



**T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**STREPTOZOTOSİN İLE DİABET OLUŞTURULMUŞ FARELERDE
ASİRİN VE E VİTAMİNİN DOKULARDA LİPİD PEROKSİDASYONU
VE ANTİOKSİDAN SİSTEME ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

YASEMİN TEKKES

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KAHRAMANMARAŞ
ŞUBAT - 2006**

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**STREPTOZOTOSİN İLE DİABET OLUŞTURULMUŞ FARELERDE
ASPIRİN VE E VİTAMİNİN DOKULARDA LİPİD PEROKSİDASYONU
VE ANTIOKSİDAN SİSTEME ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

YASEMİN TEKKES

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kod No :

**Bu Tez 10 / 02 / 2006 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Oy Birliği ile Kabul Edilmiştir.**

.....
Yrd. Doç. Dr.
Naciye KURTUL
DANIŞMAN

.....
Yrd. Doç. Dr.
Muhsin EZER
ÜYE

.....
Yrd. Doç. Dr.
Özlem ERDOĞRUL
ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

Prof. Dr. Özden GÖRÜCÜ
Enstitü Müdürü

**Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Araştırma Projeleri
Yönetim Birimi Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.**

Proje No: 2004 / 2 - 4

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

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
İÇİNDEKİLER	I
ÖZET	III
ABSTRACT	V
ÖNSÖZ	VII
ÇİZELGELER DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XI
1. GİRİŞ	1
1.1. Serbest Radikaller	2
1.2. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri	3
1.2.1. Süperoksit Anyon Radikali	5
1.2.2. Hidrojen Peroksit	7
1.2.3. Hidroksil Radikali	8
1.2.4. Singlet Oksijen	9
1.3. Serbest Radikallerin Kaynakları	9
1.3.1. Endojen Serbest Radikal Kaynakları	10
1.3.1.1. Küçük Moleküllerin Otooksidasyonu	10
1.3.1.2. Enzimler ve Proteinler	10
1.3.1.3. Mitokondriyal Elektron Transferi	11
1.3.1.4. Mikromozal Membran Elektron Transferi Zincirleri	11
1.3.1.5. Peroksizomlar	12
1.3.1.6. Plazma Membranı	12
1.3.2. Ekzojen Serbest Radikal Kaynakları	12
1.4. Serbest Radikallerin Etkileri	12
1.4.1. Membran Lipidleri Üzerine Etkileri	13
1.4.2. Proteinler Üzerine Etkileri	15
1.4.3. Karbonhidratlar Üzerine Etkileri	15
1.4.4. Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkileri	16
1.5. Vücudun Antioksidan Savunma Mekanizmaları	16
1.5.1. Enzimatik Antioksidanlar	18
1.5.1.1. Süperoksit Dismutaz	18
1.5.1.2. Katalaz	20
1.5.1.3. Glutasyon Peroksidaz	20
1.5.1.4. Glutasyon S-Transferaz	21
1.5.1.5. Glutasyon Redüktaz	22
1.5.1.6. Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz	22
1.5.2. Nonenzimatik Antioksidanlar	22
1.6. Aspirin	26
1.7. Diabetes Mellitus	27
1.7.1. Diabetes Mellitusun Tipleri ve Klinik Özellikleri	27
1.7.1.1. Tip-1 Diabetes Mellitus.....	28
1.7.1.2. Tip-2 Diabetes Mellitus.....	28
1.7.1.3. İnsulin Rezistansı	28
1.7.1.4. Yetersiz İnsulin Sekresyonu	28
1.7.1.5. Malnutrisyonla İlişkili Diabetes Mellitus.....	29

1.7.1.6. Bozulmuş Glukoz Toleransı	29
1.7.1.7. Gestasyonel Diabet	29
1.7.2. Diabet Oluşumuna Etki Eden Faktörler	30
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	31
3. MATERYAL VE METOT	33
3.1. Materyal	33
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	33
3.1.2 Kullanılan Cihazlar	34
3.1.3. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması	34
3.2. Metod	36
3.2.1. Total Protein Tayini	36
3.2.2. Glutasyon Tayini	37
3.2.3. Lipid Peroksidasyonu Tayini	37
3.2.4. Süperoksit Dismutaz Tayini	38
3.2.5. Glutasyon Peroksidaz Tayini	39
3.3. İstatistiksel Analiz	40
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	41
4.1. Karaciğer, Kalp, Beyin ve Böbrek Dokularındaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px Değerleri ve İstatistiksel Sonuçlar	41
4.2. Karaciğer Dokusundaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px Değerleri ve İstatistiksel Sonuçlar.....	43
4.3. Kalp Dokusundaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px Değerleri ve İstatistiksel Sonuçlar.....	45
4.4. Beyin Dokusundaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px Değerleri ve İstatistiksel Sonuçlar.....	47
4.5. Böbrek Dokusundaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px Değerleri ve İstatistiksel Sonuçlar	48
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	51
KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ	66

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÖZET

**STREPTOZOTOSİN İLE DİABET OLUŞTURULMUŞ FARELERDE
ASPIRİN VE E VİTAMİNİN DOKULARDA LİPİD PEROKSİDASYONU
VE ANTİOKSİDAN SİSTEME ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

YASEMİN TEKKES

DANIŞMAN : Yrd. Doç. Dr. Naciye KURTUL

Yıl : 2006 Sayfa : 66

Jüri : Yrd. Doç. Dr. Naciye KURTUL
: Yrd. Doç. Dr. Muhsin EZER
: Yrd. Doç. Dr. Özlem ERDOĞRUL

Bu çalışmada, streptozotosin (STZ) ile diabet oluşturulmuş (STZ-Diabet) ratlarda aspirin ve vitamin E'nin karaciğer, kalp, beyin ve böbrek dokularında lipid peroksidasyonu ve antioksidan sisteme ait bazı parametrelere etkisi araştırılmıştır. Çalışmada albino türü ratlar her grupta 10 adet olmak üzere dört gruba ayrılmıştır: Diabetik olmayan kontrol (Grup I), STZ-Diabet (Grup II), STZ-Diabet+Aspirin (Grup III) ve STZ-Diabet+Vitamin E (Grup IV). Deneysel diabet, intraperitoneal olarak 55 mg/kg STZ enjeksiyonu ile oluşturulmuştur. Enjeksiyondan 48 saat sonra ratlara 10 gün süreyle E vitamini (500 mg/kg/gün) ve aspirin (200 mg/kg/gün) intraperitoneal olarak verilmiş ve doku homojenatlarında lipid peroksidasyonun bir göstergesi olan malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH), değerleri ile süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktiviteleri ölçülmüştür.

Grup II'de kontrol grubuna göre bütün dokulardaki MDA değerleri artmış, GSH değerleri ise azalmıştır. SOD ve GSH-Px aktiviteleri de karaciğer, kalp ve böbrekte artmış, beyinde ise azalmıştır. Diabetik ratlara aspirin verilmesi sonucu MDA değerleri Grup II'e göre, Grup III'te karaciğer ve kalpte azalmış, beyin ve böbrekte artmıştır. Diabetik ratlara vitamin E verilmesi ile de MDA değerleri Grup IV'te Grup II'e göre karaciğer, kalp ve böbrekte azalmış, beyinde artmıştır. Aspirin ve vitamin E etkisi ile Grup II'e göre Grup III ve Grup IV'te GSH değerleri, SOD ve GSH-Px aktiviteleri kalp, böbrek ve beyinde artmış, karaciğerde ise azalmıştır.

Sonuçta bu çalışmada aspirin ve E vitaminin diabetik ratlarda karaciğer, kalp, beyin ve böbrek dokularında MDA, GSH, SOD, GSH-Px değerlerini etkilediği görülmüştür. Ancak bu etkiler dokudan dokuya değişmektedir.

Anahtar Kelimeler: Diabetes Mellitus, Aspirin, Vitamin E, Malondialdehit, Glutasyon, Süperoksit Dismutaz, Glutasyon Peroksidaz

UNIVERSITY OF KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF CHEMISTRY

MSc THESIS

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF ASPIRIN AND VITAMIN E ON
LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT SYSTEMS IN TISSUES OF
STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC RATS

YASEMİN TEKKES

SUPERVISOR : Asst. Prof. Dr. Naciye KURTUL

Year: 2006 Pages: 66

Jury : Asst. Prof. Dr. Naciye KURTUL
: Asst. Prof. Dr. Muhsin EZER
: Asst. Prof. Dr. Özlem ERDOĞRUL

In this study, effects of aspirin and vitamin E on lipid peroxidation and antioxidant system parameters of liver, heart, brain and kidney tissues of streptozotocin-induced diabetic rats were investigated. During this work Albino rats were arranged into four groups, each group containing 10 rats: non-diabetic control group (Group I), STZ-diabetes (Group II), STZ-diabetic given aspirin (Group III), and STZ-diabetic given Vitamin E (Group IV). Diabetes mellitus was induced in rats by the injection of 55 mg/kg STZ. 48 hours after the injection, vitamin E (500 mg/kg/day) and aspirin (200mg/kg/day) were injected to rats for 10 days. After that malondialdehyde(MDA) and glutathione (GSH) levels and also superoxide (SOD)dismutase and glutathione peroxides (GSH-P_x) activities were measured in these tissues.

In group II, MDA levels in all tissues were increased and GSH levels were decreased compared to control group. SOD and GSH-P_x activities were increased in liver, heart and kidney, whereas they were decreased in brain tissues. As a result of aspirin injection, MDA values of liver and heart tissues were decreased but were increased for brain and kidney tissues in Group III compared to GroupII. With the injection of vitamin E, MDA levels of liver, heart and kidney were decreased but they were increased in brain tissues in Group IV compared to Group II. By the effects of the aspirin and vitamin E in Group III and Group IV values of GSH, SOD, and GSH-P_x in heart, kidney and brain were increased but were decreased in liver, compared to Group IV.

As a result, in this study it was established that aspirin and vitamin E effected the such parameters as MDA, GSH, SOD, GSH-P_x in liver, heart, brain and kidney tissues of diabetic rats. But this effect varies from tissue to tissue.

Key Words: Diabetes Mellitus, Aspirin, Vitamin E, Malondialdehyde, Glutathione, Superoxide Dismutase, Glutathione Peroxidase

ÖNSÖZ

Diabetes Mellitus, yüksek kan şekeri ile seyreden, mutlak veya kısmi insülin eksikliğine bağlı olarak gelişen, endokrin ve metabolik bir hastalıktır. Dünyada her yıl binlerce kişi diabet komplikasyonlarından ölmektedir. Günümüzde diabette antioksidanların etkileri yaygın olarak araştırılmaktadır. Vitamin E antioksidan özelliği ile dikkati çeken bir vitamindir. Ülkemizde ve dünyada “aspirin” adı ile bilinen asetil salisilik asit ve türevleri de oldukça sık kullanılmaktadır. Aspirin, pıhtı oluşumunu önleyen, ateş düşürücü ve ağrı kesici bir ilaçtır. Ayrıca son zamanlarda aspirinin antioksidan özelliğinden ve dolayısı ile diabette de olumlu etkilerinden söz edilmektedir. Bu tez çalışması, aspirin ve vitamin E'nin streptozotosin ile diabet oluşturulmuş ratların kalp, karaciğer, böbrek ve beyin dokularındaki antioksidan sisteme etkisini araştırmak amacı ile yapılmıştır.

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, çalışmalarımın yönlendirilmesinde ve devam etmesinde her türlü desteğini benden esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Naciye KURTUL hanımefendiye en içten saygı ve teşekkürlerimi arz ederim.

Deney hayvanlarının sağlanması konusunda yardımlarını gördüğüm Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Sayın Doç. Dr. Sadrettin Pençe'ye ve Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. Ersin Akarsu'ya en içten saygı ve teşekkürlerimi arz ederim. Ayrıca çalışmalarım sırasında yardımlarını gördüğüm Kimya Anabilim Dalı öğretim elemanlarına, özellikle Arş. Gör. Nuri Güleşçi'ye ve yüksek lisans arkadaşım Serdar Altıntaş'a, Biyoloji Anabilim Dalı öğretim elemanlarına, yüksek lisans eğitimim boyunca manevi desteklerini esirgemeyen aileme ve çalışmamın değişik aşamalarında bana yardımcı olan herkese sonsuz teşekkür ederim.

KAHRAMANMARAŞ
Şubat, 2006

Yasemin TEKKES

ÇİZELGELER DİZİNİ

	SAYFA
Çizelge 1.1. Reaktif oksijen türleri	5
Çizelge 1.2. Reaktif oksijen ürünlerinin tahmini yarı ömürleri	5
Çizelge 1.3. Hücredeki serbest oksijen radikali kaynakları	10
Çizelge 1.4. Serbest radikallerin hücredeki başlıca zararlı etkileri	13
Çizelge 1.5. Biyolojik sistemlerde antioksidan savunma sistemi.....	17
Çizelge 3.1. Total protein tayini için işlem basamakları	36
Çizelge 3.2. Glutasyon tayini için işlem basamakları	37
Çizelge 3.3. Lipid peroksidasyonu tayini için işlem basamakları	38
Çizelge 3.4. Süperoksit dismutaz aktivitesinin tayini için işlem basamakları	38
Çizelge 3.5. Glutasyon peroksidaz aktivitesinin tayini için işlem basamakları	39
Çizelge 4.1. Karaciğer, kalp, beyin ve böbrek dokularındaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px değerleri	41
Çizelge 4.2. Karaciğer, kalp, beyin ve böbrek dokularındaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px'in istatistiksel sonuçları (p-değerleri)	42
Çizelge 4.3. Karaciğer dokusundaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px değerleri	44
Çizelge 4.4. Karaciğer dokusundaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px'in istatistiksel sonuçları (p-değerleri)	44
Çizelge 4.5. Kalp dokusundaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px değerleri	46
Çizelge 4.6. Kalp dokusundaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px'in istatistiksel sonuçları (p-değerleri)	46
Çizelge 4.7. Beyin dokusundaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px değerleri	47
Çizelge 4.8. Beyin dokusundaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px'in istatistiksel sonuçları (p-değerleri)	47

Çizelge 4.9. Böbrek dokusundaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px değerleri	48
Çizelge 4.10. Böbrek dokusundaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px'in istatistiksel sonuçları (p-değerleri)	48

ŞEKİLLER DİZİNİ

	SAYFA
Şekil 1.1. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu	4
Şekil 1.2. Lipid peroksidasyonunun kimyasal yolu	14
Şekil 1.3. Glutatyonun yapısı	23

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

g	: Gram
mg	: Miligram
L	: Litre
dL	: Desilitre
mL	: Mililitre
nmol	: Nanomol
mmol	: Milimol
µmol	: Mikromol
M	: Molarite
mM	: Milimolarite
M⁻¹	: 1/Molarite
mM⁻¹	: 1/Milimolarite
U	: Ünite
dk	: Dakika
sn	: Saniye
nm	: Nanometre
O₂^{·-}	: Süperoksit radikali
¹O₂	: Singlet oksijen
OH[·]	: Hidroksil radikali
ROO[·]	: Peroksil radikali
RO[·]	: Alkoksil radikali
Q[·]	: Semikinon radikali
NO[·]	: Nitrik oksit radikali
ONOO[·]	: Peroksinitrit
LOOH	: Lipid hidroperoksit
HOX	: Hipohaloz asit
R-NH-X	: N-Halojenli aminler
SOD	: Süperoksit dismutaz
¹ΔgO₂	: Singlet oksijenin delta formu
1Σ⁺gO₂	: Singlet oksijenin sigma formu
UV	: Ultraviyole ışınlar
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NAD⁺	: Yükseltgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid
NADH	: İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
RNA	: Ribonükleik asit
MDA	: Malondialdehit
HNE	: 4-hidroksinonenal
Hb	: Hemoglobin
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
PLGPx	: Fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz
GST	: Glutasyon S-transferaz
GSSG	: Okside glutasyon
GSSG-R	: Glutasyon redüktaz
EC-SOD	: Ekstraselluler süperoksit dismutaz

e⁻	: Elektron
-SH	: Sülfidril
ATP	: Adenozin tri fosfat
ADP	: Adenozin di fosfat
yy	: Yüzyıl
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
DM	: Diabetes mellitus
IDDM	: İnsulin bağımlı diabet
NIDDM	: İnsulin bağımsız diabet
OGTT	: Oral glukoz tolerans testi
KAT	: Katalaz
KVH	: Kardiovasküler hastalık
DTNB	: 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit)
TCA	: Trikloraasetik asit
TBA	: Tribarbütik asit
NBT	: Nitro blue tetrazolium
M.Ö.	: Milattan önce
SD	: Standart sapma
LPO	: Lipid peroksidasyonu

1. GİRİŞ

Canlılar yaşamlarını sürdürebilmek için oksijene ihtiyaç duyarlar. Bunun için de karbon ve hidrojen zengin besinleri okside ederler (Yanbeyi, 1999).

Oksijenin dış yörüngesine bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron eklenmesiyle bu molekül güçlü bir toksine yani bir serbest oksijen radikaline dönüşür (Slater, 1984; Oyanagui, 1991; Frei, 1994; Yanbeyi, 1999). Bu bileşikler de son yörüngelerinde ortaklanmamış elektron içerdikleri için kolayca diğer moleküllerle reaksiyona girerek onları tahrip edebilen bileşikler oluştururlar ve organizmada çok etkili bir hasar meydana getirirler (Ames ve ark., 1993; Holley ve Cheeseman, 1993; Yanbeyi, 1999).

Oksijen radikallerinin etkisiyle ortaya çıkabilecek oksidatif hasarları önlemek amacıyla canlı sistem tarafından gerçekleştirilen pek çok korunma mekanizması vardır. Bunlar intrasellüler ve ekstrasellüler olmak üzere iki gruba ayrılır (Ames ve ark., 1993; Halliwell, 1994; Yanbeyi, 1999).

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

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

Serbest radikaller ve oksijen türevi serbest radikaller nükleik asitler, serbest amino asitler, proteinler, lipidler, lipoproteinler, karbonhidratlar ve bağ dokusu makromolekülleri de dahil olmak üzere, canlı organizmaların yapısında bulunan hemen hemen bütün sınıflara dahil bileşiklerle reaksiyona girerek tersinir veya tersinmez hasar meydana getirilebilmektedirler (Cross ve ark., 1987). Bunların iltihap (Merry ve ark., 1989), iskemi ve reperfüzyon, kanserogenez (Cerutti, 1985), yaşlanma (Pasfeci ve Davies, 1991) gibi temel hastalık proseslerinde çok büyük öneme sahip oldukları bu konulardaki çalışmalar ilerledikçe daha iyi anlaşılmaktadır.

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

Diabette serbest oksijen radikali üretimi ve LPO'nun arttığı, antioksidan savunma sisteminin yetersiz olduğu bildirilmektedir. Serbest radikal üretiminin artması ise diabet komplikasyonlarının başlamasına ve ilerlemesine katkıda bulunmaktadır. Diabette yüksek glukoz düzeyi nedeniyle oksidatif hasara yol açan reaktif oksidanlar meydana gelmektedir.

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

Aspirin (asetil salisilik asit) antiinflamatuvar, ateş düşürücü ve ağrı kesici bir ilaçtır. Aspirinin pıhtı oluşumunu önlediği bildirilmekte ve bunlarla bağlantılı olarak kardiovasküler hastalığı (KVH) olumlu etkileri ile kalp krizi riskinin azalmasına yardımcı olabileceği ve kalp hastalığını önleyebileceği görüşleri önem kazanmaktadır. KVH'nın diabette sıkça görülen bir komplikasyon olması nedeniyle diabetiklerde aspirin kullanılarak KVH'nın önlenmesi de bu bağlamda önem arz etmektedir (Montori ve ark., 2003). Bunların yanı sıra, diabetin inflamasyonla ilişkisinden sözedilmekte ve bu konu yaygın olarak araştırılmaktadır. Bazı araştırmacılar tarafından diabetin gelişmesi ile çeşitli inflamasyon markırları arasında bir ilişkinin bulunduğu belirtilerek, diabetin inflamasyonla ilişkili olduğu öne sürülmektedir (Festa ve ark., Duncan ve ark., 2003). Diğer taraftan aspirinin antioksidan özellikleri de bildirilmekle (Shi ve ark., 1999) birlikte bu durum tartışmalıdır.

Bu çalışmada, streptozotosin ile diabet oluşturulmuş farelerde, aspirin ve vitamin E'nin dokularda LPO ve GSH düzeyleri ile SOD ve GSH-Px aktiviteleri gibi antioksidan savunma sistemine ait bazı parametreleri ölçerek, antiinflamatuvar bir ilaç olan ve antioksidan özelliğinden de bahsedilen aspirinin diabette doku antioksidan düzeyine, lipid peroksidasyonuna etkisini araştırmayı ve bunu vitamin E ile karşılaştırmayı amaçladık.

1.1. Serbest Radikaller

Atomlar, nötron ve protondan oluşan bir çekirdekle, bu çekirdeğin çevresinde dönen elektronlardan oluşurlar. Atom çekirdeğinin çevresindeki, elektronların bulunduğu boşluğa da orbital denir. Her bir orbitalde spinleri birbirine zıt ($\uparrow\downarrow$) olan iki elektron bulunur. Bu elektronlara eşlenmiş veya ortaklanmış elektronlar denir (Dikici, 1999).

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

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

Serbest radikaller bu ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktif olup, çevrelerindeki atom ve moleküllere adeta saldırırlar. Çok kısa ömürlü olmalarına karşın, radikal olmayan maddeler ile reaksiyona girip onları da radikal yapmaları ve bir dizi zincir reaksiyonu başlatıp, birçok radikal oluşturmalarından dolayı oldukça tehlikelidirler.

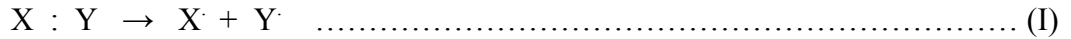
Serbest radikaller, ortaklanmamış elektronunun belirtilmesi amacıyla üst kısımlarına yazılan bir nokta (X \cdot) ile gösterilirler (Akkuş, 1995; Dikici, 1999).

Biyomoleküllerin çoğu, atomları birbirlerine kovalent bağlarla bağlı ve nonradikal yapılardır. Atomlararası kovalent bağlar, elektron çiftlerinin paylaşılmasıyla oluştuğundan serbest radikallerde yarım bağ oluştuğu düşünülebilir. Bu özellik onları kimyasal olarak reaktif yapar (Slater, 1984; Grisham ve Grandner, 1989; Wheeler ve Salzman, 1990; Maxwell, 1995; Fırat, 1997).

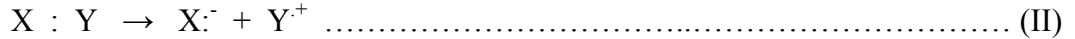
Radikaller aerobik hücrelerin tüm fraksiyonlarında, metabolizma sırasında veya patolojik durumlarda birer yan ürün olarak meydana gelebilir ve hücrelerde tersinir ya da tersinmez değişikliklere neden olabilirler. Bu değişiklikler oksidasyon, fragmentasyon, köprüleşme (disülfit bağlantısı, protein-protein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

Serbest radikaller 3 yolla meydana gelirler (Cheeseman ve Slater, 1993; Akkuş, 1995; Bast ve ark., 1997).

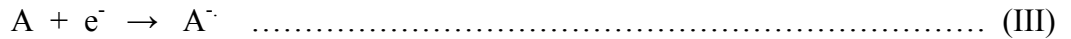
1. Kovalent bağlı normal bir molekülün her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi (Homolitik ayrılma ile radikal oluşumu):



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



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



1.2. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri

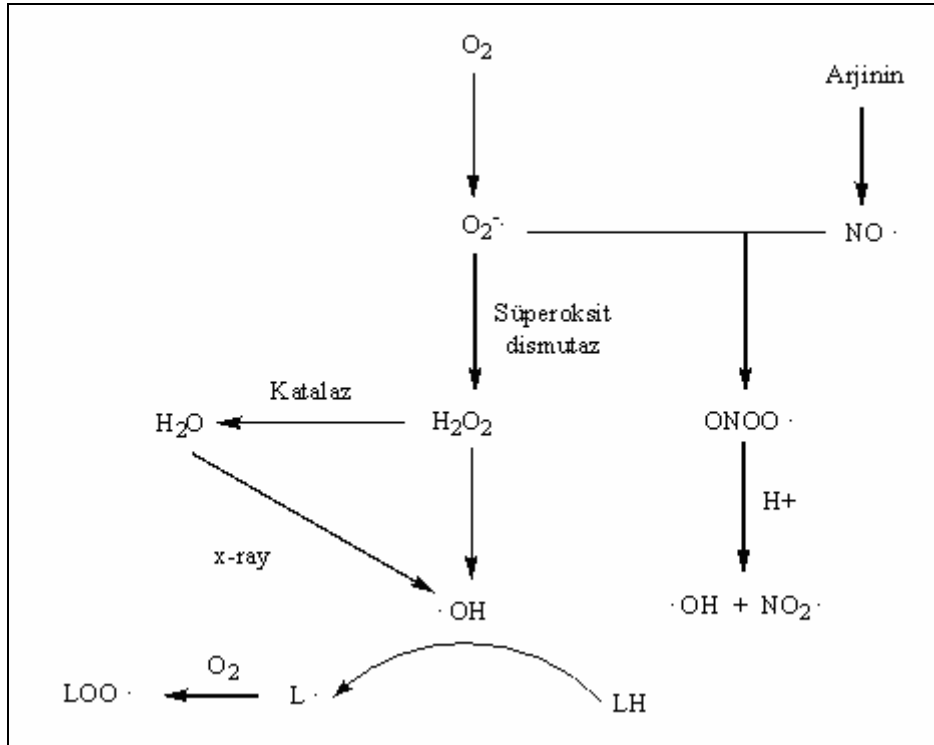
Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşmuş radikallerdir (Cheeseman ve Slater, 1993; Akkuş, 1995).

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

Oksijen bu kararsız yapısını giderebilmek için başka bir oksijen atomunun dış yörüngesindeki iki elektronu ortaklaşa kullanarak “Oksijen Radikalleri”ni oluşturur (Şekil 1.1) (Naqui ve Chance, 1986; Grisham ve Granger, 1989; Fırat, 1997; Stahl ve ark., 2002).

Serbest oksijen radikalleri, oksijenin belirli koşullarda kısmen indirgenmesi sonucu çok kısa ömürlü ve güçlü oksidan nitelikli oksijen metabolitleridir. Bunlar şu şekilde sıralanabilir:

1. Süperoksit radikali
2. Hidroksil radikali
3. Singlet oksijen
 - a. Delta singlet oksijen
 - b. Sigma singlet oksijen
4. Hidroperoksi radikali ve H_2O_2



Şekil 1.1. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu (Stahl ve ark., 2002).

Bu reaktif maddeler bazı biyolojik molekülleri hasara uğratabilirler. Etraflarındaki moleküller ile reaksiyona girerek onlardan elektron alıp kararlı hale gelirler (Frei, 1994; Battal ve ark., 1995; Yanbeyi, 1999).

Oksijen serbest radikalleri sonlarına $-i$ veya $-il$ eki getirilerek isimlendirilirler; Hidroksi/hidroksil, peroksi/peroksil gibi (Yanbeyi, 1999).

Reaktif oksijen türleri, maruz kalınan miktar ve süreye bağlı olarak hücre fonksiyonlarını bozarlar (Battal ve ark., 1995). Oksijen serbest radikali teriminin $O_2^{\cdot-}$ ve

OH⁻ gibi radikallerin yanında, H₂O₂ ve ¹O₂ gibi reaktif, fakat radikal olmayan türleri ifade etmek için de kullanılması doğru değildir, bunun yerine daha genel olan reaktif oksijen türleri teriminin kullanılması uygun olur. Oksidan terimi ise H₂O₂, OH⁻ ve HOCl gibi moleküller için geçerlidir. Oysa O₂ hem oksidan, hem redüktandır (Di Mascio ve ark., 1991; Bast ve ark., 1997; Fırat, 1997; Yanbeyi, 1999).

Çizelge 1.1. Reaktif oksijen türleri (Türe, 1998; Yanbeyi, 1999).

Radikaller	Radikal olmayanlar
Süperoksit radikal (O ₂ ⁻)	Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)
Hidroksil radikal (OH ⁻)	Lipid hidroperoksit (LOOH)
Peroksil radikal (ROO ⁻)	Hipohaloz asit (HOX)
Alkoksil radikal (RO ⁻)	N-Halojenli aminler (R-NH-X)
Semikinon radikal (HQ)	Singlet Oksijen (¹ O ₂)
Hemoproteine bağlı serbest radikaller	Ozon (O ₃)
	Azotdioksit (NO ₂)

Çizelge 1.2. Reaktif oksijen ürünlerinin tahmini yarı ömürleri (Rachmilewitz ve ark., 1994; Dikici, 1999).

Reaktif oksijen ürünleri		Yarı ömrü (saniye)
O ₂ ⁻	Süperoksit anyon radikali	Enzimatik
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit	Enzimatik
OH ⁻	Hidroksil radikali	10 ⁻⁹
¹ O ₂	Singlet oksijen	10 ⁻⁶
RO ⁻	Alkoksil radikali	10 ⁻⁶
ROO ⁻	Peroksil radikali	7
Q ⁻	Semikinon radikali	Günler
NO ⁻	Nitrik oksit radikali	1-10 (5,6) kalpte 0.1 sn
ONOO ⁻	Peroksinitrit	0.05-1

1.2.1. Süperoksit Anyon Radikali (O₂⁻)

Moleküler oksijen dış orbitallerinde paylaşılmamış iki elektron içerir. Bu elektronlar paylaşılmadığında, ayrı ayrı orbitallerde bulduklarında ve spinleri aynı yönde olduğu zaman en düşük enerji seviyesindedirler. Bu dış orbitallerden her biri birer elektron daha kabul edebilir. Bu orbitallerin tek elektron alması ile süperoksit anyonu (süperoksit radikali, O₂⁻), iki elektron alması ile de peroksi anyonu (O₂²⁻) oluşur (Fridovich, 1975; Çakır, 1997).

Hem çevresel etkenler, hem de organizmalardaki enzimatik ve enzimatik olmayan tepkimelerle en çok ve en kolay oluşan oksijen radikali süperoksit radikalidir. Serbest süperoksit radikal anyonu (O₂⁻) hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron olarak indirgenmesi sonucu meydana gelir (Henry ve ark., 1976; Jialal ve Fuller, 1993; Yanbeyi, 1999).

Süperoksit radikali normalde mitokondriyal solunum esnasında oluşmaktadır. Mitokondrielerde kullanılan oksijenin % 2'si süperoksit haline gelir. Oksijen mitokondride redükte olduğunda primer ürün sudur. Su, sitokrom oksidaz moleküler oksijene 4 elektron eklediğinde oluşan nontoksik bir moleküldür (Del Maestro, 1980; Ferrari, 1991; Çakır, 1997).

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

Hücre membranındaki siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimleri lökosit membranındaki, NADH oksidaz enzimi, sitoplazmadaki ksantin oksidaz ve triptofan dehidrogenaz enzimleri aracılığıyla da süperoksit radikali oluşmaktadır (Weisiger, 1986; Çakır, 1997).

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

1. Çeşitli çevresel etkilerle (fiziksel ve kimyasal) süperoksit radikali oluşabilir. Örneğin, yüksek enerjili ışıklardan beta, gama ve X ışınları süperoksit radikalleri yanında diğer radikallerin oluşumunu da gerçekleştirirler (Klug, 1972; Çakır, 1997).
2. Canlı sistemler radikal oluşumuna neden olan çevre koşullarından tümüyle izole edilseler bile; eğer moleküler oksijeni metabolize ediyorlarsa, canlı sistemdeki yükseltgenme-indirgenme tepkimeleri sırasında süperoksit radikali (O_2^-) üretebilirler. Örneğin, hidrokionların, lökoflavinlerin, katekolaminlerin, tiyollerin, indirgenmiş boyaların, tetrahidropteridin, ferrodoksin ve hemoproteinlerin otooksidasyonu tepkimelerinde oksijen radikalleri üretilebildiği gibi, ksantin oksidaz, thidroorolat dehidrogenaz, bir grup flavoprotein dehidrogenaz, bazı oksidaz ve hidroksilaz enzimlerinin katıldığı tepkimelerde, ara ürün olarak oksijen radikalleri üretilebilirler (Kılınç, 1985; Çakır, 1997).

Aerobik organizmalar reaktif oksijen türlerinin sebep olduğu toksisiteye karşı hem kimyasal hem de enzimatik korunma sistemlerine sahiptir (Asada, 1978; Çakır, 1999). Süperoksit radikalleri, sulu ortamda önemli ölçüde birikmezler ve kendiliğinden dismutasyon ile ortamdaki temizlenirler (Fridovich, 1975; Çakır, 1999).

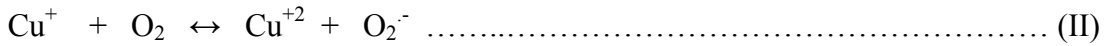
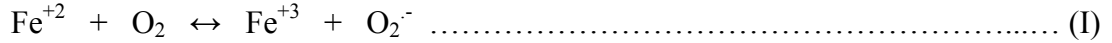
Hemen tüm aerobik hücrelerde oluşan, indirgen ve orta derecede yükseltgen olan bir ajandır. Esas önemi, hidrojen perokside kaynaklık etmesi ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Uzun bir yarı ömre sahip olup, lipofilik özellik gösterir. Bu özelliğinden dolayı da oluştuğu yerden uzak bölgelere difüzyonla yayılabilmektedir (Ünal, 1999; Dikici, 1999). Ancak doğrudan doğruya hasar yapıcı etkisi çok fazla değildir. En çok mitokondri, endoplazmik retikulum ve kloroplast gibi hücreyel organellerde, elektron transport zincirinin çeşitli komponentlerinden O_2 'e elektron sızması ile oluşur (Ünal, 1999; Dikici, 1999).

Mitokondriyal elektron transport zincirinden elektron iki yerde sızar. Birincisi, NADH-dehidrogenaz basamağı, ikincisi ise koenzim Q ya da ubikinon basamağıdır. En son basamakta elektronların O_2 'e taşınmasından sorumlu olan sitokrom oksidaz enzimi oksijenin % 97-99'unu harcayarak suya indirger. Fakat, O_2 'nin % 1-3'ünden, transport zincirinden sızan elektronlarla O_2^- oluşur. Bu da yaklaşık olarak insan vücudunda her yıl

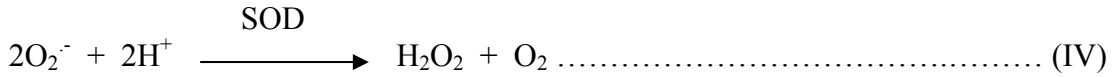
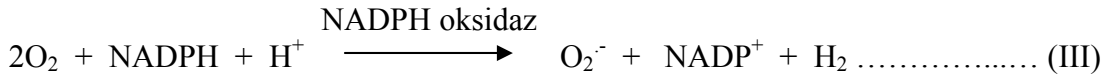
iki kilogramdan fazla O_2^- yapıldığı anlamına gelir (Mc Cord, 1984; Fırat, 1997; Dikici, 1999). Süperoksit radikali düşük pH'larda daha etkili bir radikal olan HO_2^- (perhidroksil) radikali meydana getirir. Fizyolojik pH'larda ise sadece % 1 kadarı protonlanmış haldedir (Cheeseman ve Slater, 1993; Dikici, 1999).

O_2^- ile HO_2^- reaksiyona girince, biri okside olurken diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonunda O_2 ve H_2O_2 meydana gelir.

O_2^- ayrıca geçiş metallerinin otooksidasyonu sonucunda da meydana gelebilir. Bu reaksiyonlar redoks reaksiyonları olduğu için tersine de dönebilir.



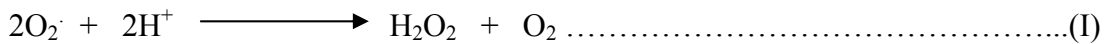
Fagositik hücreler (nötrofiller, monositler, makrofajlar ve eozinofiller), çeşitli biyolojik hedeflerin parçalanmasına sebep olan ve enfeksiyona karşı hücrel cevabı başlatan hücrelerdir. Solunumsal patlama esnasında fagositik hücrelerde diğer reaktif oksijen ürünleriyle beraber süperoksit radikali de oluşmaktadır. Nötrofillerde süperoksit radikali plazma membranının dış yüzeyine yerleşmiş bulunan NADPH oksidaz aracılığı ile olur. Uygun bir uyarı ile fagositik hücre uyarıldıktan sonra NADPH oksidaz aktive olur. NADPH'tan iki elektron alınarak iki molekül oksijene aktarılır. Böylece iki molekül O_2^- oluşur (Winrow ve ark., 1993; Akkuş, 1995; Dikici, 1999).



1.2.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması sonucu peroksit meydana gelir. Peroksit molekülü de iki hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksidi (H_2O_2) oluşturur (Cross ve ark., 1987; Cheeseman ve Slater, 1993; Akkuş, 1995; Fırat, 1997).

H_2O_2 , süperoksit dismutaz tarafından katalizlenen dismutasyon reaksiyonu sonucu ortaya çıkar. İki süperoksit molekülü iki proton alarak H_2O_2 ve moleküler oksijeni oluştururlar. Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden bu bir dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir.



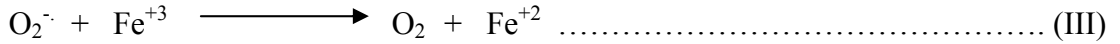
H_2O_2 , membranlardan geçebilen uzun ömürlü oksidandır. Kendisi bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Geçiş metal iyonları varlığında daha da hızla gerçekleşen bir reaksiyonla süperoksit anyon radikali ile birlikte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

(Bannister ve Bannister, 1980; Palmer, 1990; Akkuş, 1995; Gutteridge, 1995; Dikici, 1999).



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

Bu reaksiyonda önce ferri demir (Fe^{+3}), süperoksit tarafından ferro demire (Fe^{+2}) indirgenir. Sonra bu ferro demir kullanılarak “Fenton Reaksiyonu” ile hidrojen peroksitten OH^- ve OH^\cdot üretilir. Reaksiyon mekanizması aşağıdaki gibidir.



(Akkuş, 1995; Bast ve ark., 1997; Fırat, 1997; Yanbeyi, 1999).

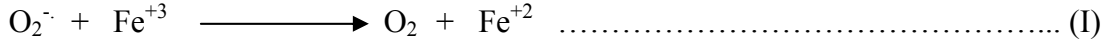
Tiroid hücrelerinin apikal plazma membranları üzerinde bulunan NADPH-oksidaz tarafından direkt olarak H_2O_2 üretilir. H_2O_2 üretimi, birçok bakteri türünde, fagositik hücrelerde, spermatozooda olduğu gibi hücrelerde de mitokondride, mikrozomlarda ve kloroplastlarda olur. H_2O_2 'nin reaktivitesi sınırlıdır, ancak diğer oksijen ürünlerinin, geçebilecekleri bir anyon kanalı olmadıkça çok yavaş geçebildiği biyolojik membranlardan geçebilir. Eritrosit membranı, vasküler endotel hücre membranı böyle bir kanala sahiptir (Yanbeyi, 1999).

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

1.2.3. Hidroksil Radikali (OH^\cdot)

Hidroksil radikali, kimyada en aktif radikal olarak bilinir. Bu nedenle in vivo oluşan bir OH^\cdot radikali hemen her moleküle saldırır ve oluştuğu yerde de büyük hasara neden olur. Nonradikal biyolojik moleküllerle zincirleme reaksiyonları başlatır (Halliwell, 1987; Cheeseman ve Slater, 1993; Jialal ve Fuller, 1993; Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999).

Hidroksil radikali, hidrojen peroksitin geçiş metalleri varlığında indirgenmesi ile (Fenton reaksiyonu) oluşan son derece reaktif bir radikaldir. Ayrıca hidrojen peroksitin süperoksit radikali ile reaksiyonu sonucunda da (Haber-Weiss reaksiyonu) meydana gelir. Bu reaksiyon katalizörsüz çok yavaş olduğu halde Fe^{+3} katalizörlüğünde çok hızlı oluşur (Cheeseman ve Slater, 1993; Akkuş, 1995; Dikici, 1999).



Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda da hidroksil radikali oluşur (Cheeseman ve Slater, 1993; Akkuş, 1995; Fırat, 1997; Dikici, 1999).

Bir hidroksil radikali, yüzlerce yağ asidini ve yan zincirini lipid hidroperokside çevirebilir. Bu oluşan hidroperoksitler birikerek membran bütünlüğünü bozar ve hücrenin kollabe olmasına neden olur. Ayrıca bu hidroperoksitlerden son ürün olarak toksik ve reaktif olan aldehitler de oluşabilir. Bunlardan en önemlilerden biri de MDA'dır (Uysal, 1998; Girotti, 1998; Dikici, 1999).

Hidroksil radikali, organik ve inorganik bileşiklerde elektron transfer tepkimelerine neden olur. Ancak normalde OH[·] radikali oluşmaz. Çünkü OH[·] oluşumu için moleküler oksijenin üç değerlikli olarak indirgenmesi gerekir ki, bu oldukça zordur. OH[·] meydana gelebilmesi için O₂⁻ ve H₂O₂ gereklidir. Bunlarda SOD, KAT veya GSH-Px sistemiyle uzaklaştırılır. Böylece fizyolojik şartlarda fazla miktarlarda OH[·] oluşmaz. Bu üç enzim intrasellüler major antioksidanlardır (Wheler ve Salzman, 1990; Ames ve ark., 1993; Frei, 1994; Yanbeyi, 1999).

1.2.4. Singlet Oksijen (¹O₂)

Singlet oksijen, ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Oksijenin yüksek enerjili ve mutajenik formudur (Yanbeyi, 1999).

Oksijenin eşleşmemiş elektronlardan birinin verilen enerji sonucu bulunduğu orbitalden başka bir orbitale veya kendi spininin ters yönünde yerdeğiştirmesiyle oluşur (Cross ve Halliwell, 1987; Ames ve ark., 1993; Fırat, 1997; Yanbeyi, 1999; Dikici, 1999).

Singlet oksijen in vivo ortamda sitokrom P₄₅₀, endoperoksit sentetaz ve myelo peroksidaz reaksiyonlarıyla oluştuğu gibi iyonize radyasyonla da oluşabilir. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da sebep olur (Di Mascio ve ark., 1991; Kuzuya ve ark., 1993; Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999).

Singlet oksijenin delta ve sigma olmak üzere iki şekli vardır (Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999).

1.3. Serbest Radikallerin Kaynakları

Biyolojik sistemlerde serbest radikal oluşumu, normal metabolik olayların seyri sırasında gelebildiği gibi, organizmada bazı yabancı maddelerin (ksenobiyotikler) metabolize edilmesi sırasında ve organizmanın radyasyon gibi dış etkenlere maruz bırakılmasıyla da meydana gelebilir (Yanbeyi, 1999).

Bu nedenle serbest radikal oluşturan mekanizmalar endojen ve ekzojen olarak ikiye ayrılmaktadır (Fırat, 1997; Yanbeyi, 1999).

Çizelge 1.3. Hücredeki serbest oksijen radikali kaynakları (Cross ve ark.,1987).

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

1.3.1. Endojen Serbest Radikal Kaynakları

Normal metabolizma sırasında çeşitli basamaklarda serbest radikal yapısına sahip ara ürünler meydana gelmektedir. Metabolik sürecin ilerleyebilmesi için bu bileşiklerin ara ürün olarak oluşmaları kaçınılmazdır (Freeman ve Crapo, 1982; Fırat, 1997).

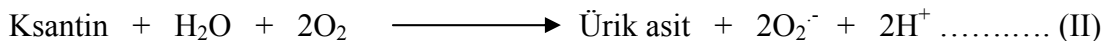
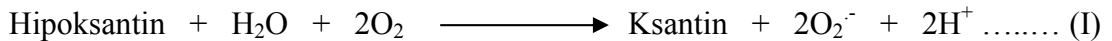
1.3.1.1. Küçük Moleküllerin Otoksidasyonu

Nötral ortamda tiyoller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler, tetrahidrobiyopterin gibi pek çok bileşik otoksidasyon ile serbest radikalleri oluşturur (Freeman ve Crapo, 1982; Akkuş, 1995; Marsden ve ark., 1996; Fırat, 1997; Dikici, 1999). Tüm bu bileşikler ile önce O₂⁻, daha sonra O₂⁻'nin reaksiyonları ile diğer radikaller oluşur (Freeman ve Crapo, 1982; Akkuş, 1995; Marsden ve ark., 1996; Fırat, 1997; Dikici, 1999).

1.3.1.2. Enzimler ve Proteinler

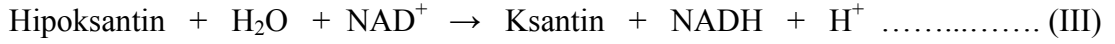
Birçok enzimin katalitik siklusları sırasında da serbest radikaller açığa çıkar. Ksantin oksidaz, aldehit oksidaz ve triptofan dioksijenaz böyle enzimlerden olup, O₂⁻ oluşumuna neden olurlar (Akkuş, 1995; Dikici, 1999).

Ksantin oksidaz normalde NAD-bağımlı dehidrogenaz olarak etki eder ve herhangi bir serbest radikal üretimine sebep olmaz. Fakat, in vivo olarak oluşturulan iskemi, enzimin dehidrogenaz formundan oksidaz formuna dönüşmesine ve süperoksit radikalinin üretimine sebep olur. Ksantin oksidaz enzimi oksijen varlığında hipoksantini ksantine veya ksantini ürik asite oksitler. Bu reaksiyonda elektron alıcısı moleküler oksijendir (Southorn ve Powis, 1988; Fırat, 1997).



Ksantin oksidaz iskemik dokuların reperfüzyon hasarında rol alır (Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999).

Hipoksantin- ksantin arasındaki bu tepkime sonucu oluşan süperoksitin yarattığı en büyük hasar vasküler sistemdedir (Ames ve ark., 1993; Yanbeyi, 1999).



Ksantin oksidaz özellikle barsak, akciğer, karaciğer, böbrek gibi dokularda yaygın olarak bulunur ve ksantin dehidrogenaz (Tip D) olarak sentezlenir. Enzimin bu tipi, sağlıklı bir dokuda total aktivitenin % 90'ını oluşturur. Dehidrogenaz, süperoksit veya hidrojen peroksit oluşturmak üzere elektronları moleküler oksijene transfer edemez (Bast ve ark., 1991; Yanbeyi, 1999).

İskemi sonrası, dokuların ksantin oksidaz ve hipoksantinle perfüzyonu doku zedelenmesini artırmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1984; Guemouri ve ark., 1991; Yanbeyi, 1999).

Aldehit oksidaz yapı itibarıyla ksantin oksidaza benzer ve substratlarının çoğu aynı olup, süperoksit radikali üretir. Benzer şekilde dihidroorotat dehidrogenaz, flavoprotein dehidrogenaz, amino asit oksidaz ve triptofan dioksijenaz gibi enzimlerde radikal oluşmasına sebep olurlar (Halliwell, 1987; Hiraishi ve Terano, 1992; Prasad ve Lee, 1992; Ames ve ark., 1993; Kuzuya ve ark., 1993; Yanbeyi, 1999).

1.3.1.3. Mitokondriyal Elektron Transferi

Mitokondriyal solunum zinciri sırasında NADH; FADH₂ gibi indirgeyicilerin elektronlarının moleküler oksijene aktarılması sırasında, solunum zinciri taşıyıcılarının indirgenmesi sonucu serbest radikal yapısına sahip ürünler oluşmaktadır (Freemane ve Crapo, 1982; Grisham ve Granger, 1989; Basaga, 1990; Fırat, 1997).

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

1.3.1.4. Mikromozal Membran Elektron Transferi Zincirleri

Endoplazmik retikulum ve golgi kompleksinin yer aldığı mikrozomal membran sistemi, birçok sentez ve yıkım enzimleri yanında, flavoprotein (NADH-sit c redüktaz ve NADH-sit b₅ redüktaz) ve hemoprotein (sit b₅, sit p450)'lerin rol aldığı iki elektron transport sistemini içerir (Freemane ve Crapo, 1982; Fırat, 1997).

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

Elektron transport sistemlerinin aktivitesi sırasında sadece oksijen türevi radikaller meydana gelirken, ksenobiyotiklerin metabolizması sırasında ek olarak yüksek toksisiteye sahip karbon merkezli radikaller de meydana gelebilir (Cheeseman ve Slater, 1993; Fırat, 1997).

Nükleer membran kaynaklı radikaller özellikle DNA hasarına neden olabilirler (Halliwell, 1987; Akkuş, 1995; Maxwell, 1995; Yanbeyi, 1999).

1.3.1.5. Peroksizomlar

Çok önemli hücre içi hidrojen peroksit kaynağıdır. Bu organeldeki D-aminoasid oksidaz, urat oksidaz, L-hidroksilizin oksidaz ve yağ asidi açıl- CoA oksidaz gibi oksidazlar O_2^- üretmeden, bol miktarda H_2O_2 üretimine sebep olurlar. Ancak KAT aktivitesi çok yüksek olduğu için bu organelden sitozole ne kadar H_2O_2 geçtiği bilinmemektedir (Freeman ve Crapo, 1982; Akkuş, 1995; Fırat, 1997; Dikici, 1999).

1.3.1.6. Plazma Membranı

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

1.3.2. Ekzojen Serbest Radikal Kaynakları

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

-Antineoplastik ajanlar

-Radyasyon

-Alışkanlık yapan maddeler: Alkol ve uyuşturucular.

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

-Stres: Streste katekolamin düzeyi artar. Katekolaminlerin oksidasyonu ise serbest radikal kaynağıdır (Guemouri ve ark., 1991; Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999).

1.4. Serbest Radikallerin Etkileri

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

Çizelge 1.4. Serbest radikallerin hücredeki başlıca zararlı etkileri (Yanbeyi, 1999).

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

1.4.1. Membran Lipidleri Üzerine Etkileri

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

Tüm biyolojik zarlar, poliansatüre yağ asitleri ile amfipatik lipidler ve zar proteinlerinin birleşmesinden oluşur. LPO, çoklu doymamış yağ asitlerinin radikaller ile oksidasyonu sonucu başlayan ve otokatalitik zincir reaksiyonları şeklinde uzayan, lipid peroksitlerinin aldehit türevleri, hidrokarbon radikalleri ve uçucu bazı ürünlere çevrilmesi şeklinde sonlanan süreçtir (Gutteridge, 1995; Yanbeyi, 1999; Dikici, 1999; Murray ve ark., 1996).

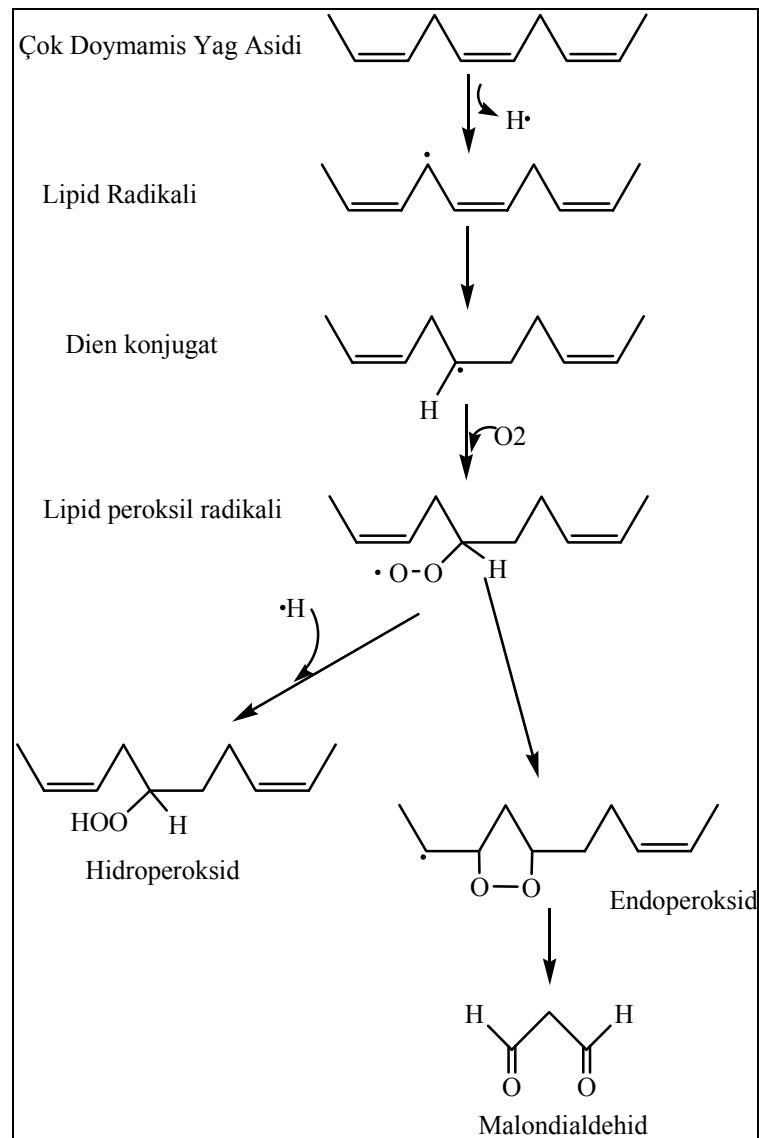
LPO ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. LPO, membranlara yakın bölgelerde ortaya çıkan ·OH radikalının membran fosfolipidlerinin yağ asidi yan zincirlerine saldırmasıyla oluşur (Craig ve ark., 1986; Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999).

Reaksiyon ·OH radikalini ortadan kaldırır, fakat membranda “C” merkezli lipid radikali oluşur. Oluşan lipid radikali dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesiyle konjuge dien yapıları ve daha sonra lipid radikallerinin moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipid peroksil radikali meydana gelir. Lipid peroksil radikalleri, membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitleri ile reaksiyona girerek yeni karbon merkezli radikaller oluştururken, kendileri de açığa çıkan H parçacığı ile birleşerek lipid hidroperoksitlerine dönüşürler. Böylece olay kendi kendine katalizlenerek devam eder (Gutteridge, 1995; Dikici, 1999).

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

bölmelerine yayarlar. Lipid radikallerinin hidrofobik yapıda olması dolayısı ile reaksiyonların çoğu membrana bağlı moleküllerde meydana gelir. Peroksil radikalleri ve aldehitler, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Böylece membranlarda, reseptörleri ve membrana bağlı enzimleri inaktive etmek suretiyle membran proteinlerinde de ciddi hasarlar meydana getirebilirler. İyon transportunu etkileyebilirler. Plazma lipoproteinleri ve özellikle düşük dansiteli lipoproteinler de oksidasyona uğrayabilirler. Okside lipoproteinler hücre fonksiyonlarının bozulmasına aracılık edebilirler (Nair ve ark., 1986; Rice-Evans ve ark., 1991; Akkuş, 1995; Dikici, 1999).

LPO reaksiyonu ya toplayıcı antioksidan reaksiyonlarla sonlandırılır veya otokatalitik yayılma reaksiyonları ile devam eder (Gutteridge, 1995; Dikici, 1999).

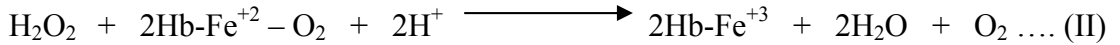
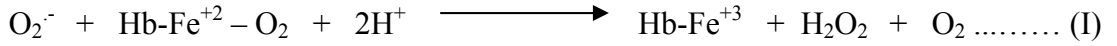


Şekil 1.2. Lipid peroksidasyonunun kimyasal yolu (Murray ve ark., 1996).

Lipidlerden, araşidonik asit metabolizması sonucu serbest radikal üretimine “enzimatik lipid peroksidasyonu”, diğer radikallerin sebep olduğu LPO’na ise “non-enzimatik lipid peroksidasyonu” adı verilir (Craig ve ark., 1986; Akkuş, 1995; Gutteridge, 1995; Fırat, 1997; Dikici, 1999; Yanbeyi, 1999).

1.4.2. Proteinler Üzerine Etkileri

Proteinler serbest radikallere karşı lipidlerden daha az hassastır. Etkilenme dereceleri içerdikleri aminoasit kompozisyonuna bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren amino asitlerden (triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin, sistein gibi) meydana gelmiş proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenir. Karbon merkezli radikaller ve sülfür radikalleri meydana gelir. Bu karbon merkezli radikallerden karbonillerin ölçülmesi ile proteinlerin oksidatif hasarı ölçülebilir. Serbest radikallerin meydana getirdiği hasar sonucunda proteinlerde fragmantasyon, çapraz bağlanmalar ve proteinlerin agregasyonu meydana gelir. Yapıları bozulan proteinler normal fonksiyonlarını meydana getiremezler. Enzimler protein yapısında olduklarından enzim aktivitelerinde değişiklikler meydana gelir. Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobin O_2^- veya H_2O_2 ile reaksiyona girerek methemoglobin oluşur (Rice-Evans ve ark., 1991; Akkuş, 1995; Dikici, 1999).



1.4.3. Karbonhidratlar Üzerine Etkileri

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

Serbest radikaller, bu kabil etkilerinden dolayı çok çeşitli hastalıkların patogenezinde önemli rol oynarlar. Diabet ve diabet komplikasyonlarının gelişimi, koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, psoriasis, romatoid artrit, behçet hastalığı, çeşitli deri, kas ve göz hastalıkları, kanser ve yaşlılık gibi birçok hastalıkta serbest radikal üretiminin arttığı ve antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu gösterilmiştir (Ames ve ark., 1993; Halliwell, 1994; Maxwell, 1995; Yanbeyi, 1999).

Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Böylece kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar (Cross ve Halliwell, 1987; Holley ve Cheeseman, 1993; Halliwell, 1994; Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999).

Glikozaminoglikan olan ve sinovyal sıvının viskozitesinde önemli rol oynayan hyalüronik asitin reaktif oksijen türleri ile etkilenmesi ile bağ dokusu stabilitesi bozulur. Hyalüronik asit parçalanması inflamatuvar eklem hastalıklarında sinovyal sıvının

karakteristik bir özelliğidir. Gözün vitreous humourunda da bol miktarda hyluronik asit bulunur. Bunun da oksidatif hasarı katarakt oluşumuna katkıda bulunur (Fırat, 1997; Yanbeyi, 1999).

1.4.4. Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkileri

İyonize edici radyasyona bağlı hücre ölümünün başlıca nedeni nükleik asitlerin reaktif oksijen türleri ile reaksiyonudur. Reaktif oksijen türleri DNA çift sarmalının ayrılmasına veya nükleik asit baz değişimlerine neden olabilir. Bu da kromozal mutasyonlar ve sitotoksosite ile sonuçlanır (Halliwell, 1984; Ames ve ark., 1993; Frei, 1994; Halliwell, 1994; Yanbeyi, 1999).

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

Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir (Halliwell, 1987; Oğuz, 1990; Ames ve ark., 1993; Halliwell, 1994; Akkuş, 1995; Taşdemir, 1997; Yanbeyi, 1999). Reaktif oksijen türleri, DNA'nın oksidatif hasarı sonucu karsinogenesis, hastalıklar ve yaşlanmada önemlidir (Winrow ve ark., 1993; Frei, 1994; Yanbeyi, 1999).

1.5. Vücudun Antioksidan Savunma Mekanizmaları

Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı organizmada koruyucu mekanizmalar vardır. Bu mekanizmalardan bir kısmı serbest radikal oluşumunu, bir kısmı ise oluşmuş serbest radikallerin zararlı etkilerini önler. Bu işlevleri yapan maddelerin tümüne birden genel olarak antioksidanlar denir (Ames ve ark., 1993; Frei, 1994; Akkuş, 1995; Bast ve ark., 1997; Yanbeyi, 1999; Dikici, 1999).

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

Antioksidanlar, sellüler lokalizasyonları yanında fonksiyonlarına göre de sınıflandırılmaktadır. Genelde, radikal oluşumunu önleyen (metal şelatörler, SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz) ve oluşan radikallerin dokudaki etkilerini önleyen (E vitamini,

ubikinon, retinoik asit, betakaroten, glutasyon, ürat) antioksidanlar olarak iki kategoride incelenirler. Ayrıca enzim ve enzim olmayanlar şeklinde de sınıflandırılırlar. Hücrelerin hem sıvı hem de membran kısımlarında bulunabilirler (Yanbeyi, 1999).

Çizelge 1.5. Biyolojik sistemlerde antioksidan savunma sistemi (Yanbeyi, 1999; Dikici, 1999).

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

Antioksidanlar etkilerini, şimdiye kadar tesbit edilebilen altı değişik mekanizma ile gösterirler (Cross ve Halliwell, 1987; Halliwell, 1990; Gueumori ve ark., 1991; Ames ve ark., 1993; Yanbeyi, 1999).

Bu mekanizmalar, birbirinden bağımsız veya bir arada işleyebilmektedirler.

1. Oksijen ile reaksiyona girerek ya da onun yerini alarak lokal oksijen konsantrasyonunu azaltabilirler.
2. Hidroksil (OH⁻) radikali yapısında yer alan hidrojen atomları bağ oluşturabilecek yapıdaki ürünleri temizleyerek peroksidasyonun başlamasını önleyebilirler.
3. Membran lipidlerine direkt etkiyerek peroksit oluşturabilen singlet oksijeni (¹O₂) baskılayabilir ya da temizleyebilirler (Halliwell ve Gutteridge, 1990; Yanbeyi, 1999).
4. Metal iyonlarını bağlamak yoluyla reaktif grupların (OH⁻, ferril ya da Fe⁺²/Fe⁺³/O₂ kompleksleri gibi) ve /veya lipid peroksitlerden peroksil ve alkoksil radikallerinin oluşumunu önleyebilirler. Membranlarda LPO'nun başlamasına hangi reaktif ürünlerin neden olduğu tartışılmaktadır, ancak hem başlangıç için ve hem de oluşan lipid peroksitlerinin dekompozisyonu için transisyonel metal iyonlarına ihtiyaç olduğu konusunda genel bir kanı vardır.
5. Peroksitleri, alkol gibi nonradikal ürünlere çevirebilirler. Örneğin; GSH-Px, peroksitleri bu yolla temizleyen bir antioksidandır.
6. Zinciri kırabilirler yani; zincir oluşumuna neden olabilen serbest radikallerle reaksiyona girebilirler ve yağ asidi zincirlerinden sürekli hidrojen iyonu salınımını önleyebilirler. Zincir kırıcı antioksidanlar için de fenoller, aromatik aminler ve en yaygın olanı α -tokoferol yer almakla birlikte başka lipid solubl zincir kırıcı antioksidanlar da vardır (Halliwell, 1990; Yanbeyi, 1999).

Bir oksidatif zincirde antioksidanlar, farklı basamaklarda etki gösterirler.

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

Bu mekanizmalar normal biyokimyasal olaylar sırasında az miktarda oluşan radikalleri nötralize edebilirler. Ancak hiperoksi, iskemiden sonra reperfüzyon, dokularda reaktif oksijen radikalleri oluşturan ksenobiyotiklere maruz kalma ve bu radikalleri bol miktarda oluşturan aktive edilmiş nötrofillerle diğer fagositlerin dokuda toplanması gibi durumlar oksidan/antioksidan dengesinin bozulmasına, antioksidan mekanizmaların tükenmesine (deplezyon) ve sonuçta sitotoksik radikal etkinliğinin artmasına bağlı olarak hücre zedelenmesine ve ölümüne yol açar (Yanbeyi, 1999).

Antioksidanların, Ames testinde genellikle mutajenik olmadığı; hatta bazı kimyasalların mutajenik etkisini inhibe edebildiği gösterilmiştir. Antioksidanların belirli karsinojenlerden önce veya aynı zamanda verildiğinde ratların veya farelerin değişik organlarında kanser oluşumunu inhibe ettikleri açıklanmıştır. Bununla birlikte bazı antioksidanların, karsinojenlere maruz kaldıktan sonra verildiğinde, kemiricilerde, ikinci evre kimyasal kökenli kanser oluşumunu da artırdığı gözlenmiştir (Ito ve Hirose, 1989).

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

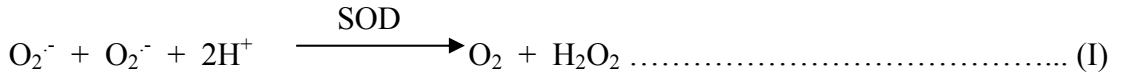
Antioksidanların oksidatif hasarlara karşı dokuları veya hücreleri koruyucu özellikleri göz önüne alındığında, yaşlanmaya, doku hasarlarına ve toksik ajanlar ile zehirlenmeye karşı koruyucu ajanlar olarak gösterilmektedir (Ito ve Hirose, 1989).

1.5.1. Enzimatik Antioksidanlar

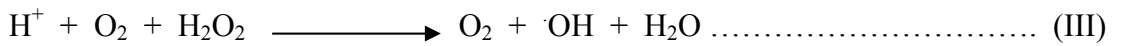
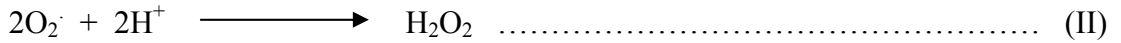
1.5.1.1. Süperoksit Dismutaz

Antioksidan savunmanın ilk basamağı süperoksitin H_2O_2 'e dismutasyonunu katalizleyen süperoksit dismutaz enzimidir (Mc Cord ve Fridovich, 1969; Fridovich, 1975;

Henry ve ark., 1976; Flohe ve Otting, 1984; Gonzales ve ark., 1984; Cerutti ve ark., 1988; Wheeler, 1990; Bast ve ark., 1997; Çakır, 1997).



Süperoksit radikallerinin dismutasyonunu katalizleyen bu enzim ilk olarak inek eritrositlerinden saflaştırılmıştır. Bu enzimin ksantin-ksantin oksidaz deney sistemine eklendiğinde sitokrom c'nin indirgenmesini inhibe ettiğini bulmuşlardır (Mc Cord ve Fridovich, 1969).



SOD, II'nin hızını önemli ölçüde artırır. III' ün ise oluşumunu engeller (Yanbeyi, 1999).

SOD enziminin canlılardaki dağılımı KAT ile birlikte incelenmelidir. Çünkü SOD ile katalizlenen tepkime sonunda oluşan ürün, oksijenin toksik türlerinden biridir ve KAT tarafından birikimi önlenmektedir (Breckta, 1984; Çakır, 1997).

SOD aerobik hücrelerde oksijen radikalının zararına karşı intrasellüler savunmada büyük rol oynar. SOD'un aktivitesinde yaşlanmaya bağlı olarak bir azalma olmaktadır (Criolo, 1991; Çakır, 1997).

SOD enzimi kofaktör olarak içerdiği metal iyonu tipine göre üç sınıfta toplanır (Fridovich, 1975; Asada, 1976; Asada ve ark., 1980; Allen ve ark., 1984; Rousseau, 1990; Smirnoff ve Palanca, 1995; Çakır, 1997; Yanbeyi, 1999).

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

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

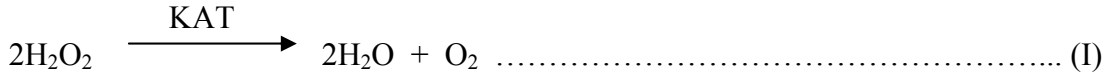
Mn-SOD; prokaryotik hücreler molekül ağırlığı 40000 olan, birbirinin aynı olan iki alt birimden oluşan ve enzimin alt birimi başına birer atom Mn bağlı olan bir dismutaz içerirler. Mitokondri dismutazı da diğer prokaryotik hücrelerdeki dismutaza benzer, ancak 80000 molekül ağırlığında tetramer yapıdadır. Mitokondri ve diğer prokaryotların dismutazlarının pek çok ortak özelliği primer yapıları da birbirine çok benzer. Mitokondri

dismutazının bu özelliği, mitokondrinin prokaryotik orjinli olup, ökaryotik hücre içine girerek simbiyotik bir yaşam oluşturduğuna kanıt olarak kabul edilir. Aynı tepkimeyi katalizlemeleri dışında Mn-SOD ile Cu-Zn SOD arasında hiçbir ortak yapısal özellik yoktur (Halliwell, 1990; Yanbeyi, 1999).

Fe-SOD; bazı bakteriler birden fazla SOD içerirler. Bunlardan biri bütün prokaryotlarda bulunan Mn-SOD olup, hücre sitoplazmasında bulunur. Bazı bakteriler periplazmik bölgelerinde demir içeren bir SOD bulundurlar (Breckta, 1984; Çakır, 1997). Bu dismutaz kofaktörü dışında Mn-SOD'a benzer. Bu tip mikroorganizmalarda matriks enziminin (Mn-SOD) endojen O₂⁻ radikallerine karşı demir içeren dismutazın ise çevreden gelen radikallere karşı koruyucu fonksiyon gördüğü kabul edilmektedir (Kılınç, 1985; Çakır, 1997). Mn-SOD ve Fe-SOD enzimlerinin biri ya da her ikisi birden prokaryotlarda bulunur (Fridovich, 1987; Çakır, 1997).

1.5.1.2. Katalaz

Katalaz (KAT), tüm hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan dört tane hem grubu içeren bir hemoproteindir. Molekül ağırlığı 248,000 Dalton'dur. Hidrojen peroksidi moleküler oksijen ve suya katalizler (Tudhope, 1967; Palmer, 1990; Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999; Dikici, 1999).



Daha çok peroksizomlarda lokalizedir. KAT'ın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit ile metil, etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük molekülü lipid hidroperoksitlerine etki etmez. Kan, kemik iliği, mukoz membranlar, karaciğer ve böbreklerde yüksek miktarda bulunmaktadır (Tudhope, 1967; Gonzales ve ark., 1984; Rice-Evans ve ark., 1991; Rachmilewitz ve ark., 1994; Akkuş, 1995; Bast ve ark., 1997; Yanbeyi, 1999; Dikici, 1999).

1.5.1.3. Glutasyon Peroksidaz

Hücrelerde oluşan hidroperoksitlerin uzaklaştırılmasından sorumlu olan bir enzimdir. Molekül ağırlığı ise yaklaşık olarak 85000 Dalton'dur. Birbirinin aynı dört subünitten oluşan tetramerik bir enzimdir. Her subünit bir selenyum atomu içerir. Bu nedenle hücreleri çeşitli hasarlara karşı koruyan bir selenoenzim olduğu düşünülür (Paglia ve Valentine, 1967; Mannervik, 1985; McMillan ve Stell, 1993; Akkuş, 1995; Mungan, 1996; Fırat, 1997; Yanbeyi, 1999; Dikici, 1999).

Bu enzimin varlığı ilk defa Mills tarafından 1957 yılında memeli eritrositlerinde saptanmıştır. Endotel hücrelerinde özellikle akciğerde en etkili enzimdir (Mungan, 1996).

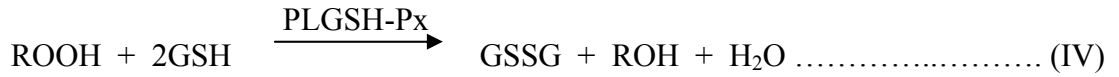
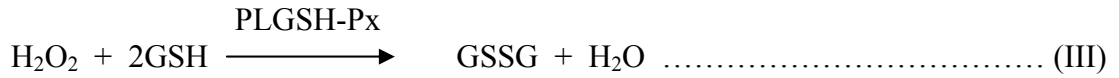
Enzim aktivitesinin % 60-75'i ökaryot hücrelerin sitoplazmasında bulunur. % 25-40'ı ise mitokondridedir. Enzim aktivitesinin en fazla olduğu dokular ise eritrositler ve karaciğerdir (Fırat, 1997).

GSH-Px, intrasellüler mesafede lipidleri peroksidasyondan koruyan en önemli enzimdir. Bu nedenle hücrenin özellikle sitozolik kompartmanında yer alan bu enzim hücrenin yapısını ve fonksiyonunu korur (Necheles ve ark., 1968; McCray ve ark., 1976; Beloqui ve Cederbaum, 1986; Michiels ve ark., 1994; Akkuş, 1995; Fırat, 1997; Yanbeyi, 1999).

GSH-Px, aşağıdaki reaksiyonları katalizler (Paglia ve Valentine, 1967; Jones ve ark., 1981; Flohe, 1988; Michiels ve ark., 1994; Akkuş, 1995; Fırat, 1997; Dikici, 1999).



Membran fosfolipid hidroperoksitlerini alkole indirgeyen fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PLGSH-Px) da selenyum atomu içerir ve monomerik yapıdadır. Ayrıca sitozolik bir enzimdir. Membrana bağlı antioksidan olan vitamin E'nin yetersiz olduğu durumlarda PLGSH-Px membranın peroksidasyonuna karşı korunmasını sağlar (Necheles ve ark., 1968; Gonzales ve ark., 1984; Mannervik, 1985; Takahashi ve Cohen, 1986; Halliwell, 1990; Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999; Dikici, 1999).



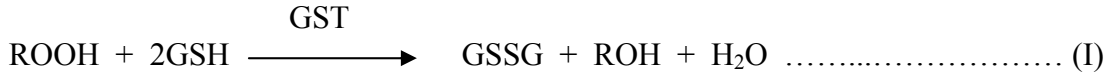
Hidroperoksitlerin redükte olması ile meydana gelen GSSG, glutatyon redüktazı (GSSG-R) katalizlediği reaksiyon ile tekrar GSH'a dönüşür.



GSH-Px'in, hücredeki dağılımı, GSSG-R'a bağımlıdır. Her iki enzim de sitozolde en yüksek konsantrasyonlarda bulunur (Yanbeyi, 1999).

1.5.1.4. Glutatyon S-Transferaz

“Selenyuma bağlı olmayan GSH-Px” olarak adlandırılır. Membran LPO'nu yalnızca fosfolipaz A2'nin varlığında inhibe eder. Öncelikle araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı Se bağımsız GSH peroksidaz gibi aktivite göstererek antioksidan etki gösterir (Mannervik, 1985; Akkuş, 1995; Fırat, 1997; Dikici, 1999; Yanbeyi, 1999).



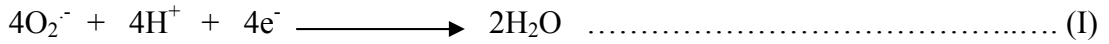
1.5.1.5. Glutasyon Redüktaz

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



1.5.1.6. Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz

Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz, aşağıdaki reaksiyonla süperoksidi detoksifiye eden enzimdir.

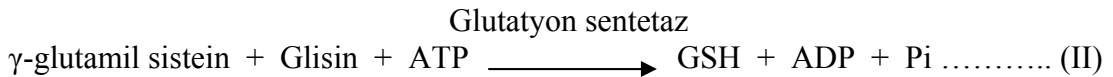
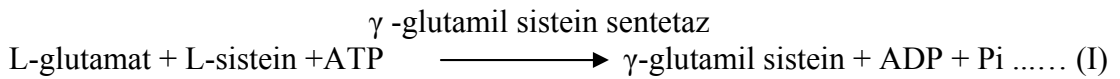


Bu reaksiyon, fizyolojik şartlarda sürekli cereyan eden normal bir reaksiyon olup, bu yolla yakıt maddelerinin oksidasyonu tamamlanır ve bol miktarda enerji üretimi sağlanır (Frei, 1994; Halliwell, 1994; Akkuş, 1995; Smirnov ve Palanca, 1995; Bast ve ark., 1997; Yanbeyi, 1999; Dikici, 1999).

1.5.2. Nonenzimatik Antioksidanlar

Glutasyon

Redükte glutasyon (GSH); glutamik asit, sistein ve glisin içeren bir tripeptit olup, aktif bir sülfidril (-SH) grubuna sahiptir. Vücuttaki GSH'nun büyük bölümü karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç duyulmadan iki aşamada sentezlenebilen bir tripeptittir (Beutler ve Duron, 1963; Akkuş, 1995; Fırat, 1997; Champe, 1997; Dikici, 1999; Yanbeyi, 1999).



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

En önemli görevi, enzim ve proteinlerin tiyol gruplarının (-SH) indirgenmesi ile redükte formlarının yeterli düzeylerde kontrolünü sağlamaktır. Tiyol grubuna sahip birçok enzim düşük hızda fakat okside olarak ya da O₂'nin direkt etkisiyle hızla aktivitelerini yitirirler. İşte GSH kendisi okside olup tiyol gruplarını tekrar indirgeyerek bunların

dokularda değişik konsantrasyonlarda bulunur. En yüksek vitamin E konsantrasyonları, mitokondri ve mikrozoamlar gibi membrandan zengin hücre fraksiyonlarında bulunur. E vitaminini, süperoksit ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni, lipid peroksi radikallerini ve diğer radikal örneklerini indirger (Rice–Evans ve ark., 1991; Akkuş, 1995; Tanakol, 1998; Dikici, 1999; Yanbeyi, 1999).

E vitamini dokularda en önemli zincir kırıcı antioksidandır ve lipid peroksidasyonuna karşı ilk sıradaki korunma mekanizmasıdır (Horwitt, 1986; Schmidtman, 1990; Ames ve ark., 1993; Akkuş, 1995; Çakır, 1997; Yanbeyi, 1999).

Soğukta preslenmiş bitkisel yağlar, kuru fasulye, soya fasulyesi, ayçiçeği çekirdeği, badem, yerfıstığı, ceviz, fındık, mısır yağı, kabuklu yemiş, kepekli tahıllarda çok fazla miktarda ve değişik oranlarda bulunur (Burton ve ark., 1983; Çakır, 1997).

E vitamini özellikle yağlı bitkilerde bulunduğundan, temel görevi bitkilerdeki yağları oksidatif hasarlardan (yağların bozulması) korumaktır (Çakır, 1997).

Glutasyon peroksidaz ile E vitamini serbest radikallere karşı birbirlerine tamamlayıcı etki gösterirler. Enzim, teşekkül etmiş olan peroksitleri ortadan kaldırırken E vitamini peroksitlerin sentezini engeller (Fritsma ve ark., 1983; Halliwell, 1987; Fırat, 1997; Yanbeyi, 1999).

Sellüler ve subsellüler membran fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonuna karşı ilk savunma hattını oluşturduğu ve bu nedenle bu bölgelerde yoğunlaştığı düşünölmektedir (Yanbeyi, 1999). Vitamin E eksikliğine bağlı hücrel hasarlara, lipid peroksidasyonunun yol açtığı kabul edilmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1984; Riemersma ve ark., 1991; Yanbeyi, 1999).

E vitamininin emilimi bireyin emilim düzeyi ile doğrudan ilgilidir. E vitamini besinlerden lipidlerle birlikte ince barsaklardan safra asitlerinin yardımıyla emilir. Daha sonra lipoprotein ve şilomikronlara bağlanarak lenf sıvısıyla plazmaya taşınır. Böylece tüm organizmaya dağılır (Bieri ve ark., 1983; Bjorneboe ve ark., 1990; Çakır, 1997).

Vitamin C

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

Karotenler

Doęada yaygın olarak bulunan ve hücreleri korumada önemli görevleri olan pigmentlerdir (Bast ve ark., 1991; Yanbeyi, 1999). A vitamininin metabolik ön maddesi olan β -karotenin, singlet oksijeni bastırabildiği, süperoksit radikalini temizlediği ve peroksi radikalleri ile direkt olarak etkileşerek antioksidan vazife gördüğü tesbit edilmiştir (Akkuş, 1995; Frei, 1994; Fırat, 1997; Di Mascio ve ark., 1991; Yanbeyi, 1999).

Flavonoidler

Lipidlerde çözünen antioksidanlar sınıfından olan flavonoidler bitkilerdeki kırmızı, mavi ve sarı renk pigmentlerini oluşturan polifenollerdir. Başlıca besinsel kaynakları elma, portakal, limon gibi meyveler ile patates, karnabahar gibi sebzelerdir. Şarap, üzüm suyu ve çay gibi bitkisel kaynaklı içeceklerde de bulunurlar (Dikici, 1999).

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

Ürat

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

Bilirubin

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

Albümin

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

Seruloplazmin

Hem doku homojenatları, hem de basit lipid emülsiyonlarında güçlü bir serbest radikal inhibitörüdür (Winyard ve ark., 1984; Yanbeyi, 1999). Demirin transferrine bağlanmasını kolaylaştırır ve ekstrasellüler SOD gibi davranır. Ayrıca ferrik demiri ferro demire yükseltgeyerek fenton reaksiyonunu önler (Akkuş, 1995; Dikici, 1999).

Transferrin

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

Melatonin

En zararlı radikal olan hidroksil radikalini ortadan kaldıran, günümüze kadar bilinen en güçlü antioksidandır. Lipofilik özelliğe sahiptir. Böylece hücrenin bütün organellerine

ve hücre çekirdeğine ulaşılabilirdi gibi kan-beyin bariyerini de kolayca geçer. DNA hasarını da çok etkili bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir. Yaş artımı ile birlikte melatonin üretimi de azalmaktadır. Bu durumun yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı hastalıkların patogeneğinde önemli olabileceği düşünülmüştür (Akkuş, 1995; Dikici, 1999).

Sistein

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

1.6. Aspirin

Aspirinin kökeni aslında doğadan gelmektedir. Bütün doktorların atası Hipokrat (M.Ö. 460-377), söğüt (*Salix sp.*) kabuklarından elde edilen bir özsuynun ağrı yatıştırıcı etkisinden sözeder (Çakır, 1997).

Ülkemizde ve dünyada “aspirin” adı ile bilinen asetil salisilik asit ve türevleri tedavide oldukça sık kullanılmaktadır. Aspirinin kontrollü bir tedavi programı içerisinde düşük dozlarda kullanıldığında kalp krizi ve beyin trombozunu önleyebildiği, yüksek dozlarda kullanıldığında ise (günde 4-8 g) romatizmal ateş, damla hastalığı ve eklem iltihabı gibi eklemlerde şişme yapan hastalıkları azalttığı rapor edilmiştir (Weissmann, 1991; Şahin, 1994; Yanbeyi, 1999).

Böbrek fizyologları, salisilatların düşük dozlarının böbrekler tarafından ürik asit salınımını bloke ettiğini, böylelikle kanda ürik asitin yükseldiğini, yüksek dozdaki salisilatların böbreklerden ürik asit atılımını hızlandırdığını, böylece kanda ürik asit seviyesinin düştüğünü buldular. Salisilatların hem akut hem de kronik gut hastalığında yararlı olabileceği öne sürülmektedir. Farmokologlar salisilik asitin dokular üzerindeki acıyı azalttığını ve duyarlı sinirleri birleştirerek beyin üzerinde morfine benzer etkiler yaptığını göstermişlerdir. Fakat fizyologlar salisilik asitin çevreye etki etmeden doğrudan doğruya hipotalamusun ateş merkezinde çalışarak ateşi düşürdüğünü savunmuşlardır (Pederson ve FitzGerald, 1984; Şahin, 1994; Kılıçoğlu, 1996).

Aspirinin etki mekanizmasını açıklamada ilk tatminkar açıklama 1971’de John Vane ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Vane, doku hasarlarının birçok formunun prostoglandinlerin salınımı ile ortaya çıktığını ifade etmiştir. Prostaglandinler hormonlar gibi hücrelerde depolanmazlar. Ancak hücreler hasar gördüğünde veya diğer hormonlar tarafından uyarıldıklarında salınırlar. Kimyasal ve biyolojik araştırmalarda prostoglandinlerin (E_1 ve E_2) kızarıklık ve ateş de dahil olmak üzere, inflamasyonun değişik belirtilerinin ortaya çıkmasına neden oldukları belirtilmiştir (Vane, 1971; Şahin, 1994; Yanbeyi, 1999).

Yapılan çalışmalarda aspirin verilen farelerde kandaki askorbik asit miktarının arttığı görülmekte ve bu etkinin hücre membrandaki geçirgenlikten kaynaklandığı ileri sürülmektedir (Şahin, 1994; Kılıçoğlu, 1996).

Ayrıca aspirin erkek farelere intraperitoneal enjeksiyonla verildiğinde; karaciğer mikrozomlarında cyt P450, cyt b5 düzeylerinde % 45 ile % 23 oranında azalmaya neden

olduğu belirlenmiştir (Jagota, 1989; Nietsch, 1989; Şahin, 1994; Kılıçoğlu, 1996; Yanbeyi, 1999).

Araştırmacılar aspirinin prostoglandin sentezlenmesini engelleyebildiği buluşundan yola çıkarak aspirin ve benzeri bileşiklerin antiinflamatuvar etkisinin sadece prostoglandin inhibisyonundan kaynaklanmayıp, aynı zamanda hücre membranındaki etkileri bozma yeteneğinden de kaynaklandığını göstermişlerdir. Laboratuvar çalışmaları aspirin benzeri ilaçların, akut inflamasyonunun ilk devresini başlatan hücrelerin aktivasyonunu nasıl önlediğini göstermiştir (Nietsch, 1989; Weissmann, 1991; Cai ve ark., 1994; Şahin, 1994; Yanbeyi, 1999).

Aspirinle ilgili bileşiklerin prostoglandin E_2 ve $F_{2\alpha}$ 'nın sentezinin engellenmesini göstermek için radyoaktif işaretli element olarak araşidonik asit kullanılmış, isteğe bağlı olarak indomethacin ve aspirin verilen kişilerden alınan trombositlerin pıhtılaşma faktörü trombine karşı prostoglandin yapamadıkları gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre aspirin ve benzeri ilaçların prostoglandin sentezini bloke ettiği söylenmektedir. Prostoglandinlerin nasıl ve ne zaman kızarıklıklara, şişmelere, acıya neden olduğunu tayin etmek için; prostoglandin H sentetaz olarak bilinen ve araşidonik asitin prostoglandinlere dönüşümünü sağlayan enzimin, aspirin tarafından inhibe edildiği gösterilmiştir (Vane, 1971; Nietsch, 1989; Weissmann, 1991; Şahin, 1994; Yanbeyi, 1999).

1.7. Diabetes Mellitus

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

Bu hastalık çok eski yıllardan beri bilinmesine rağmen, idrarda şekerin bulunduğu ancak 18. yy'da Dopson tarafından saptanmış ve bu hastalığın pankreasla olan ilişkisi 1889 yılında Mering ve Minkowski'nin pankreatektomi yapılmış köpeklerde diyabet oluştuğunu gözlemlenmeleri ile anlaşılmıştır. 1921 yılında Banthing ve Best'in, insulini pankreastan ekstre etmeleri sonucunda da bu ilişkinin şekli kesin olarak ortaya çıkmıştır (Avcı, 2001).

1.7.1. Diabetes Mellitusun Tipleri ve Klinik Özellikleri:

DM'un bütün tipleri ya dolaşımdaki insulin konsantrasyonlarının azalmasından (insulin yetersizliği) ya da hedef dokuların insuline yanıt verebilirliğinin azalmasından (insulin rezistansı) kaynaklanmaktadır. Dünyada en çok kabul gören diabetes mellitus sınıflaması Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından önerilen ve DM'u 3 ana başlık altında toplayan sınıflamadır. Bu sınıflamaya göre:

- I. Bu ilk grup 4 alt başlıktan oluşmaktadır.
 - a. Tip-1 Diabetes Mellitus: İnsulin Bağımlı Tip (IDDM)
 - b. Tip-2 Diabetes Mellitus: İnsulin Bağımsız Tip (NIDDM)

c. Malnutrisyonla ilişkili DM

d. Bazı koşullar ve sendromlarla beraber olan DM

II. Bozulmuş glukoz toleransı ile beraber olan Tip

III. Gebelik diabeti (Gestasyonel diabet) (Shuman, 1988; Huysal, 1999).

1.7.1.1. Tip-1 Diabet Mellitus

İnsuline bağımlı (IDDM) veya genç tipi (juvenile onset) diabet olarak anlatılmaktadır. Bu tip diabet total veya kısmi insulün yetmezliği olarak da tanımlanmaktadır. Polidipsi, poliüre, zayıflama ve ketoasidoz gibi klasik diabet semptomları gösterir. Hiperglisemi ve ketoasidoz oluşumunu engellemek için insulün tedavisine gereksinim gösteren diabet tipidir. Bu tipte pankreasın insulün salgılayan β hücrelerinin virütik enfeksiyonlar veya otoimmünitedeki değişimlerden dolayı tahrip olduğu gösterilmiştir (Huysal, 1999; Avcı, 2001).

1.7.1.2. Tip-2 Diabetes Mellitus

İnsuline bağımlı olmayan (NIDDM) veya erişkin tipi (Maturity onset) diabet olarak anlatılmaktadır. Bu tip diabetin obezite ve kalıtımla ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu hastalıkların başlıca karakteristikleri; insulünün sentez, salgı ve depolanmasında bir bozukluk olmadığı halde periferik dokularda insuline karşı rezistans söz konusudur. İnsulün rezistansı; hedef hücrelerde insulün reseptör sayısının azalması veya hücre içinde postreseptör düzeyde insulün etkinliğinin azalması ile direnç gelişmesi ile tanımlanabilir (Avcı, 2001).

1.7.1.3. İnsulün Rezistansı

Şişman nondiyabetik hastalar ve NIDDM'li hastalar insulün etkisine rezistansı düşündüren, dolaşımdaki normal insulün düzeylerine azalmış biyolojik cevabı göstermektedirler. Rezistansı oluşturan iki mekanizma, reseptör down regülasyonundan dolayı reseptör sayısındaki azalma ve henüz açıkça anlaşılammış olan reseptör sonrası anomalilerdir. İnsulün rezistansına sahip birçok insanda hastalık gelişmemesi β hücre disfonksiyonunun diabet gelişiminde kritik bir role sahip olduğunu düşündürmektedir (Shuman, 1988; Burtis ve Ashwood, 1998; Huysal, 1999).

1.7.1.4. Yetersiz İnsulün Sekresyonu

Yetersiz insulün sekresyonu NIDDM gelişmesinde önemlidir. Çünkü sağlıklı β hücreleri insulün rezistansını kompanse edebilirler. Major defekt glukozla bağılı insulün salınımının kaybı ve arjinine bağılı insulün salınma fonksiyonundaki kayıptır. β hücre defektinin primer veya insulün rezistansına sekonder olup olmadığı bilinmemektedir (Huysal, 1999).

Şişman erişkinlerde; insulin rezistansı, açlık ve postprandial (yemek sonrası) insulin konsantrasyonlarında artma ve insulin reseptörlerinin sayısında azalma sıklıkla görülmektedir. İnsulin reseptör sayısındaki azalmanın, reseptörlerde down regülasyon oluşturan insulin seviye artışı nedeniyle olduğu düşünülmektedir. Kilo kaybı ve egzersiz bu anormalliklerin hepsini tersine çevirebilmektedir (Huysal, 1999).

Bu hastalıkta genetik faktörler de güçlü bir role sahiptir. Monozigotik ikizlerden birinde diabetes görüldüğü takdirde % 90 oranında diğer kardeşte de diabete rastlanmaktadır. Bununla beraber NIDDM'nin HLA ile zayıf bir ilişkisinin olduğu tesbit edilmiştir. NIDDM'nin patogenezi tam olarak bilinmemektedir. Etiyolojisi muhtemelen multifaktöriyel gibi gözükmemektedir ve tek bir nedenin gösterilmesi zordur (Shuman, 1988; Burtis ve Ashwood, 1998; Huysal, 1999).

1.7.1.5. Malnutrisyonla İlişkili Diabetes Mellitus

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

Klinik çalışmalar bu alt grup için en az 2 alt sınıfı öne sürmektedir:

A. Fibrocalculous pankreatik diabet

B. Protein yetersiz pankreatik diabet (Shuman, 1988; Burtis ve Ashwood, 1998; Huysal, 1999).

1.7.1.6. Bozulmuş Glukoz Toleransı

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

Bozulmuş glukoz toleransı sadece oral glukoz tolerans testi (OGTT) ile belirlenir. Bozulmuş glukoz toleransı, OGTT'de 2. saatteki plazma glukoz konsantrasyonununun 126-200 mg/dL (7-11,1 mmol/L) arasında olmasıyla belirlenir (Shuman, 1988; Burtis ve Ashwood, 1998; Huysal, 1999).

1.7.1.7. Gestasyonel Diabet

Gestasyonel diabet, hamilelerin yaklaşık % 2'sinde olur. Eğer bu durum belirlenmezse perinatal morbidite ve mortalite riski artar. Daha önemlisi bu gibi hastaların sonraki yıllarda diabetes gelişimi için artmış riske sahip oldukları bilinmektedir. Gestasyonel diabetli kişilerin doğumdan sonra glukoz düzeyleri genellikle normale döner veya bozulmuş glukoz toleransına sahip olurlar, ya da diabet oluşur (Shuman, 1988; Burtis ve Ashwood, 1998; Huysal, 1999).

1.7.2. Diabet Oluşumuna Etki Eden Faktörler

- a. Genetik sendromlar (Tip A ve Tip B insülin direnç sendromları, glikojen depo hastalığı, wolfram sendromu, down, klinefelter ve turner sendromları).
- b. Endokrin hastalıkları (Agromegali, cushing sendromu, glukagonoma, hipertiroidi, hiperparatiroidi, pankreatik kolera sendromu, büyüme hormonu yetersizliği).
- c. Pankreatik hastalıklar (Pankreatektomi, pankreatit, hemokromatozis).
- d. İlaçlar, kimyasal ajanlar, toksinler (Tiyazid grubu diüretikler, beta adrenerjik reseptör blokerleri, glukokortikosteroidler, psikoaktif ajanlar, antineoplastik ajanlar, katyonlar) (Başaraner, 1999).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

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

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

Huysal (1999), tip 2 diabetlilerde eritrosit GSSG-R, GSH-Px, SOD, KAT aktiviteleri, hemoglobin glikozilasyonu ve LPO'nu incelemiştir. Bu çalışma sonucunda da DM da serbest radikal üretiminin arttığı ve antioksidan savunma mekanizmasının bozulduğunu bildirmiştir.

Schmidt ve ark. (1999), yaptıkları bir çalışmada orta yaşlı yetişkinlerde orosomukoid ve sialik asit gibi inflamasyon markırları ile diabet arasında bir ilişki olduğunu ve bu durumun muhtemelen tip 2 diabetin patogenezi yansıttığını bildirmişlerdir.

Shi ve ark. (1999), aspirinin OH⁻ radikalini yok etmek suretiyle antioksidant özelliğinin bulunduğu ve bu özelliğin aspirinin bazı fizyolojik ve farmakolojik etkileri ile ilgili olabileceğini belirtmişlerdir.

Jang Y.Y ve ark. (2000), STZ ile diabet oluşturulmuş ratlarda MDA ve GSH-Px seviyelerinin karaciğer, böbrek ve mitokondrilerinde arttığını bildirmişlerdir.

Zhang XF ve ark. (2000), diabetik ratların böbreklerinde MDA seviyelerinin arttığı bildirmişlerdir.

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

Hundal ve ark. (2002), tip 2 diabetik hastalarda (n=9) yüksek doz (7g/gün) aspirin tedavisi sonucunda açlık plazma glukozunun yaklaşık olarak % 25, total kolesterol ve bir inflamasyon markırı olan C reaktif proteinin % 15 ve trigliseritin ise % 50 kadar düştüğünü belirtmişlerdir. Buna ilaveten aspirin tedavisinin hepatik glukoz yapımını % 20 kadar azalttığını bildirmişlerdir.

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

Duncan ve ark. (2003), düşük dereceli inflamasyonun tip 2 diabet insidansını gösterdiğini bildirmişlerdir.

Grosser ve ark. (2003), insan endotelyal hücre kültürlerini aspirinle muamele ederek yaptıkları bir çalışma sonucunda inflamatuvar şartlarda ve KVH'ta aspirinin hücre yaralanmasını-hasarını önlediğini bildirmişlerdir.

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

3. MATERYAL VE METOT**3.1. Materyal**

Çalışmalar, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda yetiştirilip üretilen albino tipi laboratuvar ratları ile yapıldı. Çalışmada ortalama ağırlıkları 20-30 gr olan dişi ve erkek ratlar kullanıldı. Deneyde kullanılan ratlar standart fare yemi ile beslendi, su ise serbest olarak verildi. Bunlardan diabet oluşturulacak ratlara bir gece aç bırakıldıktan sonra intraperitoneal olarak 55 mg/kg streptozotosin (STZ) verildi. STZ enjeksiyonundan 48 saat sonra ratların kuyruklarından alınan kanlarda glukoz düzeylerine bakıldı. Glukoz ölçümünde "Accu-check (Roche)" cihazı ve test stripleri kullanıldı. Normal kan şekeri değeri 90-110 mg/dL olarak alındı. Kan şekerleri 250 mg/dL'nin üzerinde olanlar diabetik olarak kabul edildi. STZ enjeksiyonundan 48 saat sonra, yani diabet oluşumundan hemen sonra E vitamini ve aspirin tedavisine başlandı.

Çalışmada kullanılan ratlar 4 gruba ayrıldı:

Grup I: Kontrol Grubu	(n=10; 5 erkek, 5 dişi)
Grup II: STZ Diabet Grubu	(n=10; 5 erkek, 5 dişi)
Grup III: STZ Diabet + Aspirin Grubu	(n=10; 5 erkek, 5 dişi)
Grup IV: STZ Diabet + Vitamin E Grubu	(n=10; 5 erkek, 5 dişi)

Çalışmada E vitamini olarak dl- α tokoferol asetat (Evigen ampul) kullanıldı. E vitamini ratlara 500 mg/kg/gün şeklinde intraperitoneal olarak 10 gün süreyle verildi. Çalışmada % 0.9'luk NaCl çözeltisi içerisinde çözülen aspirin ise ratlara 200 mg/kg/gün şeklinde intraperitoneal olarak 10 gün süreyle verildi. Servikal diskolasyonla öldürülen ratlardan kalp, karaciğer, böbrek ve beyin dokuları alınarak, derin dondurucuya bırakıldı.

Derin dondurucudan çıkarılan dokular buz içindeki beherde ince ince doğrandı. Homojenizasyon işlemi için 5 mL fosfat tamponu (0.5 M, pH = 7.4) ile homojenizasyon tüpüne alınan dokular homojenizatörün en yüksek hız durumunda (max. rpm) 30 sn süre ile homojenize edildi. Tüm numuneler homojenize edildikten sonra homojenatlarda glutatyon (GSH) ve malondialdehit (MDA) düzeyleri çalışıldı.

Homojenizasyondan sonra dokular santrifüj tüplerine boşaltıldı. 3000 rpm'de 20 dk santrifüj edildikten sonra süpernatant ayrıldı ve tekrar temiz numune tüplerine konuldu. Numunelerin süpernatant kısmında ise süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve total protein düzeyleri çalışıldı.

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- E vitamini (dl- α tokoferol asetat) (Sigma)
- Aspirin (asetil salisilik asit) (Sigma)
- Streptozotosin (Sigma)
- Bakır (II) sülfat pentahidrat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) (Sigma)
- Sodyum sitrat (Sigma)
- Sodyum karbonat (Na_2CO_3) (Sigma)
- Sodyum hidroksit (NaOH) (Sigma)

Sodyum tungstat dihidrat ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Sigma)
Sodyum molibdat dihidrat ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Sigma)
Fosforik Asit (H_3PO_4) (Sigma)
Hidroklorik Asit (HCl) (Sigma)
Lityum Sülfat (Li_2SO_4) (Sigma)
Brom (Sigma)
Glasiyel Metafosforik Asit (Sigma)
EDTA Na_2 (Sigma)
Sodyum klorür (NaCl) (Sigma)
5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) (Sigma)
 Na_2HPO_4 (Sigma)
TCA (Sigma)
TBA (Sigma)
n-Bütanol (Sigma)
Ksantin (Sigma)
Nitro blue tetrazolium (NBT) (Sigma)
Albumin (Sigma)
Ksantin Oksidaz (Sigma)
 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Sigma)
 CuCl_2 (Sigma)
GSH-Redüktaz (Sigma)
GSH (Sigma)
 NaN_3 (Sigma)
NADPH (Sigma)
 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Sigma)
 H_2O_2 (Sigma)
 KH_2PO_4 (Sigma)

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Santrifüj (CN 180, Nüvefuge)
Spektrofotometre (UV-160-A, Shimadzu)
Elektronik terazi (HR120, AND)
Vorteks (NM 110, Nüvefuge)
Santrifüj (Nüvefuge)
Derin dondurucu (Arçelik)
Otomatik pipetler (5 mL, 1 mL, 100 μL , 20 μL)
Glukometre (Accu-check, Roche)
Homojenizatör (Heidolp, 8-24000/dk devir)

3.1.3. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması

Total Protein Tayininde Kullanılan Çözeltiler

- A Reaktifi: 0.5 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ve 1 g sodyum sitrat 100 mL bidestile suda çözülür.
- B Reaktifi: 20 g Na_2CO_3 ve 4 g NaOH 1L bidestile suda çözülür.
- C Reaktifi: 50 mL B çözeltisine 1 mL A çözeltisi ilave edilir (Taze hazırlanmalıdır).
- D Reaktifi (Phenol-Folin-Ciocalteu reaktifi): 1500 mL'lik bir balona 100 g $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 25 g $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 700 mL bidestile su, 50 mL % 85 H_3PO_4 ve 100 mL

HCl konulur. 10 saat geri soğutucu altında yavaşça ısıtılır. Soğuduktan sonra üzerine 100 g Li_2SO_4 , 50 mL bidistile su ve 5 damla brom ilave edilir. 15 dk kaynatılarak bromun fazlası uçurulur. Bu kaynatma geri soğutucusuz olarak yapılır. Muhteviyat soğutulur ve 1L'lik balona aktarılır. Distile su ile litreye tamamlanır. Koyu renkli şişede muhafaza edilir. Uygun şartlarda reaktifin rengi sarıdır. Yeşil renk, reaktifin bozulduğunu gösterir. Kullanılacağı zaman 1 mL D reaktifinden alınıp, üzerine 1 mL bidistile su ilave edilir (1/1).

Not: Bu metot biüre metodunun geliştirilmiş şeklidir ve daha hassastır.

Glutasyon Tayininde Kullanılan Çözeltiler

- Çöktürme çözeltisi: 1.67 g glasiyel metafosforik asit, 0.2 g EDTA Na_2 ve 30 g NaCl metal iyonları içermeyen distile suda çözülerek 100 mL'ye tamamlanır. Çözelti +4 °C'de 3 hafta dayanıklıdır.

- % 1'lik sodyum sitrat çözeltisi: 1 g sodyum sitrat destile suda çözülerek 100 mL'ye tamamlanır. Bu çözelti belirtme reaktifi hazırlanırken kullanılır.

- Belirtme reaktifi: 40 mg 5,5'-ditiyobis-2-nitrobenzoik asit (DTNB) % 1'lik sodyum sitrat çözeltisinde çözülerek, yine aynı çözelti ile 100 mL'ye tamamlanır. Çözelti +4 °C'de 13 hafta dayanıklıdır.

- Sekonder sodyum fosfat: 0.3 M Na_2HPO_4 çözeltisi hazırlanır. Bu çözelti +4 °C'de saklanır.

- Glutasyon standart çözeltisi: Belli konsantrasyonlarda glutasyon standardı hazırlanır.

Lipid Peroksidasyonu Tayininde Kullanılan Çözeltiler

- 1.22 M TCA (0.6 M HCl'deki)

- TBA çözeltisi: 500 mg TBA, 6 mL 1M NaOH ve 69 mL bidistilesu ile çözülür.

Süperoksit Dismutaz Tayininde Kullanılan Çözeltiler

- Çalışma çözeltisi: Aşağıdaki maddeler (a,b,c,d,e) belirtilen molaritede hazırlanarak karıştırılır ve buzdolabında +4 °C'de saklanır.

a. 0.3 mmol/L ksantin: 9.13 mg ksantin alınıp, 200 ml bidistile suda çözülür. Çözme işlemi birkaç damla 1 M NaOH'lı ortamda hafifçe ısıtılarak yapılır.

b. 0.6 mmol/L EDTA Na_2 : 25 mg EDTA Na_2 alınıp, 100 mL bidistile su ile çözülür.

c. 150 $\mu\text{mol/L}$ NBT: 12.3 mg NBT alınıp, 100 mL bidistile su ile çözülür.

d. 400 mmol/L Na_2CO_3 : 2.54 g Na_2CO_3 alınıp, 60 mL bidistile suda çözülür.

e. 1 g/L bovine serum albumin (BSA): 30 mg alınıp, 30 mL bidistile suda çözülür.

- Ksantin oksidaz (167 U/L): 10 μL ksantin oksidaz (U, spesifik aktivite) alınıp, 1 mL buz gibi soğuk 2 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ile karıştırılır. Enzim çözeltileri deney esnasında hazırlanır.

- 2 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$: 2.64 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ alınıp, 10 mL bidistile suda çözülür. Buzlukta saklanır.

- 0.8 mmol/L CuCl_2 : 10.8 mg CuCl_2 alınıp, bir miktar bidistile suda çözülerek 100 mL'ye tamamlanır.

Glutasyon Peroksidaz Tayininde Kullanılan Çözeltiler

- GSH (150 mM): 50 mg GSH 1 mL tamponda çözülür.
 - NaN_3 (3 mM): 65 mg NaN_3 1mL tamponda çözülür.
 - NADPH (3 mM): 25 mg NADPH alınır, 1mL tamponda çözülür.
 - GSH-Redüktaz: 3.2 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ile seyreltilerek kullanılır.
 - H_2O_2 (50 mM): 15 mL H_2O_2 alınıp, 5 mL tampona konulur.
 - Tampon (pH 7, 50 mM fosfat tamponu):
 - A: Na_2HPO_4 , 50 mM, 7.1 g/L
 - B: KH_2PO_4 , 50 mM, 6.8 g/L
- 600 mL A + 400 mL B + 2.08 g Na_2EDTA şeklinde hazırlanır.

3.2. Metot

3.2.1. Total Protein Tayini

Prensib

Alkali çözeltide bakır-protein kompleksi oluşur. Bu kompleks D reaktifini redükler ve koyu mavi bir renk oluşur. Burada rengin koyuluğu ortamdaki protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. D reaktifinin ilavesinde şu önemli kaideye dikkat etmek gerekir. Bu reaktif yalnız asit ortamda dayanıklıdır. Tarif edilen bu redükleme ise pH 10'da gerçekleşmektedir. Bundan dolayı D reaktifi alkali bakır-protein çözeltisine hemen ilave edilmeli ve derhal şiddetle karıştırılmalıdır. Bu suretle D reaktifi parçalanmadan önce redükleme olayı gerçekleşir (Lowry ve ark., 1951).

Metot

Çizelge 3.1. Total protein tayini için işlem basamakları

REAKTİFLER	TÜPLER		
	Kör	Numune	Standart
Numune (μL)	-	10	-
Su (μL)	500	490	490
Standart (μL)	-	-	10
C Reaktifi (mL)	2.5	2.5	2.5
Karıştırılır, 10 dk beklenir.			
D Reaktifi (mL)	0.25	0.25	0.25

Tüplerin ağzı parafinle kapatılarak 25 °C'de 20-30 dk beklenir ve 700 nm'de numunenin absorbansı köre karşı okunur.

Hesaplama, numune ve standartın absorbansından körün absorbansı çıkarılarak net absorbanslar bulunur. Standartın konsantrasyonundan yararlanılarak numunelerin total protein değerleri hesaplanır.

3.2.2. Glutasyon Tayini

Prensib

Dokuda glutasyon tayini için DTNB (5,5'-ditiyobis-2-nitrobenzoik asit) metodu kullanılır. Metotta Elman ayırıcı ile sülfidril gruplarının reaksiyonu sonucu oluşan sarı renkli ürün, spektrofotometrik olarak değerlendirilir (Beutler, 1975).

Metot

Bir deney tüpüne 0.5 mL doku homojenizatu kullanılır. Üzerine 0.75 mL çöktürme çözeltisinden ilave edilip, iyice karıştırıldıktan sonra 5 dk santrifüj edilir. Süpernatant ayrılır, çökelti atılır.

Bu işlemler tamamlandıktan sonra; numune, standart ve kör tüpleri aşağıdaki gibi hazırlanır.

Çizelge 3.2. Glutasyon tayini için işlem basamakları

REAKTİFLER	TÜPLER		
	Numune	Standart	Kör
Süpernatant (mL)	0.5	–	–
Destile su (mL)	–	–	0.5
Çalışma standart çözeltisi (mL)	–	0.5	–
Sekonder sodyum fosfat (mL)	2	2	2
Belirtme reaktifi (DTNB) (mL)	0.250	0.250	0.250

Tüpler vortekste iyice karıştırıldıktan sonra oda ısısında 5 dk bekletilir. Köre karşı 412 nm’de absorbanslar okunarak kaydedilir.

Hesaplama, numune ve standartın absorbansından körün absorbansı çıkarılarak net absorbanslar bulunur. Standart konsantrasyonu ve glutasyonun molekül ağırlığından yararlanılarak nmol/g doku cinsinden numunelerdeki glutasyon konsantrasyonları hesaplanır.

3.2.3. Lipid Peroksidasyonu Tayini**Prensib**

Başlıca MDA gibi LPO ürünleri ile TBA arasındaki reaksiyon sonucu oluşan pembe kırmızı rengin absorbansı spektrofotometrik olarak değerlendirilir (Yağı, 1984).

Metot

Numune, standart ve kör tüpleri aşağıdaki gibi hazırlanır.

Çizelge 3.3. Lipid peroksidasyonu tayini için işlem basamakları

REAKTİFLER	TÜPLER	
	Numune	Kör
Doku Homojenizatu (mL)	0.5	–
TCA (mL)	2.5	2.5
Tüpler vortekste karıştırılıp, 15 dk beklenir.		
Bidestile su (mL)	–	0.5
TBA (mL)	0.75	0.75

Numune, standart ve kör tüpleri yukarıdaki gibi hazırlandıktan sonra vortekste iyice karıştırılır. 30 dakika kaynar su banyosunda ağızlarına bilye kapatılarak bekletilir. Daha sonra soğutulup üzerine 2 mL n-bütanol eklenip karıştırılır ve 10 dk santrifüj edilir. 532 nm’de absorbans köre karşı okunur.

Hesaplama, körün absorbansı numunenin absorbansından çıkartılarak net absorbanslar bulunur. MDA-TBA kompleksinin 532 nm’deki molar ekstinksiyon katsayısı olan $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ’den faydalanarak ve dilüsyon faktörü de dikkate alınarak nmol/g doku cinsinden MDA konsantrasyonları hesaplanır.

3.2.4. Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Tayini

Prensib

Bu metotta süperoksit dismutaz aktivitesi, ksantin-ksantinoksidaz sistemi ile üretilen süperoksitin nitroblue tetrazoliumu indirgemesi esasına dayanır. Oluşan süperoksit radikalleri NBT’u indirgeyerek renkli formazanı oluşturur. Bu kompleks 560 nm’de maksimum absorbans verir. Enzimin olmadığı ortamda bu indirgenme meydana gelip, mavi bir renk oluşmaktadır. Ortamda SOD olduğunda ise indirgenme olayı olmayıp mavi-mor renk meydana gelmemekte veya enzimin miktar ve aktivitesine bağlı olarak açık renk oluşmaktadır (Sun ve ark., 1988).

Metot

Çizelge 3.4. Süperoksit dismutaz aktivitesinin tayini için işlem basamakları

REAKTİFLER	TÜPLER	
	Kör	Numune
Çalışma Çözeltisi (mL)	2.85	2.85
Süpernatant (mL)	-	0.1
Bidistile su (mL)	0.1	-
Ksantin oksidaz (mL)	0.05	0,05
25 °C sıcaklıkta 20 dk inkubasyon		
CuCl ₂ (mL)	1.0	1.0

Numune ve kör 560 nm dalga boyunda suya karşı okunur.

Hesaplama:

$$\% \text{ inhibisyon} = [\text{Absorbans(kör)} - \text{Absorbans(numune)}] / \text{Absorbans(kör)} \times 100 \dots\dots (I)$$

$$\text{Aktivite (U/mL)} = \% \text{ inhibisyon} / (50 \times 0.1) \dots\dots\dots (II)$$

$$\text{Spesifik aktivite (U/ mg protein)} = (\text{U/mL}) / (\text{mg/mL protein}) \dots\dots\dots (III)$$

Ünite tarifi: Bir SOD ünitesi, NBT redüksiyonunu % 50 oranında inhibe eden enzim aktivitesidir.

3.2.5. Glutasyon Peroksidaz Aktivitesinin Tayini

Prensib

Deney, ortamda bulunan GSH-Px enziminin kataliziyle H_2O_2 'nin H_2O ve singlet oksijene çevrilmesi ve bunun da redükte GSH'ı okside GSH'a (GSSG) çevirmesi prensibine dayanmaktadır. GSSG'nin oluşum hızı deney ortamındaki NADPH'ın NADP'ye çevrilmesi nedeni ile optik dansitede meydana gelen azalmanın 340 nm'de takibiyle hesaplanır (Paglia ve Valentine, 1967).



Enzim ünitesi: Birim zamanda okside olan NADPH'ın mikromol miktarıdır.

Metot

Çizelge 3.5. Glutasyon peroksidaz aktivitesinin tayini için işlem basamakları

REAKTİFLER	TÜPLER	
	Numune	Kör
Fosfat tamponu (mL)	2.65	2.65
Redükte GSH (mL)	0.1	0.1
NADPH (mL)	0.1	0.1
GSH-Redüktaz (mL)	0.1	0.1
NaN_3 (mL)	0.01	0.01
Numune (süpernatant) (mL)	0.02	0.02
Karıştırılıp 25 °C sıcaklıkta 30 dk inkübe edilir.		
H_2O_2 (mL)	0.1	0.1

5 dk boyunca 340 nm'de meydana gelen optik dansite azalması takip edilerek, kaydedilir.

Hesaplama:

$$\text{NADPH (epsilon)} = 6.22 \times 10^3 \text{ M}^{-1} = 6.22 \text{ mM}^{-1} \dots\dots\dots \text{(II)}$$

$$\Delta\text{OD} / \text{dk} = (\Delta\text{OD} / \text{dk})_{\text{numune}} - (\Delta\text{OD} / \text{dk})_{\text{kör}} \dots\dots\dots \text{(III)}$$

$$\mu\text{mol/dk/L} = \text{U/L} = [(\Delta\text{OD} / \text{dk}) / 6.22] \times (10^3 \mu\text{mol/L}) \times (\text{Dilüsyon Faktörü}) \dots\dots \text{(IV)}$$

$$\text{U/L} = \Delta\text{OD} / \text{dk} \times 24.75 \times 10^3 \dots\dots\dots \text{(V)}$$

$$\text{Spesifik aktivite (U/mg protein)} = (\text{U/L}) / (\text{mg/L protein}) \dots\dots\dots \text{(VI)}$$

3.3. İstatistiksel Analiz

Elde edilen bulgular istatistiki olarak değerlendirilerek, aritmetik ortalamaları (X) ve standart sapmaları (SD) bulundu. Gruplar arasındaki farkın önemli olup olmadığını tesbit etmek için ANOVA (tek yönlü varyans analizi; one-way ANOVA) testi ve ikili grupların kendi aralarında karşılaştırılması için de POST HOC testlerden TUKEY HSD testi yapıldı. Anlamlılık sınırı olarak $p < 0.05$ kabul edildi. Bu istatistiki işlemler SPSS paket programı ile gerçekleştirildi.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada STZ ile diabet oluşturulmuş ratlarda aspirin ve vitamin E'nin karaciğer, kalp, beyin ve böbrek dokularında antioksidan sisteme etkisi araştırılmış ve elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. MDA, GSH, SOD ve GSH-Px değerleri tablolarda ortalama (X) ve standart sapma (SD) olarak $X \pm SD$ şeklinde verilmiştir.

4.1. Karaciğer, Kalp, Beyin ve Böbrek Dokularındaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px Değerleri ve İstatistiksel Sonuçlar

Çalışmamızda karaciğer, kalp, beyin ve böbrek dokularında elde edilen MDA, GSH, SOD ve GSH-Px değerleri Çizelge 4.1'de ve bu parametrelerin gruplar arasındaki istatistiksel karşılaştırılmasına ilişkin sonuçlar da Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Karaciğer, kalp, beyin ve böbrek dokularındaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px değerleri

	Grup Adı	MDA (nmol/gr doku)	GSH (nmol/gr doku)	SOD (U/mg protein)	GSH-Px (U/mg protein)
KARACİĞER	Grup I (Kontrol)	42.55±15.12	2659.26±649.61	0.025±0.003	0.002±0.0002
	Grup II (STZ Diabet)	107.84±45.66	224.26±147.66	0.237±0.174	0.013±0.002
	Grup III (STZ Diabet+Aspirin)	73.89±33.03	158.46±31.56	0.179±0.016	0.003±0.0005
	Grup IV (STZ Diabet+Vitamin E)	55.11±25.71	100.82±27.42	0.152±0.041	0.011±0.0007
KALP	Grup I (Kontrol)	55.27±17.83	2096.361±194.45	0.145±0.074	0.010±0.003
	Grup II (STZ Diabet)	575.92±175.80	266.082±237.84	0.342±0.226	0.032±0.025
	Grup III (STZ Diabet+Aspirin)	462.17±149.55	654.651±239.49	1.096±0.379	0.070±0.016
	Grup IV (STZ Diabet+Vitamin E)	336.02±92.83	618.472±94.16	0.510±0.223	0.057±0.013
BEYİN	Grup I (Kontrol)	260.92±98.78	960.47±184.54	0.978±0.562	0.032±0.016
	Grup II (STZ Diabet)	299.71±86.01	275.50±342.77	0.292±0.106	0.028±0.016
	Grup III (STZ Diabet+Aspirin)	461.42±175.66	447.23±150.54	0.477±0.219	0.044±0.019
	Grup IV (STZ Diabet+Vitamin E)	376.47±80.73	321.60±97.76	0.326±0.146	0.032±0.015
BÖBREK	Grup I (Kontrol)	159.32±126.91	1822.07±608.56	0.279±0.175	0.009±0.003
	Grup II (STZ Diabet)	240.44±75.25	184.82±90.75	0.297±0.234	0.014±0.009
	Grup III (STZ Diabet+Aspirin)	489.17±95.12	599.32±148.52	1.021±1.224	0.056±0.019
	Grup IV (STZ Diabet+Vitamin E)	193.65±69.98	391.42±168.63	0.832±0.648	0.044±0.022

Çizelge 4.2. Karaciğer, kalp, beyin ve böbrek dokularındaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px'in istatistiksel sonuçları (p-değerleri)

	Karşılaştırılan Gruplar	MDA	GSH	SOD	GSH-Px
KARACİĞER	I-II	0.001	0.000	0.000	0.000
	I-III	0.298	0.000	0.002	0.841
	I-IV	0.961	0.000	0.019	0.000
	II-III	0.190	0.994	0.576	0.000
	II-IV	0.010	0.923	0.207	0.438
	III-IV	0.779	0.997	0.976	0.000
KALP	I-II	0.000	0.000	0.572	0.757
	I-III	0.000	0.000	0.000	0.013
	I-IV	0.000	0.000	0.059	0.093
	II-III	0.255	0.000	0.000	0.206
	II-IV	0.000	0.001	0.718	0.659
	III-IV	0.207	0.998	0.000	0.971
BEYİN	I-II	0.955	0.000	0.000	1.000
	I-III	0.001	0.000	0.000	0.960
	I-IV	0.158	0.000	0.000	1.000
	II-III	0.006	0.114	0.280	0.848
	II-IV	0.536	0.984	0.999	0.999
	III-IV	0.464	0.481	0.565	0.967
BÖBREK	I-II	0.109	0.000	1.000	0.995
	I-III	0.000	0.000	0.005	0.000
	I-IV	0.898	0.000	0.077	0.004
	II-III	0.000	0.000	0.004	0.000
	II-IV	0.668	0.221	0.067	0.011
	III-IV	0.000	0.268	0.937	0.770

Diabetes mellitus (DM), hiperglisemi, ve glukozüri ile kendini gösteren, hem akut hem de kronik komplikasyonlarla seyreden, dünyada ve ülkemizde giderek artan, sürekli kontrol ve tedavi gerektiren bir hastalıktır. Komplikasyonları ile kişide fiziksel değişiklikler yanında ruhsal ve sosyal sorunlara da neden olur. Diabetin süresi arttıkça komplikasyonların görülme sıklığı ve çeşitliliği de artar. Bu yüzden erken tanı ve tedavi çok önemlidir. Diabet tedavisinde diabetin türü, şiddeti ve yaşa göre diyet, oral antidiabetikler ve insulin uygulaması söz konusudur. Son yıllarda doğal ve bitkisel kaynaklı ilaçların tedavide yardımcı olduğu bildirilmekte (Yanardağ ve Can, 1994; Yanardağ ve Çolak, 1998; Başaraner, 1999) olup; bunların arasında antioksidan vitamin ve bileşikler dikkati çekmektedir. Örneğin, 1000 IU/kg vitamin E ile beslenen farelerde diabet insidansının azaldığı bildirilmiştir (Hayward ve ark., 1992; Vannuchi, 1999). STZ-diabetik ratlara vitamin C, vitamin E ve beta karoten verilmesinin sistemde iyileştirici etkiye sahip olacağı vurgulanmıştır (Mekinova ve ark., 1995; Vannuchi, 1999). Ayrıca, STZ-diabetiklerde vitamin E eksikliğinin ratlarda ölümlere neden olabileceği bildirilmiştir (Vam ve ark., 1988; Vannuchi, 1999).

Oksidatif stres, diabet ve diabetin daha sonraki komplikasyonlarının patogeneğinde önemli görev alır. Enzimatik olmayan glikozilasyon, sorbitol yolu aktivitesi, antioksidan

savunma sistemindeki çeşitli değişiklikler, hipoksi gibi nedenler diabette oksidatif stresi artıran mekanizmalardır. Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir. Bu tip maddeler, ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktiftirler (Akkuş, 1995; Halifeoğlu, 2005). Diabetik kişilerin plazma ve dokularında lipid peroksidasyon ürünlerinde artış meydana gelmektedir (Akkuş, 1995; Halifeoğlu, 2005). Diabette serbest radikal oluşumunun arttığı ve radikal bağlayıcı sistemlerde azalma olduğu ileri sürülerek, diabetiklerin antioksidanlara daha çok ihtiyaç gösterebileceği savunulmuştur (Cheesman ve Slater, 1993; Langenstroer ve Pieper, 1992; Halifeoğlu, 2005). Serbest radikallerin diabette etkin olduğunun belirtilmesi indirekt olarak bu hastalığın oluşumunu önlemede ve tedavisinde radikal oluşumunu önleyici antioksidan vitaminlerin ve antioksidan etkili maddelerin kullanılabilmesi düşüncesinin oluşmasına sebep olmuştur (Ceriello ve ark., 1988; Cengiz, 2000; Halifeoğlu, 2005).

Bu çalışmada STZ ile deneysel diabet oluşturduğumuz sıçanların karaciğer, kalp, böbrek ve beyin dokularında vitamin E ve aspirinin MDA, GSH, SOD ve GSH-Px düzeylerine etkisini araştırdık. Çalışmamız, bu dokuların hepsinde, hem aspirin ve hem de vitamin E'nin antioksidan sisteme etkilerinin birlikte araştırıldığı ilk çalışmadır.

Vitamin E antioksidan etkiye sahip bir vitamin olup (Murase ve ark., 1998; Sun ve ark., 1999; Aksoy ve ark., 2005), son zamanlarda aspirinin de antioksidan özelliklerinden söz edilmekle birlikte bu durum tartışmalıdır (Shi ve ark., 1999). Aspirinin prostaglandin sentezini inhibe etmesi ve prostaglandin sentez reaksiyonu sırasında da serbest radikal üretiminin söz konusu olması nedeniyle aspirinin antioksidan özelliği düşünülmektedir (Kukreja ve ark., 1986; Manjula ve Devi, 1993; Durak ve ark., 2001).

Son zamanlarda vitamin E, vitamin C ya da melatonin gibi antioksidan etkili vitamin ve bileşiklerin diabette antioksidan sisteme etkisi araştırılmaktadır. Ancak yapılan çalışmalarda farklı sonuçlarla karşılaşmaktadır. Bu farklılık gerek diabetin heterojen bir etyopatogenezi oluşundan, gerekse de kullanılan vitamin ya da ilacın dozu ve uygulama süresinin her bir çalışmada farklı olmasından kaynaklanabilir. Diğer taraftan aspirinin de antioksidan sisteme etkisinin araştırıldığı bazı çalışmalar bulunmakla birlikte, diabette bu konuda yapılmış çalışmaların sayısı çok azdır.

Çalışmamızda aspirin ve vitamin E'nin dokularda antioksidan sisteme ait parametreler olan SOD, GSH-Px, GSH ve MDA değerlerini etkilediği görülmüştür. Ancak bu etkiler dokudan dokuya değişmektedir.

4.2. Karaciğer Dokusundaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px Değerleri ve İstatistiksel Sonuçlar

Çalışmamızda karaciğer dokusunda elde edilen MDA, GSH, SOD ve GSH-Px değerleri Çizelge 4.3'de ve bu parametrelerin gruplar arasındaki istatistiksel karşılaştırılmasına ilişkin sonuçlar da Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Karaciğer dokusundaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px değerleri

KARACİĞER	Grup Adı	MDA (nmol/gr doku)	GSH (nmol/gr doku)	SOD (U/mg protein)	GSH-Px (U/mg protein)
	Grup I (Kontrol)	42.55±15.12	2659.26±649.61	0.025±0.003	0.002±0.0002
	Grup II (STZ Diabet)	107.84±45.66	224.26±147.66	0.237±0.174	0.013±0.002
	Grup III (STZ Diabet+Aspirin)	73.89±33.03	158.46±31.56	0.179±0.016	0.003±0.0005
	Grup IV (STZ Diabet+Vitamin E)	55.11±25.71	100.82±27.42	0.152±0.041	0.011±0.0007

Çizelge 4.4. Karaciğer dokusundaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px'in istatistiksel sonuçları (p- değerleri)

KARACİĞER	Karşılaştırılan Gruplar	MDA	GSH	SOD	GSH-Px
	I-II	0.001	0.000	0.000	0.000
	I-III	0.298	0.000	0.002	0.841
	I-IV	0.961	0.000	0.019	0.000
	II-III	0.190	0.994	0.576	0.000
	II-IV	0.010	0.923	0.207	0.438
	III-IV	0.779	0.997	0.976	0.000

Çizelge 4.3'de görüldüğü gibi karaciğer dokusunda ortalama MDA değerleri, kontrol grubunda diğer gruplara göre istatistiki olarak önemli düzeyde daha düşük bulunmuştur. Diabetik ratlara aspirin ve vitamin E verilmesi MDA değerini azaltmıştır, fakat bu aspirin için istatistiki olarak önemli değilken ($p>0.05$), vitamin E için önemli bulunmuştur ($p<0.01$).

Çeşitli araştırmacılar tarafından diabette karaciğer dokusunda lipid peroksidasyonunun arttığı bildirilmektedir (Rungby, 1992; Kakkar ve ark., 1998; Jang ve ark., 2000; Zhang, 2000). Başaraner, diabetik ratlara 30 gün süreyle vitamin E, vitamin C ve selenyumun birlikte verilmesi sonucu karaciğerde MDA değerlerinin azaldığını bildirmiştir (Başaraner, 1999). Diğer bazı araştırmacılar da STZ-diabetik ratlara vitamin E verilmesinin karaciğerde lipid peroksid düzeyini azalttığını bildirmişlerdir (Garg ve ark., 1996; Seven ve ark., 2004).

Bunlardan başka, yine E vitamini ile ilgili yapılan çalışmalarda, E vitamini eksikliğinde diabetik sıçanlarda LPO düzeyinin arttığı (Doilet ve ark., 1993; Wolf, 1993), yüksek dozlardaki (600 mg/kg) vitamin E'nin glikozillenmiş hemoglobin düzeylerindeki artışı baskıladığı (Özden ve ark., 1989) ve LPO düzeyini azalttığı rapor edilmiştir (May, 1980; Urano ve ark., 1988).

Garg ve ark. tarafından STZ ile diabet oluşturulmuş ratların karaciğerinde lipid peroksidasyonunun diabetik olmayan kontrol grubuna göre arttığı ve 200 mg/kg-vücut ağırlığı ve haftada iki kez olmak üzere beş hafta süre ile vitamin E uygulaması sonucu MDA değerlerinin STZ-diabet grubuna göre istatistiki olarak önemli düzeyde azaldığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada, diabetik ratlarda kontrollere göre GSH düzeyinin azaldığı,

vitamin E uygulanması sonucu ise GSH düzeyinin yükseldiği bildirilmiştir (Garg ve ark., 1996). Bulgularımız MDA ile ilgili bu çalışma sonucunu desteklerken, GSH için tamamen desteklememektedir.

Çalışmamızda, ortalama GSH değerleri, diabetik gruplarda kontrol grubuna göre istatistiki olarak önemli düzeyde daha düşük bulunmuştur ($p<0.001$). STZ-diabetik ratlara aspirin ve vitamin E verilmesi GSH değerlerinin daha da azalmasına neden olmuştur, fakat bu azalma istatistiki olarak önemli değildir ($p>0.05$).

STZ ile diabet oluşturulan sıçanlarda doku antioksidan sistemleri incelendiğinde, karaciğer dokusunda GSH düzeyinin azaldığı bildirilmiştir (Duncan ve ark., 1996). Bir başka çalışmada ise, STZ ile diabet oluşturulan ratların karaciğer dokusunda GSH değerlerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu görülmüştür (Başaraner, 1999).

Çalışmamızda, SOD aktivitesi, STZ ile diabet oluşturulan grupta (Grup II), kontrol grubuna göre istatistiki olarak önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). Diabetik ratlara aspirin ve E vitamini verilmesi SOD aktivitesini azaltmıştır, fakat istatistiki olarak önemli değildir ($p>0.05$).

GSH-Px aktivitesi, STZ ile diabet oluşturulan grupta (Grup II), kontrol grubuna göre istatistiki olarak önemli düzeyde daha yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). Diabetik gruplara aspirin ve vitamin E verilmesi sonucu GSH-Px aktivitesinin azaldığı görülmüştür, ancak, bu fark Grup III için istatistiki olarak önemli iken ($p<0.001$), Grup IV için önemsizdir ($p>0.05$).

Yapılan bir çalışmada diabetik ratların karaciğer dokusunda GSH-Px aktivitesinin kontrol grubuna göre azaldığı rapor edilmiştir (Duncan ve ark., 1996). Bir başka çalışmada da STZ ile diabet oluşturulmuş ratlarda karaciğer SOD ve GSH-Px aktivitelerinin kontrol grubuna göre azaldığı bildirilmiştir (Ramesh ve Pugalendi, 2006). Seven ve ark. tarafından yapılan diğer bir çalışmada da STZ ile diabet oluşturulmuş ratların karaciğerinde LPO'nun arttığı, GSH, SOD ve GSH-Px düzeylerinin kontrol grubuna göre azaldığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada diabetik ratlara bir ay boyunca yaklaşık üçer günlük aralıklarla 500 mg/kg vitamin E verilmesi sonucu karaciğerde LPO ve GSH düzeylerinin azaldığı, SOD ve GSH-Px aktivitelerinin ise arttığı belirtilmiştir (Seven ve ark., 2004). Karaciğer dokusunda elde ettiğimiz sonuçların literatürdeki çalışmalardan bazıları ile uyumlu, bazıları ile de uyumsuz olduğu görülmektedir.

4.3. Kalp Dokusundaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px Değerleri ve İstatistiksel Sonuçlar

Çalışmamızda kalp dokusunda elde edilen MDA, GSH, SOD ve GSH-Px değerleri Çizelge 4.5'de ve bu parametrelerin gruplar arasındaki istatistiksel karşılaştırılmasına ilişkin sonuçlar da Çizelge 4.6'de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Kalp dokusundaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px değerleri

KALP	Grup Adı	MDA (nmol/gr doku)	GSH (nmol/gr doku)	SOD (U/mg protein)	GSH-Px (U/mg protein)
	Grup I (Kontrol)	55.27±17.83	2096.361±194.45	0.145±0.074	0.010±0.003
Grup II (STZ Diabet)	575.92±175.80	266.082±237.84	0.342±0.226	0.032±0.025	
Grup III (STZ Diabet+Aspirin)	462.17±149.55	654.651±239.49	1.096±0.379	0.070±0.016	
Grup IV (STZ Diabet+Vitamin E)	336.02±92.83	618.472±94.16	0.510±0.223	0.057±0.013	

Çizelge 4.6. Kalp dokusundaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px'in istatistiksel sonuçları (p- değerleri)

KALP	Karşılaştırılan Gruplar	MDA	GSH	SOD	GSH-Px
	I-II	0.000	0.000	0.572	0.757
I-III	0.000	0.000	0.000	0.013	
I-IV	0.000	0.000	0.059	0.093	
II-III	0.255	0.000	0.000	0.206	
II-IV	0.000	0.001	0.718	0.659	
III-IV	0.207	0.998	0.000	0.971	

Çizelge 4.5’de görüldüğü gibi kalp dokusunda ortalama MDA değerleri kontrol grubuna göre diğer gruplarda istatistiki olarak önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). Diabetik ratlara aspirin ve vitamin E verilmesi MDA değerlerini azaltmıştır, ancak, bu fark aspirin (Grup III) için istatistiki olarak önemsizken ($p>0.05$), vitamin E (Grup IV) için önemli bulunmuştur ($p<0.001$).

Yapılan bazı çalışmalarda STZ ile diabet oluşturulan ratların kalp dokusu LPO düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı artışlar olduğu bildirilmiştir (Volkovova ve ark., 1993; Başaraner, 1999). Bir başka çalışmada ise, bir haftalık diabetik sıçanların kalp dokularında LPO düzeyinde bir artışın görülmediği bildirilmiştir (Rungby ve ark., 1992).

Çalışmamızda, ortalama GSH değeri, en yüksek kontrol grubunda olup, diğer gruplarda kontrol grubuna göre istatistiki olarak önemli düzeyde daha düşük bulunmuştur ($p<0.001$). En düşük GSH değeri Grup II’de olup, diabetik ratlara aspirin ve vitamin E verilmesi GSH değerlerini istatistiki olarak önemli düzeyde artırmıştır ($p<0.001$).

STZ ile diabet oluşturulan sıçanların çeşitli doku antioksidan sistemleri incelendiğinde, kalp dokusunda GSH düzeyinin arttığı rapor edilmiştir (Duncan ve ark., 1996). Bir başka çalışmada ise, GSH değerinin diabetik grupta kontrol grubuna göre düşük olduğu bildirilmiştir (Volkovova ve ark., 1993; Başaraner, 1999).

Çalışmamızda, SOD aktivitesi, kontrol grubunda diğer gruplara göre daha düşük bulunmuştur. Bu fark Grup III için istatistiki olarak önemli iken ($p<0.001$), diğerlerinde önemsizdir ($p>0.05$). Diabetik ratlara aspirin ve E vitamini verilmesi SOD aktivitesini artırmıştır. Bu fark, Grup III için istatistiki olarak önemli iken ($p<0.001$), Grup IV için önemsizdir ($p>0.05$).

Çalışmamızda, GSH-Px aktivitesi, kontrol grubunda diğer gruplara göre daha düşük bulunmuştur. Diabetik ratlara aspirin ve E vitamini verilmesi ortalama GSH-Px aktivitesini artırmıştır, fakat bu fark istatistiki olarak önemsizdir ($p>0.05$).

Yapılan bir çalışmada diabetik ratların kalp dokusunda GSH-Px aktivitesinin kontrol grubuna göre arttığı rapor edilmiştir (Duncan ve ark., 1996). Bulgumuz bu literatür bilgisi ile uyumludur.

4.4. Beyin Dokusundaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px Değerleri ve İstatistiksel Sonuçlar

Çalışmamızda beyin dokusunda elde edilen MDA, GSH, SOD ve GSH-Px değerleri Çizelge 4.7’de ve bu parametrelerin gruplar arasındaki istatistiksel karşılaştırılmasına ilişkin sonuçlar da Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Beyin dokusundaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px değerleri

BEYİN	Grup Adı	MDA (nmol/gr doku)	GSH (nmol/gr doku)	SOD (U/mg protein)	GSH-Px (U/mg protein)
	Grup I (Kontrol)	260.92±98.78	960.47±184.54	0.978±0.562	0.032±0.016
	Grup II (STZ Diabet)	299.71±86.01	275.50±342.77	0.292±0.106	0.028±0.016
	Grup III (STZ Diabet+Aspirin)	461.42±175.66	447.23±150.54	0.477±0.219	0.044±0.019
	Grup IV (STZ Diabet+Vitamin E)	376.47±80.73	321.60±97.76	0.326±0.146	0.032±0.015

Çizelge 4.8. Beyin dokusundaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px’in istatistiksel sonuçları (p-değerleri)

BEYİN	Karşılaştırılan Gruplar	MDA	GSH	SOD	GSH-Px
	I-II	0.955	0.000	0.000	1.000
	I-III	0.001	0.000	0.000	0.960
	I-IV	0.158	0.000	0.000	1.000
	II-III	0.006	0.114	0.280	0.848
	II-IV	0.536	0.984	0.999	0.999
	III-IV	0.464	0.481	0.565	0.967

Çizelge 4.7’de görüldüğü gibi beyin dokusunda ortalama MDA değerlerinin kontrol grubuna göre diğer gruplarda daha yüksek olduğu görülmüştür. Ancak aradaki fark Grup III için istatistiki olarak önemli iken ($p<0.001$), diğerlerinde önemli değildir ($p>0.05$). Diabetik gruba aspirin ve vitamin E verilmesi MDA değerlerini artırmıştır, ancak bu artışın Grup III için istatistiki olarak önemli olduğu ($p<0.001$), Grup IV için ise önemli olmadığı görülmüştür ($p>0.05$).

Ratların beyin dokusunda artan LPO düzeyinin 8 haftalık 200 IU/kg vitamin E uygulaması sonucu LPO’nun azaldığı bildirilmiştir (Meydani ve ark., 1985; Meydani ve ark., 1988).

Çalışmamızda, ortalama GSH değerleri kontrol grubuna göre diğer gruplarda istatistiki olarak önemli düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0.001$). Diabetik ratlara aspirin ve E vitamini verilmesi ortalama GSH değerlerini artırmıştır, fakat, istatistiki olarak önemli değildir ($p>0.05$).

Çalışmamızda, SOD aktivitesinin, kontrol grubunda, diğer gruplara göre istatistiki olarak önemli düzeyde daha yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.001$). Diabetik gruba aspirin ve vitamin E verilmesi SOD aktivitesini artırmıştır, fakat bu artış istatistiki olarak önemli değildir ($p>0.05$).

Çalışmamızda, GSH-Px aktivitesi, Grup III'de, diğer gruplara göre daha yüksek bulunmuştur, fakat istatistiki olarak önemli değildir ($p>0.05$). Diabetik ratlara aspirin ve E vitamini verilmesi ortalama GSH-Px aktivitesini artırdığı görülmüştür, ancak istatistiki olarak önemsizdir ($p>0.05$).

4.5. Böbrek Dokusundaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px Değerleri ve İstatistiksel Sonuçlar

Çalışmamızda böbrek dokusunda elde edilen MDA, GSH, SOD ve GSH-Px değerleri Çizelge 4.9'de ve bu parametrelerin gruplar arasındaki istatistiksel karşılaştırılmasına ilişkin sonuçlar da Çizelge 4.10'de verilmiştir.

Çizelge 4.9. Böbrek dokusundaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px değerleri

BÖBREK	Grup Adı	MDA (nmol/gr doku)	GSH (nmol/gr doku)	SOD (U/mg protein)	GSH-Px (U/mg protein)
	Grup I (Kontrol)	159.32±126.91	1822.07±608.56	0.279±0.175	0.009±0.003
	Grup II (STZ Diabet)	240.44±75.25	184.82±90.75	0.297±0.234	0.014±0.009
	Grup III (STZ Diabet+Aspirin)	489.17±95.12	599.32±148.52	1.021±1.224	0.056±0.019
	Grup IV (STZ Diabet+Vitamin E)	193.65±69.98	391.42±168.63	0.832±0.648	0.044±0.022

Çizelge 4.10. Böbrek dokusundaki MDA, GSH, SOD ve GSH-Px'in istatistiksel sonuçları (p-değerleri)

BÖBREK	Karşılaştırılan Gruplar	MDA	GSH	SOD	GSH-Px
	I-II	0.109	0.000	1.000	0.995
	I-III	0.000	0.000	0.005	0.000
	I-IV	0.898	0.000	0.077	0.004
	II-III	0.000	0.000	0.004	0.000
	II-IV	0.668	0.221	0.067	0.011
	III-IV	0.000	0.268	0.937	0.770

Çizelge 4.9'de görüldüğü gibi böbrek dokusunda en düşük ortalama MDA değeri kontrol grubunda olup, diğer gruplarda kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Bu fark, Grup III için istatistiki olarak önemli iken ($p<0.001$), diğer gruplar için önemsizdir

($p>0.05$). Diabetik gruba aspirin verilmesi MDA değerini istatistiki olarak önemli düzeyde artırmıştır ($p<0.001$). Diabetik gruba vitamin E verilmesi ise MDA değerini azaltmıştır, fakat aradaki fark istatistiki olarak önemli değildir ($p>0.05$).

Çeşitli araştırmacılar tarafından deneysel diabet oluşturulmuş ratlarda MDA seviyelerinin böbrek dokusunda önemli derecede arttığı bildirilmiştir (Rungby ve ark., 1992; Başaraner, 1999; Jang ve ark., 2000; Zhang ve ark., 2000). Başaraner, diabetik ratlara vitamin E ve C ve Se'un birlikte verilmesi sonucu LPO'nun bir miktar azaldığını rapor etmiştir (Başaraner, 1999). Yapılan bir araştırmada da diabetik ratlarda ortalama MDA değerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı bildirilmiştir. Bu çalışmada diabetik ratlara 10 hafta süreyle ve 268 mg/kg/gün vitamin E uygulaması sonucu böbrek dokusundaki ortalama MDA değerinin vitamin E almayan diabetik gruba göre istatistiki olarak önemli olmayan düzeyde azaldığı bildirilmiştir (Avcı, 2001). Bulgumuz, bu çalışmalarda elde edilen sonuçlarla uyumludur.

Çalışmamızda, ortalama GSH değerlerinin, kontrol grubunda, diğer gruplara göre istatistiki olarak önemli düzeyde daha yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.001$). Diabetik ratlarda (Grup II) ortalama GSH değerleri kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalmıştır. Diabetik gruba aspirin verilmesi ortalama GSH değerini Grup II'e göre istatistiki olarak önemli düzeyde artırmıştır ($p<0.001$). Diabetik gruba vitamin E verilmesi de GSH değerini artırmıştır, fakat aradaki fark istatistiki olarak önemli değildir ($p>0.05$).

Bazı araştırmacılar tarafından STZ ile diabet oluşturulan sıçanlarda böbrek dokusunda GSH düzeyinin diabetik olmayan kontrol grubuna göre arttığı bildirilmiştir (Duncan ve ark., 1996; Başaraner, 1999). Başaraner diabetik ratlara vitamin E, vitamin C ve Se'un birlikte verilmesi sonucu diabetiklerdeki artmış olan GSH düzeyinin azaldığını bildirmiştir (Başaraner, 1999). Bulgumuz bu çalışma sonuçlarını desteklememektedir.

Çalışmamızda, SOD aktivitesinin, kontrol grubunda diğer gruplara göre yüksek olduğu görülmüştür, fakat, bu fark Grup III için istatistiki olarak önemli iken ($p<0.01$), diğer gruplar için önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$). STZ ile diabet oluşturulan ratlarda SOD aktivitesi azalmış, diabetik ratlara aspirin ve vitamin E verilmesi SOD aktivitesini istatistiki olarak önemli düzeyde artırmıştır (sırası ile $p<0.01$ ve $p<0.05$).

Volkovova ve ark. diabetik ratların böbrek dokularında SOD aktivitelerinde bir değişme olmadığını bildirmişlerdir (Volkovova ve ark., 1993). Başka bir çalışmada da diabetik ratların böbreklerindeki SOD aktivitesinin diabetik olmayan kontrol grubuna göre azaldığı, vitamin E verilmesi sonucu ise vitamin almayan diabetik gruba göre kayda değer bir değişme olmadığı belirtilmiştir (Avcı, 2001).

Çalışmamızda, GSH-Px aktivitesinin, kontrol grubunda diğer gruplara göre düşük olduğu görülmüştür. Diabetik gruba aspirin ve vitamin E verilmesi kontrol grubuna göre diabetiklerde artmış olan GSH-Px aktivitesini istatistiki olarak önemli düzeyde olmak üzere daha da artırmıştır (sırası ile $p<0.001$ ve $p<0.05$).

Bazı araştırmacılar tarafından diabetik ratların böbreklerinde GSH-Px aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (Volkovova ve ark., 1993; Duncan ve ark., 1996; Jang ve ark., 2000). Diğer bir çalışmada da deneysel diabet oluşturulmuş ratlarda GSH-Px aktivitesinin kontrol

grubuna göre arttığı, diabetik ratlara E vitamini verilmesi sonucu GSH-Px aktivitesinde az da olsa bir artış olduğu kaydedilmiştir (Avcı, 2001). Bulgumuz bu çalışmaların sonuçları ile uyumludur.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

STZ ile diabet oluşturulmuş ratlarda aspirin ve vitamin E'nin karaciğer, kalp, beyin ve böbrek dokularında antioksidan sisteme etkisinin araştırıldığı bu tez çalışmasında şu sonuçlar elde edilmiştir:

1. Çalışılan dokuların hepsinde STZ-diabetik gruptaki ortalama MDA değeri, kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Bu, karaciğer ve kalp dokusu için istatistiki olarak önemli düzeyde iken, beyin ve böbrek için istatistiki olarak önemli düzeyde değildir.

2. Karaciğer ve kalp dokusunda diabetik gruba aspirin ve vitamin E verilmesi MDA değerini azaltmıştır, fakat bu aspirin için istatistiki olarak önemli değilken ($p>0.05$), vitamin E için önemli bulunmuştur ($p<0.01$).

3. Beyin dokusunda diabetik ratlara aspirin ve vitamin E verilmesi MDA değerlerini artırmıştır, ancak bu artışın Grup III için istatistiki olarak önemli olduğu ($p<0.001$), Grup IV için ise önemli olmadığı görülmüştür ($p>0.05$).

4. Böbrek dokusunda diabetik ratlara aspirin verilmesi MDA değerini istatistiki olarak önemli düzeyde artırırken ($p<0.001$), vitamin E azaltmıştır, fakat aradaki fark istatistiki olarak önemli değildir ($p>0.05$).

5. Çalışılan dokuların hepsinde STZ-diabetik ratların GSH değerleri kontrol grubuna göre istatistiki olarak çok önemli düzeyde düşük bulunmuştur. Diabetik ratlara aspirin ve vitamin E verilmesi sonucu Grup III ve Grup IV'teki GSH değerleri Grup II'e göre kalp, böbrek ve beyinde artmış, karaciğerde ise azalmıştır.

6. Karaciğer dokusunda, diabetik ratlara aspirin ve vitamin E verilmesi GSH değerlerinin daha da azalmasına neden olmuştur, fakat istatistiki olarak önemli değildir ($p>0.05$).

7. Kalp dokusunda, diabetik ratlara aspirin ve vitamin E verilmesi GSH değerlerini istatistiki olarak önemli düzeyde artırmıştır ($p<0.001$).

8. Beyinde, diabetik ratlara aspirin ve vitamin E verilmesi ortalama GSH değerlerini artırmıştır, fakat, istatistiki olarak önemli değildir ($p>0.05$).

9. Böbrekte diabetik ratlara aspirin ve vitamin E verilmesi GSH değerini artırmıştır. Bu artış aspirin için istatistiki olarak önemli düzeyde iken ($p<0.001$), vitamin E için istatistiki olarak önemli değildir ($p>0.05$).

10. SOD ve GSH-Px aktiviteleri karaciğer, kalp ve böbrek dokularında STZ-diabetik grupta, kontrol grubuna göre artmış, beyinde ise azalmıştır. Diabetik ratlara aspirin ve vitamin E verilmesi sonucu Grup III ve Grup IV'teki SOD ve GSH-Px aktiviteleri Grup II'e göre kalp, böbrek ve beyinde artmış, karaciğerde ise azalmıştır.

11. Karaciğer dokusunda diabetik ratlara aspirin ve vitamin E verilmesi SOD aktivitesini azaltmıştır, fakat istatistiki olarak önemli değildir ($p>0.05$).

12. Kalp dokusunda diabetik ratlara aspirin ve vitamin E verilmesi SOD aktivitesini artırmıştır. Bu fark, aspirin için istatistiki olarak önemli iken ($p < 0.001$), vitamin E için önemsizdir ($p > 0.05$).

13. Beyin dokusunda diabetik gruba aspirin ve vitamin E verilmesi SOD ve GSH-Px aktivitelerini artırmıştır, fakat bu artışlar istatistiki olarak önemli değildir ($p > 0.05$).

14. Böbrek dokusunda diabetik ratlara aspirin ve vitamin E verilmesi SOD ve GSH-Px aktivitelerini istatistiki olarak önemli düzeyde artırmıştır.

16. Karaciğer dokusunda diabetik ratlara aspirin ve vitamin E verilmesi GSH-Px aktivitesini azaltmıştır, ancak, bu fark aspirin için istatistiki olarak önemli iken ($p < 0.001$), vitamin E için önemsizdir ($p > 0.05$).

17. Kalp dokusunda diabetik ratlara aspirin ve E vitamini verilmesi ortalama GSH-Px aktivitesini artırmıştır, fakat bu fark istatistiki olarak önemsizdir ($p > 0.05$).

18. Çalışmamız, bu dokuların hepsinde ve hem aspirin ve hem de vitamin E'nin antioksidan sisteme etkilerinin birlikte araştırıldığı ilk çalışmadır.

Sonuçta yaptığımız bu çalışmada diabetik ratlarda 10 gün süreyle intraperitoneal olarak aspirin (200 mg/kg/gün) ve vitamin E'nin (500 mg/kg/gün) karaciğer, kalp, beyin ve böbrek dokularında antioksidan savunma sistemi ilgili parametreler olan MDA, GSH, SOD ve GSH-Px değerlerini etkilediği ve bu etkilerin dokudan dokuya farklı olduğu görülmüştür. Ayrıca aspirinin çalışılan dokularda özellikle GSH, SOD ve GSH-Px için E vitamini ile benzer etkiler gösterdiği dikkati çekmiştir. Ancak, aspirin ve vitamin E'nin antioksidan savunma sistemine olan etkilerinin doza ve bu maddelerin uygulanma sürelerine de bağlı olacağı göz önünde bulundurulmalıdır. Bu nedenle, her bir dokuda ayrı ayrı yapılacak ve değişik doz ve farklı uygulama sürelerinde elde edilecek sonuçların karşılaştırılacağı çalışmaların aspirin ve vitamin E'nin diabette antioksidan sisteme etkisinin aydınlatılması konusunda yararlı olacağını düşünüyoruz. Bu bağlamda yaptığımız bu çalışmanın ileride yapılacak araştırmalara da ışık tutacağına inanıyoruz.

KAYNAKLAR

- AKKUŞ, İ. 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza yayınları, Kuzucular ofset, Konya.
- AKSOY, N., VURAL, H., SABUNCU, T., ARSLAN, O., AKSOY, Ş. 2005. Beneficial effects of vitamins C and E against oxidative stress in diabetic rats. Nutrition Research, 25:625-630.
- ALLEN, RG., FARMER, KJ., NEWTON, RK., SOHAL, RS. 1984. Effects of paraquat administration on longevity, oxygen consumption, lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase, inorganic peroxides and glutathione in the adult housefly. Comp Biochem Physiol C, 78(2):283-8.
- AMES, BN., SHIGENAGA, MK., HAGEN, TM. 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proc Natl Acad Sci U S A. Sep 1;90(17):7915-22.
- ARMSTRONG, AM., CHESTNUTT, JE., GORMLEY, MJ., YOUNG, IS. 1996. The effect of dietary treatment on lipid peroxidation and antioxidant status in newly diagnosed noninsulin dependent diabetes. Free Radic Biol Med, 21(5):719-26.
- ASADA, K. 1976. Method of Plant Enzyme And Protein . Kyoritsu Pres Tokyo, pp. 373-378.
- ASADA, K. 1978. Protein, nucleic acid and enzyme (Tokyo). 23:200-213.
- ASADA, K. KANEMATSU, S., OKADA, S. AND HAYAKAWA T. 1980. Chemical and biological aspects of superoxide and superoxide dismutase, elsevier, Amsterdam, pp. 136-153.
- AVCI, A. 2001. Diyabet oluşturulmuş ratlarda böbrek antioksidan savunma sistemi ve E vitaminin etkileri. Ankara Üni. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara, 56s (yayınlanmamış).
- BANNISTER, W.H., BANNISTER, J.V. 1980. Biological and clinical aspects of superoxide and superoxide dismutase., (Proceedings of the Federation of European Biochemical Societies Symposium No:62) Elsevier / North- Holland Biomedical Pres.
- BASAGA, HS. 1990. Biochemical aspects of free radicals. Biochem. Cell Biol. 68:989-998.
- BAST, A., HAENEN, G.R.M.M., CEES, J.A.D. 1997. Oxidants and antioxidants:State of the art. The American Journal of Medicine, 91,(Suppl 3C),30,3C-2S_3C-13S.
- BAŞARANER, H. 1999. Streptozotosin ile deneysel diabet oluşturulmuş sıçanların çeşitli doku antioksidan sistemlerine, vitamin E, Vitamin C ve selenyumun etkileri. İstanbul Üni. Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 67s (yayınlanmamış).

- BATTAL, A., BAYKAL, Y., ERİKÇİ, S., SAĞLAM, K., ÜNAL, T., KOCABALKAN, F., AYDIN, A., İŞŞİMER, A. 1995. Serbest radikal temizleyici süperoksit dismutaz enziminin ve serum, bakır, çinko, selenyum düzeylerinin diabetes mellitus'un kronik komplikasyonları ile ilişkisi. GATA Bülteni, 37,218-222.
- BELOQUI, O., CEDERBAUM, AI. 1986. Prevention of microsomal production of hydroxyl radicals, but not lipid peroxidation, by the glutathione-glutathione peroxidase system. Biochem Pharmacol. Aug 15;35(16):2663-9.
- BEUTLER, E., DURON, O., KELLY, BM. 1963. Improved method for the determination of blood glutathione. J Lab Clin Med. May;61:882-8.
- BEUTLER, E. 1975. Glutathione in: Red cell metabolism a manual of biochemical methods, 2nd. Edition, p. 112-114, Grune and Stratton, Newyork.
- BIERI, JG., CORASH, L., HUBBARD, VS. 1983. Medical uses of vitamin E. N Engl J Med. May 5;308(18):1063-71.
- BJORNEBOE, A., BJORNEBOE, GE., DREVON, CA. 1990. Absorption, transport and distribution of vitamin E. J Nutr. Mar;120(3):233-42.
- BRECKTA, A., GREENSTOCK, C.L., TAMBO, M. 1984. Advances on oxygen radicals, and radioprotectors: Mavelli, I: Rutilio, G: Enzymatic Protection Against Intracellular Oxidative Processes. p. 65-80.
- BURTIS, CA., ASHWOOD, ER. 1998. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. W.B. Saunders Company.
- BURTON, GW., CHEESEMAN, KH., DOBA, T., INGOLD, KU., SLATER, TF. 1983. Vitamin E as an antioxidant in vitro and in vivo. Ciba Found Symp, 101:4-18.
- CAI, Y., SOHLENIUS, AK., ANDERSSON, K., SUNDBERG, C., DEPIERRE, JW. 1994. Effects of acetylsalicylic acid on parameters related to peroxisome proliferation in mouse liver. Biochem Pharmacol. Jun 15;47(12):2213-9.
- CARLBERG, I., MANNERVIK, B. 1985. Glutathione reductase. Methods Enzymol, 113:484-90.
- CENGİZ, M., CENGİZ, S. 2000. Tip 2 diyabet hastalarda C vitamini uygulamasının eritrosit, glutatyon ve HbA1C düzeyleri üzerine etkisi. Cerrahpaşa Tıp Dergisi. 31:211-215.
- CERIELLO, A., GIUGLIANO, D., QUATRARO, A., DELLO RUSSO, P., TORELLO, R. 1988. A preliminary note on inhibiting effect of α -tocoferol on protein glycation. Diabet Metab, 14:40-52.
- CERUTTI, PA. 1985. Prooxidant states and tumor promotion. Science. Jan 25;227(4685):375-81.

- CERUTTI, A.P., MC CORD, J.M., FRIDOVICH, I. (EDS) 1988. Oxy-radicals in molecular biology and pathology. Alan R. Liss. Inc. Pages 183-193. New York.
- CHAMPE, P.C., HARVEY, R.A. 1997. Glikozaminoglikanlar. A. TOKULLUGİL, M. DİRİCAN, E. ULUKAYA. Lippincott's Illustrated reviews serisinden: Biyokimya. İkinci baskı, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, s. 147-156.
- CHEESEMAN, KH., SLATER, TF. 1993. An introduction to free radical biochemistry. Br Med Bull. Jul;49(3):481-93.
- CRAIG VE AUST, E.T., AUST, S.D. 1986. Free radicals and environmental toxins. Annals of Emergency Medicine, 15,9.
- CRIOLO, M.R., FIŞKIN, K., MARTINO, A.D., CORASANITI, M.T. ET AL. 1991. Age-Related Changes Cu-ZnSOD. Se-Dependent And-Independent Glutathione Peroxidase And Catalase Activities in Specific Areas of Rat Brain. Mechanism of Ageing And Development 61,287-197.
- CROSS, CE., HALLIWELL, B., BORISH, ET., PRYOR, WA., AMES, BN., SAUL, RL., MCCORD, JM., HARMAN, D. 1987. Oxygen radicals and human disease. Ann Intern Med. Oct;107(4):526-45.
- ÇAKIR, M. 1997. Aspirin ve vitamin E (α -Tokoferol)'nin farelerde (Mus musculus) karaciğer total süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitelerine etkileri. Ondokuz Mayıs Üni. Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Samsun, 50s (yayınlanmamış).
- DEL MAESTRO, RF. 1980. An approach to free radicals in medicine and biology. Acta Physiol Scand Suppl, 492:153-68.
- DI MASCIO, P., MURPHY, ME., SIES, H. 1991. Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. Am J Clin Nutr. Jan;53(1 Suppl):194S-200S.
- DİKİCİ, İ. 1999. Akut viral hepatitlerle interferon tedavisi görmüş kronik viral hepatitlerde oksidatif stresin araştırılması. Selçuk Üni. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Konya, 73s (yayınlanmamış).
- DOILET, C., CHANCERELLE, Y., CRUZ, C., MARONCLES, C., KERGONOU, J.F., RENAUD, S., CIAVATTI, M. 1993. High dosage vitamin E effect on oxidative status and serum lipids distribution in streptozotocin-induced diabetic rats. Biochem. Med. Metab. Biol. 50:265-276.
- DU, Y., MILLER, CM., KERN, TS. 2003. Hyperglycemia increases mitochondrial superoxide in retina and retinal cells. Free Radic Biol Med. Dec 1; 35(11):1491-9.
- DUNCAN H.F. MAK, SIU PO IP, PUI CHUN LI, MICHAEL K.T. POON, KAM MING KO. 1996. Alterations in tissue glutathione antioxidant system in streptozotocin-induced diabetic rats. Molecular and Cellular Biochemistry 162:153-158.

- DUNCAN, BB., SCHMIDT, MI., PANKOW, JS., BALLANTYNE, CM., COUPER, D., VIGO, A., HOOGEVEEN, R., FOLSOM, AR., HEISS, G. 2003. Atherosclerosis Risk in Communities Study. Low-grade systemic inflammation and the development of the type 2 diabetes: the atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes*, 52(7):1799-805.
- DURAK, İ., KARAAYVAZ, M., ÇİMEN, MYB., AVCI, A., ÇİMEN, ÖB., BÜYÜKKOÇAK, S., ÖZTÜRK, HS., ÖZBEK, H., KAÇMAZ, M. 2001. Aspirin impairs antioxidant system and causes peroxidation in human erythrocytes and guinea pig myocardial tissue. *Human & Experimental Toxicology*, 20:34-37.
- EVANS, H.M., BISHOP, K.S. 1922. On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction. *Science*, 56, 650.
- FEREDIOON, S., JANITHA, PK., WANASUNDARA, PD. 1992. Phenolic antioxidants. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 32(1):67-103.
- FERRARI, R., CECONI, K., CURELLO, S. 1991. Oxygen free radicals and myocardial damage protective role of thiol containing agents. *Am. Med.* 91 (suppl 3c), 95-105, s.199.
- FESTA, A., HANLEY, AJ., TRACY, RP., D'AGOSTINO, R JR., HAFFNER, SM. 2003. Inflammation in the prediabetic state is related to increased insulin resistance rather than decreased insulin secretion. *Circulation*. Oct 14;108(15):1822-30. Epub 2003 Sep 29.
- FIRAT, S. 1997. Kobaylarda radyasyonla oluşan akciğer hasarında doku glutatyon , glutatyon peroksidaz, glutatyon- S-transferaz düzeyleri ve N-asetil sistein'in bu sistem üzerindeki etkisi. Gazi Üni. Tıp Fak. Biyokimya A.B.Dalı, Uzm.Tezi, Ankara, 95s (yayınlanmamış).
- FLOHE, L., OTTING, F. 1984. Superoxide dismutase assays. *Methods Enzymol*, 105:93-104.
- FLOHE, L. 1988. Glutathione peroxidase. *Basic Life Sci*, 49:663-8.
- FREEMAN, BA., CRAPO, JD. 1982. Free radicals and tissue injury. *Lab Invest*, 47:412-425.
- FREI, B. 1994. Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: Mechanisms of Action., *The American Journal of Medicine*, 97(Suppl 3A),26,3A-5S-3A-12S.
- FRIDOVICH, I. 1975. Superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem*, 44:147-59.
- FRITSMA, G.A., GEORGE, A., FRITSMA, M.S. 1983. Vitamin E and autoxidation. *American Journal of Medical Technology*, 49,6,453-456.

- FUJISE, H. 1982. Enzyme induction in liver microsomes and alteration of benzo (a) pyrene metabolism in isolated liver cells from rats administered food additives, Nagoya Med, J., 26,151-171.
- GARG, M., SINGH, K., BANSAL, D. 1996. Effect of vitamin E supplementation on antioxidant status of diabetic rats. Med. Sci. Res. 24:325-326.
- GIROTTI, AW. 1998. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. J Lipid Res. 39(8):1529-42.
- GIUGLIANO, D., CERIELLO, A., PAOLISSO, D. 1996. Oxidative stress and diabetic vascular complications. Diabetes Care. 19(3):257-267.
- GONZALES, R., AUCLAIR, C., VOISIN, E., GAUTERO, H., DHERMY, D., BOIVIN, P. 1984. Superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in red blood cells from patients with malignant diseases. Cancer Res. Sep; 44(9):4137-9.
- GRISHAM, MB., GRANGER, DN. 1989. Metabolic sources of reactive oxygen metabolites during oxidant stress and ischemia with reperfusion. Clin Chest Med. Mar; 10(1):71-81.
- GROSSER, N., ABATE, A., OBERLE, S., VREMAN, HJ., DENNERY, PA., BECKER, JC., POHLE, T., SEIDMAN, DS., SCHRODER, H. 2003. Heme oxygenase-1 induction may explain the antioxidant profile of aspirin. Biochem Biophys Res Commun. Sep 5; 308(4):956-60.
- GUÉMOURI, L., ARTUR, Y., HERBETH, B., JEANDEL, C., CUNY, G., SIEST, G. 1991. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. Clin Chem. Nov; 37(11):1932-7.
- GUTTERIDGE, JM. 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin Chem. Dec; 41(12 Pt 2):1819-28.
- HALİFEOĞLU, 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.
- HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, JM. 1984. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. Lancet. Jun 23; 1(8391):1396-7.
- HALLIWELL, B. 1987. Free radicals and metal ions in health and disease. Proc Nutr Soc. Feb; 46(1):13-26.
- HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, JM. 1990. The antioxidants of human extracellular fluids. Arch Biochem Biophys. Jul; 280(1):1-8.
- HALLIWELL, B. 1994. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? Lancet. Sep 10; 344(8924):721-4.

- HAYWARD, A.R., SHRUBER, M., SOKOL, R. 1992. Vitamin E supplementation reduces the incidence of diabetes but not insulinitis in NOD mice. *J. Lab. Clin. Med.* 119:503-507.
- HENRY, L.E.A., HALLIWELL, B., HALL, D.O. 1976. The superoxide dismutase activity of various photosynthetic organisms measured by a new and rapid assay technique. *Febs Letters*, 66,2.
- HIRAISHI, H., TERANO, A., RAZANDI, M., SUGIMOTO, T., HARADA, T., IVEY, KJ. 1992. Role of cellular superoxide dismutase against reactive oxygen metabolite injury in cultured bovine aortic endothelial cells. *J Biol Chem.* Jul 25; 267(21):14812-7.
- HOLLEY, AE., CHEESEMAN, KH. 1993. Measuring free radical reactions in vivo. *Br Med Bull.* Jul; 49(3):494-505.
- HORWITT, MK. 1986. Interpretations of requirements for thiamin, riboflavin, niacin-tryptophan, and vitamin E plus comments on balance studies and vitamin B-6. *Am J Clin Nutr.* Dec; 44(6):973-85.
- HUNDAL, RS., PETERSEN, KF., MAYERSON, AB., RANDHAWA, PS., INZUCCHI, S., SHOELSON, SE., SHULMAN, GI. 2002. Mechanism by which high-dose aspirin improves glucose metabolism in type 2 diabetes. *J Clin Invest.* May; 109(10):1321-6.
- HUYSAL, K. 1999. Tip II Diabetlilerde eritrosit glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, katalaz aktiviteleri, hemoglobin glikozilasyonu ve lipid peroksidasyonunun incelenmesi. Atatürk Üni. Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Erzurum, 81s (yayınlanmamış).
- ITO, N., HIROSE, M. 1989. Antioxidants--carcinogenic and chemopreventive properties. *Adv Cancer Res*, 53:247-302.
- JAGOTA, SK. 1989. Depression of cytochrome P450-dependent drug biotransformation by poly(rI.rC) and aspirin. *Biochem Med Metab Biol.* Jun; 41(3):212-6.
- JANG, YY., SONG, JH., SHIN, YK., HAN, ES., LEE, CS. 2000. Protective effect of boldine on oxidative mitochondrial damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmacol Res.* Oct; 42(4):361-71.
- JIALAL, I., FULLER, CJ. 1993. Oxidized LDL and antioxidants. *Clin Cardiol.* Apr; 16(4 Suppl 1):I6-9.
- JONES, DP., EKLOW, L., THOR, H., ORRENIUS, S. 1981. Metabolism of hydrogen peroxide in isolated hepatocytes: relative contributions of catalase and glutathione peroxidase in decomposition of endogenously generated H₂O₂. *Arch Biochem Biophys.* Sep; 210(2):505-16.

- KAKKAR, R., MANTHA, SV., RADHI, J., PRASAD, K., KALRA, J. 1998. Increased oxidative stress in rat liver and pancreas during progression of streptozotocin-induced diabetes. *Clin Sci (Lond)*. Jun; 94(6):623-32.
- KILIÇOĞLU, B. 1996. Aspirin ve antioksidant butylated hydroxyanisole'ün farelerde (mus musculus) karaciğer RNA miktarına etkileri. Ondokuz Mayıs Üni. Yüksek Lisans Tezi, Samsun, 25s (yayınlanmamış).
- KILINÇ, K. 1985. Serbest oksijen radikallerinin biyokimyasal etkileri ve metabolizması. *Biyokimya Dergisi*. Sayı 2,60-89.
- KING, GL., BANSKOTA, NK. 1994. Mechanism of diabetic microvascular complications. In: Kahn, C.R., Weir G.C. eds, *Joslin's Diabetes Mellitus* (International Ed. Thirteenth Ed. Company). 634-648.
- KLUG, D., RABANI, J., FRIDOVICH, I. 1972. A direct demonstration of the catalytic action of superoxide dismutase through the use of pulse radiolysis. *J Biol Chem*. Aug 10; 247(15):4839-42.
- KRINSKY, NI. 1988. Membrane antioxidants. *Ann N Y Acad Sci*, 551:17-32; discussion 32-3.
- KUKREJA, RC., KONTAS, HA., HESS, ML., ELLIS, ES. 1986. PGH synthase and lipoxygenase generates superoxide in the presence of NADH or NADPH. *Circ Res*. 59:612-619.
- KUZUYA, T., HOSHIDA, S., KIM, Y., OE, H., HORI, M., KAMADA, T., TADA, M. 1993. Free radical generation coupled with arachidonate lipoxygenase reaction relates to reoxygenation induced myocardial cell injury. *Cardiovasc Res*. Jun; 27(6):1056-60.
- LANGENSTROER, P., PIEPER, GM. 1992. Regulation of spontaneous EDRF release in diabetic rat aorta by oxygen free radicals. *Am J Physiol*. Jul; 263(1 Pt 2):H257-65.
- LOWRY, OH., ROSEBROUGH, NJ., FARR, AL., RANDALL, RJ. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. Nov; 193(1):265-75.
- MACHLIN, J.L. 1991. *Handbook of vitamins*. Marcel Dekker, Inc., New York and Basel.
- MANJULA, TS., DEVI, CS. 1993. Effects of aspirin on mitochondrial lipids in experimental myocardial infarction in rats. *Biochem Mol Biol Int*. 29:921-928.
- MANNERVIK, B. 1985. Glutathione peroxidase. *Methods Enzymol*, 113:490-5.
- MARKLUND, SL. 1984. Properties of extracellular superoxide dismutase from human lung. *Biochem J*. May 15;220(1):269-72.

- MARSDEN, HALL, BRENNER, 1996. Reactive nitrogen and oxygen intermediates and the kidney. In: Brenner B., Editor, *The Kidney*, fifth edition, Philadelphia, W.B Saunders, 735-753.
- MAY, J.M. 1980. Abnormal total NADP and impaired glucose metabolism of large rat adipocytes. *FEBS Lett.* 118:133-136.
- MAXWELL, SR., 1995. Prospects for the use of antioxidant therapies. *Drugs.* Mar; 49(3):345-61.
- MAXWELL, SR., THOMASON, H., SANDLER, D., LEGUEN, C., BAXTER, MA., THORPE, GH., JONES, AF., BARNETT, AH. 1997. Poor glycaemic control is associated with reduced serum free radical scavenging (antioxidant) activity in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem.* Nov; 34 (Pt 6):638-44.
- MC CORD, JM., FRIDOVICH, I. 1969. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte protein (hemocuprein). *J Biol Chem.* Nov 25; 244(22):6049-55.
- MC CORD, JM. 1984. Human disease, free radicals and oxidant balance. *Clin Biochem.* 26:351-357.
- MC CRAY, PB., GIBSON, DD., FONG, KL., HORNBROOK, KR. 1976. Effect of glutathione peroxidase activity on lipid peroxidation in biological membranes. *Biochim Biophys Acta.* Jun 22; 431(3):459-68.
- MC MILLAN, TJ., STEEL, GG. 1993. Molecular aspects of radiation biology: Basic Clinical Radiobiology. Birinci baskı. Steel GG (ed) Edward Arnold Publishers, London, S: 211-223.
- MEKINOVA, D., CHORVATHOVA, V., VOLKOVOVA, K., STARUCHOVA, M., GRANČICOVA, E., KLVANOVA, J., ONDREICKA, R. 1995. Effect of intake of exogenous vitamins C, E and beta-carotene on antioxidative status in kidneys of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Nahrung* 39:257-261.
- MERRY, P., WINYARD, PG., MORRIS, CJ., GROOTVELD, M., BLAKE, DR. 1989. Oxygen free radicals, inflammation, and synovitis: and synovitis: the current status. *Ann Rheum Dis.* Oct; 48(10):864-70.
- MEYDANI, M., D.V.M, Ph.D., CARL, P., VERDON, M.S., BLUMBERG, Ph.D. 1985. Effect of vitamin E, selenium and age on lipid peroxidation events in rat cerebrum. *Nutrition Res.* 5:1227-1236.
- MEYDANI, M., MACAULEY, B.J., BLUMBERG, B.J. 1988. Effect of dietary vitamin E and selenium on susceptibility of brain regions to lipid peroxidation. *Lipids.* 23:5.
- MICHIELS, C., RAES, M., TOUSSAINT, O., REMACLE, J. 1994. Importance of S-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free Radic Biol Med.* Sep; 17(3):235-48.

- MONTORI, VM., BRYANT, SC., O'CONNOR, AM., JORGENSEN, NW., WALSH, EE., SMITH, SA. 2003. Decisional attributes of patients with diabetes: the aspirin choice. *Diabetes Care*. Oct; 26(10):2804-9.
- MUNGAN, G. 1996. Kan bankalarında CPDA-1 (Citrate Phosphate Dextrose Adenine) ile saklanan kanlarda allopürinolün lipid peroksidasyonu ve biyokimyasal parametrelere etkisinin incelenmesi. *Ankara Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya. Uzm. Tezi*, 67s (yayınlanmamış).
- MURASE, H., MOON, JH., YAMAUCHI, R., KATO, K., YOSHIKAWA, T., TERAQ, J. 1998. Antioxidant activity of novel vitamin E derivative, 2-(Alpha-D-glucopyranosyl) methyl-2,5,7,8,-tetramethylchroman-6-ol. *Free Radic Biol Med*. 24:217-225.
- MURRAY, R.K., GRANNER, D.K., MAYES, R.A., RODWELL, V.W. 1996. Fizyolojik öneme sahip lipidler. N. DİKMEN, T. ÖZGÜNEN. *Harper'ın Biyokimyası*, Yirmidördüncü baskı, Barış Kitabevi, İstanbul.
- NAIR, V., COOPER, CS., VIETTI, DE., TURNER, GA. 1986. The chemistry of lipid peroxidation metabolites: crosslinking reactions of malondialdehyde. *Lipids*. Jan; 21(1):6-10.
- NAQUI, A., CHANCE, B., CADENAS, E. 1986. Reactive oxygen intermediates in biochemistry. *Annu Rev Biochem*, 55:137-66
- NECHELES, T.F., BOLES, T.A., ALLEN, D.M. 1968. Erythrocyte glutathione peroxidase deficiency and hemolytic disease of the mewborn infant. *The Journal of Pediatrics*, 72,3,319-324. March.
- NIETSCH, P. 1989. Therapeutic Applications of Aspirin. BAYER AG.
- OĞUZ, M. 1990. Oksijen radikalleri. *C.Ü.Tıp Fak.Der.*, 12,2.
- OREI, NN., ZIDEK, W., TEPEL, M. 2000. Increased intracellular generation of reactive oxygen species in mononuclear leukocytes from patients with diabetes mellitus type 2. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 108(3):175-80.
- OYANAGUI, Y. 1991. Active oxygen research of today future. *The journal of toxicological Sciences*, 16,Supp II, 65-69.
- ÖZDEN, İ., DENİZ, G., TASALI, E., ULUSARAÇ, A., ALTUĞ, T., BÜYÜKDEVİRİM (Devrim), S. 1989. The effect of vitamin E on glcosylated hemoglobin levels in diabetic rats: A preliminary report. *Diabetes Res*. 12:123-124.
- PAGLIA, DE., VALENTINE, WN. 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*. Jul; 70(1):158-69.

- PALMER, T. 1990. Understanding Enzymes.
- PASCIFI, R.E., DAVIES, K.J. 1991. Protein, lipid and DNA repair systems in oxidative stress: the free radical theory of aging revisited. *Gerontology*. 37(1-3):166-180.
- PEDERSON, ANDERS, K., FIZGERALD, G.A. 1984. Dose-related kinetics of aspirin: Pre systemic acetylation of platelet cyclooxygenase, *New England Journal of medicine*, Vol. 311 (19), 1206-1211.
- PRASAD, K., LEE, P. 1992. Detection of ischemia- reperfusion cardiac injury by cardiac muscle chemiluminescence. *Mol. Cell Biochem*, 115,49-58.
- RACHMILEWITZ, D., KARMELI, F., OKAN, E., SAMUNI, A. 1994. A novel antiulserogenic stable radical prevents gastric mucosal lesions in rats. *Gut*, 35:1181-1188.
- RAMESH, B., PUGALENDI, K.V. 2006. Antioxidant role of umbelliferone in STZ-diabetic rats. *Life Sciences*.
- RIEMERSMA, R.A., WOOD, D.A., MACINTYRE, C.C.A., ELTON, R.A., GEY, K.F., OLIVER, M.F. 1991. Risk of angina pectoris and plasma concentrations of vitamins A,C, and E and carotene. *The Lancet*, 337.
- RICE-EVANS, CA., DIPLOCK, AT., SYMONS, MCR. 1991. Techniques in free radicals research. Elsevier, Amsterdam, vol 22.
- ROUSSEAU, P., AMSTRONG, M. 1990. Superoxide Dismutases-Production and Therapeutic Potential Pharmacological Technolooi Loruil.
- RUNGBY, J., FLYVBJERG, A., ANDERSEN, B.H., NYBORG, K. 1992. Lipid peroxidation in early experimental diabetes in rats: effect of diabetes and insulin. *Acta Endocrinologia*, 126:378-80.
- SACCO, M., PELLEGRINI, F., RONCAGLIONI, MC., AVANZINI, F., TOGNONI, G., NICOLUCCI, A., PPP COLLABORATIVE GROUP. 2003. Primary prevention of cardiovascular events with low-dose aspirin and vitamin E in type 2 diabetic patients: results of the Primary Prevention Project (PPP) trial. *Diabetes Care*. 26(12):3264-72.
- SCHMINDTMANN, S., BAEHR, R.V., PRECHT, K., 1990. Free radicals induce increased lysis of red blood cells after hemodialysis nephrol dial. *Transplant* 5, 600-603.
- SCHMIDT, MI., DUNCAN, BB., SHARRETT, AR., LINDBERG, G., SAVAGE, PJ., OFFENBACHER, S., AZAMBUJA, MI., TRACY, RP., HEISS, G. 1999. Markers of inflammation and prediction of diabetes mellitus in adults (Atherosclerosis Risk in Communities study): a cohort study. *Lancet*. 353(9165):1649-52.

- SEVEN, A., GÜZEL, S., SEYMEN, O., CİVELEK, S., UNCU, M., BURCAK, G. 2004. Effects of vitamin E supplementation on oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Yonsei Med.* 45(4):703-710.
- SHI, X., DING, M., DONG, Z., CHEN, F., YE, J., WANG, S., LEONARD, S.S., CASTRANOVA, V., VALLYATHAN, V. 1999. Antioxidant properties of aspirin: characterization of the ability of aspirin to inhibit silica-induced lipid peroxidation, DNA damage, NF-kappaB activation, and TNF-alpha production. *Mol Cell Biochem.* 199(1-2):93-102.
- SHUMAN, CR. 1988. Diabetes mellitus: Definition, Classification and Diagnosis. In: Galow JA, Patwin JH, Shuman CR, eds. *Diabetes Mellitus. Ninth Edition*, Eli Lilly and Company.
- SLATER, TF. 1984. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J* 222:1-15.
- SMIRNOFF, N., PALLANCA, J.E. 1995. Ascorbate metabolism in relation to oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 24,16.
- SOUTHORN, PA., POWIS, G. 1988. Free radicals in medicine. II. Involvement in human disease. *Mayo Clin Proc* 63:390-408.
- STAHL, W., SIES, H. 2002. Introduction: Reactive oxygen species. *Research Monographs*, 1-2.
- SUN, Y., OBERLEY, L.W., LI, Y. 1988. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem.* 34(3):497-500.
- SUN, F., IWAGUCHI, K., SHUDO, R., NAGAJ-KI, Y., TANAKA, K., IKEDA, K. 1999. Change in tissue concentrations of lipid hydroperoxides, vitamin C and vitamin E in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Clin Sci.* 96:185-190.
- ŞAHİN, A. 1994. Aspirinin farelerde (mus musculus) kandaki askorbik asit düzeyine etkisinin araştırılması. *Ondokuz Mayıs Üni. Yüksek Lisans Tezi*, Samsun, 22s (yayınlanmamış).
- TAKAHASHI, K., COHEN, H.J. 1986. Selenium-dependent glutathione peroxidase protein and activity: Immunological investigations on cellular and plasma enzymes. *Blood*, 68,3,640-645.
- TANAKOL, R. 1998. Antioksidan vitaminler: Hastalıkta ve sağlıkta önemleri. *Klinik Gelişim*, 11:347-357.
- TAŞDEMİR, B. 1997. Behçet hastalığında lipid peroksidasyonu, antioksidan durum ve nitrik oksit düzeylerinin değerlendirilmesi. *O.M.Ü.Tıp Fak. Dermatoloji A.B.Dalı Uzm.Tezi*, 53s (yayınlanmamış).

- TUDHOPE, G.R. 1967. Red cell catalase in health and in disease , with reference to the enzyme activity in anaemia. Clin. Sci, 33,165-182.
- URANO, S., YANO, K., MATSU, M. 1988. Membrane-stabilizing effect of vitamin E: ct of α tocopherol and its model compounds of fluidity of lechithin liposo-Biochem. Biophys. Res. Commun. 150:469-475.
- UYSAL, M. 1998. Serbest radikaller, lipid peroksitleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. Klinik Gelişim, 11:336-341.
- ÜNAL, D. 1999. Serbest radikaller. Sendrom, Mart:68-80.
- VAM DAM, P.S., VAN ASBECK, B.S., BRVENBOER, B., VAN OIRSCHOT, J.F., GISPEN, W.H., MARX, J.J. 1988. Nevre function and oxidative stres in diabetic and vitamin E deficient rats. Free. Radic. Biol. Med. 24:18-26.
- VANE, J.R. 1971. Inhibition of Prostaglandin Synthesis as a Mechanism of Action for Aspirin-Like Drugs, Nature-New. Biolog; 231(25),232-235.
- VANNUCCHI, H., ARAUJO, W., MONICA, BERNARDES, M., JORDAO-JR, A. 1998. Effect of different vitamin E levels on lipid peroxidation in streptozotocin-diabetic rats. Int. J. Vitam. Nutr. Res, 64(4):250-254.
- VOLKOVOVA, K., CHORVATHOVA, V., JURCOVICOVA, M., KOSZEGHYOVA, L., BOBEK, P. 1993. Antioxidative state of the myocardium and kidneys in acute diabetic rats. Phisiol Res, 42(4):251-5.
- WEISIGER, R.A., SALZMAN, A.T. 1986. Oxygen radicals and ischemic tissue injury gastroenterology 90,2,494-496.
- WEISSMANN, G. 1991. Aspirin. Scientific American P.84.
- WHEELER, C.,R., SALZMAN, J.A. 1990. Automated assays for superoxide dismutase, catalase, Glutathione peroxidase and Glutathione reductase activity. Analytical Biochemistry. 184,193-199.
- WINROW, V.R., WINYARD, P.G., MORRIS, C.J., BLAKE, D.R. 1993. Free radicals in Inflammation. Second messengers and mediators of tissue destruction. British Medical Bulletin, 49,3,506-522.
- WINYARD, P., LUNEC, J., BRAILSFORD, S., BLAKE, D. 1984. Action of free radical generating systems upon the biological and immunological properties of Caeruloplasmin. Int.J.Biochem., 46,1273-1278.
- WOLF, S.P. 1993. Free radicals, transition metals and oxidative stress in the aetiology of diabetes mellitus and complications. Br. Med. Bull. 49:642-652.

- VOLKOVOVA, K., CHORVATHOVA, V., JURCOVICOVA, M., KOSZEGHYOVA, L., BOBEK, P. 1993. Antioxidative state of the myocardium and kidneys in acute diabetic rats. *Physiol. Res.* 42:251-255.
- YAGI, K. 1984. Assay for blood plasma or serum. *Methods in enzymology*, 105:328-337.
- YANARDAĞ, R., CAN, Ş. 1994. Effect of *Laurus Nobilis* L. Leaves on blood glucose levels in normal and alloxan-diabetic rabbits. *Chimica Acta Turcica* 22:169-175.
- YANARDAĞ, R., ÇOLAK, H. 1998. Effect of Chard (*Beta vulgaris* L. VAR. Cicla) on blood glucose levels in normal and alloxan-induced diabetic rabbits. *Pharm. Pharmacol. Commun.* 4:309-311.
- YANBEYİ, S. 1999. Aspirin ve antioksidant butylated hydroxyanisole'ün tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri. Ondokuz Mayıs Üni. Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Samsun, 88s (yayınlanmamış).
- ZHANG, XF., TAN, BK. 2000. Antihyperglycaemic and antioxidant properties of *andrographis paniculata* in normal and diabetic rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 27(5-6):358-63.

ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Kahramanmaraş'ta doğdum. İlköğrenimimi 1991 yılında İstiklal İlköğretim Okulu'nda, orta öğrenimimi 1994 yılında Kahramanmaraş Orta Okulu'nda ve lise öğrenimimi ise 1997 yılında Atatürk Kız Lisesi'nde tamamladım. 1997 yılında kazandığım Sütçü İmam Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nden 2001 yılında mezun oldum. 2003 yılında ise Sütçü İmam Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde Yüksek Lisansa başladım.