Tip I diyabetli olarak kabul edildi.

3. **Diyabet + Alfa Lipoik Asit Grubu (n=10):** 50 mg/kg i.p. olarak STZ uygulaması sonucu diyabet oluşturulmuş ratlara 21 gün boyunca oral yolla 80 mg/kg Alfa lipoik asit verildi.
4. **Diyabet + C vitamini Grubu (n=10):** 50 mg/kg i.p olarak STZ uygulaması sonucu diyabet oluşturulmuş ratlara 21 gün boyunca oral yolla 60 mg/kg C vitamini verildi.



- 5. Diyabet + Alfa Lipoik Asit + C vitamini Grubu (n=10):** 50 mg/kg i.p. olarak STZ uygulaması sonucu diyabet oluşturulmuş ratlara 21 gün boyunca oral yolla 80 mg/kg Alfa lipoik asit ile 60 mg/kg C vitamini verildi.

**Tablo 2.** Deney hayvanlarına Verilen Yemin Bileşimi

İÇERİK	%
Kuru madde	88
Ham protein	23
Ham selüloz	5
Ham kül	8
HCl'de çözülmüş kül	1
NaCl	1
Kalsiyum	1-1.3
Sodyum	0.5-0.6
Fosfor	0.9
Lizin	1.35
Metiyonin	0.45
Sistin	0.35
Vitamin A	15.000 IU/kg
Vitamin D3	3.300 IU/kg
Vitamin E	40 mg/kg
Vitamin B2	5 mg/kg
Vitamin B12	20 mcg/kg
Vitamin K3	5 mg/kg
Metabolik enerji	3.100 Kcal/kg

### 2.1.1. Kan Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması

DeneySEL aşamanın sonunda 0,4 ml/kg pentobarbital sodyum ile anestezi altına alınan hayvanlardan kan örnekleri intrakardiyak olarak alındı. Kan örneklerinin bir kısmı serum elde etmek için jelli tüplere, kalan kısmı ise plazmalarının çıkarılması için heparinli tüplere alındı. Jelli tüplere alınan kan örnekleri hiç bekletilmeden soğutmalı santrifüjde 3000 rpm'de, +4 °C'de 10 dakika santrifüj edilmek suretiyle serum örnekleri çıkarıldı. Yine heparinli tüplere alınan kan örnekleri de 3000 rpm'de, +4 °C'de 10 dakika santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Hazırlanan serum ve plazma örnekleri analizlere kadar -20 °C'deki derin dondurucuda muhafaza edildi.

### **2.1.2. Doku Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması**

Kan örneklerinin alınmasını takiben; karaciğer ve pankreas dokuları alındı. Alınan pankreas dokularının tamamı ile karaciğer dokularının bir kısmı histopatolojik inceleme için %10'luk tamponlu formalin solüsyonunda tespit edildi. Kalan doku örnekleri ise laktatlı ringer solüsyonu ile yıkandıktan sonra polietilen poşetlere sarılıp etiketlendi ve analizlere kadar -20 °C'daki derin dondurucuda saklandı.

Analizlerin hemen öncesinde karaciğer doku örneklerinden bir miktar tartılarak üzerine ağırlığının 9 katı fosfat tampon çözeltisi eklenerek (1/10 oranında) homojenizatör yardımı ile analizlerde kullanılan kitlerin prosedürüne uygun şekilde homojenize edildi. Homojenize edilen doku örneklerinden santrifüj yardımıyla ayrılan homojenatlar polietilen tüplere alındı.

### **2.1.3. Histopatolojik İncelemeler**

Karaciğer ve pankreas dokuları tespit işleminden sonra rutin doku takip işlemlerinden geçirilerek parafin bloklar hazırlandı. Histopatolojik incelemeler için parafin bloklardan 5 mikrometre kalınlığında alınan kesitler hematoksilin ve eozin ile boyandı. Karaciğer dokusunda glikojenin varlığını göstermek için dokular Periyodik Asit Schiff (PAS) ile boyandı. Pankreastaki beta hücrelerini tespit etmek amacıyla Gomori'nin aldehit fuksin boyası kullanıldı.

## **2.2. Metod**

### **2.2.1. Kullanılan Araç ve Gereçler**

### **2.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler**

1. Streptozotocin (Sigma)
2. Alfa lipoik asit (Sigma)
3. C vitamini (Sigma)
4. Pentobarbital sodyum (Sigma)
5. Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Sigma)
6. KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Sigma)

7. Sodyum sitrat (Merck)
8. Hidroklorik asit (Merck)
9. Serum fizyolojik (İzofleks)

### **2.2.3. Kullanılan Cihazlar**

1. Spektrofotometre (Spectra Max)
2. Homojenizatör (Wigen Hauser)
3. Otoanalizör (Architect c16000)
4. Hassas terazi (Shimadzu)
5. Deiyonize su cihazı (Nüve)
6. Soğutmalı santrifüj (Hettich)
7. Derin dondurucu (Beko)
8. Buzdolabı (Profilo)
9. Analitik terazi (Precisa)
10. pH metre (Thermo Orion)
11. Etüv (Nüve)
12. Vorteks (Heidolph)
13. Dispenser (Brand)
14. Ayarlanabilir otomatik pipetler (Mikrolit, Brand, Eppendorf, Gilson) (1, 10, 20, 100, 1000  $\mu$ L)
15. Glukometre (Yasee)

#### 2.2.4. Kullanılan Kitler

1. Paraoksonaz test kiti (Rel-Assay)
2. Arilesteraz test kiti (Rel-Assay)
3. Total oksidan kiti (Rel-Assay)
4. Total antioksidan kiti (Rel-Assay)

#### 2.2.5. Kullanılan Diğer Malzemeler

1. Rat gavajı
2. Steril enjektör (5, 10 ml) (Hayat)
3. Steril insülin enjektörü (1 ml) (Hayat)
4. EDTA'lı kan tüpü (Venoject)
5. Jelli tüp (Vacutainer)
6. Eppendorf tüp (1,5, 2 ml) (Eppendorf)
7. Otomatik pipet uçları (10, 100 ve 1000 µl) (Isolab)
8. Dispender uçları (0,1, 0,5, 1 ve 5 ml) (Eppendorf)
9. 96 kuyucuklu plate (Brand)

#### 2.2.6. Çalışmalarda Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları

**2.2.6.1. Sodyum sitrat çözeltisi:** 0,294 g sodyum sitrat dihidrat ( $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O = 294,1$  g/mol) alınarak, deiyonize su ile hacim 100 ml'ye tamamlandı ve 1 Normal HCl ile pH'sı 4.5'a ayarlandı.

**2.2.6.2. Streptozotocin çözeltisi:** Hazırlanan sodyum sitrat tamponundan 21 mg/1 ml olacak şekilde alınarak içerisinde STZ çözdürüldü. STZ çözeltisi ışık altında bozulabileceği ve ısıdan etkilenebileceği için hazırlandığı tüpün üzeri alüminyum folyo ile sarılıp enjeksiyon süresince içi buz dolu beher içinde muhafaza edildi ve taze bir şekilde hayvanlara uygulandı. Diyabet oluşturulacak hayvanlara, 1 ml'lik

insülin enjektörü ile hayvanların ağırlıklarına göre kg'a 50 mg olacak şekilde i.p. olarak tek doz şeklinde enjekte edildi. Kontrol grubu hayvanlara ise yalnızca sodyum sitrat çözeltisi enjekte edildi.

**2.2.6.3. Alfa Lipoik Asit Çözeltisi:** 80 mg/kg dozunda Alfa lipoik asit çeşme suyunda çözülmek ve günlük hazırlanmak suretiyle hayvanlara oral gavaj yoluyla verildi.

**2.2.6.4. C vitamini Çözeltisi:** 60 mg/kg dozunda C vitamini çeşme suyunda çözülmek ve günlük hazırlanmak suretiyle hayvanlara oral gavaj yoluyla verildi.

**2.2.6.5. Fosfat Tampon Çözeltisi:** 14.126 g Disodyum hidrojen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$   $M_A=141.96$  g/mol) ile 4.535 g potasyum dihidrojen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$   $M_A=136.09$  g/mol) terazide tartıldı. Tartılan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ve  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ayrı ayrı 500'er ml distile su ile çözdürülerek hazırlandı. Daha sonra bu iki çözelti birbirine eşit oranda karıştırılmak ve pH'sı 6.8'e ayarlanmak suretiyle fosfat tamponu elde edildi.

### **2.2.7. Kan Glukoz Seviyelerinin Belirlenmesi**

Çalışmaya başlamadan önce (sıfırinci günde) 8 saat aç bırakılan hayvanlarda kuyruk veninden alınan kan örneklerinden Yasee marka glukometre (GLM-76, Taiwan) kullanılarak açlık kan glukoz seviyeleri belirlendi. Daha sonra STZ uygulamasının 3. gününde yine 8 saat açlık sonrası kan glukoz seviyeleri ölçülerek glukoz seviyeleri 250 mg/dL düzeyinde olanlar çalışmaya dahil edildi. STZ uygulamasının 3. gününden itibaren 21 gün boyunca madde verildi. Madde verildiği süre içinde 10, 17 ve 24. günlerde 8 saatlik açlık sonrası kan glukoz seviyeleri belirlendi.

### **2.2.8. Lipit Profilinin Belirlenmesi**

Deneme ve kontrol grubunu oluşturan sıçanların serum lipit düzeylerinin ölçülmesinde Architect c16000 (Abbott Diagnostics - USA) marka klinik kimya otoanalizörü kullanıldı. Serum lipitlerinden; Total Kolesterol, HDL-Kolesterol ve Trigliserit düzeyleri Abbott Diagnostic marka kitler kullanılarak ölçüldü.

LDL ve VLDL kolesterol seviyeleri ise aşağıda verilen formül (Friedewald Formülü) ile hesaplandı.

VLDL = Trigliserit / 5

LDL = Total kolesterol – (HDL + Trigliserit / 5) (75).

## 2.2.9. Çalışmada Kullanılan Kitlere Ait Prosedürler

### 2.2.9.1. Paraoksonaz (PON) Test Kiti

**Testin Prensi:** Paraoksonaz enzim aktivitesi ölçümü, substrat olarak kullanılan paraoksonun enzimatik hidrolizi sonucu açığa çıkan *p*-nitrofenol miktarının spektrofotometrik olarak belirlenmesi esasına dayanmaktadır.

#### **Testin Yapılışı:**

- 500 µL Reagent 1 (buffer solüsyon),
- 25 µL örnek (serum ve karaciğer dokusu homojenatı)
- 5 dakika oda sıcaklığında inkübasyon
- 25 µL Reagent 2 (substrat solüsyonu)
- 30.sn'de, 412 nm dalga boyunda ilk absorbans
- 150.sn'de 412 nm dalga boyunda ikinci absorbans alınmak suretiyle kinetik ölçüm yapıldı.

Prosedürü pleyt'e uyarlamak için reagent ve örnek miktarları eşit oranda azaltıldı.

#### **Sonuçların Hesaplanması:**

$$\text{ABS (Absorbans) / Dakika} = \frac{150.\text{sn ABS} - 30.\text{sn ABS}}{2}$$

$$\text{Sonuç} = \frac{\text{ABS Dakika} \times 22}{18290} \times 10^6$$

Sonuçlar serum örnekleri için U/L ve karaciğer örnekleri için ise U/g cinsinden verildi.

### 2.2.9.2. Arilesteraz (ARE) Test Kiti

**Testin Prensi:** Arilesteraz enzim aktivitesi ölçümü, substrat olarak kullanılan fenilasetatın enzimatik hidrolizi sonucu oluşan fenol ve asetik asit miktarının spektrofotometre aracılığıyla kolorimetrik olarak belirlenmesi esasına dayanmaktadır.

**Testin Yapılı:** Arilesteraz analizi için öncelikle örnekler kit içeriğinde bulunan diluent solüsyon ile eppendorf tüpler içerisinde 1/100 (örnek/diluent solüsyon) oranında dilue edildi.

- 3 µL dilue edilmiş örnek
- 260 µL Reagent 1 (deiyonize su)
- 200 saniye oda sıcaklığında inkübasyon
- 548 nm dalga boyunda ilk absorbans
- 10 µL Reagent 2
- 80 µL Reagent 3
- 240 saniye oda sıcaklığında inkübasyon
- 700 nm dalga boyunda ikinci absorbanslar belirlendi.

Yapılan end point-bichromatik analiz neticesinde sonuçlar elde edildi. Prosedürü pleyt'e uyarlamak için reagent miktarları eşit oranda azaltıldı.

#### **Sonuçların Hesaplanması:**

$$\text{Sonuç} = (2. \text{ABS} - 1. \text{ABS}) \times 1316$$

Sonuçlar serum örnekleri için U/L ve karaciğer örnekleri için ise U/g cinsinden verildi.

### 2.2.9.3. Total Oksidan (TOS) Test Kiti

**Testin Prensi:** Örnekte bulunan antioksidanlar ferröz iyon-o-dianisididine komplekslerini ferrik iyona oksitlerler. Bu esnada ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xlenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan

oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddetinin spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanmaktadır (65).

**Testin Yapılışı:** Kit içeriğinde yer alan standart 2 solüsyonundan 50 µL alınarak 10 ml deiyonize su ile karıştırılarak vortekslendi. Daha sonra bu ilk solüsyondan 50 µL alınarak yeniden 10 ml deiyonize suyla karıştırılıp vortekslendi. Bu şekilde standart 2 solüsyonu deiyonize su ile 40.000 kez dilue edilmiş oldu. Sonuç olarak hazırlanan solüsyonun konsantrasyonu 20 mikromolar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oldu.

- 500 µL Reagent 1
- 75 µL (Standart 1, Standart 2 ve örnek)
- 530 nm dalga boyunda ilk absorbans
- 25 µL Reagent 2
- 10 dakika oda sıcaklığında inkübasyon
- 530 nm dalga boyunda ikinci absorbanslar belirlendi.

Prosedürü pleyt'e uyarlamak için reagent miktarları eşit oranda azaltıldı.

#### **Sonuçların Hesaplanması:**

$$\text{Sonuç} = [ \Delta \text{ABS Örnek} / \Delta \text{ABS Standart 2} ] \times 20 [ \text{Standart 2 değeri} ]$$

$$\Delta \text{ Örnek Absorbansı} = ( \text{Örneğin 2. Absorbansı} - \text{Örneğin 1. Absorbansı} )$$

$$\Delta \text{ Standart 2'nin Absorbansı} = ( \text{Std 2'nin 2. Absorbansı} - \text{Std 2'nin 1. Absorbansı} )$$

$$\text{Standart 2 Değeri} = 20 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{Equiv./L}$$

Değerler µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Equiv. / L cinsinden verildi.

#### **2.2.9.4. Total Antioksidan (TAS) Test Kiti**

**Testin Prensi:** Bu ölçüm yönteminde 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6 sulfonic acid) radikali (ABTS radikali) kullanılmaktadır. ABTS radikali, antioksidan konsantrasyonuna ve antioksidan kapasiteye göre koyu mavi-yeşil rengini kaybetmektedir. Bu yöntemin esası hidrojen peroksit varlığında ABTS molekülünün ABTS<sup>+</sup> molekülüne okside olmasına dayanmaktadır (66).



**Testin Yapılışı:**

- 500 µL Reagent 1
- 30 µL (Standart 1, Standart 2 ve örnek)
- 660 nm dalga boyunda ilk absorbans
- 75 µL Reagent 2
- 10 dakika oda sıcaklığında inkübasyon
- 660 nm dalga boyunda ikinci absorbanslar elde edildi.

Prosedürü pleyt'e uyarlamak için reagent miktarları eşit oranda azaltıldı.

**Sonuçların Hesaplanması:**

$$\text{Sonuç} = \frac{\Delta \text{ABS Std 1} - \Delta \text{ABS Örnek}}{\Delta \text{ABS Std 1} - \Delta \text{ABS Std 2}}$$

$$\Delta \text{ABS Std 1} = (\text{Standart 1'in 2. Absorbansı} - \text{Standart 1'in 1. Absorbansı})$$

$$\Delta \text{ABS Std 2} = (\text{Standart 2'in 2. Absorbansı} - \text{Standart 2'in 1. Absorbansı})$$

$$\Delta \text{Örnek Absorbansı} = (\text{Örneğin 2. Absorbansı} - \text{Örneğin 1. Absorbansı})$$

Sonuçlar Trolox equivalent / L cinsinden verildi.

**2.2.10. Oksidatif Stres İndeksinin Hesaplanması**

Total oksidan seviyenin (TOS) total antioksidan seviyeye (TAS) bölünmesiyle Arbitrary Unit (AU) cinsinden Oksidatif stres indeksi (OSİ) seviyeleri belirlendi.

$$\text{OSİ} = \text{TOS} / \text{TAS}$$

**2.3. İstatistiksel Analiz**

Araştırmada elde edilen verilerin biyoistatistiksel olarak değerlendirilmesi için SPSS 18 paket programı kullanıldı. Gruplar arasındaki değişkenlerin değerlendirilmesi için Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve Tukey testi uygulandı. Yine PON-HDL, PON-LDL, HDL-LDL, ARE-HDL, ARE-LDL ve TOS-TAS parametrelerin aralarındaki ilişki düzeyini belirlemek için de Korelasyon analizleri yapıldı.  $p < 0.05$  olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Kontrol ve Deneme Grubu Hayvanların Kan Glukoz Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Çalışmanın 0., 3., 10., 17. ve 24. günlerinde tüm grupların kan glukoz değerleri ölçülerek kendi aralarında değerlendirildi. Başlangıçta (0. günde) grupların kan glukoz seviyelerinin 64-100 mg/dL arasında olduğu gözlemlendi. Kontrol grubunun kan glukoz seviyelerinde çalışmanın sonlarına doğru istatistiksel açıdan anlamlı bir artış gözlemlendi (0. gün ile 24. gün  $p<0.01$ ; 10. gün ile 24. gün  $p<0.05$ ). Benzer şekilde tüm diyabetik gruplarda diyabetin oluşturulduğu 72. saatte kan glukoz seviyelerinde önemli artışlar belirlendi ( $p<0.001$ ). Diyabetik kontrol grubunda kan glukoz düzeylerinin gün geçtikçe artış gösterdiği; fakat bu artışın yalnızca 3-17, 3-24. günler ( $p<0.001$ ) ile 10-17, 10-24. günler ( $p<0.01$ ) arasında önemli olduğu; 3-10. ve 10-24. günler arasında ise istatistiksel açıdan önemli olmadığı ( $p>0.05$ ) görüldü. C vitamini grubunda 3, 10 ve 17. günler arasında kan glukoz seviyelerinin değişimi önemsizken ( $p>0.05$ ); 17. güne kıyasla 24. günde  $p<0.001$  düzeyinde bir artış belirlendi. Alfa lipoik asit uygulanan grubun kan glukoz düzeylerinde 3-17, 3-24, 10-17 ve 10-24. günler arasında  $p<0.001$  düzeyinde önemli artışlar belirlenirken; 3-10 ve 17-24. günler arasında istatistiksel açıdan herhangi bir değişiklik gözlenmedi ( $p>0.05$ ). Kombine grupta ise 3, 10 ve 17. günler arasında bir farklılık gözlenmezken ( $p>0.05$ ), 3 ve 10 güne göre 24. günde glukoz düzeylerindeki artışın önemli olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ) (Tablo 3).

C vitamini verilen diyabetik grubun diyabetik kontrol grubuna kıyasla kan glukoz seviyelerinde 17. günde önemli bir azalış tespit edilmekle birlikte ( $p<0.01$ ); diğer günlerdeki değişimin önemli olmadığı gözlemlendi ( $p>0.05$ ). Alfa lipoik asit verilen diyabetik grubun kan glukoz seviyelerinde de 10. günden itibaren istatistiksel olarak anlamlı olmayan düşüşler belirlendi ( $p>0.05$ ). Yine Alfa lipoik asit ve C vitamini verilen diyabetik grubun kan glukoz düzeyleri 17. günden sonra diyabetik kontrol grubuna kıyasla bir azalış göstermekle birlikte bu azalışın istatistiksel olarak önemli olmadığı saptandı ( $p>0.05$ ) (Tablo 4).

**Tablo 3.** Kontrol ve Deneme Grubu Hayvanlarının Açlık Kan Glukoz Düzeylerinin Belirlenen Zaman Birimlerine Göre Grup İçi Değişimleri (mg/dL).

GLİKOZ	0.GÜN X ± SD	3.GÜN X ± SD	10.GÜN X ± SD	17.GÜN X ± SD	24.GÜN X ± SD
KONTROL	84.8±4.6 <sup>b</sup>	86.5±6.4 <sup>b</sup>	88.0±5.4 <sup>b*</sup>	89.9±6.7 <sup>ab</sup>	97.4±10.2 <sup>a</sup>
DİYABET	83.9±5.3 <sup>c</sup>	307.8±32.9 <sup>b*</sup>	326.8±26.1 <sup>b†</sup>	377.5±41.4 <sup>a*</sup>	402.4±19.7 <sup>a†</sup>
DİYABET + C VİTAMİNİ	83.4±6.4 <sup>c</sup>	311.8±19.2 <sup>b</sup>	318.4±50.1 <sup>b</sup>	331.1±35.8 <sup>b</sup>	393.7±5.9 <sup>a</sup>
DİYABET + α LİPOİK ASİT	83.2±9.1 <sup>c</sup>	323.5±30.3 <sup>b*</sup>	316.6±20.9 <sup>b†</sup>	369.8±17.3 <sup>a*</sup>	393.5±8.4 <sup>a†</sup>
DİYABET+ α LİPOİK ASİT + C VİTAMİNİ	86.9±10.5 <sup>c</sup>	329.6±22.3 <sup>b</sup>	327.2±16.9 <sup>b</sup>	344.1±32.5 <sup>ab</sup>	375.2±57.0 <sup>a</sup>

Aynı satırda farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

Kontrol : a-b : p<0.01, a-b\* : p<0.05

Diyabet : b\*-c, b†-c, a\*-c, a†-c, a\*-b\*, b\*-a†, a†-b† : p<0.001, b†-a\* : p<0.01

Diyabet + C Vitamini : b-c, a-c, a-b : p<0.001

Diyabet + α Lipoik Asit : b\*-c, b†-c, a\*-c, a†-c, a\*-b\*, a†-b\*, a\*-b†, a†-b† : p<0.001

Diyabet + C Vitamini + α Lipoik Asit : a-c, b-c, ab-c : p<0.001, a-b : p<0.05

**Not:** Tüm gruplardaki hayvanların deney süresince değişen kan glukoz seviyeleri Tablo 3'de görülmektedir. 0. gün çalışmanın başlangıcını göstermektedir. 0. günde hayvanların 8 saat açlık sonrası kan glukoz seviyeleri belirlenerek hemen arkasından intraperitoneal olarak STZ enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyonu takiben 72. saatte (3. gün) yine 8 saat açlık sonrası kan glukoz seviyelerine bakılarak diyabet doğrulandı. Diyabetli oldukları doğrulanan hayvanlara 3. günden itibaren belirlenen dozlarda C vitamini, Alfa lipoik asit ve bu iki maddenin kombinasyonu her gün aynı saatte olmak üzere oral olarak uygulandı. Madde uygulanan bu periyot içinde 10., 17., ve 24. günlerde hayvanların kan glukoz seviyeleri ve ağırlıkları belirlendi.

**Tablo 4.** Kontrol ve Deneme Grubu Hayvanlarının Açlık Kan Glukoz Düzeylerinin Belirlenen Zaman Birimlerine Göre Gruplar Arası Değişimleri (mg/dL).

GLİKOZ	KONTROL	DİYABET	DİYABET + $\alpha$ LİPOİK ASİT	DİYABET +C VİTAMİNİ	DİYABET + $\alpha$ LİPOİK ASİT + C VİTAMİNİ
0. gün X $\pm$ SD	84.8 $\pm$ 4.6	83.9 $\pm$ 5.3	83.2 $\pm$ 9.1	83.4 $\pm$ 6.4	86.9 $\pm$ 10.5
3. gün X $\pm$ SD	86.5 $\pm$ 6.4 <sup>b</sup>	307.8 $\pm$ 32.9 <sup>a</sup>	323.5 $\pm$ 30.3 <sup>a</sup>	311.8 $\pm$ 19.2 <sup>a</sup>	329.6 $\pm$ 22.3 <sup>a</sup>
10. gün X $\pm$ SD	88.0 $\pm$ 5.4 <sup>b</sup>	326.8 $\pm$ 26.1 <sup>a</sup>	316.6 $\pm$ 20.9 <sup>a</sup>	318.4 $\pm$ 50.1 <sup>a</sup>	327.2 $\pm$ 16.9 <sup>a</sup>
17. gün X $\pm$ SD	89.9 $\pm$ 6.7 <sup>c</sup>	377.5 $\pm$ 41.4 <sup>a*</sup>	369.8 $\pm$ 17.3 <sup>a</sup>	331.1 $\pm$ 35.8 <sup>b</sup>	344.1 $\pm$ 32.5 <sup>ab</sup>
24. gün X $\pm$ SD	97.4 $\pm$ 10.2 <sup>b</sup>	402.4 $\pm$ 19.7 <sup>a</sup>	393.5 $\pm$ 8.4 <sup>a</sup>	393.7 $\pm$ 5.9 <sup>a</sup>	375.2 $\pm$ 57.0 <sup>a</sup>

Aynı satırda farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

0. gün : p>0.05

3. gün : a-b : p<0.001

10. gün : a-b : p<0.001

17. gün : a-c, b-c, ab-c, a\*-c : p<0.001, a\*-b : p<0.01, a-b : p<0.05

24. gün : a-b : p<0.001

### 3.2. Kontrol ve Deneme Grubu Hayvanların Vücut Ağırlıklarının Değerlendirilmesi

Deneyin 0., 3., 10, 14. ve 24. günlerinde tüm grupların vücut ağırlıkları ölçüldü ve gruplar kendi aralarında değerlendirildi. Kontrol grubundaki hayvanların vücut ağırlıklarında bir artış gözlenmekle birlikte bu artış istatistiksel olarak önemli kabul edilmedi (3. gün, 10. gün, 17. gün ve 24. gün p>0.05). Diyabetik kontrol grubu hayvanlarının belirlenen vücut ağırlıklarında ise istatistiksel açıdan oldukça önemli bir azalış gözlemlendi (3. gün, 10. gün, 17. gün ve 24. gün p<0.001). Alfa lipoik asit verilen diyabetik grubun vücut ağırlıklarının ölçümünde ise 3. gün p<0.05, 10. gün p<0.01, 17. gün ve 24. gün p<0.001 düzeylerinde istatistiksel olarak oldukça önemli düzeylerde düşüş belirlendi. Benzer şekilde C vitamini verilen diyabetik grubun ölçümlerinde de 3. gün, 10. gün, 17. gün ve 24. gün p<0.001 düzeylerinde istatistiksel açıdan önemli değişiklikler saptandı. İkisinin verildiği kombine grubun

ağırlıklarında da istatistiksel açıdan oldukça ileri düzeyde azalışlar belirlendi (3. gün  $p<0.05$ , 10., 17. ve 24. gün  $p<0.001$ ) (Tablo 5).

**Tablo 5.** Deney Hayvanlarının Vücut Ağırlıklarının Grup İçi Günler Arası Değişimleri (gr).

AĞIRLIK	0.GÜN X ± SD	3.GÜN X ± SD	10.GÜN X ± SD	17.GÜN X ± SD	24.GÜN X ± SD
KONTROL	365.4±15.3	356.7±37.7	366.3±25.4	381.6±30.7	390.6±27.1
DİYABET	317.5±8.0 <sup>a</sup>	281.4±17.8 <sup>b</sup>	270.2±18.1 <sup>bc</sup>	261.9±18.8 <sup>bc</sup>	252.8±20.2 <sup>c</sup>
DİYABET + α LİPOİK ASİT	306.3±12.8 <sup>a</sup>	276.7±23.7 <sup>b</sup>	268.3±22.2 <sup>bc</sup>	248.9±21.8 <sup>c</sup>	241.2±24.4 <sup>c*</sup>
DİYABET + C VİTAMİNİ	341.9±5.1 <sup>a</sup>	310.8±7.7 <sup>b</sup>	292.0±14.6 <sup>c</sup>	278.2±12.6 <sup>cd</sup>	270.9±13.9 <sup>d</sup>
DİYABET + α LİPOİK ASİT + C VİTAMİNİ	341.5±9.0 <sup>a</sup>	308.7±19.0 <sup>b</sup>	288.1±24.9 <sup>bc</sup>	270.2±25.8 <sup>cd</sup>	244.6±30.4 <sup>d</sup>

Aynı satırda farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

Kontrol :  $p>0.05$

Diyabet : a-b, a-bc, a-c :  $p<0.001$ , b-c :  $p<0.01$

Diyabet + α Lipoik Asit : a-c, a-c\* :  $p<0.001$ , a-bc, b-c\* :  $p<0.01$ , a-b, b-c :  $p<0.05$

Diyabet + C Vitamini : a-b, a-c, a-cd, a-d, b-cd, b-d, c-d :  $p<0.001$ , b-c :  $p<0.01$

Diyabet + C Vitamini + α Lipoik Asit : a-bc, a-cd, a-d, b-d, bc-d :  $p<0.001$ , b-cd :  $p<0.01$ , a-b :  $p<0.05$

Not: 0. gün enjeksiyonun ilk gününü; 3. gün STZ enjeksiyonunun 72. saatini; 24. gün diyabetin son gününü göstermektedir.

### 3.3. Serum Lipit Profili

Kontrollere kıyasla diyabetik gruplardan Alfa lipoik asit grubunun total kolesterol düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilirken ( $p<0.05$ ); diğer diyabetik gruplardaki artış önemsiz kabul edildi ( $p>0.05$ ). Diyabetik gruplardan Alfa lipoik asit verilen grupta diyabetik kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olmayan bir artış gözlenirken; C vitamini ve kombine gruplarda ise yine istatistiksel açıdan anlamlı olmayan bir azalış tespit edildi (Tablo 6 ve Grafik 1) ( $p>0.05$ ).

**Tablo 6.** Deney Gruplarının Serum Total Kolesterol, HDL, LDL ve VLDL Kolesterol ile Trigliserit Sonuçları (mg/dL).

PARAMETRE	KONTROL	DİYABET	DİYABET + $\alpha$ LİPOİK ASİT	DİYABET + C VİTAMİNİ	DİYABET + $\alpha$ LİPOİK ASİT + C VİTAMİNİ
<b>TOTAL KOLESTEROL</b>	55.57 $\pm$ 4.28 <sup>b</sup>	60.64 $\pm$ 5.68 <sup>ab</sup>	63.11 $\pm$ 5.70 <sup>a</sup>	59.33 $\pm$ 7.15 <sup>ab</sup>	55.69 $\pm$ 1.25 <sup>b</sup>
<b>TRİGLİSERİT</b>	53.43 $\pm$ 6.08 <sup>c</sup>	110.43 $\pm$ 6.40 <sup>a</sup>	90.86 $\pm$ 28.11 <sup>ab*</sup>	98.33 $\pm$ 23.29 <sup>ab</sup>	82.37 $\pm$ 6.80 <sup>b</sup>
<b>HDL</b>	21.71 $\pm$ 1.70 <sup>b</sup>	18.00 $\pm$ 2.16 <sup>c</sup>	31.43 $\pm$ 1.72 <sup>a</sup>	24.67 $\pm$ 2.41 <sup>b</sup>	23.00 $\pm$ 2,24 <sup>b</sup>
<b>VLDL</b>	11.57 $\pm$ 1.99 <sup>b</sup>	21.00 $\pm$ 2.58 <sup>a</sup>	18.57 $\pm$ 5.59 <sup>a*</sup>	22.17 $\pm$ 5.77 <sup>a</sup>	18.20 $\pm$ 3.00 <sup>a*</sup>
<b>LDL</b>	13.71 $\pm$ 1.80	14.59 $\pm$ 2.76	14.59 $\pm$ 4.11	12.64 $\pm$ 4.60	12.36 $\pm$ 1.71

Aynı satırda farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

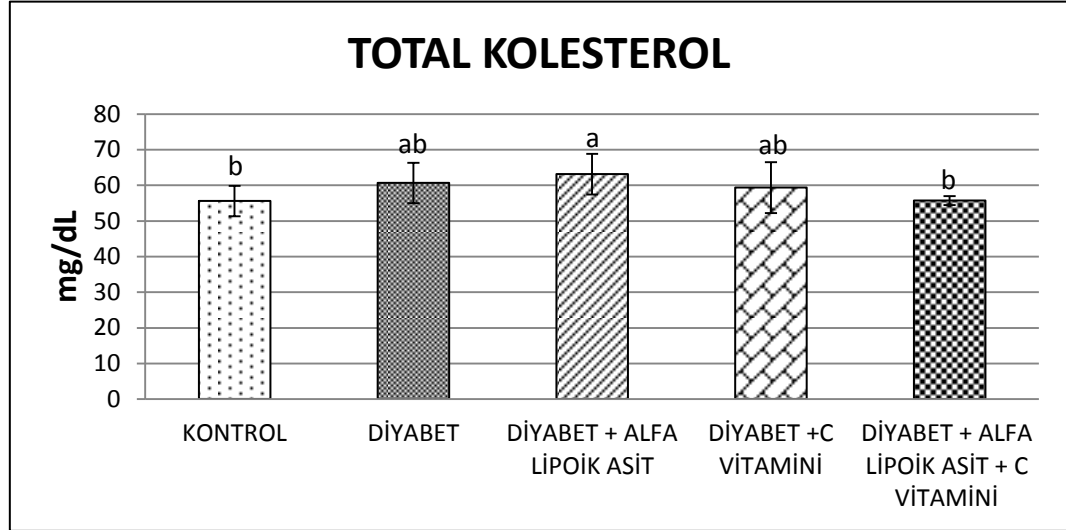
Total Kolesterol : a-b : p<0.05

Trigliserit : a-c, ab-c: p<0.001, ab\*-c: p<0.01, a-b, b-c: p<0.05

HDL : a-b, a-c, b-c : p<0.001, b-c : p<0.05

VLDL : a-b: p<0.001, a\*-b : p<0.05

LDL : p>0.05



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

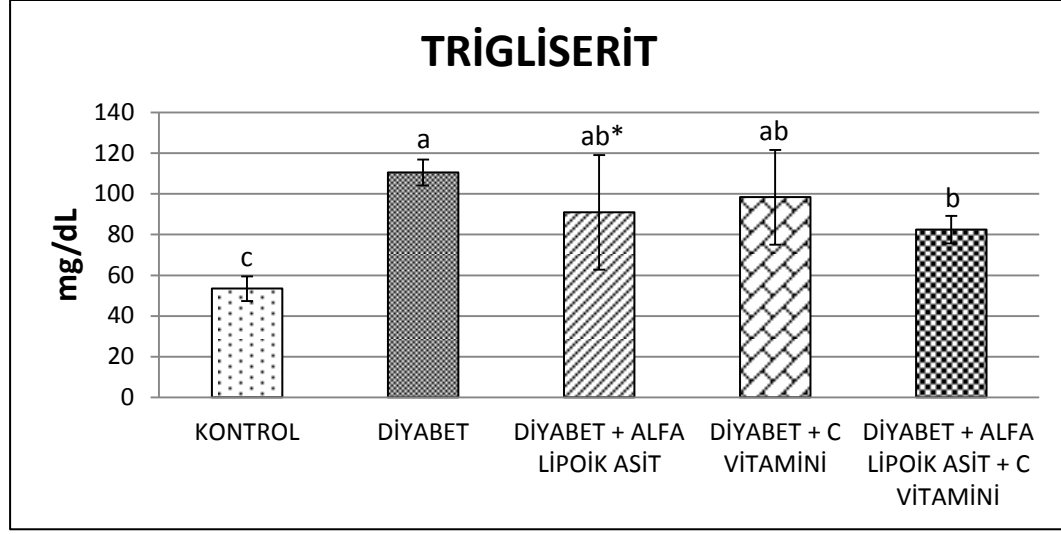
a-b : p<0.05

**Grafik 1.** Serum Total Kolesterol Düzeyleri (mg/dL).

Trigliserit düzeyleri kontrollere kıyasla tüm gruplarda önemli bir şekilde artmakla birlikte en önemli artışın diyabetik kontrol grubunda olduğu belirlendi (p<0.001).

Madde verilen gruplar diyabetik kontrol grubu ile kıyaslandığında trigliserit

seviyelerinde azalma gözlenmekle birlikte, bu azalmanın sadece kombine grupta istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edildi (Tablo 6 ve Grafik 2) ( $p < 0.05$ ).



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

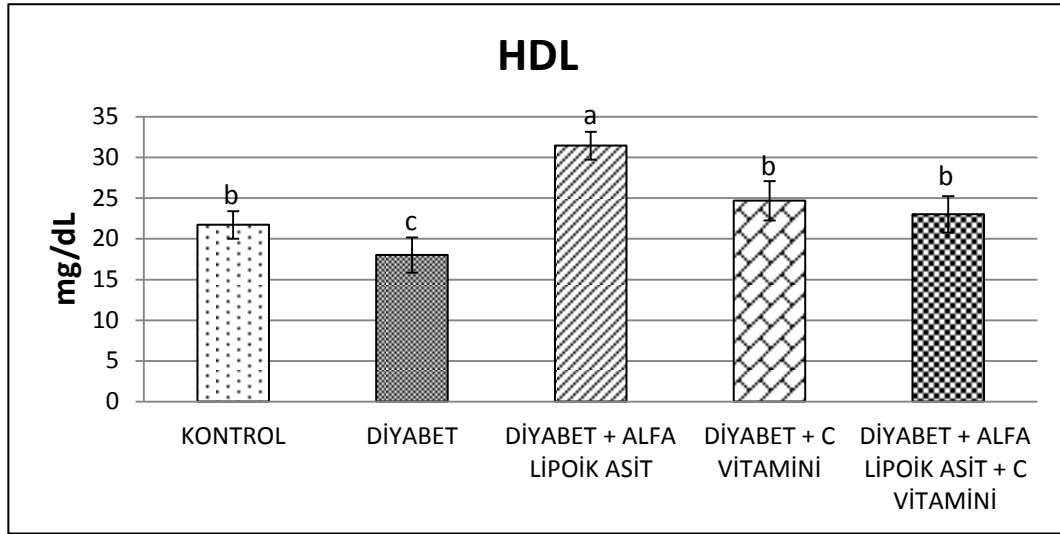
a-c, ab-c:  $p < 0.001$ , ab\*-c:  $p < 0.01$ , a-b, b-c:  $p < 0.05$

**Grafik 2.** Serum Trigliserit Düzeyleri (mg/dL).

Diyabetik kontrol grubunun yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) düzeyleri tüm gruplara oranla istatistiksel olarak önemli düzeyde düşük bulundu ( $p > 0.001$ ). C vitamini, kombine ve kontrol grubunun HDL kolesterol düzeyleri benzer bulunmakla birlikte ( $p > 0.05$ ); Alfa lipoik asit uygulanan grubun HDL kolesterol seviyelerinin kontrol grubu da dahil olmak üzere tüm gruplardan oldukça yüksek olduğu tespit edildi (Tablo 6 ve Grafik 3) ( $p < 0.001$ ).

Kontrol grubunun çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) düzeyleri oldukça düşük seviyelerdeyken; Alfa lipoik asit ve kombine grupların VLDL düzeylerinin diyabetik kontrol grubuna oranla önemli olmamakla birlikte düşük seviyelerde olduğu gözlemlendi (Tablo 6 ve Grafik 4) ( $p > 0.05$ ).

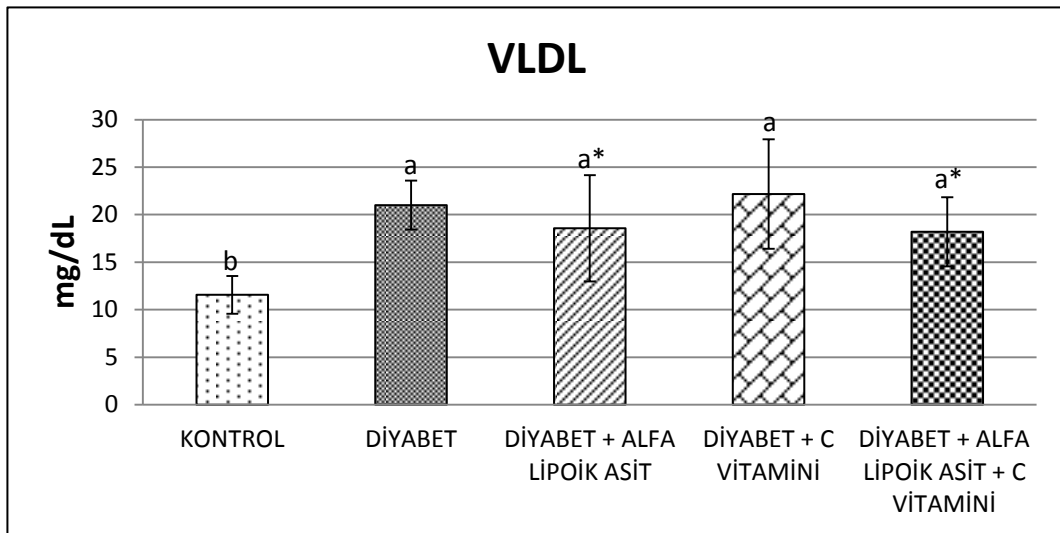
Düşük dansiteli lipoprotein (LDL) düzeylerine bakıldığında ise, kontrol ve diyabetik kontrol gruplarına oranla C vitamini ve kombine grupta bir düşüş gözlenmekle birlikte bu düşüş istatistiksel olarak önemli değildi (Tablo 6 ve Grafik 5) ( $p > 0.05$ ).



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

a-b, a-c, b-c :  $p < 0.001$ , b-c :  $p < 0.05$

**Grafik 3.** Serum HDL Kolesterol Düzeyleri (mg/dL).

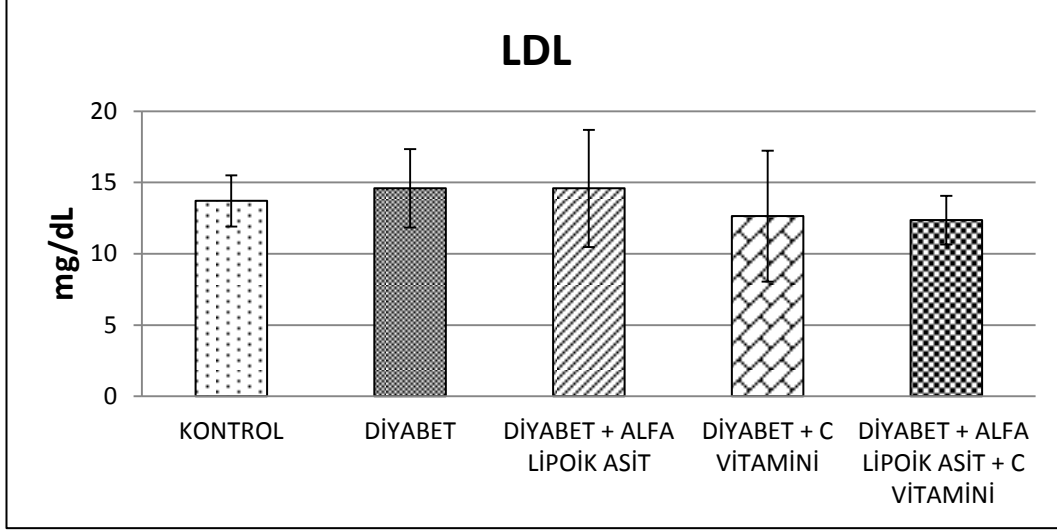


Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

a-b:  $p < 0.001$ , a\*-b :  $p < 0.05$

**Grafik 4.** Serum VLDL Kolesterol Düzeyleri (mg/dL).





$p > 0.05$

**Grafik 5.** Serum LDL Kolesterol Düzeyleri (mg/dL).

### 3.4. Serum Paraoksonaz (PON) ve Arilesteraz (ARE) Aktiviteleri

Diyabetik kontrol grubunda kontrol grubuna göre PON ve ARE aktivitelerinde oldukça anlamlı bir düşüş saptandı ( $p < 0.001$ ). Alfa lipoik asit, C vitamini ve kombine grupları ile diyabetik kontrol grubu karşılaştırıldığında ise PON (sırasıyla  $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ) ve ARE aktivitelerinde (sırasıyla  $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı (Tablo 7 ve Grafik 6-7).

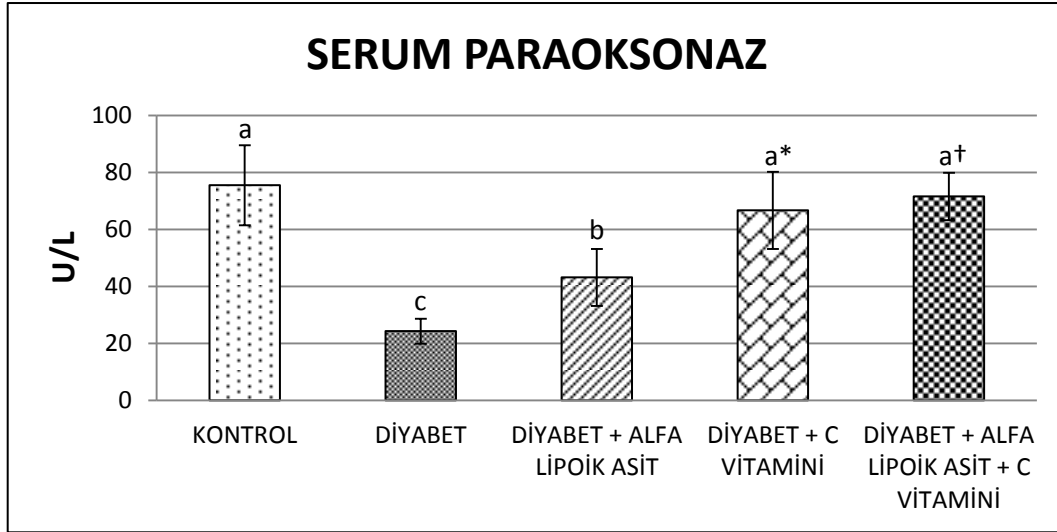
**Tablo 7.** Serum Örneklerinin PON ve ARE Aktiviteleri (U/L).

PON/ARE	KONTROL	DİYABET	DİYABET + $\alpha$ LİPOİK ASİT	DİYABET + C VİTAMİNİ	DİYABET + $\alpha$ LİPOİK ASİT + C VİTAMİNİ
PON	75.48 $\pm$ 14.02 <sup>a</sup>	24.30 $\pm$ 4.40 <sup>c</sup>	43.15 $\pm$ 10.03 <sup>b</sup>	66.67 $\pm$ 13.55 <sup>a*</sup>	71.55 $\pm$ 8.29 <sup>a†</sup>
ARE	10.98 $\pm$ 0.96 <sup>a</sup>	3.28 $\pm$ 1.02 <sup>c</sup>	5.67 $\pm$ 0.94 <sup>b†</sup>	6.53 $\pm$ 1.07 <sup>b*</sup>	6.56 $\pm$ 1.45 <sup>b</sup>

Aynı satırda farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

PON : a-b, a-c, a\*-c, a†-b, a†-c:  $p < 0.001$ , a\*-b :  $p < 0.01$ , b-c :  $p < 0.05$

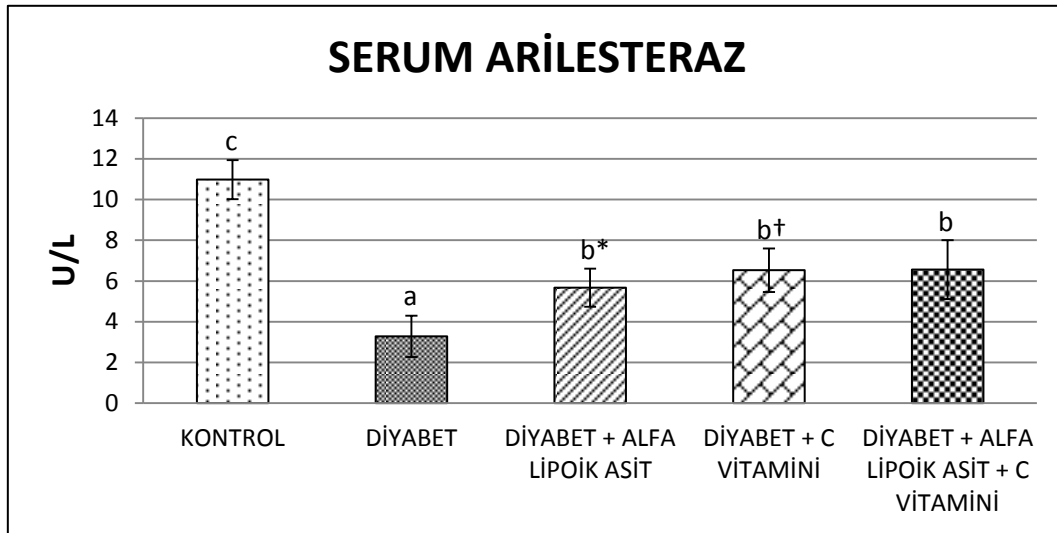
ARE : a-b, a-b\*, a-b†, a-c, b-c, b\*-c :  $p < 0.001$ , b†-c :  $p < 0.01$



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

a-b, a-c, a\*-c, a†-b, a†-c:  $p < 0.001$ , a\*-b :  $p < 0.01$ , b-c :  $p < 0.05$

**Grafik 6.** Serum Örneklerinin PON Aktiviteleri (U/L).



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

a-b, a-b\*, a-b†, a-c, b-c, b\*-c :  $p < 0.001$ , b†-c :  $p < 0.01$

**Grafik 7.** Serum Örneklerinin ARE Aktiviteleri (U/L).

### 3.5. Karaciğer Dokusunun Paraoksonaz (PON) ve Arilesteraz (ARE) Aktiviteleri

Diyabetik kontrol grubunun ARE aktivitesinde kontrollere kıyasla oldukça anlamlı bir azalış tespit edildi ( $p<0.001$ ). Bunun yanı sıra diyabetik kontrol grubunun PON aktivitesinde ise kontrol grubuna oranla istatistiksel açıdan önemsiz bir azalış belirlendi ( $p>0.05$ ). Alfa lipoik asit grubunun PON aktivitesi diyabetik ve kontrol grubuna kıyasla  $p<0.001$  düzeyinde yükseliş gösterirken; ARE aktivitesindeki azalış diyabetik kontrol grubuna oranla anlamlı bulunmadı ( $p>0.05$ ). C vitamini grubu ile diyabet grubu ve kontroller karşılaştırıldığında PON aktivitesindeki azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken; ARE aktivitelerindeki azalış kontrollere göre anlamlıyken ( $p<0.001$ ), diyabet grubuna kıyasla önemsizdi (Tablo 8 ve Grafik 8-9) ( $p>0.05$ ).

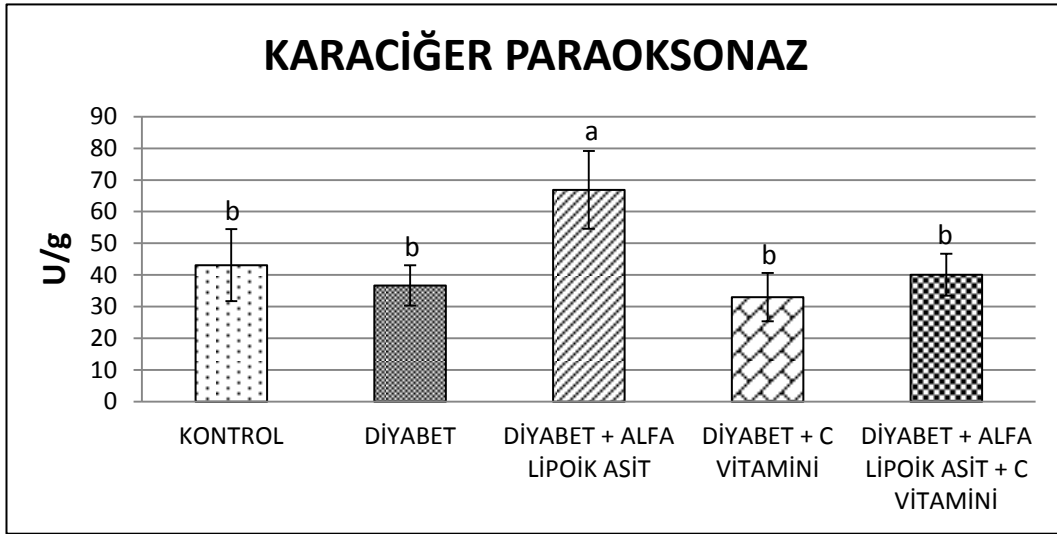
**Tablo 8.** Karaciğer Örneklerinin PON ve ARE Aktiviteleri (U/g).

PON/ARE	KONTROL	DİYABET	DİYABET + $\alpha$ LİPOİK ASİT	DİYABET + C VİTAMİNİ	DİYABET + $\alpha$ LİPOİK ASİT + C VİTAMİNİ
PON	43.10 $\pm$ 11.35 <sup>b</sup>	36.69 $\pm$ 6.34 <sup>b</sup>	66.88 $\pm$ 12.32 <sup>a</sup>	33.01 $\pm$ 7.67 <sup>b</sup>	40.08 $\pm$ 6.64 <sup>b</sup>
ARE	23.18 $\pm$ 2.01 <sup>a</sup>	13.31 $\pm$ 1.13 <sup>b</sup>	12.89 $\pm$ 0.92 <sup>b</sup>	13.86 $\pm$ 3.76 <sup>b</sup>	14.53 $\pm$ 0.96 <sup>b</sup>

Aynı satırda farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

PON : a-b :  $p<0.001$

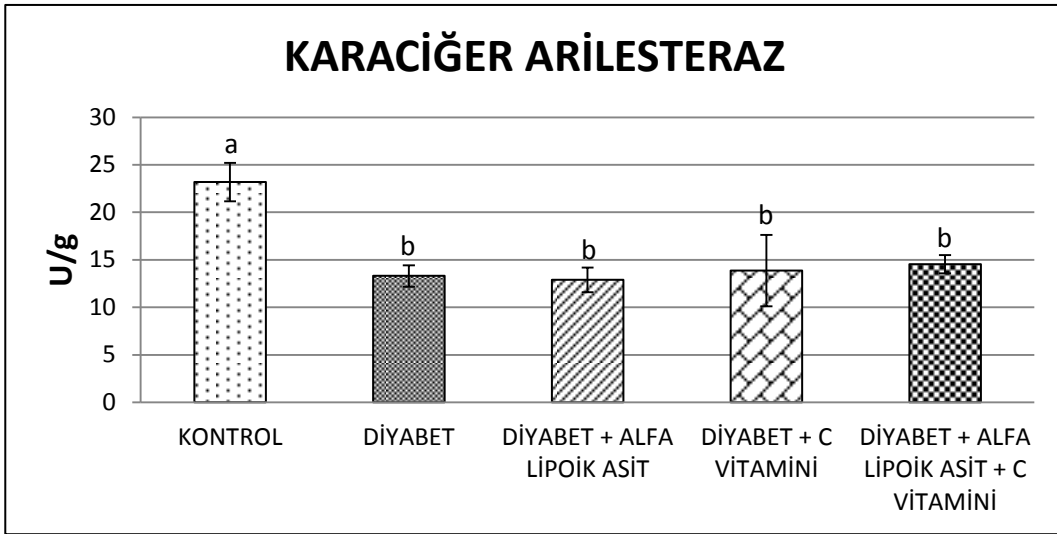
ARE : a-b :  $p<0.001$



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

a-b :  $p < 0.001$

**Grafik 8.** Karaciğer Dokusunun PON Aktivitesi (U/g).



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

a-b :  $p < 0.001$

**Grafik 9.** Karaciğer Dokusunun ARE Aktivitesi (U/g).

### 3.6. Plazma ve Karaciğerin Total Oksidan Düzeyleri (TOS)

**Tablo 9.** Plazma ve Karaciğer Örneklerinin Total Oksidan Seviyeleri ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equiv./L).

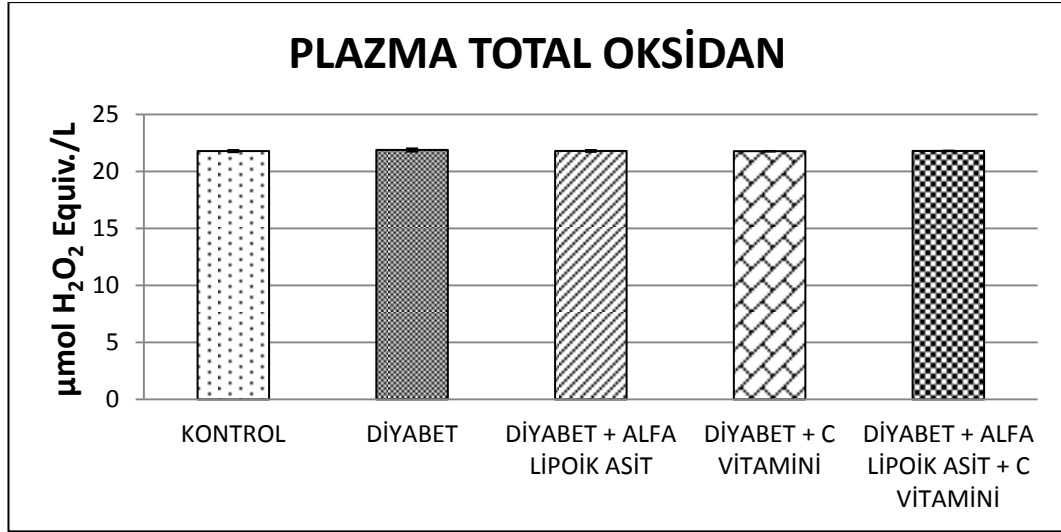
TOS	KONTROL	DİYABET	DİYABET + $\alpha$ LİPOİK ASİT	DİYABET + C VİTAMİNİ	DİYABET + $\alpha$ LİPOİK ASİT + C VİTAMİNİ
PLAZMA	21.78 $\pm$ 0.10	21.88 $\pm$ 0.14	21.79 $\pm$ 0.08	21.77 $\pm$ 0.03	21.79 $\pm$ 0.02
KARACİĞER	5.86 $\pm$ 0.97 <sup>b</sup>	21.43 $\pm$ 2.12 <sup>a</sup>	20.35 $\pm$ 2.95 <sup>a</sup>	4.86 $\pm$ 0.84 <sup>b*</sup>	22.89 $\pm$ 4.83 <sup>a</sup>

Aynı satırda farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

Plazma :  $p>0.05$

Karaciğer : a-b, a-b\* :  $p<0.001$

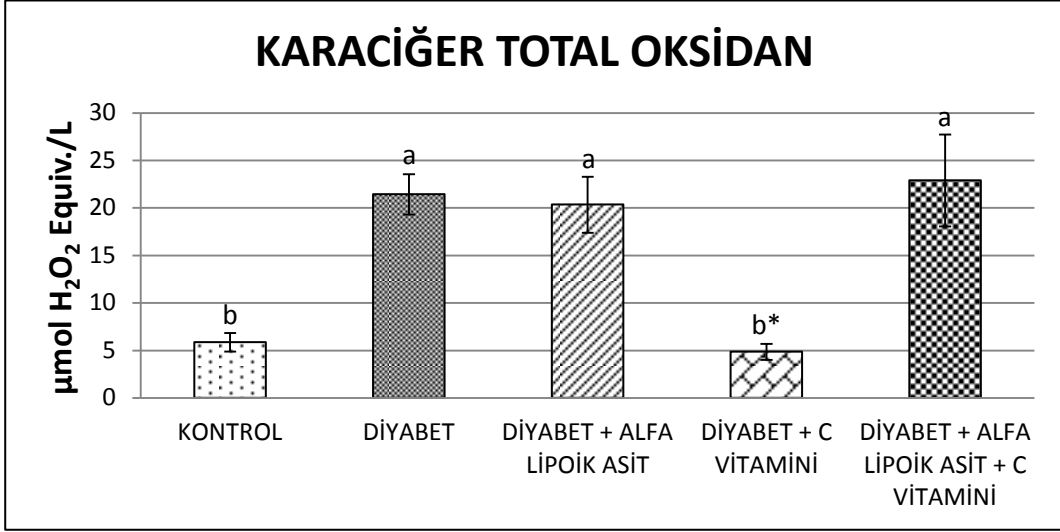
Plazma total oksidan seviyeleri bakımından gruplar arasında herhangi bir farklılık saptanmadı (Tablo 9 ve Grafik 10) ( $p>0.05$ ).



$p>0.05$

**Grafik 10.** Plazma Örneklerinin Total Oksidan Seviyeleri ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equiv./L).

Karaciğer dokusunda diyabetik kontrol grubunun total oksidan düzeyleri kontrol grubuna göre oldukça yüksek iken ( $p<0.001$ ); C vitamini grubunun total oksidan seviyeleri ise diğer tüm diyabetik deneme gruplarından anlamlı bir düzeyde düşüktü (Tablo 9 ve Grafik 11) ( $p<0.001$ ).



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

a-b, a-b\* : p<0.001

**Grafik 11.** Karaciğer Dokusunun Total Oksidan Seviyeleri (µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Equiv./L).

### 3.7. Plazma ve Karaciğerin Total Antioksidan Düzeyleri (TAS)

**Tablo 10.** Plazma ve Karaciğer Örneklerinin Total Antioksidan Seviyeleri (mmol Trolox Equiv./L).

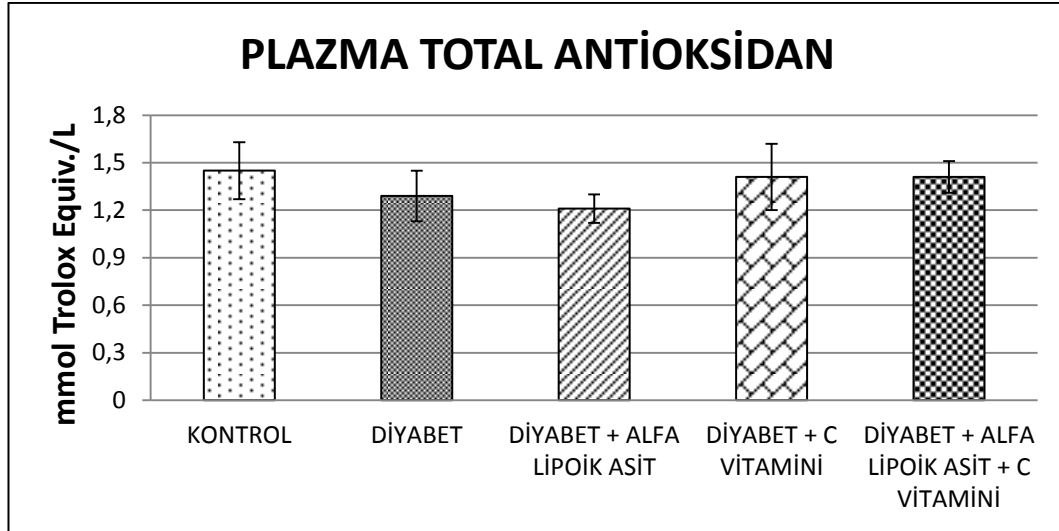
TAS	KONTROL	DİYABET	DİYABET + α LİPOİK ASİT	DİYABET + C VİTAMİNİ	DİYABET + α LİPOİK ASİT + C VİTAMİNİ
PLAZMA	1.45±0.18	1.29±0.16	1.21±0.08	1.41±0.21	1.41±0.10
KARACİĞER	1.88±0.14 <sup>a</sup>	0.77±0.09 <sup>b</sup>	0.75±0.09 <sup>b</sup>	0.39±0.03 <sup>c</sup>	0.87±0.09 <sup>b</sup>

Aynı satırda farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

Plazma : p>0.05

Karaciğer : a-b, a-c, b-c : p<0.001

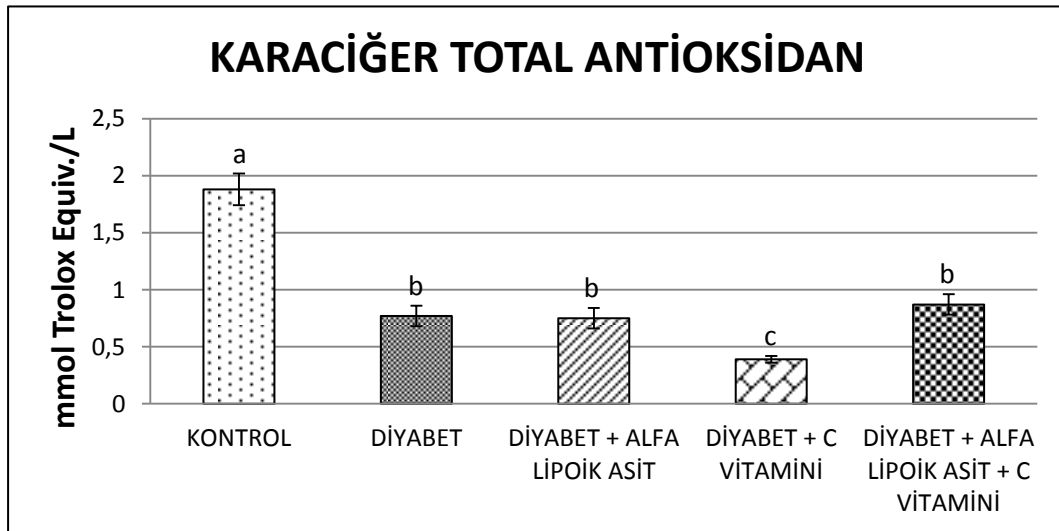
Diyabetik kontrol grubu ile Alfa lipoik asitin plazma total antioksidan düzeylerinde kontrollere kıyasla önemsiz bir azalma belirlenirken (p>0.05); C vitamini ve kombine grubun total antioksidan düzeylerinde ise istatistiksel açıdan önemsiz bir yükseliş saptanmıştır (Tablo 10 ve Grafik 12) (p>0.05).



$p > 0.05$

**Grafik 12.** Plazma Örneklerinin Total Antioksidan Seviyeleri (mmol Trolox Equiv./L).

Karaciğer dokusunda diyabetik grupların total antioksidan düzeyleri kontrollere kıyasla istatistiksel olarak oldukça fazla düşüş gösterirken ( $p < 0.001$ ); en fazla düşüş C vitamini grubunda tespit edildi (Tablo 10 ve Grafik 13) ( $p < 0.001$ ).



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

a-b, a-c, b-c :  $p < 0.001$

**Grafik 13.** Karaciğer Dokusunun Total Antioksidan Seviyeleri (mmol Trolox Equiv./L).

### 3.8. Plazma ve Karaciğer Örneklerinin Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Plazma oksidatif stres indeksi gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken (Tablo 11 ve Grafik 14) ( $p>0.05$ ); diyabetik grupların karaciğer oksidatif stres indekslerinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı yükselişler saptandı ( $p<0.001$ ). Alfa lipoik asit, C vitamini ve kombine grupların OSİ değerleri diyabetik kontrol grubuna göre azalış göstermekle birlikte bu azalış sadece C vitamini grubunda anlamlıydı (Tablo 11 ve Grafik 15) ( $p<0.001$ ).

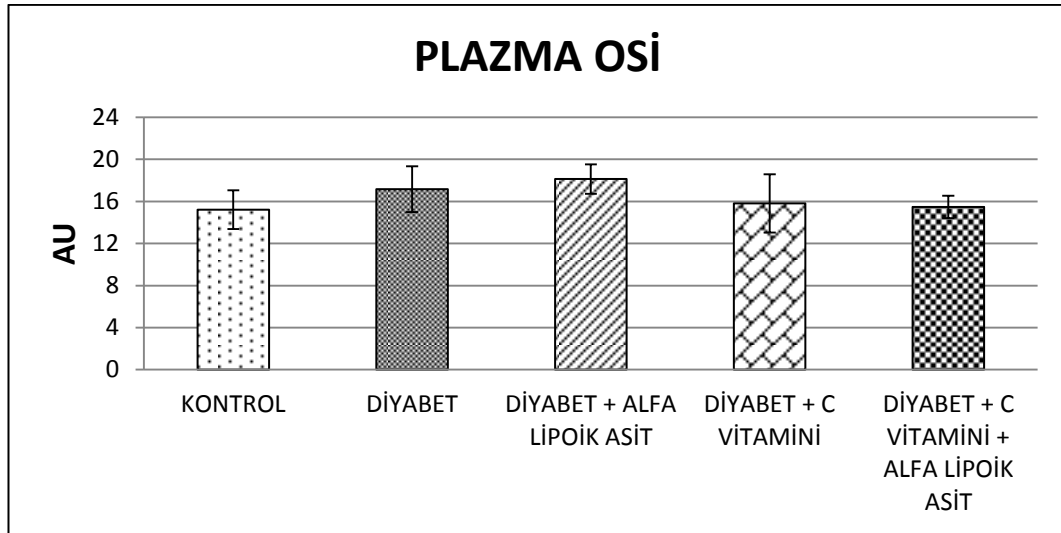
**Tablo 11.** Plazma ve Karaciğer OSİ Değerleri (AU).

OSİ	KONTROL	DİYABET	DİYABET + $\alpha$ LİPOİK ASİT	DİYABET + C VİTAMİNİ	DİYABET + $\alpha$ LİPOİK ASİT + C VİTAMİNİ
PLAZMA	15.20 $\pm$ 1.84	17.15 $\pm$ 2.18	18.12 $\pm$ 1.39	15.80 $\pm$ 2.76	15.46 $\pm$ 1.06
KARACİĞER	3.01 $\pm$ 0.51 <sup>c</sup>	28.19 $\pm$ 3.51 <sup>a</sup>	27.30 $\pm$ 1.37 <sup>a</sup>	12.18 $\pm$ 2.14 <sup>b</sup>	24.61 $\pm$ 4.68 <sup>a</sup>

Aynı satırda farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

Plazma :  $p>0.05$

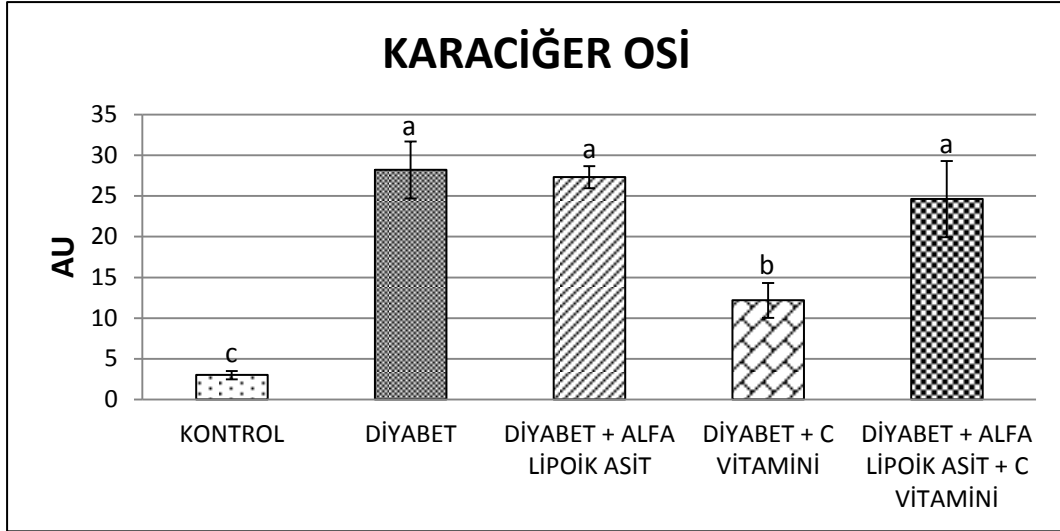
Karaciğer : a-c, b-c, a-b:  $p<0.001$



$p>0.05$

**Grafik 14.** Plazma OSİ Değerleri (AU).





Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

a-c, b-c, a-b:  $p < 0.001$

**Grafik 15.** Karaciğer OSİ Değerleri (AU).

### 3.9. Korelasyon Analizleri

Yapılan analizler neticesinde kontrol grubunun HDL ve LDL kolesterol seviyeleri arasında pozitif bir korelasyon belirlenirken ( $p < 0.05$ ); diyabetik kontrol grubunun HDL-LDL düzeyleri arasında ise önemli derecede negatif bir korelasyon tespit edildi ( $p < 0.01$ ). Ancak, C vitamini, Alfa lipoik asit ve kombine gruplarının HDL-LDL kolesterol düzeyleri arasında herhangi bir korelasyon saptanmadı ( $p > 0.05$ ).

Kontrol grubunun PON aktivitesi ile HDL kolesterol düzeyleri arasında negatif; diyabetik kontrol grubunda ise pozitif bir korelasyon ( $p < 0.05$ ) belirlenirken; diğer grupların PON aktiviteleri ile HDL düzeyleri arasında herhangi bir korelasyon bulunmadı ( $p > 0.05$ ).

Kontrol grubunu serum LDL kolesterol düzeyleri ile ARE aktiviteleri arasında istatistiksel açıdan önemli pozitif bir korelasyon tespit edilirken ( $p < 0.01$ ); HDL kolesterol düzeyleri ile ARE aktiviteleri arasında herhangi bir korelasyon belirlenemedi ( $p > 0.05$ ).

Diyabetik kontrol grubunun PON aktiviteleri ile LDL kolesterol düzeyleri arasında önemli bir negatif korelasyon belirlenirken ( $p < 0.01$ ); diğer grupların PON aktiviteleri

ve LDL kolesterol değerleri arasında herhangi bir korelasyon tespit edilmedi ( $p>0.05$ ).

Tüm grupların kan glukoz değerleri ile TOS arasında ise herhangi bir korelasyon saptanamadı. Yine TOS ile TAS arasında hiçbir grupta korelasyon tespit edilmedi ( $p>0.05$ ).

### **3.10. Histopatolojik Bulgular**

#### **3.10.1. Pankreas Dokusu**

Kontrol grubunun Hematoksilen&Eosin (H&E) ile boyanan kesitlerinin histopatolojik incelemeleri pankreasın ekzokrin ve Langerhans adacıklarının normal görünümde olduğunu gösterdi (Resim 1A).

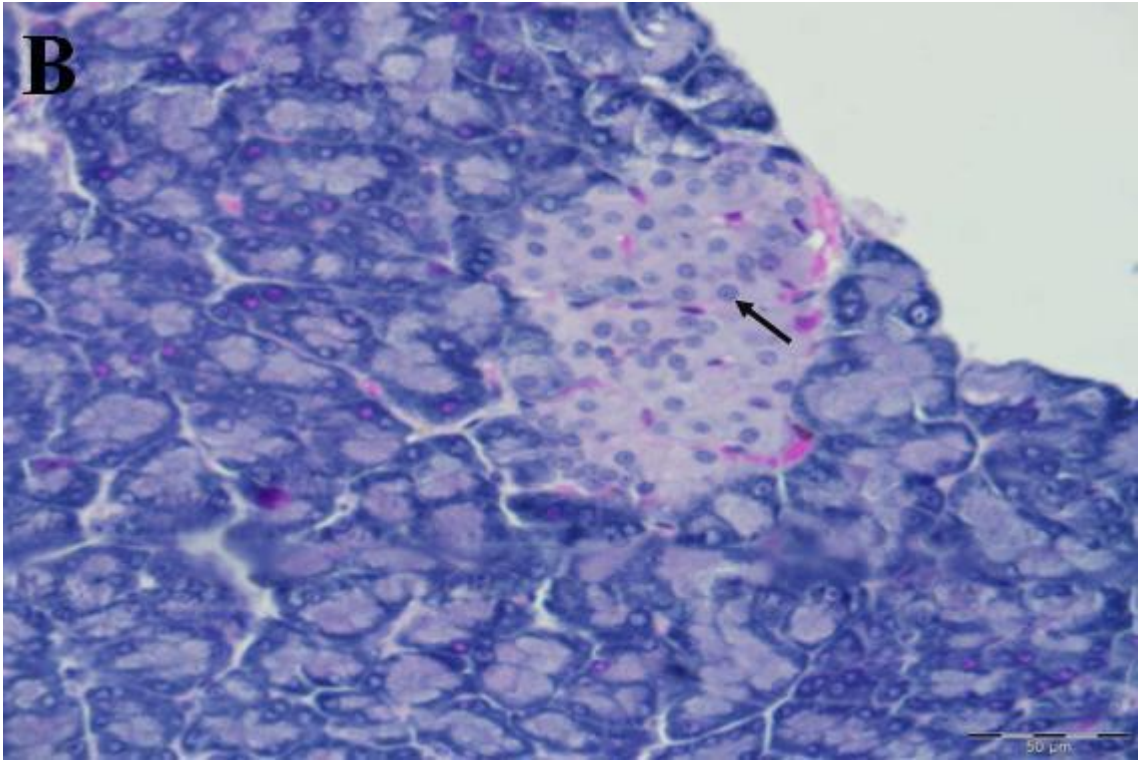
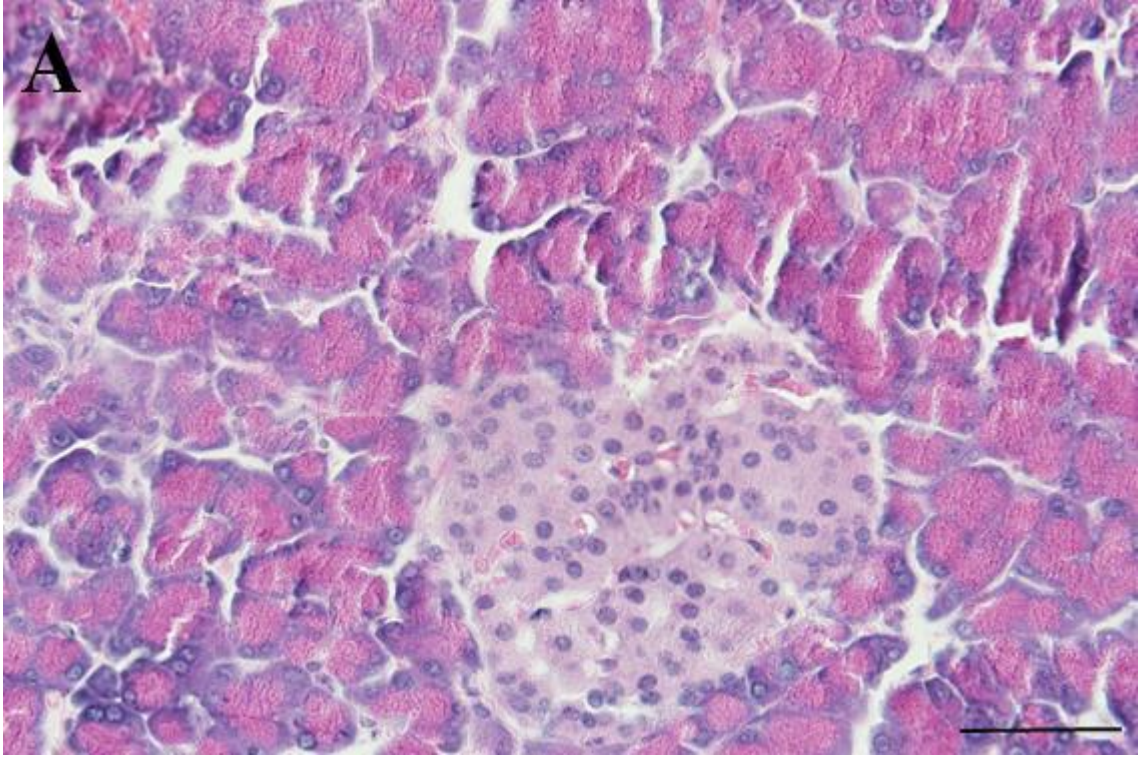
Pankreasın Langerhans adacıklarındaki  $\beta$  hücrelerinin belirlenmesi için yapılan Gomori'nin aldehit fuksin boyamalarında, kontrol grubunda  $\beta$  hücrelerinin sitoplazmalarında hafif kırmızı renkli granüler yapıda boyanmalar gözlenirken diğer gruplarda boyanma görülmedi (Resim 1B).

Diyabetik kontrol grubunda ise; düzensiz yapıda gözlenen Langerhans adacıklarında küçülme ile sellüleritede azalma belirlendi. Ayrıca adacıkların periferinde yoğunlaşan ve birbirleri üzerine kümeleşme gösteren hücreler özellikle dikkat çekiciydi (Resim 2A). Adacıkların merkezindeki bazı hücrelerin çekirdeklerinde büyüme ile taşlı yüzük görünümü vardı. Ekzokrin kısımda ise herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı (Resim 2A, 2B).

Alfa lipoik asit verilen diyabetik grupta; pankreasın ekzokrin bölümü normal görünümdeydi. Langerhans adacıklarının yapısı kontrol grubuna benzer görünmesine rağmen merkezdeki hücre sayısında azalma dikkati çekti. Adacıkların periferinde dizilimleri düzenli yapıda olmasına rağmen hücresellik artmıştı (Resim 3A, 3B).

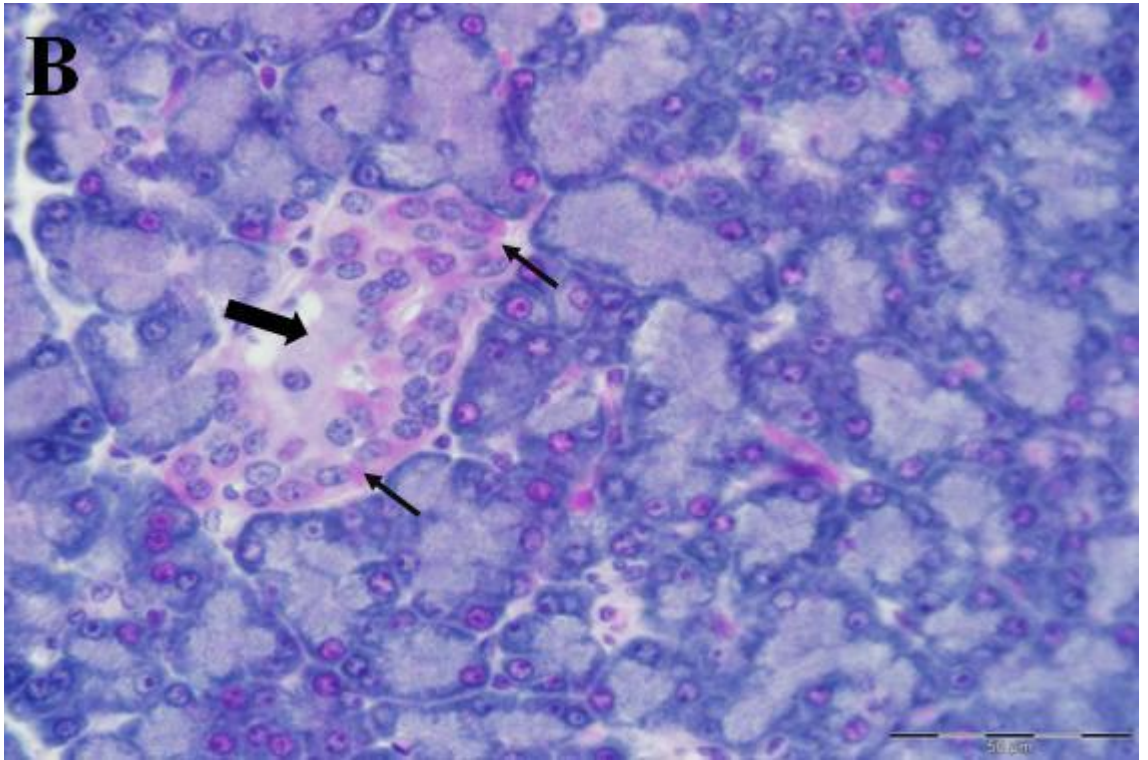
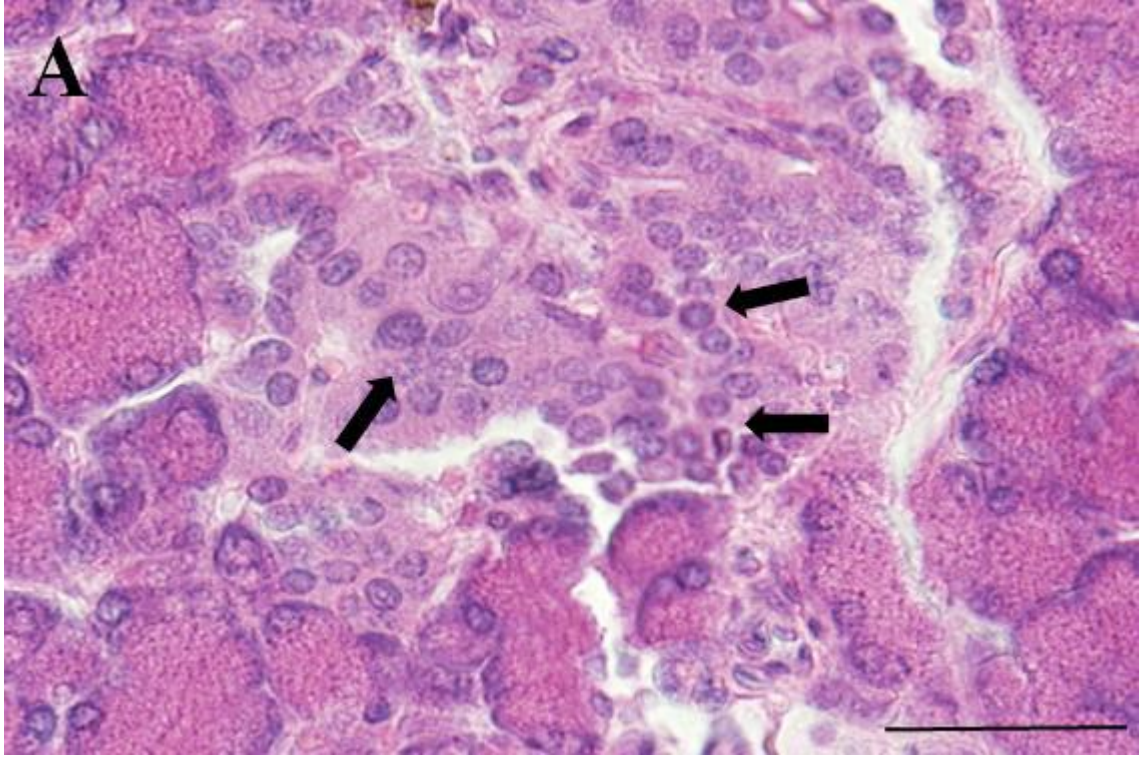
C vitamini verilen diyabetik grupta; Langerhans adacıklarının merkezinde hücresellik azalmış buna rağmen periferde artmıştı. Histopatolojik değerlendirmede hücre büyüklüklerin farklılık arz ettiği gözlemlendi (Resim 4A, 4B).

Alfa lipoik asit ile birlikte C vitamini verilen diyabetik grupta; pankreasın ekzokrin bölümü normal görünümdeydi. Langerhans adacıklarında merkezdeki hücre sayısında çok az azalma, periferde ise yer yer hücrelerde kümeleşme gözlemlendi (Resim 5A, 5B).



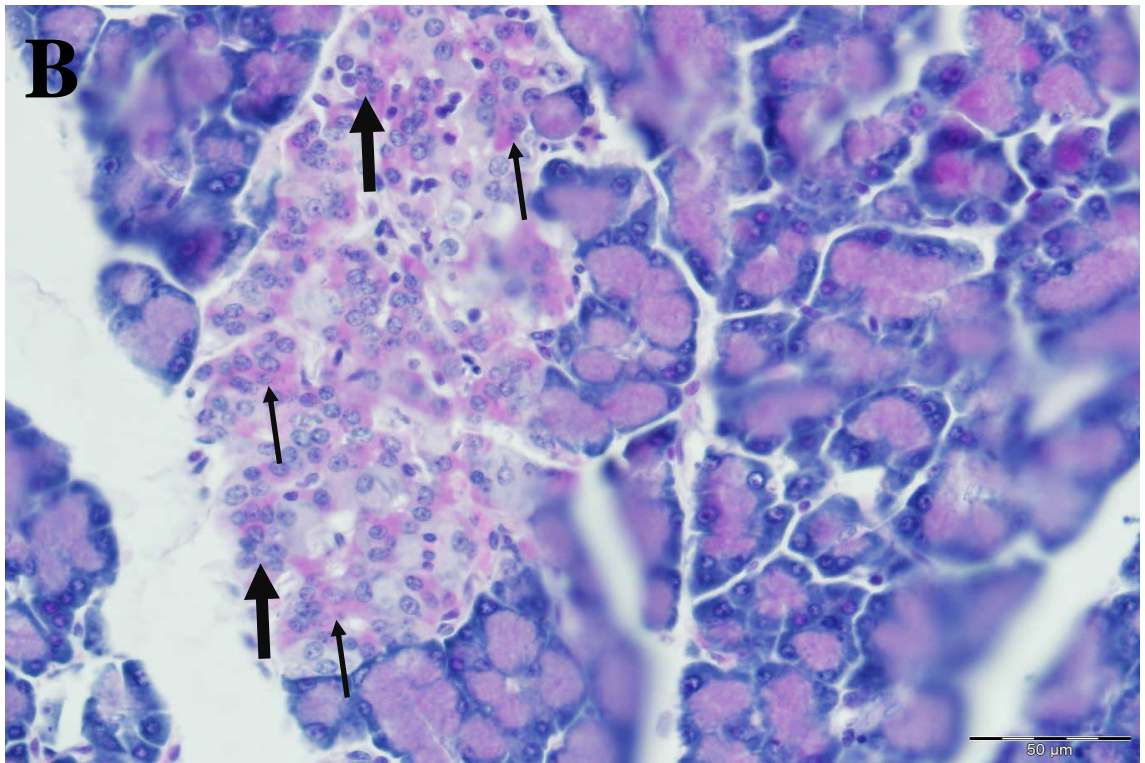
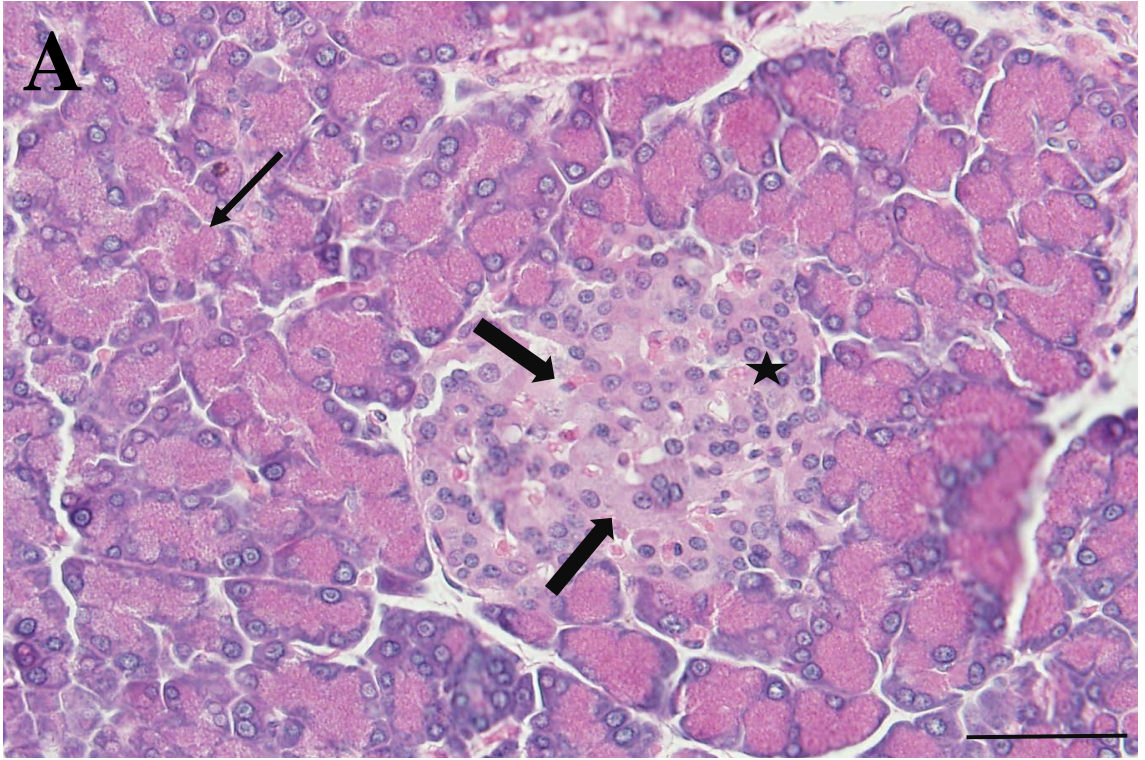
**Şekil 1A:** Kontrol grubu rat pankreasının histolojik görünümü. Pankreasın Langerhans adacığı ve ekzokrin kısmı normal görünümde. H.E. (Bar = 50  $\mu$ m).

**Şekil 1B:** Kontrol grubu. Pankreas normal görünümde.  $\rightarrow$ :  $\beta$  hücresi. Gomori. (Bar = 50  $\mu$ m).



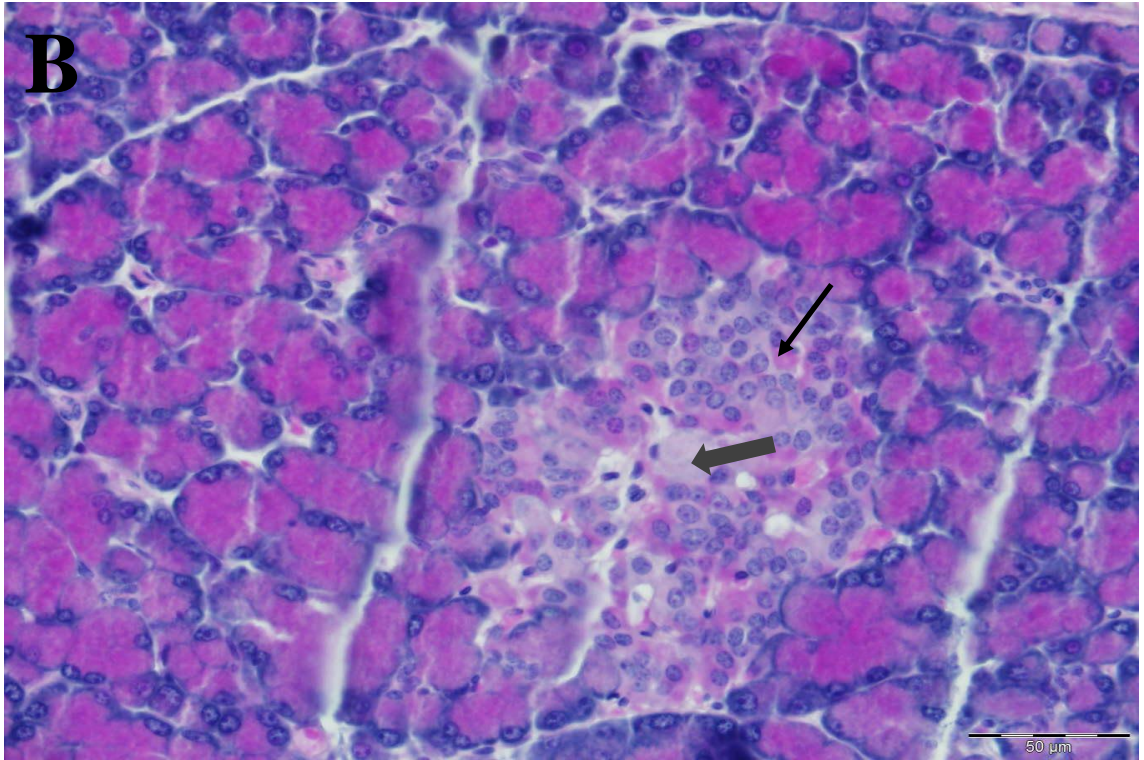
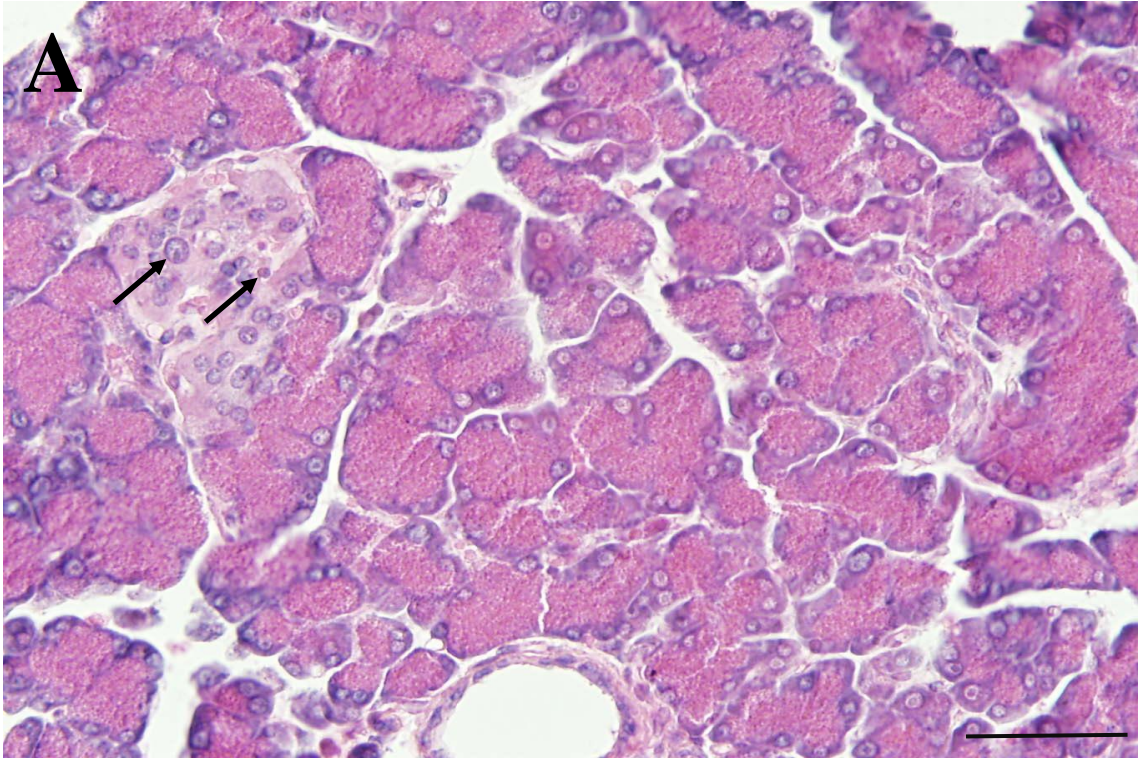
**Şekil 2A.** Diyabetik kontrol grubu.  $\rightarrow$  : Langerhans adacıklarında küçülme, sınırlarında düzensizlik, adacık periferinde yer yer hücre kümelenmesi. H.E. (Bar = 50  $\mu$ m).

**Şekil 2B.** Diyabetik kontrol grubu.  $\rightarrow$  : Adacık periferinde kırmızı sitoplazmalı alfa hücreleri,  $\rightarrow$  : Adacık merkezinde sellüleritede azalma. Gomori. (Bar = 50  $\mu$ m).



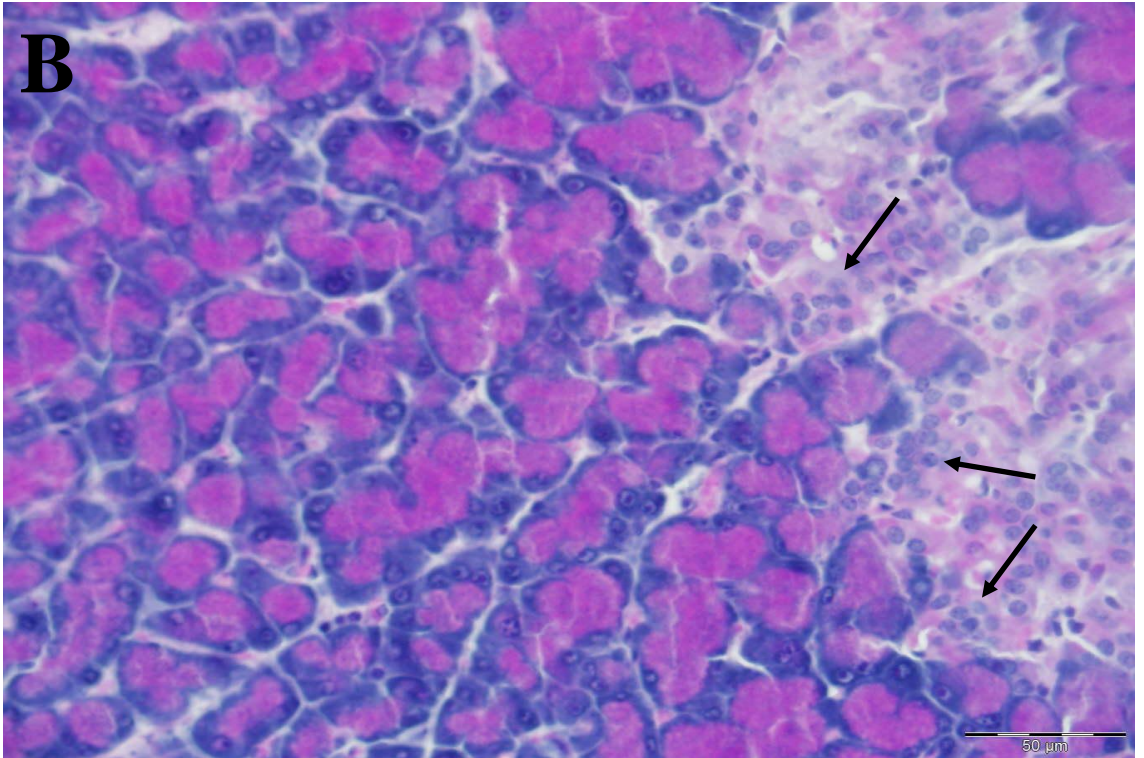
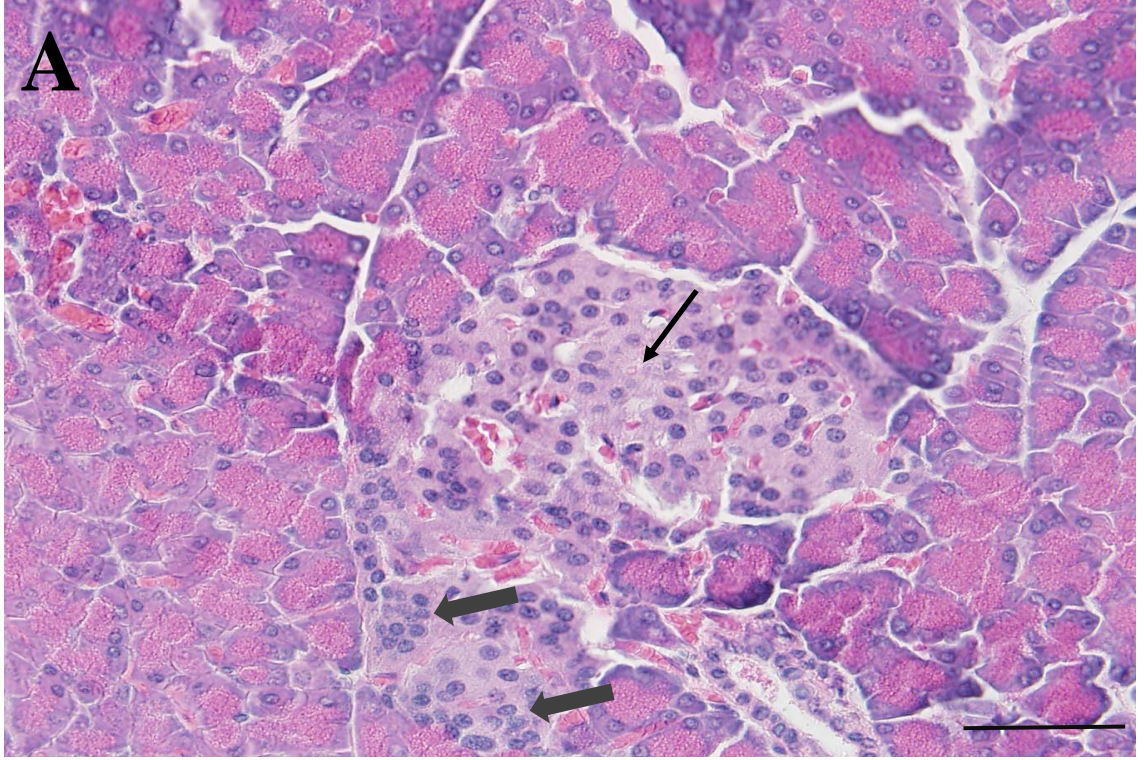
**Şekil 3A.** Diyabet + Alfa lipoik asit grubu. ★ : Adacık periferinde hücresellikte artış, ➔ : Merkezde hücre sayısında azalma, ➔ : Ekzokrin pankreas normal görünümde. H.E. (Bar = 50 µm).

**Şekil 3B.** Diyabet + Alfa lipoik asit grubu. ➔ : Kırmızı sitoplazmalı alfa hücreleri, Kalın ok: Adacık periferinde atan hücresellik. Gomori. (Bar = 50 µm).



**Resim 4A.** Diyabet + C Vitamini grubu.  $\rightarrow$ : Hücre büyüklüklerinde farklılık. H&E. (Bar = 50  $\mu$ m).

**Resim 4B.** Diyabet + C Vitamini grubu.  $\rightarrow$ : Adacığın merkezinde hücresellik azalmış,  $\rightarrow$  : Adacık periferinde hücresellik artmış. Gomori. (Bar = 50  $\mu$ m).



**Resim 5A.** Diyabet + Kombine grup. **→** : Periferde yer yer hücre kümelenmesi, **→** : Merkezde hücre sayısında azalma. H&E. (Bar = 50  $\mu$ m).

**Resim 5B.** Diyabet + Kombine grup. **→** : Periferde atılmış hücresellik. Gomori. (Bar = 50  $\mu$ m).



### 3.10.2. Karaciğer Dokusu

Kontrol grubunun histopatolojik incelemelerinde herhangi patolojik bir bulguya rastlanmadı (Resim 6A).

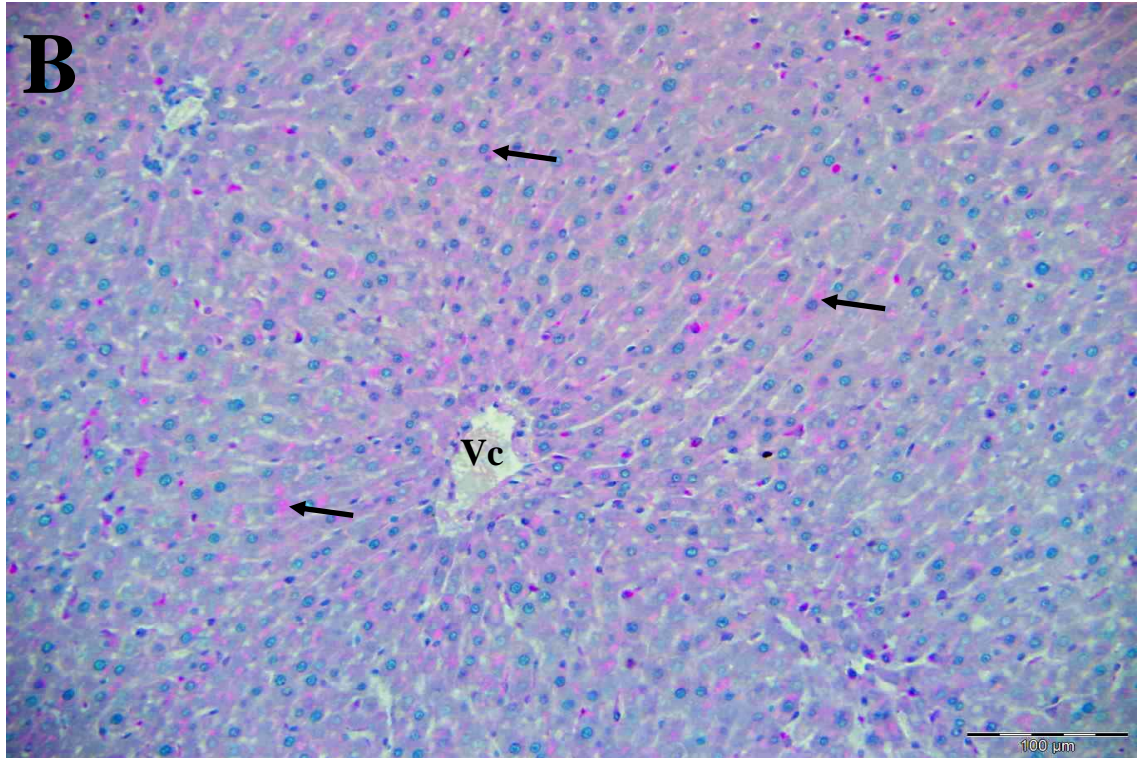
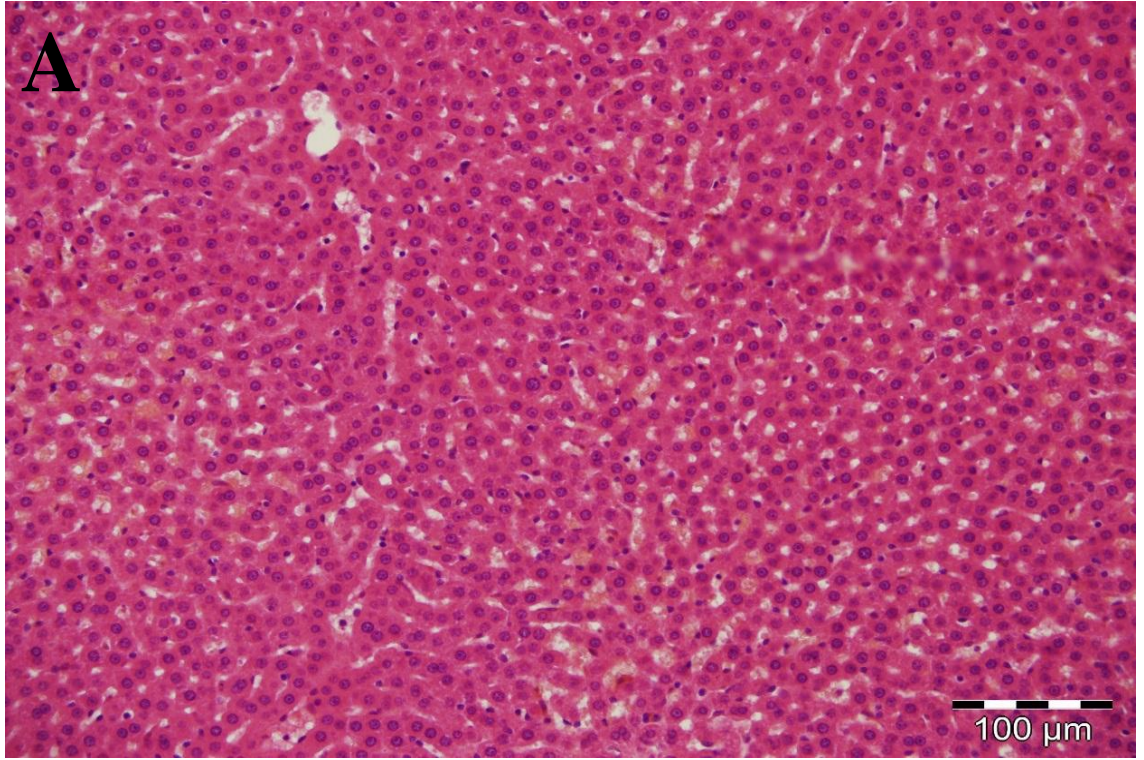
Diyabetik kontrol grubunda; genel olarak dejeneratif ve nekrotik değişiklikler gözlemlendi. Hepatositlerdeki dejenerasyon çoğunlukla akut hücre şişkinliği ve hidropik dejenerasyon şeklindeydi. Az sayıda hepatositte ise keskin kenarlı vakuol oluşumu ile karakterize vakuolar dejenerasyon tespit edildi. Dejeneratif hücrelerin çoğunluğu şişkin, sitoplazma açık renkli ve granüler yapıdaydı. Şiddetli derecede dejenerasyon tespit edilen hücrelerin çekirdekleri büyümüş, açık renkte, çekirdek etrafı koyu renkte boyanmış ve yer yer vakuol oluşumları içerdiği dikkati çekti. Dejeneratif hücrelerin bazılarında çift çekirdek gözlemlendi. Özellikle asiner ve midzonal bölgedeki hepatositlerde yer yer tek, çoğunlukla da ufak alanlar halinde piknoz ve çekirdek kaybı ile karakterize nekrotik değişiklikler görüldü. Ayrıca karaciğer lobunun tamamında hepatositlerde meydana gelen şişkinlikten dolayı dissosiasyon meydana gelmişti. Kupfferin yıldız hücrelerinde hafif aktivasyon belirlendi (Resim 7A).

Alfa lipoik asit verilen diyabetik grupta; diyabetik kontrol grubuna kıyasla dejeneratif ve nekrotik değişikliklerin şiddetinde ve derecesinde azalma olmasına rağmen bu bulguların devam ettiği görüldü. Hepatositlerde büyüme, çift çekirdek oluşumu diyabetik kontrol grubu ile aynı olmasına rağmen oluşan dejenerasyon daha çok akut hücre şişkinliği şeklindeydi. Bu grupta en önemli özellik olarak diyabetik kontrol grubuna göre nekrotik hücrelerde azalmaya rağmen keskin kenarlı, soluk görünümlü vakuollü hücre sayısında artış olarak belirlendi (Resim 8A).

C vitamini verilen diyabetik grupta; oluşan akut hücre şişkinliği nedeniyle hücrelerin oldukça büyüdüğü dikkati çekti. Dejeneratif hücrelerin çekirdeklerinde taşlı yüzük görünümü ile birlikte yer yer vakuol oluşumları görüldü. Nekrotik hücrelerin sayısında ise belirgin ölçüde azalma vardı. Kupfferin yıldız hücrelerinde aktivasyonun yanı sıra sarı-kahverengi brikimler gözlemlendi (Resim 9A).

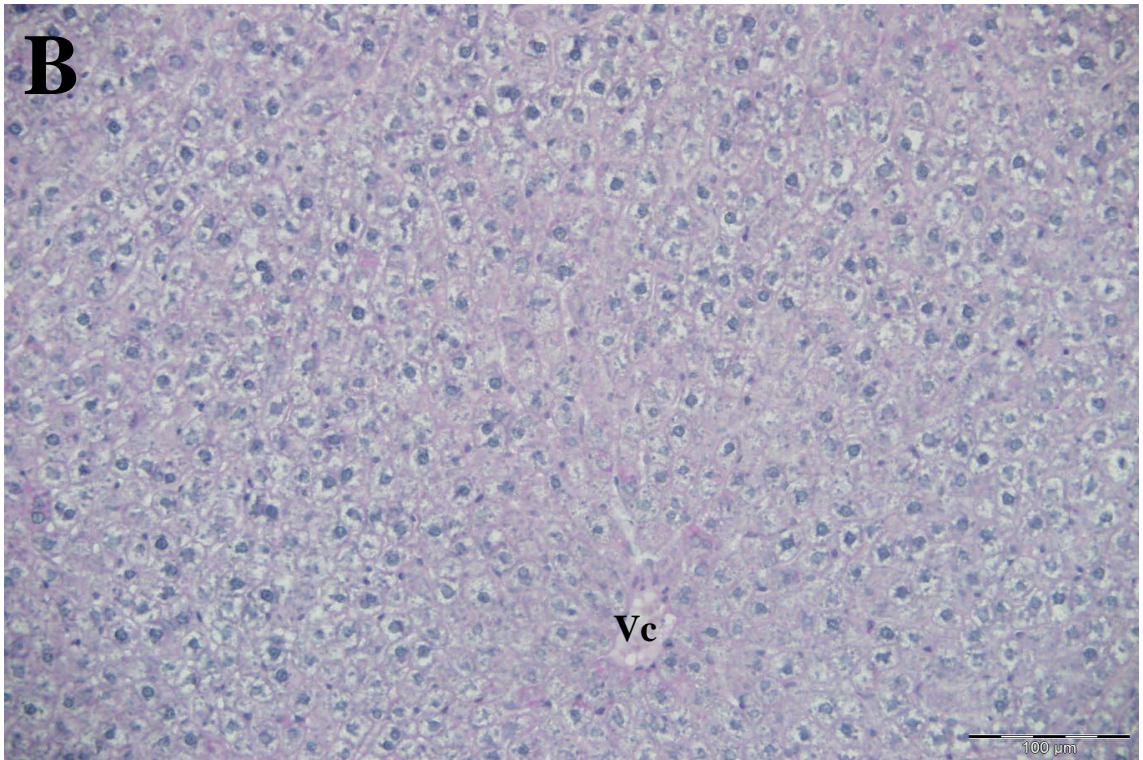
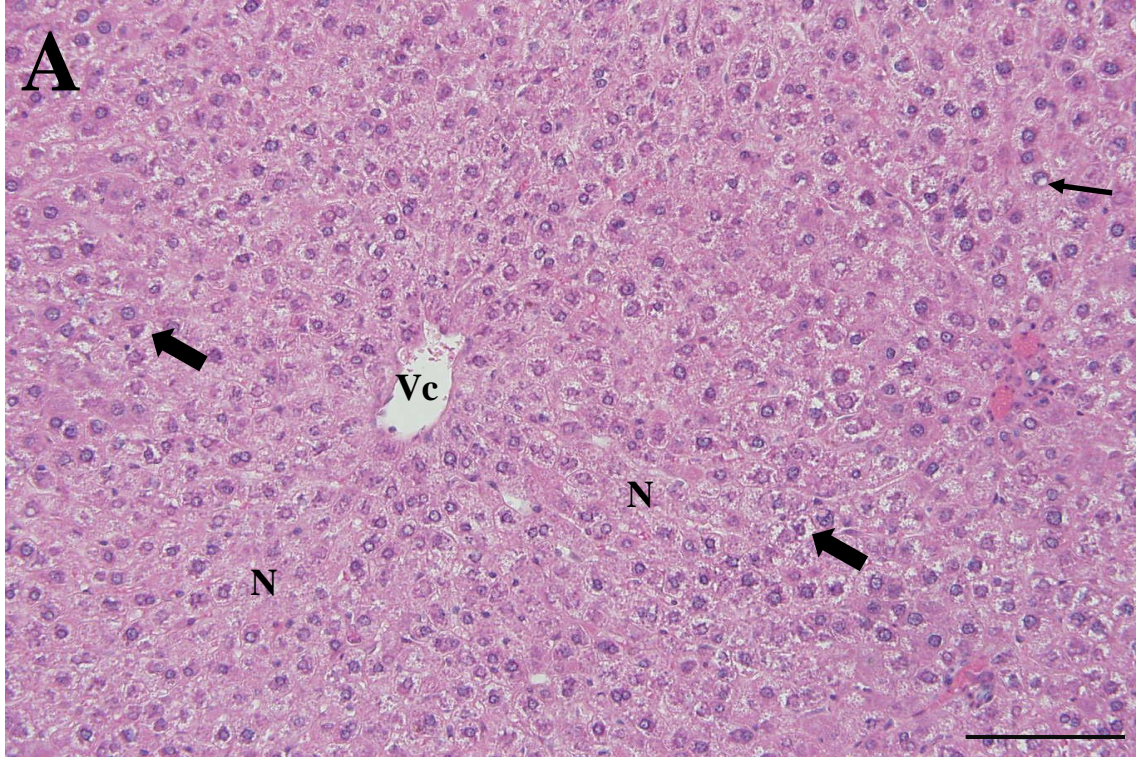
Alfa lipoik asit ile birlikte C vitamini verilen diyabetik grupta ise, hepatositlerde akut hücre şişkinliği ve yer yer hidropik dejenerasyon, az sayıda hücrede nekroz görüldü. Dejeneratif hücrelerde çekirdekdeki değişiklikler diğer çalışma grupları ile benzer özellik taşımaktaydı. İntrahepatik safra yolları ve Kupfferin yıldız hücrelerinde safra pigmentlerine rastlandı (Resim 10A).

Karaciğerdeki glikojeni tespit etmek için yapılan Periyodik Asit Schiff (PAS) boyamalarında kontrol grubunda çok sayıda hepatositin sitoplazmasında boyanma gözlemlendi (Resim 6B). Diyabet grubunun deneklerinde ise çok az boyanma gözlemlendi (Resim 7B). Diğer çalışma gruplarında da az sayıda hepatositin sitoplazmasında PAS (+) boyanma gözlemlenmekle birlikte; boyanan hücre sayısı diyabetik kontrol grubundan oldukça fazlaydı. Fakat C vitamini grubunda diğer gruplara kıyasla daha fazla PAS (+) hücre belirlendi (Resim 8B, 9B, 10B).



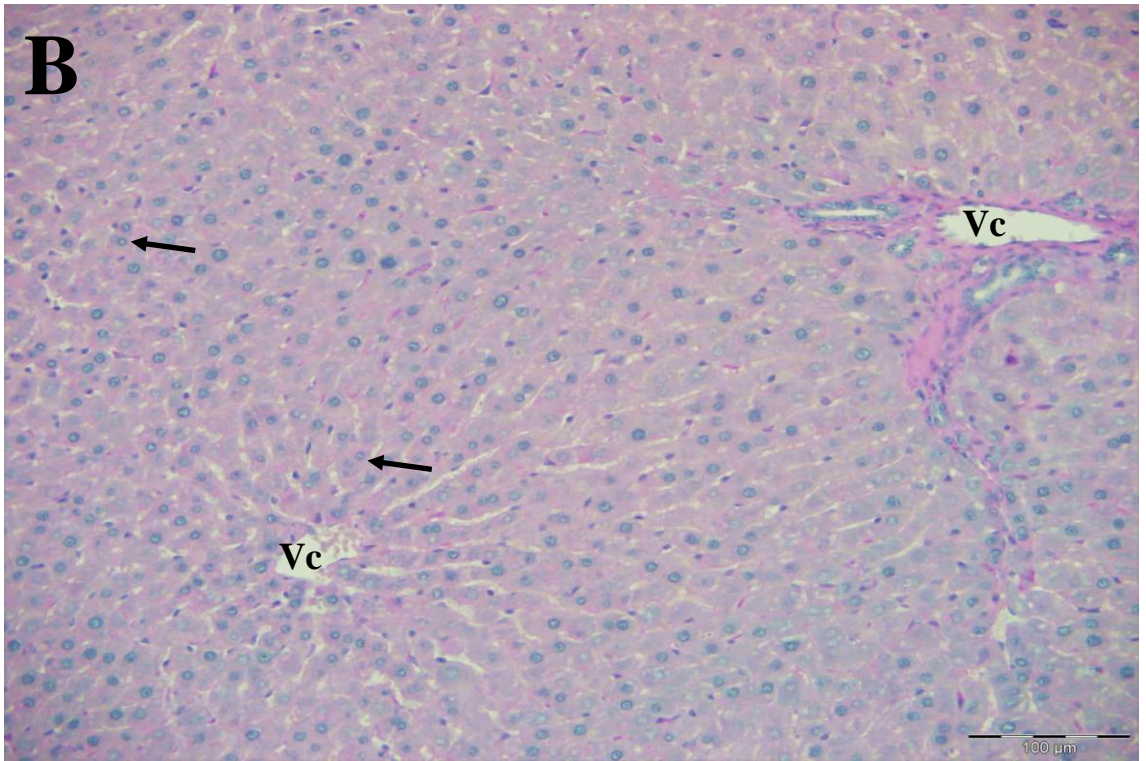
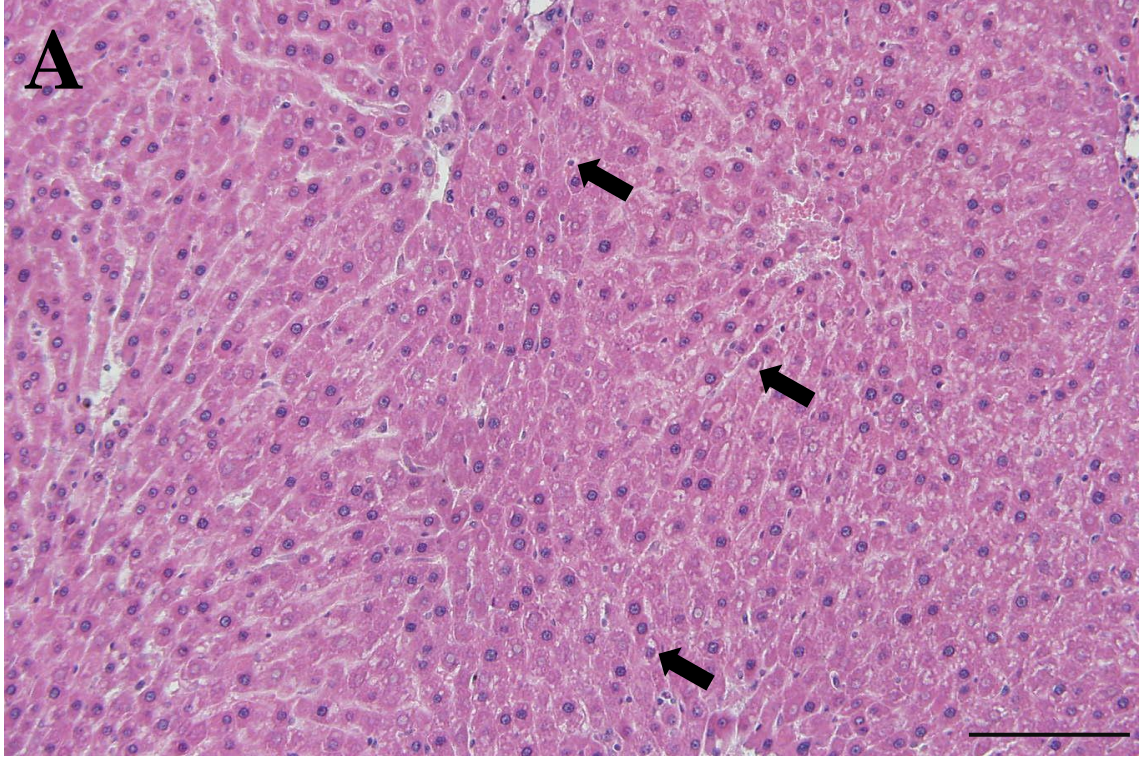
**Resim 6A.** Kontrol grubu. Rat karaciğerinin normal histolojik görünümü. H&E. (Bar = 100 µm).

**Resim 6B.** Kontrol grubu. **→** : Rat karaciğerinde glikojen dağılımı, **Vc**: Vena centralis. PAS. (Bar = 100 µm).



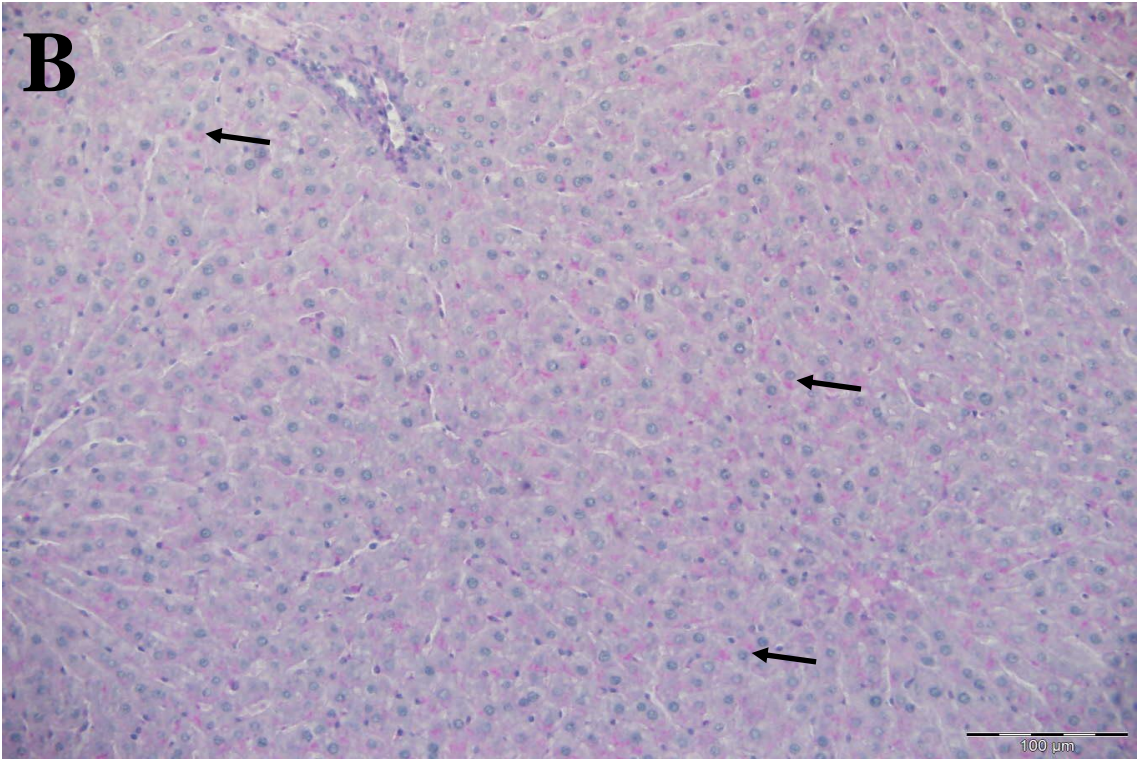
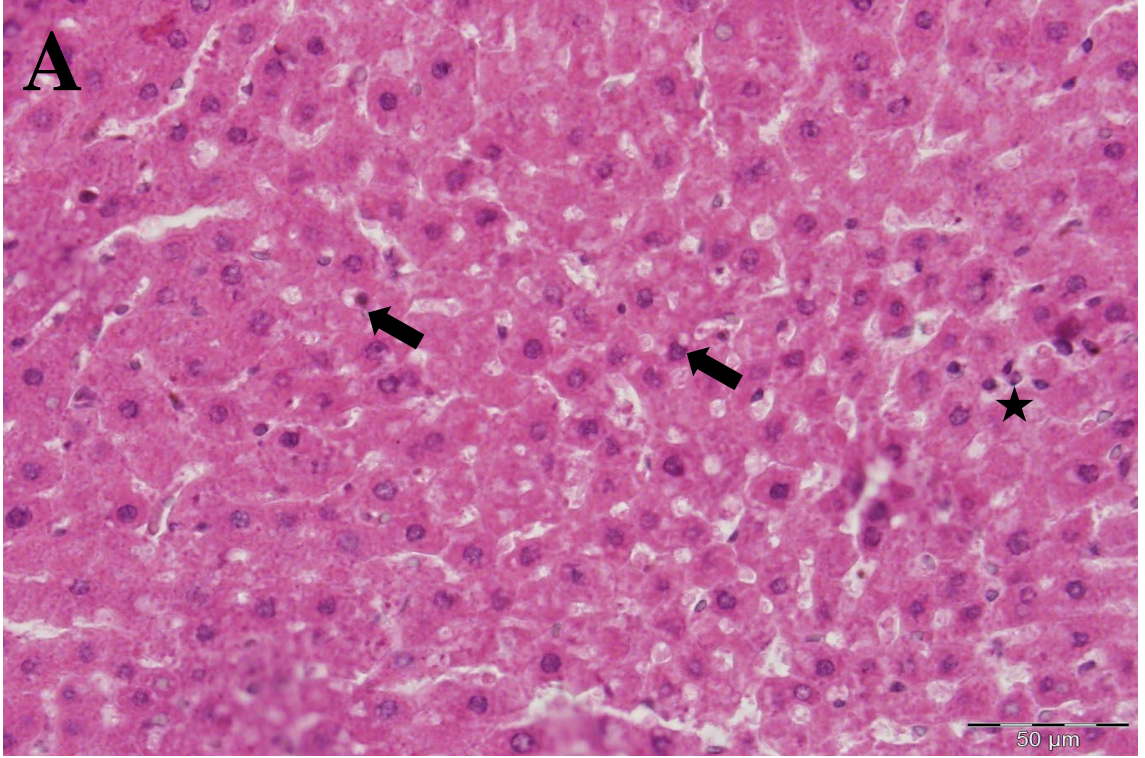
**Resim 7A.** Diyabetik kontrol grubu  $\rightarrow$  : Bazı çekirdeklere vakuol oluşumu,  $\rightarrow$  : Vakuolar dejenerasyon, N : Yer yer nekroz, Vc : Vena centralis. H&E. (Bar = 100  $\mu$ m).

**Resim 7B.** Diyabetik kontrol grubu.  $\rightarrow$  : Çok az sayıda PAS (+) hepatosit. Vc : Vena centralis. PAS. (Bar = 100  $\mu$ m).



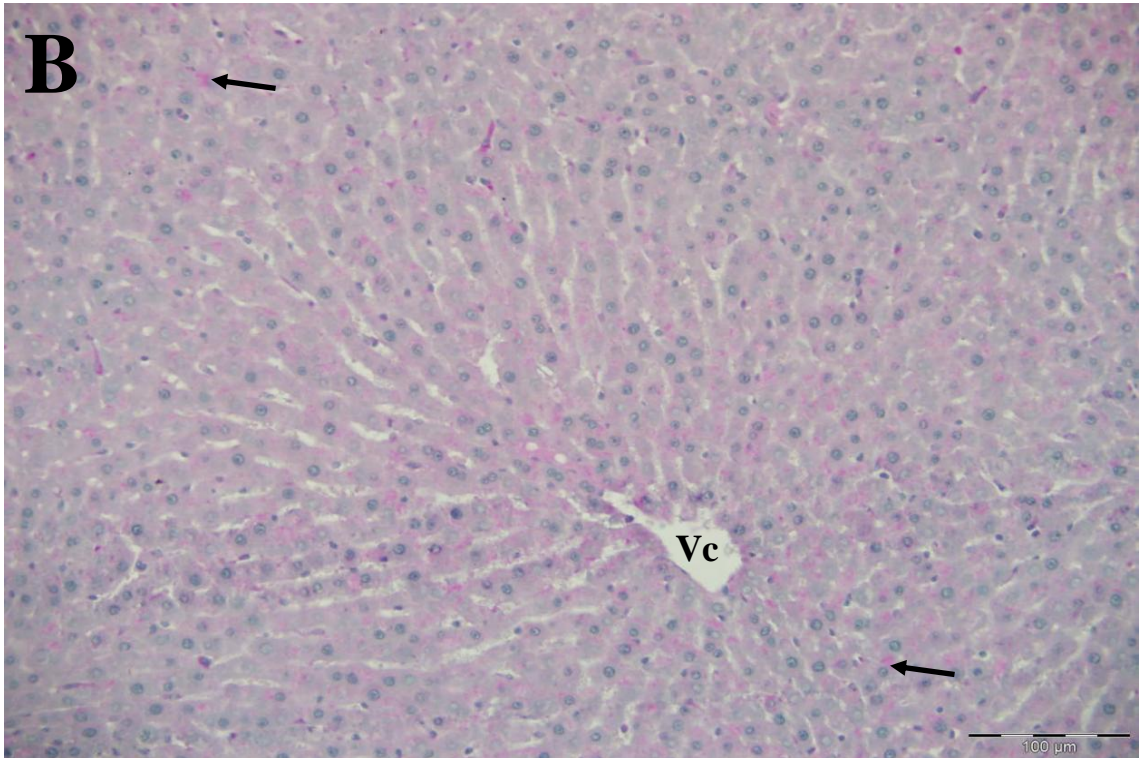
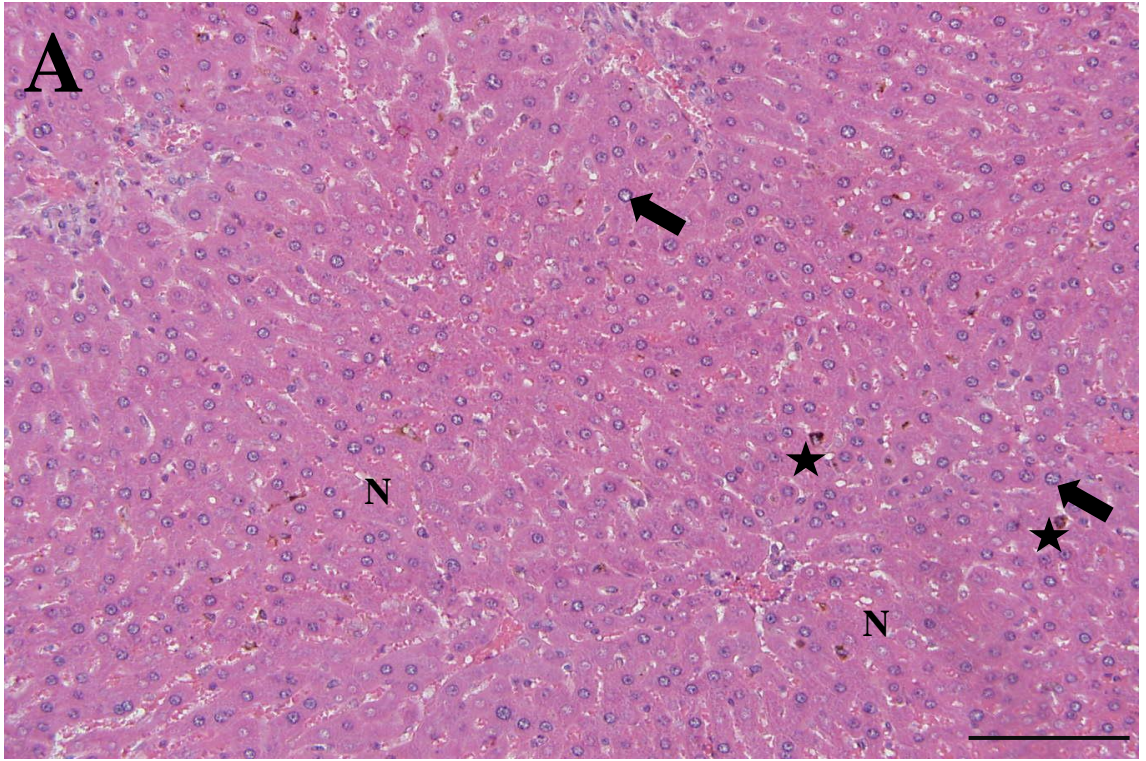
**Resim 8A.** Alfa lipoik asit grubu. **➡** : Vakuolar dejenerasyon. H&E. (Bar = 100 µm).

**Resim 8B.** Alfa Lipoik asit grubu. **➡** : Az sayıda PAS (+) hepatosit, **Vc** : Vena centralis. PAS. (Bar = 100 µm).



**Resim 9A.** C Vitamini grubu. ➔ : Bazı hepatositlerde vakuol oluşumu, ★ : kuppferin yıldız hücrelerinde aktivasyon artışı. H&E. (Bar = 50 µm).

**Resim 9B.** C Vitamini grubu. ➔ : Karaciğerde PAS (+) hepatositler. PAS. (Bar = 100 µm).



**Resim 10A.** Diyabet + Kombine grup. **➡**: Akut hücre şişkinliği, **N** : Az sayıda hepatositte nekroz, **★** : safra pigmenti. H&E. (Bar = 100 µm).

**Resim 10B.** Diyabet + Kombine grup. **➡** : Az sayıda PAS (+) hepatosit, **Vc** : Vena centralis. PAS. (Bar = 100 µm).

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Diabetes mellitus, tüm Dünyada hızla yayılan, yüksek mortalite ve morbidite riski taşıyan bir hastalıktır. Özellikle gelişmiş ülkelerde daha yüksek oranlarda rastlanmakla birlikte dünyadaki bütün ölümlerin sebepleri arasında 4. ve/veya 5. sırayı almaktadır. Günümüzde 150 milyon olan diyabetli sayısının 2025 yılında 300 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir (269).

Yapılan çalışmalarda deneysel olarak diyabet oluşturulan ratlarda ve diyabetik hastalarda serbest oksijen radikallerinin ve lipit peroksidasyonunun önemli derecede arttığı ve oksidatif stresin diyabet etiyojisinde ve ilerlemesinde rolü olduğu bildirilmiştir (44). Bunlara ilave olarak, uzamış oksidatif stres ve antioksidan kapasitedeki değişiklikler de araştırmacılar tarafından vurgulanmaktadır (140, 255).

Oksidatif stresin biyolojik yapılar üzerinde zarar verici etkileri vardır. Düşük molekül ağırlıklı redükthanlar (glukoz, doymamış yağ asitleri gibi) in vivo geçiş metalllerinin katalizörlüğündeki oksidasyon sonucu hidrojen peroksit ve lipit peroksitleri oluşturmak suretiyle oksidatif strese katkıda bulunmaktadır (91).

Diyabet sırasında oluşan kalıcı hiperglisemi, glukozun otooksidasyonu ve non-enzimatik protein glukozillenmesi sonucu membranlarda oksidatif hasar ve hücrel fonksiyonlarda bozukluğa yol açabilecek serbest radikal üretiminde artışa neden olmaktadır (255, 169). Kalıcı hiperglisemiye bağlı şekillenen artmış poliyol yolu aktivitesi, doku antioksidan koruma sistemlerini bozarak (243) dokulardaki oksidatif hasar oluşumuna katkıda bulunmaktadır.

Alfa lipoik asit'in antioksidan etki mekanizmalarını aydınlatmak üzere in vivo ve in vitro birçok oksidatif stres modeli kullanılmıştır. Alfa lipoik asit eksojen uygulandığında serbest radikal temizleme, metal şelasyonu yapma ve glutasyon gibi endojen antioksidanların rejenerasyonunu artırma gibi antioksidan özellikler gösterir. Alfa lipoik asitin reaktif oksijen bileşiklerinden  $\cdot\text{OH}$ ,  $\text{HOCl}$  ve  $\cdot\text{O}_2$ 'i doğrudan temizlediği,  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'i ise indirgediği bildirilmektedir (49).

Alfa lipoik asitin glukoz metabolizması üzerinde oldukça önemli bir etkiye sahip olduğu, bu etkiyi de gerek Tip I gerekse Tip II diyabette glukoz alımını ve



kullanımını arttırmakla sağladığı ifade edilmiştir (234, 115). Maritim ve ark. 'nın yaptıkları bir çalışmada (154), Streptozotosin ile oluşturdukları Tip I diyabet modelinde ratlara 14 gün süresince verilen Alfa lipoik asit'in açlık kan glukoz seviyelerini azalttığı bildirilmiştir. Benzer şekilde, Streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş *Sprague Dawley* cinsi ratlarda artan kan glukoz seviyelerinin 2 ay süresince 30 mg/kg dozunda uygulanan Alfa lipoik asit ile azaltıldığı; 7 aylık uygulama süresinin sonunda ise kan glukoz seviyelerindeki azalışın istatistiksel açıdan oldukça önemli düzeylerde olduğu ifade edilmiştir (162). Aksine, Bhatti ve ark. (23) ise, ratlara 12 hafta süresince verilen 30 mg/kg dozunda ki Alfa lipoik asidin kan glukoz seviyelerini değiştirmedeğini belirtmişlerdir.

C Vitamini, lipit fazda çözünebilen, antioksidanları oksidatif hasardan koruyan, kollajen, nitrik oksit sentezi ve kolesterol metabolizması gibi mekanizmalar üzerinde etkili olabilen bir antioksidandır.

C vitamininin hücresel alınımını hem glukoz hem de insülin düzenlediğinden, Askorbik asitin biyosentezinde C vitamini-glukoz arasındaki ilişki kadar C vitamini-insülin arasındaki ilişki de oldukça önemlidir. Bu nedenle kanda glukoz seviyesi yükseldiğinde C vitamininin geri emiliminde bozulmalar olduğu belirtilmiştir. Keza, dışarıdan alınan C vitamininin Tip I diyabette kandaki glukoz seviyesini düşürdüğü ifade edilmiştir (257, 48). Yine C vitamini infüzyonunun hem sağlıklı hem de diyabetli bireylerde glukozun emilimini güçlendirmek suretiyle vücudun glukoz kullanımını arttırdığı ifade edilmiştir (185). Bazı araştırmacılar (264, 123) gerek Streptozotosin, gerekse Alloksan ile oluşturulan deneysel diyabette bazı hayvanların çeşitli dokularında C vitamini seviyelerinde azalış bildirmişlerdir. Yine Streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş *Sprague Dawley* cinsi ratlara 2 ay süresince 1 g/kg canlı ağırlıkta (c.a) uygulanan C vitamininin kan glukoz seviyelerinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığını belirtmişlerdir (163). Çalışmamızda da diyabetin şekillendiği gün (3. gün) ile çalışmanın tamamlandığı gün (24. gün) arasındaki açlık kan glukoz düzeylerinin farkına bakıldığında, Alfa lipoik asitin açlık kan glukoz seviyelerini diyabetik kontrol grubuna göre azalttığını söylememiz mümkündür. Bu bakımdan bulgularımız Maritim ve ark., (154) ile Melhem ve ark'nın (163) sonuçları benzerlikler göstermektedir. Keza bizde çalışmamızda, C vitamini ile Alfa lipoik asit

+ C vitamini gruplarının kan glukoz seviyelerinde istatistiksel açıdan önemli olmasa da bazı düşüşler gözlemledik (Tablo 3-4). Çalışmamızda kan glukoz düzeylerinde gözlemlediğimiz düşüşlerin, Alfa lipoik asit ve C vitamininin hipoglisemik ve insülin düzeyini artırma özelliğinden kaynaklanmış olabileceğini söylemek mümkündür.

STZ ile diyabet oluşturulmuş bazı çalışmalarda (92, 94, 210), karaciğerdeki nekrotik değişiklikler, vakuolar dejenerasyon ve sinuzoidal dilatasyon ve bazı karaciğer hücrelerinde hipertrofi tespit edilmiştir. Benzer şekilde bizim çalışmamızda da diyabetik kontrol grubunun karaciğer dokusunda akut hücre şişkinliği, hidropik dejenerasyon, bazı hepatositlerde vakuolar dejenerasyon gibi bazı histopatolojik bulgular tespit edilmiştir (Resim 7A, 7B). Özellikle asiner ve midzonal bölgedeki hepatositlerde yer yer tek, çoğunlukla da ufak alanlar halinde nekrotik değişiklikler belirlenmiştir. Bunun yanı sıra dissosiasyon ve Kupfferin yıldız hücrelerinde hafif aktivasyonlar da gözlemlenmiştir (Resim 7A, 7B). Ancak, Deprem'in (56) hepatositlerde saptadığı şiddetli yağ dejenerasyonu bizim çalışmamızda tespit edilmemiştir. Bunun kullanılan STZ'nin dozu, deney hayvanının türü ve çalışma süresinin farklılığından kaynaklanmış olabileceğini söylemek mümkündür. Yapılan histopatolojik incelemede diyabet grubu deneklerinde kupfferin yıldız hücrelerinin sitoplazmalarında ve intrahepatik safra yollarında sarı-kahverengi safra pigmentlerinin birikmiş olduğu gözlemlendi (Resim 7A, 7B). Bunun hepatosit dejenerasyonuna bağlı olarak safra akışının engellenmesinden kaynaklanmış olduğu sonucuna varıldı.

Diyabetik kontrol grubundaki hayvanların karaciğerinde saptanan yaygın ve şiddetli dejenerasyon ve nekroz bulgularına deneme gruplarının karaciğerlerinde daha az rastlandı (Resim 8A, 9A, 10A). Bununla birlikte, kontrol grubu ile kıyaslandığı zaman gerek Alfa lipoik asit ve gerekse C vitamini ve bunların kombinasyonlarının STZ'nin zararlı etkilerini hafiflettiği, fakat tam anlamıyla düzeltici bir etki yapmadığı tespit edildi (Resim 8A, 9A, 10A). Bu bulgular fizyolojik parametrelerimizle uyumluluk göstermektedir.

Kontrol grubunun karaciğer dokusunun hücre içi glikojen depolarını gösteren hepatositlerde gözlenen PAS (+) alanlara diyabetik kontrol grubunun karaciğer kesitlerinde çok az rastlandı (Resim 7B). Bu bulgular daha önce bu konu ile yapılan

çalışmaların sonuçları ile (136, 246) uyumluluk göstermektedir. Diyabet grubu hayvanların karaciğer hepatosit hücrelerinde glikojen depolarının çok büyük oranda azalmasının sebebini; glikojenolize bağlı olarak hücre içi glikojen depolarının kullanılması ile açıklamak mümkündür. Bu bulgu bu konuda yapılan çalışmalar ile benzerlik göstermektedir (136, 246).

Yapılan histopatolojik incelemede önceki çalışmalara (246, 178) paralel olarak; diyabetik kontrol grubunda Langerhans adacıklarında düzensiz yapı, küçülme ve sellüleritesinde azalma gözlenirken, pankreasın ekzokrin kısımda ise herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı (Resim 2A). Keza, STZ'nin beta hücrelerindeki selektif etkisinin bu hücrelerde yıkıma sebep olduğu önceki çalışmalarda (246, 178) belirtilmiştir. Çalışmamızda beta hücrelerini tespit amacıyla yapılan Gomori boyamasında kontrol grubunda tespit edilen beta hücrelerine deneme gruplarında rastlanılmamıştır (Resim 7B). Bu sonuç STZ'nin beta hücrelerini yıkımlandığını göstermektedir. Diyabet grubunda olduğu gibi diğer deneme gruplarında da beta hücrelerinin boyanmaması Alfa lipoik asit, C vitamini ve bu maddelerin kombinasyonunun pankreas dokusunun bütünlüğünü korumada etkili olmadığını göstermiştir (Resim 3B, 4B, 5B). Bu bulgular, kan glukoz değerlerimiz ile birebir örtüşmektedir.

Yapılan birçok çalışmada (31, 70, 162, 163) diyabette vücut ağırlığının önemli oranda azaldığı belirtilmiştir. Bulgularımız da bunu doğrular niteliktedir. Cremer ve ark'nın (2006) yaptıkları bir çalışmada, diyabetik olmayan sağlıklı erkek ve dişi *Sprague Dawley* ratlara 12 ve 24 aylık süre boyunca 180 mg/kg dozunda Alfa lipoik asit uygulamasının hayvanlarda besin alınımı ve vücut ağırlıklarını önemli bir şekilde azalttığını; aynı sürede 60 ve 20 mg/kg dozlarındaki Alfa lipoik asitin ise vücut ağırlıklarında herhangi bir değişikliğe neden olmadığını gözlemlemişlerdir (45). Bununla birlikte, bazı çalışmalarda (154, 162) istatistiksel olarak önemli bulunmamakla birlikte diyabetik ratlarda Alfa lipoik asitin hayvanların vücut ağırlıklarını azalttığı ifade edilmiştir. Yine C vitamini içinde benzer bulgular mevcuttur (162). Bizim çalışmamızda da gerek Alfa lipoik asit gerekse C vitamini ve bunların kombinasyonlarının uygulandığı gruplarda vücut ağırlıklarının istatistiksel açıdan önemli olmasa da diyabetik gruba kıyasla daha düşük düzeylerde olduğu

gözlemlenmiştir (Tablo 5). Araştırmacılar (193, 222) diyabette bahsedilen kilo kaybının nedenini, insülin eksikliğinde trigliseritlerin küçük moleküllu serbest yağ asitlerine dönüşmesi ve hücreden atılması anlamına gelen lipolizis ile hücrelerin ihtiyaç duydukları glukozu elde edebilmesi için meydana gelen glikoneogenez sonucu olduğu şeklinde açıklamışlardır. Araştırma sonuçlarımız da bu görüşü destekler niteliktedir.

Diyabette serbest yağ asitleri ile serbest radikal türevli çeşitli oksidanların arttığı, bu artışın pek çok sistemik bozukluklara neden olduğu bilinmektedir. Organizmada meydana gelen serbest radikalleri, sürekli olarak zararsız hale getirmeye çalışan çeşitli antioksidanlar bulunmaktadır (34). Normal fizyolojik koşullar altında, serbest radikal üretimi ve antioksidan savunma sistemleri arasında bir denge bulunmaktadır. Artmış oksidatif stres, radikal üretiminin artması ya da antioksidan savunma sistemlerinin azalması sonucu meydana gelebilir ve diyabetik hastalarda bu her iki olay içinde birçok çalışma mevcuttur.

Yapılan bazı çalışmalarda oksidan (249) ve antioksidan (70) seviyelerin diyabette değişmediği ifade edilmiş olsa da birçok araştırmacının (131, 196, 247) ortak kanısı; gerek deney hayvanlarında gerekse insanlarda diyabet durumunda oksidan seviyelerinin arttığı bunun yanı sıra antioksidan seviyelerinin ise azaldığıdır. Biz de çalışmamızda diyabet grubunda plazma total oksidan ve antioksidan seviyelerinde önemli değişiklikler tespit edememekle birlikte (Tablo 9-10); diyabet grubunun karaciğer dokusunun total oksidan seviyelerinde artışlar belirledik (Tablo 9). Karaciğer dokusunun total oksidan seviyelerindeki artışın, diyabete bağlı meydana gelen oksidanların özellikle de doymamış yağ asitlerinin aşırı otooksidasyonundan kaynaklanmış olabileceği şeklinde açıklamak mümkündür.

Maritim ve ark. yaptıkları bir çalışmada (154); *Sprague Dawley* ratlara 14 gün boyunca oral olarak verilen 10 mg/kg dozundaki Alfa lipoik asitin karaciğer dokusunun antioksidan seviyelerini diyabet grubuna göre azalttığı; yine aynı dozda Alfa lipoik asitin diyabetik olmayan hayvanlarda ise antioksidan seviyelerini yükselttiğini rapor etmişlerdir. Sonuçta araştırmacılar uygun farmakolojik dozda uygulanan Alfa lipoik asitin diyabette hiperglisemiye bağlı artan oksidatif stres üzerinde etkili olabileceği görüşünü ileri sürmüşlerdir. Benzer şekilde, Arivazhagan

ve ark. da (7), 3-4 aylık ratlara 100 mg/kg dozunda verilen Alfa lipoik asitin lipit peroksidasyon ürünlerini azaltarak antioksidan seviyelerini ise kısmen de olsa arttırdığını gözlemlemişlerdir. Yine aynı çalışmada Alfa lipoik asitin 22 aylıktan büyük ratlarda ise lipit peroksidasyon ürünlerini azaltmak suretiyle antioksidan seviyeleri oldukça önemli bir düzeyde yükselttiği ifade edilmiştir. Bunun da antihiperlipidemik ve antihiperglisemik özelliklerinin yanı sıra antioksidan özelliklere de sahip olan Alfa lipoik asitin, diyabette artan oksidatif stresi engellemede rol oynamış olabileceği şeklinde açıklamışlardır. Aksine, Huang ve Gitelman (111) ise, 3 ay süresince Tip I diyabetli adölesanlara uyguladıkları Alfa lipoik asitin oksidatif stres ve total antioksidan seviyeleri üzerine herhangi bir değişiklik yapmadığını belirlemişlerdir. Biz de çalışmamızda gerek Alfa lipoik asit gerekse kombine grupta plazma ve karaciğer dokusunun oksidan ve antioksidan seviyelerinde diyabet grubuna kıyasla önemli bir değişiklik gözlemedik (Tablo 9-10). Bu sonuçlara göre bulgularımız Huang ve Gitelman (111) ile uyumluluk göstermektedir.

Cameron ve ark. (35), diyabetik ratlara C vitamini takviyesinin plazma, kas ve karaciğer dokularında lipit peroksidasyonunu azaltıp, diyabetle birlikte azalan GSH düzeylerini ise yükselttiğini rapor etmişlerdir. Özer ve Gönül (179) STZ ile diyabet oluşturdukları *Wistar Albino* ratlara 21 gün süre ile verdikleri 20 mg/kg dozundaki C vitamininin diyabete bağlı olarak artan MDA düzeylerini düşürdüğünü bunun yanı sıra azalan GSH düzeylerini ise arttırdığını bildirmişlerdir. Çay ve ark. (50) da diyabet öncesi 4, sonrası ise 21 gün olmak üzere toplam 25 gün süreyle C vitamini uygulamasının diyabetik ratlarda plazma, karaciğer ve kas dokularında oksidan düzeylerini düşürdüğünü, antioksidan düzeylerini ise yükselttiğini göstermişlerdir. Biz de 60 mg/kg dozundaki C vitamininin plazma oksidan seviyelerini değiştirmeden, total antioksidan seviyelerini istatistiksel açıdan önemli olmasa da arttırdığını belirledik. Yine C vitamininin diyabet grubunun karaciğer total oksidan ve total antioksidan seviyelerinde azalışlara neden olduğunu belirledik. Ancak, C vitamininin Alfa lipoik asit ile birlikte verilmesinin plazma ve karaciğerin gerek total oksidan gerekse total antioksidan seviyelerinde diyabet grubuna kıyasla herhangi bir değişikliğe neden olmadığını saptadık (Tablo 9-10). Bu bakımdan C vitamini ve Alfa

lipoik asitin birlikte uygulamasının oksidatif stresi azaltıp antioksidan sistemi güçlendirmede herhangi bir etkinliğinin bulunmadığını söylemek mümkündür.

Diyabette saptanan lipit ve lipoprotein düzeyinde gözlenen artışlar ateroskleroz oluşma riskini arttıracak faktörlerden biri olarak düşünülmektedir. Yapılan pek çok çalışmada diyabette lipit düzeylerinin arttığı belirtilmiştir (100, 167, 229, 233). Bu çalışmada da diyabet grubunda kontrol grubuna göre serum total kolesterol ve trigliserit düzeylerinde gözlenen artış bu konuda yapılan çalışmalar ile paralellik göstermektedir (Tablo 6) (229, 233). Diyabette gözlenen serum trigliserit ve total kolesterol düzeylerindeki artış; insülin eksikliğinin hormona duyarlı lipaz enzimini aktive etmesinden kaynaklanabileceği gibi periferik depolardan serbest yağ asitlerinin mobilizasyonundaki artıştan da kaynaklanabilmektedir.

Diyabette kolesterol seviyelerinin tespit edildiği birçok çalışmada oldukça çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Diyabette total kolesterol seviyelerinin arttığı (70), hem total kolesterol hem de trigliserit seviyelerinin arttığını (123) ve trigliserit seviyelerinin azalmasına karşın total kolesterol düzeylerinin ise değişmediğini (249) ifade eden çalışmalar mevcuttur. Ramakrishna ve Jailkhani (196), Tip I diyabette total kolesterol, trigliserit, LDL ve VLDL kolesterol seviyelerinin belirgin bir şekilde yükselmesine karşın HDL kolesterol seviyelerinin azaldığına dikkat çekmiştir. Bir çalışmada da (114), diyabet hastalarına 10 gün süre ile 500 mg dozunda Alfa lipoik asit verilmesinin trigliserit, kolesterol ve HDL kolesterol düzeylerini değiştirmede ifade etmişlerdir. Budin ve ark. (129), STZ ile diyabet oluşturdukları *Sprague Dawley* ratlara oral olarak 8 hafta boyunca verdikleri Alfa lipoik asitin plazma total kolesterol, trigliserit ve LDL kolesterol düzeylerini diyabet grubuna göre önemli bir şekilde düşürdüğünü bunun yanı sıra HDL kolesterol seviyelerini ise arttırdığını belirlemişlerdir. McRae (158), plazma C vitamini konsantrasyonları ile kolesterol seviyeleri arasında negatif bir korelasyon olduğunu, bunun nedeni olarak da kolesterol seviyelerindeki düşüşün C vitamininin artan konsantrasyonuna bağlı olarak gerçekleştiğini ileri sürmüşlerdir. Fotherby ve ark. (73), 3 ay boyunca günde 500 mg C vitamini uygulamasının 60-80 yaşlarındaki kadınlarda HDL kolesterol seviyelerini önemli düzeyde arttırırken, LDL kolesterolü değiştirmede; erkeklerde ise aynı parametrelerde herhangi bir değişikliğin gözlenmediğini ifade

etmişlerdir. Owu ve ark. (177), Alloksan ile diyabet oluşturdukları ratlara 28 gün boyunca oral olarak verilen 200 mg/kg dozundaki C vitamininin plazma trigliserit, total kolesterol ve LDL kolesterol seviyelerinde düşüslere neden olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmamızda da diyabet grubunun HDL kolesterol düzeylerinin kontrollere kıyasla önemli bir şekilde azaldığını, C vitamini ve kombine gruplarının HDL kolesterol seviyelerinin kontrollerle aynı düzeyde kaldığını, Alfa lipoik asit grubunda ise kontrollerden bile daha yüksek olduğunu gözlemledik. LDL kolesterol düzeylerinde ise herhangi bir değişiklik belirlenemedi. Yine VLDL kolesterol seviyelerinin diyabette önemli şekilde arttığı, bununla birlikte uyguladığımız maddelerin diyabetteki VLDL düzeylerinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığını gözlemledik. Yine çalışmamızın diyabetik kontrol, Alfa lipoik asit ve C vitamini gruplarında total kolesterol seviyelerinde az miktarda yükseliş belirlerken, kombine grupta azalma eğilimi gözlemledik. Trigliserit seviyeleri de diyabet grubunda önemli bir şekilde yükseliş gösterdi. C vitamini ve Alfa lipoik asit uygulamalarının diyabet grubuna kıyasla önemsiz, kombine grupta ise oldukça önemli azalışlara neden olduğunu tespit ettik (Tablo 6). Diyabetteki lipit metabolizma bozukluğunun, en yaygın görülen bir diğer şekli de trigliserit düzeylerinin yüksek oluşudur (61). Diyabetteki trigliserit metabolizmasında en önemli iki mekanizma bilindiği üzere VLDL'lerin aşırı üretimi ve trigliseritten zengin lipoproteinlerin, lipoprotein lipaz tarafından lipolizinde defekt bulunmasıdır (61, 110)

Lipitlerin oksidasyonunun diyabetin mikro ve makrovasküler komplikasyonlarının oluşmasında önemli rolü vardır. Diyabetli hastalarda yapılan çalışmalarda Paraoksonaz aktivitesinin sağlıklı insanlara göre daha düşük olduğu bulunmuş ve böylece Paraoksonaz diyabet ile ilişkilendirilmiştir (138).

Gbandjaba ve ark. (80), diyabetik kişilerde Paraoksonaz ve Arilesteraz aktivitelerinde önemli bir değişiklik olmadığını ifade etmişlerdir. Nair ve ark. (171)'na göre ise Tip I diyabetlilerde PON ve ARE aktiviteleri değişmezken, Tip II diyabette bu parametrelerde önemli azalışlar gözlenmiştir. Bununla birlikte, diyabet üzerinde yapılan çalışmaların büyük çoğunluğunda gerek Tip I gerekse Tip II diyabette PON ve ARE aktivitelerinde önemli azalışlar olduğu ifade edilmiştir (71,

72, 152). Benzer şekilde biz de çalışmamızda oluşturduğumuz diyabet modelinde hem PON hem de ARE enzim aktivitelerinde oldukça önemli azalışlar tespit ettik (Tablo 7-8).

Yaptığımız literatür taramalarında diyabette C vitamini ve Alfa lipoik asitin PON ve ARE enzim aktiviteleri üzerinde bir etkisinin olup olmadığını araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Gürsu ve ark. (90) ısı stresine maruz bırakılan bıldırcınlarda PON ve ARE aktiviteleri üzerine C vitamininin etkilerini incelemişler ve bu uygulamanın hem PON hem de ARE seviyelerini yükselttiğini gözlemlemişlerdir. Biz de çalışmamızda C vitamini, Alfa lipoik asit ve kombine grupların serum örneklerinin PON ve ARE enzim aktivitelerinde oldukça önemli artışlar belirledik (Tablo 7). Yine çalışmamızın kontrol, diyabet kontrol, C vitamini ve kombine grupların karaciğer örneklerinde benzer değerlerde olan PON enzim aktivitelerinin Alfa lipoik asit grubunda ise oldukça önemli şekilde arttığını belirledik. Bunun yanı sıra Alfa lipoik asit ve C vitamini ilavesinin diyabetik grupların tümünün karaciğer dokusunda önemli derecede azalan ARE enzim aktivitelerinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığını gözlemledik (Tablo 8).

PON'ın hem LDL hem de HDL kolesterolü oksidasyondan koruduğu belirtilmekle birlikte (12), HDL'nin LDL oksidasyonu üzerine koruyucu etkisinin öncelikle PON'dan kaynaklandığı düşünülmektedir (141). Buna ek olarak PON'ın H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi hidroliz edebilme özelliği olmasından dolayı ateroskleroz sırasında oluşan oksidanların etkisiz hale getirilmesinde önemli rol oynayabileceği ifade edilmiştir (12). Bu açıdan bakıldığında diyabetin neden olduğu oksidatif strese PON seviyelerinin belirlenmesi ayrıca önem taşımaktadır.

Bazı araştırmacılar (239) diyabetik olmayan metabolik sendromlu ve obez kişiler üzerinde yaptıkları çalışmada; TAS - TOS ile TAS - OSİ arasında negatif, TOS ve OSİ arasında ise pozitif bir korelasyon olduğunu; bunun yanı sıra PON-HDL, PON-LDL, ARE-HDL, ARE-LDL ve HDL-LDL arasında ise herhangi bir korelasyon olmadığını ifade etmişlerdir. Yine bazı araştırmacılar (186), nar suyu verilen Tip II diyabetli hastalardan PON ve ARE enzim aktiviteleri ile HDL kolesterol arasında



pozitif bir korelasyon olduğunu; PON ve ARE enzim aktiviteleri ile LDL kolesterol arasında ise herhangi korelasyon olmadığını belirtmişlerdir. Yine Camuzcuoğlu ve ark (36) ise, hamilelik esnasındaki demir yetersizliği anemisinde PON enzim aktiviteleri ile HDL kolesterol seviyeleri arasında pozitif, LDL kolesterol seviyeleri arasında ise negatif bir korelasyon belirlerken; ARE enzim aktiviteleri ile HDL ve LDL kolesterol seviyeleri arasında ise bir korelasyon tespit edememişlerdir. Çalışmamızda diyabetik kontrol grubunda PON-HDL kolesterol arasında pozitif, HDL-LDL ile PON-LDL kolesterol seviyeleri arasında ise negatif korrelasyonlar olduğu belirlenirken, deneme gruplarında korrelasyon yönünden herhangi bir ilişki belirlenemedi. Ayrıca total oksidan ve total antioksidan seviyeleri arasında da ne plazma ne de karaciğer dokusunda bir korelasyon tespit edilmedi. Yine bunlara ek olarak plazma ve karaciğer total oksidan seviyeleri ile kan glukoz seviyeleri arasında herhangi bir korrelasyon belirlenemedi. Sonuçta: diyabetik kontrol grubunun LDL kolesterol düzeylerindeki artışa bağlı olarak HDL kolesterol seviyeleri ile PON enzim aktivitelerinin azalması, HDL kolesterol seviyeleri ile PON enzim aktiviteleri arasında bir paralellik olduğunu göstermektedir. Diyabetik kontrollerde artan LDL kolesterol düzeyleri ile PON aktivite sonuçları arasında anlamlı ve negatif bir korrelasyon diyabetin oksidatif stresi arttırdığının bir delili olarak kabul edilebilir. PON aktivitesinin azalması, aşırı miktarda artan oksidatif ürünlerin PON aktivitesini baskılaması şeklinde açıklanabilir. Keza, PON, HDL'yi oksidasyondan koruyarak HDL kolesterol'ün LDL kolesterol taşıma fonksiyonunun devamlılığını sağlar.

Sonuçta:

- STZ ile oluşturulan diyabette Alfa lipoik asit, C vitamini ve bunların kombinasyonlarının kan şekeri ve vücut ağırlıkları üzerinde azaltıcı bir etkisi gözlenmekle birlikte; Alfa lipoik asit verilen grupta canlı ağırlık kaybının daha fazla gözlenmesi; aynı zamanda iyi kolesterol olarak nitelenen HDL kolesterol değerlerinin yüksek bulunması diyabette Alfa lipoik asit kullanımının diyabete bağlı şekillenen hiperlipidemiye azaltıcı yönde olumlu etkileri olabileceği kanaatini doğurmuştur.
- Diyabet ile birlikte serumda azalan PON ve ARE enzim aktivitelerinin eksojen olarak verilen Alfa lipoik asit ve C vitamini ile artış göstermesi,

bununla birlikte karaciğer PON enzim aktivitesi ve HDL kolesterol düzeylerinin Alfa lipoik asit grubunda oldukça yüksek düzeylerde olması diyabette oluşabilecek ateroskleroz riskini azaltmada Alfa lipoik asitin daha etkili olabileceğini düşündürmektedir.

- Diyabetik grubun yüksek TOS değerlerinden Tip I diyabetin oksidanları arttırmak suretiyle oksidatif stresi belirgin şekilde arttırdığını söyleyebiliriz. Ancak; eksojen olarak uyguladığımız C vitamininin Total oksidan seviyelerini azaltmak suretiyle diyabete bağlı oluşabilecek oksidatif hasarı önlemede etkili olabileceğini düşünmekteyiz. Fakat bu konuda yapılan çalışmaların sınırlı olmasından dolayı total oksidan ve antioksidan seviyelerdeki değişimleri tespit etmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.
- Bu bilgilerden yola çıkarak: diyabetik komplikasyonların önlenmesinde antioksidan karakterli farklı antidiyabetiklerin uygulanmasının, İnsülin yokluğu ile karakterize olan Tip I diyabette, eksojen insülin uygulanmasıyla glukoz düzeyleri normal seviyelere indirilmedikçe hiçbir antidiyabetiğin diyabetin komplikasyonlarını önlemede etkili ve tavsiye edilebilir nitelikte olduğunu söyleyemeyiz. Ancak antioksidan karakterli antidiyabetikler eksojen insülin ile birlikte uygulandığı takdirde bir takım diyabetik komplikasyonların önlenmesinde etkili olabileceğini söylemek mümkündür.

## 5. ÖZET

Bu çalışmada, deneysel olarak diyabet oluşturulmuş ratlara eksojen olarak verilen Alfa lipoik asit ile C vitamininin diyabete bağlı şekillenen oksidatif stres ve hiperlipidemi üzerine etkilerini araştırmak amaçlandı.

Çalışmada, her grupta 10 adet olmak üzere 5 gruba ayrılan 50 adet 4-5 aylık *Sprague Dawley* rat kullanıldı. Kontrol grubuna herhangi bir uygulama yapılmazken; deneme grubundaki hayvanlara intraperitoneal olarak 50 mg/kg dozunda Streptozotocin enjeksiyonu yapılarak diyabet oluşturuldu. Diyabet oluşturulan hayvanlar ise diyabetik kontrol grubu, oral olarak 80 mg/kg Alfa lipoik asit, 60 mg/kg C vitamini ve 80 mg/kg Alfa lipoik asit ile 60 mg/kg C vitamini verilen kombine grup olarak belirlendi. Çalışma süresince bütün gruplar *ad-libitum* olarak beslenildi. Tüm çalışma süresince uygulamayı eşitlemek için diyabetik kontrol grubuna oral olarak serum fizyolojik verildi.

Çalışma sonunda elde edilen numunelerin Total Kolesterol, Trigliserit, HDL, LDL ve VLDL kolesterol düzeyleri otoanalizörde, Paraoksonaz ve Arilesteraz enzim aktiviteleri ile Total Oksidan ve Total Antioksidan seviyeleri Spektrofotometrede ölçülmek suretiyle belirlendi.

Madde uygulanan grupların açlık kan glukoz seviyeleri diyabet kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmamasına rağmen ( $p>0.05$ ), en düşük açlık kan glukoz seviyelerine kombine grupta rastlandı. Diyabetin olduğu 3. gün ile çalışmanın son günü olan 24. gün kıyaslandığında; diyabetik kontrol ( $p<0.01$ ), Alfa lipoik asit ( $p<0.01$ ), C vitamini ( $p<0.001$ ) ve kombine gruplarının ( $p<0.001$ ) vücut ağırlıklarında istatistiksel açıdan önemli azalışlar belirlendi.

Diyabetik kontrol grubunun yüksek olan trigliserit düzeylerinin kombine grupta önemli bir şekilde azaldığı ( $p<0.05$ ), total kolesterol, LDL ve VLDL kolesterol düzeylerinin değişmediği ( $p>0.05$ ), bunun yanı sıra diyabetik kontrol grubunda önemli şekilde azalan ( $p<0.001$ ) HDL kolesterol seviyelerinin, C vitamini ( $p<0.05$ ), Alfa lipoik asit ( $p<0.001$ ) ve kombine grupta ( $p<0.05$ ) önemli bir şekilde arttığı tespit edildi.

Diyabet kontrol grubunda azalan serum Paraoksonaz enzim aktivitesinin Alfa lipoik asit ( $p<0.05$ ), C vitamini ( $P<0.001$ ) ve kombine gruplarında ( $p<0.001$ ); Arilesteraz enzim aktivitesinin ise tüm deneme gruplarında önemli ( $p<0.001$ ) şekilde arttığı belirlendi. Diyabetik kontrol grubunun karaciğer dokusundaki Paraoksonaz enzim aktivitesine kıyasla Alfa lipoik asit grubunda artış ( $p<0.001$ ) gözlemlendi. Buna ek olarak diyabetik kontrol grubunun karaciğer dokusunun Arilesteraz enzim aktivitesinde kontrollere oranla azalış ( $p<0.001$ ) belirlenirken; deneme gruplarının Arilesteraz enzim aktivitelerinde diyabetik kontrol grubuna kıyasla herhangi bir değişiklik tespit edilemedi ( $p>0.05$ ).

Plazma total oksidan ve total antioksidan düzeylerinde herhangi bir değişiklik ( $p>0.05$ ) gözlemlenmedi. Diyabetik kontrol grubunun karaciğer dokusunda artan total oksidan seviyelerinin C vitamini grubunda kontrol grubu seviyelerine kadar indiği ( $p<0.001$ ); yine aynı grubun total antioksidan seviyelerinin ise önemli derecede azaldığı ( $p<0.001$ ) saptandı. Bununla birlikte, oksidatif stres indeksinin plazmada değişmediği, C vitamini grubunun karaciğer dokusunda ise diyabetik kontrol grubuna göre önemli şekilde azaldığı ( $p<0.001$ ) tespit edildi. Bununla birlikte, karaciğer dokusunun histopatolojik bulguları bizim verilerimizi destekler nitelikteydi.

Sonuçta: Deneysel olarak Tip 1 diyabet oluşturulmuş ratlara eksojen olarak verilen Alfa lipoik asit, C vitamini ve bunların kombinasyonlarının diyabetin komplikasyonları olarak da bilinen oksidatif stres ve hiperlipidemiye düzenleyici yönde rol oynadığı, ancak daha iyi sonuçların alınabilmesi için insülinle birlikte verilmelerinin daha etkili olacağı; aynı zamanda konunun daha iyi aydınlatılabilmesi için başka çalışmaların yapılmasına gerek olduğu kanaatindeyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Tip I diyabet, Alfa lipoik asit, C vitamini, Oksidatif stres, Lipit profili

## 6. ABSTRACT

In this study, we studied the effects of exogenic application of Alpha lipoic acid and vitamine C on oxidative stres and hyperlipidemia using induced diabetics rats.

We used a total of 50 4-5 months years old *Sprague Dawley* rat divided into 5 groups of 10 individuals. The control group was not treated, whereas the experimantal groups were treated with intraperitoneal application of 50 mg/kg dose of Streptozotocin to induced the diabetics. Among the induced diabetics, we designed the four groups as follow: Diabetic control (no application), an oral application of 80 mg/kg Alpha lipoic acid, an oral application of 60 mg/kg vitamine C, and an oral application of combination of 80 mg/kg Alpha lipoic acid and 60 mg/kg vitamine C. During the entire experiment the rats were fed *ad-libitum*. In order to standardize the applications, diabetic control group was given orally the physiological saline.

The level of total cholesterol, trigliseride, HDL, LDL, and VLDL were obtained using autoanaliser, and the level enzyme activity of Paraoxonase ve Arilesterase and level of Total Oxidant and Total Antioxidant were gathered using Spectrophotometer.

Despite the insignificant difference between diabetic control group and other diabetic groups ( $p>0,05$ ) in the fasting blood glucose levels, the lowest value was observed in the combined diabetic group. We were compared the third day (the initial day of diabetics) and 24th day, we found significant decreases at the body mass in the diabetic control ( $p<0.01$ ), Alpha lipoic acid group ( $p<0.01$ ), Vitamine C group ( $p<0.001$ ), and combined group ( $p<0.001$ ).

Higher level of triglycerides in the diabetic control group compare to the combined group was observed ( $p<0.05$ ); however, no significant difference ( $p>0.05$ ) were observed in total cholesterol, LDL, and VLDL. The HDL cholesterol levels were significantly decreased ( $p<0.001$ ) in the diabetic control group. Moreover HDL cholesterol levels vitamine C ( $p<0.05$ ), Alpha lipoic acid ( $p<0.001$ ), and the combined groups ( $p<0.05$ ) were increased significantly compared to diabetic control group.

The level of Paraoxonase enzyme activity was observed to be lower in the diabetic control group in comparison to the control group and the activity was found to be higher in three other induced diabetics groups in comparison to the diabetic control group. Arilesterase enzyme activity was found to higher in all experimental groups when compared with the control group. Paraoxonase enzyme activity of liver of Alpha lipoic acid applied group was found to be higher compare to diabetic control group. Arilesterase enzyme activity of liver of diabetic control group was found to be lower compare to the control group ( $p < 0.001$ ). Arilesterase enzyme activity of liver of diabetic control group was found to be no different than any other diabetics groups ( $p > 0.05$ ).

No difference in total oxidant and antioxidant levels were observed ( $p > 0,05$ ). Higher levels of total oxidant was observed in diabetic control group compare to the control group; however, no difference was observed in vitamine C applied group compare to control group. Total antioxidant level of vitamine C applied group was found to be lower compare to control group. Oxidative stres index was not found to change in the plasma but there is a significant difference was observed in the liver of vitamine C applied group compare to diabetic control group. In addition, the histopathological data from liver is in agreement with the results presented here.

In conclusion, the exogenic application of the Alpha lipoic acid, vitamine C, and combination of both applied to the induced Type I diabetics rats have positive effects on oxidative stres and hyperlipidemia which are known complications of diabetics. However, beter results would be expected when combined with insulin. We also suggest further research on the subject to obtain definitive results.

**Key Words:** Type I diabetes, Alpha lipoic acid, Vitamine C, Oxidative stress, Lipid profile

## 7. KAYNAKLAR

1. Akkaya, H., Çelik, S., Ratlarda Diyabet Öncesi ve Sonrası Oksidan-Antioksidan Durum, F.Ü. Sağ. Bil. Vet. Derg. 24 (1): 05 – 10, 2010.
2. Aldridge, W. N., Serum esterases. II. an enzyme hydrolysing diethyl p-nitrophenylphosphate (EGOO) and its identity with A-esterase of mammalian sera. *Biochem J.* 53: 117-124, 1953.
3. Alemzadeh, R., Wyatt, D. T., Diabetes Mellitus. In: Behrman R.E, Kliegman R.M, Jenson H.B (eds). *Nelson Textbook of Pediatrics.* 17 edition. Pennsylvania: Elsevier Saunders, p.1947-72, 2004.
4. American Diabetes Association., Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 27: 1, 5-10, January 2004.
5. Anderson, M. E., Glutathione: an overview of biosynthesis and modulation. *Chem Biol Interact.* 111–112:1–14, 1998.
6. Anton, E. P., Johannes, B., Arne Vander, G. J., Gerard, M. J., *Biochem,* 265, 47-54, 1990.
7. Arivazhagan, P., Thilakavathy, T., Panneerselvam, C., Antioxidant lipoate and tissue antioxidants in aged rats, *J. Nutr. Biochem.* 11:122-127, 2000.
8. Aslan, M., Kosecik, M., Horoz, M., Selek, S., Celik, H., Erel, O., Assessment of paraoxonase and arylesterase activities in patients with iron deficiency anemia. *J.atherosclerosis.* 191(2):397-402, 2007.
9. Atmaca, G., Sarımsağın ve Tiyol içeren Bazı Bileşiklerin Antioksidatif Etkileri, *Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi.* 20(1–3):54-60, 2003.
10. Aviram, M., Does paraoxonase play a role in susceptibility to cardiovascular disease?. *Molecular Medicine Today.* Volume 5, Issue 9, Pages 381–386, 1 September 1999.
11. Aviram, M., Hardak, E., Vaya, J., Mahmood, S., Milo, S., Hoffman, A., Billicke, S., Draganov, D., Rosenblat, M., Human serum paraoxonases (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions. *Circulation.* 101:2510-17, 2000.
12. Aviram, M., Rosenblat, M., Bisgaier, C. L., Newton, R. S., Primo-Parmo, S. L., La Du, B. N., Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and

- preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest.* 101:1581-1590, 1998.
13. Aviram, M., Rosenblat, M., Scott, B., Erogul, J., Sorenson, R., Bisgaier, C. I., Newton, R. S., La Du, B., Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Rad Biol Med.* 26: 892-904, 1999.
  14. Ayub, A., Mackness, M. I., Arrol, S., Mackness, B., Patel, J., Durrington, P. N., Serum paraoxonase after myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 19: 330-335, 1999.
  15. Azarsız, E. Sözman, E. Y., "Paraoksonaz ve Klinik Önemi". *Türk Biyokimya Dergisi.* 25 (3), 109-119, 2000.
  16. Balz, F., Antioxidant vitamins and heart disease. Presented at the 60th Annual Biology Colloquium. Oregon State University. Corvallis. Oregon February 25, 1999.
  17. Barato-Soares, A. D., Gomez, M. L. P. A., de Mesquita, C. H., Lajolo, F. M., Ascorbic acid biosynthesis: a precursor study on plants, *Braz. J. Plant Physiol.* 16(3):147-154, 2004.
  18. Baskin, S. I., Salem, H., Oxidants, antioxidants, and free radicals. Washington DC: Taylor and Francis. pp 26-35, 1997.
  19. Bast, A., Haenen, G. R. M. M., The toxicity of antioxidants and their metabolites. *Environmental toxicology and Pharmacology.* Volume 11, Issues 3-4, July 2002, 251-258, 2002.
  20. Başkol, G., Köse, G., Paraoksonaz: Biyokimyasal özellikleri, fonksiyonları ve klinik önemi *Erciyes Tıp Dergisi.* 26 (2) 75-80, 2004.
  21. Baynes, J. W., Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes.* 40:405-412, 1991.
  22. Bellenger, J., Comte, C., Bellenger, S., Merlin, JFO., Tessier, C., Poisson, J. P., Narce, M., Regulation of PUFA biosynthesis during hypertension associated with type I and II diabetes. *Ocl-Oleagineux Corps Gras Lipides.* (104), 321-327, 2003.
  23. Bhatti, F., Mankhey, R. W., Asico, L., Quinn, M. T., Welch, W. J., Maric, C., Mechanisms of antioxidant and pro-oxidant effects of  $\alpha$ -lipoic acid in the



- diabetic and nondiabetic kidney. *Kidney International*. Vol. 67, pp. 1371–1380, 2005.
24. Biewenga, G. P., Haenen, G. R., Bast, A., The pharmacology of the antioxidant lipoic acid. *Gen. Pharmacol.* 29:315-331, 1997.
  25. Borcea, V., Nourooz-Zadeh, J., Wolff, S. P., Klevesath, M., Hofmann, M., Urich, H., Wahl, P., Ziegler, R., Tritschler, H., Halliwell, B., Nawroth, P. P., Alpha-lipoic acid decreases oxidative stress even in diabetic patients with poor glycemic control and albuminuria. *Free Radic Biol Med.* 26:1495, 1999.
  26. Botero, D., Wolfsdorf, J. I., Diabetes Mellitus in Children and Adolescents. *Archives of Medical Research.* 36:281–290, 2005.
  27. Boyer, T. D., The Glutathione S-transferases: An Update *Hepatology.* 9:(3), 486-96, 1989.
  28. Brownlee, M., Cerami, A., Vlassara, H., Advanced glycosylation end products in tissue and the biochemical basis of diabetic complications. *N Engl J Med.* 318:1315, 1988.
  29. Budin, S. B., Othman, F., Louis, S. R., Bakar, M. A., Radzi, M., Osman, K., Das, S., Mohamed, J., Effect of alpha lipoic acid on oxidative stress and vascular wall of diabetic rats. *Romanian Journal of Morphology and Embryology.* 50(1):23–30, 2009.
  30. Buettner, G. R., Jurkiewicz, B. A., Catalytic metals, ascorbate and free radicals: combinations to avoid. *Radiat. Res.* 145, 532–541, 1996.
  31. Bukan, N., Sancak, B., Yavuz, Ö., Koca, C., Tutkun, F., Özçelikay, A. T., Altan, N., Lipid peroxidation and scavenging enzyme levels in the liver of streptozotocin-induced diabetic rats, *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*, vol. 20, pp. 447-450, December 2003.
  32. Bullock, M. W., Brockmann, J. A., Patterson, E. L., Pierce, J. V., Macchi, M. E., Proposed structures for protogen-A and protogen-B. *J. Am. Chem. Soc.* 76:1827-1828, 1954.
  33. Bundak, R., Ergenlik çağında diyabet yönetimi, *Türk Ped Arş.* 46, özel sayı: 79-81, 2011.

34. Büyükakyüz, N., Altuğ, T., Yaltrık, M., Kanser proflaksisinde antioksidan maddelerden E vitamini ve selenyumun önemi. *Dışhekimliğinde Klinik Derg.* 12:136-139, 2000.
35. Cameron, N. E., Cotter, M. A., Maxfield, E. K., Antioxidant treatment prevents the development of peripheral nerve dysfunction in streptozotocine-diabetic rats. *Diabetologia.* 36:299-304, 1993.
36. Camuzcuoğlu, H., Toy, H., Vural, M., Camuzcuoğlu, A., Taşkın, A., Çelik, H., Serum paraoxonase and arylesterase activities in iron deficiency anemia during pregnancy. *Turk J Med Sci.* 41 (2):185-191, 2011.
37. Canales, A., Sanchez-Muniz, F. J., Paraoxanase, something more than an enzyme? *Med Clin (Barc).* 121:537-48, 2003.
38. Carreau, J. P., Biosynthesis of lipoic acid via unsaturated fatty acids. *Meth. Enzymol.* Vol: 62:152-158, 1979.
39. Champe, P. C., Harvey, R. A., *Biyokimya kitabı, Lippincott's Illustrated Review Serisinden: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. İstanbul.* s:180-206-207-216-221, 1997.
40. Chatterjee, I. B., Evolution and the biosynthesis of ascorbic acid. *Science.* 182 (4118):1271-1272, 1973.
41. Chatterjee, I. B., Vitamin C: Biosynthesis, Evolutionary significance and Biological Function. *PINSA.* B64, Nos 3&4, pp 213-234, 1998.
42. Cheeseman, K. H., Slater T. F., An introduction to free radikal biochemistry. *British Medical Bulletin.* 49 (3):481-93, 1993.
43. Cnubben, N. H. P., Rietjens, I. M. C. M., Wortelboer, H., Van Zanden, J., Van Bladeren, P. J., The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 10:141-152, 2001.
44. Coskun, Ö., Kanter, M., Korkmaz, A. and Oter, S., Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stres and cell damage in rat pancreas. *Pharmacological Reserch.* 51:117-123, 2005.
45. Cremer, D. R., Rabeler, R., Roberts, A., Lynch, B., Long-term safety of  $\alpha$ -lipoic acid (ALA) consumption: A 2-year study. *Regulatory Toxicology and Pharmacology.* 46:193-201, 2006.

46. Cremer, D. R., Rabeler, R., Roberts, A., Lynch, B., Safety evaluation of  $\alpha$ -lipoic acid (ALA). *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. Volume 46, Issue 1, Pages 29-41, 2006.
47. Culotta, V. C., Superoxide dismutase, oxidative stress, and cell metabolism. *Curr Topics Cell Reg.* 36:117-32, 2000.
48. Cunningham, J. J., The Glucose/Insulin System and Vitamin C: Implications in Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *Journal of the American College of Nutrition*. Vol. 17, No. 2, 105–108, 1998.
49. Çakatay, U., Pro-oxidant actions of  $\alpha$ -lipoic acid and dihydrolipoic acid. *Med Hypotheses*. 66(1):110-7, 2006.
50. Çay, M., Naziroğlu, M., Şimşek, H., Aydılek, N., Aksakal, M., Demirci, M., Effects of intraperitoneally administered vitamin C on antioxidative defense mechanism in rats with diabetes induced by streptozotocin. *Res Exp Med (Berl)*. 200: 205-213, 2001.
51. Çaylak, E., Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi*. 9 (1):73-83, 2011.
52. Çimen, M. Y. B., Free radical metabolism in human erythrocytes. *Clinica Chimica Acta*. 390 (1-2):1-11, 2008.
53. Dalgıç, N., Yetkin, D., Lipoproteinler, yapı ve fonksiyonları. *Türkiye Klinikleri - Cilt: 5, Sayı: 2, Haziran 1985*.
54. Davies, M. B., Austin, J., Partridge, D. A., Vitamin C: Its chemistry and biochemistry. The Royal Society of Chemistry. ISBN 0-85 186-333-7, 1991.
55. Delibaş, N., Tahan, N., Lipoprotein metabolizması ve ateroskleroz ile ilişkisi. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. 2 (2):39-44, 1995.
56. Deprem, T., Sağlıklı ve diabet oluşturulmuş farelerin karaciğer dokusunda glutatyon peroksidaz enziminin immunohistokimyasal lokalizasyonu ve RT PCR ile gen ekspresyonu. *Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi. Kars, 2009*.
57. Derviş, E., Oral antioksidanlar. *Dermatoz*. 2 (1):263-267, 2011.
58. Diabetes Prevention Trial–Type 1 Diabetes Study Group, Effects Of Insulin In Relatives Of Patients With Type 1 Diabetes Mellitus. *The New England Journal of Medicine*. Vol. 346, No. 22, May 30, 2002.

59. Du, J., Cullen, J. J., Buettner, G. R., Ascorbic acid: Chemistry, biology and the treatment of cancer. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1826:443–457, 2012.
60. Dudeja, P. K., Brasitus, T. A., 1,2-Dimethyl hydrazine induced alterations in lipid peroxidation in preneoplastic and neoplastic colonic tissues. *Biochim Biophys Acta*. 1046:267-270, 1990.
61. Dunn Fredrick, L., Hyperlipidemia and Diabetes. *Medikal clinics of North America*. 77:1347–1360, 1982.
62. Durrington, P. N., Mackness, B., Mackness, M. I., Paraonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 21:473-480, 2001.
63. Durrington, P., Sniderman, A., Fast Facts-Hyperlipidaemia. 1. Baskısının Türkçesi. Editör: Uzm Dr. Arif Nihat Dursun; Çeviri; Dr. Bülent Genç. And Danışmanlık Eğitim Yayıncılık ve Organizasyon Ltd. Şti. Sayfa 18-28, 2001.
64. Erdem, M. S. T. İ., ST Elevasyonlu Miyokard İnfarktüsü (Stemi) Hastalarda İnsan Paraonase Geni Met-Leu/55 Polimorfizmi. Dr. Siyami Ersek Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Merkezi. İstanbul, 2004.
65. Erel, O., A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*. 38 (12):1103-11, Dec 2005.
66. Erel, O., A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem*. 37 (2):112-9, Feb 2004.
67. Evans, J., Goldfine, I. D.,  $\alpha$ -lipoic acid: a multifunctional antioxidant that improves insülin sensivity in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Tecnology&Therapeutics*. 2:401-13, 2000.
68. Fayle, S. E., Gerrard, J. A., Simmons, L., Meade, S. J., Reid, E. A., Johnston, A. C., Crosslinkage of proteins by dehydroascorbic acid and its degradation products. *Food Chemistry*. 70:193-198, 2000.
69. Feher, J., Cosmos, G., Vereckei, A., Free radical reactions in medicine. Berlin. Springer-Velag, 1987.
70. Feillet-Coudray, C., Rock, E., Coudray, C., Grzelkowska, K., Azais-Braesco, V., Dardevet, D., Mazur, A., Lipit peroxidation and antioxidant status in experimental diabetes. *Clinica Chimica Acta*. 284:31-43, 1999.
71. Ferretti, G., Bacchetti, T., Busni, D., Rabini, R. A., Curatola, A., Protective effect of paraonase activity in high-density lipoproteins against erythrocyte

- membranes peroxidation: a comparison between healthy subjects and type 1 diabetic patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 89:2957-2962, 2004.
72. Flekac, M., Skrha, J., Zidkova, K., Lacinova, Z., Hilgertova, J., Paraoxonase 1 gene polymorphisms and enzyme activities in diabetes mellitus. *Physiol Res.* 57:717-26, 2008.
  73. Fotherby, M. D., Williams, J.C., Forster, L.A., Craner, P., Ferns, G.A., Effect of vitamin C on ambulatory blood pressure and plasma lipids in older persons. *Journal of Hypertension.* 18:4, 411-415, April 2000.
  74. Franceschi, R. T., Wilson, J. X., Dixon, S. J., Requirement for Na(+)-dependent ascorbic acid transport in osteoblast function. *Am. J. Physiol.* 268, C1430-C1439, 1995.
  75. Friedewald, W. T., Levy, R. I., Frederickson, D. S., Estimation of the Concentration of Low Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, Without Use of the Preparative Ultracentrifuge. *Clin Chem.* 18:499-502, 1972.
  76. Gan, N., Smolen, A., Eckerson, W., La Du, B. N., Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. Evidence for one esterase catalyzing both activities. *Drug Metab Dispos.* 19:100-106, 1991.
  77. Ganda, O. P., Rossi, A. A., Like, A. A., Studies on streptozotocin diabetes. *Diabetes.* 25:595-603, 1976.
  78. Garewal, H. S., Antioxidants and disease prevention. Florida: CRC Press LLC. pp 3-19, 1997.
  79. Gaubatz, J. W., Heideman, C., Gotto, A. M., Morrisett, J. D., Dahlen, G. H., Human plasma lipoprotein (a). *The Journal of Biological Chemistry.* Vol. 258, No. 7, Issue of April 10, pp. 4582-4589, 1983.
  80. Gbandjabaa, N. Y., Ghalimb, N., Hassarb, M., Berrouguic, B., Labrazia, H., Takia, H., Sailea, R., Khalild, A., Paraoxonase activity in healthy, diabetic, and hemodialysis patients. *Clinical Biochemistry.* Volume 45, Issue 6, Pages 470–474, April 2012.
  81. Genestra, M., Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. *Cellular Signalling* 19:1807–1819, 2007.

82. Gerschman, R., Gilbert, D. L., Nye, S. W., Dwyer, P., Fenn, W. O., Oxygen poisoning and x-irradiation: a mechanism in common. *Science* 119:623-626, 1954.
83. Gibbons, G. H., Dzau, V. J., Molecular therapies for vascular diseases. *Science*. 272:689, 1996.
84. Goldberg, R. B., Lipid Disorders in Diabetes. *Diabetes Care*. vol. 4 no. 5, september-october 1981.
85. Goldberg, R. B., Rubenstein, A. H., Lipoprotein disorders in obese moderately well controlled diabetes. *Diabetes*. 29, (Suppl. 2): 465, 1980.
86. Gort, A., Imlay, J. A., Balance between endogenous superoxide stress and antioxidant defenses. *J Bacteriol*. 180,1402-10, 1998.
87. Gökpinar, S., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., Durmaz, Y., Algal Antioksidanlar. *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*. 23(1/1):85-89, 2006.
88. Greenstock, C. L., Radiation and aging: free radical damage, biological response and possible antioxidant intervention. *Medical Hypotheses*. 41 (5):473-82, 1993.
89. Griffiths, H. R., Lunec, J., Ascorbic acid in the 21st century – more than a simple antioxidant. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 10:173–182, 2001.
90. Gursu, M. F., Onderci, M., Gulcu, F., Sahin, K., Effects of vitamin C and folic acid supplementation on serum paraoxonase activity and metabolites induced by heat stress in vivo. *Nutrition Research*. Volume 24, Issue 2, Pages 157–164, February 2004.
91. Gutteridge, J. M. C., Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem*. 41:1819-1928, 1995.
92. Guven, A., Yavuz, O., Cam, M., Ercan, F., Bukan, N., Comunoglu, C., Gokce, F., Effects of melatonin on streptozotocin-induced diabetic liver injury in rats. *Acta Histochem*. 108(2):85-93, 2006.
93. Gültekin, F., Vitamin C. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. 6 (4):59-63, 1999.
94. Güneş, H. V., Değirmenci, İ., Aydın, M., Bozan, B., Aral, E., Tunalier, Z., Üstüner, C., Erçakır, M., Başer, K.H.C. ve Başaran, A., The effects of rumex

- patientia L. and *Urtica dioica* L. on some blood and urine parameters, and liver and kidney histology in diabetic rats. *Turk J Med Sci.* 29(3):227-32, 1999.
95. Habig, H. W. J. M., Pabst, W. B., Jakoby, J., Glutathione S-Transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Biol. Chem.* 249:(22), 7130-7139, 1974.
  96. Haller, M. J., Atkinson, M. A., Schatz, D., Type 1 diabetes mellitus: etiology, presentation, and management. *Pediatr Clin North Am.* 52:1553-78, 2005.
  97. Halliwell, B., Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition Reviews.* 52 (8):253-65, 1994.
  98. Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., *Free Radicals in Biology and Medicine.* Oxford University Press Inc. New York, 936s, 1999.
  99. Halliwell, B., Vitamin C: poison, prophylactic or panacea? *Trends Biochem. Sci.* 24:255–259, 1999.
  100. Hansen, S. H., The role of taurine in diabetes and the development of diabetic complications. *Diabetes Metab Res Rev.* 17:330-346, 2001.
  101. Haugaard, N., Haugaard, E., Stimulation of glucose utilization by thioctic acid in rat diaphragm incubated in vitro. *Biochem. Biophys. Acta* 222, 583, 1970.
  102. Havel, R J., Approach to the patient with hyperlipidemia. *Med. Clin. North Am.* 66 (2):310-333, 1982.
  103. Heijmans, B. T., Westendorp, R. G. J., Lagaay, A. M., Knook, D. L., Kluft, C., Slagboom, P. E., Common paraoxonase gene variants, mortality risk and fatal cardiovascular events in elderly subjects. *Atherosclerosis.* 149:91-7, 2000.
  104. Helbig, H., Korbmacher, C., Wohlfarth, J., Berweck, S., Kuhner, D., Wiederholt, M., Electrogenic Na<sup>+</sup>-ascorbate cotransport in cultured bovine pigmented ciliary epithelial cells. *Am. J. Physiol.* 256:C44–C49, 1989.
  105. Heller, B., Burkhart, V., Lampeter, E., Kolb, H., Antioxidant therapy for the prevention of type 1 diabetes. *Adv Pharm.* 38:629-638, 1997.
  106. Hermann, R., Niebch, G., Human pharmacokinetics of alpha-lipoic acid. In: Packer, L., Cadenas, E., (eds.) *Biothiols in health and disease.* New York: Marcel Dekker. 337, 1997.

107. Hill, A. S., Werner, J. A., Rogers, O. R., O'Neill, S. L., Cristopher, M. M., Lipoic acid is 10 times more toxic in cat than reported in humans, dogs or rats. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)*. 88:150-156, 2004.
108. Hinder, R. A., Stein, H. J., Oxygen derived free radicals. *Arch Surg.* 126:104-106, 1991.
109. Ho, Y. S., Lai, C. S., Tai, C., Pan, M. H., Wang, Y. J., Dihydrolipoic acid inhibits skin tumor promotion through anti-inflammation and anti-oxidation. *Biochemical Pharmacology*. 73:1786-95, 2007.
110. Howard, B. V., Reitman, J. S., Vasquez, B., Zech, L., Very-Low-Density Lipoprotein Triglyceride Metabolism in Non-insulin-dependent Diabetes Mellitus: Relationship to Plasma Insulin and Free Fatty Acids. *Diabetes Care*. 27:1358-1364, June 1, 2004.
111. Huang, E. A., Gitelman, S. E., The effect of oral alpha-lipoic acid on oxidative stress in adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Pediatric Diabetes*. Volume 9, Issue 3 pt2, pages 69–73, June 2008.
112. Irwin, M. I. Hutchins, B. K., A conspectus of research on vitamin C requirements of man. *J. Nutr.* 106, 821–879, 1976.
113. İrer, S. V., Alper, G., Deneysel diyabet modelleri. *Türk Klinik Biyokimya Derg.* 2:127-36, 2004.
114. Jacob, S., Henriksen, E. J., Tritschler, H. J., Augustin, H. J., Dietze, G. J., Improvement of insulin-stimulated glucose-disposal in type 2 diabetes after repeated parenteral administration of thioctic acid. *Endocrinol. Diabetes*. 104:284–288, 1996.
115. Jacob, S., Ruus ,P., Hermann, R., Tritschler, H. J., Maerker, E., Renn, W., Augustin, H. J., Dietze, G. J., Rett, K., Oral administration of RAC-alpha-lipoic acid modulates insulin sensitivity in patients with type-2 diabetes mellitus: a placebo-controlled pilot trial. *Free Radical Biol Med*. 27:(3-4), 309-314, 1999.
116. Jacob, S., Streeper, R. S., Fogt, D. L., Hokama, J. Y., Tritschler, H. J., Dietze, G. J., Henriksen, E. J., The antioxidant alpha-lipoic acid enhances insulin stimulated glucose metabolism in insulin-resistant rat skeletal muscle. *Diabetes*. 45:1024-1029, 1996.



117. Jacques, P. F., Chylack, L. T., Epidemiologic evidence of a role for the antioxidant vitamins and carotenoids in cataract prevention. *Am J Clin Nutr.* 53:352-55, 1991.
118. Jain, S. K., Lim, G., Lipoic acid decreases lipid peroxidation and protein glycosylation and increases (Na<sup>++</sup> K<sup>+</sup>)- and Ca<sup>++</sup> - ATPase activities in high glucose-treated human erythrocytes. *Free Rad. Biol. Med.* 29:1122, 2000.
119. James, R. L. I., Ruiz, J., Passa, P., Fuegel, P., Gavin, M. C. B., Promoter polymorphism T(-107)C of the paraoxonase PON1 gene is a risk factor for coronary heart disease in type 2 diabetic patients. *Diabetes.* 29, 2000.
120. Kane, J. P., Plasma Lipoproteins, Structure and Metabolism. Synder, F., (ed.). Lipid metabolism in Mammals. New York, Plenum, p. 209, 1977.
121. Kangralkar, V. A., Patil, S. D., Bandivadekar, R. M., Oxidative Stress and Diabetes: A Review. *International Journal of Pharmaceutical Applications.* Vol 1, Issue 1, June, pp 38-45, 2010.
122. Karaca, E. G., Lipoik Asit: Evrensel Antioksidan. *Afyon Kocatepe University Journal of Science.* Vol. 8, Issue 1, p 231-246, 2008.
123. Kashiba, M., Oka, J., Ichikawa, R., Kasahara, E., Inayama, T., Kageyama, A., Kageyama, H., Osaka, T., Umegaki, K., Matsumoto, A., Ishikawa, T., Nishikimi, M., Inoue, M., Inoue, S., Impaired ascorbic acid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Free Radic Biol & Med.* 33 (9):1221-30, 2002.
124. Katsumata, K., Katsumata, K. Jr., Katsumata, Y., Protective effect of diltiazem hydrochloride on the occurrence of alloxan- or streptozotocin-induced diabetes in rats. *Horm Metab Res.* 24:508-510, 1992.
125. Kawabata, T., Tritschler, H. J., Packer, L., Reaction of (R,S)-dihydrolipoic acid and homologs with iron. *Methods Enzymol,* 251:325-332, 1995.
126. Kayaalp, O., Rasyonel Tedavi Açısından Tıbbi Farmakoloji. Cilt-1 Hacettepe–Taş, 2000.
127. Kern, T. S., Engerman, R. L., A mouse model of diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol.* 114:986-90, 1996.

- 128.** Khamaisi, M., Rudich, A., Potashnik, R., Tritschler, H. J., Gutman, A., Bashan, N., Lipoic acid acutely induces hypoglycemia in fasting nondiabetic and diabetic rats. *Metab Clin Exp.* 48 (4):504-10, 1999.
- 129.** Kılınç, K., Serum Paraoksonaz (PON) aktivitesi ve bunun PON1 polimorfizmi ve serum HDL Düzeyleri ile ilişkisi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Trabzon, Şubat 2005.
- 130.** Kidd, P. M., Glutathione: systemic protectant against oxidative and free radical damage. *Alternative Medicine Reviews.* 2:155-176, 1997.
- 131.** Koca, C., Altan, N., Dincel, A. S., Kosova, F., Şahin, F., Arslan, M., Tip 1 ve Tip 2 diyabetik hasta serumlarında oksidatif stres ve leptin düzeylerinin incelenmesi. *Türk Klinik Biyokimya derg.* 6 (3):99-107, 2008.
- 132.** Komosin'ska-Vassev, K., Olczyk, K., Olczyk, P., Winsz-Szczotka, K., Effects of metabolic control and vascular complications on indices of oxidative stress in type 2 diabetic patients. *Diabetes Research and Clinical Practice.* 68:207–216, 2005.
- 133.** Kramer, K., Nutra ceutials in Heath and Disease Prevention. Marcel Dekker Incorporated. New York; 8:113, 2001.
- 134.** Kritchevsky, D., Anticholesterol activity of a-lipoic acid. *Nature.* 182:396–397, 1958.
- 135.** Kuiper, H. C., Bruno, R. S., Traber, M. G., Stevens, J. F., Vitamin C supplementation lowers urinary levels of 4-hydroperoxy-2-nonenal metabolites in humans. *Free Radic. Biol. Med.* 50:848–853, 2011.
- 136.** Kumar, E., Cotran, R., Robbins, S. L., Hücre zedelenmesi adaptasyonu ve ölümü. Mitchell, R. N., Cotran, R. S., editörler (Çeviri editörü: Aker H). *Temel Patoloji.* 7. Baskı. İstanbul: Nobel Kitabevi. p. 9, 2003.
- 137.** Kumar, J. S. S., Menon, V. P., Peroxidative changes in experimental diabetes mellitus. *Indian J Med Res.* 96:176-181, 1992.
- 138.** Kuremoto, K., Watanabe, Y., Ohmura, H., Shimada, K., Mokuno, H., Daida, H., R/R genotype of human paraoxonase (PON1) is more protective against lipoprotein oxidation and coronary artery disease in Japanese subjects. *Atheroscler Thromb.* 10 (2), 85-92, 2003

139. Kurt, M., Atmaca, A., Gürlek, A., Diyabetik nefropati. *Hacettepe Tıp Dergisi*. 35:12-17, 2004.
140. Kuyvenhoven, J. P., Meinders, A. E., Oxidative stress and diabetes mellitus. Pathogenesis of long term complications. *Eur J Intern Med*. 10:9-19, 1999.
141. La Du, B. N., Structural and functional diversity of paraoxonases. *Nat Med*. 2:1186-1187, 1996.
142. Laney, G. C., Corkey, B. E., Fatty acid metabolism and insulin secretion in pancreatic beta cells. *Diabetologia*. 46:1297–1312, 2003.
143. Lee, D. M., A simple and sensitive method in using the ratios of cholesteryl ester molecular species as indexes of oxidative stress in plasma and lipoprotein fractions. *Atherosclerosis*. 146:221-235, 1999.
144. Lenzen, S., The mechanisms of alloxan -and streptozotocin- induced diabetes. *Diabetologia*. 51:216-226, 2008.
145. Levine, M., New concepts in the biology and biochemistry of ascorbic acid. *N Engl J Med*. 314:892–902, 1986.
146. Lipinski, B., Pathophysiology of Oxidative stress in Diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and its Complications*. 15:203-210, 2001.
147. Loeper, J., Goy, J., Rozensztajn, L., Bedu, O., Moisson, P., Lipid peroxydation and protective enzymes during myocardial infarction. *Clin Chim Acta*. 196:119-126, 1991.
148. Lohr, J. B., Oxygen radicals and neuropsychiatric illness. *Arch Gen Psychiatry*. 48:1097-1106, 1991.
149. Lomaestro, B. M., Malone, M., Glutathione in health and disease: Pharmacotherapeutic Issues. *Annals Pharmacother*. 29:1263-73, 1995.
150. Mackness, B. D. P. N., Mackness, M. I., Human Serum Paraoxonase. *Gene Pharmacy*. 31 (3):329-36, 1998.
151. Mackness, M. I., B., Durrington, P. N., Connelly, P. W., Hegele, R. A., Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Current Opinion in Lipidology*. 7:69-76, 1996.
152. Mackness, M. I., Harty, D., Bhatnagar, D., Winocour, P. H., Arrol, S., Ishola, M., Durrington, P. N., Serum paraoxonase activity in familial

hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis*. 86:193-199, 1991.

153. Macrae, M. P., Is vitamin C an effective antihypertensive supplement? A review and analysis of the literature. *Journal Of Chiropractic Medicine*. 5:2, 60-64, 2006.
154. Maritim, A. C., Sanders, R. A., Watkins, J. B., Effect of  $\alpha$ -lipoic acid on biomarkers of oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 14, 288-294, 2003.
155. Mates, J. M., Pérez-Gómez, C., Núñez De Castro, I., Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*. 32 (8):595-603, 1999.
156. Mayes, P. A., *Lipid Taşınması ve Depolanması*. Harper'ın Biyokimyası, Appleton & Lange, Çevirenler: Menteş, B., Ersöz, B., 22. baskı, Barış Kitabevi, pp.292-326, 1993.
157. Mccord, J. M., Omar, B. A., Sources of free radicals. *Toxicol Ind Health*. 9 (2): 23-37, 1993.
158. McRae, M. P., The efficacy of vitamin C supplementation on reducing total serum cholesterol in human subjects: a review and analysis of 51 experimental trials. *J Chiropr Med*. 5 (1):2-12, 2006.
159. Meister, A., Anderson, M. E., Glutathione. *Annual Review of Biochemistry*. 52:711-760, 1983.
160. Meister, A., Glutathione Deficiency Produced by Inhibition of Its Synthesis, and Its Reversal; Application in Research and Therapy. *Pharmacol Ther*. 51:155-85, 1991.
161. Meister, A., Glutathione Metabolism and its Selective Modification. *J Biol Chem*. 263:17205-8, 1988.
162. Melhem, M. F., Craven, P. A., Deruberdis, F. R., Effects of Dietary Supplementation of  $\alpha$ -Lipoic Acid on Early Glomerular Injury in Diabetes Mellitus. *J Am Soc Nephrol*. 12:124-133, 2001.
163. Melhem, M. F., Craven, P. A., Liachenko, C., Derubertis, F. R.,  $\alpha$ -Lipoic Acid Attenuates Hyperglycemia and Prevents Glomerular Mesangial Matrix Expansion in Diabetes. *J Am Soc Nephrol*. 13:108-116, 2002.

164. Memisogullari, R., Taysi, S., Bakan, E., Capoglu, I., Antioxidant Status and Lipid Peroxidation in Type II Diabetes Mellitus. *Cell Biochem Func.* 21:291-296, 2003.
165. Memişoğulları, R., Bakan, E., Levels of ceruloplasmin, transferrin, and lipid peroxidation in the serum of patients with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Its Complications.* 18:193-197, 2004.
166. Memişoğulları, R., Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. 3:30-39, 2005.
167. Michael, I. M., Bharti, M., Paul, N. D., Paraoxonase and coronary heart disease. *Atheroscler Suppl.* 3:49-55, 2002.
168. Morooka, H., Hirotsune, N., Wani, T., Ohmoto, T., Histochemical demonstration of free radicals in ischemic brain edema and protective effect of human recombinant superoxide dismutase on ischemic neuronal damage. *Acta Neurochirurgica.* 60:307-9, 1994.
169. Mrowicka, M., Free-radical reactions in diabetes mellitus. *Pol Merkuriusz Lek.* 19 (112):571-576, 2005.
170. Mullarkey, C. J., Edelstein, D., Brownlee, M., Free radical generation by early glycation products: A mechanism for accelerated atherogenesis in diabetes. *Biochem Biophys Res Commun.* 173:932-939, 1990.
171. Nair, S. P., Shah, N. C., Taggarsari, A., Nayak, U., PON1 and its association with oxidative stress in type 1 and type II diabetes. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews.* 5:126-129, 2011.7
172. Navari-Izzo, F., Quartacci, M. F., Sgherri, C., Lipoic acid: a unique antioxidant in the detoxification of activated oxygen species. *Plant Physiol. Biochem.* 40:463-470, 2002.
173. Niki, E., Yoshida, Y., Saito, Y., Noguchi, N., Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 338:668–676, 2005.
174. Nishikimi, M., Fukuyama, R., Minoshima, S., Shimizu, K., Yagi, K., Cloning and chromosomal mapping of the human nonfunctional gene for L-gulonogamma-lactone oxidase, the enzyme for L-ascorbic acid biosynthesis missing in man. *J. Biol. Chem.* 269:13685-13688, 1994.

- 175.** Nishikimi, M., Oxidation of ascorbic acid with superoxide anion generated by the xanthine-xanthine oxidase system. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. Volume 63, Issue 2, Pages 463–468, 17 March 1975.
- 176.** Nukatsuka, M., Yoshimura, Y., Nishida, M., Kawada, J., Allopurinol protects pancreatic beta cells from the cytotoxic effect of streptozotocin: in vitro study. *J Pharmacobiodyn*. 13:259-62, 1990.
- 177.** Owu, D. U., Antai, A. B., Kudofia, H. A., Obembe, O., Obasi, K. O., Eteng, M. U., Vitamin C improves basal metabolic rate and lipid profile in alloxan-induced diabetes mellitus in rats. *Journal of Biosciences*. Volume 31, Issue 5, pp 575-579, December 2006.
- 178.** Özbayer, C., Değirmenci, İ., Kurt, H., Özden, H., Çivi, K., Başaran, A., Güneş, H. V., Antioxidant and free radical-scavenging properties of stevia rebaudiana (Bertoni) extracts and L-NNA in Streptozotocine-Nicotinamide induced diabetic rat liver. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*. 31 (1):51-60, 2011.
- 179.** Özer, Ç., Gönül, B., Diyabetik sıçanlarda askorbik asit uygulamasının karaciğerde oksidan olaylara etkisi. *Gazi Medical Journal*. 17 (4):196-199, 2006.
- 180.** Öztürk, H., Diabetes Mellitus’da Paraoksonaz Aktivitesi ve AOPP düzeyleri. *Tıbbi Biyokimya Uzmanlık Tezi*. İstanbul, 2008.
- 181.** Packer, L., Kraemer, K., Rimbach, G., Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes, complications. *Nutrition*. 17 (10):888-895, 2001.
- 182.** Packer, L., Tritschler, H. J., Wessel, K., Neuroprotection by the metabolic antioxidant  $\alpha$ -lipoic acid. *Free Radical Biology & Medicine*. 22:359-378, 1997.
- 183.** Packer, L., Witt, E. H., Antioxidant properties and clinical applications of a lipoic acid and dihydrolipoic acid. Cadenas, E., Packer, L., (eds.) *Handbook of Antioxidants*. New York, NY: Marcel Dekker, Inc; pp. 545-593, 1996.
- 184.** Packer, L., Witt, E. H., Tritschler, H.J., Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radical Biology and Medicine*. 19 (2):227-250, 1995.
- 185.** Paolisso, G., D'Amore, A., Balbi, V., Volpe, C., Galzerano, D., Giugliano, D., Sgambato, S., Varricchio, M., D'Onofrio, F., Plasma vitamin C affects glucose homeostasis in healthy subjects and in non-insulin-dependent diabetics. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*. 266, E261–E268, 1994.

186. Parsaeyan, N., Mozaffari-Khosravi, H., Mozayan, M. R., Effect of pomegranate juice on paraoxonase enzyme activity in patients with type 2 diabetes. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. 11:11, 2012.
187. Pecoraro, R. E., Chen, M. S., Ascorbic acid metabolism in diabetes mellitus. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 498:248-58, 1987.
188. Percival, M., Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights*. 10:1-4, 1998.
189. Podda, M., Grundmann-Kollmann, M., Low molecular weight antioxidants and their role in skin ageing. *Clinical and Experimental Dermatology*. 26:578-582, 2001.
190. Podda, M., Tritschler, H. J., Ulrich, H., Packer, L.,  $\alpha$ -Lipoic acid supplementation prevents symptoms of vitamin E deficiency. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 204:98-104, 1994.
191. Primo-Parmo, S. L., Sorenson, R. C., Teiber, J., Du, B. N. L., The human serum paraoxonase/aryesterase gene (PON 1) is one member of a multigene family. *Genomics*. 33:498-507, 1996.
192. Ptaffly, J. R., Lipoic Acid: The Antioxidant Chameleon. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 77:222, Spring 2001.
193. Quinn, L., Mechanisms in the development of type 2 diabetes mellitus. *J Cardiovasc Nurs*. 16:1-16, 2002.
194. Qutob, S., Dixon, S. J., Wilson, J. X., Insulin stimulates vitamin C recycling and ascorbate accumulation in osteoblastic cells. *Endocrinology*. 139 (1):51-6, 1998 Jan.
195. Rakieten, N., Rakieten, M. L., Nadkarni, M. V., Studies on the diabetogenic action of streptozotocin (NSC-37917). *Cancer Chemother Rep*. 29:91-8, 1963.
196. Ramakrishna, V., Jaikhan, R., Evaluation of oxidative stress in insulin dependent diabetes mellitus (IDDM) patients. *Diagnostic Paathology*. 2:22, 2007.
197. Rao, B. K., Kesavulu, M. M., Giri, R., Appa Rao, C., Antidiabetic and hypolipidemic effects of *Momordica cymbalaria* Hook. Fruit powder in alloxan-diabetic rats. *J Ethnopharmacol*. 67:103-9, 1999.

198. Reed, D. J., Mechanisms of Chemically Induced Cell Injury and Cellular Protection. (Hodgson, E., Smart, R. C., eds.). Introduction to Biochemical Toxicology. Wiley and Sons Inc. United States of America. 221-253, 2000.
199. Reed, L. J., DeBusk, B. G., Gunsalus, I. C., Hornberger Jr, C. S., Crystalline alpha-lipoic acid: a catalytic agent associated with pyruvate dehydrogenase. *Science*. 114:93-94, 1951.
200. Reed, T. T., Lipid peroxidation and neurodegenerative disease. *Free Radical Biology & Medicine*. 51:1302–1319, 2011.
201. Reilly, P. M., Schiller, H. J., Bulkley, G. B., Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg*. 161(4):488, 1991.
202. Rerup, C. C., Drugs producing diabetes through damage of the insulin secreting cells. *Pharmacol Rev*. 22:485-518, 1970.
203. Retsky, K. L., Frei, B., Vitamin C prevents metal ion-dependent initiation and propagation of lipid peroxidation in human low-density lipoprotein. *Biochim. Biophys. Acta*. 1257:279–287, 1995.
204. Richardson, T. I. L., Ball, L., Rosenfeld, T., Will an orange a day keep the doctor away? *Postgrad. Med. J*. 78:292-294, 2002.
205. Rikans, L. E., Effect of alloxan diabetes on rat liver ascorbic acid. *Horm. Metab. Res*. 13 (2):123, 1981.
206. Roy, S., Parker, L., Redox regulation of cell functions by lipoate. *Biofactors*. 8:17-21, 1998.
207. Roy, S., Sen, C. K., Tritschler, H. J., Packer, L., Modulation of cellular reducing equivalent homeostasis by alpha-lipoic acid. Mechanisms and implications for diabetes and ischemic injury. *Biochem Pharmacol*. 53:393, 1997.
208. Rumsey, C. S., Levine, M., Absorption, transport, and disposition of ascorbic acid in humans. *Nutritional Biochemistry*. 9:116–130, 1998.
209. Sachse, G., Willms, B., Efficacy of thioctic acid in the therapy of peripheral diabetic neuropathy. Gries, F. A., Freund, H. J., Rabe, F., Berger, H., (eds.) Aspects of autonomic neuropathy in diabetes. *Horm. Metab. Res. Suppl*. 9:105–107, 1980.



210. Sahin, K., Onderci, M., Tuzcu, M., Ustundag, B., Cikim, G., Ozercan, I. H., Sriramoju, V., Juturu, V., Komorowski, J. R., Effect of chromium on carbohydrate and lipid metabolism in a rat model of type 2 diabetes mellitus: the fat-fed, streptozotocin-treated rat. *Metabolism*. 56 (9):1233-40, 2007
211. Satoh, S., Toyo'oka, T., Fukushima, T., Inagaki, S., Simultaneous determination of  $\alpha$ -lipoic acid and its reduced form by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography*. 854:109–115, 2007.
212. Savoure, N., Free radicals. *Allergie et Immunologie*. 25 (10):404-7, 1993.
213. Saxena, A. K., Srivastava, P., Kale, R. K., Baquer, N. Z., Impaired antioxidant status in diabetic rat liver. Effect of vanadate. *Biochem Pharmacol*. 45 (3):539-542, 1993.
214. Schnedl, W. J., Ferber, S., Johnson, J. H., Newgard, C. B., STZ transport and cytotoxicity. Specific enhancement in GLUT2-expressing cells. *Diabetes*. 43:1326-33, 1994.
215. Scholich, H., Murphy, M. E., Sies, H., Antioxidant activity of dihydrolipoate against microsomal lipid peroxidation and its dependence on alphatocopherol. *Biochem Biophys Acta*. 1001:256-261, 1989.
216. Sen, C. K., Roy, S., Packer, L.,  $\alpha$ -Lipoic acid: cell regulatory function and potential therapeutic implications. San Diego; Academic Press. 111-119, 1999.
217. Shahidi, S., Komaki, A., Mahmoodi, M., Atrvash, N., Ghodrati, M., Ascorbic acid supplementation could affect passive avoidance learning and memory in rat. *Brain Research Bulletin*. 76 (1-2):109-113, 2008.
218. Sharma, R. K., Agarwal, A., Role of reactive oxygen species in gynecologic diseases. *Reproductive Medicine and Biology*. Volume 3, Issue 4, pages 177–199, December 2004.
219. Shein, P. S., O'Connell, M. J., Blom, J., Hubbard, S., Magrath, I. T., Bergevin, P., Wiernik, P. H., Ziegler, J. L., DeVita, V. T., Clinical antitumor activity and toxicity of streptozotocin (NSC-85998). *Cancer*. 34:993-1000, 1974.
220. Siems, W. G., Van Kuijk, E. J., Maas, R., Uric acid and glutathion levels during short term whole body cold exposure. *Free Rad Biol Med*. 16 (3):299-305, 1994.

221. Sigel, H., Die Hydrophoben und metallionen-koordinierenden Eigenschaften von A-liposäure: ein Beispiel für intramolekulare Gleichgewichte in metallionen-komplexen. *Angew. Chem.* 94:421-432, 1982.
222. Sindhu, R. K., Koo, J. R., Roberts, C. K., Vaziri, N. D., Dysregulation of hepatic SOD, CAT and GPx in diabetes: Response to insulin and antioxidant therapy. *Clinical Experimental Hypertension.* 26:43-53, 2004.
223. Siow, R. C., Ishii, T., Mann, G. E., Modulation of antioxidant gene expression by 4-hydroxynonenal: atheroprotective role of the Nrf2/ARE transcription pathway. *Redox Rep.* 12:11–15, 2007.
224. Smina, T. P., Mathew, J., Janardhanan, K. K., Devasagayam, T. P., Antioxidant Activity and Toxicity Profile of Total Triterpenes Isolated From *Ganoderma lucidum* (Fr.) P. Karst Occurring in South India. *Environ Toxicol Pharmacol.* 32 (3):438-46, 2011.
225. Smirno, N., Conklin, P. L., Loewus, F. A., *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52:437-467, 2001.
226. Smith, S., Lall, A. M., A Study on Lipid Profile Levels of Diabetics and Non-Diabetics Among Naini Region of Allahabad, India. *Turkish Journal of Biochemistry–Turk J Biochem.* 33 (4):138–141, 2008.
227. Snell, E. E., Strong, F. M., Peterson, W. H., Growth factors for bacteria. *Biochem J.* 31:1789-1799, 1937.
228. Sorenson, R. C., Primo-Parmo, S. L., Kuo, C. L., Adkins, S., Lockridge, O., La Du, B. N., Reconsideration of the catalytic center and mechanism of mammalian paraoxonase/arylesterase. *Proc Natl Acad Sci USA.* 92:7187-7191, 1995.
229. Sozmen, E. Y., Sozmen, B., Delen, Y., Onat, T., Catalase/superoxide dismutase (SOD) and catalase/paraoxonase (PON) ratios may implicate poor glycemic control. *Arch Med Res.* 32:283-287, 2001.
230. Sperling, M. A., Diabetes Mellitus. In: Sperling, M. A., (eds.) *Pediatric Endocrinology.* 2nd edition. Pennsylvania (USA): Saunders Elsevier Science. p. 323-66, 2002.
231. Stein, O., Stein, Y., Atheroprotective mechanism of HDL. *Atherosclerosis.* 144:285-301, 1999.

232. Steinberg, D., Role of oxidized LDL and antioxidants in atherosclerosis. *Adv. Exp. Med. Biol.* 369:39–48, 1995.
233. Steiner, G.. Risk factors for macrovascular disease in type 2 diabetes. *Improving Prognosis in Type 1 Diabetes Proceedings from an Official Satellite Symposium of the 16th International Diabetes Federation Congress. Diabetes Care.* 22: Supplement 3, 1999.
234. Strodter, D., Lehmann, E., Lehmann, U., Tritschler, H. J., Bretzel, R. G., Federlin, K., The influence of triotic acid on metabolism of function of diabetic heart. *Diabetes Res Clin pract.* 29 (1):19-26, 1995.
235. Subramaniam, R., Roediger, F., Jordan, B., Mattson, M. P., Keller, J. N., Waeg, G., Butterfield, D. A., The lipid peroxidation product, 4-hydroxy-2-trans-nonenal, alters the conformation of cortical synaptosomal membrane proteins. *J. Neurochem.* 69:1161–1169, 1997.
236. Suchocka, Z., Swatowska, J., Pachecka, J., Suchocka, P., RP-HPLC determination of Paraoxonase activity in human blood serum. *J of pharmaceutical and biomedical analysis.* 42:113-119, 2006.
237. Suh, J. H., Shigeno, E. T., Morrow, J. D., Cox, B., Rocha, A. E., Frei, B., Hagen, T. M., Oxidative stress in the aging rat heart is reversed by dietary supplementation with (R)- $\alpha$ -lipoic acid. *The FASEB Journal.* 15:700-706, March 2001.
238. Szkudelski, T., The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Physiol. Res.* 50:536-546, 2001.
239. Tabur, S., Torun, A. N., Sabuncu, T., Turan, M. N., Celik, H., Ocak, A. R., Aksoy, N., Non-diabetic metabolic syndrome and obesity do not affect serum paraoxonase and arylesterase activities but do affect oxidative stress and inflammation. *European Journal of Endocrinology.* 162:535–541, 2010.
240. Tamer, İ, Dabak, R., Tamer, G., Orbay, E., Sargın, M., Güncel kılavuzlar ışığında hiperlipidemi. *Aile Hekimliği Dergisi.* cilt 2, sayı 3, sayfa 6-10, 2008.
241. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group., Clustering of long-term complications in families with diabetes in the diabetes control and complications trial. *Diabetes.* 46:1829-39, 1997.

242. Timimi, F. K., Ting, H. H., Haley, E. A., Roddy, M., Ganz, P., Creager, M. A., Vitamin C Improves Endothelium-Dependent Vasodilation in Patients With Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *JACC*. 31 (3):552–7, March 1, 1998.
243. Turk, Z., Glycations and complications of diabetes. *Diabetol Croat*. 30:49-54, 2001.
244. Uriel, A., Characterisation des cholinesterases et d'autres esterases carboxylique apres electrophorese et immunoelectrophorese en gelose, applications a l'etude des esterases du serum humain normal. *Am Insit Pasteur*. 101-104, 1961.
245. Van Haaften, R. I., Evelo, C. T., Penders, J., Eijnwachter, M. P., Haenen, G. R., Bast, A., Inhibition of human glutathione S-transferase P1-1 by tocopherols and alpha-tocopherol derivatives. *Biochim Biophys Acta*. 1548:23-28, 2001.
246. Vardı, N., Iraz, M., Öztürk, F., Gül, M., Uçar, M., Çetin, A., Nağacı, N., Otlu, A., Deneysel Diyabetin Sıçan Karaciğerinde Meydana Getirdiği Histolojik Değişiklikler Üzerine Melatoninin İyileştirici Etkileri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*. Cilt: 27, Sayı:5, 2007.
247. Varvarovská, J., Racek, J., Stetina, R., Sýkora, J., Pomahacová, R., Rusavý, Z., Lacigová, S., Trefil, L., Siala, K., Stozický, F., Aspects of oxidative stress in children with type 1 diabetes mellitus. *Biomed Pharmacother*. 58(10):539-45, 2004.
248. Vasudevan, D M., Sree Kumari, S., Textbook of Biochemistry; section B: General metabolism. 4th edi. Medical publishers. 106-110, 2005.
249. Vessby, J., Basu, S., Mohsen, R., Berne, C., Vessby, B., Oxidative stress and antioxidant status in type 1 diabetes mellitus. *Journal of International Medicine*. 251 (1):69-76, 2002.
250. Vincent, A. M., Russell, J. W., Low, P., Feldman, E. L., Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocrine Reviews*. 25:612-628, 2004.
251. Vincent, T. E., Mendiratta, S, May, J. M., Inhibition of aldose reductase in human erythrocytes by vitamin C. *Diabetes Res Clin Pract*. 43:1-8, 1999.
252. Wang, Z., Gleichmann, H., GLUT2 in pancreatic islets: crucial target molecule in diabetes induced with multiple low doses of streptozotocin in mice. *Diabetes*. 47:50-6, 1998.

253. Welch, R. W., Bergsten, P., Butler, J. D., Levine, M., Ascorbic acid accumulation and transport in human fibroblasts. *Biochem. J.* 294:505–510, 1993.
254. West, E., Simon, O. R., Morrison, E. Y., Streptozotocin alters pancreatic beta-cell responsiveness to glucose within six hours of injection into rats. *West Indian Med J.* 45:60-62, 1996.
255. West, I., Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabet Med.* 17:171-180, 2000.
256. White, F. R., Streptozotocin. *Cancer Chemother Rep.* 30:49-53, 1963.
257. Will, J. C., Byers, T., Does diabetes mellitus increase the requirement for vitamin C? *Nutr Rev.* 54:193–202, 1996.
258. Wilson, J. X., The physiological role of dehydroascorbic acid. *FEBS Letters.* 527:5-9, 2002.
259. Woodside, W. F., Heimberg, M., The metabolism of oleic acid by the perfused rat liver in experimental diabetes induced by anti-insulin serum. *Metabolism.* 27:1763-77, 1978.
260. World Health Organization Diabetes Programme., <http://www.who.int/diabetes/en/>
261. Yamamoto, H., Uchigata, Y., Okamoto, H., Streptozotocin and alloxan induce DNA strand breaks and poly (ADP-ribose) synthetase in pancreatic islets. *Nature.* 294:284-6, 1981.
262. Yardım-Akaydın, S., Sepici, A., Özkan, Y., Şimşek, B., Sepici, V., Evaluation of Allantoin Levels as a New Marker of Oxidative Stress in Behçet's Disease. *Scandinavian Journal of Rheumatology.* 35:(1), 61-64, 2006.
263. Yaworsky, K., Somwar, R., Ramlal, T., Tritschler, H. J., Klip, A., Engagement of the insulin-sensitive pathway in the stimulation of glucose transport by alpha-lipoic acid in 3T3-L1 adipocytes. *Diabetologia.* 43:294, 2000.
264. Yew, M. S., Effect of streptozotocin diabetes on tissue ascorbic acid and dehydroascorbic acid. *Horm. Metab. Res.* 15:158, 1983.
265. Yoshikawa, T., Toyokuni, S., Yamamoto, Y., Naito, Y., Free Radicals in Chemistry Biology and Medicine. OICA International. London, 2000.

266. Young, I. S., Woodside, J. V., Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol.* 54:176-186, 2001.
267. Ziegler, D., Hanefeld, M., Runau, K. J., Hasche, H., Lobisc, M., Schutte, K., Kerum, G., Malessa, R., Threatment of symptomatic diabetic polyneuropathy with the antioxidant alpha-lipoic acid: a 7-month multicentre randomized controlled trial (ALADIN III study), ALADIN III Study Group, Alpha-Lipoic Acid in Diabetic Neuropathy. *Diabetes Care.* 22:1296-1301, 1999.
268. Ziegler, D., Hanefeld, M., Runau, K. J., Meissner, H. P., Lobisc, M., Schutte, K., Gries, F. A., Threatment of symptomatic diabetic peripheral neuropathy with the antioxidant alpha-lipoic acid, A 3-week multicentre randomized controlled trial (ALADIN study). *Diabetologia.* 38:1425-1433, 1995.
269. Zimmet, P., Alberti, K. G., Shaw, J., Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature.* 414 (6865):782-7, 2001.
270. Zimmet, P., Lefebvre, P., The global NIDDM epidemic. Treating the disease and ignoring the symptom [editorial]. *Diabetologia.* 39:1247-1248, 1996.
271. Zulkhari, A., Zaiton, Z., Jamaluddin, M., Sharida, F., Mohd, T. H. B., Hasnah, B., Nazmi, H. M., Khairul, O. O., Zanariyah, A., Alpha lipoic acid poses dual antioxidant and lipid lowering properties in atherosclerotic-induced New Zealand White rabbit. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 62:716-722, 2008.

## **ÖZGEÇMİŞ**

1983 yılında Trabzon İli Vakfıkebir İlçesi'nde doğdu. İlk ve orta öğrenimini Trabzon İli Çarşıbaşı İlçesi'nde tamamladı. Lisans öğrenimini 2004 yılında Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde tamamlayarak aynı yıl Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Hidrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başladı. Yüksek lisans öğrenimini 2007 yılında tamamlayarak takip eden dönemde Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda doktora öğrenimine başladı. Halen aynı anabilim dalında doktora öğrenimine devam etmektedir.