

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**LİKOPEN UYGULANAN DENEYSEL DİYABETLİ
RATLARDA SERUM PROTEİN FRAKSİYONLARININ
ELEKTROFORETİK OLARAK SAPTANMASI**

KİMYAGER Veysel YÜKSEK
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Semiha DEDE

VAN-2012

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**LİKOPEN UYGULANAN DENEYSEL DİYABETLİ
RATLARDA SERUM PROTEİN FRAKSİYONLARININ
ELEKTROFORETİK OLARAK SAPTANMASI**

KİMYAGER Veysel YÜKSEK
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Fatmagül YUR

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Semiha DEDE

Üye

Doç. Dr. Tuğba BİNGÖL

Üye

TEZ KABUL TARİHİ

24/07/ 2012

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında yol gösteren, tezin yapılmasında büyük katkıları olan ve desteğini esirgemeyen Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Semiha DEDE' ye, yüksek lisans eğitimim sırasında benden yardımlarını esirgemeyen ve tez çalışmam sırasındaki değerli katkılarından dolayı Anabilim Dalımızın sayın öğretim üyelerine, tezin deneme ve laboratuvar aşamasındaki yardımlarından dolayı anabilim dalındaki yüksek lisans öğrencisi arkadaşlarım Fatih KARAHAN ve Songül AKKUŞ'a, beni her zaman destekleyen değerli Abim Doç. Dr. Nazmi YÜKSEK'e, her türlü sıkıntılarımı paylaşan Eşime ve beni bu günlere getiren Anne ve Babama teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
Teşekkür	III
İçindekiler	IV
Simgeler ve Kısaltmalar	VI
Tablolar Listesi	VII
Şekiller Listesi	VIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Diabetes Mellitus	3
2.1.1. Tanımı	3
2.1.2. Pankreas	3
2.1.3. İnsülin	5
2.1.4. Diyabetin sınıflandırması	8
2.1.5. Diyabetin tanısı	10
2.1.6. Diyabetin komplikasyonları	11
2.2. Serum Proteinleri	11
2.2.1. Albümin	13
2.2.2. Prealbümin	14
2.2.3. Globülin	14
2.2.4. Serum protein fraksiyonlarının belirlenmesi	16
2.2.5. Serum protein fraksiyonlarının klinik önemi	17
2.3. Likopen	21
2.3.1. Yapısı	21
2.3.2. Metabolizma ve fonksiyonları	22
2.3.3. Diyabette likopen	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1. Gereç	26
3.1.1. Hayvan materyali	26
3.1.2. Kullanılan alet ve malzemeler	26
3.1.3. Kimyasal maddeler	27

3.2. Yöntem	28
3.2.1. Deneme gruplarının hazırlanması	28
3.2.2. Örneklerin toplanması	29
3.2.3. Kan glukoz düzeylerinin ölçülmesi	29
3.2.4. HbA1c düzeylerinin ölçülmesi	29
3.2.5. Sellüloz asetat elektroforezi ile serum proteinlerinin analizi	29
3.2.6. Serum protein analizi (Biüret Metodu)	31
3.2.7. İstatistiksel analiz	32
4. BULGULAR	33
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	41
ÖZET	51
SUMMARY	52
KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ	60
EKLER	61
EK-1	61
EK-2	62

SİMGELER VE KISALTMALAR

DM	:	Diyabetes Mellitus
Tip 1 DM	:	Genç tip diyabet, IDDM
Tip 2 DM	:	Erişkin tip diyabet, NIDDM
NDDG	:	National diabetes data grup
OGTT	:	Oral glukoz testi
Hba1c	:	Glikozillenmişhemoglobin
STZ	:	Streptozotosin
i.p	:	İntraperitoneal
mg/dl	:	Miligram/desilitre
U/L	:	Ünite/litre
GHb	:	Hemglobin
AFP	:	α 1-Fetoproteinler
Ig	:	İmmünoglobülin
CRP	:	C-reaktif protein
HGG	:	Hypogammaglobülinemia
A/G	:	Albümin/Globülin oranı
TBARS	:	Tiyobarbitürik asit reaktif madde
DHAP	:	Diyabetik yüksek albumin plazma
DLAP	:	Diyabetik düşük albumin plazma
Hp	:	Haptoglobin

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1.	Protein fraksiyonlarının bileşimi	13
Tablo 2.	Bazı hastalıklarda serum proteinlerinin durumu	19
Tablo 3.	Bazı hastalıklarda serum proteinlerinin elektroforetik görünümü	20
Tablo 4.	Kan glukoz düzeyleri	33
Tablo 5.	HbA1c düzeyleri	35
Tablo 6.	Çalışma gruplarından elde edilen protein fraksiyon konsantrasyonlar	35
Tablo 7.	Protein fraksiyonlarının %g değerleri	38

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Pankreasın anatomik konumu	4
Şekil 2.	Pankreasın histolojik görünümü	5
Şekil 3.	İnsülinin polipeptit yapısı	5
Şekil 4.	Preproinsulinin insuline dönüşümü	6
Şekil 5.	İnsülin reseptörleri	6
Şekil 6.	Hipergliseminin patofizyolojisi, Tip 2 diyabette yağ asidi sirkülasyonu	7
Şekil 7.	Kan glukozu üzerine insülinin düzenleyici etkisi	8
Şekil 8.	Klinik laboratuarda kullanılmak üzere serum proteinlerinin elektroforetik olarak ayrıldığı bantlar ve alt grupları	12
Şekil 9.	Serum proteinlerinin elektroforetik görünümü	17
Şekil 10.	Likopenin kimyasal yapısı	22
Şekil 11.	Kronik hastalıklardan korunmada likopenin rolü	23
Şekil 12.	Çalışma gruplarındaki ortalama kan glukoz düzeyleri (mg/dl) düzeylerinin karşılaştırılması	33
Şekil 13.	Çalışma gruplarındaki ortalama %HbA1c düzeylerinin karşılaştırılması	34
Şekil 14.	Çalışma gruplarındaki ortalama total protein düzeylerinin	35
Şekil 15.	Çalışma gruplarındaki ortalama albümin (%) düzeylerinin karşılaştırılması ...	36
Şekil 16.	Çalışma gruplarındaki ortalama α_1 -globulin (%) düzeylerinin karşılaştırılması	36
Şekil 17.	Çalışma gruplarındaki ortalama α_2 -globulin (%) düzeylerinin karşılaştırılması	36
Şekil 18.	Çalışma gruplarındaki ortalama β -globulin (%) düzeylerinin karşılaştırılması ..	37
Şekil 19.	Çalışma gruplarındaki ortalama γ -globulin (%) düzeylerinin karşılaştırılması .	37
Şekil 20.	Çalışma gruplarındaki ortalama A/G oranlarının karşılaştırılması	37
Şekil 21.	Kontrol grubu bant görüntüsü ve elektroferogram	39

Şekil 22. Diyabet grubu bant görüntüsü ve elektroferogram	39
Şekil 23. Diyabet+likopen grubu bant görüntüsü ve elektroferogram	40
Şekil 24. Likopen grubu bant görüntüsü ve elektroferogram	40



1. GİRİŞ

Diyabetes mellitus (DM), genellikle kalıtsal ve çevresel etkenlerin birleşimi ile oluşan ve kan glukoz seviyesinin aşırı derecede yükselmesiyle oluşan hiperglisemi ile karakterize metabolik bir bozukluktur. Metabolik kan şekerinin düzenlenmesi pek çok kimyasal madde ve hormonun karmaşık etkileşimi sonucunda sağlanır. Glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde rol oynayan hormonlardan en önemlisi pankreasın beta hücrelerinden salgılanan insülin hormonudur. Diyabet ya insülin üretiminin azalması yüzünden (Tip 1 diyabette) ya da insülinin etkisine karşı direnç gelişmesiyle (Tip 2 diyabette ve gestasyonel diyabette) karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozukluklarına neden olan, hiperglisemi ile karakterize metabolik hastalıklar grubunu temsil eder.

DM; gelişen ve gelişmekte olan toplumlarda sık görülen ve en çok araştırılan hastalıklardan biri olmasına rağmen, tedavi ve korunma konusunda daha fazla çalışmalar yapılması gerekmektedir. DM veya kullanılan tedavi yöntemleri, hiperglisemi, ketoasidoz ya da nonketotik hiperozmolar, koma gibi akut ve kardiyovasküler, sistem, hipertansiyon, kalp yetmezliği ve ateroskleroz, nefropati, retinopati, periferik nöropati ve yara iyileşmesini geciktiren ve mikrovasküler bozukluklar gibi kronik komplikasyonlara yol açabilir. Bazen tanı konulmadan uzun süre önce ortaya çıkan hiperglisemi, organlarda hasara neden olabilir. Bu nedenle diyabetes mellituslu olgularda erken tanının yanı sıra uygun ve etkin tedavi önemlidir.

Hücrede çeşitli fonksiyonları yerine getirmek için özelleşmiş pek çok farklı tipte protein bulunur. Her birinin değişik görevleri vardır. Değişik fizyolojik ve patolojik durumlarda serumda değişik miktarlarda bulunur. Serum proteinleri çok sayıda fizyolojik fonksiyonları yerine getirirler. Diyabette, serum viskozitesinin artışı mikrovasküler hasar varlığı ve serum proteinlerinin değişikliklerine bağlıdır. En önemli değişiklik albümindeki düşüş ve akut faz proteinlerinin düzeylerindeki bir artıştır.

Diyabet ve komplikasyonlarının gelişimi ve ilerlemesinde oksidatif hasarın rolü olduğu, serbest radikal üretiminin arttığı ve antioksidan savunma sisteminin bozulduğu ortaya konulmuştur. Bu nedenle diyabetik hastalara, uzun dönemde oluşması muhtemel

komplasyonlardan korunmak amacıyla özellikle antioksidan özelliği olan gıdaların tüketilmesi önerilmektedir. Antioksidan özelliği bilinen likopen, sebze ve meyvelerde doğal olarak bulunan karoten ailesine ait bir pigmenttir.

Çeşitli hastalıkların patogenezinin anlaşılması, hastalıktan korunma ve tedavi olanaklarının incelenmesi için deneysel hayvan modellerinin kullanımı yaygındır. Diyabetin neden olduğu komplasyonların incelenmesi ve tedavi yaklaşımlarının belirlenmesinde, deneysel diyabet modelleri önemli bir yer tutmaktadır. Bu çalışma, deneysel olarak diyabet meydana getirilen ratlarda, pro-enflamatuar ve antioksidan olarak koruyuculuğu bilinen likopen uygulanmasının, diyabete bağlı komplasyonların saptanması ve takibinde önemli yeri olan serum protein fraksiyonları üzerine etkilerini ortaya koymak ve likopenin diyabet komplasyonlarındaki olası rolünü araştırmak amacıyla planlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diyabetes Mellitus

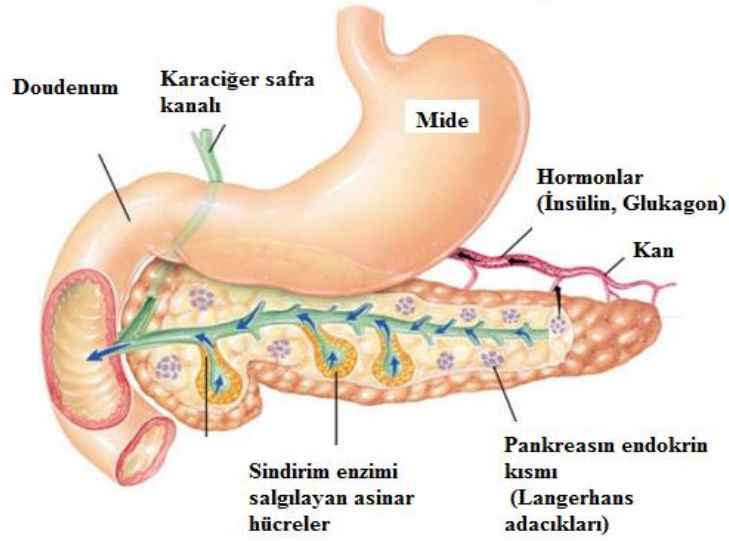
2.1.1. Tanımı

DM, insülin salgılanması, etki mekanizması veya her ikisinde meydana gelen bozukluklara bağlı olarak, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması disfonksiyonlarına neden olan, hiperglisemi ile karakterize metabolik hastalıklar grubunu temsil eder. DM da organizmaya alınan şeker kana geçer ama vücut tarafından kullanılamaz ve kan şekeri yükselir ve (hiperglisemi) oluşur. Poliüri, polidipsi, kaşıntı, kilo kaybı olup bazı durumlarda iştah artışı ve bulanık görme gibi semptomlarla karakterizedir. Tanı konulmadan uzun süre önce ortaya çıkan hiperglisemi, organlarda hasara neden olduğundan, erken tanının yanı sıra uygun ve etkin tedavi önemlidir (Molitch, 1990; Borodaco, 2007; ADA, 2008; ADA, 2011).

Kronik olarak kontrol altına alınmamış ve yüksek seyreden kan şekeri uzun vadede çeşitli komplikasyonların ortaya çıkmasına yol açar. Genellikle tip-2 ile birlikte ortaya çıkan obezitenin yanı sıra kalp-damar hastalıkları, böbrek yetmezliği ile sonuçlanan (nefropati), sinir sistemi (nöropati), körlüğe kadar götüren (retinopati) ve ayak ülserleri gibi komplikasyonların görülme riski çok fazladır (Molitch, 1990; Sacks, 1994; ADA, 2011)

2.1.2. Pankreas

Diyabet, pankreas adlı salgı bezinin (Şekil 1) yeterli miktarda insülin hormonu üretmemesi ya da ürettiği insülin hormonunun etkili bir şekilde kullanılamaması durumunun da gelişen bir hastalıktır. Karın boşluğunda bulunan bu bezin önemli görevleri vardır. Dıştan zayıf bir organ kapsülü ile sarılı olan pankreas, hem ekzokrin, hem de endokrin olarak çalışır. Ekzokrin kısmı asiner (tubulo-alveoler) bez yapısındadır. Endokrin bölümünü ise Langerhans adacıkları oluşturur (Tanyolaç, 1984; Tahmasebi ve ark., 1999; Nussey ve Whitehead, 2001; Lau ve ark., 2004; Anonim, 1, 2).



Şekil 1. Pankreasın anatomik konumu (Anonim 3)

Pankreasın Langerhans adacıkları (Şekil 2) adı verilen özel hücrelerinden çeşitli hormonlar üretilir. Buradan salgılanan hormonlar doğrudan hücreler arasına, sonra kılcıl damarlar aracılığı ile kana geçer. Langerhans adacıklarında dört farklı tipte hücre bulunur:

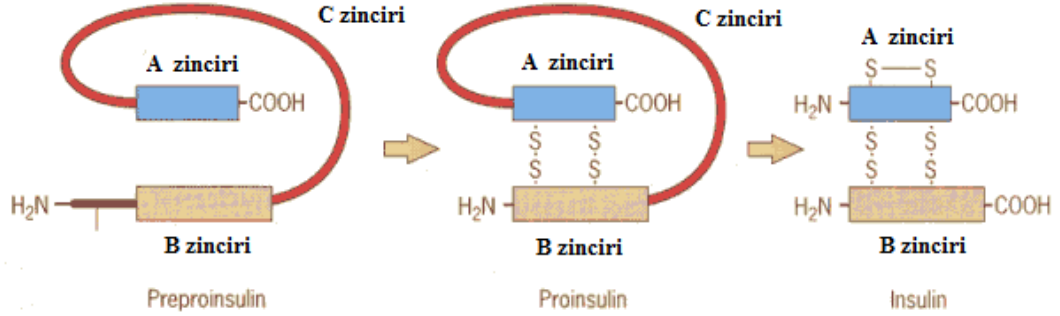
Alfa (A) hücreleri; Langerhans adacıklarında bulunan en büyük hücrelerdir ve dış kısımda yer alır. Karbonhidrat metabolizmasının düzenlenmesinde insülinle birlikte rol oynayan ve kan glukozunu yükselten glukagon bu hücrelerden salgılanır.

Beta (B) hücreleri; İnsülin salgılayan bu hücreler, orta kısımda yer alırlar. İnsülin kan şekerini düşüren tek hormondur. Beta hücreleri alfa hücrelerinden glukagonun salınımını kısıtlarken; alfa hücreleri, beta hücrelerinden insülin salınımını uyarır.

Delta (D) hücreleri; Somastotin hormonu bu hücrelerden salgılanır.

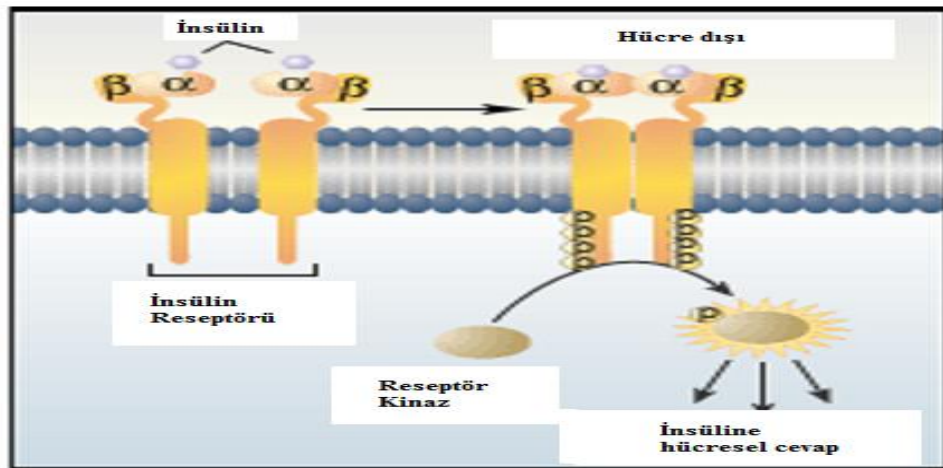
Gama (F) hücreleri; Bu hücrelerden pankreatik polipeptit salgılanır (Tanyolaç, 1984; Tahmasebi ve ark., 1999; Nussey ve Whitehead, 2001; Lau ve ark., 2004; Anonim, 2, 3).

dönüşerek golgi sistemine aktarılır. Buradan sitozole ve plazma membranına doğru yol alır ve yapısına katılan çinko ile altıgen kristaller oluşturur. Spesifik bir taşıyıcı molekülü yoktur ve yarı ömrü 5-10 dakika kadardır (Dede, 1999a; Anonim, 4; Anonim, 5), (Şekil 4).



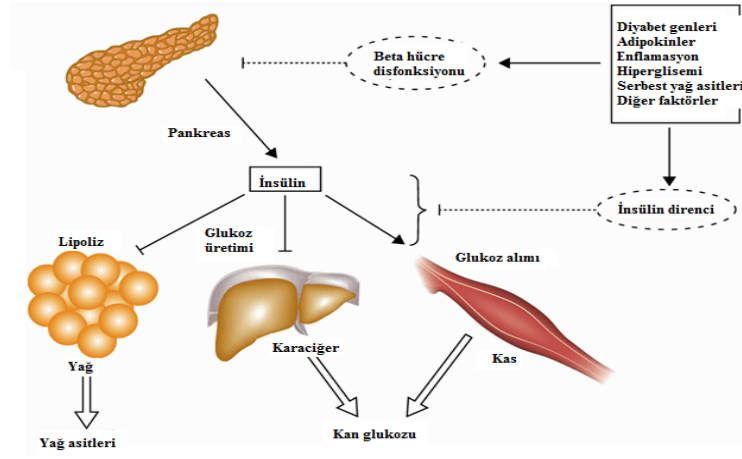
Şekil 4. Preproinsulinin insüline dönüşümü (Anonim 4)

İnsülin başta glukoz olmak üzere bazı şekerleri fosfor ile bağlayarak, hücre membranından taşınmasını ve kullanılmasını kolaylaştırır (Dede, 1999a; Anonim, 5) (Şekil 5). Hedef hücre membranında immunglobülin benzeri, yaklaşık olarak 20000 kadar insülin reseptörü bulunur (Şekil 5). Düşürücü etkisini glikoliz enzimlerini aktive ederek gösterir. Glukoz, glukoz-6-fosfat halinde iken plazma membranını geçemez. İnsülin, bu formun membranı geçişini sağlayarak kas ve karaciğerde glikojen yapımını uyararak glukoz seviyelerini düşürür (Dede, 1999a; Anonim, 5).



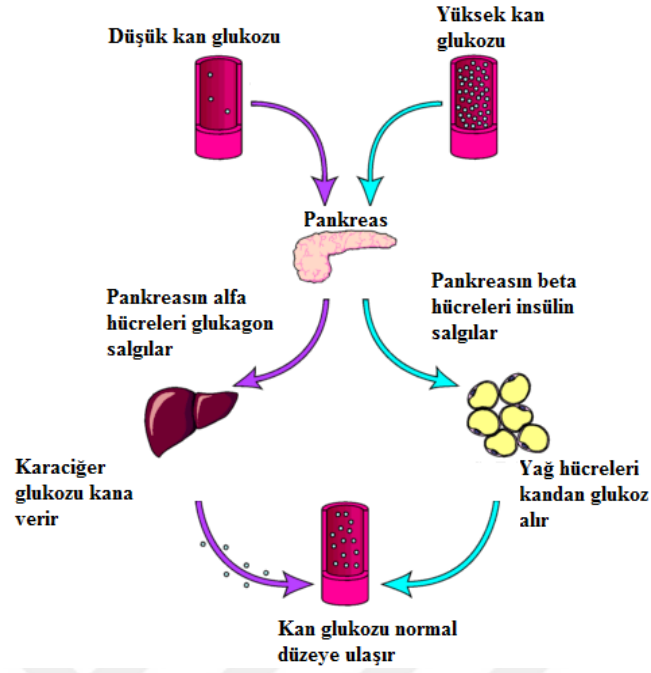
Şekil 5. İnsülin reseptörleri (Anonim 6)

İnsülin lipojenik bir hormondur. Lipolitik hormonların (epinefrin, glukagon), cAMP düzeyleri ve lipaz aktivitesini azaltarak lipolizi engeller. İnsülin noksanlığında lipoliz artar ve karaciğerde serbest yağ asitlerinin miktarı artar, glukagon artar ve yağ asitlerinden oluşan AsCoA sitrik asit döngüsüne katılır. Diyabetlilerde ise AsCoA keton cisimlerine dönüşür (Şekil 6). İnsülin, protein sentezini uyararak ve yıkımını baskılayarak protein metabolizması üzerinde etki gösterir (Dede, 1999a; Sözbilir Bayşu ve Bayşu, 2008; Anonim, 5)



Şekil 6. Hiperglisemi patofizyolojisi, Tip 2 DM yağ asidi sirkülasyonu (Anonim7)

Kan glukoz konsantrasyonu, insülin salgılanmasını düzenleyen en önemli etkidir. Kan glukozu artınca insülin salgılanması artarken, azalırsa insülin salgılanması azalır. %80-100 mg arasındaki glukoz, insülin salınımı için eşik değerdir (Dede, 1999a; Anonim, 5), (Şekil 7).



Şekil 7. Kan glukozu üzerine insülinin düzenleyici etkisi (Anonim, 7)

2.1.4. Diyabetin sınıflandırılması

Diyabet nedenleri, görülme yaşı ve dönemi gibi faktörlere bağlı olarak farklı şekillerde sınıflandırılabilir. Dünya Sağlık Örgütü'nün 1985'te yaptığı sınıflamaya göre hastalık; klinik grup ve istatistiksel olarak risk altında olan grup olmak üzere iki ana başlık altında gruplandırılır.

- Klinik grup*; Bozulmuş glukoz toleransı ve gestasyonel diyabet olarak sınıflandırılır. Her üç durumda da hiperglisemi görülür ve tedavi uygulanması gerekir.
- İstatistiksel olarak risk altında bulunan grup*: Bu grupta hiperglisemi görülmez. Bunlar gestasyonel DM'ta olduğu gibi, yaşamlarının bir döneminde glukoz intoleransı gelişmiş ve sonra tamamen normale dönmüş bireyler olabilir. Bu bireyler, istatistiksel olarak, büyük olasılıkla DM geliştirecekler arasındadırlar. İstatistiksel olarak risk altında bulunan bu gruba giren bireylerin, erken tanı açısından periyodik kontrollerden geçirilmesi gerekir (Molitch, 1990; Erdoğan, 2005).

En sık başvuru sınıflandırma; Tip 1, Tip 2, Diğer diyabet türleri, Tip 4 şeklindedir (Molitch, 1990; ADA, 2011).

Tip 1 DM (Genç tip diyabet, IDDM): Pankreasın insülin salgılayan, beta adacık hücrelerinin selektif olarak yıkılması sonucunda ortaya çıkan kronik, otoimmün bir hastalıktır. Genelde 30 yaş altında çok ağır bir tablo ile başlar. Hastalığın oluşmasında; genetik faktörler, otoimmünite ve çevresel faktörler rol alır (Molitch, 1990; ADA, 2011)

Tip 2 DM (Erişkin tip diyabet, NIDDM): Tip 2 Diyabet ise; en sık 50/75 yaş arası ortaya çıkar. Kalıtımla yakın ilgilidir. Hastaların çoğu şişmandır ve obezite ile Tip 2 Diyabet arasında sıkı bir ilişki vardır. En yaygın olarak görülen diyabet türüdür. Yaygınlığının yanı sıra akut ve kronik komplikasyonlara ve önemli ölçüde mortalite ve morbiditeye yol açar. Tip 2 DM patogeneğinde, pankreas beta hücrelerinden insülin salınımının bozuk olması, insüline periferik dokularda direnç gelişmesi önemlidir (Molitch, 1990; ADA, 2011).

Diğer diyabet türleri: Çeşitli faktörlere bağlı olarak diyabet oluşabilir Bu faktörler aşağıdaki gibi özetlenebilir (Molitch, 1990; ADA, 2011; Anonim, 5, 7).

- İnsülin salgılanmasındaki düzensizlik ile karakterize çeşitli nedenler,
- İnsülin faaliyetindeki genetik bozukluklar,
- İnsülin reseptörlerinde bulunan mutasyonlara bağlı genel pediyatrik sendrom,
- İnsülin üreten beta hücrelerinin yokluğu veya yıkımlanmasının katıldığı ekzokrin pankreas hastalıkları,
- Endokrin bozukluklar (akromegali veya Cushing sendromu),
- İlaç veya kimyasal (bazı diüretikler veya glukokortikoidler) kaynaklı diyabet,
- Enfeksiyon (rubella, sitomegalovirus) ve otoimmün cevap kaynaklı diyabet,
- Konjenital bozukluklar (Down, Turner ve Klinefelters sendromları) kromozomal bozukluklar gibi durumlar ilgili glukoz tolerans ile sonuçlanır.

Tip 4 gestasyonel diyabet: Gebelikte çeşitli derecelerde glukoz intoleransı görülür. Genellikle doğumla birlikte sona erer (Molitch, 1990; ADA, 2011; Anonim, 5, 7).

2.1.5. Diyabetin tanısı

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve National Diabetes Data Grup (NDDG) tarafından diyabetin tanısının konulmasında aşağıda verilen tanı kriterleri saptanmıştır:

- Diyabet semptomları (poliüri, polidipsi, polifaji, kilo kaybı) ile birlikte günün herhangi bir anındaki plazma glukoz değerinin ≥ 200 mg/dl olması,
- Açlık plazma glukoz değerinin ≥ 126 mg/dl olması,
- Oral glukoz testi (OGTT) sırasında 2. saatteki plazma glukoz değerinin ≥ 200 mg/dL (75 gr) olması.

Kriterlerinden en az birinin bulunması diyabet tanısının konulması için yeterlidir (Molitch, 1990; Powers, 2005; ADA, 2011; Anonim, 5; 7).

Glukozillenmişhemoglobin (HbA1c)

DM tanısı konulduktan ve uygun tedavi başladıktan sonra kan glukoz düzeyinin kontrolü gerekir. Uzun dönem kan glukozunun izlenmesinde ve glisemik kontrolün değerlendirilmesinde glikoprotein konsantrasyonları özellikle glikolizehemoglobin olan HbA1c, kan glukoz ölçümlerine ek olarak yaygın şekilde kullanılır (Kurt, 2003; Brownlee M ve Hirsch IB, 2006; Fowler ve Vasudevan, 2010).

Tip 1 ve Tip 2 diyabetik hastalarda, mikrovasküler komplikasyonların (retinopati, nefropati, nöropati) gelişme ve ilerleme riskinin doğrudan glisemik kontrol derecesi ile ilgili olup, glisemik kontrolün takibinde "glukozile" hemoglobin (GHb) kullanılır. Günlük glisemik kontrolün takibinde kan glukoz, uzun dönem glisemik kontrolün takibinde GHb ölçümü kullanılır. GHb, "glycated" hemoglobin, glycosylated hemoglobin, HbA1c veya HbA1 terimlerinin hepsi de "nonenzimatik" olarak glukoz kalıntısı ilave edilmiş hemoglobini tanımlar (Kurt, 2003; Brownlee ve ark., 2006; Fowler ve Vasudevan, 2010).

Yetişkinlerde total hemoglobinin %97'sini oluşturan HbA (HbA1) 2 alfa ve 2 beta olmak üzere 4 polipeptit zincirinden oluşur. HbA1'in kromatografik analizi sonucu ortaya çıkan ve HbA1a, HbA1b ve HbA1c olarak isimlendirilen minör hemoglobinelere glikolizehemoglobinler denir. HbA1c; total glikoproteininin %80 ini oluşturmaktadır (Kurt, 2003).

2.1.6. Diyabetin komplikasyonları

DM hem akut metabolik komplikasyonlar hem de uzun dönemde vasküler, renal, retinal ya da nöropatik bozukluklara yol açar (Molitch, 1990; Bağrıaçık, 1997). Diyabetik makrovasküler komplikasyonlar, aterosklerozla oluşan kardiyovasküler değişikliklerin aynısıdır. Mikrovasküler komplikasyonlar, organsal hasar, sinir sistemi, böbrek ve retinada belirgin olarak mevcut diyabetik nöropati, nefropati ve retinopati olarak adlandırılan patolojik damar bozukluklarıdır (Yenigün 1997). Tip 1 ve tip 2 diyabetik birçok hastada hipertansiyon gelişir (Hermansen, 2000; Mann ve ark., 2001).

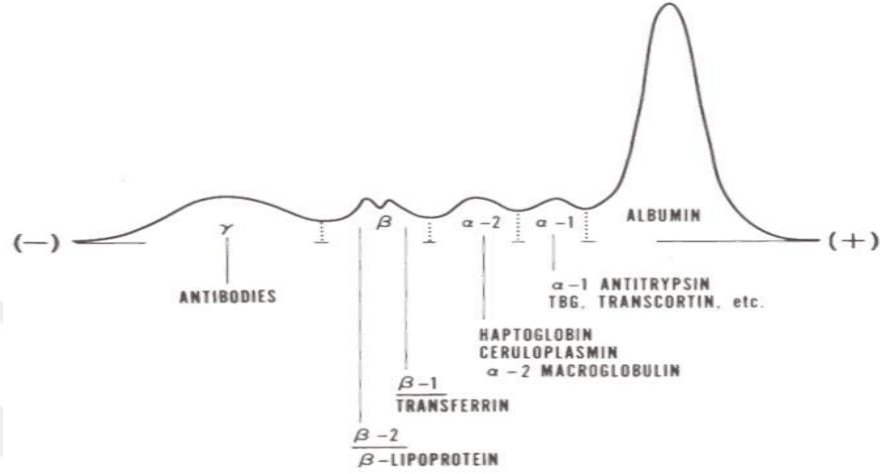
Diyabetik sinir hastalığı veya nöropati diyabetli tüm kişilerin en az yarısını etkiler. Nöropati tipleri, ayaklarda ve ellerde duyu kaybına, ayakta ağrıya neden olur ve kalbi, gözü, mideyi, mesane ve genital organları içine alan somatik organ nöropatiye yol açar (Tesfaye ve ark., 2010). Diyabetik retinopati diyabetin en önemli mikrovasküler komplikasyonlarından biridir (Sjølie ve ark., 2011).

2.2. Serum Proteinleri

Serum proteinleri, kanda bulunan yüzlerce farklı protein grubunu ifade eder. Klinik olarak önemli olan serum proteinler lipit, hormon, vitamin ve metaloenzimlerin dolaşımında taşınması ve tamamlayıcı komponentler, hücrel olmayan aktivitenin ve immun sistemin düzenlenmesi de dahil pek çok farklı fonksiyonları vardır. Gamma globülinler hariç bütün kan proteinleri, karaciğerde sentezlenir (Adkins ve ark., 2002; Metzler ve Metzler, 2003; Jacobs ve ark., 2005; Anonim, 8).

Serum proteinleri, tipik klinik laboratuarda kullanılmak üzere elektroforetik olarak 5-6 banta ayrılır (Anonim, 8), (Şekil 8, Tablo 1). Total serum proteinleri saf halde 6-8 gr/dl dir. Yarısından fazlası (3.5-5 gr/dl) albümindir. Albümin lipitlerin ve

steroid hormonların taşınmasına katılmasının yanı sıra osmotik basınç dengesine katkıda bulunur. Geri kalan serum proteinleri ise total serum globülin fraksiyonu (2-3,5 gr/dl), çeşitli taşıyıcı ve akut faz proteinleri ve immunglobülinlerden oluşur (Adkins ve ark. , 2002; Jacobs ve ark. 2005; Anonim, 8).



Şekil 8. Klinik laboratuarda kullanılmak üzere serum proteinlerinin elektroforetik olarak ayrıldığı bantlar ve alt grupları

Tablo 1. Protein fraksiyonlarının bileşimi (Mehmetoğlu, 2002)

Albümin	Albümin	
	Prealbümin	
Globülinler	α_1 – Globülinler	α_1 - antitripsin, α_1 - asit glikoprotein, α_1 - lipoprotein (Apolipoprotein A), α_1 -fetoprotein (AFP)
	α_2 –Globülinler	α_2 -makroglobülin, Haptoglobülin, Serüloplazmin
	β – Globülinler	β - lipoprotein (Apolipoprotein B), Transferrin, Kompleman proteinleri (C3, C4), β_2 -mikroglobülin, Hemopeksin
	γ – Globülinler (İmmunoglobülinler)	Ig A, Ig M, Ig G, Ig D, Ig E

2.2.1. Albümin

Normalde plazmada veya serumda %3-4 oranında albümin bulunur. Serum albüminleri elektroforezde göç hızlarına göre prealbümin ve albümin olarak iki fraksiyona ayrılırlar. Molekül ağırlığı 69.000 Dalton, elektroforetik mobilitesi 5.92 ve yapısında eser miktarda lipit ve karbonhidrat bulunduran, 610 adet aminoasitten kurulu bir proteindir. Serum albümini karaciğerde sentezlenir. Serum albüminin sentezinde sorumlu olan genler 4 numaralı kromozom üzerinde bulunmaktadır. (Erdal,1987; Metzler ve Metzler, 2003; Anonim, 9, 10).

Serum albüminin önemli görevleri şöyle özetlenebilir: Kanda çok az çözünen maddelerle bileşerek, bu maddeleri serumda çözünmüş halde tutar. Bazı ilaçların ve organik maddelerin kanda taşınmasına yardımcı olur. Endojen aminoasit deposu olarak görev görür. Ozmotik basıncın düzenlenmesinde rol alır. Kanın viskozitesini etkiler (Erdal,1987; Metzler ve Metzler, 2003; Prinsen ve ark, 2004; Anonim, 11).

Serum albümin düzeylerini etkileyen faktörler

Serum albümin miktarı bireyin yaşamı süresince bazı değişimlere uğrar. Fetal yaşamın 8. haftasında sentezlenme başlar. Doğum sırasında ise yaklaşık olarak normal yetişkindeki düzeye ulaşır (3500-4500 mg/100ml) (Prinsen ve ark, 2004). Serum

albümin düzeyinin normal sınırlardan düşük olması *hipoalbüminemi* olarak tanımlanır. Serum albümin düzeyi 2.0 g/dL'nin altına düştüğünde ödem gelişir (Anonim, 7). Serum albümin konsantrasyonu dehidrasyonda artar (Prinsen ve ark., 2004).

Albümin konsantrasyonu başlıca hepatik sentezin azalması, albümin yıkımlanmasının artmasıyla, bağırsaklar ve idrar yoluyla aşırı kayıp nedeniyle azalır. Kayıpların en büyük nedenleri renal glomerüler hastalıklar, protein kaybına yol açan enteropatiler, açlık ve bazı kötü huylu tümöre benzer oluşumlardır (Prinsen ve ark., 2004).

Sağlıklı karaciğer, protein sentezi için büyük bir protein rezervine sahiptir ve kaybolan protein yenilenebilir. Hayvanlarda albümin yarı ömrü uzun olduğundan, serum albümin konsantrasyonu ancak diffuz ve kronik hepatopatilerde azalır. Serum albümin seviyelerinin ölçümü hepatik hastalıkların komplikasyonlarının ortaya konması için önemlidir. Albümin ölçümü aynı zamanda kronik hepatit gibi bazı problemlerin prognozunu tahmin etmek için faydalıdır (Turgut, 2000).

2.2.2. Prealbümin

Bütün proteinlerin %0.2-0.5 kadarını oluşturur. Molekül ağırlığı 61000 daldondur. Prealbümin, karaciğerde sentezlenir, molekül üzerinde retinol bağlayan proteini bağlayacak yerler ve tiroksin bağlayabilecek bir yer bulunur. Triptofandan zengin bir protein fraksiyonu olup, tiroksin ve vitamin A'nın taşınmasında rol alır. Oral kontraseptif kullananlarda, gebelerde, enflamatuvar olaylarda, malign tümörlerde, malnütrisyonunda, karaciğer hastalıklarında serum prealbümin düzeyi azalır (Beşoğlu, 2002; Anonim, 10).

2.2.3. Globülin

Plazma veya serumda %2-3 gr kadardır ve α , β ve γ globülin olarak üç fraksiyon halinde bulunurlar. Globülinler de bazı maddeleri serumda çözülmüş halde tutarlar. Molekül ağırlığı 50.800-56.000 Dalton, %4.2 oranında karbonhidrat içeren bir glikoproteinlerdir. Globülin sentezi, γ -globülinler hariç karaciğerde yapılmaktadır.

Globülin sentezinden sorumlu genler 4 numaralı kromozom üzerinde bulunmaktadır (Erdal,1987; Anonim, 9).

Globülinler dört ana grupta toplanmaktadır:

Alfa 1 globülinler (α_1 -globülin): Bu grupta; transkortin, tiroksin bağlayan protein, glikoprotein, α_1 -antitripsin, α_1 -antikimotripsin, α_1 -asitglikoproteinler, α_1 -lipoproteinler (apolipoprotein A), α_1 -fetoproteinler (AFP) bulunur.

Alfa 1 globülin, gebeliğin son iki trimesterinde orta derecede artış göstermekle beraber, artışının görüldüğü başlıca patolojik durumlar; akut ve kronik enfeksiyonlar, romatoid artrit, poliarteritis nodoza, akut romatizmal ateşin erken dönemi, sistemik lupus eritematozis, koroner arter trombozu, radyasyona bağlı doku hasarı, kemik kırıkları, akut ve kronik nefritler, piyelonefritler, karaciğer hastalıklarıdır.

Alfa 1 globülinlerin azaldığı başlıca patolojik durumlar ise; nefrotik sendrom, karaciğer nekrozudur (Turgut, 2000; Mehmetoğlu, 2002; Anonim, 11).

Alfa 2 globülinler (α_2 -globülin): Glikoprotein, makroglobülin, haptoglobülin, ve seruloplazmin bu gruptadır. Gebeliğin 2. ve 3. trimesterinde yükselir. Doğumda yüksek iken 6. ayda normal seviyelerine düşer (Ceriello, 1997; Mehmetoğlu, 2002; Anonim, 10).

Alfa 2 globülinlerde artmaya yol açan başlıca patolojik durumlar; akut ve kronik enfeksiyonlar, sistemik lupus eritematozis, romatoid artrit, poliarteritis nodoza, akut romatizmal ateşin erken dönemi, akut ve kronik nefritler, piyelonefritler, nefrotik sendrom, cushing sendromu, viral hepatit, siroz, karaciğer nekrozu, malign hastalıklardır (Turgut, 2000). α_2 -makroglobülin, α_2 -globülin fraksiyonunun büyük çoğunluğunu oluşturur. α_2 -makroglobülin, plazmanın en önemli proteaz inhibitörlerinden biridir (Anonim, 10).

Beta (β) globülinler: β -lipoproteinler (apolipoprotein B), kompleman proteinleri (C3,C4), β_2 -mikroglobülin, hemopeksin ve transferrin (siderofilin) bu grupta yer alır.

Beta globülinlerin artışına yol açan başlıca patolojik durumlar; primer ksantomatozis, esansiyel hiperkolesterolemi, esansiyel hiperlipidemi, biliyer siroz, viral hepatit, poliarteritis nodoza, multiple miyeloma, nefrotik sendromdur.

Beta globülinlerde azalmaya yol açan başlıca patolojik durumlar ise; bazı karaciğer nekrozlu olgulardır. Beta globülin proteinleri, kan dolaşımında demir gibi maddelerin taşıma ve enfeksiyonlara karşı mücadeleye yardımcı olmaktadır (Turgut, 2000; Mehmetoğlu, 2002; Anonim, 11).

Gama (γ) globülinler: γ -globülin fraksiyonunun önemli proteinleri immünoglobülinler (IgG, IgM, IgA, IgE ve IgD), C1q kompleman sistem proteini ve C-reaktif protein (CRP)'dir. Gamma globülin bandı geniş ve yaygındır; çünkü yapılarında değişiklik gösterirler ve bu nedenle farklı hızlarda hareket ederler. İmmunoglobülinler olarak adlandırılan gamma globülinler, karaciğerde yapılmayan tek serum proteinleridir. Her bir immünoglobilin benzer iki ağır zincirlerden bazı gruplarının ise benzer iki hafif zincirden oluşur (Busher, 1990; Turgut, 2000; Mehmetoğlu, 2002).

Karakteristik patolojik durumların sonucunda yükselen immünoglobilin düzeyleri, diğer proteinlerin artmasına neden olabilir. Yetersiz beslenme ve doğuştan gelen zayıf bağışıklı sistemi total globülin sentezinin azalmasına neden olur (Busher, 1990).

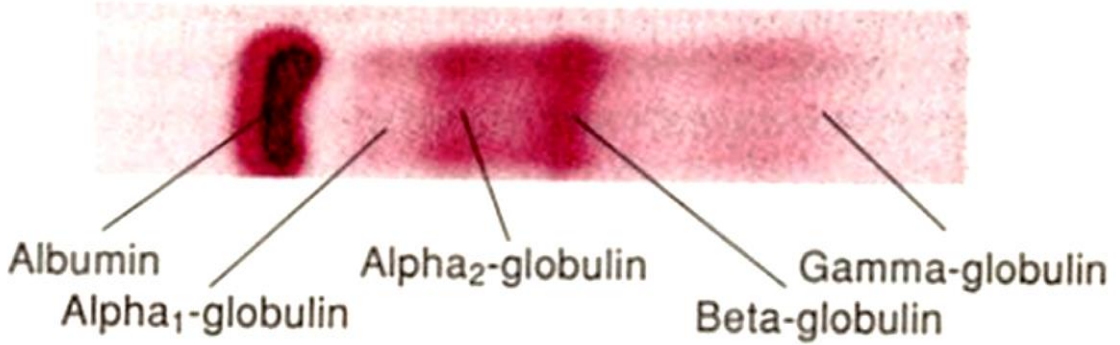
Bunlar antikor proteinler olarak da tanımlanmaktadır. Enfeksiyonlara karşı mücadeleye yardımcı olmaktadır. Serum γ -globülin fraksiyonunun arttığı durumlar; akut ve kronik karaciğer hastalıkları, kronik enfeksiyonlar, akut diffüz glomerülo nefrit, sarkoidoz, karsinom ve otoimmün hastalıklardır (Turgut, 2000; Anonim, 11).

Serum γ -globülin fraksiyonunun azaldığı durumlar; nefrotik sendrom, ağır malabsorpsiyon ve malnütrisyon, primer immün yetmezlik ve sekonder immün yetmezlik durumlarıdır (Turgut, 2000; Anonim, 11).

2.2.4. Serum protein fraksiyonlarının belirlenmesi

Elektroforez serum protein fraksiyonların ayırmada en yaygın yöntemdir. Bu işlemde; uygun tamponlu çözücülerde proteinler çözülür ve bir kâğıdın ya da bir nişasta bloğun ortasına yerleştirilerek elektrik akımına maruz bırakılır. Elektrik yükü farklılıklarından dolayı protein komponentleri farklı yönlere doğru hareket eder. Proteinler pozitif veya negatif yük taşıdığından ve onlar akışkan içinde elektrik alana yerleştirildiğinde kolay hareket ederler. Benzer boyut, şekil ve iyon grupları içeren kan serum proteinleri bir elektrik alanda serum protein elektroforez kullanılarak ayrılır (Busher, 1990; Anonim, 11).

Serum proteinlerinin elektroforezinde anoda en hızlı göçen fraksiyon, prealbümin ve albümindir, en yavaş göçen fraksiyon γ -globülin fraksiyonudur. Prealbümin fraksiyonu rutin serum proteinleri elektroforezinde fark edilmez (Anonim, 8), (Şekil 9).



Şekil 9. Serum proteinlerinin elektroforetik görünümü

2.2.5. Serum protein fraksiyonlarının klinik önemi

Serum proteinlerin normal bireylerde, gerek kantitatif gerekse kalitatif olarak yaş, ısı, hamilelik gibi fizyolojik durumlar, beslenme, cinsiyet, çevresel etkenler ve genetik polimorfizmi gibi durumlarda değişim gösterir. Genellikle yaşam süresince serum proteinlerinde yavaş bir artış vardır. Fakat bu etkenler dışında bazı hastalık durumlarında da gerek kantitatif gerekse kalitatif yönden değişim olabilir. Bu değişim,

organizmada görev bozuklukları sonucu ortaya çıkabilir (Erdal, 1987; Karagül ve ark., 2000; Onat ve ark., 2002; Anonim, 11).

Malnütrisyon veya ağır protein kaybı olgularında gelişen hipoproteinemilerde tüm bantlarda azalma izlenmesine rağmen, en belirgin azalma albüminde görülür. Ağır açlık durumlarında veya ilerleyen kronik hastalıklarda albüminde görülen azalmaya α_1 ve α_2 bantlarında yer alan; α_1 -antitripsin, α_2 -makroglobülin, haptoglobülin, transferin ve C3 de katılmaktadır. Protein kaybedilen enteropatilerde, tüm bantlarda sentez azalmasına veya kaybın artmasına bağlı olarak soluklaşma, α_2 bandında ise artış izlenmektedir. Protein kaybedilen nefropatilerde albümin, α_1 , β ve γ -globülinlerde azalma görülür. Demir eksikliği olgularında transferin artışına bağlı belirgin β bandı izlenmektedir. Haptoglobülin, hemoliz arttığında (hemolitik anemi) düşer ve serbest haptoglobin tespit edilemez. Akut enfeksiyonlarda ve travmayı takiben plazmada haptoglobin artar. Nefrotik sendromda da artış gösterir. Aktif hemoliz sonucu haptoglobülin eksikliği olan kişilerde α_2 veya β bölgelerine göçen bağımsız bir hemoglobin bandı izlenmektedir. Kronik hepatosellüler bozuklukta plazma albümini düşer ve izleyen safhalarda hastalığın takibinde iyi bir gösterge olarak yararlanır. Buna karşın akut karaciğer hastalıklarında plazma albümininde düşüş yoktur ya da çok azdır (Erdal, 1987; Karagül ve ark., 2000; Onat ve ark., 2002; Anonim, 11).

Albümindeki azalma γ fraksiyonundaki immunglobülinlerin artışı ile dengelenmektedir. Portal fibrozda karakteristik değişiklik genellikle serum albümin düzeyinde düşüş ve γ -globülindeki artış şeklindedir. Karaciğer sirozu olgularında albümin sentezinin azalması ve kaybının artması sonucu serum konsantrasyonu azalmaktadır. Sirozda serum albümin düşer, serum γ -globülin artışı hafiftir, α -globülin ve β -globülin konsantrasyonları serum lipoproteinindeki artışa bağlı olarak yükselir. Portal fibrozda karakteristik değişiklik; genellikle serum albümin düzeyinde düşüş ve γ -globülindeki artış şeklindedir (Erdal, 1987; Karagül ve ark., 2000; Onat ve ark., 2002; Anonim, 11).

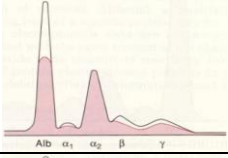
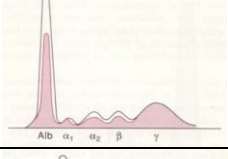
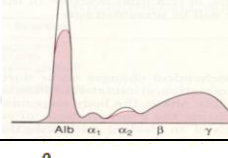
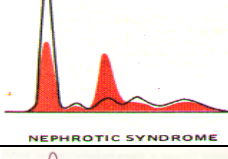
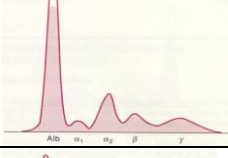
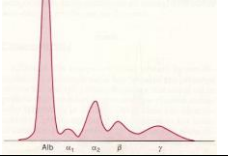
Normalde bulunmayan bantların görünür hale gelmesi ise değişik klinik durumlarda gözlenmektedir. Albümin ile α_1 bandı arasında belirecek soluk bir bant, bazı kötü huylu tümörlerde serumda artan α_1 -fetoproteine bağlıdır. Monositer

lösemilerde lizozim düzeyinin artışı γ bölgesinden ileride bir bant oluşturmaktadır (Erdal, 1987; Karagül ve ark., 2000; Onat ve ark., 2002; Anonim, 11).

Tablo 2. Bazı hastalıklarda serum proteinlerinin durumu (Prinsen ve ark., 2004; Okita. M, 2004; Mariee ve Shabanah, 2006; Anonim, 10).

Protein fraksiyonu	Hastalık	Durum
Albümin	Önemli karaciğer hastalıkları	Artar
α 1-globülinler		
α 1-lipoprotein	Ağır inflamasyonlarda	Azalı
	Akut hepatit	Azalı
	Sirozda	Azalı
α 1-lipoprotein	Nefrotik sendromlarda	Azalı
	Ağır Alkoliklerde	Artar
	Gebe kadınlarda	Artar
α 1-antripsin	Akut inflamasyon	Artar
	Nefrotik sendromlarda	Azalı
α 2- globülinler		
α 2-makroglobülinler	Nefrotik sendromlarda	Artar
	Haemolitik anemi	Artar
	Diyabetlilerde	Artar
	Kötü urlu hastalarda	Artar
	Sirozda	Artar
Haptoglobülin	Haemolitik anemi	Artar
β -globülinler	Aktif karaciğer hastalıkları, nefrotik sendromlarda ,irin oluşturan deri hastalıklarında	Artar
Transferin	Gebelik ve östrojen tedavisinde ,demir eksikliği anemisinde	Artar
β -lipoproteinlerde	Gebelik ve östrojen tedavisinde ,demir eksikliği anemisinde	Artar
γ -globülinler (immünoglobulinler)	Bazı deri hastalıklarında, solunum yolu enfeksiyonlarında, kronik enfeksiyonlarda çeşitli tümörlerde	Artar

Tablo 3 . Bazı hastalılarda serum proteinlerinin elektroforetik görünümü (Prinsen ve ark., 2004; Okita. M, 2004; Mariee ve Shabanah, 2006; Anonim, 10)

Elektroforez bantı	Hastalık
	Renal protein kaybı
	Siroz
	Hepatit
	Nefrotik sendrom
	Kronik inflamasyon
	Akut inflamasyon

Nefrotik sendrom, ağır malabsorpsiyon ve malnütrisyon, primer immün yetmezlik ve sekonder immün yetmezlik durumlarında serum γ -globülin fraksiyonu azalır. Serum globülin düzeyleri, karaciğer hastalıklarının tayininde önemli olan diğer testlerle birlikte bilgi verebilir. Akut ve kronik karaciğer hastalıkları, kronik enfeksiyonlar, akut diffüz glomerülonefrit, sarkoidoz, karsinom ve otoimmün hastalıklarda, serum globülin fraksiyonu artar (Tablo 2, 3). Karaciğer hastalıklarında özellikle β -globülin fraksiyonunda belirgin bir artmaz. Tüm immünglobülinleri kapsayan γ globülin fraksiyonundaki artma ve yavaş β Hypogammaglobülinemia (HGG) hastalığına sebebi düşük seviyedeki gamma globülin bölgesine uzanan IgA

artışı, β - γ köprüleşmesi olarak adlandırılmaktadır (Erdal, 1987; Karagül ve ark., 2000; Onat ve ark., 2002; Anonim, 11).

2.3. Likopen

Vitaminler, canlı organizmada büyüme, gelişme ve sağlık durumunun devam ettirilebilmesi için vücudun eser miktarlarda gerek duyduğu organik bileşiklerdir. Hastalıkların profilaksisi, akut hastalıkların tedavisi, kanser ve koroner hastalıkların korunması gibi fonksiyonların yürütülmesinde de görev alırlar (Dede, 1999b).

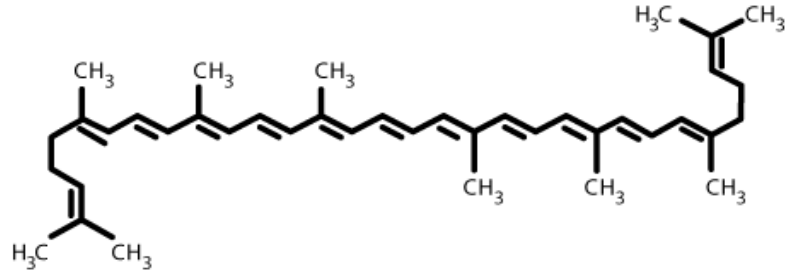
Likopen, sebze ve meyvelerde doğal olarak bulunan karoten (*carotenoid*) ailesine ait bir pigmenttir. Likopen birçok meyve ve sebzenin yapısında yer almakla beraber, en fazla domates ve domates ürünlerinde bulunur vardır (Giovannucci, 1999; Nguyen ve Schwartz, 1999; Dorgan ve ark., 2000; Erhardt ve ark., 2003).

Uzun zincir şeklindeki asiklik, aşırı hidrofobik yapısı ve içerdiği konjuge çift bağ nedeniyle antioksidan aktivite gösterir. Likopen; retinol, α -tokoferol ve karotenoidler gibi oksijen radikallerini yok ederek antioksidan özellik gösterir (Bast ve ark., 1998). Anguelova ve Warthesen (2000), likopen antioksidan aktivitesinin α -karoten ve β -karotenin antioksidan aktivitelerinden daha yüksek olduğunu saptadılar.

Likopen ve bazı antioksidan vitaminler ile C reaktif protein (CRP) seviyesini belirleyen sistemik enflamasyon tepkilerinin arasında ters bir ilişki bulunur. Enfeksiyöz etkenlere karşı savunma mekanizmalarını aktive ederek, antiinflamatuvar etki gösterir. Likopen siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerini düzenleyerek pro-enflamatuvar moleküllerden prostoglandin, prostasiklin, trombonsan ve lökotrien sentezini baskılar. Bu sebeple yangıya yol açan reaksiyonlar önlenmiş olur (Pruthi ve ark., 2003).

2.3.1. Likopenin yapısı

Likopen; simetrik düzlemde alifatik, yani düz zincirli, bir hidrokarbondur (Şekil 10). Tetraterpen ($C_{40}H_{64}$) yapıda olup, 8 tane izopren (C_5H_8) ünitesinin birleşmesinden meydana gelmektedir. Likopen, yapısında 11 tane konjuge ve 2 tane konjuge olmayan toplam 13 tane çift bağ ve β -iyonon halkası içermemektedir (Sevindik, 2007).

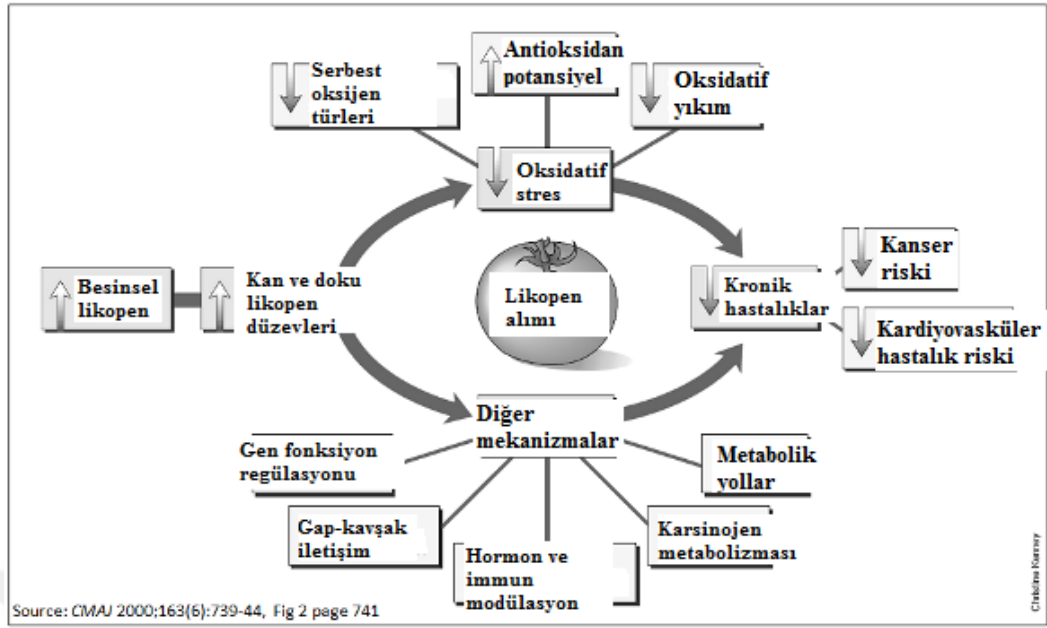


Şekil 10. Likopenin kimyasal yapısı

2.3.2. Metabolizma ve fonksiyonları

İnsanlar 50 den fazla diyetle bağlı karotenoidi absorbe ve metabolize edebilir. α -karoten, β - karoten, β -kriptoksantin, lutein ve likopen insan kanında en bol bulunan karotenoidlerdir. Likopen, insan metabolizmasında en baskın karotenoiddir. Likopen seviyeleri, çeşitli biyolojik durumlarda ve yaşam şartlarında etkilidir. Likopen, özellikle yağdan zengin dokular olan deride, karaciğerde, testisler ve prostatta bol miktarda bulunur (Giovannucci,1999; Dorgan ve ark., 2000; Erhardt ve ark., 2003).

Likopen, hücreleri serbest radikal hasarından korumasının yanı sıra, hücreler arasındaki bağları güçlendirmekte ve hücre metabolizmasını geliştirmektedir (Şekil 11). Yağda çözünen yapısı nedeniyle ciltte de antioksidan-koruyucu etki gösterir. Ultraviyole ışınlarına karşı koruma sağlar. Aynı zamanda kolesterol düşürücü özelliği vardır. Göğüs, rahim, karaciğer, prostat kanserlerinden koruyan, Alzheimer hastalığını önleyen, kalp damar hastalıkları, kemik ve cilt sağlığı açısından koruyucu etkisi bulunan likopen, antioksidan özelliğiyle yaşlanma sürecini yavaşlatmaktadır (Boileau ve ark., 2001; Mashima ve ark., 2001; Neyestani ve ark., 2007a).



Şekil 11. Kronik hastalıklardan korunmada likopenin rolü (Anonim, 12)

Diyetle alınan likopen, vücuttaki likopen düzeyini artırabilir ve bir antioksidan olarak hareket eder. Reaktif oksijen türlerini yakalayarak toplam antioksidan potansiyeli artırarak oksidatif hasarı azaltır. Düşük oksidatif stres, kanser ve kardiyovasküler hastalık riskinin azalmasına yol açabilir. Alternatif olarak, vücutta artan likopen durumu, gen fonksiyonlarını düzenleyerek hücre içi iletişimi geliştirir, hormon ve bağışıklık yanıtı harekete geçirir veya metabolizmayı düzenler, böylece kronik hastalık riskini azaltır (Neyestani ve ark., 2007a; Srinivasan ve ark., 2007; Anonim 13)

Likopenin bağışıklık sistemi üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, serum likopen seviyesi ile immüoglobulin arasında önemli bir negatif korelasyon bulunmuştur. Serum likopen seviyeleri ve Ig G ve IgM ile ilişkilidir. İlginçtir yağ kütlelerinin miktarının değişmesi serum IgG ile direkt ilişkilidir fakat serum IgM ile ters ilişkilidir. Likopen T hücrelerine bağlı adaptif (pro-atherjenik) humoral immün etkiyi azaltarak uzun süreli diyabet komplikasyonlarında özellikle atherogenesisde önleyici etkiler sağlayabilir (Neyestani ve ark., 2007b). Sitokin etkiyi azaltarak, akciğerlerdeki alerjik inflamasyonu sistematik olarak azaltmaktadır. Ayrıca likopen takviyesi astıma karşı koruyucu bir etkiye sahip olabileceği bildirilmektedir (Hazlewood ve ark., 2011).

Shidfar ve ark. (2010), likopen ve diğer antioksidanlar bakımından zengin olan çiğ domatesin günlük 200 gr tüketiminin tip 2 diyabetlilerde kan basıncına ve apolipoproteine (apoA-I)etki ederek kardiyovasküler riskin düşürülmesinde faydalı olabileceğini bildirmektedirler .Karoten türevleri olan β kriptoksantin, likopen ve α -karotenin yüksek plazma konsantrasyonlarının karotid atherosklerosis ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (Karppi ve ark., 2011).

2.3.3. Diyabette likopen

Oksidatif stres tip 2 diyabetin ve komplikasyonlarının pathogenesisinde önemli bir rol oynar. Etkili bir antioksidan olan likopen oksidatif strese bağlı kronik hastalıkların önlenmesindeki potansiyel rolünden dolayı son yıllarda ciddi bilimsel ilgi görmektedir (Li ve ark., 2010, Zhu ve ark., 2011), diyabete bağlı oksidatif stresin endotel disfonksiyona neden olduğunu, güçlü bir antioksidan madde olan likopenin oksidatif stresi azaltarak diyabetik endotel disfonksiyonu azaltabileceğini ve kronik likopen tedavisinin endotel disfonksiyon ile ilişkili diyabetik vasküler komplikasyonları önlemede yararlı olabileceğini bildirmektedir.

Serum likopenin ölçümü oksidatif hasar değerlendirilmesi için uygun yeni bir yöntemdir. Diyabetik retinopatili hastalarda tanı ve tedavinin takibinde düşük likopen düzeyleri önemlidir. Diyabetli hastalarda serum likopen düzeyleri kontrole göre önemli oranda azalır. Nitekim proliferatif diabetik retinopatili diyabet hastalarının serum likopen düzeyleri, diğer tür retinopatili veya retinopatisiz diyabetlilerden bile daha düşük olarak bulunmuştur. Ayrıca serum likopen düzeyleri ve hemoglobin A1c arasında da negatif korelasyon saptanmıştır (Li ve ark., 2010).

Kuhad ve Chopra (2008), diyabetik hastalarda beyin korteks ve hipokampusunda oksidatif stres parametrelerinin arttığını, diyabete bağlı olarak oluşan öğrenme ve hafıza bozukluklarının tedavisinde uzun süreli likopen uygulanmasının tedavi edici potansiyeli olduğunu bildirmektedir.

Aynı şekilde 4 haftalık süren likopenin kronik tedavisi, soğuk allodini ve termal hiperaljeziyayı önemli bir şekilde azaltmıştır. Bu veri, diyabetik nöropatinin tedavisinde

bir adjuvan tedavi olarak likopen kullanımının önemini vurgulamaktadır (Kuhad ve Chopra, 2008).

Tip 2 diyabet hastalarında domates suyunun kullanılmasıyla plazma likopen seviyesinde gözlenen belirgin artışa bağlı olarak kötü huylu kolesterolün oksitlenerek damarlar için zararlı ürünlere dönüşümü belirgin bir biçimde azaltılabildiği görülmüştür. glukoz metabolizmasının zayıflaması ile serum karotenoid düzeylerinin glukoz tolerans anormalliklerine bağlı olarak lineer azaldığı bildirilmektedir (Coyne ve ark., 2005).

Plazma likopen düzeyleri ve tip 2 diyabet riski arasında orta yaşlı kadınlarda az bir ilişki olabileceği ve bu durumun daha ileri çalışmalarda kanıtlanması gerektiğine dair bir çalışma mevcuttur (Wang ve ark., 2006). Diyabetin ilerlemesi ile birlikte artan retinopati, karotenoid durumu ile ilişkili olabilir. Karotenoidlerin dolaşımdaki düzeyleri diyetle alınan miktarına büyük ölçüde bağlıdır ve prooksidasyon/antioksidan dengesi üzerine etkilidir. Diyabette düşük seviyelerdedir ve yaşa bağlı makula dejenerasyonunun oluşumuna katıldığı bildirilmiştir. Ancak, karotenoidler ve diyabetik komplikasyonlar arasındaki ilişki hakkında az şey bilinmektedir. Karotenoidlerin, diyabetik retinopatiden sorumlu olduğunu söylenebilir. Daha da önemlisi yapılan çalışmalarda, diyete bağlı modülasyonu artan, lutein ve likopen açısından zengin gıdaların alımı ile birlikte retinopati riskini azaltmanın mümkün olabileceği görüldü. Likopenin muhtemelen, total antioksidan düzeyini artırarak ve MDA-LDL yapımını inhibe ederek, T hücre-bağımlı adaptif (pro-aterojenik) immün cevabın hafifletmiş olması muhtemeldir. Bu arada likopen, makrofaj ve köpük hücre oluşumu, ox-LDL alımını, doğal bağışıklığın artırılması ve dolayısıyla önlenmesi ile özellikle kardiyovasküler hastalıklar başta olmak üzere uzun vadeli diyabetik komplikasyonların önlenmesinde etkili olabilir (Neyestani ve ark., 2007b; Brazionis ve ark., 2009).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Hayvan materyali

Çalışma materyalini, Y.Y.Ü. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 28.01.2010 tarih ve 2010/01-04 karar sayılı Araştırma Başvuru Onay Belgesi ile yapılması uygun görülen, Prof.Dr. Semiha DEDE'nin danışmanlığını yaptığı, Şerif ÖZMUTLU'nun "Deneysel diyabetli ratlarda likopen uygulamasının ACE aktivitesi üzerine etkisi Çalışmada Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar" isimli Yüksek Lisans Tezi'nde kullanılan ratların serumları oluşturmaktadır.

Y.Y.Ü. Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edilen 28 adet 200–250 g ağırlığında Wistar-Albino ırkı erkek rat kullanıldı. Ratlar rastgele her biri yedi rattan oluşan; kontrol (K), diyabet oluşturulup likopen verilmeyen (D), diyabet oluşturulup likopen verilen (DL) ve likopen verilen grup (L) olmak üzere dört gruba ayrıldı. Ratlar dört haftalık deneme süresince 12 saat karanlık/aydınlama, sıcaklığı $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ olarak ayarlanmış odalarda, önlerinde sürekli olarak yem ve taze su bulunan kafeslerde barındırıldı.

3.1.2. Kullanılan alet ve malzemeler

- Biosensor şeker ölçüm cihazı ve stripleri (PlusMED Accuro)
- Cam Tüp (Antikoagulantsız, vakumlu Kapaklı)
- Derin dondurucu (Arçelik),
- Ependorf tüp
- EDTA'lı tüpler
- Hassas terazi (Gee Avery)

- Helena Lab - Titan III Sellüloz asetat kartları
- Helena Lab -1511 Güç kaynağı
- Helena Lab- 4063 Elektroforez Tankı
- Karıştırıcı -Vortex (Genine)
- Klinik santrifüj (Hettich EBA 3-S)
- Kronometre (Larus JAPAN)
- Otomatik pipetler (100, 250, 1000, 5000 µl, Ependorf)
- pH metre (CG 840 Schott)
- Platinum IV (paket program)
- Soğutmalı Santrifüj (Heraeus Sepatech Minifuge RF)
- Spektrofotometre (Boeco S-22 UV/Vis,)
- Tarayıcı

3.1.3. Kimyasal maddeler

- Bakır sülfat (Horasan Kimya)
- Distile su
- Fizyolojik Tuzlu Su
- Glasial asetik asit (Merck)
- HbA1c ticari kiti (Roche Diagnostics, Germany)
- Likopen (Redivivo-%10 FS (DSM Besin Maddeleri Ltd. Şti.)
- Metanol (Merck)

- NaOH (Merck)
- Potasyum iyodür (Teknik Kimya)
- Sodyum klorür (Merck)
- Sodyum potasyum tartarat (Merck)
- Streptozotosin (Sigma, USA)

3.2. Yöntem

3.2.1. Deneme gruplarının hazırlanması

Diyabet oluşturulacak D ve DL grup ratlara 45 mg/kg tek doz streptozotosin (STZ) (Sigma, USA) pH: 4.5 olan sitrat tamponu içinde çözdürülüp, intraperitoneal (i.p) yoldan uygulandı (Vardı ve ark., 2005).

1. Grup (Kontrol-K): Rastgele seçilen yedi adet rat kontrol grubu olarak ayrıldı. İntraperitoneal (i.p) yoldan tek doz serum fizyolojik enjekte edildi.

2. Grup (Diyabet-D): Yedi adet rata, streptozotosin (STZ) (Sigma, USA) pH: 4.5 olan sitrat tamponu içinde çözdürülüp, intraperitoneal (i.p) yoldan 45 mg/kg tek doz uygulandı. 72 saat sonra kuyruk veninden alınan kan örneklerinde glukoz düzeyleri, PlusMED Accuro marka biosensor şeker ölçüm cihazı ve stripleri vasıtasıyla saptandı. Kan şekerleri 270 mg/dl ve üzerinde olanlar diyabetik olarak kabul edilip çalışmaya dahil edildi.

3. Grup (Diyabet+Likopen-DL): Yedi adet rattan oluşan gruba, önce sitrat tamponu içinde çözdürülüp, pH: 4.5 olarak ayarlanan 45 mg/kg tek doz streptozotosin (STZ) (Sigma, USA) intraperitoneal (i.p) yoldan uygulandı. 72 saat sonra kuyruk veninden alınan kan örneklerinde glukoz düzeyleri, PlusMED Accuro marka biosensor şeker ölçüm cihazı ve stripleri vasıtasıyla saptandı. Kan şekerleri 270 mg/dl ve üzerinde olan ratlara, mısırözü yağında çözdürülen likopen çözeltisi 10 mg/kg/gün olarak 28 gün boyunca ağız yolundan uygulandı.

4. Grup (Likopen-L): Likopen mısırozü yağında çözdürülerek 10 mg/kg/gün olarak 28 gün süresince ağız yoluyla uygulandı.

3.2.2. Örneklerin toplanması

Dört haftalık deneme sürecinden sonra eter anestezi altında hayvanların kalplerinin sol ventrikülünden, jelli cam serum tüplerine ve EDTA'lı tüplere kan alındı. Tüplere alınan kanlar 3000 devirde +4°C'de 10 dakika süreyle santrifüje edildi. Elde edilen serum örneklerinde serum protein fraksiyonları elektroforezde yapıldı. Tüm kan örneklerinde ise HbA1c analizleri yapıldı.

3.2.3. Kan glukoz düzeylerinin ölçülmesi

Kuyruk veninden alınan kan örneklerinde glukoz düzeyleri, PlusMED Accuro marka biosensor şeker ölçüm cihazı ve stripleri vasıtasıyla saptandı.

3.2.4. HbA1c düzeylerinin ölçülmesi

Ratların kalbinden EDTA'lı tüplere kan örnekleri alındı. HbA1c miktarı tayinleri tüm kanda aynı gün yapıldı. %HbA1c düzeyleri Roche (Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim, Germany) firmasının ticari kiti kullanılarak HITACHI-911 otoanalizörü ile tayin edildi. Kullanılan yöntem immunotürbidimetrik olup (Tina-quant), spesifik olarak sonuçlar elde edilmektedir. Bu yöntem ile %HbA1c düzeyi 4.8-6.0 normal kabul edilmekte ve 6.0'dan yukarısı patolojik olarak değerlendirilmektedir (Fairbanks ve Klee, 1994).

3.2.5. Sellüloz asetat elektroforezi ile serum proteinlerinin analizi

Çözeltiler

Tampon solusyonunun hazırlanması: pH'sı 8.6–9.0 olan Electra HR® Buffer (Cat. No. 5805) 750 ml distile suda eritildi.

Clear aid solusyonu: Clear aid (Cat. No. 5005) polyethylene glycol içerir. 30 birim glasiyal asetik asit, 70 birim metanol ve 4 birim Clear Aid.'in karışımı sonucu elde edildi.

Ponceau S stain: Bir paket Ponceau S Stain 1 lt distile suda eritildi. %3.5 triklorasetik asit ve %3.5 sülfosalisilik asitin sulu solusyonunda 250 ml %0.50 Ponceau S içerir.

Elektroforetik analizin yapılışı

- Gerekli ayıraçlar hazırlandı.
- Sellüloz asetat kartı, pH'sı 8.6–9.0 olan barbital buffer ve tris içeren tampon solüsyonunda (Electra HR Buffer Cat No. 5805) karta negatif yük yüklemek için 20 dakika bekletildi.
- Bekleme sonucunda alınan asetat kartı kurutma kağıdı arasında hafifçe kurutuldu.
- Yürütme tankının + ve – kutuplarının olduğu bölmelere 100'er ml (2/5'i kadar) aynı tampon solüsyonundan konuldu.
- Filtre kâğıdı yardımıyla yürütme tankı ile tampon solüsyonu arasında temas sağlandı.
- Senter aplikatör yardımıyla, sellüloz asetat kartının sellüloz kısmına 8–10 µl serum örneği uygulandı.
- Sellüloz asetat kartının sellüloz kısmı aşağı gelecek şekilde yürütme tankına konulan filtre kâğıtlarının üzerine yerleştirildi ve üzerine kaymaması için lam bırakıldı.
- Yürütme tankının kapağı kapatıldı, 180V' da 15 dakika bekletildi.
- Yürütme sonucu oluşacak bantlar uygulama noktasına en yakından başlayarak γ -globulin, β -globulin, α_2 - globulin, α_1 -globulin ve albumin bantları oluştu. Molekül ağırlığı küçük olan en uzağa gitti.

Boyama işlemi

Yürütme işlemi tamamlandıktan sonra sellüloz asetat kartı lam sepetine alınıp, sırasıyla şu işlemlere tabi tutuldu.

- Ponceau S solüsyonunda 6 dakika bekletildi.
- %5'lik glasiyal asetik asitte ikişer dakika süreyle üç defa değiştirilerek bekletildi.
- %100'lük metanolde ikişer dakika süre ile iki defa değiştirilerek bekletildi.
- 5–10 dakika (7 dakika tercih edilir) süre ile Clear Aid solüsyonunda bekletildi.
- Sellüloz asetat kartı 15 dakika süre ile 50–60 °C'de etüve alındı ve kart şeffaf hale geldi.
- Şeffaf hale getirilen asetat kartı, tarayıcıya alındı ve görüntüsü taranarak dijital ortama aktarıldı. Elde edilen jel görüntüsü Platinum 3 (version 3.0) (helena, BioScience Europe) paket program kullanılarak değerlendirildi.

3.2.6. Serum protein analizi (Biüret Metodu)

Proteinleri teşkil eden aminoasitlerin tabiatı ne olursa olsun bütün proteinler peptid bağı ihtiva ederler. Bu peptid bağları kuvvetli alkali solüsyonunda Cu^{+2} iyonları ile bağlanarak pembe renkli bir kompleks oluştururdular. Rengin şiddeti, peptid bağlarının sayısı ve bununla ilgili olarak protein miktarı ile orantılıdır. Biüret ayırıcı ile proteinlerdeki peptid bağları 546 nm de ölçüldü. Mavi menekşe renkli bir kompleks oluştu. Protein miktarı ile oluşan rengin şiddeti arasındaki ilişkiden formül yardımıyla protein miktarı tayin edildi (Mert N, 1996).

Ayıraçlar

Biüret reaktifi: 400 ml taze hazırlanan, karbonatsız 0.2N NaOH içinde 9.0 g sodyum potasyum tartarat ve 3.0g CuSO_4 (toz haline getirilmiş) eritildi. Üzerine 5.0g KI eklenip eritildi ve 0.2N NaOH ile litreye tamamlandı.

%0.9 NaCl solüsyonu (Fizyolojik Tuzlu Su): 9 g NaCl bir miktar distile suda eritilerek litreye tamamlandı.

0.2 N NaOH: 8 g NaOH bir litreye tamamlanarak 0.2 N NaOH hazırlandı.

Yapılışı

- İki deney tüpü alındı. Test, reaktif körü olarak işaretlendi.
- Test tüpüne 10 µl serum konuldu.
- Reaktif körü ve test tüpüne 500 µl %0.9 NaCl solüsyonu ilave edildi.
- Reaktif körü ve test tüpüne 500 µl Biüret ayırıcı ilave edildikten sonra tüpler kapatılıp, 30 saniye süre ile çalkalandı, oda sıcaklığında 5 dakika beklendi, distile suya karşı 546 nm’de spektrofotometrede değerler saptandı.

Hesaplanması:

$$(Test- Reaktif Körü) \times 33.2 = \% \text{ g protein}$$

3.2.7. İstatistiksel analiz

Çalışma sonucunda elde edilen sonuçlar; kontrol, diyabet, diyabet+likopen ve likopen gruplarının verilerinin karşılaştırıldığı çoklu karşılaştırma ile değerlendirildi. Tüm analizlerden elde edilen ham değerler, grupların ortalaması \pm standart hata şeklinde sunuldu.

4. BULGULAR

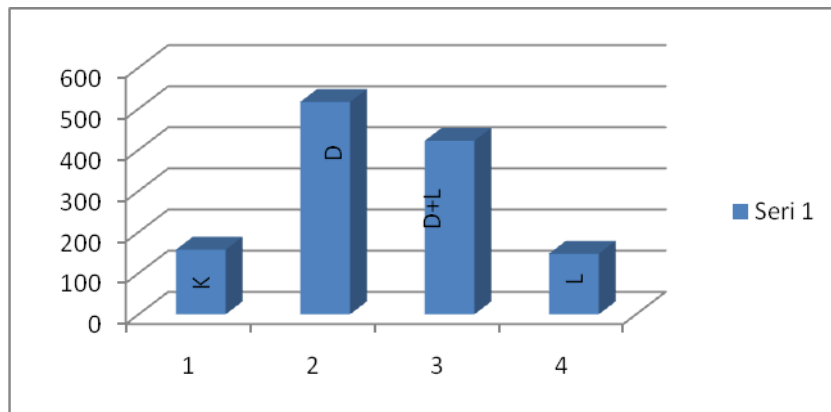
Likopen uygulanan deneysel diyabetli ratlarda serum protein fraksiyonlarının elektroforetik olarak saptanması amacıyla yapılan bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlar aşağıda sunuldu.

Kan glukoz değerleri istatistiksel olarak değerlendirildi ve Tablo 4 ve şekil 12’de özetlendi. En yüksek kan glukoz konsantrasyonu, deneysel diyabet oluşturulan grupta ($p<0.05$) saptandı. Diyabet oluşturulduktan sonra likopen uygulanan grupta ise kan glukoz düzeylerinin kontrol ve sadece likopen uygulanan gruplara göre artmış olmakla beraber ($p<0.05$), diyabet grubundan önemli oranda düşük ($p<0.05$) olduğu görüldü. Kontrol ve likopen gruplarının kan glukoz düzeyleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

Tablo 4. Kan glukoz düzeyleri (mg/dl)

Gruplar	(S±SE)	n
Kontrol grubu	157.29±7.94a	7
Diyabet grubu	516.71±29.38b	7
Diyabet+Likopen grubu	422.02±21.68c	7
Likopen grubu	147.57±9.21a	7

Farklı harfler arasında $p<0.05$ oranında fark var.



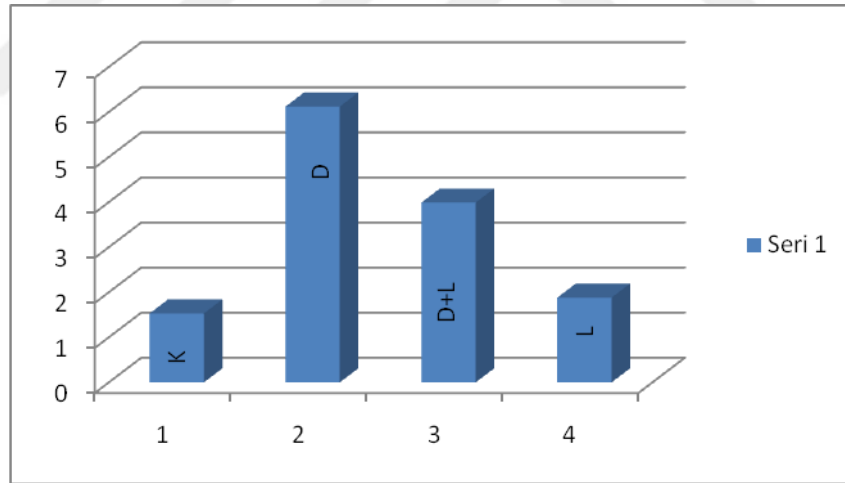
Şekil 12. Çalışma gruplarındaki ortalama Kan glukoz düzeyleri (mg/dl) düzeylerinin karşılaştırılması

%HbA1c düzeyleri istatistiksel olarak değerlendirildi ve Tablo 5 ile Şekil 13’de özetlendi. Deneysel diyabet oluşturulan grupta en yüksek ($p<0.05$) olduğu görüldü. Diyabet+ likopen grubunda da, kontrol ve sadece likopen uygulanan gruplara göre %HbA1c düzeylerinin anlamlı ($p<0.05$) bir şekilde artmış olduğu belirlendi. Bununla beraber, diyabet grubuna göre önemli ($p<0.05$) ölçüde azaldığı saptandı. Kontrol ve likopen gruplarında %HbA1c bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmedi.

Tablo 5. %HbA1c düzeyleri

Gruplar	(S±SE)	n
Kontrol grubu	1.53±0.03a	7
Diyabet grubu	6.12±0.18b	7
Diyabet+Likopen grubu	3.99±0.08c	7
Likopen grubu	1.88±0.19a	7

Farklı harfler arasında $p<0.05$ oranında fark var.



Şekil 13. Çalışma gruplarındaki ortalama %HbA1c düzeylerinin karşılaştırılması

Serum protein fraksiyonlarının elektroforetik değerlendirilmesi sonucunda elde edilen bantlar Platinum 3.0 programında değerlendirildi ve protein bantlarının konsantrasyonları belirlendi. Bu konsantrasyonların istatistiksel olarak değerlendirilmesi sonucunda saptanan değerler Tablo 6 ve Şekil 14-20 de özetlendi.

Total protein, albümin, alfa 1, alfa 2 ve beta globülin fraksiyonlarının diyabet ve diyabet+likopen gruplarında kontrol ve likopen verilen gruplardan önemli oranda ($p<0.05$) düşük olduğu görüldü. Diyabet ve D+L grubu ve kontrol ve likopen verilen grupların kendi aralarında ise önemli fark olmadığı saptandı.

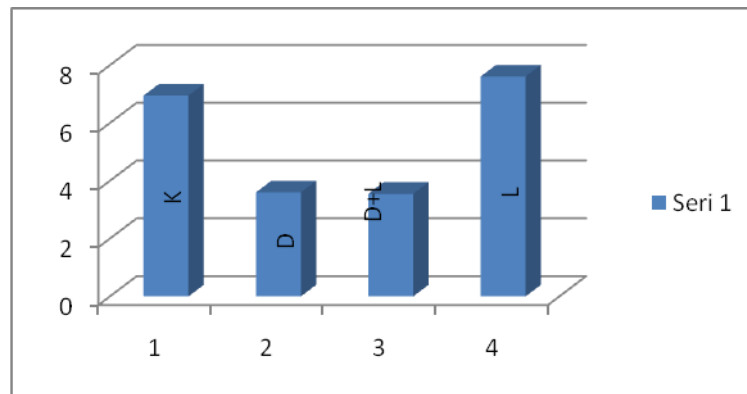
Gama globulin düzeyi ise diyabet grubunda diğer bütün gruplardan daha düşük ($p<0.05$) bulundu. Diyabet+Likopen grubunda ise diyabete oranla bir miktar yükselmekle beraber yine de kontrol ve likopen grubunda önemli oranda ($p<0.05$) azalmıştı.

A/G oranları ise diyabet grubunda en yüksek olarak saptandı. Diyabet+likopen grubundaki değer, diyabete göre azalarak kontrol grubuna yakın bulundu. Sadece likopen verilen grupta ise bu oran diğer gruplara oranla önemli bir farklılık göstermedi.

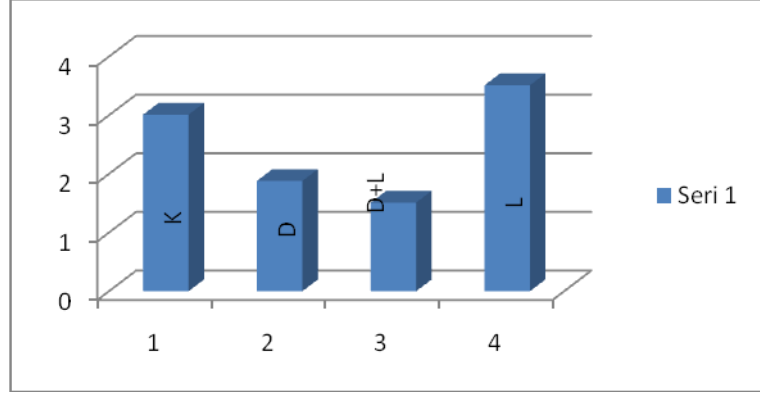
Tablo 6. Çalışma gruplarından elde edilen protein fraksiyon konsantrasyonları

Parametreler	Kontrol Grubu	Diyabet Grubu	Diyabet+ Likopen Grubu	Likopen Grubu
Total protein(gr/dl)	6.95±0.77a	3.60±0.74b	3.55±0.36b	7.061±1.16a
Albumin (%)	3.01±0.42a	1.88±0.51b	1.51±0.27b	3.51±0.71a
α_1 - globulin (%)	0.75±0.09a	0.32±0.14b	0.37±0.07b	0.73±0.21a
α_2 - globulin (%)	0.83±0.12a	0.40±0.17b	0.51±0.09b	1.05±0.32c
β - globulin (%)	1.62±0.42a	0.82±0.26b	0.78±0.16b	1.54±0.47a
γ - globulin (%)	0.71±0.18a	0.18±0.07b	0.37±0.09c	0.64±0.19a
A/G	0.79±0.07a	1.23±0.22b	0.75±0.06a	0.91±0.11ab

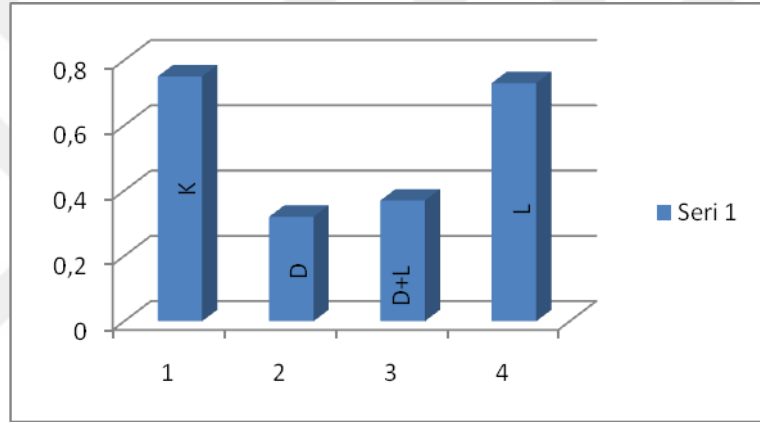
Farklı harfler arasında $p<0.05$ oranında fark var.



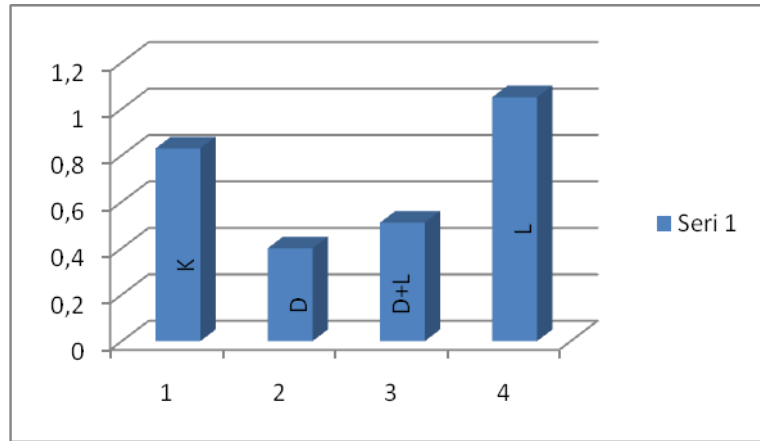
Şekil 14. Çalışma gruplarındaki ortalama Total protein düzeylerinin karşılaştırılması



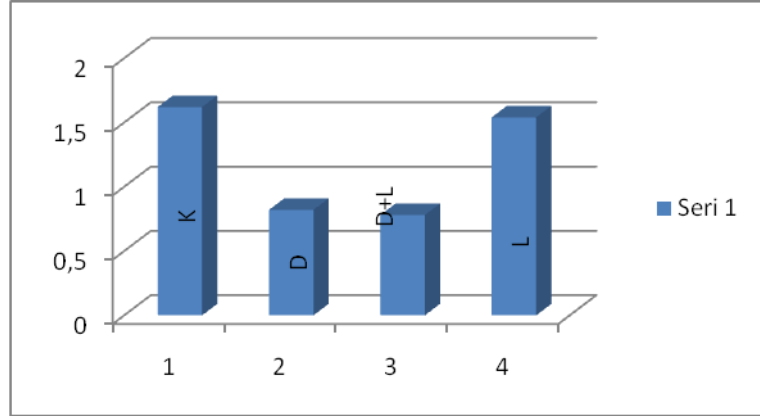
Şekil 15. Çalışma gruplarındaki ortalama Albumin (%) düzeylerinin karşılaştırılması



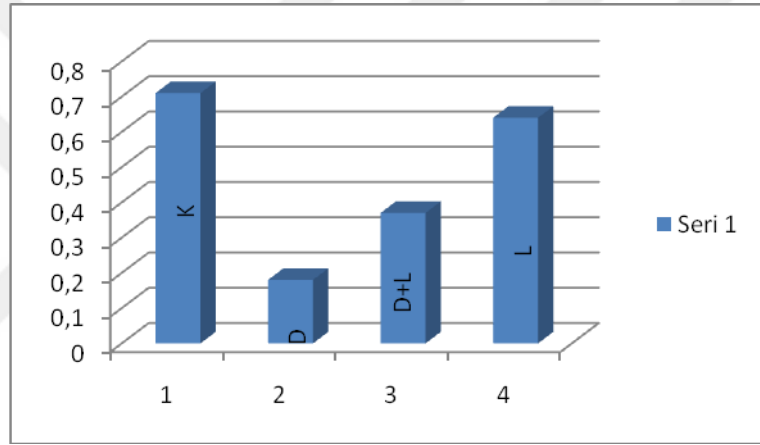
Şekil 16. Çalışma gruplarındaki ortalama α_1 -globulin (%) düzeylerinin karşılaştırılması



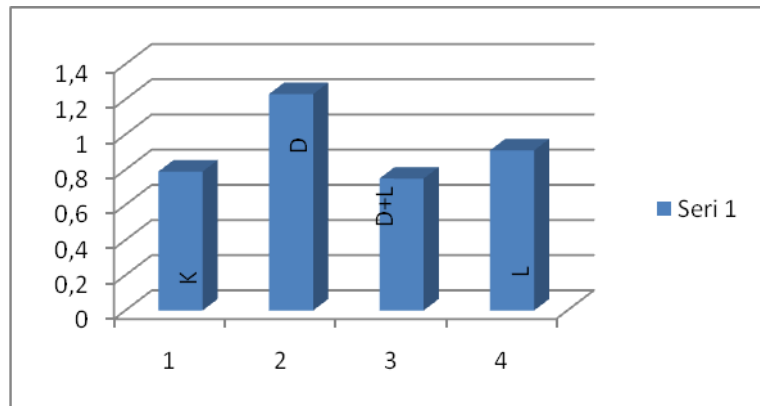
Şekil 17. Çalışma gruplarındaki ortalama α_2 -globulin (%) düzeylerinin karşılaştırılması



Şekil 18. Çalışma gruplarındaki ortalama β -globulin (%) düzeylerinin karşılaştırılması



Şekil 19. Çalışma gruplarındaki ortalama γ -globulin (%) düzeylerinin karşılaştırılması



Şekil 20. Çalışma gruplarındaki ortalama A/G oranlarının karşılaştırılması

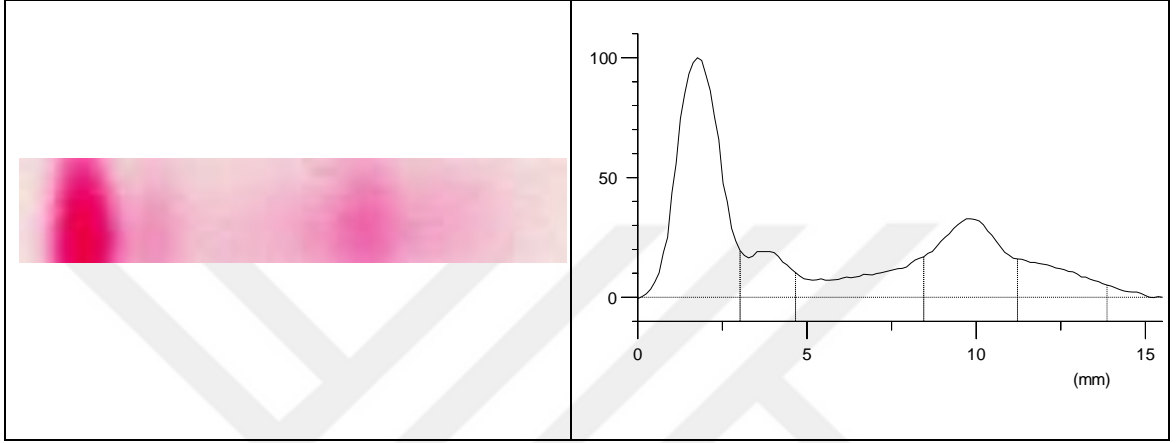
Serum protein fraksiyonlarının total protein içindeki yüzdelerinin değerlendirilmesi sonucunda elde edilen veriler Tablo 7 de özetlendi. Bu bakımdan yapılan karşılaştırmada, deneme grupları arasında nisbeten farklılıklar olmasına rağmen, istatistiksel olarak önemli bir fark saptanamadı. Bununla birlikte özellikle A/G oranının diyabetli grupta diğer bütün gruplardan önemli oranda artmış olduğu belirlendi.

Tablo 7. Protein fraksiyonlarının % g değerleri

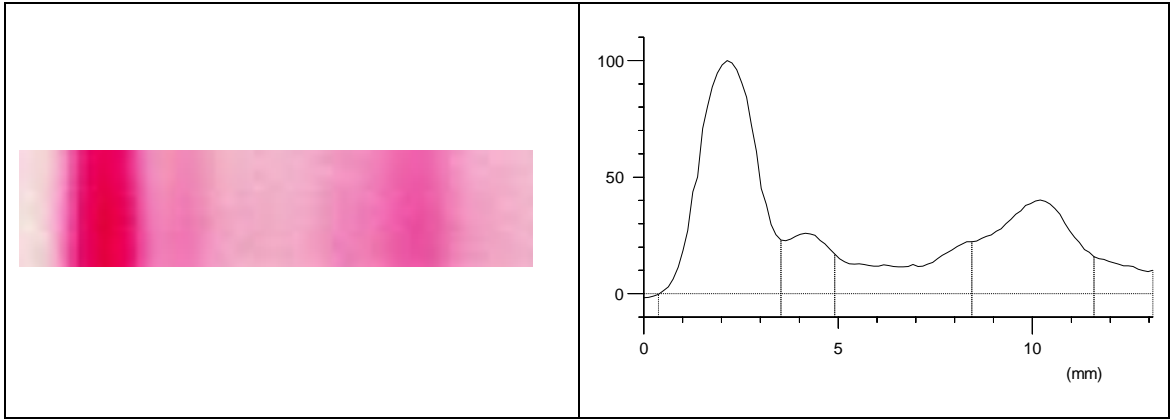
Parametreler (%)	Kontrol Grubu	Diyabet Grubu	Diyabet+ Likopen Grubu	Likopen Grubu
Albumin(% g)	10.76±0.92	8.89±3.23	10.45±1.76	9.54±2.21
α_1 -globulin(% g)	12.55±1.62	11.10±4.09	14.21±2.09	13.83±4.15
α_2 -globulin (% g)	23.02±3.79	22.45±5.42	22.22±4.59	21.94±3.03
β -globulin(% g)	10.28±2.67	8.95±1.75	10.68±2.81	8.49±2.09
A/G	0.78±0.06a	1.19±0.16b	0.75±0.06a	0.89±0.09a

Farklı harfler arasında $p < 0.05$ oranında fark var.

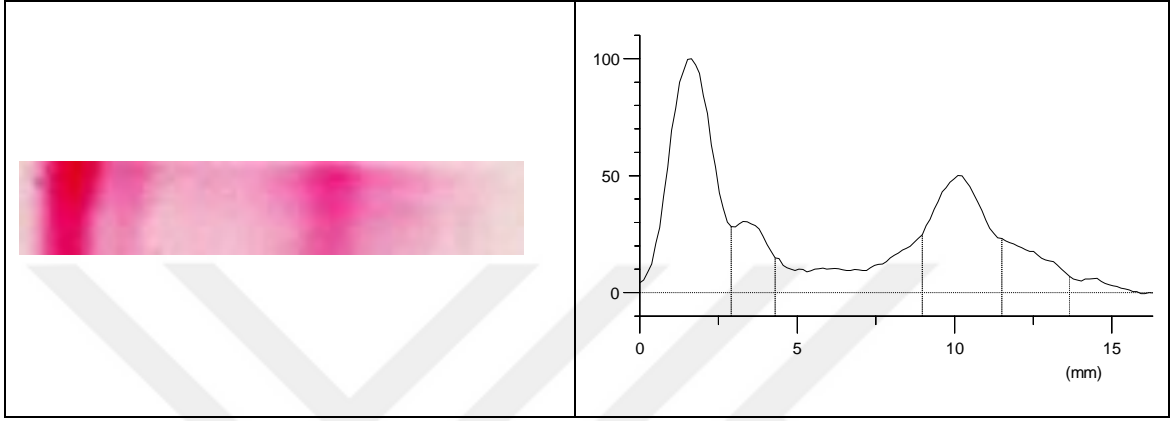
Kontrol, Diyabet, Diyabet+ Likopen ve Likopen gruplarında saptanan serum protein fraksiyonlarının elektroforetik bant görüntüsü ve elektroferogramları Şekil 21-24 te sunuldu.



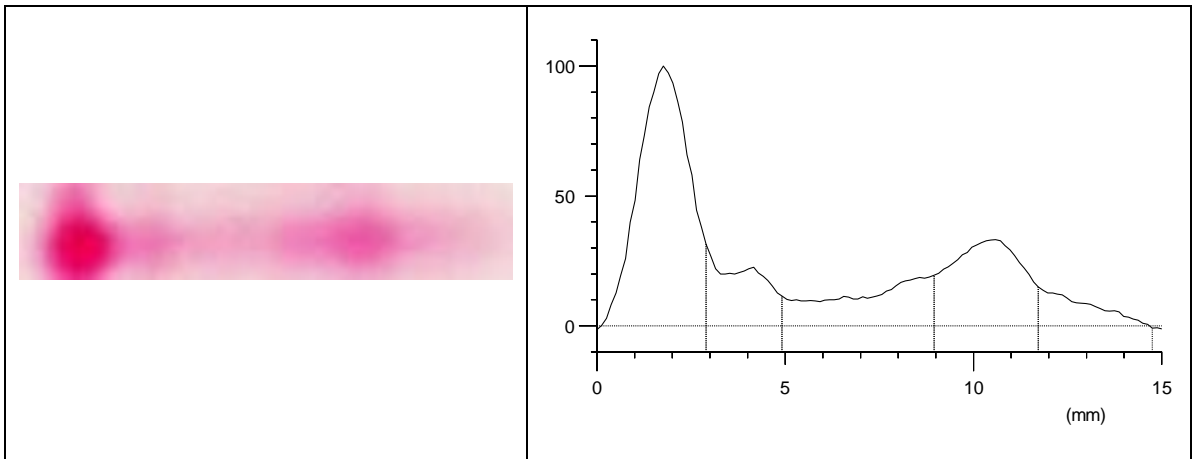
Şekil 21. Kontrol grubu bant görüntüsü ve elektroferogram



Şekil 22. Diyabet grubu bant görüntüsü ve elektroferogram.



Şekil 23. Diyabet+likopen grubu bant görüntüsü ve elektroferogram.



Şekil 24. Likopen grubu bant görüntüsü ve elektroferogram

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Diyabetes mellitus, pek çok organda insülin direnci ve göreceli insülin eksikliği ile karakterize karmaşık bir hastalıktır. Başlıca nedenleri arasında, insülin direnci ve beta-hücre disfonksiyonu/apoptozis de vardır. Diyabetes mellitusa bağlı olarak zaman içinde ortaya önemli komplikasyonlar çıkmaktadır (Chu ve Leung, 2009).

Yapılan pek çok çalışma, oksidatif stresin tip 2 diyabet ve komplikasyonlarının patogeneğinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Karotenoidler grubundan çok güçlü bir antioksidan olan likopen ise, oksidatif strese bağlı kronik hastalıkların önlenmesinde potansiyel rolünden dolayı, son yıllarda oldukça ilgi çekmektedir (Narisawa ve ark., 1998; Giovannucci, 1999; Dorgan ve ark., 2000; Erhardt ve ark., 2003; Li ve ark., 2010). Likopen, hücreleri serbest radikal hasarından korumasının yanı sıra, hücreler arasındaki bağları güçlendirmekte ve hücre metabolizmasını geliştirmektedir (Boileau ve ark., 2001; Mashima ve ark., 2001).

Li ve ark. (2010), diyabetik hastalarda serum likopen düzeylerini araştırdıkları çalışmada; diyabetik grupta likopen düzeylerinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu, korelasyon analizinde HbA1c ve serum likopen düzeyleri arasında negatif bir korelasyon bulunduğunu bildirmektedirler. Ayrıca diyabetik hastalarda, özellikle ilerlemiş diyabetik retinopatili olanlarda, serum likopen düzeylerinin anlamlı olarak düşük bulunduğu görüldü. Bu verilere dayanarak, likopenin diyabetik retinopatinin tanı, şiddeti ve tedavi değerlendirilmesi için yararlı olabileceği iddiası ortaya konuldu.

Aralarında likopenin de bulunduğu serum karotenoidleri, tip 2 diyabet ile yakından ilgilidir. Glukoz metabolizması ve serum karotenoid düzeylerinin, glukoz tolerans anormalliklerine bağlı olarak lineer bir azalma gösterdiği bildirilmektedir (Coyne ve ark., 2005).

Shidfar ve ark. (2011), tip 2 diyabetli hastalarda domates tüketiminin, serum glukoz apolipoprotein (apo) B, apoA-I ve kan basıncı üzerinde etkilerini değerlendirdikleri çalışmada, sistolik ve diyastolik kan basıncında anlamlı düşüşler ve aynı zamanda apoA-I önemli bir artış olduğunu saptadılar. Buna göre, diyabetik

hastalarda, kardiyovasküler komplikasyon riskinin azaltılmasında likopen zengin domates tüketiminin faydalı olabileceğini ileri sürdüler.

Ali ve Agha (2009), deneysel olarak streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulan sıçanlarda, farklı dozlarda likopen uygulanmasının, hipoglisemik, hipolipidemik ve antioksidan aktivite üzerine etkilerini incelediler. Normal grupla karşılaştırıldığı zaman, STZ grubunda total antioksidan aktivite azalırken, plazma hidrojen peroksit ve tiyobarbitürik asit reaktif maddelerin (TBARS) arttığı görüldü. Hiperglisemik ratlara likopenin kademeli dozlarda eksojen uygulanması ile glukoz düzeyinin doza bağımlı olarak bir azalma eğiliminde olduğu ve toplam antioksidan kapasitenin ise artmasına neden olduğu ortaya konuldu. Bu verilere dayanarak, likopenin serbest radikal düzeylerini düşüren ve normal seviyeye ulaştıran, serum prooksidan/antioksidan dengesi üzerinde düzeltici etkiye sahip, bir antidiyabetik ajan olduğu değerlendirildi.

Kuhad ve ark, (2008a), streptozotosin (STZ) ile deneysel diyabet oluşturulan ratlarda, hiperaljezi ve soğuk alodini üzerinde likopenin etkisini araştırmak amacıyla, 4 hafta süreyle likopen uyguladıkları çalışmanın sonucunda, soğuk alodini ve termal hiperaljezinin hafiflediğini gözlemlediler. DM'un önemli bir mikrovasküler komplikasyonu olan diyabetik nöropatik ağrının, tedavisi en zor türlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Diyabetik nöropati tedavisinde, adjuvan tedavi olarak likopen gibi antioksidanların önemini bildirdiler.

Bu tez çalışmasında, kan glukoz değerlerinin deneysel diyabet oluşturulan grupta ($p<0.05$) en yüksek olduğu, diyabet oluşturulduktan sonra likopen uygulanan grupta ise önemli ($p<0.05$) oranda düştüğü görüldü. Bununla birlikte, kontrol ve sadece likopen uygulanan gruplara göre ise halen yüksek ($p<0.05$) olduğu saptandı. Kontrol ve likopen gruplarının kan glukoz düzeyleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

Aynı şekilde bu araştırmada, %HbA1c düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesinden elde edilen sonuçlar ise kan glukoz düzeyleri için belirlenen sonuçlarla uyumlu bulundu. %HbA1c düzeylerinin diyabetli grupta en yüksek ($p<0.05$), diyabet+likopen uygulanan grupta önemli oranda düşmekle birlikte ($p<0.05$), kontrol ve likopen grubundan daha yüksek ($p<0.05$) olduğu saptandı. Kan glukoz ve %HbA1c

düzeylelerine bakarak, deneysel diyabet oluşturulan ratlarda, likopen uygulanmasının, bozulmuş olan glukoz metabolizması üzerinde yararlı etkilerinin olabileceği sonucuna varmak mümkündür. Bu veriler, diyabetik komplikasyonların tedavisi ve profilaksisinde likopen uygulanmasının, antioksidan kapasiteyi artırarak etkili olduğuna dair (Kuhad ve ark, 2008b; Li ve ark., 2010) bilgileri desteklemektedir.

Serum proteinleri, fizyolojik, beslenme, cinsiyet, çevresel ve genetik etkenlerden kolayca etkilenir. Malnütrisyon veya ağır protein kaybı olgularında hipoproteinemi gelişmesine bağlı olarak, tüm bantlarda azalma izlenmekle beraber, en belirgin azalma albüminde görülür. Protein kaybedilen enteropatiler ve nefropatilerde de albümin, α_1 , β ve γ -globülin düzeyleri azalır. Kronik hepatosellüler bozuklukta plazma albümini azalmasına rağmen, akut karaciğer hastalıklarında plazma albümininde düşüş yoktur ya da çok azdır (Erdal, 1987; Karagül ve ark., 2000; Onat ve ark., 2002; Anonim 14).

Portal fibroz ve karaciğer sirozu olgularında albümin sentezinin azalması ve kaybının artmasına bağlı olarak serumdaki konsantrasyonu da azalmaktadır (Erdal, 1987; Karagül ve ark., 2000; Onat ve ark., 2002; Anonim 14).

Bu tez çalışmasında, total protein düzeylerinin diyabet ve diyabet+likopen gruplarında, kontrol ve likopen verilen gruplar ile karşılaştırıldığı zaman önemli oranda ($p<0.05$) düşük olduğu saptandı. Diyabet ve D+L grubu ve kontrol ve likopen verilen grupların kendi aralarında ise önemli fark olmadığı saptandı. Özellikle diyabet grubunda görülen azalmanın literatürler ile uyumlu olduğu görülmektedir. Buna mukabil likopen verilen diyabetli grupta herhangi önemli bir farklılığın olmaması da dikkat çekmektedir.

Streptozotosin ile deneysel diyabet oluşturulan ratlarda serum proteinlerindeki elektroforetik değişikliklerin araştırıldığı çalışmada, kontrol grubuna göre diyabetli deneme grubunun total serum proteinleri düzeyinde azalma ve bazı protein bantlarında kaybolma saptandığı bildirilmektedir. Bu durumun, hemostaz ve pıhtılaşmayı sağlayan ve bağışıklıkta rol oynayan bu proteinlerin diyabetin patolojisi ve komplikasyonlarındaki ilişkiyi açıklaması bakımından önemli olduğunun önemine vurgu yapılmaktadır (Kafa, 2006).

Kandaki albuminin, kan ve diğer dokular arasındaki sıvı dengesinin özeliğini korumak dahil olmak üzere çeşitli fonksiyonları vardır. Malnütrisyon, ağır protein kaybı, ağır açlık, ilerleyen kronik hastalıklarda albüminde azalmaya olur. Albümindeki azalma γ fraksiyonundaki immunglobülinlerin artışı ile dengelenmektedir (Erdal, 1987; Karagül ve ark., 2000; Onat ve ark., 2002; Anonim 15).

Albümin kan plazmasında en çok bulunan proteinlerden biridir ve diyabetlilerde yoğun bir şekilde glukozillenmektedir (Bhonsle ve ark., 2012). Tip 2 diyabetli bireylerde (Riaz ve ark., 2010) ve diyabetes mellituslu köpeklerde (Broek, 1992) albümin düzeylerinin yükseldiği bildirilmesine rağmen, streptozotosin ile deneysel diyabet oluşturulan ratlarda kontrol grubuna göre diyabetli deneme grubunun albumin miktarında düşüş olduğu ortaya konulmuştur (Kafa, 2006).

Ancak, Bhonsle ve ark., (2012) diyabetik farelerde ve klinik plazma örneklerinde albümin seviyelerini araştırdıkları çalışmada; diyabetik yüksek albumin plazma (DHAP=diabetic high albumin plasma) ve diyabetik düşük albümin plazma (DLAP=diabetic low albumin plasma) olmak üzere plazma albüminin azalma farklılıklarına bağlı olarak, iki farklı albümin seviyesi belirlemişlerdir. Düşük albümin seviyelerinin; plazma protein glikasyonun artması ve diğer plazma proteinleri ile albümin rekabetiyle ilişkili olduğu ileri sürülmüştür.

Sunulan bu çalışmada ise albümin düzeylerinin diyabet (D) ve diyabet+likopen (DL) grupları ile kontrol ve likopen gruplarının kendi aralarında istatistiksel olarak farklılık göstermemekle beraber, D ve DL gruplarının diğer gruplara göre önemli derecede azalmış ($p<0.05$) olduğu ortaya konuldu. Total protein içindeki %lik albümin oranı bakımından yapılan istatistiksel analizde ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi. Bu sonuçların diyabette albümin düzeylerinin azaldığını bildiren literatür verileri ile uyumlu olduğu dikkat çekmektedir. Bununla birlikte diyabet+likopen grubundaki albümin değerinin diyabetten farklı bulunamaması, likopen uygulanmasının kan albümin düzeyine doğrudan önemli bir etkisi olmadığını göstermektedir.

Böbreklerin en önemli işi kan dolaşımında oluşan suyu ve üretilen proteinleri filitrelemek ve kandaki potasyum ve sodyumun dengesini sağlamak ve bütün bunları

korumaktır. Diyabetik böbrek hastalığı olan insanların idrarlarında albüminin varlığı, böbreğe ait komplikasyonların takibi açısından önemlidir (Anonim 14).

Normal bir insan idrarında hergün ortalama 25 mg'dan daha az miktarda albumin bulundurulur. Diyabetik böbrek hastalığının ilk evrelerinde, kandan oldukça çok miktarda albumin geçmekte ve mikroalbuminuria olarak bilinen durum ortaya çıkmaktadır. Mikroalbuminurialı bir kişinin idrarında ise 30-300 mg arasında albumin bulunur. Beş veya daha fazla yıldır diyabet olan insanlarda microalbuminuria görülmesi normaldir (Jung ve ark., 2011; Anonim 14).

Bununla birlikte Hosoba ve ark., (2009), diyabetik hastalarda mikroalbuminurinin gelişmesinden önce bazı plazma proteinlerinin, örneğin IgG , transferin (β – Globülinler) ve seruloplazminin (alfa2 – Globülinler) üriner ekstraksiyonunun oranlarının yükseldiğini ve normoalbuminurik diyabetik hastalarda albuminuriden daha yoğun şekilde glomeruler kapiller basınç değişimine yol açtığını bildirmektedirler.

Serum proteinlerinin diğer önemli bölümünü oluşturan globülinler dört ana grupta toplanmaktadır. Birinci grup Alfa 1 globulinler; α_1 - antitripsin, α_1 - asit glikoprotein, α_1 - lipoprotein (Apolipoprotein A), α_1 -fetoprotein (AFP) dir. Globulinlerin dehidratasyon, ateşli hastalıklar, malnutrisyon, multiple miyeloma, kollojen doku hastalıkları, akut ve kronik enfeksiyonlar, metastatik karsinomlarda artmaktadır (Turgut, 2000). Serum globülin düzeyleri, karaciğer hastalıklarının tayininde önemli olan diğer testlerle birlikte bilgi verebilir. Akut ve kronik karaciğer hastalıkları, kronik enfeksiyonlar, akut diffüz glomerülonefrit, sarkoidoz, karsinom ve otoimmün hastalıklarda, serum globülin fraksiyonu artar. Karaciğer hastalıklarında özellikle β -globülin fraksiyonunda belirgin bir artış gözlenir. Tüm immunglobülinleri kapsayan γ globülin fraksiyonundaki artma ve yavaş β Hipogammaglobülinemia (HGG) hastalığına sebebi düşük seviyedeki gamma globülin bölgesine uzanan IgA artışı, β - γ köprüleşmesi olarak adlandırılmaktadır (Erdal, 1987; Karagül ve ark., 2000; Onat ve ark., 2002; Anonim 15).

Alfa 1 globulin düzeyleri bu çalışmada, diyabet ve diyabet+likopen gruplarında kontrol ve likopen verilen gruplarına göre önemli oranda ($p<0.05$) azalmış olarak

belirlendi. Diyabet ve D+L grubu ve kontrol ve likopen verilen grupların kendi aralarında ise önemli fark olmadığı saptandı. Total protein içindeki %lik oran olarak ise tüm globülin fraksiyonları bakımından gruplar arasında istatistiksel önem saptanamadı.

Ağır açlık durumlarında veya ilerleyen kronik hastalıklarda alfa1 ve alfa2 bantlarında yer alan; α 1-antitripsin, α 2-makroglobülin, haptoglobülin ve C3 proteinlerinin azaldığı bildirilmektedir. Protein kaybedilen enteropatilerde ve nefropatilerde tüm bantlarda sentez azalmasına veya kaybın artmasına bağlı olarak soluklaşma görülür. Sirozda alfa-globülin konsantrasyonları serum lipoproteinindeki artışa bağlı olarak yükselir. Normalde bulunmayan bantların görünür hale gelmesi ise değişik klinik durumlarda gözlenmektedir. Albümin ile alfa1 bandı arasında belirecek soluk bir bant, bazı kötü huylu tümörlerde serumda artan α 1-fetoproteine bağlıdır (Erdal, 1987; Karagül ve ark., 2000; Onat ve ark., 2002; Anonim 15).

Alfa 2 fraksiyonlarını temsil eden bant yoğunluğu, diyabet ve diyabet+likopen gruplarında kendi arasında fark göstermemesine rağmen, kontrol ve likopen verilen gruplara kıyasla önemli oranda ($p<0.05$) düşük bulundu.

Protein kaybedilen enteropatilerde, alfa2 bandında artış izlenmektedir (Erdal, 1987; Karagül ve ark., 2000; Onat ve ark., 2002; Anonim 1). Diabetes mellituslu köpeklerde (Broek, 1992) ve diyabetlilerde alfa2 makroglobülin ve seruloplazmin (α_2 – Globülinler) (Majewski ve ark., 1981) düzeylerinin önemli ölçüde yükseldiği bildirilmiştir. Alfa2 –globülinler arasında yer alan α_2 -makroglobülin, haptoglobülin, serüloplazmin; diyabetin yanı sıra pek çok metabolik durumdan önemli oranda etkilenmektedirler. Başlıca karaciğerde sentezlenen seruloplazmin, aynı zamanda inflamasyon ve doku hasarı gibi durumlarda ılımlı yanıt gösteren bir akut faz proteindir. Aynı zamanda bir antioksidan olarak da kabul edilmektedir. Seruloplazmin düzeylerinin, çoklu kardiyovasküler bozukluğu olan hastalarda ve myokard infarktüsünde arttığı gösterilmiştir (Güngör ve ark., 2004). Diyabetik ratlarda plazmanın seruloplazmin seviyelerinde önemli bir artış gözlemlendiğini bildiren çalışmalar mevcuttur (Chacko ve Cheluvappa, 2009; Narendhirakannan ve Subramanian, 2010; Nowak ve ark., 2010). Bu bulguların, diyabete bağlı olarak oksidatif stres ve inflamatural durumların artığının güçlü bir işareti olarak kabul edilmektedir (Chacko ve Cheluvappa, 2009).

Haptoglobin (Hp) hem indüklenmesi, oksidatif stres ve böbrek hasarına karşı koruma sağlayan, serbest plazma hemoglobini ile kararlı kompleks oluşturan, genetik poliformik bir glikoproteindir (Wobeto ve ark., 2009; Blum ve ark., 2010). Haptoglobülin, hemoliz arttığında (hemolitik anemi) düşer ve serbest haptoglobin tespit edilemez. Akut enfeksiyonlarda ve travmayı takiben plazmada haptoglobin artar. Nefrotik sendromda da artış gösterir. Aktif hemoliz sonucu haptoglobülin eksikliği olan kişilerde α -2 veya β bölgelerine göçen bağımsız bir hemoglobin bandı izlenmektedir. (Erdal, 1987; Karagül ve ark., 2000; Onat ve ark., 2002; Anonim 15).

Haptoglobin, yaygın olarak Hp1-1, Hp2-1 ve Hp2-2 olmak üzere üç tane insan tipi polimorfizme sahiptir (Ryndel ve ark., 2010; Goldenberg-Cohen ve ark., 2011). Haptoglobin genotipi diyabet morbiditelerinde bir çift gen rol oynayabilir. Hp1-1 koruyucu ve Hp2-2 uyarıcı rolü vardır. Hp1-1 diyabetlilerin başlamasını geciktirmekle ilişkili iken diyabet hastaları arasında, Hp2-2 kardiyovasküler hastalık geliştirme riski ile ilişkilendirilmiştir (Blum ve ark., 2010; Ryndel ve ark., 2010; Goldenberg-Cohen ve ark., 2011). Ayrıca, diyabetik ratlarda serum haptoglobülin düzeylerinin artması virüs enfeksiyonlarının başladığını gösteren bir parametredir (Kruger ve ark., 2010).

Son çalışmalarda diyabetik hastalarda mikroalbuminurinin gelişiminde haptoglobülin fenotipinin kalıtsal bir etkisinin olduğu belirtilmesine rağmen, Hp fenotipleri ve diyabetik nefrotinin belirtileri arasında bir ilişki olmadığı gösterilmiştir (Bessa ve ark., 2007; Dayan ve ark., 2009; Wobeto ve ark., 2009). Bunun yanı sıra Hp genotipinin Tip 2 diyabette retinopatinin gelişmesinde yada kötüleşmesinde herhangi bir rolü yoktur (Goldenberg-Cohen ve ark., 2011).

Riaz ve ark., (2010), α_2 -globülinler arasında yer alan haptoglobülin düzeylerinin Tip 2 diyabetli bireylerde azaldığını ve bu protein belirteçlerinin seviyelerinin değerlendirilmesinin, sadece erken teşhiste değil aynı zamanda hastalığın prognozunun erken teşhisinde faydalı olacağını ileri sürmektedirler.

Sunulan bu çalışmada, alfa2 globülin düzeylerinin diyabet ve diyabet+likopen gruplarında daha düşük bulunmasının, bu bantı oluşturan seruloplazminin artmasına karşın, haptoglobülinin azalmasının baskın olmasından kaynaklandığı düşünülebilir. Nitekim bu bilgi literatür verileri ile uyumludur.

Protein kaybedilen nefropatilerde β ve γ -globülinlerde azalma görülür. Sirozda β -globülin konsantrasyonları serum lipoproteinindeki artışa bağlı olarak yükselir (Erdal, 1987; Karagül ve ark., 2000; Onat ve ark., 2002; Anonim 15).

Bu çalışmada, Beta globulin fraksiyonlarının da diyabet ve diyabet+likopen gruplarında kontrol ve likopen verilen gruplardan önemli oranda ($p<0.05$) düşük olduğu görüldü.

Gama (γ)-globülinler olarak gruplandırılan immunoglobülinler; Ig A, Ig M, Ig G, Ig D, Ig E olmak üzere adlandırılmaktadırlar. Serum protein fraksiyonlarının değerlendirilmesinde, albümindeki azalma γ fraksiyonundaki immunoglobülinlerin artışı ile dengelenmektedir. Portal fibrozda karakteristik değişiklik genellikle serum albümin düzeyinde düşüş ve γ -globülindeki artış şeklindedir. Protein kaybedilen nefropatilerde γ -globülinlerde azalma görülür. Sirozda serum γ -globülin artışı hafiftir. Portal fibrozda karakteristik değişiklik; genellikle serum albümin düzeyinde düşüş ve γ -globülindeki artış şeklindedir. Nefrotik sendrom, ağır malabsorpsiyon ve malnütrisyon, primer immun yetmezlik ve sekonder immun yetmezlik durumlarında serum γ -globülin fraksiyonu azalır (Erdal, 1987; Karagül ve ark., 2000; Onat ve ark., 2002; Anonim 15).

Diyabetes mellituslu köpeklerde yapılan bir araştırmada γ globulin önemli oranda azaldığı bildirilmektedir (Broek, 1992). Diğer bir çalışmada ise Lindsay ve ark. (2001), Tip 2 diyabetli bireylerde yüksek gamma globülin seviyelerinin, diyabet riskinin habercisi olduğunu ve Tip2 diyabetin gelişmesinde immun fonksiyon veya aktivasyonun bir rolü olabileceğini ileri sürmektedirler.

Likopen takviyesi, sitokin etkiyi azaltarak alerjik inflamasyonu sistematik olarak azaltmaktadır (Hazlewood ve ark., 2011). Likopenin serum konsantrasyonları ile immünoglobulin arasında önemli bir negatif korelasyon olduğu, bu durumun likopene bağlı muhtemel total antioksidan kapasitesi ve inhibe MDA-LDL oluşumunu artırarak T hücrelerine bağlı adaptif bağışıklık tepkisini önleyerek etkili olduğu düşünülmektedir (Neyestani ve ark., 2007b).

Bu çalışmada ise gama globülin düzeyi ise diyabet grubunda diğer bütün gruplardan daha düşük ($p<0.05$) bulundu. Likopen takviyesi yapılan diyabet grubunda

ise diyabet grubuna oranla gama globülin düzeylerinin anlamlı oranda arttığı tespit edildi. Ancak bu artışa rağmen, kontrol ve likopen gruplarına göre önemli oranda ($p<0.05$) düşük olduğu saptandı. Likopen uygulamasının literatür verilerine uygun olarak, diyabetik bireylerde immun sistemi desteklemek açısından önemli olduğu düşünülmektedir.

Diyabetin meydana getirdiği patolojik değişikliklere olan etkisi değerlendirildiğinde, serum proteinlerindeki azalma eğilimi ve bazı protein bantlarındaki kayıp diyabetin hemostazı sağlamada, immunizasyon üzerine ve pıhtılaşma faktörü üzerine etkilerinin var olduğu bunların patolojisinde açıklığa kavuşturulmasının gerekliliğini meydana çıkarmaktadır (Kafa, 2006).

Albümin/alfa2 –globülin oranının diyabetlilerde önemli ölçüde yüksek çıkmaktadır (Majewski ve ark., 1981). Aynı şekilde bu çalışmada da, serum protein fraksiyonlarının total protein içindeki yüzdeleri bakımından yapılan karşılaştırmada, deneme grupları arasında nispeten farklılıklar olmasına rağmen, istatistiksel olarak önemli bir fark saptanamadı. Bununla birlikte özellikle A/G oranının diyabetli grupta diğer bütün gruplardan önemli oranda ($p<0.05$) artmış olduğu belirlendi. Diyabet+likopen grubundaki değer, diyabete göre azalarak kontrol grubuna yakın bulundu. Sadece likopen verilen grupta ise bu oran diğer gruplara oranla önemli bir farklılık göstermedi.

Bu tez çalışmasının sonucunda, DL grubunda kan glukozu ve %HbA1c kontrol ve sadece likopen uygulanan gruplara göre artmış olmakla beraber, diyabet grubundan önemli oranda düşük olduğu belirlendi. Total protein, albümin, alfa 1, alfa 2 ve beta globülin fraksiyonlarının diyabet ve diyabet+likopen gruplarında kontrol ve likopen verilen gruplardan önemli oranda azalmasına rağmen, gama globulin düzeyinin likopen uygulanan diyabetik grupta diyabetik gruba önemli oranda yükseldiği saptandı. A/G oranlarının diyabet grubunda en yüksek olduğu, likopen uygulamasının bu oranı kontrol grubuna yaklaştırdığı görüldü.

Bu verilerin ışığında likopen uygulamasının; diyabete bağlı olarak artan A/G oranının likopen uygulamasına olumlu cevap vererek normal düzeye yaklaştığı, diyabetik bireylerde immun sistem üzerinde yararlı etkileri olabileceği, bu konunun ileri çalışmalarında daha detaylandırılarak araştırılmaya değer olduğu sonucuna varıldı.



ÖZET

Yüksek V, Likopen uygulanan deneysel diyabetli ratlarda serum protein fraksiyonlarının elektroforetik olarak saptanması. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van 2012. Bu çalışma, deneysel olarak diyabet meydana getirilen ratlarda, pro-enflamatuar ve antioksidan olarak koruyuculuğu bilinen likopen uygulanmasının, diyabete bağlı komplikasyonların saptanmasında önemli yeri olan serum proteinleri üzerine etkilerini ortaya koymak ve likopenin diyabet komplikasyonlarındaki olası rolünü araştırmak amacıyla planlandı. Diyabet oluşturmak için D ve DL grup ratlara 45 mg/kg tek doz streptozotosin (STZ) intraperitoneal (i.p) yoldan uygulandı. Kontrol grubuna ise aynı miktarda serum fizyolojik enjekte edildi. Kan şekerleri 270 mg/dl ve üzerinde olanlar diyabetik olarak kabul edilip çalışmaya dahil edildi. L ve DL grubundaki ratlara Likopen ayçiçeği yağında çözdürülerek 10 mg/kg/gün olarak uygulandı. Dört haftalık denemeden sonra toplanan kan örneklerinde glukoz, %HbA1c, serum protein fraksiyonları tespit edildi. Diyabet + likopen uygulanan grupta kan glukozu ve %HbA1c kontrol ve sadece likopen uygulanan gruplara göre artmış olmakla beraber ($p<0.05$), diyabet grubundan önemli oranda düşük ($p<0.05$) olduğu görüldü. Total protein, albümin, alfa 1, alfa 2 ve beta globülin fraksiyonlarının diyabet ve diyabet+likopen gruplarında kontrol ve likopen verilen gruplardan önemli oranda ($p<0.05$) düşük olduğu görüldü. Gama globulin düzeyi ise diyabet grubunda diğer bütün gruplardan daha düşük ($p<0.05$) bulundu. Diyabet+Likopen grubunda ise diyabete oranla bir miktar yükselmekle beraber yine de kontrol ve likopen gruplarından önemli oranda ($p<0.05$) azalmıştı. A/G oranları ise diyabet grubunda en yüksek olarak saptandı. Diyabet+likopen grubundaki değer, diyabete göre azalarak kontrol grubuna yakın bulundu. Serum protein fraksiyonlarının total protein içindeki yüzdeleri bakımından yapılan karşılaştırmada, deneme grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark saptanamadı.

Anahtar Sözcükler: Diabetes mellitus, serum protein fraksiyonları, likopen, HbA1c, rat, STZ

SUMMARY

Yüksek V, The Electrophoretical Determination of Serum Protein Fraction of Lycopene Treated Experimental Diabetic Rats. Yüzüncü Yıl University, Health Science Institute, Department of Biochemistry, MSci. Thesis, Van 2012. Lycopene has proinflammatory and antioxidant properties. This study was planned to determine the effects of lycopene treatment on electrophoretical determination of serum protein fraction of experimental diabetic rats. In order to create the diabetes in rats in group D and DL groups 45 mg / kg single dose streptozotocin (STZ) was administered intraperitoneally (i.p.). After dissolving in sunflower oil 10 mg of lycopene / kg / day was administered to the rats in group L and DL. Blood glucose levels and HbA1c% in Diabetes+Lycopene group increased ($p < 0.05$) compared to control and only lycopene treated group, whereas they were lower ($p < 0.05$) in diabetes group. Total protein, albumin, alpha 1, alpha 2 and beta globulin fractions of diabetic and diabetic+lycopene groups were lower than control and lycopene groups ($p < 0.05$). Diabetic groups had lowest gama globulin levels between other groups ($p < 0.05$). The gama globulin levels was slowly increased than diabetic groups, but, it was still lower than control and lycopene groups ($p < 0.05$). The highest value of A/G ratio was observed in diabetic group. Similarly the %levels of A/G ratio of diabetic group was higher than other groups. It was noted that the A/G ratio was decreased and reached to control groups levels after lycopene treatment.

Key words: Diabetes mellitus, serum protein fractions, lycopene, HbA1c, rats, STZ

KAYNAKLAR

- ADA (American Diabetes Association) (2008). Standards of medical care in diabetes. *Diabet Care*, 31 (Suppl 1), s: 12-54.
- ADA (American Diabetes Association) (2011). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 34 (suppl. 1), 62-69.
- Adkins JN, Varnum SM, Auberry KJ, Moore RJ, Angell NH, Smith RD, Springer DL, Pounds JG (2002). Toward a human blood serum proteome: Analysis by multidimensional separation coupled with mass spectrometry. *Mol Cell Proteomics*, 1, 947-955.
- Ali MM, Agha FG (2009). Amelioration of streptozotocin-induced diabetes mellitus, oxidative stress and dyslipidemia in rats by tomato extract lycopene. *Gouranton J Nutr Biochem*, 69 (3), 371-379.
- Anguelova T, Warthesen J (2000). Lycopene stability in tomato powders. *J Food Sci*, 65, 67-70.
- Anonim 1. http://www.daviddarling.info/encyclopedia/I/islets_of_Langerhans.html. Erişim tarihi: Őubat/2011.
- Anonim 2. <http://bodymindspiritintegration.com/wp-content/uploads/2010/01/pancreas.jpg>. Ocak/2010
- Anonim 3. <http://www.chem.uwec.edu/Chem406/Webpages/Ying/overview.htm>. Erişim tarihi: Őubat/ 2011
- Anonim 4. http://www.mun.ca/biology/scarr/Insulin_posttranslational_modification.htm. Erişim tarihi: Ocak/2011
- Anonim 5 [http://www.bio.davidson.edu/Courses/Molbio/MolStudents/spring2005/Dresser/My %20 favorite %20 Protein. html](http://www.bio.davidson.edu/Courses/Molbio/MolStudents/spring2005/Dresser/My%20favorite%20Protein.html). Erişim tarihi: Őubat/2011
- Anonim 6. http://www.biology.arizona.edu/cell_bio/problem_sets/signaling/01t.html. Erişim tarihi: Ocak 2011
- Anonim 7:<http://gardenrain.wordpress.com/2009/11/page/2/>. Erişim tarihi: Kasım 2009
- Anonim 8. <http://pro2services.com/Lectures/Winter/Proteins/indexpr.htm>. Erişim tarihi: Nisan 2011.
- Anonim 9. <http://www.mailce.com>. Erişim Tarihi:Mayıs 2010
- Anonim 10. <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/56-1-1-03.ppt> (2004). Erişim Tarihi: Ocak 2010
- Anonim 11. <http://www.webmd.com/a-to-z-guides/serum-protein-electrophoresis-spe?page=3>. Erişim tarihi: Nisan 2011
- Anonim 12. <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/89-2-05>. Erişim Tarihi: 2010

Anonim 13. http://www.xtend-life.com/product/Omega_3_DHA_Fish_Oil_Premium.aspx. Erişim tarihi: Ocak 2011

Anonim 14. This article was written by Robert S. Dinsmoor, a Contributing Editor of Diabetes Self-Management. <http://www.diabetesselfmanagement.com/Articles/Diabetes-Definitions/albumin/> Updated May 18, 2006. Erişim tarihi: Ocak 2011

Anonim 15. http://www.diabetclub.com/diabet/diab_tarihce.htm. Erişim tarihi: Kasım 2009

Bağrıaçık N (1997). İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Diyabetes Mellitus Sempozyumu, İstanbul, s: 9-18.

Bast A, Haenen GR, Van Den Berg R, Van Den Berg H (1998). Antioxidant effects of carotenoids. *Int J Vitam Nutr Res*, 68, 399–403.

Bayşu Sözbilir N, Bayşu N (2008). Biyokimya Güneş Kitabevi, Ankara. s:354-357.

Bessa SS, Hamdy SM, Ali EM (2007). Haptoglobin gene polymorphism in type 2 diabetic patients with and without nephropathy: An Egyptian study. *Eur J Intern Med*, 18 (6), 489-495.

Beşeoğlu N (2002). Serum proteinlerinin iki boyutlu elektroforez ile ayrılması, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.

Bhonsle HS, Korwar AM, Kote SS, Golegaonkar SB, Chougale AD, Shaik ML, Dhande NL, Giri AP, Shelgikar KM, Boppana R, Kulkarni MJ (2012). Low plasma albumin levels are associated with increased plasma protein glycation and HbA1c in diabetes. *J Proteome Res*, 11 (2), 1391-1396.

Blum S, Vardi M, Brown JB, Russell A, Milman U, Shapira C, Levy NS, Miller-Lotan R, Asleh R, Levy AP (2010). Vitamin E reduces cardiovascular disease in individuals with diabetes mellitus and the haptoglobin 2-2 genotype. *Pharmacogenomics*, 11 (5), 675-684.

Boileau TW, Clinton SK, Zaripheh S, Monaco MH, Donovan SM, Erdman JW Jr (2001). Testosterone and food restriction modulate hepatic lycopene isomer concentrations in male F344 rats. *J Nutr*, 131 (6), 1746-1752.

Borodaco A (2007). Classification and diagnosis of Diabetes. *Terapia*, 15, 6-11.

Brazionis L, Rowley K, Itsiopoulos C, O'Dea K (2009). Plasma carotenoids and diabetic retinopathy. *Br J Nutr*, 101 (2), 270-207.

Broek, AHM van den (1992). Serum protein values in canine diabetes mellitus, hypothyroidism and hypoadrenocorticism. *BVA Journal*, 148 (3), 259-262.

Brownlee M, Hirsch IB (2006). Glycemic variability: A hemoglobin A1c-independent risk factor for diabetic complications. *JAMA*, 295 (14), 1707-1708.

Busher JT (1990). Serum Albumin and Globulin. Clinical Methods: The history, physical, and laboratory examinations. 3rd edition. Editors: Walker HK, Hall WD, Hurst JW Boston, Butterworths, Chapter 101.

- Ceriello A (1997). Fibrinogen and diabetes mellitus: Is it time for intervention trials?, *Diabetologia*, 40, 731–734
- Chacko SK, Cheluvappa R (2010). Increased ceruloplasmin and fibrinogen in type 2 diabetes corresponds to decreased anti-oxidant activity in a preliminary tertiary South Indian hospital study. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 118 (1), 64-67.
- Chu KY, Leung PS.(2009). Angiotensin II in type 2 diabetes mellitus. *Curr Protein Pept Sci*, 10 (1), 75-84.
- Coyne T, Ibiebele TI, Baade PD, Dobson A, McClintock C, Dunn S, Leonard D, Shaw J (2005). Diabetes mellitus and serum carotenoids: findings of a population-based study in Queensland, Australia. *Am J Clin Nutr*, 82 (3), 685-693.
- Dayan L, Levy AP, Blum S, Miller-Lotan R, Melman U, Alshiek J, Jacob GJ (2009). Haptoglobin genotype and endothelial function in diabetes mellitus: a pilot study. *Eur J Appl Physiol*, 106 (4),639-644.
- Dede S (1999a). Hormonlar . Biyokimya, Y.Y.Ü. Vet. Fak.Yayımları, Van (Ed. Mert N). s: 146-177.
- Dede S (1999b). Vitaminler . Biyokimya, Y.Y.Ü. Vet. Fak.Yayımları, Van (Ed. Mert N). s: 178-194.
- Dorgan JF, Sowell A, Swanson CA, Potischman N, Miller R, Schussler N, Stephenson HE Jr (2000). Dose-response effects of lycopene on selected drug-metabolizing and antioxidant enzymes in the rat. *Cancer Lett*, 154, 201-210.
- Erdal ME (1987). Kanserli serum proteinleri düzeyinin ve bazı haptoglobulin tipleri sıklığının Gel Disk Elektropherez yöntemi ile araştırılması (Doktora Tezi). Dicle Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır.
- Erdoğan G (2005). Endokrinoloji Temel ve klinik, diyabetes mellitus'ta Sınıflandırma, 343.
- Erhardt JG, Meisner C, Bode JC (2003). Lycopene, beta-carotene and colorectal adenomas. *Am J Clin Nutr*, 78, 1219-1224.
- Fairbanks VF, Klee GG (1994). Biochemical Aspects of Hematology. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry Second edition. Edited by CA Burtis&ER Ashwood, W. B. Saunders Company Philadelphia, 1974-2072
- Fowler GC, Vasudevan DA (2010). Type 2 diabetes mellitus: managing hemoglobin A(1c) and beyond. *South Med J*, 103 (9), 911-916.
- Giovannucci E (1999). Tomatoes, tomato-based products, lycopene and cancer, review of the epidemiologic literature. *J Natl Cancer Inst*, 91, 317-331.
- Goldenberg-Cohen N, Gabbay M, Dratviman-Storobinsky O, Reich E, Axer-Siegel R, Weinberger D, Gabbay U (2011). Does haptoglobin genotype affect early onset of diabetic retinopathy in patients with type 2 diabetes? *Retina*, 31 (8), 1574-1580.

- Güngör Ö, Sunar B, Özçelik F, Aktaş Z, Süer Gökmen S (2004). Akut myokard infarktüsünde sialik asit düzeyleri ve seruloplazmin ile ilişkisi. *Türk Biyokimya Derg*, 29 (3), 226-231.
- Hazlewood LC, Wood LG, Hansbro PM, Foster PS (2011). Dietary lycopene supplementation suppresses Th2 responses and lung eosinophilia in a mouse model of allergic asthma. *J Nutr Biochem*, 22 (1), 95-100.
- Hermansen K (2000). Diet, blood pressure and hypertension. *Br J Nutr*, 83 (suppl 1), 113-119.
- Hosoba M, Fujita H, Miura T, Morii T, Shimotomai T, Koshimura J, Yamada Y, Ito S, Narita T (2009). Diurnal changes in urinary excretion of IgG, transferrin, and ceruloplasmin depend on diurnal changes in systemic blood pressure in normotensive, normoalbuminuric type 2 diabetic patients. *Horm Metab Res*, 41 (12), 910-915.
- Jacobs JM, Adkins JN, Qian WJ, Liu T, Shen Y, Camp II DG, Smith RD (2005). Utilizing human blood plasma for proteomic biomarker discovery. *J Proteome Res*, 4 (4), 1073-1085.
- Jung CH, Lee WJ, Yu JH, Hwang JY, Shin MS, Koh EH, Kim MS, Park JY, (2011). Elevated serum ceruloplasmin levels are associated with albuminuria in Korean men with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*, 94 (1), 3-7.
- Kafa B (2006). Streptozotocin ile deneysel diyabet oluşturulan ratlarda karaciğer enzimleri ve serum proteinlerindeki elektroforetik değişiklikler. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.
- Karagül H, Fidancı UR, Altıntaş A, Sel T (2000). Klinik Biyokimya, Medisan Yayın Seri No 40, Ankara.
- Karppi J, Kurl S, Laukkanen JA, Rissanen TH, Kauhanen J (2011). Plasma carotenoids are related to intima-media thickness of the carotid artery wall in men from eastern Finland. *J Intern Med*, 270 (5), 478-485.
- Kruger AJ, Yang C, Tam SW, Hinerfeld D, Evans JE, Green KM, Leszyk J, Yang K, Guberski DL, Mordes JP, Greiner DL, Rossini AA, Bortell R (2010). Haptoglobin as an early serum biomarker of virus-induced autoimmune type 1 diabetes in biobreeding diabetes resistant and LEW1.WR1 rats. *Exp Biol Med (Maywood)*, 235 (11), 1328-1337.
- Kuhad A, Chopra K (2008). Lycopene ameliorates thermal hyperalgesia and cold allodynia in STZ-induced diabetic rat. *Indian J Exp Biol*, 46 (2), 108-111.
- Kuhad A, Sharma S, Chopra K (2008a). Lycopene attenuates thermal hyperalgesia in a diabetic mouse model of neuropathic pain. *Eur J Pain*, 12 (5), 624-632.
- Kuhad A, Sethi R, Chopra K (2008b). Lycopene attenuates diabetes-associated cognitive decline in rats. *Life Sci*, 83 (3-4), 128-134.
- Kurt İ (2003). Glukozile hemoglobin(HbA1c) ölçümü ve diabetes mellitusun uzun dönem glisemik kontrolünde kullanılması. *Gülhane Tıp Derg*, 45 (4), 387-395.

- Lau T, Carlsson PO, Leung PS (2004). Evidence for a local angiotensin-generating system and dose-dependent inhibition of glucose-stimulated insulin release by angiotensin II in isolated pancreatic islets. *Diabetologia*, 47, 240-248.
- Li ZZ, Lu XZ, Ma CC, Chen L (2010). Serum lycopene levels in patients with diabetic retinopathy. *Eur J Ophthalmol*, 20 (4), 719-723.
- Lindsay RS, Krakoff J, Hanson RL, Bennett PH, Knowler WC, (2001) Gamma globulin levels predict type 2 diabetes in the Pima Indian population. *Diabetes*, 50 (7), 1598-1603.
- Majewski BBJ, Barter S, Rhodes EL(1981). Serum α_2 globulin levels in granuloma annulare and necrobiosis lipoidica. *BJD*, 105 (5), 557-562.
- Mann JF, Gerstein HC, Pogue J, Bosch J, Yusuf S (2001). Renal insufficiency as a predictor of cardiovascular outcomes and the impact of ramipril. *Ann Intern Med*, 134, 629-636.
- Mariee DA, Al-Shabanah O (2006). Protective ability and binding affinity of captopril towards serum albumin in an in vitro glycation model of Diabetes mellitus. *J Pharm Biomed Anal*, 41 (2), 571-575.
- Mashima R, Witting PK, Stocker R (2001). Oxidants and antioxidants in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*, 12 (4), 411-418.
- Mehmetoğlu İ (2002). Klinik Biyokimya Laboratuvarı El Kitabı, İnci Ofset, Konya
- Mert N (1996). Veteriner Klinik Biyokimya. U.Ü. Vet. Fak. Yayını, 151–153, Bursa.
- Metzler DE, Metzler CM (2001). Biochemistry: the chemical reactions of living cells, Academic Press, 2nd. Ed. pp: 58.
- Molitch ME. (1990).Diabetes Mellitus. In: Walker HK, Hall WD, Hurst JW, editors. Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations. 3rd edition. Boston, Butterworths, Chapter 136.
- Narendhirakannan RT, Subramanian S (2010). Biochemical evaluation of the protective effect of Aegle marmelos (L.), Corr. leaf extract on tissue antioxidant defense system and histological changes of pancreatic beta-cells in streptozotocin-induced diabetic rats. *Drug Chem Toxicol*, 33 (2), 120-130.
- Narisawa T, Fukaura Y, Hasebe M, Nomura S, Oshima S, Sakamoto H, Inakuma T, Ishiguro Y, Takayasu J, Nishino H (1998). Prevention of N-methylnitrosourea-induced colon carcinogenesis in F344 rats by lycopene and tomato juice rich in lycopene. *Jpn J Cancer Res*, 89 (10), 1003-1008.
- Neyestani TR, Shariatzadeh N, Gharavi A, Kalayi A, Khalaji N.(2007a) Physiological dose of lycopene suppressed oxidative stress and enhanced serum levels of immunoglobulin M in patients with Type 2 diabetes mellitus: a possible role in the prevention of long-term complications. *J Endocrinol Invest*, 30 (10), 833-838.
- Neyestani TR, Shariatzadeh N, Gharavi A, Kalayi A, Khalaji N (2007b). The opposite associations of lycopene and body fat mass with humoral immunity in type 2 diabetes mellitus: a possible role in atherogenesis. *Iran J Allergy Asthma Immunol*, 6 (2), 79-87.

- Neyestani TR, Salekzamani S, Kalayi A, Alavi-Majd H, Houshiarrad A, Nikooyeh B, Shariatzadeh N (2011). Predictors of serum levels of high sensitivity C-reactive protein and systolic blood pressure in overweight and obese nondiabetic women in Tehran: a cross-sectional study. *Metab Syndr Relat Disord*, 9 (1), 41-47
- Nguyen ML, Schwartz SJ (1999). Lycopene, chemical and biological properties. *Food Technol*, 53, 38–45.
- Nowak M, Wielkoszyński T, Marek B, Kos-Kudła B, Swietochowska E, Siemińska L, Karpe J, Kajdaniuk D, Głogowska-Szelag J, Nowak K (2010). Antioxidant potential, paraoxonase 1, ceruloplasmin activity and C-reactive protein concentration in diabetic retinopathy. *Clin Exp Med*, 10 (3), 185-92.
- Nussey S, Whitehead S (2001). Anatomical features of pancreatic islets in relation to hormone secretion and its control. In; *Endocrinology: An Integrated Approach*. BIOS Scientific Publishers, Oxford, chapter 2.
- Okita M (2004). Chronic hepatic disease and dietary instruction. *Hepatol Res*, 30 (1), 92-95.
- Onat T, Kaya E, Sözmen EY (2002). *İnsan Biyokimyası*, Palme Yayıncılık, Ankara, 184–218.
- Prinsen B, Monique GM, Velden S (2004). Albumin turnover: experimental approach and its application in health and renal diseases. *Clin Chim Acta*, 347 (1-2), 1-14.
- Powers AC. (2005). diabetes mellitus. In: Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL, editors. *Harrison's principles of internal medicine*. 16th ed. USA: *McGraw Hill*, 2152-2180.
- Pruthi RS, Derksen E, Gaston K (2003). Cyclooxygenase-2 as a potential target in the prevention and treatment of genitourinary tumors, a review. *J Urol*, 169, 2352–2359.
- Riaz S, Alam SS, Srai SK, Skinner V, Riaz A, Akhtar MW (2010). Proteomic identification of human urinary biomarkers in diabetes mellitus type 2. *Diabetes Technol Ther*, 12 (12), 979-988.
- Ryndel M, Behre CJ, Brohall G, Prah U, Schmidt C, Bergström G, Fagerberg B, Olson FJ (2010). The haptoglobin 2-2 genotype is associated with carotid atherosclerosis in 64-year old women with established diabetes. *Clin Chim Acta*, 411 (7-8), 500-504.
- Sacks DB (1994). Carbohydrates. In: Burtis CA, Ashwood ER, Editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. Philadelphia. Saunders, pp: 928-100.1
- Sevindik H (2007). *Pembe Greyfurt Suyu ve Domates Pulpunda Likopen ve β -Karotenin Isıl Stababiliteleri*. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Shidfar F, Froghifar N, Vafa M, Rajab A, Hosseini S, Shidfar S, Gohari M (2011). The effects of tomato consumption on serum glucose, apolipoprotein B, apolipoprotein A-I, homocysteine and blood pressure in type 2 diabetic patients. *Int J Food Sci Nutr*, 62 (3), 289-294.

Sjølie AK, Dodson P, Hobbs FR (2011). Does renin-angiotensin system blockade have a role in preventing diabetic retinopathy? A clinical review. *Int J Clin Pract*, 65 (2), 148-153.

Srinivasan M, Sudheer AR, Pillai KR, Kumar PR, Sudhakaran PR, Menon VP (2007). Lycopene as a natural protector against gamma-radiation induced DNA damage, lipid peroxidation and antioxidant status in primary culture of isolated rat hepatocytes in vitro. *Biochim Biophys Acta*, 1770 (4), 659-665.

Tahmasebi M, Puddefoot JR, Inwang ER, Vinson GP (1999). The tissue renin-angiotensin system in human pancreas. *J Endocrinol*, 161, 317-322.

Tanyolaç A (1984). Özel Histoloji, Ankara Üniv Vet Fak Yay: 398, Ankara, 72-73.

Tesfaye S, Boulton AJ, Dyck PJ, Freeman R, Horowitz M, Kempler P, Lauria G, Malik RA, Spallone V, Vinik A, Bernardi L, Valensi P.(2010). Diabetic neuropathies: update on definitions, diagnostic criteria, estimation of severity, and treatments. *Diabetes Care*, 33 (10), 2285-2293.

Turgut K (2000). Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis, Geliştirilmiş 2. Baskı, Bahçivanlar Basım Sanayi, Konya s: 496.

Vardı N, Iraz M, Öztürk F, Uçar M, Gül M, Eşrefoğlu M, Otlu A (2005). Deneysel diyabetin sıçan böbreklerinde meydana getirdiği histolojik değişiklikler üzerine melatoninin iyileştirici etkileri. *İ Ü Tıp Fak Derg*, 12, 45-52.

Wang L, Liu S, Pradhan AD, Manson JE, Buring JE, Gaziano JM, Sesso HD (2006). Plasma lycopene, other carotenoids, and the risk of type 2 diabetes in women. *Am J Epidemiol*, 164 (6), 576-585.

Wobeto VP, Garcia PM, Zaccariotto TR (2009). Haptoglobin polymorphism and diabetic nephropathy in Brazilian diabetic patients. *Sonati Mde F. Ann Hun Biol*, 36 (4), 437-441.

Yenigün M, (1997). Mikro ve Makroanjyopatiler: Kardiyovasküler Diabet Edit., Yenigün M, İ.Ü. Basımevi, s: 150-222.

Zhu J, Wang CG, Xu YG (2011). Lycopene attenuates endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats by reducing oxidative stress. *Pharm Biol*, 49 (11), 1144-1149.

ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Van'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Özalp'ta tamamladı. 2000 yılında girdiği Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünden 2004 yılında mezun oldu. 2007 yılında askerlik görevini tamamladı. 2009 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans programına başladı. Halen özel bir şirkette kimyager olarak görev yapmakta olup evli iki çocuk babasıdır.



EKLER

Ek-1: Etil Kurul Raporu (Sayı:B.30.2.YYÜ.0.05.06.00/300-65)



T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : B.30.2.YYÜ.0.05.06.00/300-65
Konu :

29.01.2010

Sayın : Prof. Dr. Semiha DEDE
Veteriner Fakültesi

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 28.01.2010 tarih ve 15 sayılı kararı gereğince; Yürütücülüğünü yapmış olduğunuz "Deneysel Diyabet Oluşturulan Ratlarda Likopen Uygulamasının ACE Aktivitesi Üzerine Etkisi " isimli projenize raporör değerlendirme sonucuna göre YUHADYEK tarafından çalışma onayı verilmiştir. Çalışmaya başlamadan önce, çalışmalarınızı kurul üyelerinin denetimine açmanız zorunludur.

Projenizi denetlemek için Tıp Fakültesinden Prof. Dr. Hülya ÖZDEMİR ve Yrd. Doç. Dr. Görkem YAMAN denetleyici olarak görevlendirilmiştir. İlgili denetleyiciler ile çalışmaya başlamadan önce temasa geçmeniz gerekmektedir.

Gereğini bilgilerinize rica ederim.


Prof. Dr. Hülya ÖZDEMİR
YUHADYEK Başkanı

Eki: Araştırma Başvuru Onay Belgesi (1adet)

Ek-2: Etil Kurul Yazısı

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAY BELGESİ

BAŞVURU BİLGİLERİ	Araştırmanın Adı	Deneysel Diyabet Oluşturulan Ratlarda Likopen Uygulamasının ACE Aktivitesi Üzerine Etkisi
	Araştırmanın Yürütücüsü	Prof.Dr. Semiha DEDE
	Yardımcı Araştırmacılar	Yüksek Lisans Öğrencisi Şerif ÖZMUTLU
	Kurumu	Veteriner Fakültesi
	Araştırmanın Tahmini Süresi	12 ay
	Kullanılacak Hayvan Türü ve Sayısı	Siçan 28 Adet
	Destekleyecek Kuruluş (lar)	
Başvuru Tarihi	16.09.2009	

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2010/01- 04	Tarih:28.01.2010
	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi öğretim üyesi/elemanı Prof.Dr. Semiha DEDE sorumluluğunda yürütülmesi planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma projesi gerekçe, amaç ve yöntemler dikkate alınarak ilgili başvuru belgeleri incelendi. Çalışmanın etik açıdan uygun olduğuna, projenin aşağıdaki hususlar dikkate alınarak yürütülmesine ve proje yürütücüsüne iletilmesine oy birliği/oy çokluğu ile karar verildi.	
	1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması. 2) Projede çalışacağı bildirilen araştırmacılar değişikliği olduğunda kurulumuzdan onay alınması. 3) Deneysel hayvanları üzerinde yapılacak girişimin başlangıç ve bitiş tarihlerinin bildirilmesi. 4) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması. 5) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi.	

ETİK KURUL ÜYELERİ		
BASKAN Prof. Dr. Hülya ÖZDEMİR	BASKAN YARDIMCISI Prof. Dr. Murat İLİMİR	
Doç. Dr. Hasan ÜLKER	Prof. Dr. Zabıt YENER (katılmadı)	
Doç. Dr. Handan MERT	Doç. Dr. Abuzer TAŞ (katılmadı)	
Doç. Dr. Mehmet KARACA	Yrd. Doç. Dr. Atilla DURMUŞ	
Doç. Dr. Necmettin AKDENİZ	Yrd. Doç. Dr. Görkem YAMAN	
Yrd. Doç. Dr. Nurettin CENGİZ (katılmadı)	Yrd. Doç. Dr. Şükran SEVİMLİ (katılmadı)	
Yrd. Doç. Dr. Emel SEN	Gökmen AYTİN (katılmadı)	Av. Serdar KARTAL (katılmadı)

*Bu form YÜHADYEK tarafından doldurulacaktır.