



---

**DENEYSEL OLARAK DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA  
VİTAMİNLERİN OKSİDASYONA ETKİSİ**

**H. Eren BOSTANCI**

**Eylül 2014**

**DENİZLİ**

**DENEYSEL OLARAK DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA  
VİTAMİNLERİN OKSİDASYONA ETKİSİ**

**Pamukkale Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Yüksek Lisans Tezi  
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı**

**H. Eren BOSTANCI**

**Danışman: Prof. Dr. S. Simin ROTA**

**Eylül, 2014**

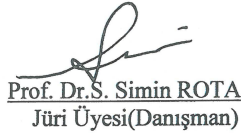
**DENİZLİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAY FORMU**

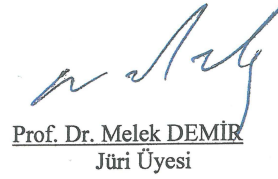
Hayrani Eren BOSTANCI tarafından, Prof. Dr. S. Simin ROTA yönetiminde hazırlanan "Deneysel Olarak Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda Vitaminlerin Oksidasyona Etkisi" başlıklı tez tarafımızdan okunmuş kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Hülya AYBEK  
Jüri Başkanı



Prof. Dr. S. Simin ROTA  
Jüri Üyesi (Danışman)



Prof. Dr. Melek DEMİR  
Jüri Üyesi

Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 30.12.15 tarih ve 16/21-3 sayılı kararıyla onaylanmıştır.



**Prof. Dr. Z. Melek BOR KÜÇÜKATAY**  
Müdür

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, çalışmalarımın yönlendirilmesinde ve devam etmesinde her türlü desteğini benden esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. S. Simin ROTA'ya en içten saygı ve teşekkürlerimi arz ederim. Ayrıca Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya A.D.'da eğitim veren ve üzerimde emeği bulunan her hocama teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında benden desteğini ve bilgi birikimini hiçbir zaman esirgemeyen Ayşen Kardeşler'e ve Semih Tan'a, yüksek lisans eğitimim boyunca manevi desteklerini esirgemeyen aileme ve çalışmamın değişik aşamalarında bana yardımcı olan herkese sonsuz teşekkür ederim.

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırılmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

İmza :

Öğrenci Adı Soyadı : H. Eren BOSTANCI

## ÖZET

### DENEYSEL OLARAK DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA VİTAMİNLERİN OKSİDASYONA ETKİSİ

Bostancı, H. Eren

Yüksek Lisans Tezi, Tıbbi Biyokimya ABD

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. S. Simin ROTA

Eylül 2014, 53 Sayfa

Bu çalışmada, streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulmuş (STZ-diyabet) sıçanlarda vitamin E ve C'nin böbrek dokularında lipid peroksidasyonu ve antioksidan sisteme ait bazı enzim aktiviteleri araştırılmıştır. Erkek wistar albino cinsi sıçanlar her grupta 8 adet olmak üzere beş gruba ayrılmıştır. Gruplar diyabetik olmayan kontrol grubu (K), diyabetik grup (D), diyabetik + E vitamini grubu (E), diyabetik + C vitamini grubu (C), diyabetik + E vitamini + C vitamini grubu (EC) olarak ayrılmıştır. Deneysel diyabet 55mg/kg streptozotosinin intraperitoneal (i.p.) olarak enjeksiyonu ile oluşturulmuştur. Diyabet oluşturulduktan sonra dört hafta boyunca, her gün i.p yolla 268 mg/kg E vitamini, gavaj yolu ile 250 mg/kg C vitamini verilmiştir. Böbrek doku homojenatlarında lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak malondialdehit (MDA) değerleri ölçülmüş, antioksidan enzimlerden ise süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktiviteleri ölçülmüştür.

Yapılan çalışma sonucu D grubunun MDA değerleri K ( $p=0,004$ ), E ( $p=0,008$ ), C ( $p=0,032$ ) ve EC ( $p=0,008$ ) gruplarının MDA değerlerinden anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. CAT enzimi düzeyleri ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir ( $p>0,05$ ). SOD enzimi düzeyleri ise D grubunda K grubuna göre artmış ( $p=0,004$ ), EC grubunda C grubuna ( $p=0,032$ ) ve D grubuna göre ( $p=0,008$ ) anlamlı derecede düşük bulunmuştur. GSH-Px enzim düzeyleri, D grubunda ( $p=0,004$ ) ve C grubunda ( $p=0,017$ ) K grubuna göre belirgin bir artış olmuştur. E ( $p=0,008$ ), C ( $p=0,008$ ), EC ( $p=0,008$ ) gruplarının GSH-Px düzeyleri ise D grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük, EC ve C grubu karşılaştırıldığında ise EC grubu anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p=0,008$ ).

Sonuç olarak bu çalışmada E ve C vitaminlerinin diyabetik sıçanlarda artmış olan lipid peroksidasyonunu azalttığı ve buna bağlı olarak da artmış olan SOD, GSH-Px düzeylerinin düşmesine neden olduğu gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Diabetes Mellitus, Vitamin C, Vitamin E, Süperoksit Dismutaz, Malondialdehit, Glutatyon peroksidaz, Katalaz, Streptozotosin

## ABSTRACT

### EFFECTS OF VITAMINS TO THE OXIDATION OF THE RATS ESTABLISHED EXPERIMENTAL DIABETES

Bostancı, H. Eren

M. Sc. Thesis in Med. Biochemistry

Supervisor: Prof. Dr. S. Simin ROTA

September 2014, 53 Pages

In this study, the effects of vitamin C and vitamin E on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in kidney tissue of streptozotocin-induced diabetic rats were investigated. Male wistar rats, were grouped into five each consisting 8 rats as (non-diabetic control (K), diabetic (D), diabetic Vitamin E (E), diabetic Vitamin C (C), and diabetic Vitamin E and C (EC)). Diabetes mellitus was induced in rats by intraperitoneal injection of 55mg/kg STZ. After the injection, i.p. 268mg/kg. vitamin E, 250 mg/kg vitamin C by gavage were administrated for four weeks. As an indicator of lipid peroxidation malondialdehyde (MDA) levels, antioxidant enzymes as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and and glutathione peroxides (GSH-PX) activities were measured in kidney tissue homogenates.

In the study, MDA level of group D was significantly higher than groups K ( $p=0,004$ ), E ( $p=0,008$ ), C ( $p=0,032$ ) and EC ( $p=0,008$ ). Statistically significant difference was not observed in CAT levels among the groups ( $p>0,05$ ). SOD enzyme levels in group D was higher compared to group K ( $p=0,004$ ), and lower in group EC compared to groups C ( $p=0,032$ ), and D ( $p=0,008$ ). GSH-Px enzyme levels in group D ( $p=0,004$ ) and group C ( $p=0,017$ ) were significantly higher compared to group K. Group D GSH-Px levels were significantly lower whwn compared to group E ( $p=0,008$ ), C ( $p=0,008$ ) and EC ( $p=0,008$ ), GSH-Px levels of EC group was lower ( $p=0,008$ ) compared to goup C.

As a result, in this study it was demonstrated that vitamin C and vitamin E have positive effect on lipid peoxidation and as a result decreased the highr levels of MDA, SOD, GSH-Px levels of diabetic rat kidney tissues.

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
Onay Formu.....	i
Teşekkür.....	ii
Etik Sayfası.....	iii
Özet.....	iv
Abstract.....	v
İçindekiler.....	vi
Şekiller Dizini.....	viii
Tablolar Dizini.....	ix
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	1
2.1. Diabetes Mellitus.....	1
2.2. Tanı ve Sınıflama.....	2
2.3. Tip 1 Diabetes Mellitus.....	3
2.4. Tip 2 Diabetes Mellitus.....	3
2.5. Deneysel diyabet ve streptozotosin.....	4
2.6. Serbest Radikaller.....	5
2.7. Süperoksit radikali.....	7
2.8. Hidrojen peroksit radikali.....	8
2.9. Hidroksil radikali.....	8
2.10. Diğer radikaller.....	9
2.11. Serbest radikal oluşturan başlıca mekanizmalar.....	9
2.11.1. Otoksidasyon.....	9
2.11.2. Geçiş metal iyonlarının etkisi.....	11
2.11.3. Fotooksidasyon.....	12
2.11.4. Enzimatik oksidasyonlar.....	12



2.11.5. Halojenlenmiş hidrokarbonlar.....	14
2.12. Oksidatif Stres.....	14
2.13. Antioksidanlar.....	17
2.13.1. Antioksidanların tanımı.....	17
2.13.2. Antioksidanların sınıflandırılması.....	17
2.14. E Vitamini.....	19
2.15. C vitamini.....	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	23
3.1. Gereç.....	23
3.2. Yöntem.....	24
4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	34
5.BULGULAR.....	35
6.TARTIŞMA.....	38
7.SONUÇ.....	45
KAYNAKLAR.....	47

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Şekil 2.1. Streptozotosin'in kimyasal yapısı.....	4
Şekil 2.2. Guanin'in hidroksil radikali ile reaksiyonu.....	5
Şekil 2.3. $\beta$ hücrelerinde gerçekleşen STZ metabolizması .....	5
Şekil 2.3. Malondialdehit oluşum mekanizması.....	10
Şekil 2.4. Nükleotid defosforilasyonu ve ksantin oluşumu.....	13
Şekil 2.5. Hipoksantinden ürik asit oluşumu.....	13
Şekil 2.6. Serbest radikallerin oluşumu ve enzimatik detoksifikasyonu.....	14
Şekil 2.7. Reaktif oksijen ürünleri ve detoksifikasyon yolları.....	15
Şekil 2.8. E vitamini kimyasal yapısı .....	19
Şekil 2.9. C vitamini ile E vitamininin indirgenmesi.....	20
Şekil 3.1. NMPI'nın MDA ile reaksiyonu.....	25
Şekil 3.2. MDA Standartlarının absorbands değerlerinin konsantrasyonlarına karşı grafiği.....	27
Şekil 3.3. Tetrazolyum tuzun oluşumu.....	28
Şekil 3.4. SOD Standartlarının absorbands değerlerinin konsantrasyonlarına karşı grafiği.....	29
Şekil 3.5. CAT Standartlarının absorbands değerlerinin konsantrasyonlarına karşı grafiği.....	32
Şekil 5.1. MDA ve SOD değerleri arasındaki istatistiksel ilişki.....	37

**TABLolar DİZİNİ**

	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 2.1.</b> Diyabetes mellitus tanı kriterleri .....	3
<b>Tablo 2.2.</b> Biyolojik önemi olan reaktif ürün örnekleri.....	9
<b>Tablo 2.3.</b> Serbest radikal kaynakları ve antioksidan moleküller.....	16
<b>Tablo 2.4.</b> Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar.....	17
<b>Tablo 3.1.</b> MDA çalışma tablosu.....	26
<b>Tablo 3.2.</b> SOD çalışma tablosu.....	28
<b>Tablo 3.3.</b> CAT çalışma tablosu.....	30
<b>Tablo 3.4.</b> GSH-Px çalışma tablosu.....	33
<b>Tablo 5.1.</b> Her deneğin CAT, SOD, GSH-Px, MDA değerleri.....	35
<b>Tablo 5.2.</b> Ortalama CAT, SOD, GSH-Px, MDA değerleri ve standart sapmaları.....	36

## 1. GİRİŞ

Diabetes Mellitus (DM) toplumumuzda çok sık görülen, kalıtsal ve çevresel etkenlerin birleşimi ile oluşan ve kan glukoz düzeyinin yükselmesi ile sonuçlanan metabolik bir bozukluktur. Oluşan metabolik bozukluk uzun vadede birçok rahatsızlığa sebep olmaktadır. Hipertansiyon, nefropati (böbrek yetmezliği), retinopati (görme bozukluğu), periferik nöropati (sinir bozukluğu) bunlardan yalnızca birkaçıdır (Kök 2011).

Diabetes mellitus, kan glukoz düzeyinin yükselmesi ile insülin sekresyonunun bozulması sonucu gelişmektedir. İnsülin sekresyonunda ki bozulmalar serbest radikal düzeyinin bütün vücutta artmasına sebep olmakta ve bu durumda dokulara zarar vermektedir. Oluşan serbest radikalleri ortamdaki uzaklaştırmak için vücut süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi antioksidan enzimler sentezler. Sentezlenen bu enzimler, radikallerin indirgenmesini sağlayarak dokularla etkileşime girmesini engeller ve ortamdaki uzaklaştırır. Ancak diabetes mellitus durumunda sentezlenen enzimler yeterli olamamakta ve dokular hasar görmektedir (Dönder 2012, Kök 2011, Tekkes 2006).

Enzimlerin radikalleri uzaklaştırmada yetersiz olduğu durumlarda antioksidan sisteme katkısı olduğu düşünülen vitamin E, vitamin C, likopen, benfotiamin gibi yapılar vücuda alınarak destek verilir. Bu yapıların antioksidan enzimlere katkıda bulunarak aktivasyon seviyelerine iyileştirici etkileri oldukları belirtilmiştir (Dönder 2012, Kök 2011, Tekkes 2006).

Bu amaçla 40 adet wistar albino cinsi sıçan 5 gruba ayrılmış ve gruplardan dördüne STZ verilerek diyabet oluşturulmuştur. Diyabet oluşturulan sıçanlara 30 gün boyunca vitamin E ve vitamin C verilmiş, ardından böbrek dokularındaki antioksidan enzim düzeyleri (SOD, CAT, GSH-Px) ve oksidatif stres göstergesi olan malondialdehit (MDA) düzeyi ölçülmüştür.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus tüm dünyada hızla yayılan, yüksek mortalite ve morbidite riski taşıyan bir hastalıktır (Altan vd 2006). 1921 yılında insülinin bulunması ile diyabetin tüm tiplerinde tedaviye yaklaşım değişmiş ancak kesin bir tedavisi bulunamamıştır. Kalıtsal olarak aktarıldığı bilinen diyabetin şişmanlarda ve ileri yaşlı insanlarda diğerlerine göre daha sık görüldüğü belirlenmiştir (Ahima 2009, Bağrıaçık 1997, Petrofsky 2008).

Diabetes mellitus, insülin eksikliği ile organizmanın protein, yağ ve karbonhidrattan yararlanamadığı ve sonuçta çeşitli sistemleri etkileyen kronik bir hastalıktır. Kanda bulunan glukozun dokular tarafından kullanılamaması sonucu serum glukoz düzeyinin artmasına hiperglisemi denir. Diabetes mellitus, insülin salınımı veya işlevindeki bozukluk nedeni ile oluşan hiperglisemi sonucunda gelişir. Hiperglisemi sonucu gelişen oksidatif stres, prooksidan ve antioksidanlar arasındaki dengenin bozularak prooksidan yönünde kayması ile oluşur. İnsülin salınımındaki yetersizlik sebebi ile ileri dönemde oluşan kronik anjiyopati, kardiyomyopati, nöropati ve retinopati gibi komplikasyonlar hastalığın önemini artırmaktadır (Kök 2011, Özkorkmaz 2008).

### 2.2. Tanı ve Sınıflama

Son 17 yılda diyabet tanı ve sınıflamasında değişiklikler yapılmıştır. Amerikan diyabet Birliği (ADA), 1997 yılında diyabet tanı ve sınıflama kriterlerini yayınlamıştır. Ardından 1999 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) küçük değişikliklerle bu kriterleri kabul etmiştir (Başkal 2003).

Diabetes mellitus ve glukoz metabolizmasının diğer bozuklukları için 2003 ve 2010 yılı revizyonlarını da kapsayan yeni tanı kriterleri Tablo-1.1'de görülmektedir (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği 2013).

**Tablo 2.1.** Diyabetes mellitus tanı kriterleri (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği 2013)

	Aşık DM	İzole IFG <sup>(**)</sup>	İzole IGT	IFG + IGT	DM Riski Yüksek
<b>APG</b> (≥8 st açlıkta)	≥126 mg/dl	100-125 mg/dl	<100 mg/dl	100-125 mg/dl	-
<b>OGTT 2.stPG</b> (75 g glukoz)	≥200 mg/dl	<140 mg/dl	140-199 mg/dl	140-199 mg/dl	-
<b>Rastgele PG</b>	≥200 mg/dl + Diyabet semptomları	-	-	-	-
<b>A1C<sup>(***)</sup></b>	≥%6.5 (≥48 mmol/mol)	-	-	-	%5.7-6.4 (39-46 mmol/mol)

<sup>(\*)</sup>Glisemi venöz plazmada glukoz oksidaz yöntemi ile "mg/dl" olarak ölçülür. "Aşık DM" tanısı için dört tanı kriterinden herhangi birisi yeterli iken "İzole IFG", "İzole IGT" ve "IFG + IGT" için her iki kriterin bulunması şarttır. <sup>(\*\*)</sup>2006 yılı WHO/IDF Raporunda normal APG kesim noktasının 110 mg/dl ve IFG 110-125 mg/dl olarak korunması benimsenmiştir. <sup>(\*\*\*)</sup>Standardize metotlarla ölçülmelidir.

DM: Diabetes mellitus, APG: Açlık plazma glukozu, 2.st PG: 2. saat plazma glukozu, OGTT: Oral glukoz tolerans testi, A1C: Glukozillenmiş hemoglobin A<sub>1c</sub>, IFG: Bozulmuş açlık glukozu (impaired fasting glucose), IGT: Bozulmuş glukoz toleransı (impaired glucose tolerance), WHO: Dünya Sağlık Örgütü, IDF: Uluslararası Diyabet Federasyonu.

Diyabetes mellitus sınıflandırmasında dört klinik tip yer almaktadır. Bunların üçü primer iken (tip 1, tip 2, Gestasyonel diyabet (GDM)), diğeri sekonder diyabet (spesifik diyabet tipleri) olarak bilinmektedir (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği 2013).

### 2.3. Tip 1 Diabetes Mellitus

Her yaşta görülebilen Tip 1 diyabet, çocuk ve gençlerde daha sık görülmektedir. Diyabet hastalarının % 5-10'luk kısmını oluşturan Tip 1 diyabet pankreasta bulunan  $\beta$  hücrelerinin harabiyeti ile oluşur ve insüline bağımlıdır. Hiperglisemik bulgular aniden ortaya çıkar, ağız kuruluğu, açlık hissi, kilo kaybı ve yorgunluk gibi semptomlar görülür.

Kan şekerinin evde düzenli şekilde ölçülerek düzgün beslenme, fiziksel aktivite ve insülin ile hastalığın etkileri giderilmeye çalışılır (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği 2013).

### 2.4. Tip 2 Diabetes Mellitus

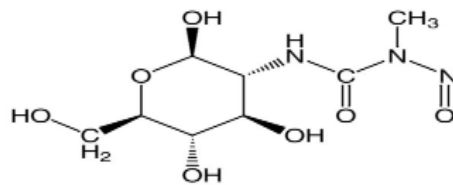
Organizmanın ürettiği insülinin, hücre reseptörlerince algılanamayıp hücre içerisine alınamadığı durumda hücre içerisinde absorbe edilen glukoz enerji olarak kullanılamaz, bu da tip 2 diyabete sebep olur. Bu diyabet türünde periferik dokularda (özellikle kas ve yağ dokusunda) insülinin etkisi yetersizdir ve glukoz tutulumu azdır (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği 2013).

Tip 2 diyabet genellikle 30 yaş sonrasında ve obez insanlarda görülür. Obezite nedeni ile daha erken yaşlarda da ortaya çıkabilir. Genetik yatkınlıkla nesilden nesile geçme ihtimali yüksektir. Genetik yoğunluk arttıkça sonraki nesillerde diyabet riski artar ve hastalık daha erken yaşlarda görülmeye başlar. Başlangıçta semptomları yoktur bu yüzden belirli aralıklarla kontrol yaptırılmalıdır (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği 2013).

Diyet ve kilo kontrolü, hastalık konusunda eğitim, fiziksel aktivite, oral antidiyabetik ilaçlar ile hastalık kontrol altına alınabilir (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği 2013).

## 2.5. Deneysel diyabet ve Streptozotosin

Beta hücre kümesinin kimyasal ajanlar ile tahribatı sonucu deneysel diyabet oluşturmak mümkündür. Streptozotosin (STZ) ve alloksan deneysel diyabet oluşturmada en çok kullanılan ajanlardır (West 2000). Beta hücre kümesini seçici olarak tahrip eden bu ajanlardan STZ, alloksana oranla  $\beta$  hücre kümesi için daha spesifik olduğundan genellikle deneysel diyabet oluşturmada tercih edilir (Şekil 2.1). Ajanlar vücuda girdiğinde oksidatif değişikliklerden çabuk etkilenen  $\beta$  hücre kümelerinde toplanarak bu hücrelerde oksidatif stresten kaynaklı yıkıma sebep olurlar (Kök 2011, Peschke 2000). Beta hücreleri düşük antioksidan kapasiteye sahip oldukları için çevresindeki oksidatif değişikliklerden etkilenirler (Peschke 2000).

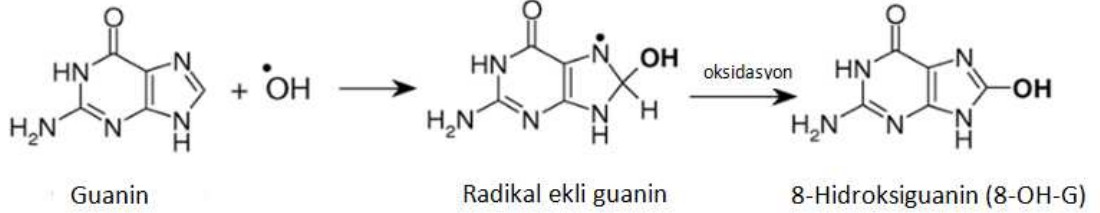


Şekil 2.1. Streptozotosin'in kimyasal yapısı

Bir bakteri türü olan *Streptomyces achromogenes* tarafından sentezlenen streptozotosin, intravenöz ya da intraperitoneal yollarla verilebilmekte ve 40-60 mg/kg aralığında verilecek tek doz deneysel diyabet oluşturmak için yeterlidir (Kök 2011, Szkudelski 2001).

STZ metabolizması sırasında metil katyon ve metil radikaller gibi alkilenmiş ajanlar ve reaktif oksijen türleri (ROS) gibi değişik toksik araçlar üretilmektedir.

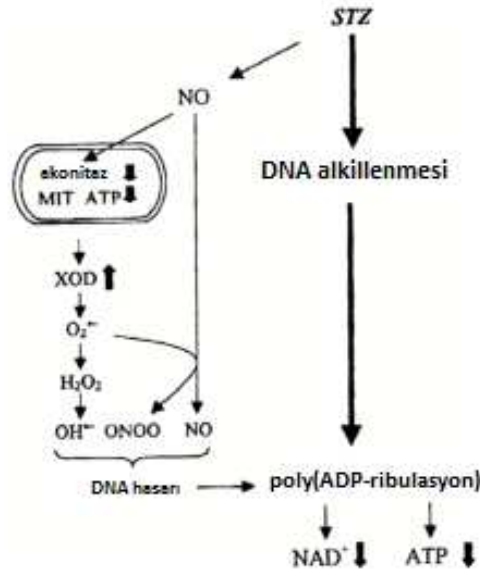
Hidroksil radikali bu reaktiflerden en zararlısı olanıdır ve DNA'nın bütün yapıları ile reaksiyona girebilme özelliğine sahiptir. Bu radikaller pürin ve pirimidin bazlarının yanı sıra deoksiriboz çatı yapısında da hasar oluşturabilmektedir (Valko 2006).



Şekil 2.2. Guanin'in hidroksil radikali ile reaksiyonu

## 2.6. Serbest radikaller

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) ve nitrik oksidin (NO) oluşumunu tetikleyen STZ, pankreatik adaların tahribatına sebep olur. İlk anda beta hücrelerinin glukoza olan tepkisi ortadan kalkar, ardından geçici olarak tepki verir duruma gelen pankreas hücreleri sonrasında kalıcı olarak hasara uğrar. GLUT-2 glukoz taşıyıcısı ile  $\beta$  hücre kümelerine giriş yapan STZ, DNA'nın alkilenmesine sebep olur. STZ'nin alkilleme aktivitesi, özellikle guaninin O<sup>6</sup> pozisyonunda, nitrozürü parçası ile ilişkilendirilmiştir. Poli ADP-ribolizasyona sebep olan bu alkilenme, hücresel düzeyde ATP'nin tükenmesine neden olur. Artan ATP defosforilasyonu ksantin oksidaz için substrat sağlar ve bu da süperoksit radikallerinin oluşumuna sebep olur (Kök 2011, Szkudelski 2001).



Şekil 2.3.  $\beta$  hücrelerinde gerçekleşen STZ metabolizması (MIT : mitokondri, XOD : ksantin oksidaz) (Szkudelski 2001)

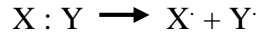


Kimyasal bağlar, farklı atomlar içeren ve aynı yörüngeyi paylaşarak zıt yönde dönen çift elektronlardan oluşmuş yapılardır. Dış yörüngesinde eşleşmemiş elektronu bulunan molekül veya iyonlara “serbest radikal” adı verilir. Fizyolojik veya patolojik reaksiyonlar sırasında oluşabilen serbest radikallerde eşleşmemiş olan bu elektronlar genelde reaktiftir ve dış yörüngelerindeki elektronu eşleştirebilmek için diğer moleküllerle etkileşerek reaksiyona girer ve kararlı bir yapı oluşturmaya çalışır. Organizmada çeşitli reaksiyonlarla oksijen ve nitrojen kaynaklı oluşabilen bu radikallerden oksijen kaynaklı reaktif ürünlerin (ROS) metabolizmaya önemli ölçüde olumsuz etkisi vardır (Cheeseman ve Slater 1993, Derviş 2011).

Hava kirliliği, sigara, ilaç, yaşlanma, ağır egzersiz, radyasyona maruziyet gibi durumlarda organizmadaki üretimi artan ROS normal koşullarda metabolizmada yaklaşık %1 oranında bulunur.

Serbest radikaller üç yolla meydana gelirler (Cheeseman ve Slater 1993);

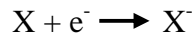
- 1- Kovalent bağlı bir molekülün ayrışması ile bağı oluşturan elektronların her birinin bir atomda kalarak ayrışması ile;



- 2- Kovalent bağlı bir molekülün ayrışması ile bağı oluşturan elektronların tümünün bir atomda kalarak ayrışması ile;



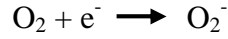
- 3- Moleküle bir iyon transferiyle;



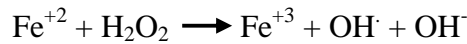
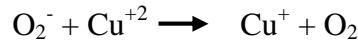
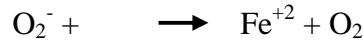
Biyolojik sistemlerde oluşan serbest radikaller elektron transferi sonucu meydana gelirler. Oluşan serbest radikaller organik veya inorganik yapıda olabilmekte beraber elektrik yükleri (+) veya (-) olabilir. Biyolojik dokularla etkileşen radikaller elektronlarını bu yapılara aktararak veya alarak dokularında yapısını bozmakta ve zincirleme bir bozulma reaksiyonu başlatmaktadırlar.

## 2.7. Süperoksit radikali

Oksijenin bir elektron alarak redükte olması sonucu oluşan süperoksit radikali organizmada en çok üretilen radikaldir. Fizyolojik olarak üretilenle beraber fagositler tarafından mikroorganizmaları öldürmek amaçlı da üretilirler (Kuyvenhoven ve Meinders 1999).

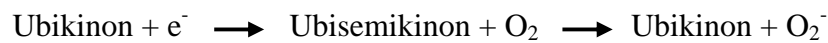


Süperoksit radikali doğada genellikle indirgendir ve hidrojen peroksit kaynağı olarak geçiş metal iyonlarını da indirger. Süperoksit radikali ferri ( $\text{Fe}^{+3}$ ) yapıyı ferro ( $\text{Fe}^{+2}$ ) hale getirerek geçiş metal iyonu aracılı hidroksil radikali meydana gelmesine katkıda bulunur.



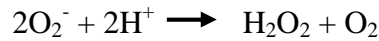
Süperoksit anyonu hem orta derecede oksitleyici hem de iyi derecede redükleyici özelliğe sahiptir. Ferrositokrom C, kinonlar, geçiş metal iyonları gibi maddeleri redükler iken, askorbik asit, tetrapiroller, hemoprotein ve tioller gibi maddelerin oksidasyonuna neden olur. Lipofilik özelliğe sahip olduğundan uzun yarı ömüre sahiptir ve organizmanın farklı bölgelerine diffüze olabilmektedir (Ünal 1999).

Mitokondride gerçekleşen elektron transfer zinciri (ETZ) sırasında alınan oksijenin çok az bir kısmı elektron taşıyıcılarından sızan elektronlar ile indirgenerek süperoksit radikalini oluşturur. Mitokondri matriksinde bulunan ubikinon-sitokrom b bölgesi süperoksit radikal üretimini en önemli bölgesidir. Burada ubisemikinon ile etkileşen oksijen molekülleri süperoksiti oluştururlar (Valko 2006).



Süperoksit ve perhidroksil radikalleri birbirleri ile reaksiyona girdiğinde biri okside olurken diğeri redükte olur ve bu dismutasyon reaksiyonu sonucunda oksijen ve hidrojen peroksit meydana gelir (Freeman ve Crapo 1982, Bingöl vd 1993).

**2.8. Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ ) :** İki elektronun diğer moleküllerden ayrılıp bir oksijen molekülüne bağlanması ile veya iki süperoksit radikalinin iki  $H^+$  protonu ile birleşmesi sonucu hidrojen peroksit radikali oluşur. Oksidan bir ajan olan hidrojen peroksit reaktif değildir (Freeman ve Crapo 1982, Bingöl vd 1993).



Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksit genellikle süperoksit radikalinden oluşur. Serbest radikal olmayan hidrojen peroksit, reaktif oksijen türlerinin oluşumunda ve doku zarlarına etki ettiği için önemlidir. Bunun yanında hücre içerisinde sinyal molekülü olarak da görev yapar (Freeman ve Crapo 1982, Bingöl vd 1993).

### **2.9. Hidroksil radikali ( $OH^\cdot$ ) :**

Uzun ömürlü bir oksidan olan hidrojen peroksit geçiş metal iyonları varlığında hızlı bir şekilde reaksiyona girerek en reaktif ve hasar verici radikal olan hidroksil radikalini ( $OH^\cdot$ ) oluşturur (Freeman ve Crapo 1982, Bingöl vd 1993).

Geçiş metalleri varlığında hidrojen peroksitin indirgenmesi ile oluşan hidroksil radikali ( $OH^\cdot$ ) en reaktif radikaldir. Hidrojen peroksit ve süperoksit radikalinin tepkimeye girmesi ile oluşan hidroksil radikali (Haber-Weiss reaksiyonu) demirle ( $Fe^{+2}$ ) katalizlenir ise çok daha hızlı gerçekleşir (Fenton reaksiyonu) (Freeman ve Crapo 1982, Bingöl vd 1993).

#### Haber-Weiss reaksiyonu:



#### Fenton reaksiyonu:



Hidroksil radikali, çok reaktif olmasının yanı sıra yarı ömrü çok kısa ve çok kararsızdır. Oluştığı yerde, elektron transferi, proton ayrışımı, proteinler ve lipidler arası çapraz bağlar oluşturma gibi birçok önemli değişikliğe sebep olur (Freeman ve Crapo 1982, Bingöl vd 1993).

## 2.10. Diğer radikaller ;

Bu radikaller dışında nitrik oksit (NO<sup>•</sup>), perferil radikali, peroksinitrit (ONOO<sup>•</sup>), alkoksil radikali (RO<sup>•</sup>), sülfonil radikali (RSO<sup>•</sup>) gibi radikaller de bulunur ve bu radikaller genellikle süperoksit ve hidroksil radikalının türevleri ya da ara ürünleridir (Freeman ve Crapo 1982, Bingöl vd 1993). Biyolojik önemi olan reaktif oksijen ürünleri (ROS) ve reaktif azot ürünleri (RNS) Tablo (2.2.) de verilmiştir (Avcı 2001).

**Tablo 2.2.** Biyolojik önemi olan reaktif ürün örnekleri (Avcı 2001)

Tip	Serbest radikal	Non radikal
ROS	Superoksit, O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>	Hidrojen peroksit, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
	Hidroksil, OH <sup>•</sup>	Hidroklorik asit, HCl
	Peroksil, RO <sub>2</sub> <sup>•</sup>	
	Hidroperoksil, HO <sub>2</sub> <sup>•</sup>	
RNS	Nitrik oksit, NO <sup>•</sup>	Peroksinitrit, OONO <sup>•</sup>
	Nitrojen dioksit, NO <sub>2</sub> <sup>•</sup>	Nitrosoksit, HNO <sub>2</sub>

## 2.11. Serbest Radikal Oluşturan Başlıca Mekanizmalar

Oksijenle oldukça hızlı bir şekilde reaksiyona giren serbest radikaller için birçok oluşum mekanizmaları tanımlanmıştır

### 2.11.1. Otoksidasyon;

Otoksidasyon, katalizör olarak oksijenin kullanıldığı bir serbest radikal zincir reaksiyonudur (Nawar 1996). Otoksidasyon reaksiyonu sürecinde oluşan ilk ana ürünün hidroperoksit (ROOH) ürünleri olduğu düşünülmektedir (Porter 1985). Hidroperoksitler ile gerçekleşen bu zincir reaksiyonlar için 3 temel mekanizma öne sürülmüştür. Bunlar;

Hidroperoksitin başka bir kaynaktan gelen radikal ile (X) reaksiyona girerek peroksi radikalini (ROO<sup>•</sup>) oluşturması ve zincir reaksiyonuna katması,



Hidroperoksidin indirgenerek alkoksi radikalini (RO<sup>•</sup>) oluşturması ve düşük ihtimal de olsa (OH<sup>•</sup>) radikali oluşması.

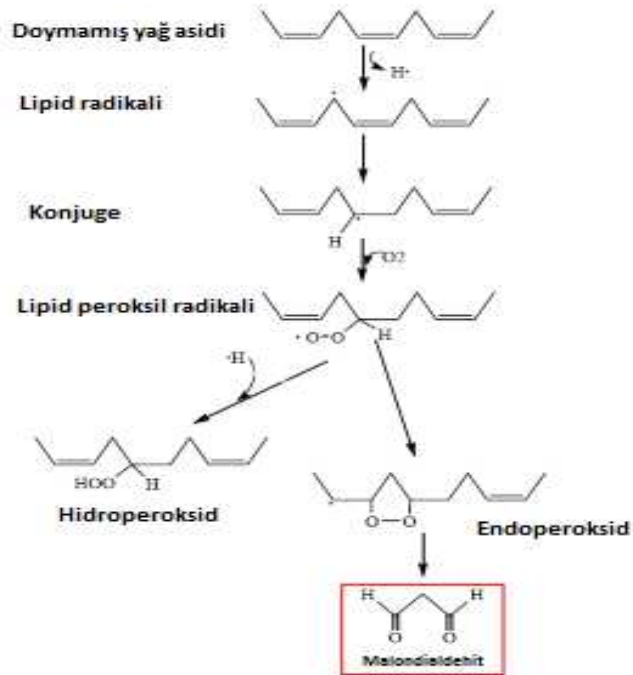
Diğer mekanizmalar ile karşılaştırıldığında daha az olmakla birlikte oda sıcaklığında hidroperoksitteki O-O bağı parçalanarak alkoksi ve hidroksi radikallerine dönüşmesidir.

Fosfolipidler ve çoklu doymamış yağ asitleri otooksidasyona eğilimli olan yapılardır (Porter 1985).

Lipid oksidasyonu üç aşamada incelenebilir;

- Başlangıç
- İlerleme
- Sonuç

Oksidasyonun başlangıcında radikal ( $X^*$ ) ve yağ asidi (LH) reaksiyona girerek H atomu transferi ile bir lipid radikali ( $L^*$ ) oluşturmaktadır. Oluşan ( $L^*$ ) ilerleme aşamasında oksijen ile reaksiyona girerek peroksi radikalini ( $LOO^*$ ) oluşturmakta ve oluşan ( $LOO^*$ ) bir diğer yağ asidi molekülünün (LH) hidrojen atomu ile birleşerek yeni lipid radikallerine ve hidroperoksitlere dönüşmektedir. Sonuç kısmında ise ortaya çıkan radikaller birbirleri ile reaksiyona girerek keton, aldehit, ester, eter ve alkol gibi stabil bozunma ürünlerine dönüşmektedir (Koca ve Karadeniz 2005).



Şekil 2.3. Malondialdehit oluşum mekanizması

### ***2.11.2. Geçiş Metal İyonlarının etkisi***

Metal iyonları (Fe, Cu, Zn ,Co, Mo, Mn, Cr vb..) vücutta oksidatif reaksiyonları katalizleyebildiği gibi şelat oluşumları antioksidan savunma sistemine katkıda bulunabilmektedir. Çalışmalar göstermiştir ki patolojik durumlarda (diyabet, katarakt vb.) metal iyonları zararlı formlarda bulunmakta ve oksidasyona sebep olmaktadır (Lavelli vd 2000).

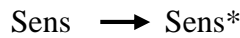
Geçiş metallere olan Fe ve Cu iyonları canlı sistemlerdeki en güçlü oksidatif katalist yapılarıdır.

ATP üretimi, DNA sentezi, oksijen taşınması gibi önemli görevleri bulunan demirin serbest formları ( $Fe^{+2}$ ,  $Fe^{+3}$ ) biyolojik sistemlerde toksik etki yaratabilmektedir. Oluşan bu toksisite ile ortaya çıkan aktif oksijen molekülleri DNA'nın yapısına etki edebilmekte ve lipid oksidasyonunu tetikleyebilmektedir. Canlı yapıların tümünde demirin toksik etkisini gideren ve demiri toksik olmayan formda depolayan mekanizmalar mevcuttur (Miller 1996). Metal iyonlarını bu şekilde bağlama yeteneği olan sitokrom, klorofil, hemoglobin, vitamin B12 gibi organik moleküllere şelat formu denir ve sadece demir değil, birçok metal vücutta bu formda bulunur ve kullanılır. Hemoglobin ve miyoglobinin porfirin halkasında veya ferritin gibi proteinlerde bulunan demir iyonu, önceden de belirtildiği gibi fenton tipi reaksiyonlar ile hidroperoksitlerin hidroksi radikallerine dönüşme reaksiyonlarını katalizler. Oluşan reaktif hidroksi radikali de lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonunu başlatarak lipid radikallerini oluşturur (Lindsay 1996). Yüksek düzeyde oksijene ihtiyaç duyan beyin,  $Fe^{+2}$  ve diğer divalent katyonları da içermektedir. Oluşan fenton tipi reaksiyonlar, reaktif oksijen türlerini ortaya çıkararak oksidatif strese karşı zayıf olan beyinin nöronlarına zarar vermektedir. Vücudun diğer dokularına oranla düşük antioksidan savunma sistemine sahip beyin dokusu doymamış yağ asitlerini de içermekte ve bu durum radikaller ile rahatlıkla etkileşimini sağlamaktadır. Beyinde oluşan oksidatif stresin Alzheimer, Parkinson gibi birçok hastalıkta etkili olduğu düşünülmektedir (Meydani 2001).

Enzimlerin yapısına girerek etkisini gösteren bakır iyonu ( $Cu^{+1}$ ,  $Cu^{+2}$ ), birçok metalloenzimin ve bazı doğal pigmentlerin yapısında bulunur. Sitokrom oksidaz ve süperoksit dismutaz (SOD) bu enzimlere örnek olarak verilebilir. Bununla birlikte, ototoksidasyon ile indirgenme reaksiyonlarına girerek süperoksit oluşumunu katalizler (Seymen vd 1999).

### **2.11.3. Fotooksidasyon**

Fotokimyasal iz yolları, oksidasyon başlangıcı için gerekli olan peroksitlerin oluşumunda etkilidir. Bu mekanizma ile ışığı absorbe eden molekül süperoksit anyon oluşumunu tetikleyecek elektron transferlerine sebep olabilmektedir. Fotosensitize denilen işlemde ise sensitizer (Sens) olarak adlandırılan bir molekül, dolaylı yoldan ışığı absorbe ederek diğer moleküllere etki eder ve oksidasyona sebep olur. Bu tür reaksiyonlarda Sens molekülü kendisini tüketmeden ışığı absorbe ederek aktif forma dönüşmekte (Sens\*) ve oksidasyona sebep olmaktadır (Foote 1985).



Reaktif oksijen üreten fotosentizirler arasında hematorporfirin, kolorofil-a, feofitin-a, miyoglobin, hemoglobin gösterilebilir (Nawar 1996).

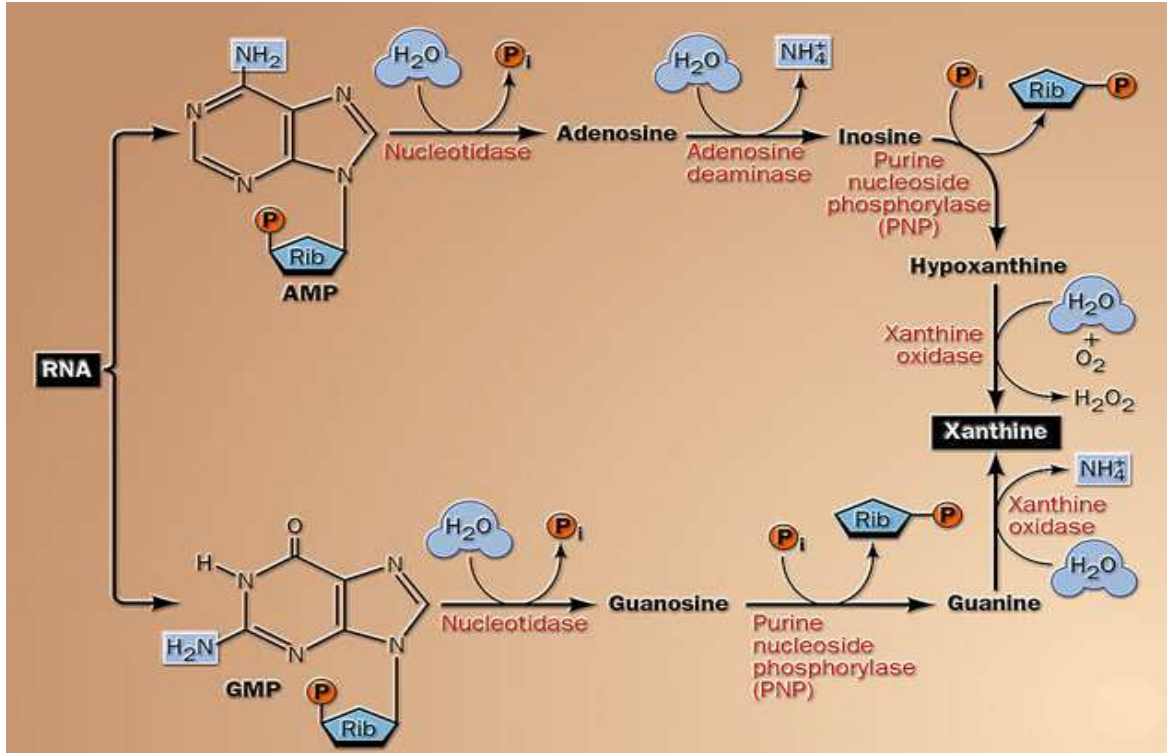
Fotooksidasyon reaksiyonları ile proteinlerin belirli aminoasitleri zarar görürler. Bu aminoasitler arasında histidin, triptofan, metiyonin, sistein ve tirozin vardır (Foote 1985).

### **2.11.4. Enzimatik oksidasyonlar**

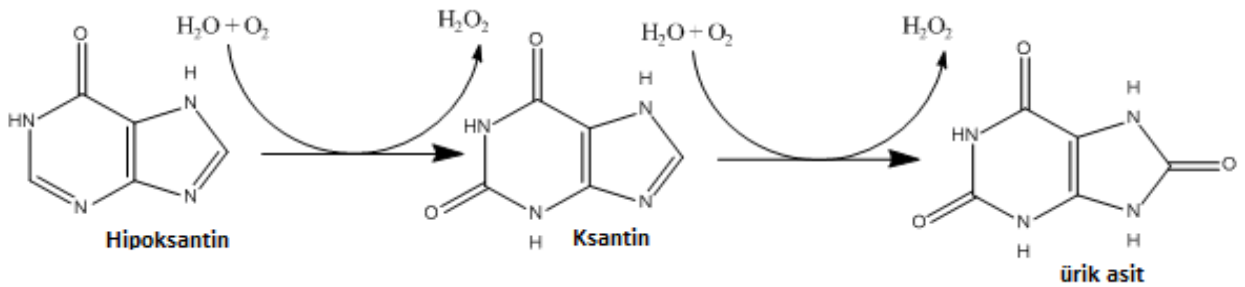
Miyeloperoksidaz, sitokrom P-450, ksantin oksidaz, siklooksijenaz ve lipoksijenaz gibi enzimler vücutta reaktif oksijen türlerinin oluşumuna sebep olurlar (Meydani 2001).

#### **2.11.4.1. Ksantin oksidaz (XOD)**

Reaktif oksijen türlerini oluşturan başlıca enzim kaynaklarından biridir. Pürinin katabolik reaksiyonlarında  $\text{NAD}^{+}$ 'ye elektron transferini sağlarken bir ara bileşik olan hipoksantini ksantine, ksantini de ürik aside çevirici özelliği vardır. Stres ortamında tiyol gruplarını okside eden enzim bu etkisi ile süperoksit anyonu ve hidroperoksit radikallerini oluşturur. Yapılan araştırmalarda ksantin oksidazın damar geçirgenliğinde değişkenlik, iskemi, beyinde ödem gibi oksidatif hasarlara sebep olduğu ve ayrıca beyin tümörü, hepatit gibi hastalıklarda ksantin oksidazın serum düzeyinin arttığı belirlenmiştir (Lavelli vd 2000).



Şekil 2.4. Nükleotid defosforilasyonu ve ksantin oluşumu (Lavelli vd 2000)



Şekil 2.5. Hipoksantinden ürik asit oluşumu

#### 2.11.4.2. NADPH oksidaz

Nötrofillerin plazma zarında bulunan NADPH serbest radikal oluşturan bir diğer enzimdir. Mitokondriye geçen oksijenin yaklaşık % 1-4'ü süperoksit anyonunu oluşturur ve oluşan süperoksit anyonunun %20'si hücrelere geçer. NADPH oksidaz enzimi, monosit ve makrofaj içeren fagosit hücrelerinde O<sub>2</sub> alımının artması ile aktif hale gelir ve alınan fazla oksijeni süperoksit anyonuna dönüştürür (Duthie vd 1989).

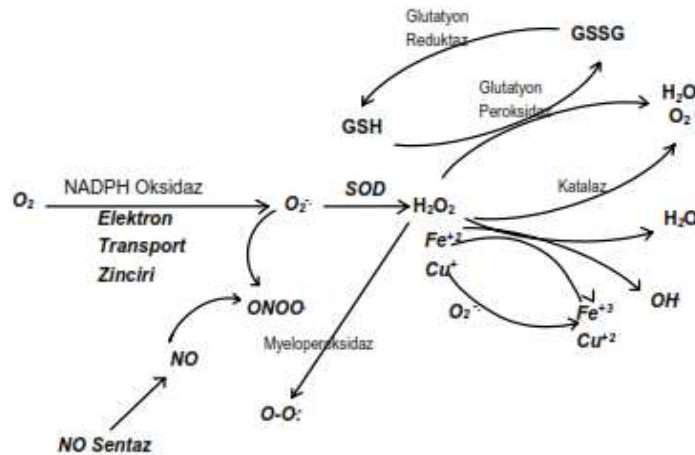


### 2.11.4.3. Nötrofil miyeloperoksidaz (MPO)

Nötrofilik miyeloperoksidaz enzimi güçlü oksidan kaynaklarından biridir. Hidrojen peroksit tarafından klorit ( $\text{ClO}_2^-$ ) iyonlarının oksitlenmesi ile oluşan hipoklorik asit üretimini katalize eder. Oluşan bu reaksiyon ile  $\alpha$ 1-antiproteinaz inaktive edilerek sağlıklı doku zarara uğratılmakta ve iltihaplanmaya yol açmaktadır. Bunun yanında reaksiyonun toksisitesi sayesinde bakteriler öldürülerek savunma sistemine katkı sağlamaktadır.

### 2.11.5. Halojenlenmiş hidrokarbonlar

Yapılan araştırmalar göstermiştir ki bromotriklorometan ( $\text{CBrCl}_3$ ) ve karbontetraklorür ( $\text{CCl}_4$ ) gibi hidrokarbonlar biyolojik sistemlerde oksidatif hasarın başlamasında etkilidirler. Sitokrom P-450 monooksijenaz enzim sisteminin doymamış yağlar ile ve çeşitli aminoasitler ile hızlı reaksiyonu sonucu triklorometil ve triklorometil peroksil radikalleri oluşmakta ve bunun sonucunda lipid peroksidasyonu ile protein denatürasyonu gerçekleşmektedir (Chen ve Tappel 1996).

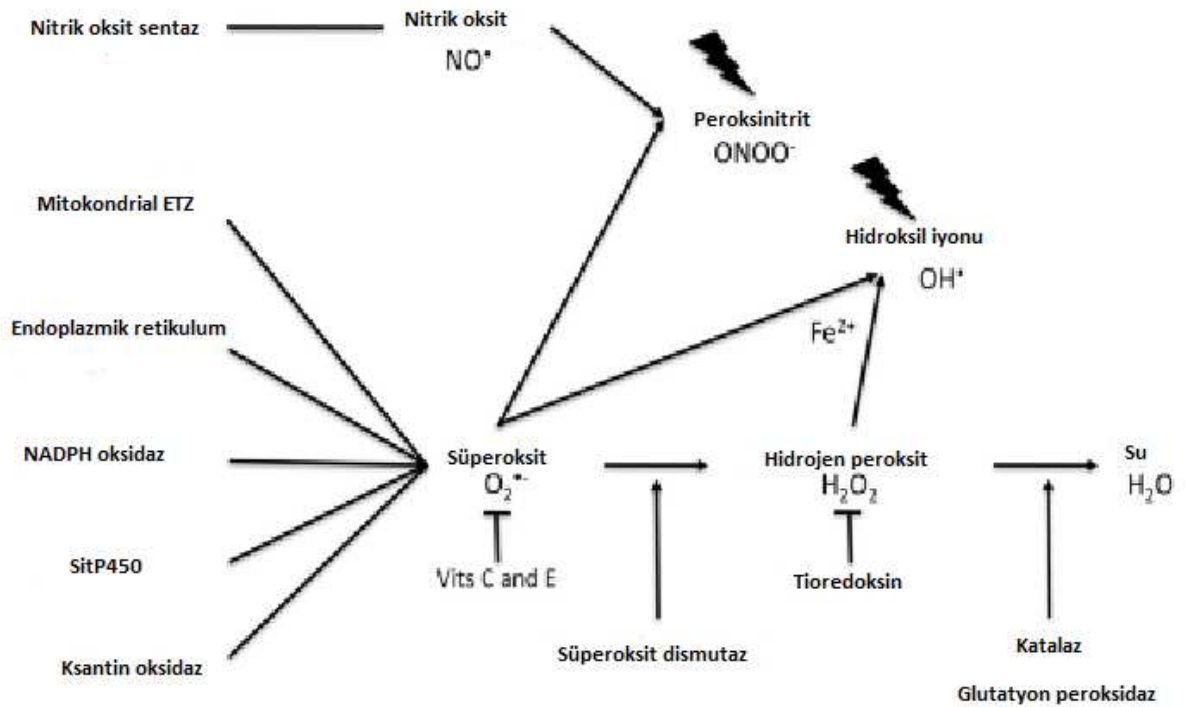


Şekil 2.6. Serbest radikallerin oluşumu ve enzimatik detoksifikasyonu (Memişoğulları 2005)

## 2.12. Oksidatif Stres

Canlı organizmalarda alınan besinlerin oksijen kullanılarak enerjiye dönüşümü sırasında oluşan reaktif moleküllere serbest oksijen radikalleri (SOR) denir. Serbest oksijen radikallerinin aşırı üretimi veya yetersiz indirgenmesi hücrenin redoks durumunda değişikliğe sebep olur. Küçük boyutları ve yüksek enerjileri ile hücrenel

makromolekülleri okside edebilen SOR, reaktif ve metabolik reaksiyonlar olmak üzere iki ana mekanizma ile gerçekleşir. Metabolik reaksiyonlar en önemli SOR kaynağı olup aerobik organizmalarda oluşan bu moleküller protein, lipid ve DNA gibi hücre bileşenlerine zarar verir. Bu zararı engellemek ve radikal oluşumunu kontrol altında tutmak için organizmalarda antioksidan savunma sistemi gelişmiştir. Bu savunma sisteminin radikallerin etkisini tamamen önleyemediği ve radikallerin organizmada arttığı durumlarda oksidatif stres görülür ve doku hasarı oluşur (Oksante 2012, Yılmaz 2010, Köken vd 2002, Derviş 2011). Serbest radikallerin oluşum hızı ile bu radikallerin ortadan kaldırılma hızı oksidatif denge olarak adlandırılır. Vücutta oksidatif denge sürdüğü sürece organizma radikallerden etkilenmemektedir (Altan vd 2006). Şekil 3.1'de SOR ve reaktif nitrojen türü olan nitrik oksidin oluşum yerleri ve antioksidanların bu radikallere etkisi gösterilmektedir.



Şekil 2.7. Reaktif oksijen ürünleri ve detoksifikasyon yolları (Oksante 2012).

Serbest radikaller radyasyon, stres, alkol, sigara, ilaçlar, UV ışınları, immunolojik ve biyokimyasal reaksiyonlar gibi birçok yolla oluşabilirler (Oksante 2012).

**Tablo 2.3.** Serbest radikal kaynakları ve antioksidan moleküller (Altan vd 2006)

Serbest Radikal Kaynakları	Antioksidan Moleküller
Aşırı alkol tüketimi	Enzimler (SOD, Katalaz, GSH-Px)
Sigara kullanımı	Proteinler (Albumin, serüloplazmin)
Elektromanyetik radyasyon	Selenyum
Güneş ışınları (UV)	Askorbik asit (C vitamini)
Kronik inflamasyonlar	Tokoferoller (E vitamini)
Aşırı demir yüklemesi	Karotenoidler
Aşırı fiziksel egzersiz	Flavonoidler
Yaşlanma	Glutasyon ve tiyoller
Doğum kontrol hapları	Koenzim Q, ubikinon ve türevleri

Oksidatif stres sonucu hücrede yağ asitlerinin oksidasyonu, protein karbonillerinin oluşması ve DNA zincir kırılması gibi durumlar görülür.

Yağ asitlerinin metilen gruplarındaki hidrojen atomunun radikal bir molekül tarafından koparılması ile yağ asidi oksidasyonu gerçekleşir. Karbon merkezli radikallere moleküler oksijenin bağlanması ile meydana gelen lipit hidroperoksitleri lipit peroksidasyonunun ilk aşamasını oluşturur. Oluşan lipit hidroperoksitlerinin yıkımı ile malondialdehit (MDA), hidroksialkenler gibi biyoaktif aldehytler oluşur. Düşük molekül ağırlıklı MDA molekülü lipit peroksidasyonunun indeksi olarak kabul edilir (Oksante 2012, Köken vd 2002).

Oksidatif stres sonucu proteinler, peroksitleri ve protein karbonillerini oluştururlar. Proteinlerin yapısındaki belirli aminoasitleri hedef alan radikaller proteinin üç boyutlu yapısını değiştirerek işlevsiz hale getirir. Doymamış bağlar, -SH içeren moleküller, triptofan, tirozin, fenil alanin, metiyonin, histidin ve sistein gibi aminoasitler radikallerden kolaylıkla etkilenen yapılardır. Reaktif oksijen türlerinin proteinlere etki ederek hidrojen atomlarının koparılması sonucu karbon merkezli radikaller oluşur (Oksante 2012).

DNA'ya etki ederek zincir kırılmalarından da sorumlu olan serbest oksijen radikalleri kanser oluşumunda aracı görevi görürler. DNA'nın oksidatif hasara uğraması sonucu DNA hasar ürünü olarak modifiye nükleotidler oluşur. Oluşan modifiye nükleotidler serumda ve idrarda ölçülebilen oksidatif stres belirtecidir (Oksante 2012).

## 2.13. Antioksidanlar

### 2.13.1. Antioksidanların tanımı

Canlı organizmalarda oluşan oksidan yapıların lipid, karbonhidrat, protein, DNA gibi okside olabilecek yapılara etki etmesini engelleyen veya geciktiren yapı ve enzimlere antioksidanlar denir (Ertürk 2006). Antioksidan molekülleri hücrelere saldırmadan serbest radikalleri deaktive ve stabilize etme yeteneğine sahiptir. İyi bir antioksidan; kolayca absorbe olabilmeli, serbest radikallerin etkilerini ortadan kaldıracak şekilde, hem sıvı ortamda hem zar ortamında fonksiyonel bir şekilde işlevini yerine getirebilmeli, redoks metalleriyle şelat oluşturabilmelidir (Derviş 2011). Endojen veya eksojen yollarla oluşan radikaller antioksidanlar sayesinde reaksiyonları yavaşlatılarak etkisiz hale getirilir veya olumsuz etkileri azaltılır (Gutteridge 1995).

### 2.13.2. Antioksidanların sınıflandırılması

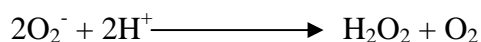
Antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayan şeklinde sınıflandırılırlar. Enzimatik antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GR) ve glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) dir (Tablo 2.4.).

**Tablo 2.4.** Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar (Köken vd 2002).

Enzimatik Antioksidanlar	Enzimatik olmayan antioksidanlar		
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutatyon	Transferrin ve Laktoferrin	Ürik asit
Katalaz (CAT)	Vitamin C	Albumin	Mannitol
Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)	Vitamin A	Haptoglobulin	Lipoik asit
Glutatyon S-Transferaz (GST)	Vitamin E	Sistein	Hemopeksin
Glutatyon redüktaz (GR)	Flavonoidler	Seruloplazmin	Ubikinon
	Melatonin	Bilirubin	Oksipurinol
	Selenyum	Ferritin	

#### 2.13.2.1.Süperoksit Dismutaz (SOD)

Vasküler endotelde bulunan SOD enzimi en önemli antioksidan enzimlerinden biridir. Lipid peroksidasyonunu ve ateroskleroz gelişimini engelleyen SOD enzimi endotel hücreleri ile düz kas hücreleri arasında bol miktarda bulunur. Serbest oksijen radikallerini hidrojen peroksit'e çeviren SOD enzimi hücre içindeki ilk savunma sistemidir (Gutteridge 1995).

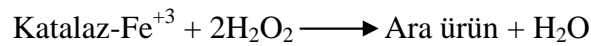
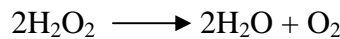


Aerobik organizmalarda sitozolik ve mitokondrial SOD olarak bulunmaktadır. Mitokondrial SOD'un yapısında iki Mn varken sitozolik SOD yapısında Cu ve Zn bulunmaktadır. İç ve dış mitokondrial membran aralığı, çekirdek, lizozom ve peroksizomlarda yapısında ise bakır ve çinko bulunan SOD (Cu-Zn) enzimi bulunmaktadır (Gutteridge 1995).

### 2.13.2.2.Katalaz (CAT)

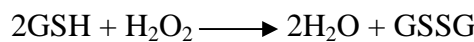
Ürat oksidaz, D-aminoasit oksidazlar, ksantin oksidaz veya SOD un katalize ettiği reaksiyonlar ile  $H_2O_2$  oluşur. Oluşan bu  $H_2O_2$  katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri ile su, oksijen ve ara ürünlere dönüştürülerek hidroksil radikali oluşumu engellenir. Elektronlarını, mitokondride bulunan ETZ'ye aktaran flavoproteinler, peroksizomlarda  $O_2$  ile tepkimeye girerek  $H_2O_2$  oluşturmaktadır. Mitokondri ve peroksizomlarda oluşan yoğun hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) molekülü, katalaz ve glutatyon peroksit enzimleri ile etkisiz hale getirilir (Gutteridge 1995).

Tüm organlarda bulunan katalaz karaciğer de yoğun olmakla birlikte özellikle peroksizomlarda bulunur. Dört alt hem biriminden oluşan katalaz enzimi hem gruplarına bağlı ferri demir ( $Fe^{+2}$ ) içerirler. Ferri demir her bir alt grupta kovalent olmayan bağlar oluştururlar ve dar kanallı bir yapı oluşturarak hidrojen peroksitten büyük moleküllerin protein yapısına girmesini önlerler. Ayrıca alt grupların her birinde NADPH bulunmaktadır (Gutteridge 1995).



### 2.13.2.3. Glutatyon peroksidaz

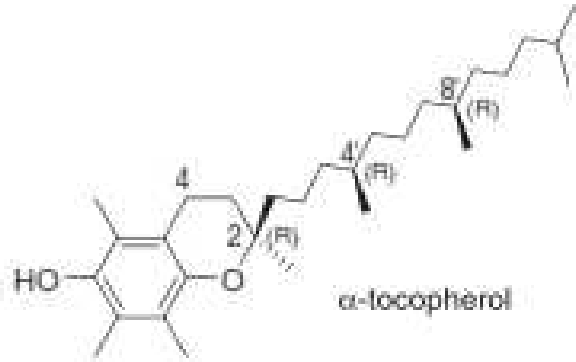
Lipid peroksidlerin ve hidrojen peroksitin indirgenme reaksiyonunu katalizleyen GPx, ilk olarak 1957 yılında hayvan dokularından elde edilmiştir. Sitozolde bol miktarda bulunan GPx, mitokondri matriksinde de az da olsa bulunmaktadır. Hidrojen peroksidin suya dönüştüğü reaksiyonu katalizleyen GPx, glutatyonun sülfhidril grubunu disülfid hale getirerek yükseltgemektedir (Gutteridge 1995).



Hidroperoksitlerin ortamdan uzaklaşmasını sağlayan glutasyon peroksidaz dört subünitten oluşan tetrametrik bir enzimdir. Her subünit bir selenyum içerir ve bu yüzden selenoenzim olarak da adlandırılmaktadır (Gutteridge 1995).

## 2.14. E VİTAMİNİ

Besinlerde bulunan bir grup tokoferolün birleşimi olarak tanımlanan E vitamininin en aktif şekli  $\alpha$ -tokoferol'dür. Tokoferol yapılarının tümünde 6-OH kroman halkası ve bu halkaya bağlı izoprenoid zinciri vardır. Sekiz farklı stereoizomeri bulunan  $\alpha$ -tokoferolün her izomeri eşit antioksidan aktivitesine sahiptir (Traber ve Stevens 2011).



Şekil 2.8. E vitamini kimyasal yapısı

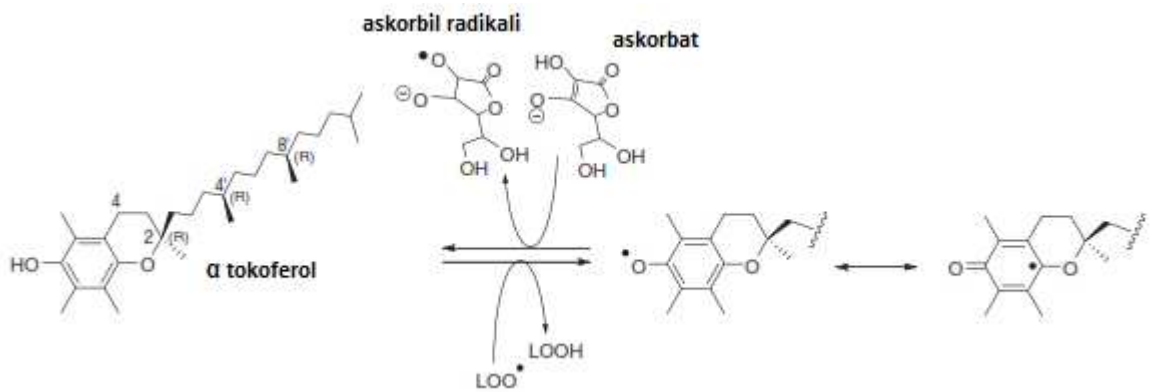
### 2.14.1. Kaynaklar ve Emilimi

Karaciğer, bitkisel yağlar, yumurta gibi besinler E vitamini yönünden oldukça zengin besinlerdir. Retina ve eritrositler gibi oksijen ( $O_2$ ) basıncının yüksek olduğu dokularda diğer dokulara göre daha fazla bulunur. Vücuda giren doymamış yağ asidi miktarı arttıkça E vitamini ihtiyacı da orantılı olarak artar. Gebelikte ve bebeklerde E vitamini ihtiyacı fazla iken yetişkinler için günlük gereksinim erkeklerde 10 mg, kadınlarda ise 8 mg'dır (Gürdöl 2013).

Diyetle ve deriden emilimle vücuda girebilen E vitamini plazmada lipoproteinler vasıtası ile taşınır. Besinlerle alınan E vitamini bağırsaklarda emildikten sonra lenf sistemine, oradan da kan yolu ile karaciğere geçmektedir (Gürdöl 2013).

### 2.14.2. İşlevi

Hücre membranlarında bulunan E vitamini güçlü bir antioksidandır. Lipid peroksidasyonu ile oluşan serbest radikallerin membrana ve plazma lipoproteinlerine yayılmasını önleyerek hücre membranını hemolizden korur. Oluşan peroksil radikallerinin tokoferol ile reaksiyona girmesi sonucu tokoferil radikali oluşur (Vit E-O<sup>\*</sup>). Oluşan tokoferil radikali ise C vitamini ile reaksiyona girerek indirgenir ve tekrar tokoferolü oluşturur. Bu şekilde hücre membranı peroksil radikalinin zararlı etkilerinden korunmuş olur (Traber ve Stevens 2011, Traber ve Atkinson 2007).



**Şekil 2.9.** C vitamini ile E vitamininin indirgenmesi

Bunun dışında koenzim Q'ya elektron aktarımında görev alarak solunum zincirine de katkıda bulunan E vitamini A vitamininin biyolojik aktivitesini kolaylaştırıcı bir etki de gösterir (Traber ve Stevens 2011, Traber ve Atkinson 2007).

### 2.14.3. Eksikliği ve toksisitesi

Vitamin E eksikliği ile oluşan hasarlar arasında oksidatif strese bağlı membran ve sinir dokusunun zarar görmesi önemli bir yer tutmaktadır. Eritrosit membranlarında oluşan peroksidasyona bağlı artan kırılabilirlikle eritrosit yaşam süresinin kısalmasına sebep olan E vitamini eksikliği, aynı zamanda duyu sinirlerinin akson uçlarında dejenerasyona da sebep olmaktadır. Bunun yanında diyetle ilgili gelişen E vitamini eksikliği kistik fibrozis, yağ malabsorpsiyonu, kronik karaciğer hastalıkları gibi rahatsızlıklarda görülmektedir (Traber ve Stevens 2011).

Yağda çözünen vitaminler arasında en az toksik vitamin olarak bilinen E vitamini vücuda fazla alındığı durumlarda vücuttan dışkı ve idrar ile uzaklaştırılır. Yüksek dozda alındığında bulantı ve ishale sebep olduğu bilinmektedir. Yapılan hayvan deneyleri ile kasları zayıflattığı, büyümeyi durdurduğunu, kemikleşmeyi yavaşlattığı ve eritrosit sayısını azalttığı görülmüştür (Gürdöl 2013).

## **2.15. C VİTAMİNİ**

Askorbik asit olarak adlandırılan ve güçlü bir indirgeyici olan C vitamininin kimyasal yapısı glukoza benzer. Suda eriyen C vitamini moleküler oksijen, sitokrom a ve c, nitrat gibi bileşiklerin indirgenmesinde rol oynar. Oluşan oksidan ajanlara karşı plazmada ilk antioksidan savunmayı oluşturur ve oksidasyonu önleyerek birçok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak görev alır. Geri dönüşümlü olarak yükseltgenir ve askorban denilen dehidroaskorbik asidi oluşturur. Organizmada birbirine dönüşebilen bu iki form biyolojik olarak eşit aktivite gösterir (Memişoğulları 2005, Savran 2011).

### **2.15.1. Kaynaklar ve Emilimi**

Birçok sebze ve meyvede bolca bulunan C vitamini bazı bitki ve hayvanlarda glukozdan sentezlenebilir. İnsan sütünün C vitamini içermesine rağmen L-gulonolaktonu askorbik aside çeviren L-gulonolakton oksidaz enzimi sentezlenemediğinden insanlarda C vitamini sentezi gerçekleşmez. Suda çözünen C vitamini insan vücudunda depolanamaz. Bu yüzden her gün alınması gereklidir. Çiğ besinlerde inaktif halde bulunan askorbat oksidaz enzimi kesme veya soyma işlemleri sırasında aktif hale gelerek askorbik asidi oksitler. Bununla birlikte besinlerde bulunan askorbik asit hava ile temas ettiği anda oksidasyona uğrar ve etkisini kaybeder ( Traber ve Stevens 2011, Gürdöl 2013, Savran 2011).

Bağırsaklarda sodyuma bağlı transport sistemi ile emilen C vitamininin emilimi 100 mg 'a kadar yüksek verimle gerçekleşir. Vücuda giren vitamin miktarı arttıkça emilim azalır. Fazla alınan C vitamini idrarla oksalat halinde atılır (Traber ve Stevens 2011, Gürdöl 2013, Savran 2011).



### 2.15.2. İşlevi

Hidroksilasyon reaksiyonlarında spesifik rolü olan askorbik asidin enzimatik reaksiyonlarda elektron verici özelliği vardır. Süperoksit ve hidroksil radikalleri ile reaksiyona girerek ortamdan uzaklaşmasında rol oynayan C vitamini, aynı zamanda tokoferoksil radikalinin tekrar tokoferole dönüşmesini sağlayarak E vitamininin bir döngü içerisinde kullanılmasını sağlar. C vitamini eksikliğinde tokoferoksil radikalleri glutatyon redüktaz (GSH) enzimi ile indirgenir, buda GSH düzeyinde azalmaya sebep olur. Epinefrin ve norepinefrin sentez yolunda görev yapan ve bakır içeren dopamin  $\beta$ -hidroksilaz enziminde C vitamini elektron verici olarak görev yapar ve bakırın tekrar  $Cu^{+1}$  değerliğe dönmesini sağlar. (Gürdöl 2013).

Bunların dışında askorbat varlığında çalışan birçok enzim ve reaksiyon vardır. Lizil ve prolin hidroksilaz enzimleri askorbat varlığında çalışır. Bu yüzden kemik, bağ dokusu oluşumunda ve yara iyileşmesinde C vitaminine ihtiyaç duyulur. Kollajen sentezinde kofaktör olarak görev alır. Demirin midede indirgenerek absorpsiyonuna yardımcı olan C vitamini folik asit kullanımını artırır.

### 2.15.3. Eksikliği ve Toksisitesi

Eksikliği durumunda, demir emiliminde azalmaya bağlı anemi, diş eti kanamaları, eklemlerde şişme ve anormal kollajen sentezine bağlı skorbit hastalığı görülür. Günde 10 mg C vitamini verilerek skorbitin etkileri giderilebilir (Gürdöl 2013, Savran 2011).

Hastalık durumunda alınan yüksek dozda C vitamininin toksik olmamakla birlikte nezle ve grip gibi hastalıkları iyileştirici etkisinin olup olmadığı tartışmalıdır. Bununla beraber fazla C vitamini alım durumunda bazı yan etkiler görülmüştür. Bunlar arasında katabolizmanın azalması sonucu oluşan gereksinim, demir emiliminin olduğundan kolay gerçekleşmesi, oksalat oluşumunun artması ile böbrek ve safra kesesinde kalsiyum oksalat birikmesi gösterilebilir (Savran 2011).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı ve Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları biriminde gerçekleştirilmiştir. Çalışma 03/09/2013 tarih sayılı etik kurul kararı ve 1865 proje numaralı, Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

#### 3.1. Gereç

##### 3.1.1. Kullanılan aletler ve malzemeler

Hassas terazi (Sartorius, Almanya)  
 UV-VIS Spektrofotometre (Shimadzu, Avusturalya)  
 Su banyosu (Nüve, Türkiye)  
 Soğutmalı santrifüj (Hettich, Almanya)  
 Homojenizatör (Art micra, Almanya)  
 Otomatik pipetler (Eppendorf, Almanya)  
 Vorteks (Biosan, Türkiye)  
 Derin dondurucu (Arçelik, Türkiye)  
 Glukometre (Accu chek, Türkiye)

##### 3.1.2. Kullanılan kit ve kimyasallar

Süperoksit Dismutaz ELISA kiti (Cayman, A.B.D.)  
 MDA tanı kiti (OxisResearch A.B.D.)  
 Glutatyon Peroksidaz ELISA kiti (Cayman A.B.D.)  
 Katalaz ELISA kiti (Cayman A.B.D.)  
 NaCl (Sigma, Japonya)  
 KCl (Merck, Almanya)  
 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Sigma, Japonya)  
 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Sigma, Japonya)

Tris-HCl (Merck, Almanya)  
EDTA (Sigma, Japonya)  
DTT (Dityotretiol) (Merck, Almanya)  
HEPES tamponu (Merck, Almanya)  
EGTA(Sigma, Japonya)  
Mannitol (Merck, Almanya)  
Sukroz (Sigma, Japonya)  
BHT (butylated hydroxytoluene) (Sigma, Japonya)  
Potasyum fosfat (Merck, Almanya)  
Cvitamini (Redox-C, Bayer)  
E vitamin (Evigen, dl- $\alpha$  tokoferol asetat)  
Streptozotocin (Sigma, Japonya)  
Ketamin HCl (Ketalar)  
Ksilazin (Alfazin)

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. Deney hayvanları**

Çalışmada Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Biriminden sağlanan 40 adet ağırlıkları 200-300 g arasında değişen (ortalama 250g), sekiz haftalık erkek Wistar Albino sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar rastgele seçilerek her grupta 8 sıçandan oluşan kontrol (K), diyabetik (D), diyabetik ve E vitamini (E), diyabetik ve C vitamini (C), diyabetik ve E ve C vitamini (EC) olmak üzere 5 grup oluşturulmuştur.

### **3.2.2. Diyabet oluşturma**

Diyabet oluşturmak için kullanılacak olan streptozotocin pH'ı 4.5 soğuk sitrat tamponu içinde çözdürüldü. D, E, C ve EC grubundaki sıçanlara STZ tek doz 55 mg/kg intraperitoneal (i.p) yoldan uygulandı. Kontrol grubuna ise aynı miktarda serum fizyolojik (SF) aynı şekilde verildi. STZ enjeksiyonunun ardından 2 gün beklendi ve hayvanların kuyruklarından alınan kan örneklerindeki glukoz düzeyleri glukometre ile ölçülerek not alındı. Kan şekerleri 300 mg/dl ve üzerinde olan hayvanlar diyabet olarak kabul edildi.

Diyabet oluşturulduktan sonra dört hafta boyunca, her gün E grubuna i.p yolla 268 mg/kg E vitamini (Avcı 2001), C grubuna gavaj yolu ile 250 mg/kg C vitamini (Savran 2011), EC grubuna ise i.p yolla 268mg/kg E vitamini ve gavaj yolu ile 250 mg/kg C vitamini verildi. Sıcaklığı  $22 \pm 2^\circ \text{C}$  olan 12 saat karanlık/aydınlatma uygulanmış odalarda, yeteri kadar su ve yem (Yem Kurumu Standart Sıçan Yemi) ile beslendiler.

### 3.2.2. Doku örneklerinin alınması

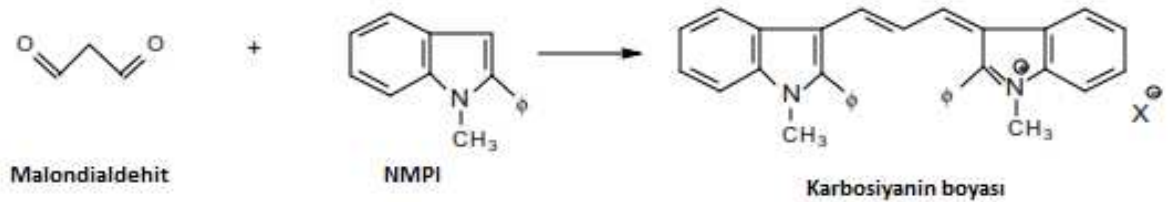
Dört haftalık süreç sonunda sıçanlar gruplar halinde intramuskuler olarak uygulanan %10'luk ketamin HCl ve %2'lik ksilazin anestezisi altında sakrifiye edilerek böbrek dokuları alındı. Alınan böbrek dokuları PBS tamponu (137 mM NaCl, 2,7mM KCl, 10mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 1,8 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) ile yıkanarak 4 parçaya ayrıldı, ağırlıkları tartıldı ve ependorf tüplere konularak  $-80^\circ \text{C}$ ' de ölçümler yapılana kadar saklandı.

### 3.2.3. Malondialdehit (MDA) ölçümü

Ölçüm OXIS (A.B.D.) marka ticari kit ile üretici firmanın belirtmiş olduğu şekilde çalışıldı.

#### 3.2.3.1. Prensip

Lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden olan MDA, asidik ve alkali ortamda  $45^\circ \text{C}$ 'lik su banyonda ısıtılarak serbestleştirilir. Ardından 2 molekül N-metil-2-fenilindol (NMPI) ile bir molekül MDA reaksiyona girerek renkli bir kompleks oluşturur. Bu kompleksin 586 nm dalga boyundaki absorbanısı ölçülür ve konsantrasyon hesabı yapılır. 4-hidroksialkenal 586nm dalga boyunda belirgin bir renk üretmediği için bu dalga boyu çalışma için idealdir. 1 g dokuya 10 ml tampon kullanılacak şekilde dokular tartılarak tüplere tamponlar ile beraber konuldu ve çalışma bu şekilde yapıldı.



Şekil 3.1. NMPI'nın MDA ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan karbosiyanin boyası

Hazırlıklar sonunda yapılan çalışma Tablo 3.1.'de gösterilmiştir.

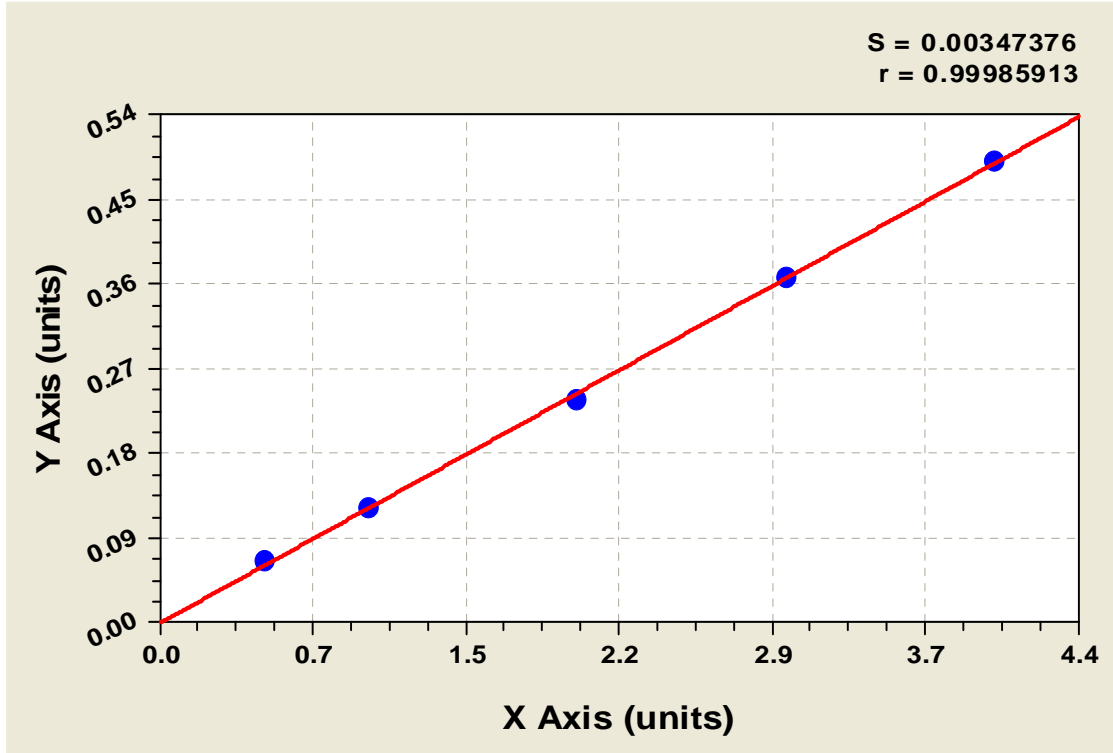
**Tablo 3.1.** MDA çalışma tablosu

	<b>Kör</b>	<b>Standart</b>	<b>Örnek</b>
<b>Probucol</b>	10 µl	10 µl	10 µl
<b>Örnek</b>	-	-	200 µl
<b>Standart</b>	-	200 µl	-
<b>Distile su</b>	200 µl	-	-
<b>Sulandırılmış R1</b>	640 µl	640 µl	640 µl
<b>Tüpler vorteksenerek karıştırılır.</b>			
<b>R2</b>	150 µl	150 µl	150 µl
<b>Tüpler vorteksenerek karıştırılır.</b>			
<b>45° C de 1 saat boyunca inkübe edilir. Ardından 5000rpm'de 10 dakika boyunca santrifüj edilir ve süpernatant alınarak 586nm'de okunur.</b>			

### 3.2.3.2. Hesaplama

Hazırlanan standartların absorbans değerleri 586 nm dalga boyunda ölçüldükten sonra kör absorbans değeri tüm konsantrasyon değerlerinden çıkartılarak düzeltilmiş absorbans değerleri bulundu. Lineer denklemin katsayıları ve sulandırma katsayısı da kullanılarak MDA konsantrasyonu bulundu.

$$[MDA] = \frac{(\text{Örnek } A \text{ korr.}) - b}{a} \times df$$



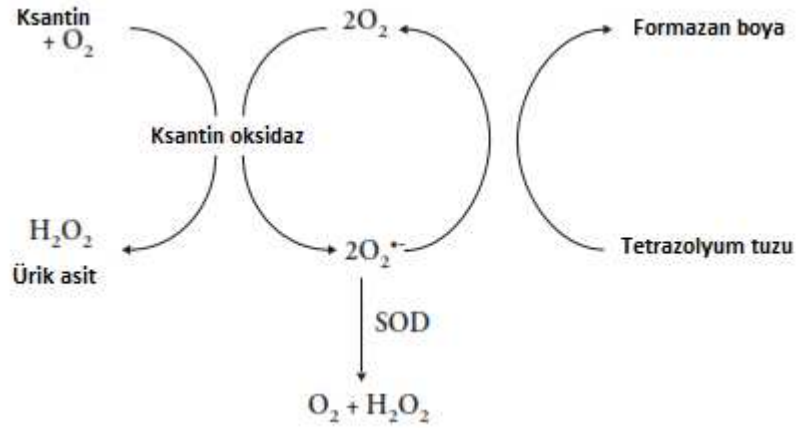
Şekil 3.2. MDA Standartlarının absorbans değerlerinin konsantrasyonlarına karşı grafiği

### 3.2.4. Süperoksit Dismutaz (SOD) ölçümü

Ölçüm Cayman (A.B.D.) marka ticari kit ile üretici firmanın belirtmiş olduğu şekilde çalışıldı.

#### 3.2.4.1. Prensip

Ksantin oksidaz enzimi ile ksantinden ürik asit oluşumunu katalizler. Bu sırada oluşan süperoksit ( $O_2^*$ ), süperoksit dismutaz enzimi ile oksijen ve hidrojen peroksiti oluşturur. Oluşan süperoksit, SOD enziminin yetmediği durumda tetrazolyum tuzu ile reaksiyona girerek formazan boyasını oluşturur ve SOD aktivitesi bu reaksiyonun inhibisyon derecesi ile ölçülür.



**Şekil 3.3.** Tetrazolyum tuzun oluşumu

20 mM HEPES tamponu, 1 mM EGTA, 70 nM sukroz kullanılarak doku homojenat tamponu hazırlandı ve pH'ı 7.2'ye ayarlandı. 1 g dokuya 10 ml tampon kullanılacak şekilde dokular tartılarak tüplere tamponlar ile beraber konuldu. Dokular tüplerde homojenize edildikten sonra 1500g'de 5 dakika boyunca santrifuj edilerek supernatanları alındı ve çalışılmaya başlandı. Çalışma boyunca yapılan işlemler tabloda gösterilmiştir.

**Tablo 3.2.** SOD çalışma tablosu

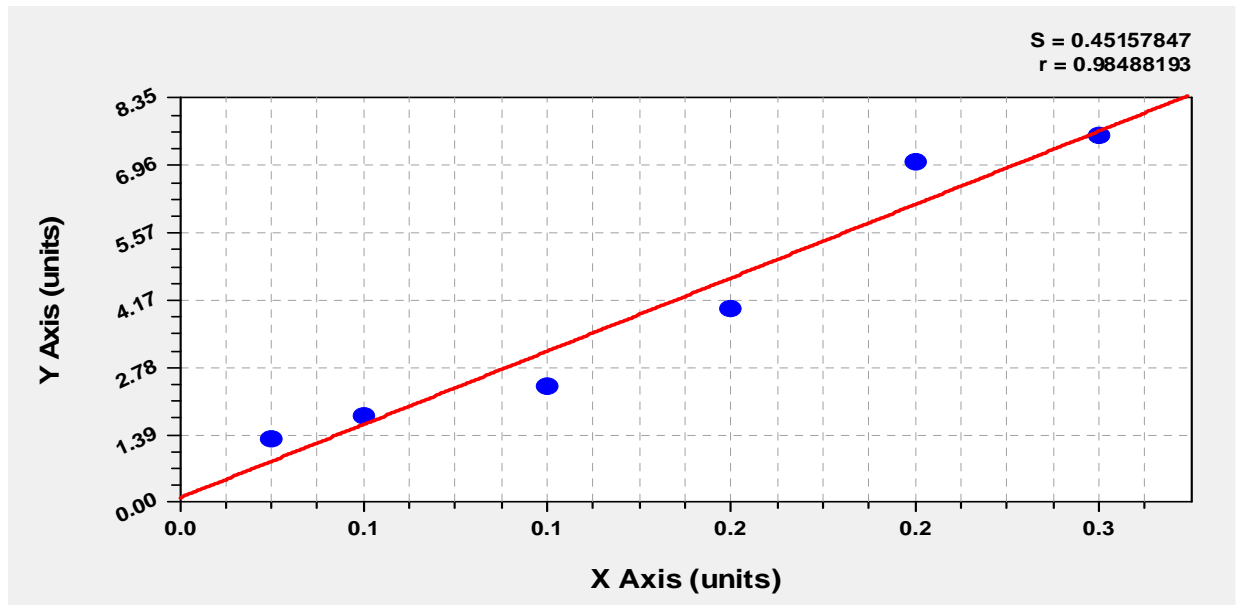
	<b>Kör</b>	<b>Standard</b>	<b>Örnek</b>
<b>Radikal saptayıcı</b>	-	200 µl	200 µl
<b>Standard</b>		10 µl	-
<b>Örnek</b>	-	-	10 µl
<b>Xsantin oksidaz</b>	-	20 µl	20 µl
<b>20 dakika çalkalandıktan sonra 440 nm de okundu</b>			

### 3.2.4.2. Hesaplama

Körün absorbanası, standartların ve örneklerin absorbanlarına bölündü. Doğrusal oranlar (LR) elde edildi ve oluşturulan bu yeni değerler ile grafik oluşturuldu. Elde edilen eğrinin değerleri ile örneklerin SOD konsantrasyonu (U/ml) hesaplandı.

$$SOD \left( \frac{U}{ml} \right) = \left[ \left( \frac{\text{Örnek doğ. oran} - y_{\text{kesişim}}}{\text{eğim}} \right) \times \frac{0,23ml}{0,01ml} \right] \times \text{dilüsyon}$$

Denklemdede doğrusallaştırılmış değerler (sample LR) kullanıldı. Oluşturulan grafiğın sabit değeri (y-intercept) ve eğimi (slope) kullanıldı. 0.23ml kuyucuğa konulan toplam hacim, 0.01ml ise örnek hacmidir. Sulandırma kullanılmadığı için dilüsyon katsayısı ile son sonuç çarpılmamıştır.



Şekil 3.4. SOD Standartlarının absorban değerlerinin konsantrasyonlarına karşı grafiği

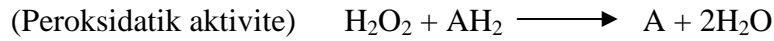
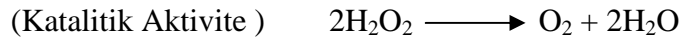


### 3.2.5. Katalaz (CAT) ölçümü

Ölçüm Cayman (A.B.D.) marka ticari kit ile üretici firmanın belirtmiş olduğu şekilde çalışıldı. 1 g dokuya 10 ml tampon kullanılacak şekilde dokular tartılarak tüplere tamponlar ile beraber konuldu ve çalışma bu şekilde yapıldı.

#### 3.2.5.1. Prensip

Katalaz enzimi reaktif oksijen ürünleri ile oluşan hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) molekülünü oksijen ve suya çevirerek dokular için zararsız hale getirir. İki molekül hidrojen peroksit, katalaz enzimi ile reaksiyona girerek bir molekül oksijen ( $O_2$ ) iki molekülde su ( $H_2O$ ) oluşturur. Aynı zamanda katalaz enzimi peroksidatik aktiviteye sahiptir. Düşük molekül ağırlıklı alkoller elektron vericisi olarak kullanılmasını sağlamaktadır. Kullanılan bu kit peroksidatik aktiviteyi kullanarak CAT enzim aktivitesini ölçmektedir. Metod hidrojen peroksit yokluğunda CAT enziminin metanol ile reaksiyona girmesi ile işlemektedir. Bu reaksiyon sonucu oluşan formaldehit kromojen görevi görmekte ve pembe bir renk oluşturmaktadır.



Çalışma sırasında izlenen yol tabloda gösterilmiştir.

**Tablo 3.3.** CAT çalışma tablosu

	Kör	Standart	Kontrol	Örnek
Belirteç tamponu	-	100 µl	100 µl	100 µl
Methanol	-	30 µl	30 µl	30 µl
Standart	-	20 µl	-	-
Örnek	-	-	-	20 µl
Kontrol	-	-	20 µl	-
Hidrojen	-	20 µl	20 µl	20 µl

peroksit				
20 dakika oda sıcaklığında çalkalandı				
Potasyum hidroksit	-	30 µl	30 µl	30 µl
Katalaz	-	30 µl	30 µl	30 µl
Plak kapatılarak 10 dakika oda sıcaklığında çalkalandı.				
Ardından bütün kuyucuklara 10 µl katalaz eklendi ve tekrar plak kapatılarak oda sıcaklığında çalkalayıcıda 5 dakika inkübe edildi.				
540 nm de değerler okunarak absorbansları bulundu.				

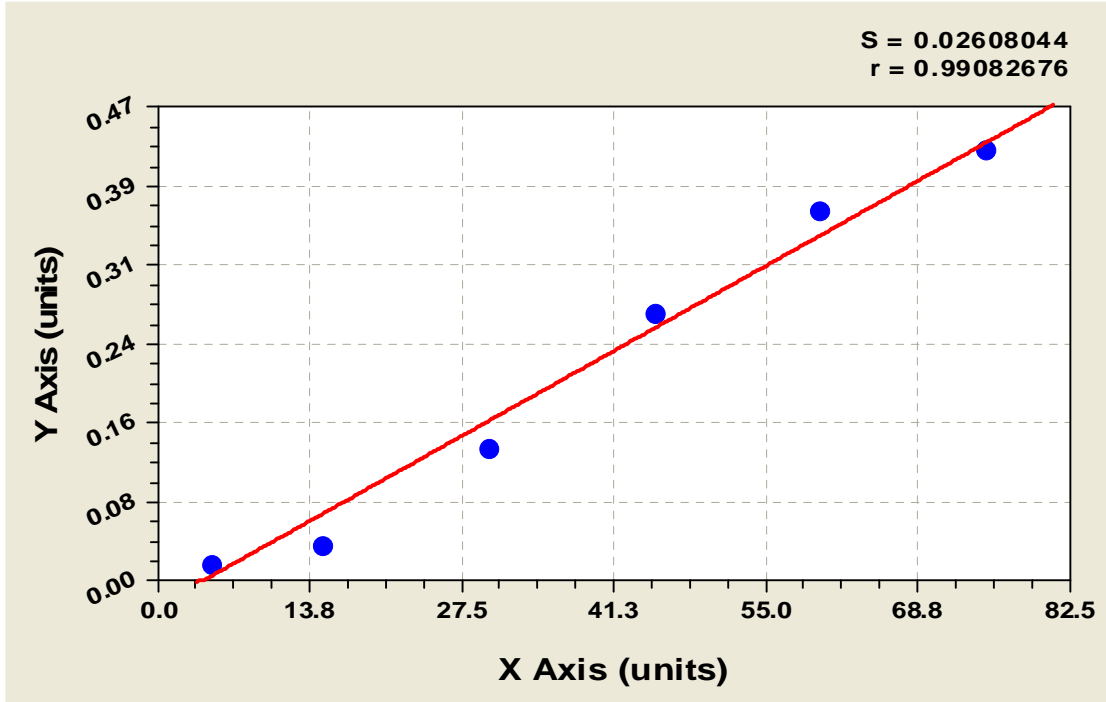
### 3.2.5.2. Hesaplama

Kit dahilinde verilen standartların optik dansiteleri ölçülerek konsantrasyonlarına karşı grafik oluşturuldu ve oluşturulan grafiğin eğim değerleri alınarak dokularda bulunan katalaz enzim aktivitesi için hesaplamalar yapıldı.

$$\text{Formaldehit } (\mu\text{M}) = \left[ \frac{\text{örnek absorbansı} - (y_{\text{kesişim}})}{\text{eğim}} \right] \times \frac{0,17\text{ml}}{0,02\text{ml}}$$

$$\text{CAT aktivitesi (nmol / dk / ml)} = \frac{\mu\text{M örnek}}{20 \text{ dk.}} \times \text{dilüsyon}$$

Ölçülen absorbans değerlerinin yanında grafik ile bulunan eğim değeri ve sabit değer kullanılarak formüle yerleştirildi. Formülde bulunan 0.17ml kuyucuğa konulan toplam hacmi, 0.02ml ise koyulan hidrojen peroksit miktarını göstermektedir. Verilen değerler ile formaldehit miktarı bulunduktan sonra bulunan değer 20'ye bölünerek CAT aktivitesi (nmol/dk/ml) ölçülmüştür. 20 dakikalık inkübasyon süresi olduğundan formaldehit miktarı bu sayıya bölünmüş, herhangi bir dilüsyon işlemi uygulanmadığı için dilüsyon katsayısı ile çarpılmamıştır.



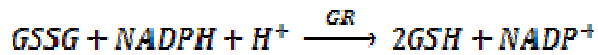
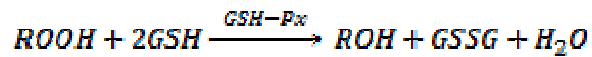
Şekil 3.5. CAT Standartlarının absorbans değerlerinin konsantrasyonlarına karşı grafiği

### 3.2.6. GSH-Px (Glutasyon Peroksidaz) ölçümü

Ölçüm Cayman (A.B.D.) marka ticari kit ile üretici firmanın belirtmiş olduğu şekilde çalışıldı. 1 g dokuya 10 ml tampon kullanılacak şekilde dokular tartılarak tüplere tamponlar ile beraber konuldu ve çalışma bu şekilde yapıldı.

#### 3.2.6.1. Prensip

Glutasyon peroksidaz enzimi hidrojen peroksitin su ve singlet oksijene çevrilmesini ve bunuda redükte GSH'ı okside GSH'a (GSSG) çevrilmesi ile katalizler. Okside GSH'ın (GSSG) oluşum hızı GSH-Px enziminin aktivitesini göstermektedir. Glutasyon redüktaz enzimi GSSG'nin yükseltgenerek tekrar GSH'a dönüşümünü sağlar. Buda NADPH ile gerçekleşir. Ortamdaki NADPH'ın oksidasyonu 340nm dalga boyundaki absorbansı düşürür ve bu absorbans farkı ile GSH-Px aktivitesi belirlenir.



**Tablo 3.4.** GSH-Px çalışma tablosu

	Kör	Standart	Kontrol	Örnek
Belirteç tamponu	120 µl	-	100 µl	100 µl
Co-substrat karışımı	50 µl	-	50 µl	50 µl
Sulandırılmış GH-Px (kontrol)	-	-	20 µl	-
Örnek				
Cumene Hydroperoxide	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Her dakikada bir absorbans değerleri 340nm'de okunarak 5 dakika boyunca not edildi				

### 3.2.6.2. Hesaplama

Kör ve kontrol değerlerinin yanında homojenatların absorbansları her dakikada bir olmak üzere 5 kere okunarak kaydedilir. Ardından kaydedilen absorbans değerleri kullanılarak aradaki absorbans farkı bulunur ve bu değer ile GSH-Px aktivasyonu hesaplanır.

$$\Delta A_{340}/dk. = \frac{|A_{340}(Zaman 2) - A_{340}(Zaman 1)|}{(Zaman 2)(dk.) - (Zaman 1)(dk.)}$$

$$GSH - Px \text{ aktivitesi } \left( \frac{nmol/dk}{ml} \right) = \frac{A_{340}/dk}{0.00373 \mu M^{-1}} \times \frac{0,19ml}{0,02ml} \times \text{dilüsyon}$$

340nm dalga boyunda NADPH'in ekstinksiyon katsayısı 0,00373  $\mu M^{-1}$ 'dir. 0.19ml kuyucuktaki toplam hacim, 0.02ml ise örnek hacmidir.

#### **4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

İstatistik incelemede, SPSS for Windows istatistik paket programının 15.0 versiyonu kullanıldı. Bağımsız grup karşılaştırmalarında Kruskal Wallis Varyans Analizi; farklılık olan gruplarda ise ikili karşılaştırma için Mann Whitney testi kullanılmıştır. Sürekli değişkenler arasında ki ilişkiyi incelemek için Spearman korelasyon analizi kullanılmıştır.

## 5. BULGULAR

Çalışmaya her bir grupta 8 sıçan bulunmak üzere toplam 40 sıçan dahil edilmiştir. Sıçanların diyabet oluşturulmasında sonra vitaminlerin verilmesi aşamasında kontrol grubundan iki, diyabet, diyabet E vitamini, diyabet C vitamini ve diyabet E,C gruplarının her birinden üçer sıçanın ölmesi üzerine çalışmaya toplam 21 sıçan (K=6, D=5, E=5, C=5, EC=5) ile devam edildi.

**Tablo 5.1.** Her deneğin CAT, SOD, GSH-Px, MDA değerleri

	CAT (nmol/dk/ml/gr doku)	SOD (U/ml/gr doku)	GSH-Px aktivitesi (nmol/dk/ml/gr doku)	MDA (µM/gr doku)
<b>K1</b>	27,77	1,60	218,40	7,41
<b>K2</b>	28,40	1,83	227,95	6,84
<b>K3</b>	29,36	1,98	219,03	8,31
<b>K4</b>	27,55	1,45	254,05	7,17
<b>K5</b>	23,45	1,88	222,22	6,31
<b>K6</b>	29,75	2,05	217,76	6,39
<b>D1</b>	28,97	2,37	302,45	9,26
<b>D2</b>	29,40	2,30	310,72	8,44
<b>D3</b>	29,89	2,54	315,82	9,83
<b>D4</b>	32,87	2,14	340,01	8,40
<b>D5</b>	27,63	2,35	317,09	9,46
<b>E1</b>	28,23	2,66	255,97	7,86
<b>E2</b>	32,41	2,45	228,59	7,12
<b>E3</b>	23,80	2,44	196,75	6,84
<b>E4</b>	25,54	1,41	248,32	7,33
<b>E5</b>	25,25	2,50	233,68	5,49
<b>C1</b>	28,12	2,45	248,96	7,04
<b>C2</b>	20,86	2,10	266,79	7,82
<b>C3</b>	29,64	1,84	260,42	7,70
<b>C4</b>	29,50	2,77	259,79	8,31
<b>C5</b>	24,37	1,52	245,78	8,89
<b>EC1</b>	27,73	1,57	234,95	6,59
<b>EC2</b>	26,31	1,41	213,30	7,04
<b>EC3</b>	23,30	1,74	213,94	7,17
<b>EC4</b>	26,63	1,52	234,95	7,29
<b>EC5</b>	28,05	1,45	238,14	7,12

**Tablo 5.2.** Grupların ortalama CAT, SOD, GSH-Px, MDA değerleri

Grup	Kontrol	Diyabet	Diyabet + E Vitamini	Diyabet + C Vitamini	Diyabet + E + C Vitamini	p değeri
MDA <sup>a,b,c,d</sup> ( $\mu$ M/gr doku)	7,07 $\pm$ 0,75	9,08 $\pm$ 0,64	6,93 $\pm$ 0,89	7,95 $\pm$ 0,69	7,04 $\pm$ 0,27	0,007
CAT (nmol/dk/mL/gr doku)	27,71 $\pm$ 2,26	29,75 $\pm$ 1,94	27,04 $\pm$ 3,4	26,5 $\pm$ 3,8	26,41 $\pm$ 1,88	0,238
SOD <sup>e,f,g</sup> (U/ml/gr doku)	1,8 $\pm$ 0,23	2,34 $\pm$ 0,14	2,29 $\pm$ 0,5	2,14 $\pm$ 0,49	1,54 $\pm$ 0,13	0,02
GSH-Px <sup>h,i,j,k,l,m</sup> (nmol/dk/ml/gr doku)	226,57 $\pm$ 13,98	317,22 $\pm$ 13,98	232,66 $\pm$ 22,89	256,35 $\pm$ 8,71	227,06 $\pm$ 12,34	0,001

(a: K ve D arasındaki fark p=0,004, b: D ve E arasındaki fark p=0,008, c: D ve C arasındaki fark p=0,032, d: D ve EC arasındaki fark p=0,008, e: K ve D arasındaki fark p=0,04, f: D ve EC arasındaki fark p=0,008, g: C ve EC arasındaki fark p=0,032, h: K ve D arasındaki fark p=0,004, i: K ve C arasındaki fark p=0,017, j: D ve E arasındaki fark p=0,008, k: D ve C arasındaki fark p=0,008, l: D ve EC arasındaki fark p=0,008, m: C ve EC arasındaki fark p=0,008)

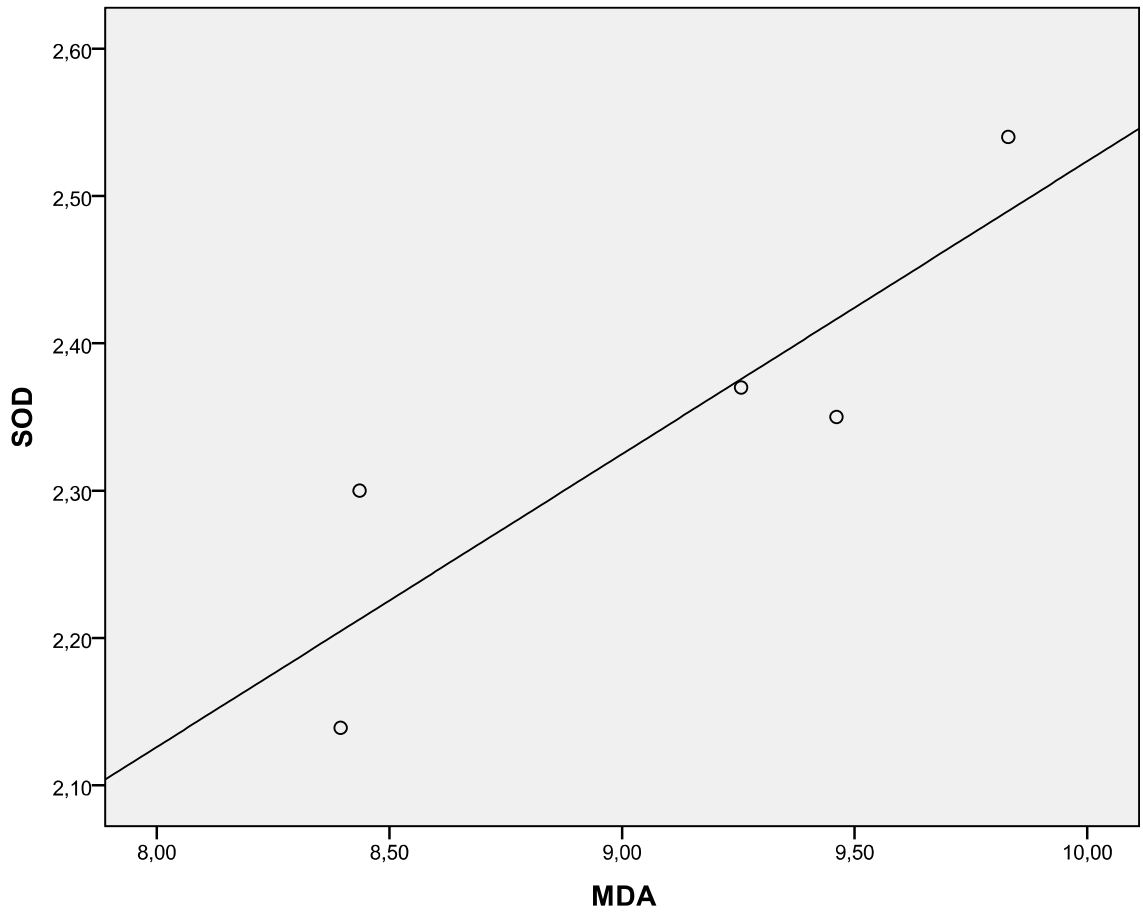
MDA düzeyi ölçümlerinde K grubu D grubuna göre anlamlı olarak (p=0,004) düşük bulunmuştur. D grubu düzeyi, E (p=0,008), C (p=0,032) ve EC (p=0,008) gruplarına göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Yapılan ikili karşılaştırma sonuçlarına göre katalaz (CAT) enzimi ölçümlerinde 5 grup arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmamıştır (p>0,05).

SOD enzim değerleri karşılaştırıldığında, K grubu D grubuna göre anlamlı şekilde düşük bulunmuştur (p=0,004). D grubu (p=0,008) ve C grubu (p=0,032) değerleri EC grubuna anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur.

GSH-Px enzim düzeyleri incelendiğinde ise, K grubunun değerleri D (p=0,004) ve C (p=0,017) gruplarının değerlerine göre anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. D grubu düzeyleri de E (p=0,008), C (p=0,008) ve EC (p=0,008) gruplarına göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur.

Aynı zamanda her grup için korelasyonlara da bakıldı ve sadece D (diyabet) grubunun MDA ve SOD değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (p=0,037, r=0,9). Diyabet grubunda MDA ve SOD değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif yönde kuvvetli ilişki olduğu görüldü (Şekil 5.1).



**Şekil 5.1.** MDA ve SOD değerleri arasındaki istatistiksel ilişki



## 6. TARTIŞMA

Dünyada ve ülkemizde giderek artan diyabet, komplikasyonları ile birçok hastalığa sebep olmaktadır. Bu nedenle sürekli kontrol ve tedavi gerektiren bir hastalıktır. Erken teşhis ile birçok komplikasyonun önlenilebileceği diyabet, uzun vadede vücutta kalıcı hasarlar bırakabilmektedir. Yapılan birçok çalışma E ve C vitaminlerinin, diyabet ile oluşan oksidatif strese karşı, antioksidan etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Van vd 1998).

Diyabet, oksidatif stresi tetikleyen bir hastalıktır ve kişilerin plazma ve dokularında lipid peroksidasyon ürünlerinin artmasına sebep olur. Lipid peroksidasyon ürünü olan serbest radikaller oldukça reaktiftir. Bu reaktiflerin dokularda meydana getirdiği değişiklikler, hasar mekanizmaları ve bu hasarı önleyebilecek vitaminler ile ilgili birçok çalışma yapılmış ve yayınlanmıştır (Halifeoğlu vd 2005, Avcı 2001, Tekkes 2006).

Diyabet sonucu oluşan en önemli komplikasyonlardan biri de böbrek yetmezliğidir (nefropati). Ichikiawa ve ark. diyabet sonucu oluşan serbest oksijen radikallerinin nefropatiyi tetiklediğini ve antioksidan yapıdaki enzimlerin bu tetiklemeyi engellediğini göstermiştir (Ichikawa 1994).

Bu çalışmamızda STZ ile deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanların böbrek dokularında oluşabilecek oksidatif hasar ve bu hasarı engellemeye yönelik verilen E ve C vitaminlerinin etkili olup olmadıkları araştırılmıştır. Bu amaçla alınan böbrek dokularında MDA düzeyinin yanı sıra SOD, GSH-Px ve CAT enzimlerinin aktiviteleri ölçülmüştür.

STZ-diyabetik sıçanların CAT, SOD ve GSH-Px gibi antioksidan enzim düzeyleri üzerine belirlenmiş bir fikirde uzlaşmamış, ancak diyabetin bu enzim düzeylerinde çeşitli değişikliklere neden olduğu saptanmıştır. Oluşan serbest radikallerin antioksidan enzimlerin aktivitelerini inhibe ettiği gibi inhibe etmediğini

veya tam tersine bu enzimlere ait değerlerin yükseldiğini gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur (Meral vd 2001, Sindhu vd 2004).

Reaktif oksijen ürünlerinin oluşmasına neden olan STZ, aynı zamanda DNA kırılmalarına ve hücrede istenmeyen değişikliklere sebep olmaktadır. Yapılan çalışmalarda STZ kaynaklı süperoksit üretiminin hem mitokondri üzerinde hem de ksantin oksidazın artmış aktivasyonu sonucu oluştuğu belirtilmiştir. Streptozotosinin krebs döngüsünü inhibe ettiği ve sonuçta mitokondride oksijen kullanımını azaltarak ATP üretimini sınırladığı gösterilmiştir. Artmış ATP defosforilasyonu ksantin oksidaz için substrat sağlamakta ve ATP' nin yıkımının son ürünü olan ürik asit üretimini artırmaktadır. Ksantin oksidazın katalizlediği reaksiyon ile süperoksit anyonu, buna bağlı olarak da hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri oluşmaktadır (Szkudelski 2001).

Son yıllarda yapılan birçok çalışma, E ve C vitaminlerinin antioksidan etkili vitaminler olduğunu göstermiş, ancak farklı sonuçlar elde edildiği görülmüştür (Murase vd 1998, Sun vd 1999, Aksoy vd 2005). Bu farklılık diyabetin oluşturulma şeklinden, diyabet tipinden veya vitaminlerin verilme konsantrasyonlarından kaynaklanabilir. Çalışmamız sonucunda E ve C vitaminlerinin böbrek dokusunda antioksidan sisteme ait parametreler olan SOD, GSH-Px, ve MDA değerlerine etki ettiği görülmüştür.

Streptozotosin verilmiş sıçanların pankreatik  $\beta$  hücrelerinin kalıcı hasara uğradığı bilinmektedir. Bu yüzden STZ, hayvanlarda tip 1 diyabet oluşturmak üzere kullanılmaktadır. STZ-diyabetik sıçanlarda E vitamininin antihiperглиsemik etkisi olduğu ve böbreklerde hiperглиsemi ile oluşan oksidatif strese karşı koruyucu bir etkisinin olduğu gösterilmiştir. Çalışmanın diyabetik sıçanlarda E vitamininin antihiperглиsemik etkisini desteklediği ve vitamin E'nin insan çalışmalarında gösterilen insülin etkisini iyileştirdiği yönündeki veriler ile uyumlu olduğu belirtilmiştir. Ayrıca çalışmada E vitamini verilen sıçanlarda glukoz salınımında belirgin bir azalma gözlendiği, diyabetik sıçanlarda tübüler hasar göstergesi olarak protein ve glukoz atılımının arttığını ancak vitamin E verilen diyabetik sıçanlarda bu atılımların azaldığını göstermişlerdir (Cojocel vd 2005).

Diyabetik nefropati birçok patojenik mekanizma ile oluşabilmektedir ve oksidatif hasar bunlardan birisidir. STZ diyabetik sıçanların renal kortekslerinden alınan

örnekler incelenmiştir. Primer antioksidan olarak GSH-Px, oksidatif stres gösterici olarak ise MDA ölçümleri yapılmıştır. Çalışma sonucunda diyabetik sıçanların MDA düzeyi kontrol grubuna göre yüksek, E vitamini verilen diyabetiklerde ise diyabetiklere göre düşük bulunmuştur. GSH-Px düzeyi kontrol grubu sıçanlara göre düşük bulunmuş, E vitamini verilen diyabetiklerde ise GSH-Px düzeyi kontrol grubuna yaklaşmıştır. Bu sonuçlara göre oksidatif hasarın diyabetik nefropati gelişiminde etken olabileceği ve vitamin E'nin renal korteksi antioksidan etkisi ile lipid peroksidasyonundan koruduğunu göstererek, vitamin E'nin erken koruyucu etkisinin antihiperglisemik etkisine ve/veya serbest radikal yakalama etkisine bağlı olabileceğini belirtmişlerdir (Cojocel vd 2005).

Diğer bir çalışmada Rauscher ve ark. STZ-diyabetik sıçanlarda lipofilik fenol bileşiği olan izoögenolün oksidatif stres yollarına etkisi araştırarak karaciğer, böbrek, beyin ve kalp dokusundaki antioksidan düzeylerini ölçmüştür. Çalışma sonucunda diyabetik sıçanlarda böbrek dokusunda GSH-Px ve SOD enzim aktivitelerinde kontrol grubuna göre artış görülürken CAT düzeyinde anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır. Diyabetik sıçanlara izoögenol verilmesi ile SOD düzeyinin diyabetik sıçanlara göre düştüğü, GSH-Px düzeyinin ise diyabetik sıçanlara göre daha arttığı belirtilmiştir. Bu sonuçlar ile STZ-diyabetik sıçanların dokularındaki enzim aktivitelerinin farklı mekanizmalar ile artabileceği ya da azalabileceği belirtilerek, antioksidan etkiye sahip izoögenalin, artan veya azalan aktiviteyi normal düzeye yaklaştırdığı belirtilmiştir. Bu çalışmadaki enzim düzeyleri karşılaştırıldığında diyabetik sıçanlar ile kontrol grubu arasında ki enzim artışı çalışmamızla paralellik göstermiş ve aynı sonuçlar elde edilmiştir. (Rauscher vd 2001).

Jang Y.Y. ve ark. ise STZ-diyabetik sıçanlara bir alkaloid olan boldin vererek antioksidan düzeye olan etkisini araştırmışlardır. Karaciğer, pankreas ve böbreklerde yapılan çalışma sonucunda MDA, MnSOD ve GSH-Px düzeyindeki değişimler ortaya konulmuştur. MDA düzeyinde diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre gözle görülür bir artış gözlenirken boldin tedavisi uygulanan diyabetiklerde çok az bir düşüş olduğu görülmüştür. Diyabetik sıçanlarda MnSOD ve GSH-Px enzim aktiviteleri kontrol grubuna kıyasla artış göstermiştir. Boldin verilen diyabetik sıçanlarda ise MnSOD düzeyi diyabetiklere göre düşüş göstermiş, GSH-Px düzeyinde ise bir değişiklik olmamıştır. Bozulmuş metabolizma ve tehlikeli detoksifikasyonlar, kimyasal olarak modifiye olmuş proteinlerin oluşmasına öncülük etmektedir. Bu da oksidatif strese ve

doku hasarına sebep olarak komplikasyonların oluşmasına yol açmaktadır. STZ'nin 15 dakikalık bir yarılanma ömrü olduğu için antioksidan enzim aktivitesine direkt olarak etki etmediği ancak oluşan diyabetin enzim aktivitesindeki değişimin öncelikli sebebi olduğu belirtilmektedir. STZ'nin enzim düzeyindeki değişime ikincil olarak etkili olabileceği öne sürülmektedir. Bu çalışmada süperoksit anyonlarının fazla üretiminden kaynaklı olarak MnSOD enziminin aktivitesi karaciğer, böbrek ve pankreasta artmıştır. GSH-Px enziminin aktivitesi ise aynı sebeplerden dolayı pankreas ve böbrekte artmış şekilde bulunmuştur. Çalışmamızda diyabet grubunda bulunan SOD ve GSH-Px enzim aktivite düzeyleri (Jang vd 2000).

Dut yapraklarının STZ-diyabetik sıçanların antioksidan düzeyine etkisinin araştırıldığı bir diğer çalışmada, diyabetik sıçanların kontrol grubu ile karşılaştırıldığında SOD, GSH-Px enzim düzeylerinde düşüş, CAT enzim düzeyinde ise yükselme görülmüştür. Çalışmada diyabet ile oluşan kalıcı hipergliseminin, enzimatik olmayan glukasyona sebep olduğu, bununda antioksidan enzimlerin deaktivasyonuna sebep olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada SOD ve GSH-Px ın hidrojen peroksitin indirgenmesinde önemli rol oynadığı ve hücre proteinleri ile hücre membranını oksidatif strese karşı koruduğu belirtilmiştir (Andallu ve Varadacharyulu 2003).

Beshay ve Carrier (2004), yaptıkları çalışmada diyabet oluşturulan sıçanların karaciğer ve kalp dokuları ile serum CAT düzeyinde belirgin bir artış görülürken böbrek dokusunda düşüş olduğunu, SOD düzeyinde ise dokularda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını belirtmişler (Beshay ve Carrier 2004).

Dehidroepiandrosteron'un STZ-diyabetik sıçanlardaki antioksidan etkisinin incelendiği bir başka çalışmada diyabetik sıçanların karaciğer dokusunda GSH-Px, CAT ve SOD düzeyleri ölçülmüştür. Diyabetik sıçanlarda CAT ve GSH-Px aktivitelerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında arttığı, SOD düzeyinin ise düştüğü belirtilmiştir (Aragno vd 1999).

Buna benzer bir diğer çalışmada karaciğer dokularında ölçülen SOD ve CAT enzim aktivitelerinin diyabetiklerde kontrol grubuna göre arttığını gösterirken, GSH-Px aktivitesinin düştüğü gösterilmiştir. SOD düzeyindeki artış CAT aktivitesi nedeni ile hücre içindeki hidrojen peroksit konsantrasyonunun düşüşü ile ilişkilendirilmiştir. Diyabetin ilk evrelerinde gerçekleşen oksidatif stresin SOD aktivitesini artırdığı öne

sürülmüş ve bu durumun diğer enzimlerde de aynı şekilde gerçekleşebileceği belirtilmiştir (Lee 2005).

Haidara ve ark. (2009) sıçan modelinde diyabetik nefropatinin oluşumunda ROS'un önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Ayrıca insülin tedavisi ile birlikte E vitamini verilmesinin renal fonksiyon kaybını engellemede insüline ilave bir etki oluşturduğunu da göstermişlerdir. Bunu da diyabetik sıçanlarda artmış serum ve kreatinin düzeylerinin vitamin E verilmesi ile kontrol düzeylerine inmesi ile göstermişlerdir (Haidara vd 2009). Vitamin E'nin, STZ-diyabetik sıçanlarda nefropatinin ilk aşaması olan glomeruler hiperfiltrasyonu engellediği ve artan albüminüriyi önlediği gösterilmiştir (Koya vd 2003). Çalışmada glutatyon peroksidaz aktivitesinin diyabetik sıçanlarda azaldığı ve vitamin E verilmesi ile normal düzeylere geldiği gösterilmiştir. Çeşitli araştırmacılar hipergliseminin hücrelerdeki glutatyon peroksidaz aktivitesi üzerine olan olumsuz etkilerinin inflamatuvar bir sitokin olan nükleer faktör kapa B (NF-B)'nin artışına bağlı olduğunu öne sürmüşlerdir. ROS'ların sinyal yollarını (PKC, MAPK, and JAK/STAT) ve transkripsiyon faktörlerini (NF-B gibi) aktive ettikleri bilinmektedir. ROS'un ortadan kaldırılmasının NF-B'de azalmaya neden olacağı bunun da diyabetik hayvanların böbrek dokularında glutatyon düzeylerinin normal düzeylere gelmesi ile sonuçlanacağını öne sürmüşlerdir (Haidara vd 2009).

Diğer bir çalışmada STZ-diyabetik sıçanlarda lipid hidroperoksidlerinin arttığı gösterilmiştir. STZ-diyabetik sıçanların plazma, karaciğer ve böbreklerinde C vitamini düzeylerinde azalma görülmüştür. Bu azalmanın nedeni ise, diyabete bağlı oluşan lipid peroksidasyonu ile artış gösteren oksidatif strese karşı C vitamini kullanımının artmış olmasıdır (Sun vd 1999).

Lipid peroksidasyonunun bir göstergesi kabul edilen MDA'nın, diyabet oluşturulmuş sıçanlarda diğer lipid peroksidasyon ürünleri ile birlikte kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Öztürk 2007, Kuru 2009, Zhang 2000). İnsülin ve boldin gibi yapılar bu düzeyleri belirli dokularda düzeltebilse de bazı dokulara etki etmemektedir. Jang ve ark. yaptığı çalışmada boldinin karaciğer ve pankreasta enzim aktivitesini düzelttiğini, fakat böbrekte düzeltmediğini göstermişlerdir (Jang vd 2000).

Ulus ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlara vitamin E ve stobadin verilerek kalp, beyin, böbrek dokularında ki MDA, SOD ve CAT düzeyleri ölçülmüştür. Çalışma sonucunda STZ-diyabetik sıçanların MDA düzeylerinin kalp ve beyinde yükseldiği görülürken, böbrekte MDA düzeylerinin azda olsa düştüğü görülmüştür. SOD ve CAT enzim düzeylerinin ise kontrol grupları ile karşılaştırıldığında diyabetik sıçanlara göre böbrekte dokusunda düştüğü gösterilmiştir (Ulus vd 2003).

Yapılan bir diğer çalışmada STZ-diyabetik sıçanlara gavaj ile 10 hafta süreyle E vitamini verilmiş ve böbrek dokusundaki antioksidan parametrelere bakılmıştır. Bunun sonucunda MDA'nın diyabetik gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı gözlenmiştir. Ancak diyabet olup E vitamini verilen diğer grupta E vitamininin oksidatif strese karşı herhangi bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Bunun yanı sıra GSH-Px aktivitesi diyabetik gruplarda artış gösterirken SOD aktivitesi diyabetli sıçanlarda kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur (Avcı 2001).

Tekkes (2006), yaptığı çalışmada STZ-diyabetik sıçanlara aspirin ve E vitamini vererek karaciğer, kalp, beyin ve böbrek dokularındaki lipid peroksidasyonunu ve enzim aktivasyonlarını değerlendirmiştir. Çalışması sonucunda STZ-diyabetik sıçanların MDA düzeyinin diğer bütün gruplara göre yüksek olduğu, verilen E vitamininin ise bu düzeyi diyabetik sıçanlara göre düşürdüğü belirlenmiştir (Tekkes 2006). Diyabetik sıçanlarda artmış MDA düzeylerinin artmış süperoksid radikal üretimini yansıttığı ve MDA düzeylerinin azalmasının oluşan radikalleri vitamin E tarafından yakalanmasına bağlı olabileceği belirtilmektedir (Haidara vd 2009).

STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda GSH-Px düzeyinin kontrol grubuna göre diyabetiklerde arttığı görülmüştür (Kök 2011).

Kamalakkannan ve Prince'in (2006) yaptığı çalışmaya göre ise STZ ile diyabetik yapılan sıçanlara E ve C vitamini verilerek karaciğer, böbrek ve beyinde SOD, GPx düzeylerine bakılmıştır. Diyabetik sıçanların enzim düzeylerinde düşüş görülürken, rutin vitamin verilen gruplarda düzelme meydana geldiği belirtilmiştir (Kamalakkannan ve Prince 2006).

Bir diğerk çalışmada ise diyabetik sıçanlardaki SOD aktivitesinin kontrol grubuna göre düşük olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada E vitamininin bu düzeye bir etkisinin olmadığı, GSH-Px aktivitesinin kontrol grubuna göre arttığı, E vitamininin ise diyabetik sıçanlarda çok az bir GSH-Px enzim artışı sağladığı gösterilmiştir (Avcı 2001).

Bu bilgiler ışıkında çalışmamızda, diyabet grubunda görölen MDA düzeyindeki artış lipid peroksidasyonunun olduğu ve dolayısı ile serbest radikallerin diyabet ile birlikte organizmada arttığı gösterilmiştir. Vitamin E ve vitamin C'nin verilmesi ile de bu düzeylerin düştüğu ve lipid peroksidasyonuna vitaminlerin olumlu etki ettiği de gösterilmiştir. Bu olumlu etkinin sebebi ise vitamin E ve vitamin C'nin çeşitli mekanizmalar ile radikallerin ortamdan uzaklaştırılması ile MDA oluşumunun engellendiği görüşündeyiz.

Antioksidan savunma sistemi enzimleri olan SOD ve GSH-Px enzim düzeylerinde ise STZ-diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre artış görölmüştür. Bu artışın sebebi muhtemelen diyabete bağlı artmış olan radikallerin ortadan kaldırılması için antioksidan savunma sisteminin aktive olmasıdır. Diyabetik gruba Vitamin E ve vitamin C verilmesi ile artmış olan enzim düzeylerinin düştüğu görölmüştür. Vitaminlerin antioksidan etkileri ile radikallerin ortadan kaldırılması sonucu bu enzimlerin aktivasyonunda diyabetiklere göre azalma olduğu düşünölmüştür.

Antioksidan savunma sistemi enzimlerinden olan CAT enzim düzeyinde ise anlamlı bir farklılık görölmemiştir. Bu durumun organizmadaki mekanizmaların farklılıklarından kaynaklandığı düşünölmüştür.

## 7. SONUÇ

Çalışmamızda 21 STZ-diyabetik sıçanların (K, D, E,C,EC) böbrek dokusu CAT, SOD, MDA, GSH-Px düzeyleri ölçülmüştür.

MDA düzeyi, artan lipid peroksidasyonundan dolayı K grubuna göre D grubunda anlamlı şekilde artış göstermiştir ( $p=0,004$ ). Bununla birlikte uygulanan vitamin tedavisi ile EC grubu, D grubuna göre anlamlı derecede düşüş göstermiştir ( $p=0,008$ ). Aynı şekilde E ve C grupları D grubuna göre düşüş göstermiştir ( $p=0,008$ ,  $p=0,032$ ). Bunun dışında diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

CAT düzeyleri değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ( $p>0,05$ ) saptanmamıştır.

SOD aktivitesinde gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p<0,05$ ). D grubunun SOD aktivitesinde K grubuna göre anlamlı ( $p=0,004$ ) bir artış olduğu görülmüştür. EC grubunun D grubuna göre ( $p=0,008$ ), ve C grubuna göre ( $p=0,032$ ) SOD aktivite düzeyi düşük bulunmuştur. Diyabetik sıçanlara vitamin E ( $p=0,421$ ) ve vitamin C ( $p=0,548$ ) nin ayrı ayrı verilmesi SOD değerlerinde anlamlı farklılık yaratmamıştır.

GSH-Px aktivitesi değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklar görülmüştür ( $p<0,05$ ). GSH-Px düzeyi D grubunda K grubuna ( $p=0,004$ ) göre yüksek saptanmıştır. Diyabetiklere verilen C vitamini bu durumu çok az değiştirerek düşürmüştü, fakat yine C grubu ve K grubu arasında anlamlı bir fark kalmıştır ( $p=0,017$ ). D grubu ise E, C ve EC grupları ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılıklar görülmüştür. Vitamin verilen üç grubun GSH-Px aktivitesi D grubundan düşük ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0,008$ ). C ve EC grupları karşılaştırıldığında ise EC grubunun enzim aktivitesi kontrol değerine yaklaştı ve bu durumda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0,008$ ).



Sonuç olarak yapılan bu çalışmada MDA düzeyinin diyabetik grupta oksidatif stresten kaynaklı radikallerin artmasından kaynaklı yükseldiği düşünülmüştür. STZ-diyabetik sıçanların antioksidan enzim düzeylerinde kontrol gruplarına göre CAT hariç bir artış söz konusudur. Radikallerin artması antioksidan enzim aktivitesini de artırmış ve bu nedenle kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diyabetik grupta enzim düzeyleri yüksek bulunmuştur. Vitamin E ve C verilmesi ile artan enzim düzeylerinin düştüğü görülmüştür. Bunun sebebi olarak da vitaminlerin etkisi ile oluşan radikallerin ortamdan uzaklaştırılması ve enzim aktivitesinin de bu uzaklaştırma sonucu düşmesi olarak yorumlanabilir.

EC grubunun SOD ve GSH-Px enzim düzeylerine bakıldığında sadece vitamin C verilen grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur yani sadece C vitamini verilmesine göre iki vitaminin birlikte verilmesinin daha etkin olduğu görüşünü ortaya koymuştur. Bunun sebebi olarak da C vitamininin E vitaminini indirgediği ve böylece E vitamininin tekrar oksidatif stresi engellemek amacı ile kullanılabilir hale getirdiği ve bu sonuçlara göre her iki vitaminin birlikte kullanılmasının daha etkin olabileceği kanaatine varılmıştır.

## KAYNAKLAR

- Ahima Rexford S., (2009). Connecting obesity, aging and diabetes, *Nature Medicine* 15, 996-997.
- Aksoy N., Vural H., Sabuncu T., Arslan O. Aksoy S., (2005). Beneficial effects of vitamins C and E against axidative stres in diabetic rats, *Nutrition Research*, 25:625-630.
- Altan N., Dinçel A.S., Koca C., (2006). Diabetes Mellitus ve Oksidatif stres, *Türk Biyokimya Dergisi*; 31 (2); 51-56.
- Andallu B., Varadacharyulu N.Ch., (2003). Antioxidant role of mulberry (*Morus indica* L. cv. Anantha) leaves in streptozotocin-diabetic rats, *Clinica Chimica Acta* 338 : 3-10.
- Aragno M., Tamagno E., Gatto V., Brignardello E., Parola S., Danni O., Boccuzzi G., (1999). Dehydroepiandrosterone protects tissues of streptozotocin-treated rats against oxidative stres, *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 26; Nos. 11/12, pp. 1467-1474.
- Avcı A. (2001). Diyabet Oluşturulmuş ratlarda böbrek antioksidan savuma sistemi ve E vitamininin etkileri, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık tezi.
- Bağrıaçık N., (1997). Diabetes mellitus: Tanımı, Tarihçesi, Sınıflaması ve Sıklığı, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Diabetes Mellitus Sempozyumu, s : 9-18.
- Başkal N., (2003). Diabetes Mellitus Tanım, Klasifikasyon, Tanı, Klinik, Laboratuar ve Patogenez, Erdogan G. Klinik Endokrinoloji, 3. Baskı. Ankara, Baran Ofset.
- Beshay E., Carrier S., (2004). Oxidative stres plays a role in diabetes-induced bladder dysfunction in a rat model, *Urology* 64: 1062-1067.
- Bingöl F., Aydın S., Açıkgöz Ş. (1993). Serbest radikaller, *Ankara Hastanesi Tıp Dergisi*; 28:1-23
- Cheeseman, K.H., Slater, T.F. (1993). An introduction to free radical biochemistry, *Brit Med Bulletin*, 149: 481-493.

- Chen, H. And Tappel, A.L. (1996). Protection of multiple antioxidants against heme protein oxidation and lipid peroxidation induced by  $CBrCl_3$  in liver, lung, kidney, heart, and spleen. *J. Agric. Food Chem.* 44(3); 854-858.
- Cojocel C., Al-Maghrebi M., Thomson M.S., Rawoot P., Raghupathy R., (2005). Modulation of the transforming growth factor  $\beta 1$  by vitamin E in early nephropathy, *Med Princ Pract*; 14:422-429.
- Çavuşoğlu C., (2009). Gestasyonel diabetes mellitus olgularında oksidatif stres durumu, TNF- $\alpha$  ve IL-6 düzeyleri, Uzmanlık tezi, Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Bölümü, İSTANBUL.
- Derviş E., (2011). Oral Antioksidanlar, S.B. Haseki Eğitim Hastanesi, Dermatoloji Kliniği, Derleme, *Dermato*; 2(1) : 263-267.
- Dönder E., Ünal M., Dabak D.Ö., Kuloğlu T., Yusuf Ö., (2012). Benfotiamin ve C vitamininin deneysel diyabetik sıçan böbrek dokusundaki değişiklikler üzerine etkilerinin araştırılması, *Fırat Tıp Dergisi*; 17(4): 189-195.
- Duthie, G.G., Wahle, K.W.J. and James , W.P.T. (1989). Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease, *Nutr. Res. Rev.* 2; 51-62.
- Ertürk B. (2006). Akciğer Kanseri Hastalarda Malondialdehit (MDA) ve Total antioksidan kapasite (TAOK) düzeyi ölçümü ile Oksidan-antioksidan dengenin araştırılması. Süreyapaşa Göğüs ve Kalp damar hastalıkları eğitim ve araştırma hastanesi, Uzmanlık tezi, İstanbul.
- Foote, C.S., (1985). Chemistry of reactive oxygen species. In ‘Chemical Changes in Food During Processing’ T. Richardson and J.W. Finley (Eds), Van Nostrand Reinhold Company:17-32.
- Freeman, B.A., Crapo, JD. (1982). Free Radicals and Tissue Injury. *Lab Invest*; 47: 412-425.
- Gutteridge J.M.C., (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem*, 41; 1819-1828.
- Gürdöl F., Ademoğlu E., (2013), *Biyokimya; Nobel Tıp Kitabevleri*.
- Haidara M.A., Mikhailidis D.P., Rateb M.A., Ahmed Z.A., Yassin H.Z., İbrahim İ.M., Rashed L.A., (2009). Evaluation of the effect of oxidative stress and vitamin E supplementation on renal function in rats with streptozotocin-induced Type 1 diabetes, *Journal of Diabetes and Its Complications*, 23 : 130-136.

- Halifeoğlu İ., Karataş F., Çolak R., Canatan H., Telo S., (2005). Tip 2 Diyabetik Hastalarda Tedavi Öncesi ve Tedavi Sonrası Oksidan ve Antioksidan Durum, Fırat Tıp Dergisi; 10(3):117-122.
- Ichikawa I., Kiyama S., Yoshioka T., (1994). Renal antioxidant enzymes: Their regulation and function. *Kidney International*, Vol. 45:1-9.
- Jang Y.Y., Song J.H., Shin Y.K., Han E.S., Lee C.S., (2000). Protective effect of boldine on oxidative mitochondrial damage in streptozotocin-induced diabetic rats, *Pharmacological Research*, Vol. 42, No:4.
- Kamalakkannan N., Prince P.S.M., (2006). Rutin improves the antioxidant status in streptozotocin-induced diabetic rat tissues, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 293 : 211-219.
- Koca N, Karadeniz Feryal, (2005). Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri, *Gıda Mühendisliği Dergisi*, Ankara Üniversitesi.
- Koya D., Hayashi K., Kitada M., (2003). Effects of antioxidants in diabetes-induced oxidative stress in the glomeruli of diabetic rats. *J Am Soc Nephrol*, 14(3), 250-253.
- Kök, D. (2011). Deneysel diyabet oluşturulan ratların böbrek dokusu oksidan ve antioksidan durumu üzerine likopenin etkisi, Yüksek lisans tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Van, 73s.
- Köken T., Serteser M., Kahraman A., Çetinkaya G., (2002). The effects of smoking on oxidative stress in hemodialysis patients, Official journey of the Turkish Society of Nephrology;11(2):121-124.
- Kuru, M. (2009). Diyabetik nefropati oluşturulmuş ratlarda pioglitazonun antioksidan parametrelere ve patolojik süreçlere etkileri, Uzmanlık tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç hastalıkları Anabilim dalı, Aydın, 71s
- Kuyvenhoven JP, Meinders A.E. (1999). Oxidative stress and diabetes mellitus. Pathogenesis of long term complications. *Eur J. Intern Med.*, 10, 9-19.
- Lavelli, V., Peri, C. And Rizzola, A., (2000). Antioxidant activity of tomato products as studied by model reactions using Xanthine oxidase, Myeloperoxidase and copper-induced lipid peroxidation. *J. Agric. Food Chem.* 48(5); 1442-1448.
- Lee J.S., (2005). Effects of Fomes fomentarius supplementetion on antioxidant anzyme activities, blood glucose, and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats, *Nutrition Research* 25 : 187-195.

- Lindsay, R.C., (1996). Food Additives. In 'Food Chemistry', O.R. Fennema (Ed), Marcel Dekker, New York: 767-823.
- Memişoğulları R., (2005), Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi, Düzce Tıp Fakültesi Dergisi; 3; 30-39
- Meral I., Yener Z., Kahraman T., Mert N., (2001). Effect of *Nigella sativa* on Glucose Concentration, Lipid Peroxidation, Anti-Oxidant Defence System and Liver Damage in Experimentally-Induced Diabetic Rabbits, J. Vet. Med. A., 48, 593-599
- Meydani, M., (2001). Antioxidants and cognitive function. ILSI. Nutrition Reviews., 59(8):75-82.
- Miller, D.D., (1996). Minerals. In 'Food chemistry', O.R. Fennema (Ed), Marcel Dekker, New York : 617-649.
- Murase H., Moon J., Yamauchi R., Kato K., Kunieda T., Yoshikawa T., Terao J., (1998). Antioxidant activity of a novel vitamin E derivative, 2-( $\alpha$ -D-glucopyranosyl)methyl-2,5,7,8-tetramethylchroman-6-ol. Free Radical & Medicine, Vol. 24, No. 2, pp. 217-225.
- Nawar, W. W., (1996). Lipids. In 'Food Chemistry', O.R. Feenema (Ed), pp: 225-319.
- Oksante Ar-Ge Laboratuvarı, (2012). Oksidatif stres ve antioksidanlar.
- Özkorkmaz E.G., (2008). Streptozotosin diyabetik ve benfluoreks-C vitamini tedavili sıçanların mesan dokusunda histolojik incelemeler, Doktora tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, 87s.
- Öztürk, S.Ç. (2007) Diabetes mellitusta insülin ile tiroid hormonlarının antioksidan enzimler ve lipid peroksidasyon ürünleri üzerine etkileri, Uzmanlık tezi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim dalı, Ankara, 74s.
- Peschke E., Ebel H., Brömme HJ, Peschke D., (2000). Classical and new diabetogens comparison of their effects on isolated rat pancreatic islets in vitro. Cell Mol Life Sci, 57, 158-164.
- Petrofsky J. S., Prowse M., Lohman E., (2008). The influence of ageing and diabetes on skin and subcutaneous fat thickness in different regions of the body, The Journal of Applied Research, Vol. 8, No.1.
- Porter, N.A., (1985). Mechanism of fatty acid and phospholipid autoxidation. In 'Chemical Changes in Food During Processing', T. Richardson and J.W. Finley (Eds), Van Nostrand Reinhold Company, pp:73-105.

- Rauscher F.M., Sanders R.A., Watkins J.B., (2001). Effects of Isoeugenol on oxidative stress pathways in normal and streptozotocin-induced diabetic rats, *J Biochem molecular toxicology*, volume 15.
- Savran M., (2011). Ratlarda metotreksat kaynaklı karaciğer ve böbrek hasarında C vitamininin koruyucu etkisinin araştırılması, Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi.
- Seymen H.O., Mengi M. Özçelik D., Gülyaşar T., Seymen P., Yiğit G., (1999). Demir yüklemesinin plazma bakır ve çinko düzeylerine etkisi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*.
- Sindhu R. K., Koo J.R., Roberts C. K., Vaziri N. D., (2004). Dyregulation of Hepatic Superoxide Dismutase, Catalase and Glutathione Peroxidase in Diabetes: Response to Insulin and Antioxidant Therapies. *Clinical and experimental Hypertension*, Vol. 26, No. 1 : 43-53.
- Sun F., Iwaguchi K., Shudo R., Nagaki Y., Tanaka K., Ikeda K., Tokumaru S., Kojo S., (1999). Change in tissue concentrations of lipid hydroperoxides, vitamin C and vitamin E in rats with streptozotocin-induced diabetes, *Clinical Science*, 96:185-190.
- Szkudelski T., (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res*, 50, 536-546.
- Tekkes Y., (2006). Streptozotocin ile diabet oluşturulmuş farelerde aspirin ve E vitamininin dokularda lipid peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisinin araştırılması, T.C. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş.
- Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, (2013). Diabetes mellitus ve komplikasyonlarının tanı, tedavi ve izlem kılavuzu, 6. Baskı; 13-24.
- Traber M. G., Atkinson J., (2007). Vitamin E, antioxidant and nothing more. Review Article, *Free Radical Biology & Medicine* 43 4-15.
- Traber M. G., Stevens J. F., (2011). Vitamins C and E: Beneficial effects from a mechanistic perspective. Review Article, *Free Radical Biology & Medicine* 51: 1000-1013.
- Ulus N.N., Sahilli M., Avcı A., Canbolat O. Ozansoy G., Ari N., Bali M., Stefek M., Stolc S., Gajdosik A., Karasu Ç., (2003). Pentose phosphate pathway, glutathione-dependent enzymes and antioxidant defense during oxidative stress in diabetic

- rodent brain and peripheral organs: effects of stobadine and vitamin E, *Neurochemical Research*, Vol.28, No. 6 : 815-823.
- Ünal D (1999). Serbest radikaller, Sendrom, 68-80.
- Valko M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stres-induced cancer; *Chemico-Biological Interactions*, 160: 1-40.
- Van Dam P. S., Asbeck B.S.V., Bravenboer B., Johannes F.L.M., Oirschot V., Gispen W.H., Marx J.J.M., (1998). Nerve function and oxidative stres in diabetic and vitamin E-deficient rats, *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 24, No. 1; 18-26.
- West IC, (2000). Radicals and oxidative stres in diabetes. *Diabet Med*, 17, 171-180.
- Yılmaz İ. (2010) Antioksidan içeren bazı gıdalar ve oksidatif stres, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 17 (2): 143-153.
- Zhang X., Tan B.K., (2000). Antihyperglycaemic and antioxidant properties of *andrographis paniculata* in normal and diabetic rats, *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 27, 358-363.

## **Özgeçmiş**

Hayrani Eren BOSTANCI 4 Ağustos 1985 yılında Ankara'da doğmuştur. Ortaöğretim ve lise eğitimini Sivas'ta Cumhuriyet Anadolu Lisesinde geçirmiş, ardından Ege Üniversitesi Kimya mühendisliği bölümünü kazanarak öğrenimine burada devam etmiştir. Üniversite eğitimi boyunca ÇİMPOR çimento fabrikasında ve ALKİM kağıt fabrikasında staj yapmıştır. Bunların dışında 2009-2010 yılları arasında İzmir Ege serbest bölgesi/Uzay kampı Türkiye'de kısmi zamanlı eğitimci olarak görev almıştır. Lisans eğitiminin ardından 2011 yılında Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya A.D.'da yüksek lisansa başlamıştır. 2012 yılında Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya A.D.'da araştırma görevlisi olarak göreve başlamış, yüksek lisansında bu bölümde devam ettirmiştir. 2014 yılında Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya A.D.'da araştırma görevlisi olarak geçmiş ve bu bölümde görevine devam etmektedir.