

156841

T.C
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIP FAKÜLTESİ TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

İNSÜLİN VE TİROİD HORMONLARININ ANTİOKSİDAN ENZİMLER
ÜZERİNE ETKİLERİ

DOKTORA TEZİ
Uzm. Ecz. FUNDA KOSOVA

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. NİLGÜN ALTAN

ANKARA - 2004

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez çalışmam süresince her konuda benden yardım ve desteğini esirgemeyen tez danışmanım, değerli hocam Prof. Dr. Nilgün Altan'a, yetişmemde emeği geçen Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nın çok değerli öğretim üyelerine, tezimin cerrahi kısmını gerçekleştiren değerli hocam Prof. Dr. Atilla Engin'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmalarım sırasında her konudaki destek ve yardımları için Uz.Dr. Aylin Sepici'ye, Dr. Nilgün Kocamanoğlu, Dr. Cemile Koca, Veteriner Hekim Şeyda Diker ve diğer tüm Tıbbi Biyokimya çalışanlarına çok teşekkür ederim. Ayrıca, her zaman her konuda beni destekleyen, beni bugünlere getiren sevgili aileme anlayışları için teşekkür ederim.

Uzm. Ecz. Funda Kosova

ANKARA- 2004

İÇİNDEKİLER

1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. DİABETES MELLİTUS.....	3
2.1.1. Diabetes Mellitus'un tanımı ve sınıflandırılması.....	3
2.1.1.1 Primer Diabet.....	4
2.1.1.1.1.Tip I Diabet (IDDM).....	4
2.1.1.1.2.Tip II Diabet (NIDDM).....	7
2.1.1.2.Malnütrisyonla ilişkili Diabetes Mellitus.....	12
2.1.1.3.Genetik hastalıklara bağlı diğer Diabetler.....	12
2.1.1.4.Sekonder Diabet.....	12
2.1.1.4.1.Cerrahi.....	13
2.1.1.4.2.Hastalıklar.....	13
2.1.1.4.3.İlaçlar.....	13
2.1.1.4.4.Hormonal dengesizlik.....	13
2.1.1.5.Gestasyonel Diabetes Mellitus.....	14
2.1.2.Erişkinlerde Diabetin tanı kriterleri	14
2.1.3.Diabetes Mellitus'un komplikasyonları.....	15
2.1.4.Diabette Serbest Radikallerin rolü.....	16
2.2.İNSÜLİN.....	18
2.2.1.İnsülinin Tanımı.....	18
2.2.2.İnsülinin Yapısı.....	18
2.2.3.İnsülinin Salınımı.....	20
2.2.4.İnsülin Salınımının Düzenlenmesi.....	21
2.2.5.İnsülin Reseptörü ve İlgili Mekanizmalar.....	23
2.2.6.İnsülinin Metabolik Etkileri.....	27
2.2.7.İnsülinin Katabolizması.....	29
2.2.8.İnsülinin Yan Etkileri.....	30
2.2.9.İnsülin Preparatları.....	30
2.3.TİROİD.....	31
2.3.1. Tiroid'in Yapısı.....	31

2.3.2. Tiroid Hormonunun Biyosentezi.....	32
2.3.3. Tiroid Hormonunun Salgılanması.....	34
2.3.4. Tiroid Hormonlarının Kanda Bulunuşları ve Eliminasyonları.....	36
2.3.5. Tiroid Hormonlarının Fizyolojik ve Farmakolojik Etkileri.....	36
2.3.6. Tiroid Hormonlarının Hücre Düzeyindeki Etkileri ve Etki Mekanizması.....	37
2.3.7. Tiroid Hormonlarının Metabolizma Üzerindeki Etkileri.....	38
2.3.8. Tiroid Fonksiyon Bozuklukları.....	40
2.3.9. Antitiroid İlaçlar.....	41
2.4. SERBEST RADİKALLER.....	42
2.4.1. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri.....	43
2.4.1.1. Süperoksit Radikali.....	44
2.4.1.2. Hidrojen Peroksit.....	45
2.4.1.3. Hidroksil Radikali.....	45
2.4.1.4. Singlet Oksijen.....	46
2.4.2. Serbest Radikaller.....	46
2.4.2.1. Biyolojik Kaynaklar.....	46
2.4.2.2. Hücrel Kaynaklar.....	46
2.4.2.3. Toksik Maddeler.....	47
2.4.3. Radikallerin Etkileri:.....	47
2.4.3.1. Membran Lipitlerine Etkileri.....	47
2.4.3.2. Proteinler Üzerine Etkileri.....	48
2.4.3.3. Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkileri.....	48
2.4.3.4. Karbohidratlar Üzerine Etkileri.....	48
2.4.4. İnsan Sağlığında Serbest Radikaller.....	49
2.5.ANTİOKSİDAN SİSTEMLER.....	50
2.5.1. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	50
2.5.1.1. Primer Antioksidan Savunma Sistemleri.....	51
2.5.1.1.1. Vitamin E.....	51
2.5.1.1.2. Katalaz.....	52
2.5.1.1.3. Glutasyon Peroksidaz.....	52
2.5.1.1.4. Superoksit Dismutaz.....	53
2.5.1.1.5. Askorbik Asit.....	54
2.5.1.1.6. Ürik Asit.....	54
2.5.1.2. Sekonder Antioksidan Savunma Sistemleri.....	54

2.6. KALP.....	55
2.7. LEPTİN.....	57
2.7.1 Leptinin Yapısı ve Metabolik Etkileri.....	57
2.7.2. Leptin Reseptörü ve İlgili Mekanizma.....	58
2.7.3. Leptin ve Tiroid arasındaki ilişki.....	58
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	60
3.1. KULLANILAN GEREÇLER.....	60
3.1.1. Deney Hayvanları.....	60
3.1.2. Kullanılan Aletler.....	60
3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	61
3.2. UYGULANAN YÖNTEMLER.....	61
3.2.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması.....	61
3.2.2. Metotların Uygulanması.....	62
3.2.2.1. Malondialdehit Tayini.....	62
3.2.2.2. Fox Tayini (Xynelol orange metodu).....	62
3.2.2.3. Katalaz Tayini.....	62
3.2.2.4. Superoksit Dismutaz Tayini.....	63
3.2.2.5. Glutasyon Peroksidaz Tayini.....	64
3.2.2.6. Doku Protein Tayini.....	64
3.2.2.7. Leptin Tayini.....	65
3.2.2.8. Serum Tiroid hormon (T ₃ ,T ₄) ve HbA _{1c} Tayini.....	65
3.2.2.9. Sonuçların Analizi.....	65
4. BULGULAR.....	66
5. SONUÇ VE TARTIŞMA.....	78
6. ÖZET.....	82
7. YABANCI DİLDE ÖZET.....	83
8. ÖZGEÇMİŞ.....	84
9. KAYNAKLAR.....	85

1. GİRİŞ

Diabetik hastalarda ve deneysel olarak diabet oluşturulan ratlarda serbest oksijen radikallerinin ve eritrosit membran lipid peroksidasyonunun önemli derecede arttığı bildirilmiştir^{1,2}. Süperoksit Dismutaz (SOD, Cu-Zn SOD, Mn-SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (KAT) aktiviteleri ve doku glutatyon (GSH) konsantrasyonlarının diabette değişiklik gösterdiği birçok araştırmacının savları arasında yer almıştır^{3,4}.

Deneysel olarak alloksan ya da streptozotosin ile diabet oluşturulmuş rat karaciğerinde GSH-Px aktivitesinin azaldığı ya da değişmediği, kalp dokusunda ise azaldığı, KAT aktivitesinin kalp, karaciğer ve böbrekte arttığı, bunlara ilave olarak total glutatyon konsantrasyonu ve SOD aktivitesinin diabetik rat karaciğerinde azaldığı bildirilmiştir^{5,6}.

Diabette bozulmuş olan antioksidan düzeyleri ve antioksidan enzim aktiviteleri, insülin ve gliburid (oral antidiabetik) tedavisi ile düzeltilebilmektedir^{5,7,8}.

Öte yandan, streptozotosin ve alloksan ile diabet oluşturulmuş hayvanlarda hipotiroidizm tablosunun ortaya çıktığı gösterilmiştir^{9,10}. İnsüline bağımlı diabette tiroid fonksiyonlarında bozukluk olduğu ve bu hastalarda hipergliseminin çok zor olarak kontrol edilebildiği vurgulanmıştır¹¹. Son yıllarda yapılan çalışmalar, diabette tiroid hormonlarının karbohidrat metabolizmasındaki bazı anahtar enzim aktivitelerinde değişikliklere neden olduğunu göstermiştir^{12,13}. Bunlara ilave olarak, diabetik dokularda tiroid hormonlarının, insülinin bazı etkilerine aracılık ettiğini gösteren çok az sayıda araştırma bulunmaktadır^{5,7}.

Tiroid hormonları mitokondrial serbest oksijen radikal oluşumu ve mitokondrial oksijen tüketimi ile de direkt olarak ilintilidir¹⁴. Öte yandan, tiroid hormonlarının bazal metabolik hızı arttırdığı da bilinmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda tiroid hormon düzeylerindeki değişikliklerin, rat karaciğer mitokondrisinin solunum aktivitesini ve radikal oluşumunu bozduğu bildirilmiştir^{14,15}.

Yine, tiroid hormonlarının insülinin karbohidrat metabolizmasındaki enzimler üzerindeki etkisinde rolü olabileceği savunulmuştur^{5,7}. Bunlara ilave olarak tiroid hormonlarının karbohidrat metabolizması ve insülin ile olan etkileşimleri de açık olarak belirlenememiştir.

Bu nedenle, diabette bozulmuş antioksidan metabolizmasındaki enzimlerin insülinle regüle edilmesinde tiroid hormonların olası bir rolü olabileceği düşünülmüştür.

Leptin de tiroid hormonları gibi vucut ağırlığını, yiyecek alınımlı ve enerji tüketimini etkilemektedir. Leptin adipositlerden üretilen ve dolaşımdaki düzeyi adipoz hücrelerdeki enerji deposunu gösteren bir hormondur. T₃'ün adipositlerden leptin salınımını ve mRNA sentezini arttırdığı gösterilmiştir¹⁶. Bunlara ek olarak, leptinin paraventriküler nükleustan TRH salınımını uyardığı ve bu nedenle normal TSH salınımında ve bunun sonucu olarak tiroidden hormon salınımını uyardığı bildirilmiştir¹⁷.

Yine leptin lipit oksidasyonunu artırmakta ve lipit sentezini inhibe edebilmektedir¹⁴. Bu nedenle leptin ile diabet arasında da benzer metabolik özellikler olduğu gösterilmiştir. Yine ciddi insülin rezistansının ise leptin eksikliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir¹⁸.

Sonuç olarak bu çalışmadaki amacımız, diabette bozulmuş antioksidan metabolizmasındaki bazı önemli enzimlerin ve leptinin insülinle regüle edilmesinde, tiroid hormonlarının olası rolünü incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. DIABETES MELLİTUS

2.1.1. Diabetes Mellitus'un Tanımı ve Sınıflandırılması

Diabetes Mellitus (DM), kanda glukoz düzeyini artıran kronik bir hastalık olarak tanımlanır. Kan glukozunu etkileyen bir çok faktör olduğundan; diabet pek çok farklı nedenle (bazı herediter, çevresel ve hormonların etkisiyle) oluşabilmektedir^{19,20,21}.

Diabetin tanı ve sınıflandırılması Ulusal Diabet Veri Grubu (National Diabetes Data Group, NDDG) tarafından belirlenmiş ve 1979'da yayınlanmıştır. Daha sonra bu grubun da içinde olduğu uluslararası bir uzmanlar komitesi Mayıs 1995'te toplanarak; 1979'daki verilerle sonraki 18 yıl içindeki verileri dikkatle değerlendirmiş, diabet sınıflandırılması ve tanısında bazı değişiklikler yaparak, yeniden yayınlamıştır²².(Tablo-1)

Diabet primer ve sekonder olarak ikiye ayrılır. Primer diabet ; Tip I (IDDM) ya da insüline bağlı , Tip II ya da insüline bağlı olmayan Diabetes Mellitus (NIDDM) olarak ayrılmaktadır. Diabet nadir de olsa diğer herediter hastalıklara bağlı olarak da oluşabilmektedir^{19,23}. Sekonder diabet ise hormonal dengesizlikten ve cerrahi sonrasında kullanılan ilaçlar tarafından pankreasın harabiyetine bağlı gelişebilmektedir¹⁹.

Tablo 1 - WHO Tarafından Diabetin Sınıflandırılması ^{19,23}

A. Klinik Sınıflandırma
1. İnsüline bağlı Diabetes Mellitus (IDDM)
2. İnsüline bağlı olmayan Diabetes Mellitus (NIDDM)
Obez olmayanlar
Obezler
3. Malnütrisyonla ilişkili Diabetes Mellitus (MRDM)
4. Sendrom ve şartlara bağlı diabetin diğer tipleri
Pankreatik hastalıklar
Hormonal etyolojinin oluşturduğu hastalıklar
İlaç veya kimyasallara bağlı şartlar
İnsülinin veya reseptörlerinin anomaliliği
Genetik sendromlar
5. Glukoz toleransının bozukluğu (IGT)
Obez olmayanlar
Obezler
Sendrom ve şartlara bağlı olanlar
6. Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM)
B. İstatistiksel Risk Sınıfları
Glukoz toleransının önceki anomaliliği
Glukoz toleransının etkili anomaliliği

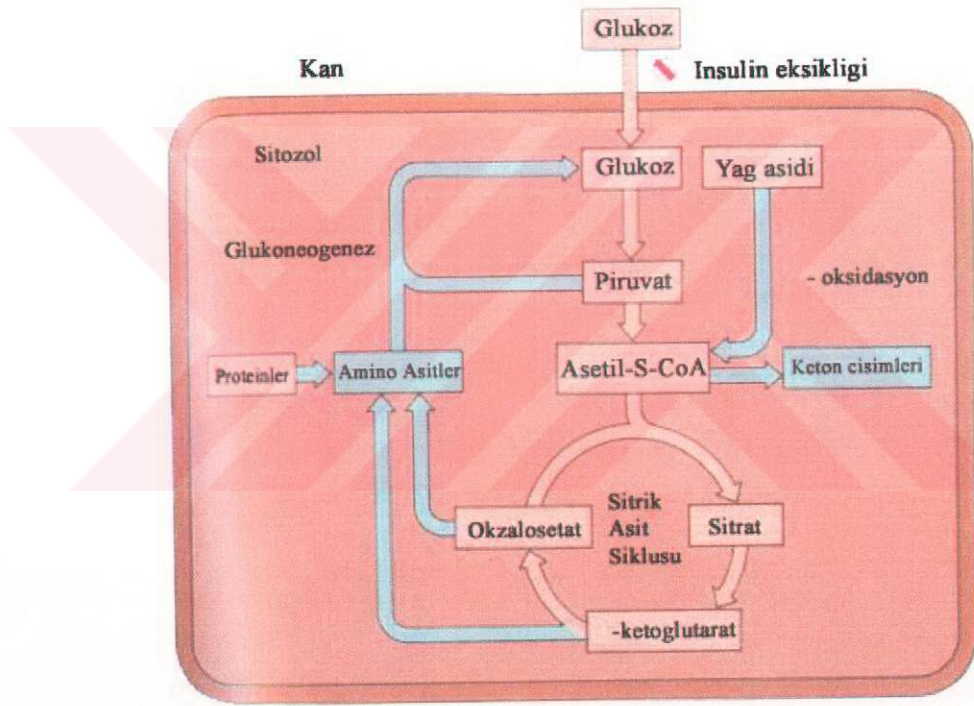
2.1.1.1. Primer Diabet

2.1.1.1.1. Tip 1 Diabet (İnsüline Bağlı Diabet)

Tip I diabet (insüline bağlı diabet), endojen insülin salgılama kapasitesinin büyük bir kısmının ya da tamamının ortadan kalkmasıdır. β hücrelerinin ileri derecede harabiyeti ya da nekrozuna bağlı olarak, insülinin hiç bulunmaması ile karakterizedir. β hücrelerinin fonksiyon kaybı; virüslere, kimyasal toksinlere ya da daha sık olarak β hücrelerine karşı gelişmiş otoimmün antikorlara bağlıdır. β hücrelerindeki harabiyete bağlı olarak glukoz alımının ardından, pankreastan insülin salgılanamaz ve Tip I diabetiklerde insülin eksikliğinin tipik bulguları görülür^{20,24,25}. Diabetin bu tipi büyük çoğunlukla genç yetişkinlerde ya da çocuklarda başlar. Genellikle susama, poliüri ve bitkinlik gibi semptomlarla ortaya çıkar. Bu tip diabetin

tanısında, kilo kaybının çok önemli bir yeri vardır ve ketozis de çok sıklıkla görülmektedir^{19,21,23,24}. Diğer genel semptomları ise; balanit, paraestezi, kaslarda kramplar, pruritis vulva, vb.dir. Kandaki glukoz düzeyi 11.1mmol/l (200mg/dl) yi aştıkça ve ketoasidoza eğilimi artıkça, idrarda şeker ve aseton miktarı belirginleşir. Plazma insülini, kandaki glukoz düzeyinin düşük seviyesini ve oral ya da intravenöz glukoz yüklemesine cevap verip veremeyeceğini gösterir. Tip I diabetiklerde oluşan insülin yetersizliği, metabolik hastalıkların çoğunun temelini oluşturur. Sadece insülin eksikliği değil aynı zamanda glukagonun ve pankreatik polipeptidlerin konsantrasyonlarının yüksekliği de Tip I diabeti gösterir¹⁹.

Diabetiklerde, insülin eksikliğine bağlı olarak glukozun kullanımı azalır. Hücrede glukoz yetersizliği, amino asitlerden glikoneogenezi uyarır. Yağ asidi oksidasyonu ve ketogenez artar²⁵.(Şekil 1)

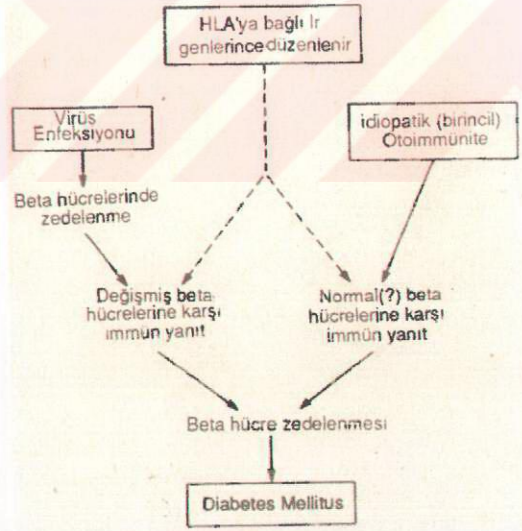


Şekil 1: Diabetteki metabolik yol²⁵

Beta hücrelerinin harabiyetinden üç mekanizmanın sorumlu olduğu düşünülür; Bunlar çevresel etkiler, genetik duyarlılık ve otoimmunitedir. Belirli bir çevresel ajan tanımlanmamış ise de, DM'un nedeni olarak yıllarca virüslerden kuşku lanılmıştır. Bu viral enfeksiyonlar içerisinde; kabakulak, kızamık, koksaki B, sitomegalovirus, kızamıkçık ve enfeksiyöz mononükleaz sayılmaktadır^{21,26,23,27}. Son

zamanlarda bu gruba, beta hücrelerine duyarlılık gösteren slow virüsler de eklenmiştir²⁵. Bir başka görüş ise beta hücrelerinde görülen viral enfeksiyonların, insülin salgılayan hücrelerde, parçalanmaya neden olmasıdır. Bu kayıp immünregülasyonda genetik olarak saptanmış anomaliler yüzünden tetiklenen otoimmün reaksiyonların sonucudur²⁸. IDDM'deki beta hücre harabiyetinin nedeni olarak immünolojik zedelenme düşünülmüştür²⁹.

Hastaların büyük çoğunluğunda ilk tanı konulurken; kan dolaşımında adacık hücrelerine karşı antikor saptanır ve adacıkların T lenfositler tarafından infiltrasyonu görülmektedir²³. Genetik çalışmalar, lökositlerin yüzeyinde bulunan antijenlerin (Human Lokosit Antijen; HLA) çeşitli hastalıklarla ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır. Özellikle, insüline bağımlı hastaların %90'ının, HLA DR3 ya da DR4 veya heriki geni birlikte taşıdığı görülmektedir. Ayrıca HLA DQB genetik özelliği taşıyan bireylerde de Tip I diabet görülebilmektedir^{19,21,23,30}. IDDM bazı HLA tipleri ile ilişkilidir. HLA bağımlı immün yanıt genleri, bu tip fertleri beta hücrelerini yıkan enfeksiyonlara karşı duyarlı hale getirmekte ve aynı zamanda yıkılmış beta hücrelerinden bir kere antijen salgılandıktan sonra otoimmün reaksiyon oluşmasına yatkınlık yaratmaktadır²⁸ (Şekil II).



Şekil II: İnsüline bağımlı (Tip I) Diabetes Mellitus'a yol açan hücre yıkımı yollarını gösteren bir şema³¹

Unger ve arkadaşları, Diabetes Mellitusun (hem IDDM hem de NIDDM) insülin yetmezliği ve glukagon fazlalığı ile alakalı bir hastalık olduğunu öne

sürmüşlerdir³². Bunun aksine birçok araştırmacı, glukagonun diabetes mellitusta ortak mediatör olarak rol almadığını savunmuşlardır³³. Örneğin pankreasın çıkarılmasını izleyen total glukagon yokluğunda da DM gelişebilmektedir³⁴. Bu zıt düşünceleri dengelemek için fazla glukagonun Diabetes Mellitustaki metabolik anomalilere bir zemin hazırladığı, ancak belirli bir ortak mediatör olduğunu gösteren verilerin bulunmadığı araştırmacıların savları arasında bulunmaktadır³¹.

Tip I diabetin diğer komplikasyonları arasında katarkt, nöropati, nefropati ve anjiopati vardır. Bunların gelişmesi ve ilerlemesi tamamen gliseminin kontrol derecesine bağlıdır^{20,21}.

Tedavi edilmemiş Diabetes Mellitus'ta, hiperglisemi ve ketoasidoz görülür. Hiperglisemi, glukozun hepatik yapımının artmasıyla beraber, periferik kullanımının azalması nedeniyle meydana gelmektedir. Ketozis ise, adipoz dokudan yağ asidi salınımının artışına bağlı olarak karaciğerde 3- hidroksibütirat ve asetoasetat sentezinin uyarılması sonucu oluşmaktadır. Ancak, karaciğere gelen yağ asitlerinin hepsi oksidasyon ya da keton cismi sentezinde kullanılmaz, bir kısmı triaçilgliserole dönüştür ve VLDL olarak paketlenerek kana verilir. Şilomikronlar yemek sonrası, diyet lipidlerinden barsak mukoza hücrelerinde sentezlenir. Diabetiklerde, yağ dokusunda, lipoprotein lipaz tarafından, lipoprotein yıkımının düşük olması nedeniyle, plazma şilomikron ve VLDL düzeyleri yükselir ve sonuçta hipertrigliseridemi oluşur. Bu metabolik değişiklikler, insülin yetersizliği ve glukagonun kısmen yükselmesi nedeniyle oluşmaktadır²⁴. İnsülin tedavisine bağlı olarak serbest yağ asit değerleri düşer, lipoprotein lipaz değerleri yükselir ve hipertrigliseridemi hızla kontrol altına alınır ve LDL değerleri düşer, HDL değerleri de normal ya da diabeti bulunmayan kontroller ile karşılaştırıldığında, normal değerlere ulaşır³⁵.

2.1.1.1.2. Tip II Diabet (İnsüline Bağlı Olmayan Diabet)

Bu tip diabet, insülin sekresyonundaki yetersizlik ya da bazı vakalarda glukoz yüklemesine karşı göreceli bir yetmezlik ve buna eklenen periferik dokuların insüline yanıt vermedeki yetmezliği ile ilişkilidir (İnsülin rezistansı). NIDDM'da pankreasın β hücrelerinin bir kısmı fonksiyonlarını korurlar ve glukoz hemostazını korumak için yeterli olmayan düzeylerde insülin salgırlarlar¹⁸. IDDM'nin aksine, insülin yetersizliğinin şiddetli olmadığını ve NIDDM'nin patogeneğinde temel rolü insülin rezistansının oluşturduğunu belirtmek gerekir^{31,23}.

Tip II diabet, kesinlikle diabetin en yaygın tipidir ve yaşlılarda daha sık görülür. Hastalığın bu türünde endojen insülin salgılama kapasitesi korunmuştur. Susama, poliüri ve kilo kaybı bulunabilir ancak çok nadiren bu bulgular şiddetlidir. Kadınlarda ise, vulva puritis en sık bulunan semptomlarıdır¹⁹.

Tip II diabet tanısı; oral glukoz tolerans testi, yükselmiş serum glukoz konsantrasyonu ve HbA1c düzeyleri ile konulabilir. Bu tipte ketozis ender görülmekle birlikte ek bir akut hastalık sırasında da ortaya çıkabilir. Tip II diabetik hastalarda ilk tanı, hiperozmolar nonketotik koma ile de konabilmektedir^{23,19}.

Tip I diabetten farklı olarak, HLA bağlantısı ve adacık hücre antikoru bulunmamaktadır^{23,19,30}. Tip II DM'un, bazı bireylerde normal insülin sensitivitesine sahip oldukları halde monogenik β hücre (MODY) fonksiyon defektine bağlı olarak gelişebildiği görülebilmektedir. Bu alt gruplar MODY1-5 olarak adlandırılmaktadır. MODY-1 'de hepatik nükleer faktör- 4 α , MODY-2'de glukokinaz, MODY- 3'de hepatik nükleer faktör-1 α , MODY- 4'de insülin promotor faktör 1, MODY- 5'de ise hepatosit nükleer faktör- 1 β genlerinde hatalar gözlenmektedir³⁶(Tablo II).

Tablo II: Hasarlanmış β hücre fonksiyonlarıyla karakterize edilen diabetin monogenik formları³⁶

Tip	Gen	Kromozom	Hasar
MODY 1	Hepatik nükleer faktör 4- α	20q	β -hücre hasarında ilerleme
MODY 2	Glukokinaz	7q	İnsülin sekreyonunun düzenlenmesinde glukozun azalması
MODY 3	Hepatik nükleer faktör 1- α	12q	β -hücre hasarında ilerleme
MODY 4	İnsülin promotor faktör	13q	Pankreasın gelişiminde azalma
MODY 5	Hepatosit nükleer faktör 1- β	17 cen-q	β -hücre hasarında ilerleme + renal hastalıklar

Son zamanlarda, NIDDM'nin patogeneğinde, insülin rezistansının temel etken olduğunu düşündüren yoğun bilgi birikimi vardır. İnsülin rezistansı karmaşık bir fenomendir. Yalnızca diabetik sendrom ile sınırlanamaz. Hem gebelikte ve hem de obezitede (diabet yokluğunda bile) dokuların insüline duyarlılığı azalabilir. Ancak bu duruma yanıt olarak pankreas daha fazla insülin sentezler. Eğer insülin yapımında bir hata varsa obezite bunu ortaya çıkarır ve diabeti artırır. Obezite diabet yapıcı önemli bir etkidir ve NIDDM'li hastaların yaklaşık olarak %80'i obezdir. Birçok obez diabetlide, özellikle diabetin erken evresinde bozulmuş glukoz tolerans testi kilo

verilerek düzeltilir^{31,23}. Obez NIDDM hastalarında insülin düzeyleri, tipik olarak yüksektir. Fakat hiçbir zaman benzer miktarda obez ama diabetik olmayan bir kişi kadar da yüksek değildir²⁴. Karbohidratlı yiyeceklerin, insüline olan talebi artırdığı ve obezlerin periferik dokularında, insülin hareketine karşı direnç oluşturduğu bilinmektedir¹⁹.

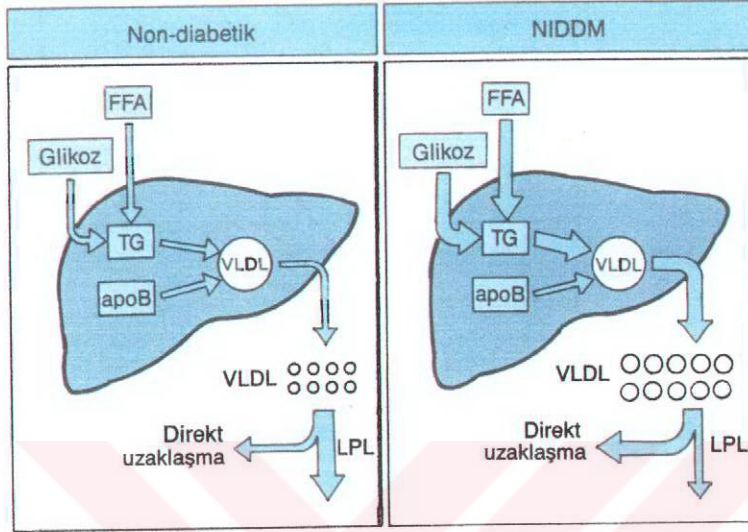
İnsülin rezistansının hücresel temelinde, insülinin etkisi için hücre yüzey reseptörlerine bağlanma önkoşul olduğundan, incelemelerin çoğu, insülin bağlamak için var olan reseptörlerin sayısına ve bağlanma sonrası olaylara yöneltilmiştir^{31,20}.

Obez ya da obez olmayan NIDDM'li hastalarda yapılan çalışmalarda insülin reseptör sayısında azalma gözlemlenmiştir. Her ne kadar hedef hücrelerindeki insülin reseptörleri yoğunluğundaki düşme, insülin etkisinde azalmaya yol açarsa da, azalmış reseptör sayısına dayanarak NIDDM'li hastalardaki insülin rezistansının bütün yönlerini açıklamak olanaksızdır. Bugün NIDDM'li hastalardaki insülin rezistansının ana sebebinin, hücreye bağlanmış insülinin hücre içi sinyal oluşturmadaki hatadan kaynaklandığı düşünülmektedir³¹.

Tip II diabet, nadiren çocuklarda, gelişen adultlarda ve kalıtımın baskın olduğu bazı ailelerde oluşur. Tek yumurta ikizlerinde %100'e yakın uyum vardır ve eğer ebeveynlerden birinde hastalık varsa; NIDDM oluşma tehlikesi, IDDM oluşması tehlikesinden daha yüksektir^{19,23}. Kalıtsal hataların yaradılışı henüz aydınlatılamamıştır ancak kesin deliller pankreas hücrelerindeki, belki de pankreas hücrelerinin yüzeyindeki reseptörlerin düzeltilmediğinden dolayı artmış kan glukozunun stimülasyonuna karşı tam bir cevap da oluşturamamaktadır¹⁹.

Kısacası, NIDDM, hedef organ yanıtında azalma, bozulmuş insülin sekresyonu ile karakterli, karmaşık ve multifaktöriyel bir hastalık olarak tanımlanabilir. İnsülin rezistansı, beta hücreleri üzerinde, sürekli yüksek insülin ihtiyacını karşılama stresi ve giderek yetmezliğe neden olabilecek bir hiperinsülinizm oluşturabilir. Olasılıkla NIDDM'li hastalarda, pankreatik beta hücreleri, genetik olarak bu tip streslere duyarlıdır. Böylece, insülin rezistansı, zamanla, yetersiz ya da bozulmuş insülin sekresyon yanıtına yol açabilecek olaylar zincirini başlatabilir. Bulmacanın parçaları henüz tamamlanmış değildir. Fakat her yıl birkaç ek parçanın daha yerine konulduğu görülmektedir³¹.

Tip II DM'un en yaygın lipit anomalliği; VLDL'nin artmış sentezine bağlı oluşan hipertrigliseridemi olup, genellikle Tip IV ile kendini gösterir. Bunun nedeni, karaciğere trigliserid sentezi için aşırı substrat gelmesi ve büyük VLDL partiküllerinin üretimidir. Lipoprotein lipaz aktivitesindeki azalma nedeniyle, trigliserid klirensindeki olası bozulmaya rağmen, LDL'ye dönüşen VLDL oranının azaldığı saptanmıştır. LDL değerleri ise, genellikle normaldir³⁵ (Şekil III).



Şekil III: NIDDM'de, VLDL metabolizmasındaki multiple değişiklikler³⁵ FFA: serbest yağ asidi

NIDDM'de, HDL-kolesterol sıklıkla azalmış olup, bu olgularda görülen aterosklerotik vasküler hastalığın patogeneğinde rolü olabilir. Hiperglisemi ve hipertrigliseridemi yüksek lifli diyetle, modifiye yağ diyetine, sülfonilüreyle ya da insüline iyi yanıt verir. Ancak HDL- kolesterol'de çok büyük değişiklikler gözlenmez. İnsülin tedavisinin, olasılıkla, adipoz doku lipoprotein lipaz aktivitesinin stimülasyonu ile HDL₃'ü feda ederek HDL₂'yi yükselttiğini göstermiştir. Fibratların lipoprotein lipaz aktivitesini artırma, plazma trigliseridlerini azaltma, HDL-kolesterol'ü yükseltme ve hipoglisemik ajanların etkisini kuvvetlendirme gibi özelliklerinin bulunması, bunların, hiperglisemisi düzelmiş ancak hiperlipidemisi devam eden diabetik hastaların tedavisinde kullanılması uygundur. HMGCoA (3-Hidroksimetil glutaril KoA redüktaz) redüktaz inhibitörleri, inatçı LDL-kolesterol yükselmesi olan diabetiklerde kullanılabilir³⁵.

Tip II diabetin tedavisindeki amaç, kan glukoz konsantrasyonlarını normal sınırlar içinde tutmak ve Diabetes Mellitusun uzun vadeli komplikasyonlarının

gelişmesini önlemektir. Kilo verilmesi ve diyet değişiklikleri oldukça faydalıdır. Bazı vakalarda, plazma glukoz düzeylerini istenen seviyeye getirebilmek için, sülfonilüre tedavisi ya da insülin tedavisi gerekebilir²⁴.

Tip II DM'lu hastalarda yavaş gelişen hiperglisemi nedeniyle, başlangıçta diabetesin klasik semptomları görülmeyebilir ve hastalık bu nedenle yıllarca tanı alamaz. Tip II diabetli hastalarda makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyon gelişme riskleri yüksektir. Bu gruptaki hastalarda, insülin seviyeleri normal ya da yüksek olabilir. Yüksek kan glukoz düzeylerine rağmen plazma insülin seviyelerinin artması, beta hücre fonksiyonlarının normal olduğunu fakat salgılanan insülinin kan şekerini kompanse edemediğini gösterir³⁷.

Tablo III: Tip I ve Tip II Diabetes Mellitus'un Karşılaştırılması^{19,24,38,39}

	İnsüline Bağımlı Diabetes Mellitus (IDDM)	İnsülin Bağımsız Diabetes Mellitus (NIDDM)
Eşanlamısı	Tip I; genç tip diabet	Tip II; erişkin tip diabet
Başlama yaşı	Genellikle çocukluk veya pubertede	Sıklıkla 35 yaşından sonra
Hastağın başlangıcındaki beslenme durumu	Sıklıkla iyi beslenmiş	Obezite genellikle bulunur
Görülme sıklığı	Diabetlilerin %10-20'sini oluşturur	Diabetlilerin %80-90'ını oluşturur
Fenotip	Zayıf	Obez
Genetik yatkınlık	İlımlı, vasat HLA-B8-B15-DR3-DR4-DQ2-8 CTLA-4,& kromozomda lokalize	Çok güçlü
Kusur veya eksiklik	Otoimmün β hücreleri yıkılmıştır İnsülin üretimi yoktur	β hücreleri uygun nicelikte insülin üretmez; insülin direnci vardır
Ketozis	Sıktır	Nadirdir
Plazma İnsülini	Düşük veya yoktur	Normal veya yüksek
Akut komplikasyonlar	Ketoasidoz	Hiperozmolar koma
İdrar	Şeker ve aseton	Şeker
Adacık hücre antikorları	Var	Yok
Oral hipoglisemik ilaçlar	Yanıt vermez	Yanıt verir
İnsülin tedavisi	Her zaman zorunludur	Genellikle gerekmez Hiperglisemi diyetle kontrol
Bulgular	Poliüri, polidipsi, hızlı kilo kaybı	Aynı

2.1.1.2. Malnütrisyonla İlişkili Diabetes Mellitus

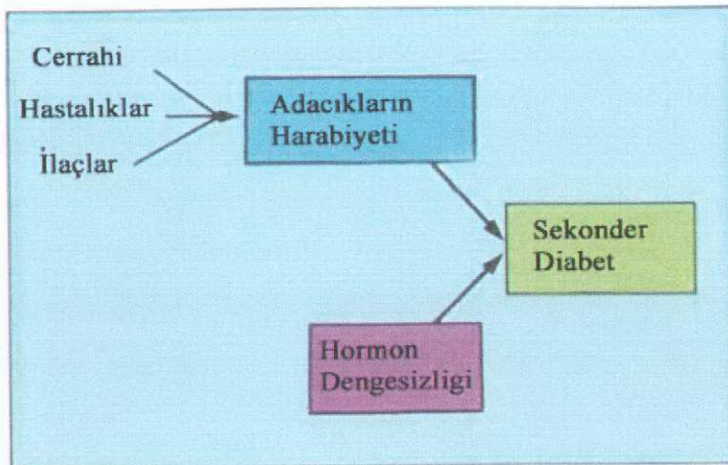
Fibrokalkülöz ve protein eksikliğine bağlı olmak üzere, çoğunlukla gelişmekte olan ülkelerde görülen iki çeşit malnütrisyonla bağıntılı diabet vardır. Bu hastalıkların etyolojisi tam olarak bilinmez. Ancak fibrokalkülöz diabette görülen pankreas kanalcıklarında kalsiyum birikmesinin manyok ağacı “cassava” kökü tüketilmesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir²³.

2.1.1.3. Genetik Hastalıklara Bağlı Diğer Diabetler

Diabetes Mellitus çocukluk döneminde sinir sistemi ve nöroendokrin sistemi kapsayan nadir görülen sendromların (DIDMOAD: Diabet İnsipidus, Diabet Mellitus, optik atrofi ve sağırılık) bir parçası olabilmektedir. Bu rahatsızlıkların genetik kalıtımı hala bir soru işaretidir. Bunlar aynı anne ve babadan doğan çocuklarda ya da aynı kan bağındaki aile fertlerinde görülür¹⁹. Down Sendromu, Klinefelter’s Sendromu ve Turner Sendromunda artmış diabet insidansı, Wolfram Sendromu’nda da insülin eksikliğine bağlı diabet mevcuttur^{22,40}.

2.1.1.4. Sekonder Diabet

Sekonder Diabet; ilaçlar, hastalıklar veya cerrahi tarafından pankreasın harab edilmesiyle oluşur³⁰. Kronik pankreatitis ve hemokromatozis gibi pankreatik bozukluklar β hücrelerinin harab olmasına yol açabilir. İnsülin reseptörlerinin doğumsal anomalileri ve bunlara karşı antikorların oluşması diabetin nadir sebepleri arasındadır^{19,23,30} (Şekil IV).



Şekil IV: Sekonder diabetin etyolojisi¹⁹

2.1.1.4.1. Cerrahi

Pankreasın en az dörtte üçü, kalan dörtte bir sağlıklı ise, cerrahi müdahale ile çıkarılabilmekte ve diyabet oluşmamaktadır¹⁹.

2.1.1.4.2. Hastalıklar

Akut pankreatit, sıklıkla diyabete neden olabilir. Kronik pankreatit eğer alkolizme bağlı ise; endokrin ve ekzokrin hücrelerinin her ikisinde ilerlemiş hasarına öncülük eder ve sonunda diyabet oluşur. Pankreatik bölgedeki kalsifikasyon X-ray’de görülebilir. Diyabete bağlı kalsifiye pankreatite, tropikal ülkelerde daha sık rastlanır¹⁹.

Hemokromatozis; demirin testis, pankreas, kalp ve karaciğer gibi çeşitli organlarda aşırı birikmesi şeklinde oluşan kalıtsal bir hastalıktır. Dokuların fibrozisi diyabete ve siroza öncülük edebilmektedir. Pankreas karsinomu da, pankreasta yaygın hasar oluşturmaksızın diyabete öncülük eder¹⁹. Yaşlılarda görülen diyabette, düşük vücut ağırlığı, abdominal ya da sırt ağrısı görülüyorsa; bu diyabetin pankreas karsinomundan kaynaklanabileceği olasılığını düşündürmektedir^{19,30}.

2.1.1.4.3. İlaçlar

Hormonlardan başka, tiazid diüretikler, insülinin pankreas hücrelerinden salgılanmasını baskılayarak, sık sık, diyabetojenik etki oluşturabilir. Hipertansiyon tedavisinde kullanılan diazoksit, bu grubun en güçlü diyabetojenik ajanıdır ve pankreas hücre tümörlerinin oluşturduğu hipogliseminin tedavisinde kullanılabilmektedir. Streptozotosin, beta hücrelerinin üzerinde direkt harabiyet yaratan diğer bir ajandır ve deney hayvanlarında kullanılan ana maddedir. Alloksan da beta hücrelerinin diğer bir güçlü baskılayıcısıdır^{19,30}.

2.1.1.4.4. Hormonal Dengesizlik

İnsülin kanda glukoz düzeyini azaltan tek hormondur. Birçok hormonun başlıca hepatik glikojenin glukozla çevrilmesinde (glikojenoliz) ya da karaciğerde glukozun formasyonunun artmasında (glukoneogenez), rolü olduğu bilinmektedir¹⁹.

Kortizon: Kortizon, hepatik glukoneogenezi artırır ve glukozun periferik kullanımını bloke eder. Kortizon tedavi nedeniyle verildiğinde; özellikle dozun fazla ya da periyodun uzun olması halinde (astım, SLE gibi), sık sık diyabete yol açabilir¹⁹.

Büyüme Hormonu: Büyüme hormonu lipolizi stimüle etmesiyle ve gliserolun mobilizasyonu ile diabetik etki gösterir ve böylece insülinin periferik etkisine engel olur. Deneyisel olarak büyüme hormonunun tekrarlanan enjeksiyonunun hayvanlarda diabete neden olabileceği belirlenmiştir. Klinik çalışmalar göstermiştir ki; akromegalili hastaların yaklaşık dörtte birinde diabet görülebilir¹⁹.

Glukagon: Glukagon pankreasın alfa hücrelerinden üretilir ve insülin karşıtı bir etki gösterir. Karaciğer glikojenini glukozla dönüştürür ve fazla insülinün neden olduğu hipoglisemi ataklarının tedavisinde terapötik olarak kullanılabilir. Ayrıca lipolizi artırır. İnsüline bağlı diabette, glukagon seviyesi normalden yüksektir ve bu yükseklik hiperglisemi ve ketozisin artışında rol oynayabilir. Alfa hücrelerinin tümörleri (glukagonoma)de hafif diabete öncülük eder¹⁹.

Adrenalin: Adrenalin hepatik glikojenden glukozu mobilize eden diğer hormondur. Adrenal medulla tümörleri tarafından fazla üretildiği zaman, diabet oluşabilir¹⁹.

Tiroksin: Tiroksin hepatik glukoneogenezi yükseltir ve glukozun intestinal absorpsiyonunu artırır. Tirotoksikozis, glukoz toleransının azalmasına ve sık sık glukozüri görünmesine rağmen, nadiren de olsa diabete neden olabilir¹⁹.

Östrojen: Östrojen glukoz toleransını azaltır¹⁹.

2.1.1.5. Gestasyonel Diabetes Mellitus

Gestasyonel diabet gebelik döneminde oluşmakta ve bu süreçte renal eşğin düşmesine bağlı olarak, diabet olmaksızın glikozüri görülmektedir. Anne ve fetusta yüksek kan glukoz düzeylerine ilişkin komplikasyonlar görülebileceği için, diabetin tanısı ve bu tanıya uygun tedavisi önemlidir. Olguların çoğunda, glukoz toleransı doğumdan sonra normale dönmüşse de; bir kısım gebede, ileride gerçek diabet gelişebilmiştir^{21,23}.

2.1.2. Erişkinlerde Diabetin Tanı Kriterleri

- a) Poliüri, polidipsi, ketonüri ve hızlı kilo kaybı gibi diabetin klasik semptomlarının varlığı, plazma glukoz yüksekliği ile birlikte ise, ($\geq 200\text{mg/dL}$ olmalı)
- b) Birden fazla ölçümde, açlıkta venöz plazma glukoz konsantrasyonu 126g/dl (7.8mmol/L den) yüksek ise,
- c) Açlıkta glukoz konsantrasyonunun b'de belirtilen değerin altında olmasına rağmen; birden fazla yapılan oral glukoz tolerans testinde, glukoz konsantrasyonunun yüksek

olması, 75g glukoz verildikten iki saat sonra ve serum glukoz konsantrasyonunun 200mg/dl (11.1 mmol/L) üzerinde olması gerekir.

2.1.3. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları

Diabetin kronik komplikasyonları üç grupta toplanabilir:

1. Diabete özgü olan mikrovasküler hastalık küçük damarları tutar, klinikte göz ve böbrek hastalığı olarak kendini gösterir.
2. Makrovasküler hastalık orta ve büyük damarları tutar, klinikte koroner, serebral ve periferik vasküler hastalık olarak ortaya çıkar. Makrovasküler hastalık diabetik olmayanlarda görülen şekle benzer ancak özellikle bacaklar ve ayaklar olmak üzere ekstremiteleri tutma eğilimi daha fazladır.
3. Nöropati, motor sensoryel, kranial ve otonomik sinirleri tutar.

Diabetiklerde ayrıca ülserler, özellikle bacaklarda nekrobiosis lipoidika diabetikorum ve diabetik dermopati de görülebilmektedir³⁰.

Diabetik Mikroanjiopati

Göz:Diabetik retinopati çok yaygındır. Kapiller damar defekti , kan retinal bariyerindeki değişiklikler, retinal metabolizmanın anomaliliği şeklindedir¹⁹.

Böbrek: Diabetik nefropati Tip I diabetiklerde hastalığın başlamasından 15-20 yıl sonra, yaklaşık olarak %50 oranında görülmektedir. Nefropati Tip II diabetiklerde daha seyrek görülür. Proteinüri, diabetik nefropatinin en sık rastlanan belirtisidir^{19,21}.

Makrovaskuler Hastalıklar

Vaskuler Hastalıklar

Aterosklerozis: Öncelikle orta ve büyük arterlerde oluşur. İntimanın fibrozisi ve subintimal yağ plaklarının formasyonu ile karakterizedir. Plaklar, trombus formasyonu için uygun yüzey sağlar ve sonuçta lumen oklüze olur. Bu patolojik değişiklikler diabete spesifik olmamasına rağmen; diabetiklerde, erken yaşlarda oluşur. Nondiabetiklerdeki aterosklerozis çoğunlukla büyük damarlarda (aort, iliak damarlar, femoral ve popliteal) görülmesine rağmen, diabetiklerde küçük damarlarda (popliteal ve tibialde) oluşur¹⁹.

Hyalin arteriosklerozis, hipertansiyon ile ilişkili olan ve diabetiklerde normalden daha şiddetli ve daha yüksek oranda bulunan vasküler bir lezyondur. Arteriol duvarında arter lümeninin daralmasına neden olan amorf eozinofilik bir kalınlaşma şeklidir³¹.

İskemik Kalp Hastalıkları: Koroner trombozis, diabetiklerde ölümün en yaygın ve tek nedenini oluşturur. Kontrol edilemeyen kronik hiperglisemisi olan diabetik hastalarda arterial duvarda mukopolisakkaridlerin sentezinin artışı görülür. İnsülin eksikliğinin aterosklerotik olduğu söylenebilir. Diabetiklerde ateroma için epidemiyolojik risk faktörleri, genel popülasyondan daha yaygındır¹⁹.

Periferik Vasküler Hastalıklar: Alt ekstremitedeki arterlerin oklüzyonu ve daralması, yürüyüşte ağrı ve topallamaya neden olur. Oklüzyonlar damarlardaki akut vazokonstriksiyon sonrası trombus oluşmasından ve kardiyak emboliden kaynaklanır¹⁹.

Deri: Damar yetmezliğinin ve diabetiklerin enfeksiyonlara yatkınlığının sonucu olarak en sık görülen deri enfeksiyonudur³¹.

Nöropati: Diabetik nöropati, diabetin en önemli komplikasyonlarından biri olup, önemli derecede morbiditeye neden olur. Ağrı, uyuşukluk, ekstremitelerde yanma hissi, baş dönmesi gibi semptomları vardır²¹.

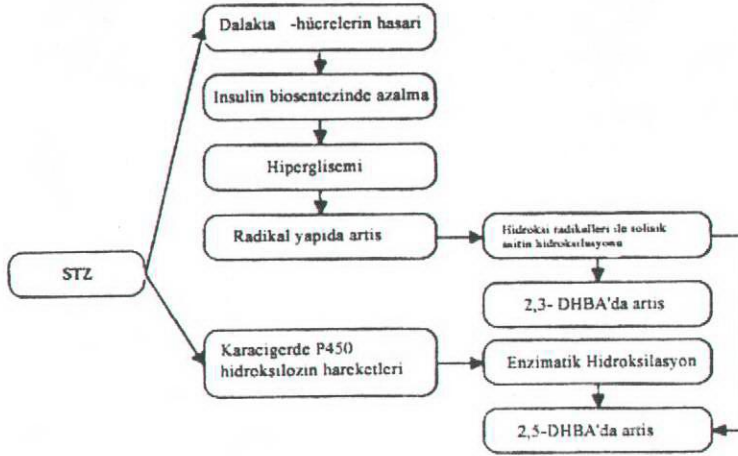
2.1.4. Diabette Serbest Radikallerin Rolü

Diabetin ve komplikasyonlarının patogeneğinde, oksidatif stres önemli yer tutmaktadır. Nonenzimatik glikozilasyon, enerji metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan metabolik stres, sorbitol yol aktivitesi, hipoksi ve iskemik reperfüzyon sonucu oluşan doku hasarı, enfeksiyonlar ve antioksidan savunma sistemindeki değişiklikler diabette oksidatif stresi artıran mekanizmalardır^{41,42}.

Deneyisel hayvan çalışmalarında insanlardakine benzer diabet oluşturmak için streptozotosin (STZ) kullanılmaktadır^{43,44,42}. Bu ilaç oksidan maddeler meydana getirerek langerhans adacıklarını selektif olarak tahrip etmektedir. STZ; N-nitroso türevi D- glukozamin yapısındadır ve beta hücrelerine spesifiktir. STZ' nin uygun olmayan NO cevapları vererek diabeti başlattığı düşünülmektedir^{40,42}.

STZ'nin beta hücrelerindeki nikotin adenin dinükleotid (NAD)'nin sentezini azaltıp, yıkımını artırdığı saptanmıştır^{40,42}. Nikotinamid verilen hayvanlarda beta hücrelerinin, STZ toksisitesine karşı korunduğu görülmüştür. Desferoksamin,

düşük dozlarda tekrarlanan STZ'nin verdiği diabeti önlerken⁴¹, 3-O metil glukoz ise, buna karşı beta hücrelerini korumaktadır^{40,45} (Şekil V).



Şekil V: STZ ile oluşturulan diabette 2,5-DHBA ve 2,3-DHBA biosentez yolu⁴⁵.

Diabetlilerin plazma lipoproteinlerinde, eritrosit membran lipidlerinde ve çeşitli dokularında lipid peroksidasyonunun arttığı, yapılan çalışmalar sonucu görülmüştür. Bu artışın daha fazla enzimatik (araksidonik asit yolu) ya da nonenzimatik lipid peroksidasyonundan mı kaynaklandığı bilinmemektedir. Lipit peroksidasyonu, hem yaygın vasküler inflamasyon sonucu aktifleşen lipooksijenaz yolu ile prostaglandinlerden, hem de serbest radikaller ve geçiş metallerinin etkisi ile endotelial ve fagositik hücrelerin membranlarında bulunan lipidlerden, nonenzimatik yolla oluşmaktadır. Daha sonra her iki yola ait ürünlerin, karşılıklı olarak birbirlerini aktive ederek, lipid peroksidasyonunu artırdıkları görülmüştür⁴¹. Retinopatili ve anjiopatili NIDDM'lu hastalarda da, lipid peroksidasyon ürünlerinde (TBARS) artış görülmüştür^{47,46,42}.

Vasküler komplikasyonları olan diabetli hastaların, lipid metabolizmasında yapısal değişiklikler olmakta, özellikle LDL'nin oksidasyona eğilimi artmaktadır. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar sonucu, plazma lipid peroksitleri düzeyindeki artışın, diabetten çok, vasküler hastalığın kendisi ve hipertrigliseridemi ile ilişkili olduğu bulunmuştur^{46,41,48,42}.

Diabetlilerde, lipitlere ilaveten protein oksidasyonu da artmaktadır. Özellikle kolajen, elastin ve myelin kılıfındaki ekstrasellüler proteinlerin oksidasyonu sonucu; lens , damar, basal membran gibi dokularda katarakt, mikroanjiopati, ateroskleroz ve nefropati gibi diabetik komplikasyonlar oluşmaktadır^{49,50,41,38}.

2.2. İNSÜLİN

2.2.1. İnsülinin Tanımı

İnsülin direkt ya da indirekt olarak vücuttaki bütün dokuları etkileyen, glukoz, amino asitler ve lipitler gibi besin olarak alınan maddelerin çoğunun hücreler içinde tutulup depo edilmesini sağlayan ve homeostazına katkıda bulunan antikatabolik ve anabolik hormondur⁵¹. İnsülinin başlıca görevi kan glukozunu düşürmektir. İnsülin ayrıca glukoz metabolizmasını hızlandırır ve dokularda glikojen birikimini artırır⁵².

İlaç olarak tedaviye 1922'de girmiştir. Pankreas langerhans adacıklarında 4 tip hücre bulunur(Tablo-IV). İnsülin bunlardan beta hücrelerinde üretilir ve ada içinde yaklaşık %70 oranında bulunur^{53,54}.

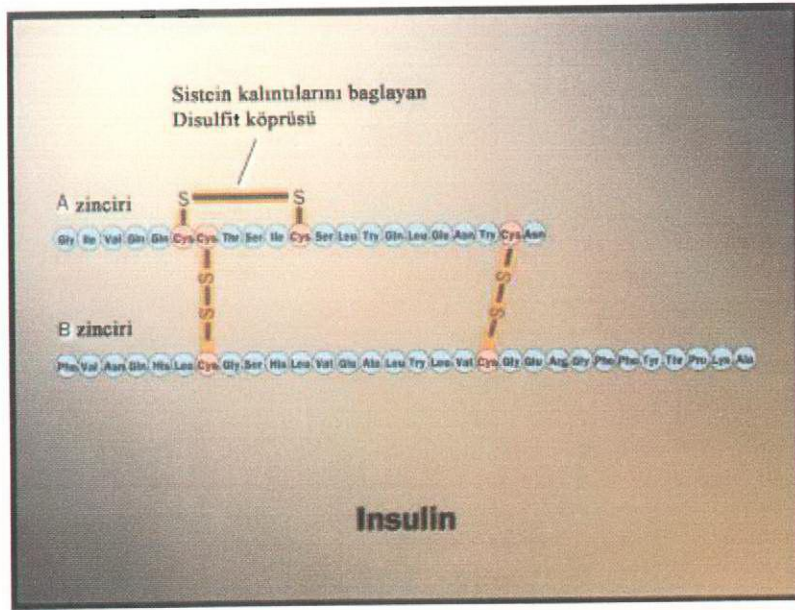
Tablo IV: Pankreasın Langerhans adacıklarındaki hücre tipleri ⁵⁴

HÜCRE TİPİ	ADA İÇİNDEKİ MİKTARI	ÜRETİLEN HORMON
A(alfa)	%25	Glukagon
B(beta)	%70	İnsülin
D(delta)	%5	Somatostatin
F(PP)	eser miktarda	Pankreatik polipeptid

2.2.2.İnsülinin Yapısı

İnsülin polipeptit yapılı ve yaklaşık 6000 molekül ağırlığında bir hormondur. Molekül, iki amino asit zincirinden oluşur. Kısa olan A zincirinde 21 amino asit, daha uzun olan B zincirinde ise 30 amino asit bulunur. Zincirler birbirine iki disülfid (-S-S-) köprüsü ile bağlanmıştır. Bu köprülerin her ikisi de zincirlerdeki sistein rezidüleri arasında yer alır. A zinciri üzerinde yine sistein amino asitleri arasında yer alan zincir içi bir disülfid köprüsü bulunur^{51,21,56,55,54}(Şekil VI).

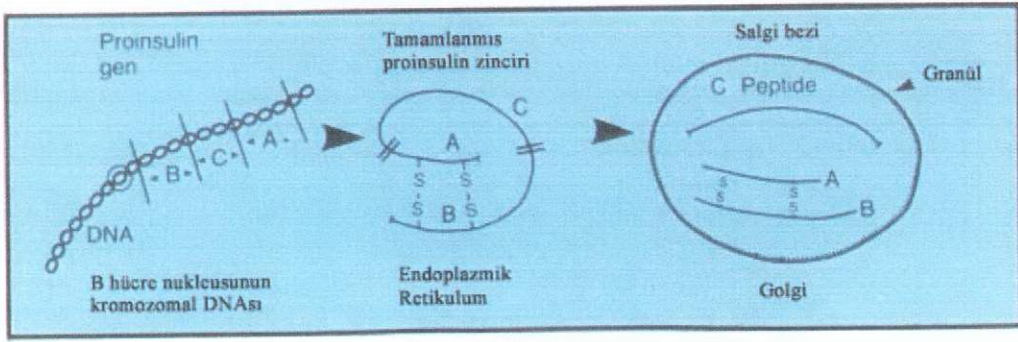
İnsan insülin geni, 11. kromozomun kısa kolunda yerleşmiştir (M.A.5808 daltondur). Domuz insülini insan insülininden , B zincirinin C-terminalinde threonin yerine alanin geçmesiyle farklıyken, sığır insülini 3. aminoasidin pozisyonuyla farklıdır^{24,21,54}.



Şekil VI: İnsan İnsülinin Yapısı⁵⁴

İnsülin pankreasın Langerhans adacıklarındaki beta hücrelerinde sentez edilir. Pankreasta ekzokrin bezlerin asinusları arasına yayılmış yüzbinlerce Langerhans adacığı bulunur. Bunların toplam kitlesi pankreas kitlesinin yaklaşık %2-3'üne eşittir. Langerhans adacıklarında en az 4 tip hücre bulunur ve A, B(beta), D ve F hücreleri diye adlandırılır. İnsülin sentez eden beta hücreleri adacık içindeki hücrelerin %70'ını oluşturur. Beta hücrelerde, endoplazmik retikulumda, önce insülinin ilk prekürsörü olan preproinsülin (M.A. 12.000 dalton) sentez edilir⁵¹.

Preproinsülin 109 amino asit içeren bir peptittir, ribozomlarda oluşuktan sonra hemen endoplazmik retikulum içine geçer ve 23 amino asitli hidrofobik pre-bölgesini kaybeder. Böylece 86 amino asitli proinsüline dönüşür.(Şekil VII) Golgi içindeki mikroveziküllere giren proinsülin orada, proteazların etkisi ile C peptid segmentini kaybeder. Olgunlaşan veziküller golgiden sitoplazma içine geçerler. C peptidinin kopması insülinin çözünürlüğünü azaltır ve onun çinko iyonu ile birlikte heksamerik kristaller halinde çökmesine neden olur. Kristallerde 6 molekül insülin, yanında da iki tane çinko iyonu bulunur. İnsülin parsiyel ekzositozla hücreden salgılanırken, onunla birlikte çinko ve az miktarda C peptidi de salgılanır. Normal durumda salgılanan hormonun %95'i insülin ve %5'i proinsülinindir^{51,54}.



Şekil VII: Beta hücre stoplazmasında insülin sentezi¹⁹.

İnsülinin hücre büyümesi ve çoğalması üzerine olan etkilerini, IGF-I ve IGF-II'nin benzer etkilerinden ayırt etmek güçtür. IGF-I ve IGF-II arasında %62 oranında benzerlik vardır ve bu iki hormon, kalıntılarının %50'si yönünden insüline özdeştir. İnsülin daha güçlü metabolik hormon iken, IGF'ler büyümeyi daha güçlü uyarır. IGF-I ve insülin sinyal iletimini tirozin kinaz aracılığıyla gösterirler. IGF-II'nin metabolik yolu, mannoz 6-fosfat metabolik yolu ile aynı ya da onunla çok sıkı ilişkilidir⁵⁴.

İnsülinin plazmadaki yarılanma ömrü 10 dakika kadardır. Karaciğer hücreleri ve diğer hedef hücreleri tarafından internalizasyonla alındığından ve oralarda uzunca bir süre tutulduğundan, etkisi plazmadaki yarılanma ömrüne göre çok daha uzun(yaklaşık 3 saat) sürer⁵¹.

2.2.3. İnsülinin Salınımı

Açlıkta insülinin bazal salınımı 10 mikroU/ml iken standart bir yemekten sonra 100 mikroU/ml kadardır. Plazma glukoz düzeyi 80-1mg/dl iken insülin salınımını uyarmaz. Dolaşımdaki insülin sabaha karşı, 04⁰⁰-08⁰⁰ saatleri arası en yüksektir^{53,57,58}. İnsan pankreası günde 40-50 ünite insülin sentezler ve salgılar^{56,54}.

Beta hücrelerinden insülin salıverilmesi, insülin depolayan veziküllerin, muhtemelen intrasellüler mikrotübüller aracılığı ile, hücre membranının iç yüzüne taşınması, membranın yapışma noktasından delinmesi ve vezikülün hücre dışına atılması şeklinde olur. Vezikülün dışarı atılması ile kendini gösteren bu ekzositoza emiyositoz adı verilir. Beta hücresi stimülasyonu ile insülin salıverilmesi arasındaki bağlantıyı Ca^{++} sağlar. Bu yolda siklik AMP'nin ve fosfoinozitid hidrolizi sonucu hücrede oluşan inozitol trifosfatın (İP₃'ün) da katkısı vardır. Ca^{++} hücre içinde

kalmomodulin ve ona bağılı bir protein kinaz aracılığı ile, insülin veziküllerinin hücrenin içinden membranın iç yüzüne taşınmalarını ve emiyositoza uğramak üzere yapışmalarını sağlar. cAMP ve IP_3 mitokondriler ve endoplazmik retikulumdan Ca^{++} salıverilmesine neden olur^{51,59}.

Beta hücrelerinin doğal uyararı, yenilen besinlerdir. Beta hücrelerinin en duyarlı olduğu uyararı, besin öğeleri içinde bulunan glukozdur^{51,31,59}. Bu hücrelerin membranı üzerinde glukozu özgü reseptörler bulunur (GLUT-2) ve bunlara glukoreseptörler adı verilir. Glukozun yaptığı insülin salgılanması bifaziktir. Glukoreseptörler kalsiyum kanallarını açarak, kanallardan hücre içine giren Ca^{++} 'un aracılığı ile, glukozu bağılı insülin salıverilmesini başlatır. Salıverilmenin bu başlangıç dönemi kısa sürer ve bunu takiben salınım hızı azalır fakat daha sonra uzun süreli bir yükselme olur^{53,51}. Glukozun yaptığı salıverilmenin bu ikinci döneminde, beta hücrelerinin içine giren glukozdan glukokinazın yardımıyla oluşan metabolitleri de rol oynarlar⁵¹. Bu dönemde insülinin sentez hızı da artmıştır. Başlangıç döneminde, sadece önceden- depolanmış insülin salıverildiği halde, ikinci dönemde hem depolanmış ve hem de yeni sentez edilmiş insülin salıverilir⁵¹.

Glukozun yaptığı bifazik insülin salgılanmasının ikinci fazına ise membranda fosfoinozitol hidrolizinin artması ile protein kinaz C'nin aktivasyonunun aracılık ettiği bulunmuştur. İkinci faz forbol esterleri tarafından taklit edilebilir. Fosfoinozitol hidrolizi, oluşturduğu inozitol trifosfat ile hücre içindeki depolardan kalsiyum salıverilmesini artırarak, Ca^{++} aracılığı ile de etkili olur. Ayrıca, beta hücrelerinde glukozun metabolize edilmesi (glukoz), intrasellüler ATP düzeyini yükseltir. Böylece; ATP'ye -duyarlı K^+ kanallarını kapatarak hücrede depolarizasyona neden olur ve insülin salgılanmasını artırır^{51,20,59}.

2.2.4. İnsülin Salınımının Düzenlenmesi

Sentezlenen insülinin %15-20'si pankreas bezinde depolanırken, geri kalanı dolaşıma verilir. Pankreas tarafından salgılanan insülin ve glukagon miktarları, periferik dokuların glukoz kullanımıyla orantılı olarak düzenlenmektedir. İnsülin salgılanmasını düzenleyen faktörler TabloV'de görülmektedir⁴³.

Tablo V : İnsülin Salınımının Kontrolü⁴³

İnsülin salgılanmasını uyaranlar
Glukoz, mannoz Lösın Vagal stimölasyon Sülfonilüreler
Glukoz bağımlı insülin salınımını artıranlar
1. Enterik hormonlar Gastrin inhibitör polipeptit, kolesistokinin Sekretin, pankreozimin, gastrin 2. Nöral : Beta adrenerjik uyarı Hücre içi cAMP'yi artırarak Ca ile mikrotübüler- mikroflament sistemi aktive ederek 3. Aminoasitler : Arginin
İnsülin salınımını inhibe edenler
Nöral : Alfa adrenerjik etki gösteren katekolaminler Humoral : Somatostatin İlaçlar : Diazoksit, fentoin, vinblastin, kolşisin

Pankreasın beta hücrelerinden insülinin salıverilmesi, çok faktörlü, karmaşık nitelikte bir kontrol altındadır. Salıverilmeyi düzenleyen başlıca faktörler:

1.Besın Öğeleri: Bunlar yemek sırasında insülinin salınmasını düzenleyen başlıca etkenleri oluşturlar.

a)Karbohidratlar: Glukoz, fruktoz ve mannoz, insülin salgılanması üzerinde etkili doğal şekerlerdir. İnsülin sekresyonunun düzenlenmesinde plazma glukoz konsantrasyonunun artışı, en önemli faktördür^{24,60}. Glukoz insülin reseptörü ile birleşir ve beta hücre membranına lokalize olarak, salınma mekanizmasını aktive eder^{60,61,51}.

b) Amino Asitler: Proteinlerin sindirilmesi sonucu oluşan amino asitlerin hepsi, insülin salıverilmesini az ya da çok artırır. En güçlü salıverici amino asit arginindir ve glukoz eşliğinde etkinlik gösterir. Bu maddenin gösterdiği etkinlik amplifikatördür ve glukozun insülin salgılatıcı etkisini amplifiye eder. Lösın zayıf etkinlik gösterir fakat glukozdan bağımsız bir şekilde direkt etkiliyerek salgılamayı artırır^{51,54,56}.

c)Yağ Asitleri: Yağlı besinlerin sindirimi sonucu oluşan ya da i.v. infüzyonla verilen yağ asitleri insülin salıverilmesini artırır. Yağlı besinlerin insülin salgısını artırmalarında, yağ asitlerinin barsaktan salgılanmasını artırdıkları gastrik inhibitör polipeptid (GİP) aracılık eder. Ancak bu asitlerin beta hücreleri üzerinde direkt etkileri de vardır ve i.v infüzyonla yağ asidi uygulandığında insülin düzeyi yükselir⁵¹.

2. Mide-Barsak Hormonları: Sindirim sonucu besinlerden oluşan öğelerin absorpsiyonu, mide ve barsak mukozasından “barsak hormonları”nın salınmasına neden

olur. Bunlar gastrik inhibitör polipeptit, gastrin, sekretin, kolesistokinin ve enteroglukagondur⁵¹.

3.Glukagon: Karbohidrat metabolizmasının düzenlenmesinde insülinle birlikte en önemli rol oynayan pankreas hormonudur. Bu fonksiyonunu, gerek karbohidrat metabolizması üzerindeki direkt etkisiyle ve gerekse insülin salgılanmasını artırmak suretiyle yapar^{51,23,55}.

4.Diğer Hormonlar: Aşağıda sayılan diğer hormonlar, beta hücrelerinden salgılamayı, plazmadaki substrat düzeyini değiştirmek suretiyle indirekt olarak etkilerler. Bu hormonlar; büyüme hormonu ve somatomedinler, kortizol, estrogenler, progesteron ve somatomamotropindir. Büyüme hormonu, kortizol, plasental laktojen ve östrojen seviyelerinin uzunca süre yüksek seyretmesi durumunda, insülin salınımı artmaktadır. Gebeliğin ileri dönemlerinde görülen insülin sekresyonundaki artış da buna bağlanmaktadır^{40,62,51,23}. Alfa-adrenerjik etki gösterenler (epinefrin), insülin salınımını inhibe ederken, beta adrenerjik agonistler hücre içi cAMP düzeylerini artırarak insülin salınımını uyarırlar⁶³.

5.Sinirsel Düzenleme: Sinirsel düzenleme; yemekler arasında kalan süre içinde ve aç kalma durumunda, çevredeki değişikliklere ve stres durumlarına verilen cevaplar sırasında insülin salgılanmasında ve dolayısıyla gliseminin düzenlenmesinde önemli rol oynar⁵¹.

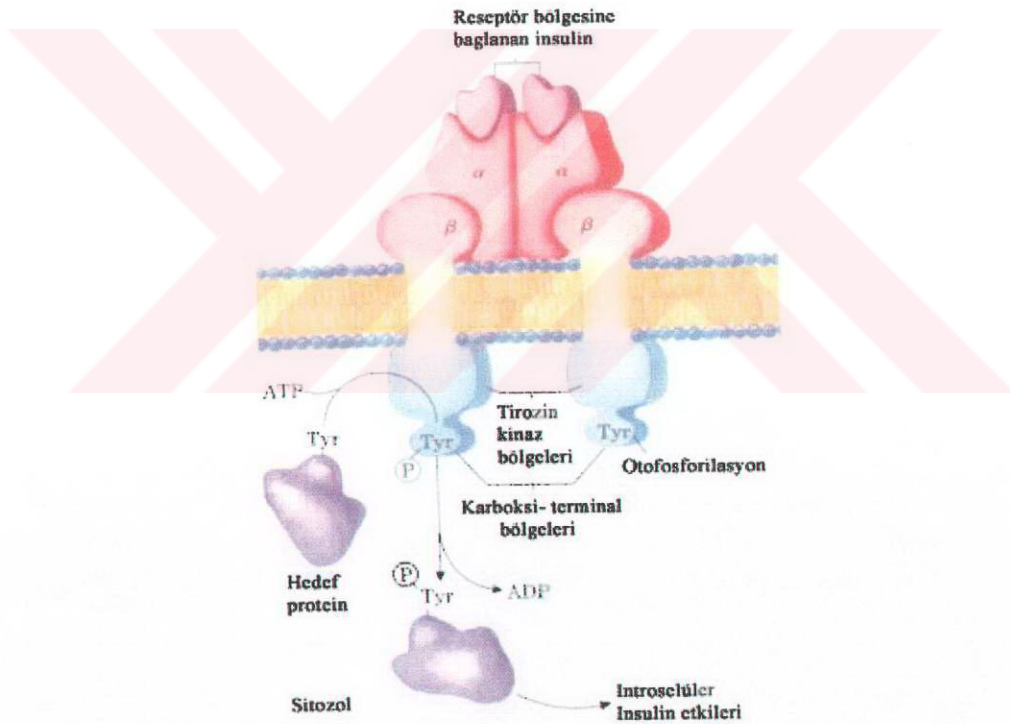
6.Diğer Etkenler: Somatostatin, adacıkların D hücrelerinden salgılanır ve gerek insülin ve gerekse glukagon salgılanmasını güçlü bir şekilde inhibe eder⁵¹.

7. Bazı İlaçlar: Bazı ilaçlar insülin sekresyonunu artırırlar. Örneğin sülfanilüre bileşikler bu amaçla, insanlarda, tedavide, sık olarak kullanılmaktadır. Bu gruptan tolbutamid, farklı bir mekanizma ile glukoz kullanarak insülin sekresyonunu arttırmaktadır^{40,54,62}.

2.2.5. İnsülin Reseptörü ve İlgili Mekanizmalar

İnsülin karaciğer, kas ve yağ dokusu gibi çoğu dokuda hücre membranlarında bulunan yüksek afiniteli özgün reseptörlerine bağlanır. İnsülin reseptörü (450.000 dalton) tek bir polipeptid olarak sentezlenir ve glikozillenir. Hedef hücrelerin sitoplazma membranında yerleşerek, alfa-beta alt birimlerine ayrılır^{51,64,55}.

Alt birimleri gerek kendi içlerindeki ve gerekse kendi aralarındaki disülfid köprüleri ile kovalent bir şekilde bağlanmışlardır. İnsülin reseptörünün iki alfa alt biriminin tamamı hücre dışında yer alıp, sisteinden zengin bölümüyle insüline spesifik olarak bağlanma bölgesi içerir. Beta alt birimleri membranın içine girmiştir ve membranın iç yüzünden sitoplazmaya taşan bölümleri tirozin kinaz etkinliği gösterir. Beta alt birimlerinin içerdiği protein kinaz aktivitesi spesifik hedef proteinlerde ATP'nin fosforil grubunu tirozin rezidülerinin hidroksil grubuna transfer eder. Beta alt biriminin bir kısmı alfa alt ünitesine bağlanır 20 aminoasitlik hidrofobik bölümü ise plazma membranı içinde yer alır^{53,57,64,65}. İnsülin molekülünün reseptöre bağlanarak onu aktive etmesi tirozin kinaz etkinliğini artırır. Tirozin kinaz etkinliği ise sinyal iletimi için gereklidir^{51,24,66} (Şekil VIII).



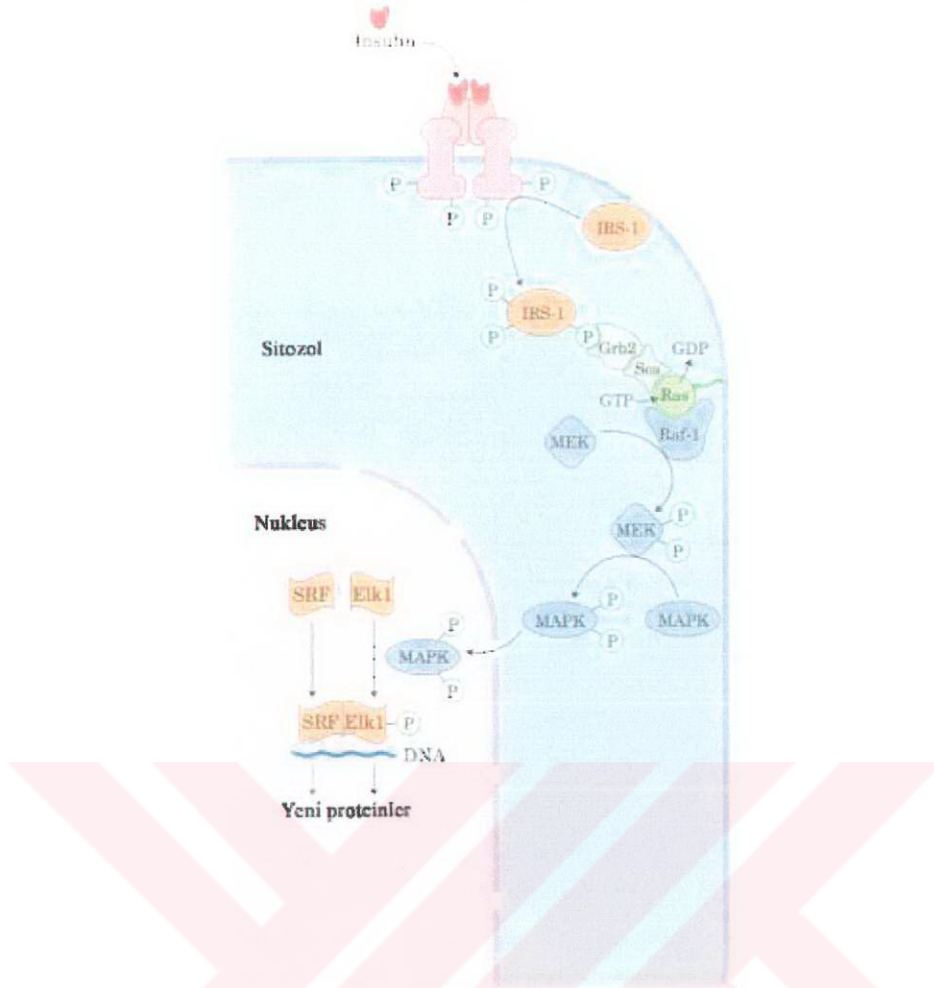
Şekil VIII: İnsülin reseptörü⁶⁶.

İnsülin moleküllerinin reseptöre bağlanması bir yandan hücre içinde insülinin etkisini başlatan sinyali oluştururken, öte yandan insülin- reseptör kompleksinin membrandan sitoplazmaya geçmesine yol açar. İnsülin-reseptör

kompleksi daha sonra sitoplazma içindeki lizozomlara geçer, burada insülin yıkılır ve reseptör sitoplazma membranına dönerek orada tekrar kullanılır⁵¹. İnsülin, metabolizma ve gen ekspresyonunu regüle etmektedir. İnsülin sinyali, insülin sensitif metabolik enzimlere ve nukleusa plazma membran reseptörlerini geçerek ulaşır. Bu yol spesifik genlerin transkripsiyonunu stimüle etmektedir⁶⁶.

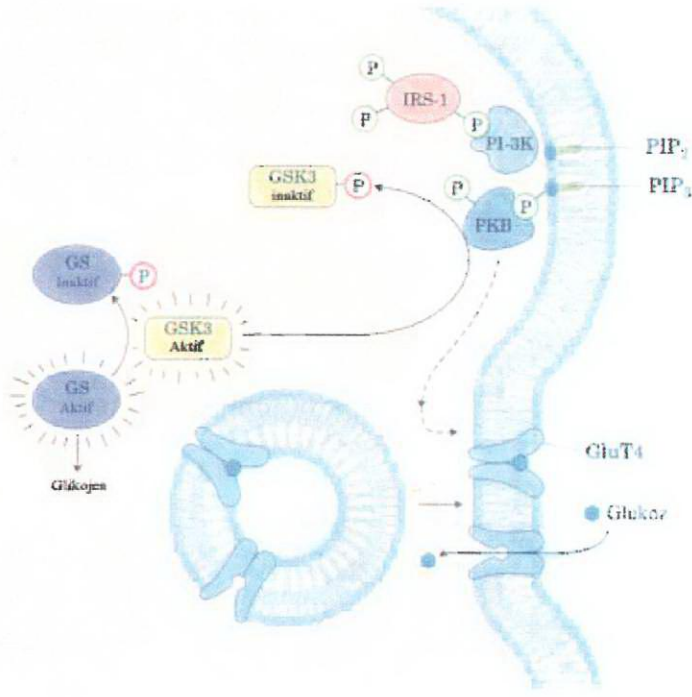
Halen bilinen bir nokta, reseptörün ve dolayısıyla tirozin kinazın aktive edilmesinin, reseptör proteininin sitoplazmaya bakan kısmında fosforilasyon yapmasıdır (otofosforilasyon). Otofosforilasyon aktive edilen tirozin kinazın etkinliğini daha da artırır ve uzatır. Hücre kültürlerinde reseptör molekülünün tirozin kinaz kısmının oluşmasını bozan deneysel mutasyonun, insülinin hücredeki bilinen metabolik etkilerinin meydana gelmesini ve internalizasyonunu engellediği gösterilmiştir. İnsanda obezite ve Tip II Diabet gibi insülin rezistansının geliştiği durumlarda reseptörün tirozin kinaz aktivitesinde bozulma olduğu gözlenmiştir⁵¹.

Otofosforilasyonun başlaması diğer hedef proteinlerin tirozin rezidülerinin fosforile olmasına sebep olmaktadır. Bu hedef proteinlerden bir tanesi insülin reseptör substrat 1 (IRS-1)'dir⁶⁶. Bu kompleks proteinler, mesajları insülin reseptöründen sitozol ve nukleustaki son hedefe taşımaktadır. İlk olarak IRS-1'de bulunan tirozin P rezidusu, Grb2 proteinindeki SH2 bölgesine bağlanır. Grb2, zincirdeki diğer proteini çalıştırır ki bu SOS'u etkileyerek büyüyen kompleksi oluşturur. SOS (guanin nükleotidi yer değiştirme faktörü) Grb2'ye bağlandıktan sonra GDP Ras üzerindeki GTP ile yer değiştirmesini katalize eder. GTP, guanozin nükleotit bağlayan protein ailesindendir ve bir çok sinyal iletimini kontrol etmektedir. GTP bağlandıktan sonra, Raf-1 (MAPK kinaz kinaz) olarak bilinen protein kinaz Ras aracılığı ile aktive edilir. Raf-1, üç protein kinazdan ilkidir. Diğerleri MEK (mitojen aktive edici kinaz) ve MAPK (mitojen aktive edici protein kinaz)'dır. Bunlar bir kaskad olarak bilinmekte ve her biri diğer fosforilasyonu aktive etmektedir. Son protein kinaz MAPK, tirozin ve tirozin rezidülerinin fosforilasyonu ile aktive edilir. Aktive olduğunda nukleusa girerek ve ELK-1 (ekstracelüler düzenleyici kinaz) gibi proteinleri fosforile ederek, insülinin biyolojik etkilerine ara buluculuk yapmaktadır. ELK-1, insülin tarafından regüle edilen bazı genlerin transkripsiyonunu yönlendirir⁶⁶(Şekil IX).



Şekil IX: İnsülin tarafından gen ekspresyonunun regülasyonu⁶⁶.

Fosforilasyon sadece Grb2'yi aktive etmekle kalmaz ve aynı zamanda IRS-I aracılığı ile fosfoinositol 3-kinaz (PI-3kinaz) SH2 domainlerine bağlanarak, aktive olur ve PI3K PIP_2 'yi PIP_3 'e dönüştürür. Aynı zamanda direkt olarak diğer kinaz, protein kinaz B (PKB)'yi aktive eder. PKB PIP_3 'e bağlandığında fosforile olur ve diğer bir protein kinaz PDK-I ile aktive olur. PKB daha sonra serin ve treonin residülerinin hedef proteinlerini fosforile eder. Bu hedef protein glikojen sentaz kinaz 3 (GSK-3)'dür. GSK-3 aktif ve nonfosforile formdayken glikojen sentazı fosforile eder, böylece inaktif olur ve glikojen sentezi yavaşlar. GSK-3, PKB ile fosforile olduğunda ise inaktiftir. Böylece glikojen sentazın inaktivasyonu önlenir. İnsülin ile başlatılan protein fosforilasyon kaskadı glikojen sentezini stimüle eder. PKB kanda glukoz uptakeini stimüle ederek internal vesiculerden plazma membranına olan glukoz transportör 4 (Glut 4)'ün hareketini sağlayarak glukozun kandan hücre içine girmesini uyarır. Böylelikle insülin Grb-2, SOS- Ras – MAPK yolağı ile gen ekspresyonunu ve PI3K- PKB yolağı ile de glikojen metabolizmasını etkilemektedir⁶⁶(Şekil X).



Şekil X: İnsülin tarafından glikojen sentezi aktivasyonu⁶⁶.

2.2.6. İnsülinin Metabolik Etkileri

İnsülinin direkt ya da indirekt olarak vücuttaki her dokuda etkisi olmasına karşın, enerji depolayan 3 büyük organ olan karaciğer, kas ve yağ dokusundaki hormonal etkileri de önemlidir. Ayrıca insülinin, pankreas adacıklarının komşu hücrelerinden salgılanan glukagon ve somatostatin arasındaki metabolizmanın düzenlenmesini içeren parakrin etkisi de vardır⁴⁰.

Amino asitler, glukagon kadar, insülin salınımını da uyarmaktadır. Bir yemek sırasında salgılanan adacık hormonlarının tip ve miktarı, alınan gıdalardaki karbohidrat/protein oranına bağlıdır. Yüksek karbohidrat içerikli gıdalar, aminoasitli gıdalara nazaran daha az glukagon salınmasına neden olur. Buna karşın protein içerikli bir gıda alındığı takdirde, glukagon sekresyonu daha fazla olmaktadır çünkü aminoasitler pankreatik A hücrelerinin potansiyel uyarıcısıdır. Ancak aminoasitler, hiperglisemik olmayan ortamda insülin salınımını, hiperglisemik ortama nazaran daha az uyarırlar^{54,67,53}.

İnsülinin endokrin etkileri karaciğerde, kas ve yağ dokusunda görülmektedir.

1) İnsülinin Karbohidrat Metabolizmasına Etkileri:

- a) Glukozun hücre membranından sitozole taşınmasını hızlandırır. Bu, özellikle kas ve yağ dokusunda belirgindir,
- b) Kas ve yağ dokusunda glikoliz sürecini hızlandırır,
- c) Kas, yağ dokusu ve karaciğer gibi bir çok dokuda glikojen sentezini stimüle eder. Ayrıca kas dokusunda ve karaciğerde glikojenin yıkılma hızını azaltır,
- d) Karaciğerde glikojenoliz ve glukoneogenezi baskılar,
- e) Karaciğerde ve yağ dokusunda pentoz fosfat yolundan glukozun oksidasyonunu hızlandırdığı da gösterilmiştir.

2) İnsülinin Lipit Metabolizmasına Etkileri:

- a) Yağ dokusunda lipolizi inhibe eder,
- b) Yağ dokusunda ve karaciğerde yağ asidi ve trigliserit sentezini hızlandırır:
 - i) Karaciğerde çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) oluşum hızını artırır
 - ii) Yağ dokusunda lipoprotein lipaz aktivitesini yükseltir ve kandan yağ dokusu içine trigliserit akışının hızlanmasına yol açar,
 - iii) Karaciğerdeki yağ asidi oksidasyon hızını azaltır,
 - iv) Karaciğerde kolesterol sentezini artırır.

3) İnsülin başta kas, karaciğer ve adiposit olmak üzere, pek çok dokuya amino asitlerin giriş hızını arttırdığı gibi;

- a) Yukarıda sayılan doku ve organlarda protein sentezini hızlandırmaktadır,
- b) Kasta, muhtemelen diğer dokularda da, protein yıkım hızını azaltmaktadır.

İnsülin, bir glukoneogenez ölçüsü olmak üzere, üre yapım hızını azaltmaktadır. İnsülinin bu etkileri, amino asit oksidasyonununun ziyade, protein sentezini destekleme yönündedir ve bu etki, hormonun pozitif azot dengesini sağlamaktadır^{68,69,51,24}.

İnsülin, K^+ iyonunun hücre içine girişini artırır. Bu etkisi glukozun hücreye girişinden bağımsızdır. Hiperkalemi tedavisinde insülinin bu etkisinden yararlanılmaktadır. Aynı şekilde Mg^{++} 'un hücre içine girişini de artırır^{56,52}.

Özet Olarak; insülin cAMP düzeyini fosfodiesterazı artırarak azaltır. Siklik AMP'ye bağlı fosforilasyon glikojen sentazı inaktive ettiği için, azalan düzeyleri enzimin aktif kalmasına yol açar. İnsülin, hücre içinde fosfatazların aktivasyonuna sebep olarak, ara metabolizmada rol oynayan pirüvat kinaz, pirüvat dehidrogenaz, fosfofruktokinaz, asetil-KoA karboksilaz, gliserol fosfat açıl transferaz, HMG-KoA redüktaz ve glikojen sentazı defosforile ederek aktif hale geçirir. Glikojen fosforilaz ve lipoprotein lipaz ise insülinin defosforilasyon ile inaktive ettiği enzimlerdir^{53,69}.

Tablo VI: İnsülin'in metabolik etkileri ²¹

DOKULAR			
	Karaciğer	Yağ dokusu	Kas
İnhibe ettikleri	Glikojenoliz	Lipoliz	Protein yıkımı
	Glukoneogenez		Amino asit salınımı
	Ketogenez		
Stimüle ettikleri	Glikojen ve yağ asit sentezi	Gliserol ve yağ asit sentezi	Glukoz alımı ve metabolizması
			Amino asit alımı
			Protein sentezi
			Glikogenezis

2.2.7. İnsülinin Katabolizması

İnsülin başlıca karaciğerde olmak üzere böbrek, plasenta gibi periferik dokularda yıkılmaktadır^{70,56,54}.

İnsülin iki farklı enzimatik yol ile katabolize olmaktadır :

A) İnsülin spesifik proteaz ; İskelet kasından saflaştırılmış olup, fizyolojik pH'da aktif ve sülfidril bağlarına spesifiktir.

B) Hepatik glutatyon-insülin transhidrogenaz enzimi ; enzimin katalitik etkisi altında A ve B zincirleri arasında disülfid köprüleri yıkıldıktan sonra, ayrılan zincirler ise proteolitik enzimler (insülinaz) tarafından parçalanmaktadır^{70,56,54,51,53}.

2.2.8. İnsülinin Yan Etkileri

İnsülin'in aşırı dozunun en önemli ve ciddi yan etkisi hipoglisemidir. Diabetin geç döneminde, normalde hipoglisemiye karşı koruyucu etki gösteren hormonlar (glukagon, epinefrin, kortizol ve büyüme hormonu) yeterli düzeyde salgılanamaz. Diğer etkiler lipodistrofi ve allerjik reaksiyonlardır^{20,51}.

2.2.9. İnsülin Preparatları

İnsülin preparatları etki sürelerine göre kısa , uzun ve orta etkili olarak üç gruba ayrılırlar. Bu üç grup arasında sadece etkinin devam süresi bakımından değil, fakat doğal olarak etkinin başlama süresi ve doruğa erişme süresi bakımından da fark vardır. İnsülinin etkisi ve etki süresi, hastadan hastaya değişmektedir. Aynı hastada insülinin subkutan absorpsiyonu zerk yerine göre değiştiği gibi, günden güne de farklıdır^{38,51,69}.

Kısa Etkili İnsülin Preparatları: Regüler insülin kısa etkili, çözünür, kristal yapısında çinko insülinidir. Kan şekerini dakikalar içinde düşürür. İntravenöz yolla uygulamaya uygun tek insülin preparatıdır^{20,51}.

Orta Etkili İnsülin Preparatları:

- a) **Semilente İnsülin;** Bu insülin tipi, insülinin çinko iyonu ile asetat tampionu içerisinde amorfik olarak çöktürülmesiyle elde edilir. Etkisinin ortaya çıkış ve maksimum etkiye ulaşma süresi kısadır^{20,51}.
- b) **İzofan İnsülin;** NPH olarak adlandırılan bu insülin, kristalize çinko insülinin nötr pH'da pozitif yüklü bir polipeptid olan protamin ile birleştiği süspansiyon formundadır^{51,20}.
- c) **Lente İnsülin;** Bu insülin %30 semilente insülin ve %70 ultralente insülinin karışımından oluşur. Böylece hızlı emilim ve uzun etki süresi sağlanır^{20,51}.

d) İnsülin Kombinasyonları; %70 izofan + %30 regüler insülin ya da her iki insülinin %50 oranında karışımı şeklinde insan insülini kombinasyonu bulunmaktadır^{20,51}.

Uzun Etkili İnsülin Preparatları: Ultralente insülin, kristalize çinko insülinin asetat tamponu içerisinde yavaş çözünen büyük partiküller şeklindeki süspansiyonudur. Etkisi yavaş ortaya çıkar ve hipoglisemik etkisi uzun sürelidir^{20,51}.

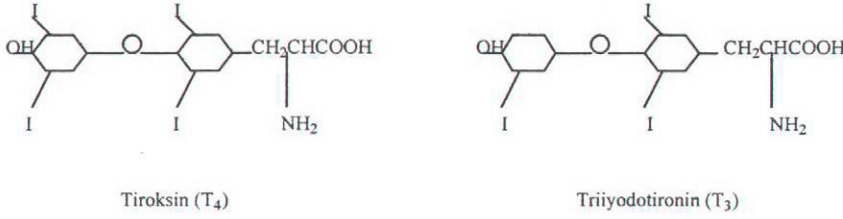
2.3. TİROİD

2.3.1. Tiroidin Yapısı

Tiroid bezi, boyunda krikoid kıkırdak ve trakeanın önünde yerleşmiş olup ağırlığı erişkinde 15-20 g kadardır. Fonksiyonel birimleri, içi kolloit ile dolu olan 15-500µm çapındaki küresel foliküllerdir. Folikülün çeperi tek sıralı folikül hücrelerinden oluşur. Bu hücrelerin hemen yakınında seyrek olarak serpiştirilmiş ve kalsitonin salgılayan parafoliküler hücreler bulunur. Folikül hücreleri yapı ve nitelikleri bakımından birbirine benzeyen, aralarında sadece kantitatif fark bulunan iki hormon salgılar. Bunlar triiyodotironin (T₃) ve tiroksin (T₄)'dir^{51,23}. T₃'ün gravimetrik etki gücü T₄'ünkünden daha fazladır. Bu nedenle daha ufak miktarı ile daha fazla miktardaki T₄'e eşit etkinlik gösterir. Aralarında efikasite (maksimum etki) bakımından fark yoktur. Bezi oluşturan foliküllerin tek katlı epitel hücreleri, adı geçen hormonları, büyük molekülü bir glikoprotein olan tiroglobulin şeklinde sentez ederler. Tiroglobulin, hücrenin ribozomlarında sentezlenir. Sentez edilen tiroglobulin sitoplazmaya veziküller içinde transfer edilir. Tiroglobulin, foliküler hücrelerin apikal yüzlerinden kolloid içine, parsiyel ekzositoz olayı ile salgılanır ve onun içinde depo edilir. Kolloid, esas olarak, tiroglobulinden oluşan koyu kıvamlı bir jeldir. Sözü edilen depo, fizyolojik koşullarda yaklaşık 100 günlük gereksinime yetecek kadardır. Kolloid içindeki tiroglobulin, tiroidin total ağırlığının yaklaşık %75'ini oluşturur. Sistemik dolaşıma tiroid hormonlarının salgılanabilmesi için, folikül hücreleri apikal (lumene bakan) yüzeylerinden endositoz olayı ile kolloid taneciklerini içlerine alırlar ve proteolizle tiroglobulinden T₃ ve T₄'ü serbest hale getirirler. Sonra bu hormonları muhtemelen pasif difüzyonla, bazal yüzlerinden perifoliküler kapiller içine salgırlar. Tiroid bezi, büyük ölçüde hormonlarını depo edebilen tek endokrin bezdir⁷¹. Tiroksin ve triiyodotironin hormonlarının ana yapısını oluşturan tironindir; bu yapının teorik

olarak iki molekül tirozin amino asidinden birinin, alifatik zincirini kaybedip, diğeri ile oksijen köprüsü oluşturmak suretiyle birleşmesi sonucu meydana geldiği kabul edilir⁵¹.

Şekil XI: T₃ ve T₄ şekli^{51,52}



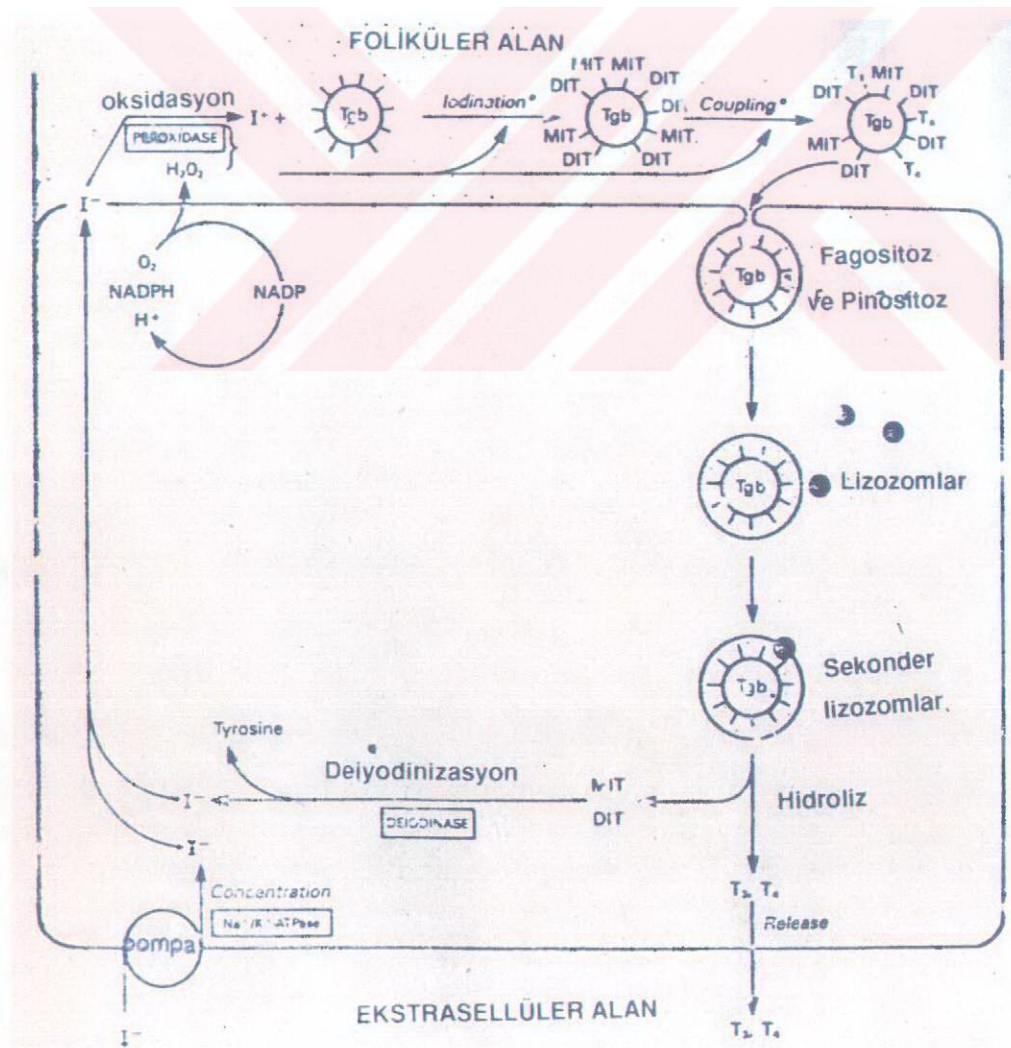
2.3.2. Tiroid Hormonun Biyosentezi

1. Plazmadan iyodür iyonlarının hücre içine alınması (uptake) ve konsantre edilmesi: İyodürlerin folikül hücresi içine girişi aktif transport şeklinde olur ve sonuçta bu iyonlar hücre içinde konsantre edilirler. Bu olaya İyot Uptake'i adı verilir. İyodür folikül hücresine girer girmez tiroglobulinle birleşir, böylece organik iyoda dönüşür ve kalan kısmı hücreden sızarak ekstraselüler sıvıya dönüşür. Giriş ve çıkış dengeye eriştiğinde, plazma ile tiroid hücresi içindeki inorganik iyodür arasında bir konsantrasyon gradiyenti oluşur. Tiroidin İyodür Uptake'i başlıca iki mekanizma ile düzenlenir: a) Ekstrinsik mekanizma: Tirotropin (TSH) İyodür Uptake'ini stimüle ederken, hipofizektomi ise inhibe eder. b) İntrinsik mekanizma: Tiroid folikül hücresi içindeki iyot ve iyodür miktarı azaldığında İyodür Uptake'i hızlanır. Bu miktar arttığında ise hız düşer. İyodür Uptake'indeki değişme hücrede iyodürün organikleşme hızını değiştirir. Bu olay da tiroid hormonu sentezinin otheregülasyonuna katkıda bulunur^{51,72}

2. İyodürün İyoda Dönüşümü ve Organikleşmesi (Organifikasyon): İyodür iyonları hücre içindeki H₂O₂ varlığında, tiroid peroksidazı yardımıyla, atomik iyoda oksitlenir. Bu olay için ortamda bulunması gereken hidrojen peroksit, NADPH'ye bağımlı sitokrom C redüktaz tarafından oluşturulur. İyodürden oluşan atomik iyot aktif durumdadır ve hücre içinde tiroglobulin moleküllerinin tirozil rezidülerine bağlanarak ve onları iyodotirozil rezidüleri (MİT; monoiyodotirozin ve DİT; diiodotirozin) haline getirir. Bu bağlanmada tirozin iyodinaz adlı bir enzimin rol oynadığı ileri sürülmüştür. İyodürü reaktif iyoda dönüştüren tiroid peroksidaz enzimi follikül hücrelerinin apikal

membranında yerleşmiştir ve tiroglobulinin iyodlanması bu membran bölümünde olur^{51,54,55}.

3.İyodotirozinlerin Kenetlenmesi: En çok bilinen görüşe göre kenetlenme intramoleküler olur. Bu iyodotirozinler daha tiroglobulin molekülü içinde iken, tiroid peroksidazı tarafından reaktif şekle dönüştürülürler ve böylece tiroglobulinin tersiyer yapısı içinde yanyana gelmiş iki DİT birleşerek bir T₄ molekülü oluşturur. Aynı şekilde bir MİT ile bir DİT birleştirilerek bir T₃ molekülü oluşturulur^{51,53,55}. Diğer bir görüşe göre; kenetlenme intermoleküler biçimde olur, şöyle ki; DİT tiroglobulinden ayrılarak sitoplazmada tirozin transaminaz ve tiroid peroksidaz tarafından aktif duruma getirilir ve sonra diğer bir tiroglobulin molekülü içindeki bir DİT ya da MİT ile birleşir. Görüldüğü gibi tiroid peroksidaz hem önceki basamakta olduğu gibi, iyodotirozinlerin oluşmasında ve hem de onlardan iyodotironinlerin (tiroid hormonlarının) oluşmasında önemli rol oynar⁵¹(Şekil XII).

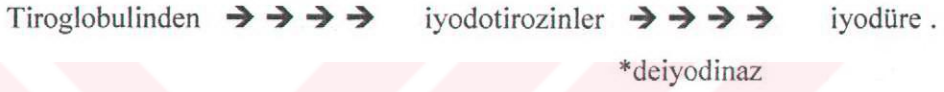


Şekil XII: Tiroid folikülünde iyot metabolizması⁵¹.

2.3.3. Tiroid Hormonunun Salgılanması

Tiroglobulin molekülü içinde sentez edilen tiroid hormonları, follikül hücrelerinden, folikülleri dolduran kolloid içine geçerek depolanırlar. Depolanan hormonun saliverilmesi için, tiroglobulin moleküllerinin kolloidten tekrar folikül hücresine dönmesi ve orada proteolitik parçalanma sonucu T_4 ve T_3 'ün serbest hale geçmesi gerekir. Tiroglobulin, kolloid tanecikleri şeklinde, endositoz olayı ile folikül hücrelerinin apikal yüzünden sitoplazma içine alınır. Orada lizozomlar içindeki proteazlar tarafından hidroliz edilen tiroglobulinden T_4 ve daha az miktarda T_3 saliverilir. Bu hormonlar, hücrenin bazal yüzünden perifoliküler kapiller içine difüzyonla salgılanırlar⁷³.

Hücre içinde proteoliz;



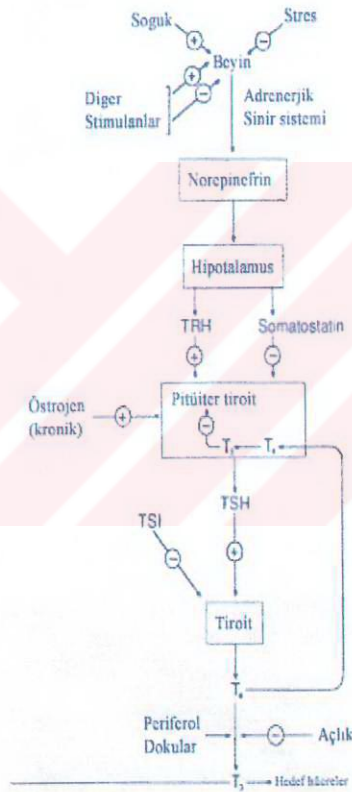
Yukarıda gösterildiği şekilde oluşan iyodür, kısmen aynı yerde triglobulinin iyotlanması için kullanılır ve kalan kısmı hücreden dışarı sızarak dolaşıma karışır⁵¹.

Biyosentezin TSH Tarafından Kontrolü: Tiroid bezi, hipofizden tiroidi uyarıcı hormon (TSH) salınımı ile uyarılır. Tiroid hormonlarının kana saliverilmesi TSH tarafından kontrol edilir^{51,55}. TSH, yüksek afiniteyle tiroid bezi üzerindeki spesifik reseptörlerine bağlanır. TSH reseptörü yaklaşık 100 000 daltonluk , α ve β alt birimlerinden oluşmuş bir glikoproteindir. α alt birimi, LH, FSH, hCG 'nin α alt birimleri ile benzer yapıdadır. TSH'un biyolojik ve immünolojik özellikleri ise β alt birimine bağlıdır²³. Amino terminali TSH'ı bağlarken; karboksil terminalinde G-proteinini bağlayan reseptörler için tipik olan, membrana yerleşmiş yedi bölge bulunur. TSH'un reseptöre bağlanması, adenilat siklazı aktive ederek, siklik adenosin monofosfat (cAMP) yapımını sağlar. Daha yüksek konsantrasyonlarda, inozitol fosfat yolları da aktive olur^{20,51}.

Ön hipofizdeki tirotrof hücrelerde ve beyindeki noronlarda, T_4 özel bir deiyodinaz (5-deiyodinaz II) enziminin yardımıyla, hızlı bir şekilde T_3 'e dönüşür. Fizyolojik koşullarda bu hücrelerin tiroid hormonları tarafından etkilenmesi (TSH

salıverilmesinin inhibisyonu), T_3 tarafından yapılır. Ayrıca T_4 , T_3 'e dönüşmeden de TSH salgılanmasını inhibe edebilir⁵¹.

Ön hipofizden TSH salgılanması, tiroid hormonlarından başka, pulsatil olarak salgılanan TRH tarafından da kontrol edilir. Hipotalamustan salgılanan portal vasküler sistem aracılığı ile ön hipofize gelen bu hormon, hipofizin tirotrof hücrelerinde kendine özgü reseptörleri aktive ederek TSH ve prolaktin salgılanmasını artırır. Bu olaya, fosfotidilinozitol hidrolizinin artırılması sonucu hücrede oluşan DAG ve IP_3 aracılık eder. Tiroid hormonları, tirotrof hücrelerin TRH'a duyarlılığını azaltarak, TSH salgısının negatif feedback inhibisyonunu sağlarlar. Hipotalamik hormonlardan somatostatin ve dopamin, hipofizden TSH salgılanmasını inhibe ederler^{73,74} (şekil XIII).



Şekil XIII: Tiroit hormon sekresyonunun regülasyonu⁵¹.

2.3.4. Tiroid Hormonlarının Kanda Bulunuşları ve Eliminasyonları:

Bu hormonların büyük bir kısmının plazmada bağlandığı protein, tiroksin bağlayıcı globulin (TBG)'dir. TBG molekül ağırlığı 50.000 dalton olan karaciğer kaynaklı bir glikoproteindir. Plazmadaki tiroid hormonlarının yaklaşık %70'ini bu protein bağlar. Östrojenler proteinin sentezini artırır. Androjen ya da glukokortikoid tedavisinden sonra, bazı karaciğer hastalarında, TBG üretiminde azalma olur^{51,54,64}. T₄'nin yaklaşık %20'si tiroksin bağlayıcı prealbümindir. T₃ bu proteine hemen hemen hiç bağlanmaz. T₄'nin %10'u ve T₃'ün %30'u plazma albüminine bağlanır^{51,54,55,23}.

Tiroid hormonlarının deiyodinasyon ve deaminasyon ürünleri, fenolik hidroksil grubu üzerinden, glukuronik asit veya sülfatla konjüge edilirler. Glukuronat konjugatları karaciğerden safra içinde ve sülfat konjugatları da böbrekten, idrarla atılır. T₄'ün vücuttaki yarılama ömrü 6-7 gün iken T₃'ün eliminasyon hızı ise 24 saat kadardır. Bu iki hormonun vücutta dağıldığı hacimler de farklıdır. T₄ esas olarak plazmada, T₃ ise daha çok çizgili kaslar ve böbreklerde bulunur⁵¹.

2.3.5. Tiroid Hormonlarının Fizyolojik ve Farmakolojik Etkileri:

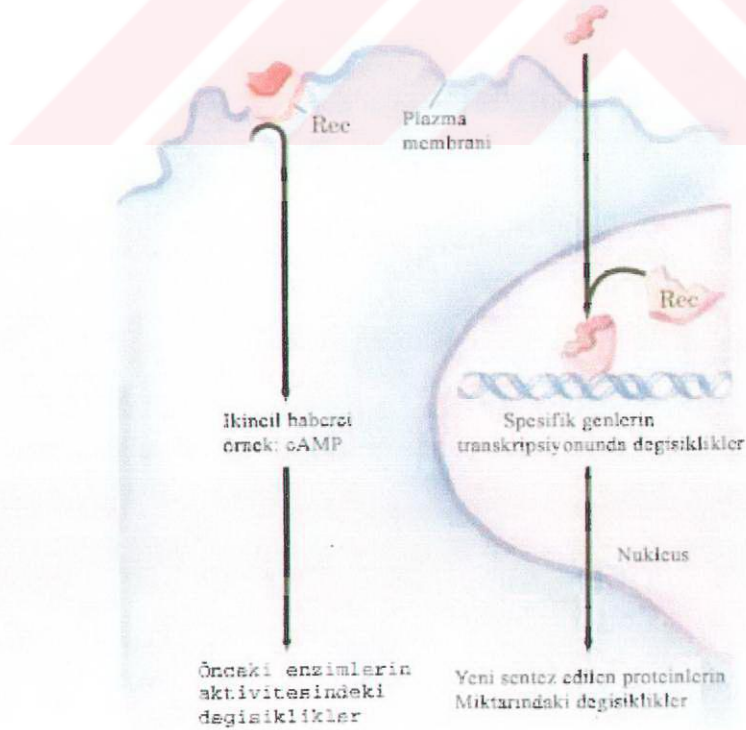
Tiroid hormonları, vücutta bütün hücrelerin gelişmesi ve normal çalışması için gerekli temel biyolojik olaylar üzerinde direkt ya da indirekt olarak etkilidirler. İndirekt etkilerinin önemli bir bölümü, diğer hormonların salgılanma ve yıkılma hızlarını ve ayrıca hedef hücrelerin hormonlara duyarlılığını düzenlemek yoluyla oluşturulur. Bazı hedef hücrelerin membranı üzerinde, tiroid hormonları için yüksek afiniteli, fakat düşük kapasiteli bağlanma yerlerinin varlığı gösterilmiştir. Bunların sitoplazma membranı üzerinde yerleşmiş T₃ reseptörleri olması muhtemeldir. Bu reseptörlerin aktivasyonu sonucu, kalsiyuma bağımlı, olarak cAMP düzeyinin hücre içinde arttığı ve hücre içine glukoz ve amino asit girişindeki artmanın bu olaya bağlı olduğu bilinmektedir. Bu etkiler hemen başlar ve protein sentezi gerektirmez⁷⁵.

Bu arada tiroid hormonunun, hücrelerde büyüme hormonu reseptörlerinin sentez hızını ve sayısını artırdığı bulunmuştur⁷⁶. Tiroid hormonlarının eksikliğinde hücre metabolizması yavaşlar, fazlalığında ise aşırı düzeye çıkar. Tiroid hipofonkiyonu doğuştan varsa ya da gelişme dönemi içinde olmuşsa, somatik ve mental gelişme belirgin şekilde geri kalır. Erişkinlerde ise, hipofonksiyonun en göze çarpan

belirtisi bazal metabolizmanın düşmesidir. Buna ilave olarak letarji, apati, bradikardi, soğuk intoleransı, barsak motilitesinin azalması ve konstipasyon, alopesi ve hiperkolesterolemi gibi belirtiler ortaya çıkar⁷⁵.

2.3.6. Tiroid Hormonlarının Hücre Düzeyindeki Etkileri ve Etki Mekanizmaları :

Tiroid hormonları hedef hücrelerdeki etkilerinin büyük bir kısmını, hücre çekirdeği içindeki reseptörler aracılığı ile ve bir kısmını da mitokondriler içindeki reseptörler aracılığı ile yaparlar. Nukleustaki reseptörlerin doğal ligandının T_3 olduğu ve T_4 'ün onun prekürsörü olarak görev yaptığı bilinmektedir. Steroit reseptörlerinden farklı olarak, T_3 reseptörü, hormon bağlanmadan önce yani serbest iken de çekirdeğe sıkı olarak bağlanmış durumdadır. Bu bağlanma histon olmayan bir asidik protein üzerinden olur. Reseptör molekülü asidik bir nükleer proteindir ve halen saflaştırılmamıştır. Ancak molekül ağırlığı 50.000 daltondur. Reseptör proteini daha büyük bir kromatin kompleksinin bir bölümünden oluşmuştur ve endonükleaz tarafından koparılır. Kompleksin DNA zincirinin nukleozomları arasında kalan açık bölgelerinde transkripsiyon görülür⁵¹ (Şekil XIV).



Şekil XIV: Hormon hareketinin genel mekanizması⁶⁶.

Nukleus içine giren tiroid hormonu tarafından bu reseptörlerin aktivasyonu, bazı genlerin transkripsiyonunu hızlandırarak özel mRNA'lar aracılığı ile yapısal ve fonksiyonel bazı hücre proteinlerinin sentezini artırır. Tiroid hormonu reseptörlerinin ikinci yerleşme yeri mitokondrilerin iç membranıdır. Buradaki reseptörler lipoprotein yapısındadır. Bu hormonlar, bazı hücre türlerinde, mitokondrilerin oksidatif metabolizmasını, oksijen tüketimini ve dolayısıyla oksidatif fosforilasyon olayını (ATP oluşumunu) artırır. Hücrede oksidasyonun artmasında, mitokondrilerin sayısının artması ve her bir mitokondri içindeki oksidasyon yapan birimlerin sayısının artması rol oynar. Tiroid hormonları bazı organlarda (beyin, testis ve dalak gibi) oksidasyon ve oksijen tüketimini artırmazlar⁷⁷.

Hücre membranında Na^+ ve K^+ döngüsünden sorumlu bir aktif transport mekanizmasının esasını oluşturan Na^+ , K^+ -ATPaz' ın, tiroid hormonları tarafından indüklenerek, etkinliği arttırılır ve hücrenin ATP kullanımı artar⁵¹.

Tiroid hormonları myokard membranında β -adrenoreseptörlerin sıklığını artırır. Diğer hücrelerde, bu reseptörlerin sayısını değiştirmeksizin, onlar aracılığı ile, çeşitli etkenlerin adenilat siklazı aktive etmesini potansiyalize ederler⁷⁷.

2.3.7. Tiroid Hormonlarının Metabolizma Üzerindeki Etkileri

Somatik ve Mental Gelişme Üzerindeki Etkileri: Bebeklik ve daha sonraki dönemlerde, somatik ve mental gelişmenin yeterli düzeyde sürdürülebilmesi için, tiroid hormon salgısının normal düzeyde olması gerekir. Tiroid hormonları fetusun gelişmesi için de çok önemlidirler. Bu hormonların eksikliğinde, özellikle fetal sinir sisteminin ve iskelet sisteminin gelişmesi bozulur⁵¹.

Oksijen Tüketimi ve Isı Oluşumuna Etkileri: Tiroid hormonları gerek in vivo ve gerekse in vitro koşullarda dokuların oksijen tüketimini artırır. Buna kalorijenik etki adı verilir. Kalorijenik etki, tiroid hormonları tarafından membrandaki Na^+ , K^+ 'a bağımlı ATPaz'ın stimülasyonu ile ilişkilidir. Bu enzim, hücrenin tükettiği total oksijenin büyük kısmını harcamaktadır^{51,56}.

Protein Metabolizması Üzerindeki Etkileri: Tiroid hormonları fizyolojik düzeyde salgılandıkları zaman ya da hipotiroidizmli hastaya ya da deney hayvanlarına az dozda verildikleri zaman protein sentezini arttırır. Büyüme üzerindeki olumlu etkileri

kısmen protein sentezini artırmalarına bağlıdır⁶⁹. mRNA, tRNA ve rRNA sentezini artırarak, azot dengesi üzerinde pozitif etki gösterir. Bu etki ile büyüme hormonu uyarılarak sentezi artırılır⁵⁶.

Karbohidrat Metabolizması Üzerindeki Etkileri: Fizyolojik dozda, insülinin etkinliğini potansiyalize ederek, glukoz kullanımını ve karaciğerde glikojen sentezini artırır. Bu etkileri bifaziktir. Yüksek dozlarda verildiklerinde ya da aşırı miktarda salgılandıklarında, katekolaminlerin ve glukagonun etkinliğini artırır. Böylece glikojenolizi ve glukoneogenezi stimüle ederler ve hiperglisemi oluştururlar. Tiroid hormonları glukozun intestinal absorpsiyon hızını, yağ dokusu ve kaslar tarafından, uptake'inin hızını artırır. İnsülinin yıkımı üzerinde de etkilidirler ve yüksek dozda, insülin yıkımını artırır. Tiroid hormon preparatları, diabetiklerde insülin gereksimini artırır. Hipotiroidizm halinde insülin yıkımı azalır. Hipertiroidli hastalarda insüline duyarlılık genellikle azalır ve hipotiroidizmde ise duyarlılık artar⁵¹.

Lipit Metabolizması Üzerindeki Etkileri: Tiroid hormonları kolesterol, trigliseritin sentez, mobilizasyon ve yıkımlarını yaygın bir şekilde etkilerler. Hipertiroidizm halinde, lipit türlerinin çoğunun depo edilen miktarı azalır ve plazmadaki düzeyleri düşer. Hipotiroidizmde ise bunun tersi görülür. Plazmada kolesterol, trigliserit ve serbest yağ asit düzeylerini düşürürler. Karaciğer hücrelerinde kolesterol sentezini artırır; fakat sentez edilen kolesterolün safraya itilmesini ve safra asitlerine dönüşümünü de hızlandırır. Ayrıca hücrelerin apoprotein reseptörlerinin yapımını artırarak, kolesterol taşıyan LDL'nin hücrelere girişini ve yıkımını da hızlandırır. Böylece belirgin hiperkolesterolemi oluştururlar⁷⁵.

Vitamin Metabolizması Üzerindeki Etkileri: Tiroid hormonları enzim sentezini artırmaları ve metabolik olayları hızlandırmaları nedeniyle, hücrelerin koenzimler ve bunları oluşturan vitaminlere olan gereksimini artırır⁵¹. Hipotiroidi durumunda, serum karoten düzeyi artar ve deri sarı renk alır⁶⁹.

Sempatik Sinir Sistemi ile İlişkileri ve Kardiyovasküler "Sempatomimetik Etkileri": Hipertiroidizm halinde ya da ilaç olarak tiroid hormonu verildiğinde sempatik sinirlerin deşarj frekansında gerçekte bir artma olmaz; ancak hastalık belirtilerinin ya da hormonun taşikardi, terleme ve hiperglisemi gibi yan etkilerinin olduğu görülmektedir^{51,56}.

Hematopoeze Etkileri: Tiroid hormonları, olasılıkla dokuların oksijen kullanımını artırmaları sonucu, eritropoezi de artırır. Ayrıca eritrositlerin 2,3-difosfoglisarat konsantrasyonlarını yükselterek, O₂'nin hemoglobinden ayrılmasını artırır ve dokulara O₂ verilmesini kolaylaştırır^{55,51}.

Endokrin Sisteme Etkileri: Steroit hormonların eliminasyonunu hızlandırır; buna bağlı olarak onların sentez hızında sekonder artma yaparlar. Bu etkiler sonucu kortizolun plazma düzeyinde değişme olmaz. Vücutta insülin, paratiroid hormonu, prolaktin, LH ve FSH etkinliğinin normal düzeyde sürdürülmesini sağlarlar. Bazı etkenlere bağlı (hipoglisemi gibi) büyüme hormonu salgılanması, kısmen tiroid hormonlarının kontrolü altındadır ve hipotiroidizm halinde azalır⁵¹.

TRH ve TSH Saliverilmesi Üzerine Etkileri: T₃ ve T₄ hipotalamustan TRH (tiotropin saliverici hormon) ve hipofiz ön lobundan TSH saliverilmesini inhibe ederler⁷⁸.

Diğer Etkileri. Tiroid hormonları, hipoksi ve hiperkapninin solunum merkezi üzerindeki uyarıcı etkisinin normal düzeyde sürdürülebilmesi için gereklidir. Hipotiroidizm, bu nedenle hipoventilasyona yol açar. Tiroid hormonları kemiklerin hem oluşumunu ve hem de rezorpsiyonunu artırır ve kemik turnoverini hızlandırır. Bu nedenle hipertiroidizmde bazen hiperkalsemi ortaya çıkabilir. Çizgili kasların gevşeme hızını artırır; bu nedenle hipotiroidizmde aşıl tendon refleksinin gevşeme dönemi uzar⁵¹.

2.3.8. Tiroid Fonksiyon Bozuklukları

Hipotiroidizm: Tiroid hormonlarının oluşmaması ya da bezde hormon sentez ve saliverilmesinin konjenital bozukluğu gibi nedenlerle hipotiroidizm tablosunu meydana gelir. Bu olgularda zamanla çeşitli şekil bozuklukları ve fiziksel ve mental gelişmede gerilik ortaya çıkar. Hipotiroidizmde serum TSH düzeyi yükselmiş, T₃ ve T₄ düzeyi düşmüştür^{51,31}.

Tirotoksikoz: Tiroid hormonlarının aşırı miktarda salgılanmasına ve dokuların aşırı miktarda hormona maruz kalmasına bağlı bir klinik sendromdur. Olguların pek çoğu tiroid bezinin hiperaktivitesine bağlıdır ve bu şekline hipertiroidizm denilir^{31,51}. Hipertiroidizmde, plazmada T₄: T₃ oranı değişkendir. Eğer T₃,T₄'e oranla belirgin

şekilde artmışsa bu klinik duruma T_3 tirotoksikozu adı verilir. Bu durumda bazen T_4 düzeyi normal sınırlar içinde olabilir⁷⁵.

2.3.9. Antitiroid İlaçlar

Tiroid folikül hücrelerinde, hormon sentezi ile ilgili olan ve bu konunun başında değinilen üç basamaktan birini ya da birkaçını bozmak suretiyle, hormon biyosentezini inhibe eden ya da radyoaktif iyot gibi tiroid dokusunda konsantre olan ve ışınlı folikül hücrelerini tahrip eden ilaçlardır⁷⁷.

Tiyoüre Türevleri:

Tiyoüre, ürenin oksijen atomu yerine kükürt atomunun girmesi ile elde edilen bir bileşiktir. Antitiroid ilaçların önemli bir bölümü tiyoüre türevleridir; bunlar moleküllerinde, bir kısmını tiyoürenin oluşturduğu beş üyeli (imidazol) ya da altı üyeli (tiyourasil) heterosiklik halka içerirler. Bu bileşiklere, tiyoamit veya tiyokarbamit türevleri adı da verilir⁷⁶.

Etki Mekanizmaları: Tiyoüre türevleri başlıca üç mekanizma ile T_4 ve T_3 sentezini inhibe ederler:

- 1) Tiroid hücresine giren iyodürün orada iyoda oksitlenmesini ve tirozin'e bağlanmasını (organikleşmesini) inhibe ederler.
- 2) DİT'in, diğer bir DİT ya da MİT molekülü ile kenetlenme olayını inhibe ederler.

3) Tiroid dışında monodeiyodinasyonla T_4 'in daha etkin olan T_3 'e dönüşümünü azaltırlar. 5'-deiyodinaz enzimini inhibe ederler⁵¹.

İlaçlar ve Farmakokinetik Özellikleri: Hipertiroidizm tedavisinde kullanılan başlıca üç tiyoüre türevi vardır: propiltiyourasil, karbamizol ve metimazol. Sayılan ilaçlar ağız yolundan alınırlar ve mide- barsak kanalından tamamıyla absorbe edilirler. En sık görülen yan etkileri ciltte döküntüler, ilaç ateşi ve agranülositozdur⁷⁷.

İyodür

İyodür iyonunun besin ve içme suları içindeki eksikliği, tiroid hormonlarının sentezini azaltıp TSH salgısının artmasına neden olduğu için, guatr

oluşturur. Fazla iyodür alınması da, tiroid hormonlarının sentezini ve salıverilmesini azaltır; toksik olmayan guatr ve hipotiroidizm (iyoda bağlı miksödem) oluşturabilir. Bu nedenle iyodür tuzları, hipertiroidizm olgularında, antitiroid ilaç olarak kullanılabilirler⁵¹.

İyodürün Antitiroid Etkisi:

1) İyodürler tiroglobulinin parçalanmasını ve böylece tiroglobulinden T₃ ve T₄ salıverilmesini hızlı bir şekilde inhibe ederler.

2) Fazla iyodür alınması iyodun organikleşmesini inhibe eder ve böylece tiroglobulinin iyotlanması ve tiroid hormon sentezi bozulur. Bu etki T₄ ve T₃ salgılanmasına birkaç haftalık gecikmeden sonra yansır ve salgı azalır.

İyodürlerin uzun süre verilmesiyle iyodizm denilen kronik zehirlenme meydana gelir. Bunun başlıca belirtileri; ciltte döküntüler (genellikle akne şeklinde), konjuktivit, rinit, tükürük bezlerinde şişme ve hipersalivasyon, damarlarda periarterite benzeyen lezyonlar, purpura ve lökomoid eozonofilik granülositozdur. İyodürler gebelerde kontrendikedirler; fetal tiroidin gelişmesini bozarlar⁷⁷.

Radyoaktif İyod

Hipertiroidizm tedavisinde, tiroid bezini kısmen tahrip ederek aşırı hormon salgılanmasını azaltmak amacıyla I¹³¹ kullanılır ve potasyum iyodür şeklinde genellikle ağızdan verilir⁷⁶.

İyodür Girişini İnhibe Eden İlaçlar

Tiroid hücresi membranında İyodür Uptake'ini yapan aktif transport sistemine karşı bu iyonla yarışan tiyosyanat (SCN⁻), perklorat (ClO₄⁻) ve nitrat (NO₃⁻) gibi anyonlar uptake'i inhibe ederek tiroide hormon sentezini bloke ederler ve hipofonksiyon oluştururlar⁵¹.

2.4. SERBEST RADİKALLER

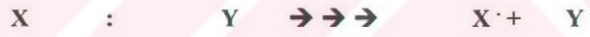
Doku ve hücre hasarı oluşumundaki rolleri ile serbest oksijen radikalleri son yıllarda tıbbın en ilgi çekici konularından biri durumuna gelmiştir. Toksik serbest radikaller, normal bir metabolizmanın devamı ve hücrede enerji üretimi

için gerekli olan birçok reaksiyon tarafından üretilmektedir^{79,80}. Serbest radikaller organizmada normal metabolizma sonucu ortaya çıkabildiği gibi; ısı, ışık ve radyasyon gibi çeşitli dış kaynakların etkisi ile de ortaya çıkabilmektedir⁸¹. Primer ve sekonder radikallerin hem biyomoleküllerle, hem de doku sistemleriyle reaktivitesi sadece radyobiyolojide değil, toksisite ve değişik bozukluklarda da önemli rol oynamaktadır^{79,80}.

Serbest radikaller için birçok tanım yapılmasına rağmen otoritelerin üzerinde birleştiği tanım, bir serbest radikalın moleküler ya da atomik yörüngesinde bulunan ve genelde çok reaktif olan çiftleşmemiş elektron bulunduran bir kimyasal ürün olduğu şeklindedir⁸². Atomlardaki elektronlar yörünge olarak bilinen boşluklarda hareket ederler. Her yörüngede birbirine zıt yönde hareket eden en fazla iki elektron bulunur. Serbest radikaller bir ya da daha fazla çiftleşmemiş elektron içeren molekül ya da molekül parçalarıdır ve bu yapılarıyla bir açık bağ ya da yarım bağ içeren kimyasal olarak reaktif moleküllerdir. Bu tanımlama hidrojen atomunu, birçok geçiş metal iyonlarını ve oksijen molekülünü kapsar. Bu çiftleşmemiş elektron genellikle serbest radikale önemli derecede kimyasal reaktivite kazandırır⁸³.

Bir serbest radikal 3 yolla ortaya çıkabilir^{80,42,79,83}.

1. Kovalent bağ taşıyan normal bir molekülün homolitik yıkımı sonucu oluşurlar (Bölünme sonrası her bir parçada ortak elektronlardan biri kalır).



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı ya da bir molekülün heterolitik olarak bölünmesi ile oluşurlar. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron atomlardan birisinde kalır.



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile oluşurlar.



Serbest radikaller, pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötral olabilirler. Biyolojik sistemlerde en fazla elektron transferi ile oluşurlar^{79,30,42}.

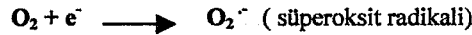
2.4.1. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri

Biyolojik sistemlerde serbest radikallerin en önemli kaynağı oksijendir. Serbest oksijen radikalleri, singlet oksijen, süperoksit, hidrojen peroksit ve bunların

çeşitli reaksiyonları ile oluşan hidroksil radikalıdır^{79,83,84,42}. Moleküler oksijenin toksik oksijen radikallerine dönüşümü; mitokondriyal tek elektron transferi ya da mitokondriyal elektron transport zinciri ya da oksidan enzim sistemleri (ksantin oksidaz, aldehit oksidaz, flavin dehidrojenaz, amin oksidaz, siklooksijenaz, NADPH oksidaz, lipooksijenaz gibi) aracılığıyla gerçekleşir⁸⁵.

2.4.1.1. Süperoksit Radikali :

Biyolojik sistemlerde bulunan en önemli serbest radikaller, oksijen radikalleridir. Oksijene tek bir elektron transferi süperoksit serbest radikal anyonunu oluşturur. Buna ilaveten H₂O₂ oluşur. Üç elektron, hidroksil radikalini ve hidroksit iyonunu oluşturur. Özellikle hidroksil radikalleri son derece reaktiftir²⁵.



Oluşan süperoksit radikali, dış yörüngesinde çiftleşmemiş elektron içerdiğinden; hem bir radikal, hem de, protondan daha fazla elektron içerdiği için anyondur. Hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metallerini indirgeyici özelliğinden dolayı önemli kabul edilmektedir^{79,83,86,42}.

Süperoksitin, fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit ile birleşmesi sonucu reaktif bir oksijen türü olan peroksinitrit meydana gelir ve NO'nin normal etkisi inhibe edilir^{87,88,86,42}.

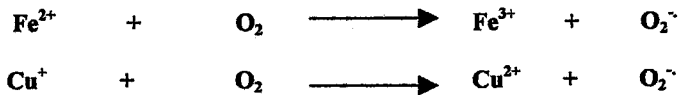


Peroksinitritler, doğrudan proteinleri etkileyerek azot dioksit (NO₂), hidroksil radikali ve nitronyum iyonu (NO⁺₂) gibi toksik ürünler oluşturabilirler^{87,42}.

Süperoksit, düşük pH değerlerinde daha reaktif olup, protonlanarak fizyolojik pH'da %1'den az olan perhidroksil radikalini (HO₂[·]) oluşturur. Bu radikalın, süperoksit ile dismutasyon reaksiyonuna girmesi sonucu, oksijen ile hidrojen peroksit (H₂O₂) oluşur^{42,79,83,84}.



Ferröz demir (Fe²⁺) ve kupröz bakır (Cu⁺), ferrik demir (Fe³⁺) ve kuprik bakır (Cu²⁺) karşılaştırıldığında hidrojen peroksit karşı daha reaktiftirler. İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu da süperoksit oluşturabilir.



2.4.1.2.Hidrojen Peroksit

Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi süperoksidin dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar.

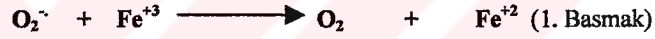


Hidrojen peroksit serbest radikal biyokimyasında yer alan önemli bir bileşiktir çünkü özellikle geçiş metal iyonlarının varlığında daha reaktif ve daha hasar verici olan hidroksil radikaline (OH $\cdot$) dönüşür^{79,83,84,42}.



Yukarıdaki reaksiyon Haber - Weiss reaksiyonu olarak bilinir. Katalizlenmemiş Haber-Weiss reaksiyonu, süperoksidin direk olarak hidrojen peroksitle reaksiyonudur.

Ortamda Fe⁺² veya Cu⁺¹'in varlığında, Fenton reaksiyonu ile hidrojen peroksitten hidroksil radikali meydana gelir. Bu reaksiyon iki basamakta gerçekleşir. Birinci basamak süperoksidin, ferrik (Fe⁺³) ya da kuprik (Cu⁺²) iyonlarını redükte etmesidir. İkinci basamak ise; redükte metal iyonlarının hidrojen peroksit ile reaksiyona girerek, hidroksil radikalini oluşturmasıdır^{79,83,84} (Fenton Reaksiyonu).



Fe(II)'nin Fe(III)'e asidik ortamda oksidasyonu ferröz iyon oksidasyonu olarak bilinir. Sonuçta oluşan Fe(III) iyonları, ferrik hassasiyeti olan boyalar ki bunlar hidrojen peroksit konsantrasyonlarının indirekt ölçümü için kullanılır. Xylenol orange ile yüksek seçicilikte sabit mavi-mor renk kompleksini oluşturmak üzere bağlanır^{89,90}.



2.4.1.3. Hidroksil Radikali

Hidroksil radikali, hidrojen peroksidin geçiş metallerinin varlığında indirgenmesiyle (Fenton reaksiyonu ile) meydana gelir. Hidroksil radikali ileri derecede okside edici bir radikal olup, birçok biyomolekülle diffüzyon kontrollu bir hızda reaksiyona girer. Hidroksil radikalının çok kısa bir yarı ömrü vardır, ama bu kısa ömrüne rağmen çok fazla zarar verme potansiyeli taşır^{79,83,84}.



2.4.1.4. Singlet Oksijen

Singlet oksijen, ortaklanmamış elektronu olmadığı için, radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana gelir ve yine serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olur. Oksijenin elektronlarından birinin, enerji alarak, kendi spininin ters yönünde olan başka bir orbitalle yer değiştirmesiyle oluşur. Delta ve sigma olmak üzere 2 şekli vardır^{79,49,83,42}.

Tek oksijen, radikal olmayan diğer bir reaktif oksijen ürünü olup; oksijen serbest radikalleriyle sıkı ilişkidir. Serbest radikal reaksiyonu oluşmasına öncülük edebildiği gibi serbest radikal reaksiyonları sonucu da oluşabilir. Oksijen serbest radikalleri, çoğunlukla oluşan ilk ürünlerdir. Diğer radikaller karbon merkezli radikaller olup (R[•]); okside edici bir radikalın (ör:OH[•]) lipid, nükleik asit, karbohidrat ya da protein gibi bir biyolojik molekülün üzerine saldırısı ile meydana gelir. Bunlar oksijenle çok çabuk bir şekilde reaksiyona girerek bir sonraki aşama olan peroksil (ROO[•]) oluşmasına neden olur. Oluşan bu peroksil radikalleri alkoksil radikalleri (RO[•]) oluşumunda görev alırlar. Sülfür atomları da serbest radikaller için (ör: glutatyon oksidasyonunda) merkez olabilirler(RS[•]). Son olarak belli yabancı bileşikler, pürin ve pürimidin bazıları da serbest radikal ürünlerinin oluşumuna neden olabilmektedir^{80,91,92}.

2.4.2. Serbest Radikaller

2.4.2.1. Biyolojik Kaynaklar:

Organizmada çeşitli reaksiyonlarda radikal oluşmaktadır⁷⁹.

Tablo VII: Biyolojik sistemlerde serbest radikallerin oluşuma yerleri:

Radyoliz
Fotoliz
Organik maddelerin termal yıkılımı
Metal iyonları tarafından oluşturulan redoks reaksiyonları
Enzimler tarafından oluşturulan redoks reaksiyonları

2.4.2.2. Hücresel Kaynaklar:

Hücrelerde en büyük serbest radikal kaynağı, elektron transport zincirinden elektron sızıntısıdır. Mitokondri iç zarına yerleşmiş oksidatif fosforilasyon zinciri bileşenlerinin redüksiyonu ile mitokondriyal süperoksit radikali üretimi artar. Endoplazmik retikulum ve nükleus membranında ise; serbest radikal üretimi, membrana bağlı sitokromların oksidasyonundan kaynaklanmaktadır^{79,49,83}.

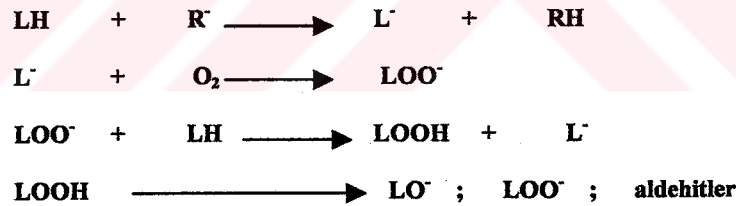
2.4.2.3. Toksik Maddeler:

Toksik serbest oksijen radikalleri biyolojik sistemlerle ilişkiye girdikleri zaman, hücrenin bir çok komponentine zarar verirler ki bunlar içerisinde hücre duvarı hasarı, DNA hasarı, kollajen yıkılımı, lipidlerin depolimerizasyonu ve lipid peroksidasyonu bulunmaktadır. Bu etkiler, hücre membranında bütünlük bozulmasına neden olur. Bunun sonucunda membranın flexibilitesi kaybolur, salgılama fonksiyonları bozulur ve trans-membran iyonik gradientleri olumsuz etkilenir⁷⁹.

2.4.3. Radikallerin Etkisi:

2.4.3.1. Membran Lipitlerine Etkileri

Biyomoleküllerin birçoğu serbest radikallerin saldırısına uğrayabilmesine rağmen bunların arasında lipidler esas grubu oluşturmaktadırlar. Hücrelerin membranları , okside edici radikallerin en çok affinite gösterdiği yer olan poliansature yağ asitleri'nden (PUFA) zengin bölgelerdir. PUFA'ların oksidatif yıkılımı “ lipid peroksidasyon “ olarak bilinmektedir. PUFA'nın oksidasyonu bir yağ asidi radikali oluşturur(L[•]), ve bu hızla oksijene eklenerek bir yağ asit peroksil radikalinin (LOO[•]) oluşmasına neden olur. Peroksil radikalleri zincir reaksiyonlarının taşıyıcıları olup, diğer PUFA moleküllerini okside ederek yeni zincir oluşumlarını başlatabilirler. Bunun sonucunda oluşan lipid hidroperoksitler (LOOH) diğer radikal türlerine ve çok geniş bir bileşik grubuna, örneğin aldehitlere, yıkılabilirler^{93,94}.



Lipit hidroperoksitlerin yıkılımı geçiş metal iyonlarının katalizini içerir. Aldehitler mutlaka lipid hidroperoksitler yıkılırken oluşurlar ve bunların birçoğu biyolojik olarak aktiftirler^{95,96} (ör: hidroksialkalenler). Bu bileşikler ilk atak bölgesinden hücreye difüze olarak hücrenin diğer bölümlerine dağılırlar. Lipit peroksidasyonu, birçok doku hasarı ve hastalıkta önemli yer tutmaktadır. Bunlar arasında CCl₄'ün neden olduğu hepatotoksisite ve aterosklerozun patogenezi sayılabilir^{95,96}.

2.4.3.2. Proteinler Üzerine Etkileri

Proteinler ve nükleik asitler, serbest radikal saldırısına, PUFA'lerden daha az maruz kalmaktadırlar. Bu biyomoleküllerde, hızlı ilerleyen, hasar verici zincir reaksiyonlarının başlama olasılığı daha azdır. Radikallerin proteinler üzerine saldırısı, çok yaygın olmadıkları sürece, fazla önemli değildir.

Serbest radikaller protein moleküllerindeki aminoasitlere etki ederek peptit bağlarının hidrolizi, disülfid bağlarının oluşumu ve proteinler arası çapraz bağların oluşmasına neden olurlar. Etkilenme dereceleri proteinlerin aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallere olan duyarlılığı yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin ve sistein gibi aminoasitler içeren proteinler, serbest radikal hasarından kolayca etkilenirler. Örneğin Na-K ATPaz ve Ca^{++} ATPaz enzimleri tiyol gruplarının serbest radikaller tarafından oksidasyonu ile aktivitelerini kaybederler. Buna bağlı olarak, hücre içi ve dışı iyon dağılımının bozulması sonucu hücre hasarı oluşur^{79,97,49}.

2.4.3.3. Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkileri

DNA da serbest radikal saldırısı ve hasarından etkilenen bir bölgedir. Önemli fonksiyonlarından dolayı DNA, serbest radikaller için önemli bir hedeftir. Proteinlerdeki gibi DNA'da da hızlı ilerleyen, hasar verici zincir reaksiyonlarının başlama olasılığı daha azdır. Ancak DNA üzerindeki spesifik bölgelere saldırarak, DNA zincirinin kırılmasına neden olurlar ve böylece DNA polimerazı inhibe ederler^{79,97,98}. Karsinogenezis, hücre yaşlanması ve hücre ölümüne kadar giden bir seri olayı başlatırlar. Beyin de dahil birçok dokuda, yaşlanmayla birlikte oluşan fonksiyon bozuklukları, proteinlerin oksidasyonu ile açıklanmaktadır^{49,86}.

2.4.3.4. Karbohidratlar Üzerine Etkileri

Serbest radikallerin karbohidratlar üzerine olan etkileri de önemlidir. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler oluşmaktadır. Bunlar diyabet ve sigara içimi ile ilgili patolojik olaylarla yakın ilişkilidir^{97,99,86,42}.

Bağ dokusunun önemli bir mukopolisakkaridi olan hyalüronik asit, sinoviyal sıvıda da bol miktarda bulunmaktadır. Enflamatuar eklem hastalıklarında, hyalüronik asit'in, polimorf nüveli hücrelerce salgılanan H_2O_2 ve O_2 tarafından parçalandığı gösterilmiştir^{79,83}.

2.4.4. İnsan Sağlığında Serbest Radikaller

Önemli biyokimyasal olaylarda ve hastalıklarda serbest radikallerin rolünün saptanması, onların önemini arttırmıştır. Doğal antioksidan savunmanın artmasıyla, serbest radikal formasyonu önlenmekte ve hasarın şiddeti azaltılmaktadır. Ancak serbest radikallerin hastalıklar üzerindeki önemi ve rolünü incelerken, serbest radikal oluşumunun hastalığın nedeni mi, yoksa sonucu mu olduğunun ayırımına varmak çok önemlidir⁸⁰.

A) **İnflamatuvar İmmün Hasar:** İnflamatuvar artrit bu konudaki en ideal örnek gibi görünmektedir. Eklem inflamasyonunda immün kompleksler, bakteriyel ürünler ve kristaller yer almaktadır ki bunların hepsi önce polimorfonükleer hücre aktivasyonuna, sonra da serbest radikal oluşumuna neden olur. Oksijen radikal saldırısı sinovial sıvıda ve eklem aralığında bulunan, başta hyaluronik asit olmak üzere, diğer proteoglikanlar ve bir ölçüde kollajen ve elastinin yıkılmasına neden olur^{100,101}.

B) **İskemi - Reperfüzyon :** Hipoksi-reoksijenizasyon sonrasında oluşan serbest radikallerin, hasarlanmış mitokondri, ksantin oksidaz, arakşidonik asit yolları ya da hasarlı dokuya polimorfonükleer hücre toplanması sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir. Bu durumdan etkilenen organlar kalp, böbrek, beyin, pankreas, kaslar ve gastrointestinal sistemdir⁹⁹.

C) **Demir Yüklenmesi:** Toksik oksijen radikallerinin oluşumunun başlatılmasında geçiş metalleri, özellikle demir, önemli yer tutmaktadır. Hemokromatozisli hastalarda ve transfüzyona bağlı aşırı demir alımında görülen multiorgan disfonksiyonlarının etyopatogenezinde, demire bağlı serbest radikal oluşumunun önemli bir yer tuttuğu görülmüştür^{102,103,104}.

D) **Kanser:** Radyasyon ve bazı kimyasalların etkisi ile ortaya çıkan reaktif oksijen radikalleri (ROS), karsinogenezisin birçok basamağında rol oynamaktadır^{105,106}. İyonize radyasyon sonucu DNA etkilenmekte ve DNA zincirlerinde kırıklar oluşmaktadır¹⁰⁷. Oksidan stres, aynı zamanda, gen ekspresyonunda da fonksiyonel değişiklikler oluşturmaktadır¹⁰⁸.

E) **Eritrositler:** Oksidatif stres çalışmalarında eritrositler, üzerinde en erken çalışılan maddelerden biridir. Eritrositlerde bir çok antioksidan savunma sistemi bulunmaktadır. Serbest radikal etkisi sonucu eritrositlerde oluşan hasar, membran hasarı ve hemolize neden olur¹⁰⁹.

F) **Akciğerler:** Bir çok ajan, aktive edilmiş oksijen radikali oluşumu aracılığı ile akciğerler üzerinde toksik etki göstermektedir. Polimorfonükleer hücre aktivasyonu

ile karakterize (iyonize radyasyon, toksik oksidan gazlar, parakuat, bleomisin gibi kemoterapotik ilaçlar, şok, sepsis, travma v.b.) patolojiler buna örnek olarak gösterilebilir^{110,111,112}.

G) Kalp ve Kardiyovasküler Sistem: Oksijen radikalleri dolaşımdaki lipoproteinlerin kinetiğinde değişiklik oluşturur, endotelial hücre permabilitesini artırır ve lipoproteinlerin makrofajlar tarafından geri alımını bozar¹¹³. İskemi reperfüzyonun oluşturduğu miyokard hasarında serbest radikallerin rolü açıktır^{114,115}.

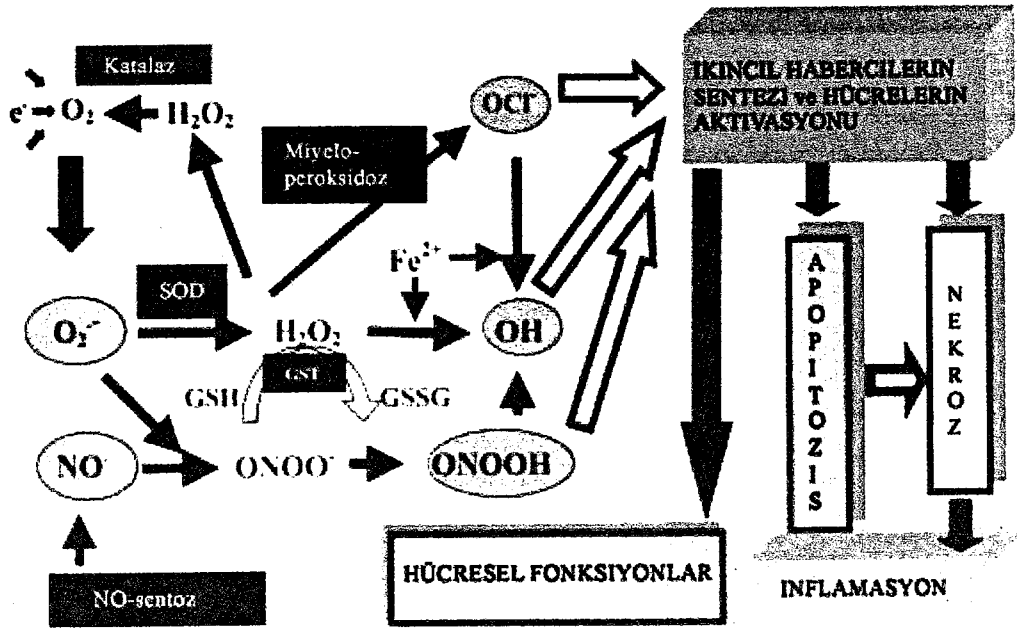
H) Böbrek: Polimorfonükler hücrelerden kaynaklanan oksijen radikallerinin, deneysel nefrotoksik nefritin akut fazında görülen akut glomerüler hasar ve proteinürinin etyopatogenezinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir¹¹⁶. Aynı zamanda proteolitik yıkılıma son derece duyarlı olan bazal membranda, hipoklorik asit gibi oksidanlar, koruyucu fonksiyonu olan antiproteazları inaktive etmektedir¹¹⁷.

I) Gastrointestinal Sistem: Karaciğer hasarında halojenli hidrokarbonlarla alkolün, oksijen radikal hasarı ve lipid peroksidasyon aracılığı ile gösterdikleri etkiler üzerinde çok fazla çalışma vardır¹¹⁸.

2.5. ANTIOKSIDAN SİSTEMLER

2.5.1. Antioksidan Savunma Sistemleri

Antioksidan savunma sistemleri modifiye edilmiş bir terminoloji ile primer ve sekonder olarak ikiye ayrılır. Primer antioksidan savunma sistemleri arasında katalaz, superoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, DT-diaforaz ve aynı zamanda askorbik asit, α -tokoferol, GSH, β -karoten ve ürik asit sayılmakta iken, sekonder olanlar içinde proteolitik ve lipolitik enzimlerle DNA tamir sistemleri bulunmaktadır^{119,120,121}.



Şekil XV: Dokulardaki birçok radikalin ilişkileri ve hücre fonksiyonları üzerindeki etkileri.¹²²

2.5.1.1. Primer Antioksidan Savunma Sistemleri:

Enzimatik antioksidan savunma sistemleri, üzerinde çok yaygın olarak çalışılan mekanizmalardır. Küçük moleküller olan β -karoten, ürik asit, GSH, askorbik asit ve α -tokoferol daha çok zincir kırıcı antioksidanlar grubu içinde incelenmektedirler. Bu biyomoleküller serbest radikal tutucu yeteneklerinin yanı sıra, antikarsinojenik özellikler de göstermektedirler. Sitozolda, ekstrasellüler sıvıda ve membran lipitlerinde lokalize olan antioksidanlar, karsinogenezisden sorumlu olan serbest radikal aktivitesini engellediği için, potansiyel antikarsinojen olarak görev alırlar¹²³.

2.5.1.1.1. Vitamin E:

E vitamini, hücre membran fosfolipitlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerini serbest radikal etkisinden korur. E vitamini, süperoksit ve hidroksil radikallerini, singlet oksijenini, lipit peroksi radikallerini ve diğer radikalleri ortadan kaldırır^{83,124}.

E vitamini, lipit peroksidasyon reaksiyonlarını kıran (zincir kırıcı) antioksidanlardandır. Bunlar, peroksi ($\text{LOO}^\bullet$) ve alloksi ($\text{LO}^\bullet$) radikaller ile reaksiyona girerek lipit peroksidasyon reaksiyonlarının ilerlemesini engeller. α -tokoferol (E

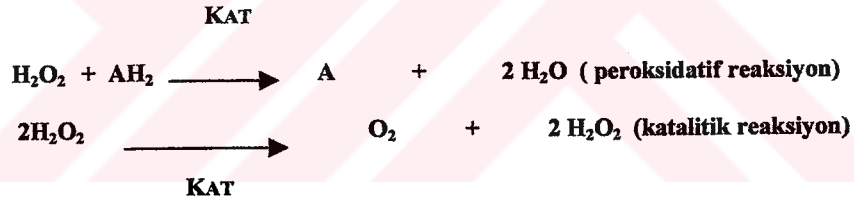
vitamini), lipid radikali ile reaksiyona girerek onu non- radikal bir maddeye dönüştürürken, kendisi de, radikal haline gelir^{83,124}.



2.5.1.1.2. Katalaz:

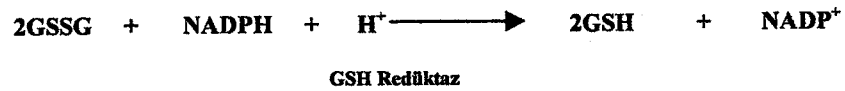
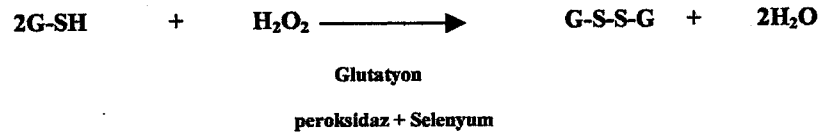
Antioksidan savunmanın diğer bir formu, reaktif serbest radikal üretmek üzere, geçiş metal iyonları ile reaksiyona giren peroksitlerin uzaklaştırılmasıdır. Bunlar içerisinde hem hidrojen peroksit, hem de lipid peroksidasyon sonucu oluşan lipid hidroperoksitler bulunmaktadır.

Katalaz ve glutatyon peroksidaz bu peroksitleri yıkıma uğratan enzimlerdir¹²⁵. Katalaz, hemen hemen tüm memeli hücre tiplerinde var olup, değişik konsantrasyonlarda saptanabilir. Enzim, böbrek ve karaciğer hücrelerinin peroksizomlarında, diğer organlarda ise mikropersizom gibi daha küçük hücre organellerinde yerleşim göstermektedir¹²⁶. Yukarıda belirtilen lokalizasyonlarda çoğunlukla yerleşim gösteren katalaz, hidrojen peroksitle reaksiyona girerek, antioksidan etkisini gösterir. Katalaz 4 hem grubu içeren bir hemoprotein olup peroksidaz aktivitesine sahip oluşuna ek olarak, 1 molekül hidrojen peroksidi, elektron vericisi bir substrat, diğerini de oksidan ya da elektron alıcısı olarak kullanabilir⁵⁴. Görevinin, oksidaz etkisi ile oluşan hidrojen peroksidin yıkımı olduğu sanılmaktadır. Mikro- yapılar veya peroksizomlar, karaciğer dahil, bir çok dokuda bulunur^{54,64}.



2.5.1.1.3. Glutatyon Peroksidaz:

Glutatyon peroksidaz ise birçok hücrenin sitozolünde bulunur ve hem hidrojen peroksitle hem de eğer bir fosfolipaz aracılığı ile membran fosfolipitlerinden ayrılabilirse, yağ asidi hidroperoksitleri ile etkileşime girmektedir^{125,80}.



Bu reaksiyon önemlidir çünkü; H_2O_2 'nin birikimi, hemoglobinin methemoglobine oksidasyon hızını arttırmasıyla eritrositin yaşam süresini kısaltabilir. Bazı halk kitlelerinde glukoz-6-fosfat dehidrogenaz noksanlığı NADPH üretiminde bozukluğa neden olur. Duyarlı kişiler malaryaya karşı kullanılan bir ilaç olan primakin, aspirin ya da sülfonamidler gibi okside edici maddeler ile karşılaştıklarında ya da favaya duyarlı kişilerde bu noksanlık, eritrosit hemolizi şeklinde ortaya çıkar⁵⁴.

Glutasyon peroksidaz, hidrojen peroksida ek olarak organik peroksitlere de saldırır. E vitamin ile birlikte lipid peroksidasyonuna karşı vucut savunmasının bir kısmını oluşturur⁵⁴.

2.5.1.1.4. Süperoksit Dismutaz:

Aerobik şartlarda yaşamı sürdürmek için gerekli enzimlerden bir tanesi olan superoksit dismutaz, 1969 yılında McCord ve Fridovich tarafından bulunmuştur. Potansiyel olarak toksik bir madde olan oksijenin toksisitesi, önceleri, H_2O_2 oluşumuna bağlanmıştır. Ancak son zamanlarda oksijenin superoksit radikaline indirgenmesindeki kolaylık ve zorunlu anaeroblarda olmamasına rağmen, aerobik organizmalarda SOD enziminin varlığı, oksijenin toksisitesinin superoksida dönüşümüne bağlı olduğunu düşündürmektedir¹²⁷.

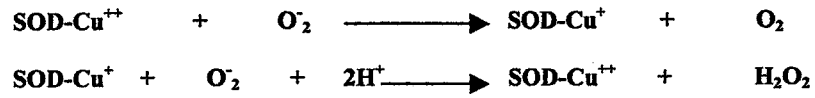


Yapılan araştırmalarda aynı kinetik özelliğe sahip üç enzim tarifledilmiştir^{83,67,99}.

- Prokaryotlarda bulunan ve aktif bölgesinde geçiş metali olarak demir içeren tip,
- Prokaryot ve ökaryot mitokondrisinde bulunan ve mangan içeren tip,
- Ökaryot hücrelerin sitoplazmasında bakır ve çinko bulunduran tip,

Bazı reaksiyonlarda superoksit hem oksidan hem de redüktan olarak hareket eder. Dokularda superoksidin kimyasal etkisi, serbest radikal zincir reaksiyonları tarafından kuvvetlendirilir. Süperoksit dismutazın görevi, aerobik organizmaları, süperoksidin zararlı etkisine karşı korumaktır⁵⁴. Memeli hücrelerinde SOD'un bakır-çinko ve mangan içeren iki tipi vardır. Enzimin Cu-Zn SOD formu sitozolde ve mitokondri iç membranında, Mn formu ise mitokondri matriksinde ve kısmen de sitoplazma da bulunur^{67,99,128}.

Süperoksit anyonu, SOD enzimi üzerindeki Cu^+ ve bir arginin rezidüsünün guanido grubuna bağlanır. Bu bağlanma sonucunda, süperoksit'ten bir elektron Cu^{++} 'a transfer olurken, Cu^+ ve moleküler oksijen meydana gelir. Reaksiyonun devamında H_2O_2 oluşurken, enzim tekrar Cu^{++} formuna döner^{79,67}.



SOD'ı tek başına antioksidan ve detoksifiye edici bir enzim olarak kabul etmek aslında pek doğru değildir. SOD'un enzimatik katalizini gerçekleştirdiği reaksiyonun ürünü H_2O_2 'dir. Ancak bu reaksiyon, reaktif oksijen radikallerinin detoksifikasyonuna giden enzimatik yolun ilk basamağıdır. İkinci basamakta katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri tarafından, H_2O_2 suya dönüştürülerek detoksifiye edilir^{129,67,130}.

2.5.1.1.5. Askorbik Asit:

Askorbik asit kuvvetli indirgen aktivitesinden dolayı, güçlü bir antioksidandır. Süperoksit ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girerek onları ortadan kaldırır. C vitamini ayrıca antiproteazların oksidan maddeler ile inaktive olmasını engeller^{42,79,124}. Peroksil radikalleri ile direk reaksiyona girdiği gibi, hidrojen transferi aracılı E vitamin radikali yıkımında da rol almaktadır¹³¹.

Askorbik asit, antioksidan etki yanında, oksidan etki gösterir. C vitamini, SOD dışında, ferri demiri ferro haline çeviren tek hücrel ajandır. Bu yolla elde edilen ferro demir, fenton reaksiyonunda hidrojen peroksit ile etkileşir^{42,124}.

2.5.1.1.6. Ürik Asit:

Ürik asit en önemli antioksidanlardan biri olup, sıvı fazda peroksil radikallerini, askorbik asitten daha etkili olarak yakalar^{132,123}.

2.5.1.2. Sekonder Antioksidan Savunma Sistemleri

Primer ve sekonder antioksidan savunma sistemleri arasındaki farklılık, etkileyici bir fonksiyona sahip olan primer antioksidan sistemlerin varlığına rağmen, hücrel proteinler ve enzimlerin in vivo olarak oksidatif hasar ve inaktivasyona duyarlı oldukları gözlemine dayanır¹¹⁹. Oksidatif olarak hasarlanmış proteinler, sekonder antioksidan savunma sistemleri içerisinde sayılabilecek olan ATP ve Ca^{++} 'dan, bağımsız proteazlar tarafından uzaklaştırılırlar. Değişik oksiradikaller ve karışık

fonksiyonlu oksidasyon sistemleri proteinlerde oksidatif hasara neden olur. Bu hasar, protein modifikasyonu, katalitik aktivitenin kaybı, protein fragmentasyon ve artmış proteolitik duyarlılıkla karakterizedir. Daha ileri etkiler ise denatürasyon ve oksidatif olarak hasarlanmış proteinin hidrofobitesinde artma sonucu ortaya çıkar. Protein-peroksil radikallerinin oluşumu, ana-zincir ve yan zincir reaksiyonlarını içeren, karbonil ve amino parçacıklı protein fragmentasyon ürünlerinin oluşumuna yolaçan bir dizi basamağın sonucudur^{133,134,127}.

2.6. KALP

Kalp orta mediastinde perikard kesesi içinde bulunur. Perikard kesesi seröz bir membran ile döşelidir ve kayganlığı sağlayıcı bir madde olarak etki eden, 30 ml'ye kadar, berrak, seröz bir sıvı içerir⁶⁹.

Normalde kalp kabaca bir yumruk büyüklüğündedir ve yaklaşık olarak kadınlarda 250- 300 gr., erkeklerde 300-350 gr. ağırlıktadır.

Kalbin atriümlar ve ventriküller arasında kan akışını yönlendiren iki atrioventriküler kapağı ve kanın ventriküllerden sistemik ve pulmoner dolaşıma doğru akışını yönlendiren iki kapağı vardır. Bu kapaklar, Trikuspid kapak, Mitral kapak, Aort kapağı, Pulmoner kapaktır⁶⁹. Kalbe kan desteği sol ve sağ koroner arterler tarafından sağlanır.

Kalbin ileti sistemi, kalp vurusunun başlatılması ve iletisinden sorumlu olan, özelleşmiş kalp kası hücrelerinden oluşur. Kalp vurusu sinoatrial düğümünden başlar ve purkinje liflerinde sonlanır.

Kalp duvarının üç katmanı vardır:

Endokard: Kalbin iç yüzeyini döşeyen endokard sürekli bir bazal membranın üzerini örten, tek sıralı ince bir endotel katmanından oluşur.

Miyokard: Ara katman olan miyokard kalp kası olarak isimlendirilen ve çok sayıda kapiller içeren bağ dokusundan, bir çatı içinde yer alan çizgili kasın eşi olmayan, özel bir şekilde oluşur.

Epikard: En dıştaki kalp katmanı olan epikard, miyokardın bağ dokusuna karışır ve bir bağ dokusu katmanı üzerinde yer alan ince bir mezotel tabakası ile döşelidir⁶⁹.

Kalbin intrinsek kontraksiyon hızı vardır, kendi pacemakerını kullanır. Pacemakerin hızı noradrenerjik nöronların etkisiyle artar ve kolinerjik noronlarla yavaşlar. Kalbin kontraktıl fazı sistol, gevşeme ya da doluş fazı ise diastol olarak isimlendirilir. Kalp kası, birbirine elektriksel olarak, sıkı bağlarla bağlanmış, kalp kası

hücrelerinden oluşmuştur. İnterkale disk adını alan bu bağlantılar, düşük dirençli yollardır⁶⁹.

İnterkale diskler, sarkomerlerin Z bandında bulunurlar. Bir kalp hücresinde oluşan depolarizasyon, çevredeki hücrelere iletilir; bu nedenle kalp kası, fonksiyonel bir sinisyumdur.

Kardiyak aksiyon potansiyeli (AP), bir hücrenin uygun bir uyaran alması durumunda ortaya çıkan, membran potansiyel değişimidir. Miyokard hücreleri, yapılarına ve AP'ni iletilebilme hızına göre, yavaş ve hızlı lifler olmak üzere, iki gruba ayrılır⁶⁹.

Yavaş lifler, normal olarak yalnız sinoatriyal (SA) ve (AV) düğümlerde bulunurlar. Yavaş liflerin membran potansiyelleri genellikle 50-70 mV arasındadır. Hızlı lifler, iskemi ya da hipoksinin ya da bazı ilaçların etkisiyle yavaş liflere dönüştürler. Yavaş liflerdeki AP, pozitif iyonların (Ca^{2+}) hücre içine doğru hareketi ile oluşur ve bu hareket normalde negatif olan hücre içini nötralize eder. AP sırasında membran potansiyeli sıfıra doğru yaklaşır, bu durumda negatif olan hücre içini nötralize eder. AP sırasında membran potansiyeli sıfıra doğru yaklaşır, bu durumda hücre içinin, depolarize olduğu söylenir.

Hızlı lifler, normal atriyal ve ventriküler miyokard lifleri ile kalbin özelleşmiş ileti dokuları, hızlı liflerden oluşmaktadır. Hızlı liflerde IMP, 80-90 mV'dur⁶⁹.

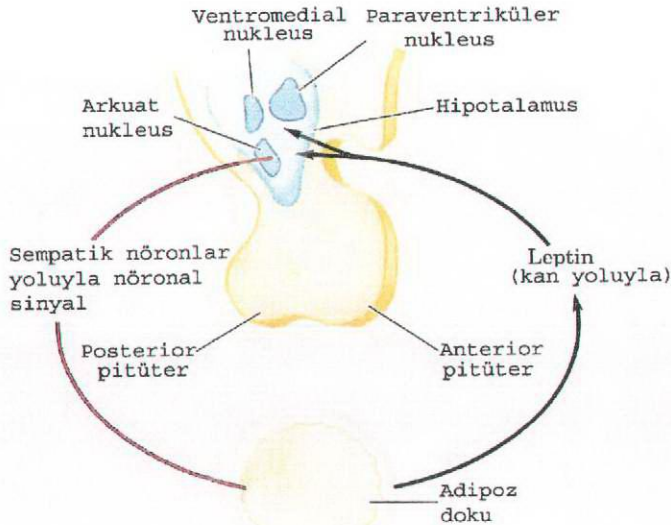
Kalp insülin ve tiroid hormonu için en önemli organdır. Hipotiroidizm, kolesterol ve trigliserit seviyesini artırır. Bu da koroner arter hastalıklarının ilerlemesi için büyük bir risk oluşturur. Tiroid hormonlarının neden olduğu diastolik gevşemedeki değişiklik, sarkoplazmik retikulumun (SR) Ca^{2+} ATP az aktivitesindeki değişikliğine bağlıdır. Düşük sistolik Ca^{2+} konsantrasyonu kardiyak kasları gevşetir. Sarkoplazmik retikulumun Ca^{2+} ATP az'ının aktivitesi hipotiroidili hayvanlarda düşmüştür. Hipotiroidili hayvanlara T_3 verilmesiyle sarkoplazmik retikulumun Ca^{2+} ATPaz'ın şifresi olan mRNA'nın seviyesini arttırdığı bulunmuştur. Diabetik kalplerde de hipotiroidili ratlarda olduğu gibi aynı mekanizma işlemektedir. Diabetik kalpde de diastolik gevşemenin hızındaki azalma sarkoplazmik retikulumun Ca^{2+} ATPaz'ının aktivitesindeki azalmaya bağlıdır. Sonuç olarak, Diabetes Mellitus tiroid hormon değerlerinde azalmaya neden olmaktadır. Diabetik hayvanlarda, SR Ca^{2+} ATP az aktivitesi ve miyozin ATP az aktivitesinde hipotiroidizmde olduğu gibi azalma görülebilmektedir¹³⁵.

2.7. LEPTİN

2.7.1 Leptinin Yapısı ve Metabolik Etkileri

Leptin son yıllarda tanımlanan insan ve hayvanda adipoz dokudan sentez edilen ve salınan 167 amino asitten oluşmuş bir proteindir. Leptinin etki mekanizmaları arasında sempatik sinir sistemini aktive etmesi, kan basıncını, kalp atışını ve adipoz dokunun mitokondrisinde ATP sentezinden çift elektron transferiyle termogenezi artırması sayılabilmektedir. Leptin bir hormon olma özelliğinin yanında vücut ağırlığını ve yeme merkezini de düzenlemektedir. İntestinal epitelyum ve plasentada da az miktarda üretilbildiği gibi esas olarak adipoz dokudan salınan leptin kan yoluyla beyine ulaşır. Beyinde ise hipotalamustaki reseptörlerle etkileşmektedir. Leptin reseptörü, yeme davranışını düzenleyici olarak bilinen beyinin primer bölgesinde (arkuat nöronları, hipotalamusun dorsamedial ve ventromedial nukleusunda) bulunmaktadır. Leptin reseptörlerine daha az olarak da pankreatik β hücrelerinde ve adrenal korteks hücrelerinde rastlamaktayız. Leptin reseptörleri hasarlandığı zaman sinyal fonksiyonlarının bozulduğu gözlenmektedir⁶⁶.

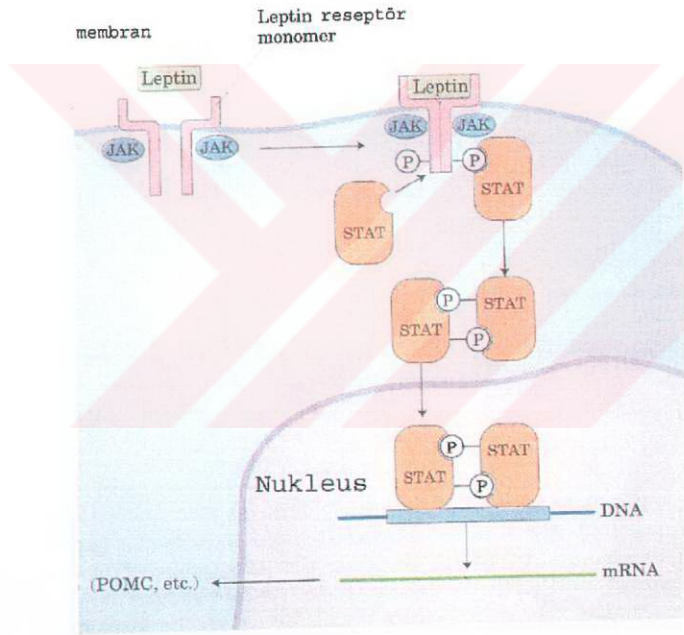
Leptin, laboratuvar farelerinde OB (obesite) geninin bir ürünü olarak tanımlanır. Bu geni hasarlı olan farelerin serum kortikosteroit düzeylerinin artmış olduğu ve ciddi obesite oluşturdıkları gözlenmiştir. Bunlar ve diabetik hayvanlar arasında benzer metabolik özellikler bulunmakta ve insüline karşı direnç gözlenmektedir. Diğer fare geni DB'nin (diabetik) açlığın düzenlenmesinde rol oynadığı ve bu genin leptin reseptörünü çevrelediği bulunmuştur⁶⁶.



Şekil XVI: Leptinin metabolik yolu⁶⁶

2.7.2. Leptin Reseptörü ve İlgili Mekanizmalar

Leptin sinyal iletimi JAK (Janus Kinaz)-STAT(sinyal iletim transkripsiyon aktivatörü) sistemi ile olmaktadır. Leptin reseptörü tek transmembran parçaya sahiptir ve ligand extrasellüler bölgeye bağlandığında dimerize olur. JAK varlığında intrasellüler bölgeler tirozin rezidülerinden fosforile olurlar. Bu fosfotirozinler rezidüleri transkripsiyon aktivatörleri ve sinyal iletimi için bağlanma alanı oluşturur. Fosforile olmuş leptin reseptörüne bağlanan STAT'lar JAK'ın farklı bir aktivitesi ile tirozin rezidüleri üzerinden tekrar fosforile olurlar. P-try rezidüleri ile birbirine bağlanan STAT'lar dimerize olarak adlandırılır ve nükleusun içine girerler. Nükleus içinde spesifik DNA zincirlerine bağlanırlar ve spesifik hedef genlerinin ekspresyonunu stimüle ederler. Bu genlerin ürünleri genellikle beslenme alışkanlıklarını ve enerji kapasitesini etkilerler. NPY (nöropeptid Y), CRH (korikotropin salgılatan hormon) ve POMC (proopiomelanokortin) prekürsörlerinin genetik ekspresyonu leptin vasıtasıyla bu yolla olmaktadır⁶⁶.

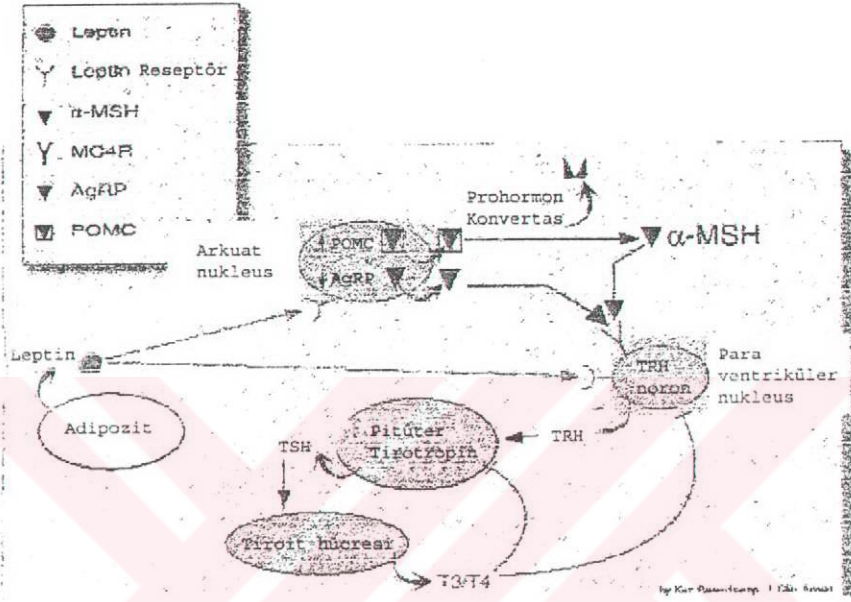


Şekil XVII: Leptin sinyal mekanizması⁶⁶

2.7.3. Leptin ve Tiroid

Birçok çalışma, leptinin vücutta yağ depolanması, vücut ağırlığının değişimi ve enerji metabolizmasındaki rolü üzerinde odaklanmıştır. Tiroid hormon disfonksiyonlarının belirtilen tüm mekanizmalar üzerinde etkili olduğu bilinmekle birlikte karşı fikirlerin savunulduğu çalışmalar da bulunmaktadır^{136,137,138,139,140,141}. Çalışmalar sonrasında tiroid hormonları ve leptin arasında metabolik ilişki olması

gerektiği düşünülmektedir. Birçok çalışmada cinsiyete bağlı olarak leptin düzeyinde farklılık da gözlenmiştir¹³⁶. Leptin tiroid hormonları üzerine iki yolla etki etmektedir. Birinci yol leptin sinyal iletiminin arkuat nükleusta bulunan proopimelanokortinin indüklenmesi veya Agrp'nin baskılanması ile paraventriküler nükleusu etkilemesidir. İkinci yol ise leptin sinyal iletiminin paraventriküler nükleusa direkt etki etmesidir. Her iki yoluda TRH nöronlarından TSH salınımı için gerekli olan TRH ekspresyonu etkilemektedir. Leptin sinyal iletiminin yokluğu T3/T4 ve hipotalamo-pituiter-tiroid sistemdeki feedback döngünün kaybına sebep olmaktadır⁶⁶.



Şekil XVIII: Leptin ve tiroid arasındaki mekanizma¹³⁸

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı araştırma laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Tez Projem, Gazi Üniversitesi Araştırma Fonu Proje (AFP) tarafından 08-2001 kodlu projesi ile desteklendi.

3.1.Kullanılan Gereçler

3.1.1.Deney Hayvanları

Bu çalışmada Sağlık Bakanlığı Hıfzısıhha (Refik saydam Enstitüsü) kurumu hayvan yetiştirme bölümünden sağlanan 200-250 gr ağırlığındaki Sprague Dawley erkek ratlar kullanılmıştır.

3.1.2.Kullanılan Aletler

Santrifüj (Damon IEC,B-20 A soğutmalı, BHG Hermle Z 380)
Homojenizatör (Virtis -Virtishear)
Spektrofotometre (Shimatzu UV-1601)
Ultrasantrifüj (Sorvall)
Elisa cihazı (Elx)
Tiroid ölçümü (Tosoh)
HbA1c (olympus)
Hassas Terazi (Shimatzu, Libror , AEG-220)
pH-metre (Nel elektronik)
Glucometre II (Ames)
Glucostix (Ames)
Vortex (Heidolph Reax 2000)
Manyetik Karıştırıcı
Kuartz küvet
Sıvı Azot Tankı
Deep Freeze
Otomatik mikro pipetler
Çalkalayıcı su banyosu

Tıbbi biyokimya anabilim dalı araştırma laboratuvarında biyokimyasal analizler için bulunan gerekli malzemeler kullanıldı.

3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Streptozotosin, Folin& ciocaltu's fenol reaktifi, EDTA, NADPH, GSH, glutatyon redüktaz, Ksantin oksidaz, NBT (nitroblue tetrazolium), BSA (Bovine serum albumin), Xanthine Sigma kullanıldı.

H₂O₂, Bakır klorür (CuCl₂), TBA (Tiobarbitürik asit), TCA (Trikloroasetik asit), Sodyum Karbonat, Kloroform, Etanol, Sodyum Hidroksit, Na-K tartarat, Bakır Sülfat, KH₂PO₄, Sodyum Nitrit, Na₂HPO₄, Fosforik Asit, Butanol, Demir Sülfat, Sülfirik Asit, Xynelol Orange, Methanol Merck kullanıldı.

Ketamin Hidroklorid (ketalar) eczacıbaşı kullanıldı. İnsülin Nova Nordiks kullanıldı.

3.2. Uygulanan Yöntemler

3.2.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması

Ratlarda diabetes oluşturmak amacıyla streptozotosin (55mg/kg) distile suda eritilerek intraperitoneal olarak uygulandı. Uygulamadan iki, üç gün sonra poliüri, polidipsi, glukozüri gözlemlendi. Kan glukozu 400 mg/dL ve üzerindeki ratlar diabetik olarak kabul edildi. Her grupta 10 adet olmak üzere toplam 60 adet rat kullanılması planlanmıştır. 6 grup oluşturuldu.

Grup 1: Kontrol grubu (K): Ratlar standart şartlarda 5 hafta boyunca izlendi.

Grup 2: Diabetik grup(D):İntraperitoneal tek doz streptozotosin (55mg/kg) enjekte edilerek ratlarda diabetes oluşturuldu ve 5 hafta boyunca izlendi.

Grup 3: Diabetes + İnsülin grup: (D+İ): Ratlara intraperitoneal tek doz streptozotosin (55mg/kg) enjekte edilerek diabetes oluşturuldu ve 5 hafta boyunca insülin (7-10U/kg/gün,sc) verildi.

Grup 4: Tiroidektomili grup (T): Tiroidektomi (21 gün sonra) takiben 5 hafta boyunca standart şartlarda beklenmiştir.

Grup 5: Tiroidektomili + Diabetes grup (T+D): Tiroidektomi takiben 21gün sonra intraperitoneal tek doz (55mg/kg) streptozotosin ile diabetes oluşturuldu ve 5 hafta boyunca beklendi.

Grup6: Tiroidektomi + Diabetes + insülin uygulanan grup (T +D+İ); Tiroidektomi + Diabetes oluşturulan ratlara 5 hafta boyunca insülin (7-10U/kg/gün,sc) verildi.

Daha sonra hayvanlara ketalar anestezisi verilerek kalp dokuları alındı. Dokular sıvı nitrojenle dondurularak -70 derecede çalışma süresine kadar saklandı.

NOT: Tirodektomi için gerekli olan cerrahi operasyon Prof Dr. Atilla Engin tarafından yapıldı.

3.2.2. Metotların Uygulanması

3.2.2.1. Malondialdehit (MDA) Tayini

Metot: MDA tayini, Uchiyama tarafından geliştirilen metot ile çalışıldı¹⁴².

Reaktifler: % 0,6'lık TBA, % 1'lik fosforik asit, n-butanol, %1,15 KCl

Dokunun hazırlanması: 200mg doku %1.15'lik KCl ile homojenize edilir. Bu %10'luk doku homojenatından 0.5 ml alınarak çalışıldı.

Metodun Uygulanışı: Numuneden 0.5 ml alınarak, 3 ml fosforik asit, 1ml TBA solusyonuna ilave edildi. Kaynar su banyosunda 45 dakika bekletip soğutulan tüplere 4 ml n-butanol ilave edilip karıştırıldı. 2500 rpm de 5 dakika santrifüj edildikten sonra tüpün üst kısmındaki n-butanol fazı 535 ve 520 nm'de spektrofotometrede okutuldu. İki absorbans arasındaki fark mikromol/g doku MDA düzeyi olarak hesaplandı.

Hesap: Absorbans farkı = mikromol/gr doku MDA

3.2.2.2. Fox Tayini (Xynelol Orange Metodu)

Metot: Fox tayini, Hermes-Lima tarafından geliştirilen metod ile çalışıldı⁸⁹.

Reaktifler: Demir sulfat, Sülfürik asit, metanol, Xylenol orange

Metodun Uygulanışı: Dokular 1\10 (w/v) oranında metanol ile homojenize edildi. Sonra 1000g'de 15 dakika santrifüj edildi. 250µl 1mM FeSO₄ + 100 µl 0,25M H₂SO₄ + 100µl 1mM xylenol orange + 500 µl distile su + 50 µl homojenat kondu. Oda sıcaklığında 45 dak bekletildi. Körde homojenat yerine distile su konarak aynı şekilde hazırlandı ve 60-70dak. Kadar bekletildikten sonra 580nm'de okutuldu. Daha sonra 10 µl 0.8mM H₂O₂ eklendi. Hazırlanan karışım 60 dakkika bekletilip ve 580nm'de köre karşı okutuldu.

Hesap: (A580 nm örnek/A580 nm 8 nmol H₂O₂)X 8 nmol H₂O₂ X 1000/V X 11

V: substratın miktarı

Sonuçlar nmol / g doku olarak hesaplandı.

3.2.2.3. Katalaz Tayini

Metot: Katalaz aktivitesi, Aebi tarafından geliştirilen ve hidrojen peroksitin dekompozisyonuna dayanan metot ile çalışıldı¹⁴³.

Reaktifler: Fosfat tampon pH: 7.0, H₂O₂

Dokunun Hazırlanması: Dokular fosfat tamponunuda 1:9 (w/v) oranında homojenize edildi.

Metodun Uygulanışı: Homojenize edilen dokular +4 °C 'de 700g'de 15 dak. santrifüj edildi. 0,2ml süpernatant üzerine 2,8 ml hidrojen peroksit eklenerek reaksiyon başlatıldı. Başlangıç absorbansı 0,500 olacak şekilde hidrojen peroksit konsantrasyonu ayarlandı. Absorbans değerleri 0,450-0,400 arasındaki zaman ölçüldü. Aktivite kaybı 240 nm 'de 5 sn aralıkla 3 dak. boyunca ölçüldü ve hız sabiti denkleminde göre K tayin edildi. Sonuçlar mg protein başına olacak şekilde hesaplandı.

Hesap: $K = (2,3 / \Delta T) (\log A_1 / A_2) = 0,1175 / \Delta T$

K: hız sabiti

A1: 0. Dakikadaki absorbans

Delta T: geçen zaman

A2 : t zamanındaki absorbans

Spesifik aktivite K/ mg protein olarak hesaplanır.

3.2.2.4. Superoksit Dismutaz Tayini

Metot: Doku SOD aktivitesi, Yi-Sun'un 1988 'de tanımladığı¹⁴⁴, ksantin ksantin oksidaz ile O₂ oluşturması ve bunun de NBT ile renkli bir bileşik oluşturarak bu renk şiddetinin spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır.

Reaktifler: Stok ksantin, EDTA, NBT, Na₂CO₃, BSA, CuCl₂, Ksantin oksidaz

Dokunun Hazırlanması: Distile su ile doku ½ (w/v) oranında homojenize edildi.

Metodun Uygulanışı: Homojenize edilen doku 5000g'de +4°C'de 30 dak. santrifüj edildi. Supernatant kloroform- etanol karışımıyla 1/1 oranında karıştırıldı. +4 °C'de 5000g 'de 2 saat santrifüj edildi. Cu-Zn SOD için ise Homojenize ettikten sonra ultra santifüjde 110.000g'de 15 dakkika santrifüj edidi ve sitoplazma kısmı ayrıldı. Daha sonra hem Cu-Zn SOD hem de total SOD için her tüpe 2,9 ml reaktif karışımı (40ml stok ksantin, 20ml EDTA, 20ml NBT, 12ml Na₂CO₃) + 50 µl numune + 50 µl XO konuldu. 25°C'de 20 dak. inkübe edildikten sonra 0.8mm CuCl₂'den 1 cc herbirine eklenir ve 560 nm'de distile suya karşı okunur.

Hesap: % inhibisyon = $((Kör\ abs - numune\ abs) / kör\ abs) \times 100$

% 50 inhibisyonu 1 Ü aktivitenin sağladığı düşünülerek hesap yapıldı. Daha sonra Lowry metodu¹⁴⁷ ile mg protein düzeyi hesaplanarak Ü /mg prot. olarak SOD aktivitesi bulundu

3.2.2.5. Glutasyon Peroksidaz Tayini

Metod: Doku GPx aktivitesi, Paglia ve Valentine'in¹⁴⁵ tariflediği metodun Mishra¹⁴⁶ tarafından modifikasyonuna göre çalışıldı. Bu çift enzim yöntemi, GPx ile H₂O₂ 'in redüksiyonunu ve glutasyon redüktaz ile NADPH'ın NADP'ye oksidasyonunu izleme esasına dayanır.

Reaktifler: Fosfat tamponu, EDTA, NaN₃, NADPH, GSH, Glutasyon redüktaz, H₂O₂

Dokunun Hazırlanması: EDTA içeren soğuk 50mM potasyum tampon ile kalp dokuları 1:9 (w/v) oranında homojenize edildi.

Metodun Uygulanışı: Dokular homojenize edildikten sonra 4°'de 15 dakika 2000g'de santrifüj edildi. 2ml reaktif karışımı (50mM KHPO₄, 3,6mM NaN₃, 5mM GSH bu karışımın 10cc'sinde 2,5mg NADPH çözülür) + 0,2 ml supernatan + 50 µl glutasyon redüktaz eklendi. Oda sıcaklığında 5 dakika inkübasyondan sonra 50 µl H₂O₂ eklenerek reaksiyon başlatıldı. 340 nm'de 5 dakika boyunca absorbans değişimi gözlemlendi.

Hesap:

$(\Delta A / 6,22 \times 10^3) \times (TotalV / Numune V) \times 10^9 \times 10^{-3} \text{ NADPH} / dk / ml$ olarak hesaplandı.

Supernatanda Lowry¹⁴⁷ metoduna göre protein tayini yapıp, mg protein başına aktivite tanımlandı.

Sonuçlar nmol okside olan NADPH /dk / mg protein olarak hesaplandı.

3.2.2.6. Doku Protein Tayini

Metot: Lowry metoduyla, sığır serum albümini standart kabul edilerek çalışıldı¹⁴⁷.

Reaktifler: Sodyum Karbonat, Na-K tartarat, Bakır sülfat, Sodyum hidroksit, Folin& ciocaltu's fenol reaktifi, BSA kullanıldı.

Metodun Uygulanışı: Standart, Bovin Serum Albümin 1 mg/ml olacak şekilde hazırlandı. 10 µl süpernatant + 90 µl distile su + 2 ml reaktif karışımı (%2 Na₂CO₃, %2 Na-K tartarat, %1 CuSO₄.5H₂O) ilave edildi ve 20 dakika oda ısısında bekletildi. Sonra 200µl folin ciocaltu's fenol reaktifi eklendikten sonra vortexlenen karışım 40 dakika oda ısısında beklendikten sonra 750 nm'de köre karşı spektrofotometrede okutuldu.

Hesaplama; DU/DS X Std kons. = mg/ml olarak verilir.

DU = numune optik dansitesi

DS = standart optik dansitesi
Std. Kons. = standart konsantrasyonu
Sonuçlar mg protein /ml olarak hesaplandı.

3.2.2.7. Leptin Tayini

Rat serum elisa kiti (Titerzyme) kullanılarak yapıldı. Sonuçlar pg /ml olarak hesaplandı.

3.2.2.8. Serum Tiroid (T₃, T₄) hormon ve HbA1c Tayini

Serum tiroid (T₃,T₄) hormon düzeyi Tosoh Immunoassay Sistemi (kemiluminisans immunassay) ile ölçüldü. HbA1c düzeyi ise Olympus Otoanalizörü ile, hemolize tam kanın türbidimetrik inhibisyon immunassay esasına göre tayin edildi.

3.2.2.9. Sonuçların Analizi

Elde edilen veriler, bilgisayarda (SPSS 8,0 for Windows) istatistik paket programı kullanılarak analiz edildi. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart deviasyon (SD) olarak verildi. Enzim aktiviteleri karşılaştırılırken Mann Whitney U testi, kan glukozu, tiroid değerleri, HbA1c değerleri ve ağırlık karşılaştırılırken Wilcoxon testi kullanıldı.

4. BULGULAR

Bu çalışmada, STZ ile diabet oluşturulmuş ratlarda, insülinin, antioksidan enzimler, serbest radikaller ve leptin düzeylerine olan etkisine, tiroid hormonlarının olası etkilerini incelemeyi amaçladık.

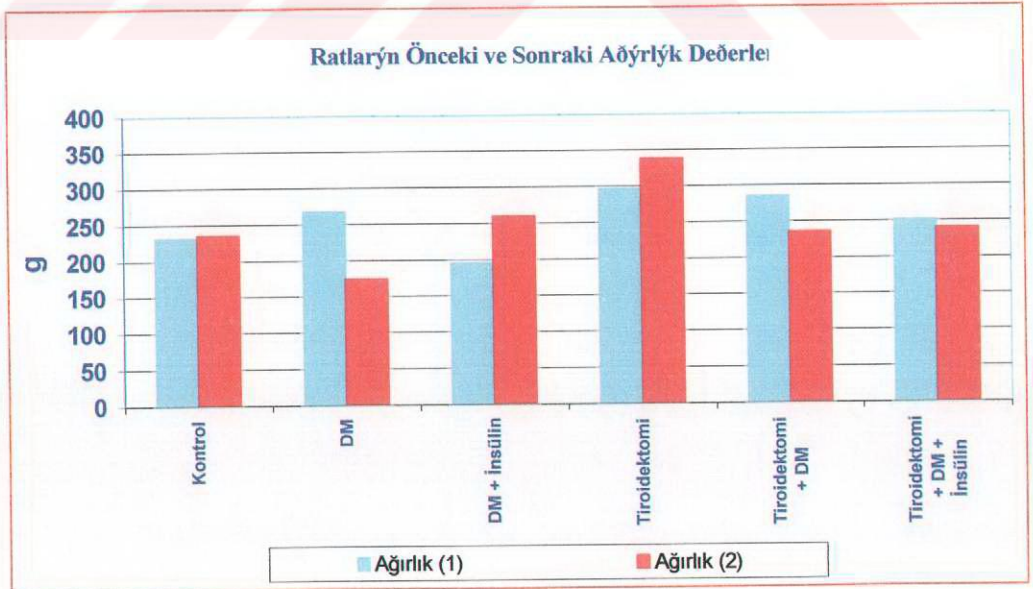
Tablo VIII: Ratların Önceki ve Sonraki Ağırlık Değerleri (g)

Gruplar	Ratların Önceki ve Sonraki Ağırlık Değerleri $\pm$ Standart Sapma	
	Ağırlık (1)	Ağırlık (2)
Kontrol n= 10	232 $\pm$ 33.9	235 $\pm$ 35.3
Diabet n = 10	268 $\pm$ 73.7	174 $\pm$ 23.2*
Diabet + İnsülin n = 7	195.7 $\pm$ 7.8	259.3 $\pm$ 24.6*
Tiroidektomi n = 10	297 $\pm$ 31.6	338 $\pm$ 36.4*
Tiroidektomi + DM n = 8	285 $\pm$ 34.2	235 $\pm$ 22.7*
Tiroidektomi + DM + İnsülin n = 9	251.1 $\pm$ 31.4	239.5 $\pm$ 33.0*

DM : Diabet

*p<0,05: Önceki değeri ile karşılaştırıldığında

Grafik I : Ratların Önceki ve Sonraki Ağırlık Değerleri



Ratların önceki ve 8 hafta sonraki Ağırlıkları Wilcoxon istatistik testi ile değerlendirildi. Kontrol ratların ağırlıkları arasında bir anlam bulunamazken, Diabet ($p < 0.05$), Tiroidektomi + Diabet ($p < 0.05$) Tiroidektomi + Diabet + İnsülin ($p < 0.05$) istatistiksel olarak azaldığı, Diabet + İnsülin ($p < 0.05$), Tiroidektomi ($p < 0.05$) ise anlamlı bir şekilde arttığı bulundu. Veriler Tablo VIII ve Grafik I 'de gösterildi.

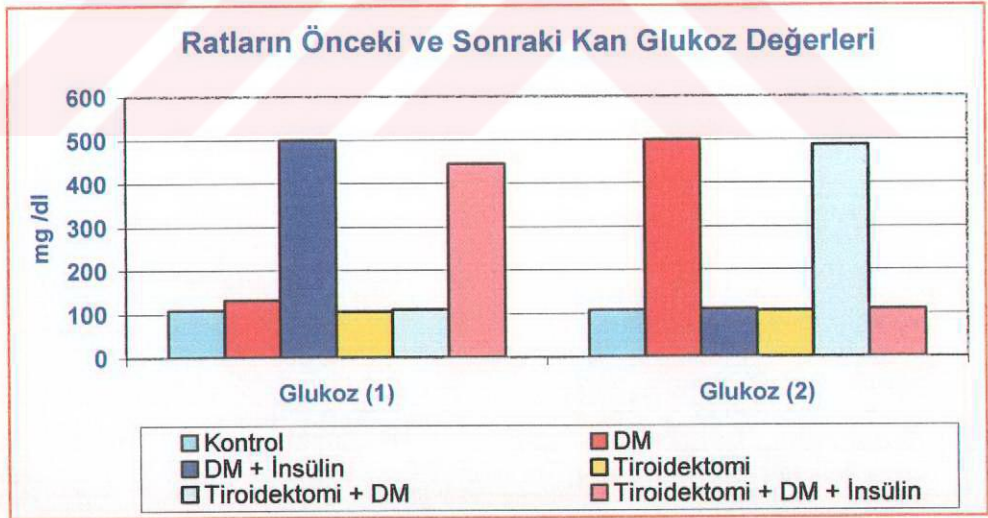
Tablo IX : Ratların Önceki ve Sonraki Kan Glukoz Değerleri (mg /dl)

Gruplar	Ratların Önceki ve Sonraki Kan Glukoz Değerleri $\pm$ Standart Sapma	
	Glukoz (1)	Glukoz (2)
Kontrol n = 10	108.3 $\pm$ 5.1	108 $\pm$ 5.6
Diabet n = 10	131.5 $\pm$ 25.7	500 $\pm$ 0.0*
Diabet + İnsülin n = 7	500 $\pm$ 0.0	110 $\pm$ 13.3*
Tiroidektomi n = 10	105.7 $\pm$ 12.5	105.8 $\pm$ 12.4
Tiroidektomi + DM n = 8	110 $\pm$ 7.6	487.4 $\pm$ 35.7*
Tiroidektomi + DM + İnsülin n = 9	444.4 $\pm$ 69.6	109.2 $\pm$ 9.0*

DM : Diabet

* $p < 0,05$: Önceki değeri ile karşılaştırıldığında

Grafik II : Ratların Önceki ve Sonraki Kan Glukoz Değerleri



Ratların önceki ve 8 hafta sonraki kan glukoz değerleri Wilcoxon istatistik testi ile değerlendirildi. Kontrol ve tiroidektomili ratların kan glukozu arasında bir anlam bulunamazken, Diabet ($p < 0.05$), Tiroidektomi + Diabet ($p < 0.05$) istatistiksel olarak arttığı, Diabet + İnsülin ($p < 0.05$), Tiroidektomi + Diabet + İnsülin

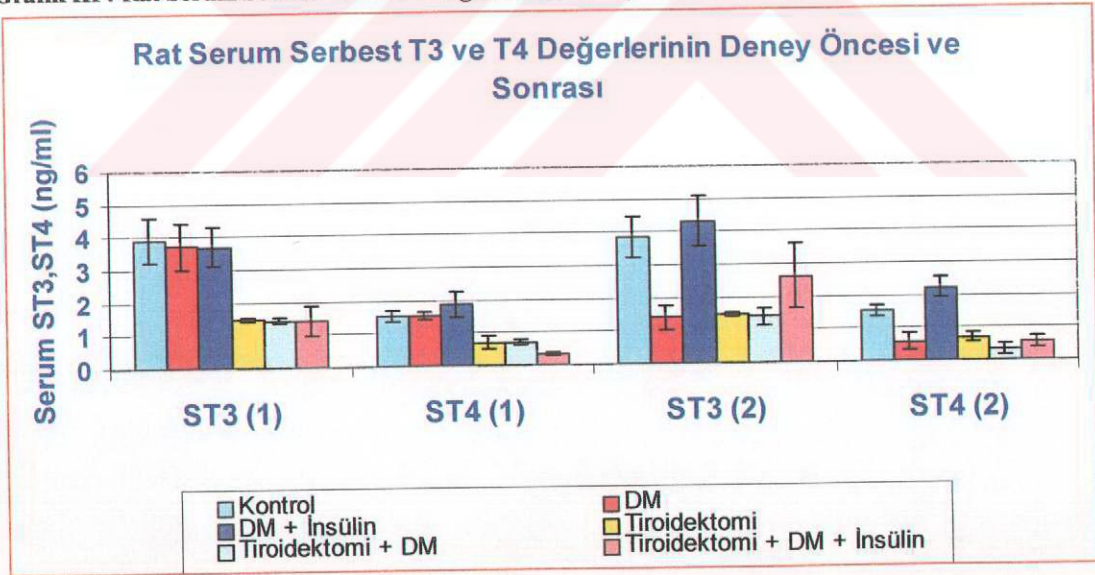
($p < 0.05$) ise anlamlı bir şekilde azaldığı bulundu. Veriler Tablo IX ve Grafik II 'de gösterildi.

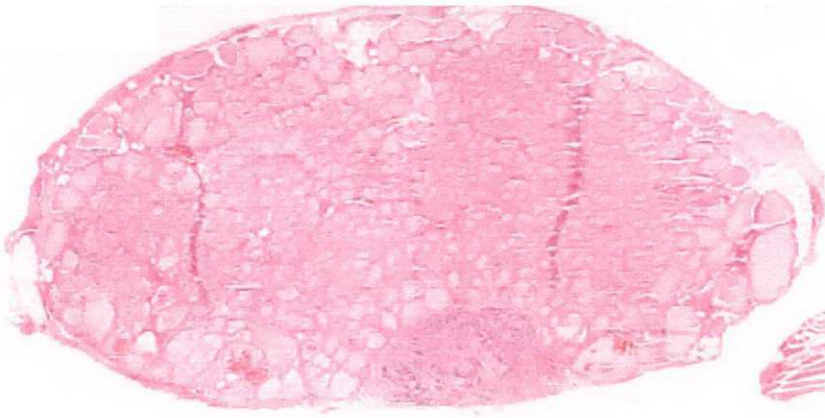
Tablo X : Rat Serumlarının Deney Öncesi ve Sonrası Serbest T3 ve T4 Değerleri (ng /ml)

Gruplar	Rat Serum Serbest T3ve T4 Değerleri Deney Öncesi ve Sonrası ± Standart Sapma			
	ST3 (1)	ST4 (1)	ST3 (2)	ST4 (2)
Kontrol n= 10	3.91 ± 0.7	1.53 ± 0.2	3.87 ± 0.6	1.54 ± 0.2
Diabet n= 10	3.71 ± 0.7	1.53 ± 0.1	1.39 ± 0.3*	0.59 ± 0.2 *
Diabet + İnsülin n= 7	3.7 ± 0.6	1.85 ± 0.4	4.33 ± 0.8*	2.22 ± 0.3
Tiroidektomi n= 10	1.47 ± 0.05	0.7 ± 0.2	1.47 ± 0.08	0.7 ± 0.2
Tiroidektomi + DM n= 8	1.44 ± 0.07	0.7 ± 0.08	1.4 ± 0.3	0.33± 0.2*
Tiroidektomi + DM + İ n= 9	1.42 ± 0.4	0.34 ± 0.04	2.63 ± 0.9*	0.58 ± 0.2*

* $p < 0,05$: Önceki değeri ile karşılaştırıldığında

Grafik III : Rat Serum Serbest T3 ve T4 Değerlerinin Deney Öncesi ve Sonrası





Tiroidektomi sonrası Tiroid Dokusu

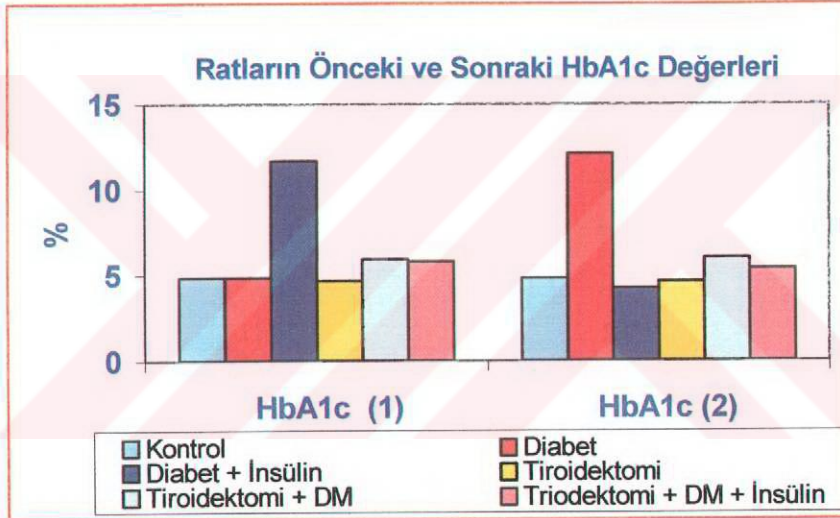
Ratların önceki ve 8 hafta sonraki ST3 ve ST4 değerleri Wilcoxon istatistik testi ile değerlendirildi. Gruplar arasındaki değerlendirmede Mann Whitney U testi kullanıldı. Kontrol (ST3, ST4) ve Tiroidektomi (ST3, ST4), Tiroidektomi + Diabet (ST3), Diabet + İnsülin (ST4) grubu ratların tiroid değerleri arasında bir anlam bulunamazken, Diabet (ST4, ST3 $p < 0.05$), Tiroidektomi + Diabet (ST4 $p < 0.05$) istatistiksel olarak azaldığı, Diabet + İnsülin (ST3, $p < 0.05$), Tiroidektomi + Diabet + İnsülin (ST3, ST4 $p < 0.05$) ise anlamlı bir şekilde arttığı bulundu. Veriler Tablo X ve Grafik III 'de gösterildi. Gruplar arası karşılaştırmada ise; Kontrole göre, Diabet (ST3 (2), ST4 (2) $p < 0.05$), Tiroidektomi (ST3 (1), ST4 (1), ST3 (2), ST4 (2) $p < 0.05$), Tiroidektomi + Diabet (ST3 (1), ST4 (1), ST3 (2), ST4 (2) $p < 0.05$), Tiroidektomi + Diabet + İnsülin (ST3 (1), ST4 (1), ST3 (2), ST4 (2) $p < 0.05$) grupları arasında istatistiksel olarak azalma olurken, Diabet + İnsülin (ST4 (2) $p < 0.05$) grubunda artma oldu. Diabet grubuna göre karşılaştırmada ise; Diabet + İnsülin (ST3 (2), ST4 (2) $p < 0.05$), Tiroidektomi + Diabet + İnsülin (ST3 (2) $p < 0.05$) anlamlı bir artış olurken, Tiroidektomi (ST3 (1), ST4 (1) $p < 0.05$), Tiroidektomi + Diabet (ST3 (1), ST4 (1) $p < 0.05$), Tiroidektomi + Diabet + İnsülin (ST3 (1), ST4 (1) $p < 0.05$) belirgin azalma oldu. Diabet + İnsülin grubu, Tiroidektomi (ST3 (1), ST4 (1), ST3 (2), ST4 (2) $p < 0.05$), Tiroidektomi + Diabet (ST3 (1), ST4 (1), ST3 (2), ST4 (2) $p < 0.05$), Tiroidektomi + Diabet + İnsülin (ST3 (1), ST4 (1), ST3 (2), ST4 (2) $p < 0.05$) gruplarıyla karşılaştırıldığında hepsinde istatistiksel bir azalma olduğu izlendi. Tiroidektomiye göre ise, Tiroidektomi + Diabet (ST4 (2) $p < 0.05$), Tiroidektomi + Diabet + İnsülin (ST4 (1) $p < 0.05$) grubunda azalma, Tiroidektomi + Diabet + İnsülin (ST3 (2) $p < 0.05$) grubunda ise artma oldu. Tiroidektomi + Diabet ile Tiroidektomi + Diabet + İnsülin karşılaştırıldığında ST4 (1) $p < 0.05$ azalırken, ST3 (2), ST4 (2) $p < 0.05$ artığı gözlemlendi. İnsülin verilen gruplarda insülinin tedavi edici etkisinden dolayı tiroid hormonlarında normal seviyeye geldiği izlendi.

Tablo XI : Ratların Önceki ve Sonraki HbA1c Değerleri(%)

Gruplar	Ratların Önceki ve Sonraki HbA1c Değerleri ± Standart Sapma	
	HbA1c (1)	HbA1c (2)
Kontrol n= 10	4.86 ± 0.3	4.82 ± 0.3
Diabet n = 10	4.86 ± 0.6	12.11 ± 0.6*
Diabet + İnsülin n = 7	11.68 ± 0.5	4.24 ± 0.07*
Tiroidektomi n = 10	4.66 ± 0.3	4.64 ± 0.2
Tiroidektomi + DM n = 8	5.93 ± 0.7	6.01 ± 0.8*
Tiroidektomi + DM + İnsül n = 9	5.80 ± 0.9	5.38 ± 0.8*

*p<0,05: Önceki değeri ile karşılaştırıldığında

Grafik IV : Ratların Önceki ve Sonraki HbA1c Değerleri



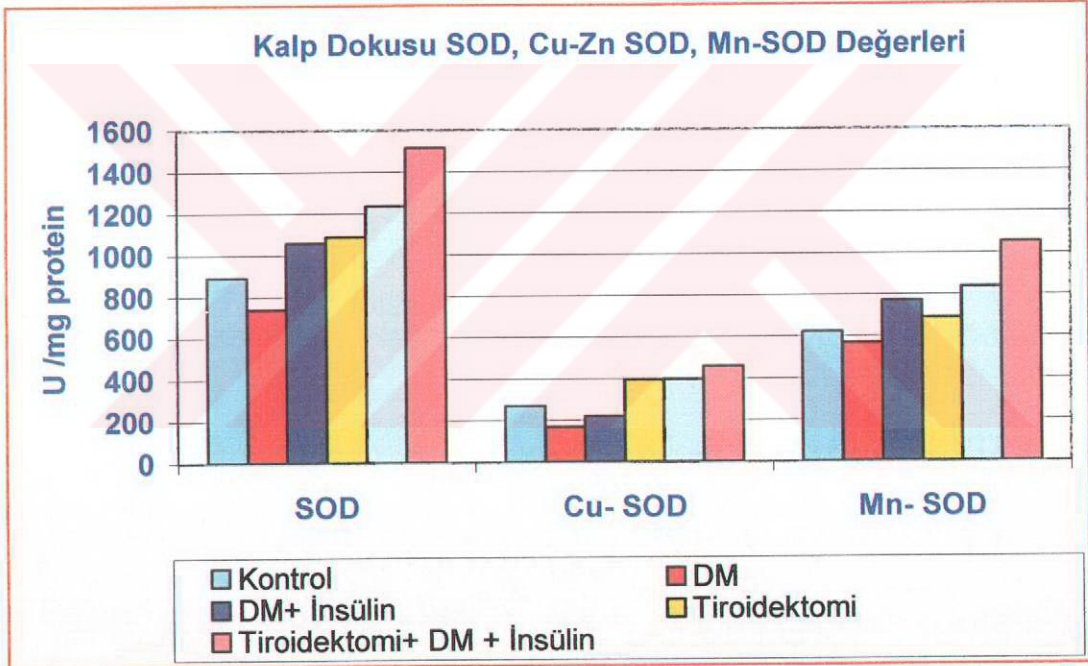
Ratların önceki ve 8 hafta sonraki HbA1c değerleri Wilcoxon istatistik testi ile değerlendirildi. Kontrol (HbA1c), Diabet (HbA1c), Tiroidektomi (HbA1c) grubu ratların HbA1c değerleri arasında bir anlam bulunamazken, Diabet + İnsülin (HbA1c p < 0.05), Tiroidektomi + Diabet + İnsülin (HbA1c p < 0.05) istatistiksel olarak azaldığı, Tiroidektomi + Diabet (HbA1c p < 0.05)'in ise anlamlı bir şekilde arttığı bulundu. Veriler Tablo XI ve Grafik IV 'de gösterildi. İnsülin verilen gruplarda insülinin tedavi edici etkisinden dolayı HbA1c düzeylerinin normal seviyeye geldiği izlendi. Tiroidektomili ratlar diabet yapıldığında ise HbA1c seviyelerinin diabet grubu kadar yükselmediğini gözledik.

Tablo XII : Kalp Dokusu SOD, Cu-Zn SOD, MnSOD Değerleri

Kalp Dokusu SOD, Cu-Zn SOD, Mn-SOD Değerleri ± Standart Sapma			
Gruplar	SOD (Ü /mg protein)	Cu-Zn SOD (Ü /mg protein)	Mn - SOD (Ü /mg protein)
Kontrol n= 10	891.8 ± 71.0 ^{c,b}	268.4 ± 57.0 ^{bc}	623.3 ± 58.4 ^{bc}
Diabet n = 10	738.7 ± 177.7 ^{a,c}	169.7 ± 53.0 ^{ac}	569.0 ± 139.1 ^{ac}
Diabet + İnsülin n = 7	1059.7 ± 74.0 ^{a,b,c}	288.7 ± 19.9 ^{bc}	771.0 ± 70.1 ^{a b}
Tiroidektomi n = 10	1086.3 ± 115.4 ^{a,b,c}	396.4 ± 62.6 ^{a b}	689.8 ± 136.4 ^c
Tiroidektomi + DM n = 8	1234.1 ± 116.2 ^{a,b}	398.1 ± 41.4 ^{a b}	836.0 ± 118.7 ^{a b}
Tiroidektomi + DM + İnsülin n = 9	1513.9 ± 654.0 ^{a,b,c}	459.1 ± 98.5 ^{a b}	1054.8 ± 642.3 ^{a bc}

a: Kontrole göre (p<0,05) b: Diabete göre (p<0,05) c: Tiroidektomi + Diabete göre (p<0,05)

GrafikV: Kalp Dokusu SOD, Cu-ZnSOD, MnSOD Değerleri



Kalp dokusudaki SOD, Cu-Zn SOD, Mn-SOD aktivitelerini istatistiksel olarak değerlendirmek için Mann Whitney testi kullanıldı. Kontrole göre, Diabet (SOD, Cu-Zn SOD, Mn-SOD p<0,05) grubu karşılaştırıldığında istatistiksel bir azalma olurken, Diabet + İnsülin (SOD, Mn-SOD p<0,05), Tiroidektomi (SOD, Cu-Zn SOD p<0,05), Tiroidektomi + Diabet (SOD, Cu-Zn SOD, Mn-SOD p<0,05), Tiroidektomi + Diabet + İnsülin (SOD, Cu-Zn SOD, Mn-SOD p<0,05) grubunda artma olmuştur. Diabet grubuna göre ise, Diabet + İnsülin (SOD, Cu-ZnSOD, Mn-SOD p<0,05), Tiroidektomi (SOD, Cu-Zn SOD p<0,05), Tiroidektomi + Diabet (SOD, Cu-Zn SOD,

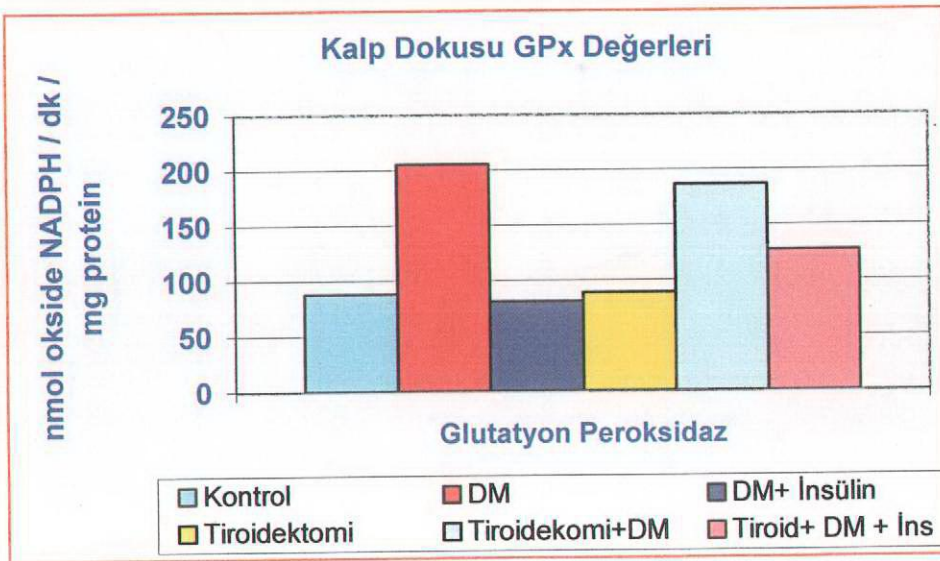
Mn-SOD $p<0,05$), Tiroidektomi + Diabet +İnsülin (SOD, Mn-SOD, Cu-Zn SOD $p<0,05$) grupları anlamlı olarak artar. Diabet + İnsülin grubu diğer gruplarla yani; Tiroidektomi (Cu-Zn SOD $p<0,05$), Tiroidektomi + Diabet (SOD, Cu-Zn SOD $p<0,05$), Tiroidektomi + Diabet +İnsülin (Cu-Zn SOD $p<0,05$) gruplarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel bir artış oldu. Tiroidektomi Tiroidektomi + Diabet (SOD, Mn-SOD $p<0,05$) grubuyla karşılaştırılmasında anlamlı bir artış oldu. İnsülin tedavisinin, antioksidan sistem üzerinde düzeltici etkisinin olduğu, tiroidektomili gruplarda ise böyle bir etkinin görülmediği gözlemlenmiştir. Veriler Tablo XII ve Grafik V’de verilmiştir.

Tablo XIII : Kalp Dokusu GPx ve Katalaz Değerleri

Gruplar	Kalp Dokusu GPx ve Katalaz Değerleri $\pm$ Standart Sapma	
	Glutasyon Peroksidaz nmol okside olan NADPH / dk/ mg protein	Katalaz K / mg protein
Kontrol n= 10	88.0 $\pm$ 28.9 ^{bc}	0.22 $\pm$ 0.1 ^{bc}
Diabet n = 10	205.3 $\pm$ 72.9 ^a	0.39 $\pm$ 0.1 ^{ac}
Diabet + İnsülin n = 7	81.3 $\pm$ 16.4 ^{bc}	0.22 $\pm$ 0.1 ^{bc}
Tiroidektomi n = 10	88.8 $\pm$ 25.3 ^{bc}	0.28 $\pm$ 0.05 ^c
Tiroidektomi + DM n = 8	186.4 $\pm$ 26.9 ^a	0.56 $\pm$ 0.19 ^{a b}
Tiroidektomi + DM + İnsülin n = 9	126.8 $\pm$ 32.0 ^{a bc}	0.45 $\pm$ 0.08 ^{a b}

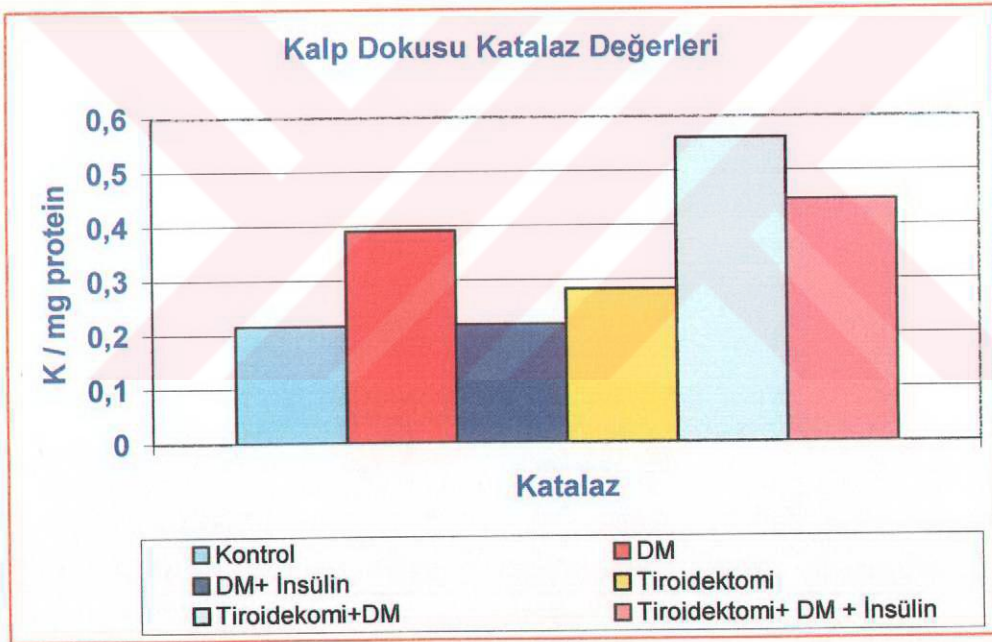
a: Kontrole göre ($p<0,05$) b: Diabete göre ($p<0,05$) c: Tiroidektomi + Diabete göre ($p<0,05$)

Grafik VI : Kalp Dokusu GPx Değerleri



Kalp dokusudaki GPx, Katalaz aktivitelerini istatistiksel olarak değerlendirmek için Mann Whitney U testi kullanıldı. Kontrole göre, Diabet + İnsülin, Tiroidektomi grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlam ifade etmezken, Diabet (GPx $p<0,05$), Tiroidektomi + Diabet (GPx $p<0,05$), Tiroidektomi + Diabet +İnsülin (GPx $p<0,05$) grubunda artma olmuştur. Diabet grubuna göre ise, Diabet + İnsülin (GPx $p<0,05$), Tiroidektomi (GPx $p<0,05$), Tiroidektomi + Diabet +İnsülin (GPx $p<0,05$) grupları anlamlı olarak azaldı. Diabet + İnsülin grubu diğer gruplarla yani; Tiroidektomi + Diabet (GPx $p<0,05$), Tiroidektomi + Diabet +İnsülin (GPx $p<0,05$) gruplarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel bir artış oldu. Tiroidektomi grubu, Tiroidektomi + Diabet (GPx $p<0,05$), Tiroidektomi + Diabet +İnsülin (GPx $p<0,05$) ile karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak artış görüldü. Tiroidektomi + Diabet, Tiroidektomi + Diabet +İnsülin (GPx $p<0,05$) grubu ile karşılaştırıldığında ise belirgin bir azalma izlendi. Veriler Tablo XIII ve Grafik VI'de verilmiştir

Grafik VII : Kalp Dokusu Katalaz Değerleri



Kalp dokusudaki Katalaz aktivitesi Kontrole göre, Diabet (KAT $p<0,05$), Tiroidektomi + Diabet (KAT $p<0,05$), Tiroidektomi + Diabet +İnsülin (KAT $p<0,05$) gruplarında anlamlı bir artış oldu. Diabet grubuna göre de, Tiroidektomi + Diabet (KAT $p<0,05$), Tiroidektomi + Diabet +İnsülin (KAT $p<0,05$) grupları anlamlı olarak artarken Diabet + İnsülin (KAT $p<0,05$) grubu azaldı. Diabet + İnsülin grubu diğer gruplarla yani; Tiroidektomi + Diabet (KAT $p<0,05$), Tiroidektomi + Diabet

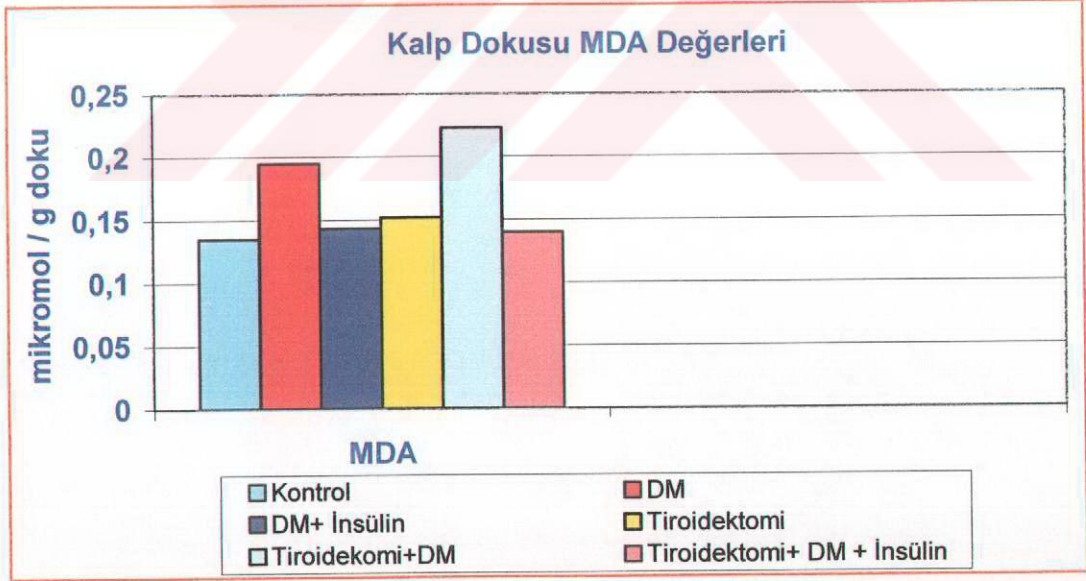
+İnsülin (KAT $p<0,05$), gruplarıyla karşılaştırıldığında da istatistiksel bir artış oldu. Tiroidektomi grubu, Tiroidektomi + Diabet (KAT $p<0,05$), Tiroidektomi + Diabet +İnsülin (KAT $p<0,05$) ile karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak artış görüldü. Veriler Tablo XIII ve Grafik VII’de verilmiştir

Tablo XIV : Kalp Dokusu MDA ve FOX Değerleri

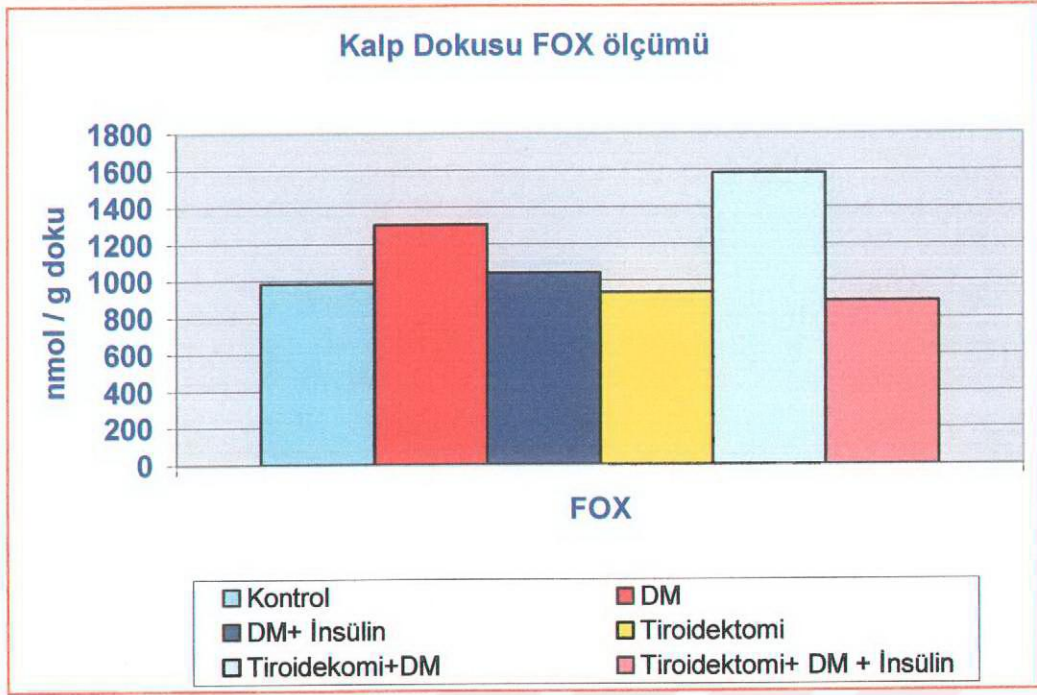
Kalp Dokusu MDA ve FOX Ölçüm Değerleri $\pm$ Standart Sapma		
Gruplar	MDA $\mu\text{mol} / \text{g doku}$	FOX $\text{nmol} / \text{g doku}$
Kontrol n= 10	0.13 ± 0.04^{bc}	983.4 ± 226.2^{bc}
Diabet n = 10	0.19 ± 0.1^a	1304.4 ± 302.9^a
Diabet + İnsülin n = 7	0.14 ± 0.04^{bc}	1042.2 ± 268.6^{bc}
Tiroidektomi n = 10	0.15 ± 0.06^{bc}	936.4 ± 283.4^{bc}
Tiroidektomi + DM n = 8	0.22 ± 0.06^a	1582.6 ± 752.6^a
Tiroidektomi + DM + İnsülin n = 9	0.14 ± 0.07^{bc}	888.2 ± 167.9^{bc}

a: Kontrole göre ($p<0.05$) b: Diabete göre ($p<0.05$) c: Tiroidektomi + Diabete göre ($p<0.05$)

Grafik VIII : Kalp Dokusu MDA Değerleri



Grafik IX : Kalp Dokusu FOX Değerleri



Kalp dokusudaki MDA ve FOX (LOOH) aktivitelerini istatistiksel olarak değerlendirmek için Mann Whitney testi kullanıldı. Kontrole göre, Diabet (MDA $p<0,05$), Tiroidektomi + Diabet (MDA $p<0,05$) grubunda artma olmuştur. Diabet grubuna göre ise, Diabet + İnsülin (MDA $p<0,05$), Tiroidektomi (MDA $p<0,05$), Tiroidektomi + Diabet + İnsülin (GPx $p<0,05$) grubunda anlamlı olarak azaldı. Diabet + İnsülin grubu diğer gruplarla yani; Tiroidektomi + Diabet (MDA $p<0,05$) grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel bir artış oldu. Tiroidektomi grubu ile Tiroidektomi + Diabet (MDA $p<0,05$) grubu karşılaştırıldığında anlamlı bir artış görüldü. Tiroidektomi + Diabet, Tiroidektomi + Diabet + İnsülin (GPx $p<0,05$) grubu ile karşılaştırıldığında ise belirgin bir azalma izlendi. Veriler Tablo XIV ve Grafik VIII'de verilmiştir.

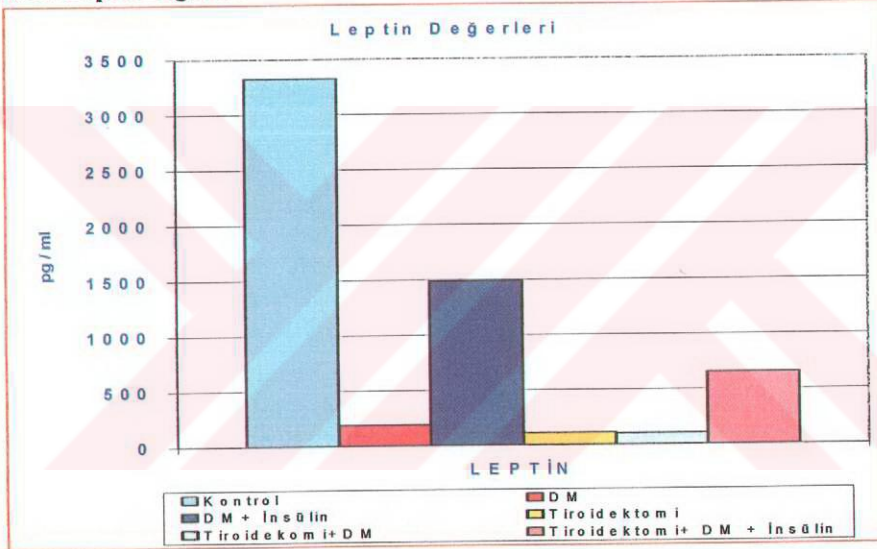
Kalp dokusudaki FOX aktivitesi Kontrole göre, Diabet (FOX $p<0,05$), Tiroidektomi + Diabet (FOX $p<0,05$) anlamlı olarak artmıştır. Diabet grubuna göre de, Diabet + İnsülin (FOX $p<0,05$), Tiroidektomi (FOX $p<0,05$), Tiroidektomi + Diabet + İnsülin (FOX $p<0,05$) grupları anlamlı olarak azaldı. Tiroidektomi + Diabet ile Diabet + İnsülin (FOX $p<0,05$), Tiroidektomi (FOX $p<0,05$), Tiroidektomi + Diabet + İnsülin (FOX $p<0,05$), gruplarıyla karşılaştırıldığında da istatistiksel bir azalma oldu. Veriler Tablo XIV ve Grafik IX'de verilmiştir.

Tablo XV : Leptin Değerleri

Gruplar	Leptin Değerleri ± Standart Sapma
Kontrol n= 10	LEPTİN (pg/ml) 3325.9 ± 503.6^{bc}
Diabet n = 10	193.6 ± 94.2^{ac}
Diabet + İnsülin n = 7	1489.3 ± 743.5^{a bc}
Tiroidektomi n = 10	112.4 ± 7.3^{a bc}
Tiroidektomi + DM n = 8	104.3 ± 5.9^{a b}
Tiroidektomi + DM + İnsü n = 6	653.9 ± 125.8^{a bc}

a: Kontrole göre (p<0,05) b: Diabete göre (p<0,05) c: Tiroidektomi + Diabete göre (p<0,05)

Grafik X : Leptin Değerleri



Leptin düzeyini istatistiksel olarak değerlendirmek için Mann Whitney testi kullanıldı. Kontrole göre, Diabet (Leptin p<0,05), Diabet + İnsülin (Leptin p<0,05), Tiroidektomi (Leptin p<0,05), Tiroidektomi + Diabet (Leptin p<0,05), Tiroidektomi + Diabet +İnsülin (Leptin p<0,05) grupları istatistiksel olarak azalma gösterdi. Diabet grubuna göre ise, Diabet + İnsülin (Leptin p<0,05), Tiroidektomi + Diabet +İnsülin (Leptin p<0,05) grubu anlamlı olarak artarken, Tiroidektomi (Leptin p<0,05), Tiroidektomi + Diabet (Leptin p<0,05) grubunda ise azalma izlendi. Diabet + İnsülin grubu diğer gruplarla yani; Tiroidektomi (Leptin p<0,05), Tiroidektomi + Diabet (Leptin p<0,05) gruplarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel bir azalma oldu. Tiroidektomi grubu, Tiroidektomi + Diabet (Leptin p<0,05) karşılaştırıldığında azalma

görülürken, Tiroidektomi + Diabet + İnsülin (Leptin $p<0,05$) grubunda ise istatistiksel olarak artış izlendi. Tiroidektomi + Diabet, Tiroidektomi + Diabet +İnsülin (Leptin $p<0,05$) grubu ile karşılaştırıldığında ise belirgin bir artış görüldü. Veriler Tablo XV ve Grafik X'de verilmiştir



5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışmada; STZ ile diabet oluşturulmuş ratların kalp dokularında tiroidektomiden önce ve sonra olmak üzere süperoksit dismutaz (SOD, Mn-SOD, Cu-Zn SOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GPx) enzim aktiviteleri ve lipid peroksidasyon ürünleri, serumlarında ise leptin düzeylerindeki değişiklikler araştırıldı. İnsülinin bu değişiklikleri düzeltici etkisine tiroid hormonlarının olası katkısının incelenmesi amaçlandı.

STZ'in intraperitoneal olarak uygulanması ile enjeksiyondan sonra 48 saat içinde, ratlarda poliüri, polidipsi ve polifaji semptomlarının oluşması, kan glukoz düzeylerinin 400 mg/dl. ve üzerinde bulunması ile diabetin olduğu saptandı. HbA1c düzeyleri ile de bu bulgular desteklendi^{148,149}.

Asayama ve arkadaşları, STZ'nin serbest radikal üretimini arttırmadığını, beta hücreleri için spesifik bir toksik ajan olduğunu ve vücuttan hızlı bir şekilde temizlendiğini göstermişlerdir¹⁵⁰.

Kalp, insülin ve tiroid hormonlarının etkileri için majör hedef organdır. Ve bu nedenle diabetik hipo ya da hipertiroidizmlı hastaların kardiyak fonksiyonlarında anlamlı değişiklikler oluşmaktadır¹³⁵. Kardiyak kasılma hipertiroid durumunda artarken, hipotiroide azalmakta ve spesifik proteinlerdeki değişiklikler bu kasılmalara aracılık etmektedirler¹⁵¹. Diabetik popülasyonda mortaliteye en fazla katkıyı kardiyovasküler komplikasyonlar oluşturmaktadır¹⁵². Diabette kardiyovasküler komplikasyonların gelişiminde oksidatif stresin rolü, daha önce diabet ve oksidatif stres bölümünde açıklanmıştı. Hiperglisemiye bağlı olarak oksidan- antioksidan dengenin bozulması komplikasyon gelişimini uyarmaktadır¹³⁵. Diabetes mellitus'da doku hasarının artmış

lipit peroksidasyonu ile ilintili olduğunu gösteren birçok çalışmada serum ve doku lipit peroksit düzeyleri ölçülmüş ve anlamlı artışlar olduğu gösterilmiştir^{151,152}.

Diabette dirençli hiperglisemi sonucu glukoz oksidasyonu ve proteinlerin glikolizasyonuna bağlı olarak serbest oksijen radikallerinin üretiminde artış meydana gelmektedir. Hücrel defans mekanizmaları (antioksidan sistem) dokuları oksidatif hasardan korumak için çalışır⁶³. Diabette serbest oksijen radikallerinin artması KAT, SOD,ve GPx gibi antioksidan enzim aktivitelerinin artması ya da azalması ile sonuçlanır⁶³.

Aktif oksijen türevli radikaller ve oksidatif hasarın miyokardial iskemik hasardaki rolü artık kesin olarak bilinmektedir¹⁵³. Aterogenez gelişimindeki rolü de açıktır^{154,155}.

Godin ve arkadaşları STZ ile diabet oluşturdıkları hayvanlarda birçok dokuda antioksidan enzim düzeylerini incelemişlerdir. Kalp dokusunda özellikle katalaz aktivitesinin anlamlı olarak arttığını, süperoksit dismutaz ile glutatyon peroksidaz aktivitelerinin düştüğünü göstermişlerdir¹⁵⁴. Kakkar ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada kalp dokusunda total SOD, KAT ve GPx, aktiviteleri artarken Mn-SOD düzeyinin düştüğü izlenmiştir⁶³. Bu değişikliklerin insülin tedavisi ile geri döndüğünü gösteren çok sayıda araştırma bulunmaktadır^{156,157,150,158, 159,160,161,162}.

Biz de bu çalışmada STZ ile diabet oluşturulmuş ratların tireidektomi yapılan ve yapılmayanların kalp dokularında SOD (Mn-SOD, Cu-Zn SOD), KAT ve GPx enzim aktiviteleri, lipit peroksidasyon ürünleri inceledik. Diabetik grupta Mn-SOD ve özellikle Cu-Zn SOD değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuş, insülin tedavisinden sonra bu değişikliklerin anlamlı olarak düzeldiği, KAT ve GPx aktivitelerinin de kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı, insülin verilmesi ile bu artışın normale döndüğü gözlemlendi. Bu bulgular daha önce yapılan çalışmalarla da uygunluk göstermektedir^{163,164}.

Öte yandan yine bu çalışmada serum tiroid hormon düzeylerinin streptozotosin ile diabet oluşturulmuş ratlarda anlamlı olarak azaldığı, insülin verilışinden sonra ise normale döndüğü gösterilmiştir. Ancak tiroid hormonunun bulunmadığı tiroidektomize diabetik ratlarda bu değışikliğin insülin verilışinden sonra düzelmediği görölmektedir. Bunlara ilave olarak, diabetik dokulardaki antioksidan enzim aktivitelerindeki değışikliklerin de tiroidektomiden sonra insülin tedavisi ile normale dönmediği gözlemlenmiştir. Bu nedenle, bu bulgular, tiroidektomize edilmiş diabetik rat dokusu antioksidan enzim aktivitelerindeki değışiklikleri üzerine insülinin düzeltici etkisine tiroid hormonlarının olası katkısı olduğunu düşündürmektedir.

Öte yandan sonuçlar insülinin, diabette artan lipit peroksidasyon ürünleri üzerine düzeltici etkisine ise, tiroid hormonlarının büyük bir olasılıkla aracılık etmediğini düşündürmektedir.

Bunun nedeni belki de, diabette radikal ve antioksidan enzim aktivite değışikliklerinin farklı mekanizmalarla oluşması ya da insülin ve tiroid hormonlarının herikisinin de enzimlerin gen transkripsiyonlarını artırarak¹⁵⁴ etki etmeleri ve etkileşmeleri olasılığıdır.

Leptin lipit oksidasyonunu ve lipit sentezini inhibe edebilmektedir¹⁶. Leptin ile diabet arasında benzer metabolik özellikler olduğu gösterilmiş ve insüline karşı direnç gözlenmiştir⁶⁶. Ciddi insülin rezistansının ise leptinin eksikliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir¹⁸.

Escobar- Morealla ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, tiroidektomili ratların serum leptin düzeylerinde azalma olduğu gösterilmiştir¹⁶⁵. Vücut ağırlığında artış ve bazal metabolik hızda azalma ile oluşan hipotiroidizimin nedeni olarak leptin salınımindaki yetersizlik düşünülmüş olsa da, kısa süreli hipotiroidizmin, serum leptin konsantrasyonlarını değıştirmedeği savunulmuştur¹⁶.

Artan yağ asit oksidasyonu ve trigliserit lipolizi ile kardiyak metabolizma leptin tarafından değiştirilebilmektedir. Artmış yağ asit oksidasyonu ve azalmış kardiyak verimlilik kontraktıl yetersizliklere ve kardiyovasküler hastalıklara neden olabilmektedir¹⁶⁶.

Çalışmamızda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm grupların serum leptin düzeylerinde anlamlı azalma gözlemlendi. Her iki ana grupta (diabet ve tiroidektomi + diabet) insülin tedavisi ile leptin düzeyleri artmaktadır. Bu sonuçlar, tiroid hormonları ve insülinin leptin metabolizmasında önemli rol oynayabileceği olasılığını güçlendirmektedir.

Ancak ortamda tiroid hormonu olmadığı zaman insülinin etkisi istenilen düzeyde olmasa da belli bir seviyeye kadar sistemi dengeleyebilmesi, tiroid hormonlarının diabette leptin metabolizmasında da insülinin etkilerine aracılık edebileceği olasılığını güçlendirmektedir. Sonuçlarımız, insülinin diabetik kalp dokusundaki değişiklikleri düzeltici etkisinde büyük bir olasılıkla tiroid hormonlarına gereksinim olduğunu göstermektedir.

6.ÖZET

Çalışmamızda, streptozotosin ile diabet oluşturulmuş ratların kalp dokularında, tiroidektomiden önce ve sonra olmak üzere, süperoksit dismutaz (SOD, Mn-SOD, Cu-Zn SOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (Gpx) enzim aktiviteleri, Malondialdehit (MDA), Fox (H_2O_2 ölçümü) tayinleri ile de lipid peroksidasyon ürünleri incelendi.

Beş haftalık diabetik ratların kalp dokusunda, kontrol grubuna göre KAT, GPx enzim aktivitelerinin Fox ve MDA değerlerinin yükseldiği SOD, Mn-SOD, Cu-Zn SOD aktivitelerinin ise azaldığı saptandı. İnsülin tedavisi ile bu değişikliklerin düzeldiği izlendi.

Beş haftalık tiroidektomili diabetik ratların kalp dokusu antioksidan enzim aktivitelerindeki değişikliklerin insülin verilisinden sonra normale dönmediği görüldü. Bu gruptaki artmış lipid peroksidasyon ürünlerinin ise insülin tedavisi ile normale döndüğü izlendi.

Çalışmamızda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm grupların serum leptin düzeylerinde anlamlı azalma gözlemlendi Her iki ana grupta (diabet ve tiroidektomi + diabet), insülin tedavisi ile leptin düzeylerinde artış saptandı.

Sonuç olarak, bu çalışmada diabetik kalp doku ve serumlarında meydana gelen değişikliklerin insülin tedavisi ile normale dönüşümünde tiroid hormonlarının olası etkileri görüldü.

7.YABANCI DİLDE ÖZET

In our study, our aim was to investigate the antioxidant enzyme activities such as, superoxide dismutase, catalase and glutathion peroxidase and for lipid peroxidation products MDA and FOX as radicals were measured on heart tissues of streptozotosin diabetic rats before and after thyroidectomy.

Our results showed that CAT, GPx enzyme activities and FOX, MDA levels were increased and SOD, Mn-SOD, Cu-SOD activities were decreased according to the control group of 5- week-old-diabetic rats' heart tissues. Moreover it was observed that the datas were regulated by the insulin treatment .

On the other hand, no changes were observed on the antioxidant enzyme activities which were obtained from 5- week-old- thyroidectomized diabetic rats' heart tissues by insülin treatment. However, increased lipid peroxidation levels were become normal by insülin treatment.

In our study, serum leptin levels were decreased significantly in all groups by the comparison to control group. Nevertheless, an increase were found on leptin levels at both of the main groups (diabet, thyroidectomi + diabet) by the insülin treatment .

In conclusion, in this study, the possible contribution of thyroid hormones to insülin effect to normalise diabetic-induced changes in cardiac tissue and serum of rat has been seen.

8.ÖZGEÇMİŞ

ADI: Funda

SOYADI: KOSOVA

Doğum Tarihi: 11 Aralık 1968

Doğum Yeri: Ankara

Uyruğu: T.C.

Medeni Hali: Bekar

Ev Adresi: Mareşal Fevzi çakmak cad. 64/3 Bahçelievler, 06500

Tel: 03122222804- 05335573629

E-mail: fundakosova@hotmail.com

Lisan: İngilizce (ÜDS)

EĞİTİM

Anıttepe İlkokulu, Ankara

İlkokul Diploması(1978)

Bahçelievler Ortaokulu. Ankara

Ortaokulu Diploması (1982)

Bahçelievler Deneme Lisesi, Ankara

Lise Diploması (1985)

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Ankara

Eczacılık Diploması (1985-1989)

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara

Biyokimya A.B.D. Yüksek Lisans Eğitimi (1996 Şubat-1997 Kasım)

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara

Biyokimya A.B.D. Doktora Eğitimi (1999 Şubat-)

9. KAYNAKLAR

1. Jain SK., McVie R., Duett J., Herbest J.J.: Erthrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes, *Diabetes*, 38: 1539-1543, (1989).
2. Uzel N., Sivas A., Uysal M., Öz H.: Erythrocyte lipid peroxidation and glutathione peroxidase activities in patients with diabetes mellitus. *Horm. Metabol Res.*, 19: 89-90, (1987).
3. Pitkanen OM. Martin JM. Haliman M., Akerbiom H.K., Sariola H., Andersson S.M.: Free radical activity during development of insülin dependent diabetes mellitus in the rat. *Life Sci.*, 50: 335-339, (1992).
4. Jain SK., Duett J.: Hyperglycemia can cause membrane lipid peroxidation and osmotic fragility in human red blood cells, *J. Biol Chem*, 21340-21345, (1989).
5. Altan N, Ongun CÖ, Elmalı E, Kılıç N, Yavuz Ö, Çaycı B: Effect of the sulfonylurea glyburide on glutathione and glutathione peroxidase activity in alloxan induced diabetic rat hepatocytes. *Gen Pharmac* 25: 875-878, (1994).
6. Matkovics B, Varga SI, Szabo L, Witas H.: The effect of diabetes on the activities of the peroxide metabolizing enzymes. *Hormone Metab Res.*, 14: 77-79, (1982).
7. Altan N, Ongun CÖ, Hasanoğlu E, Engin A, Tuncer C, Sindel Ş: Effect of the sulfonylurea glyburide on superoxide dismutase activity in alloxan induced rat hepatocytes. *Diabet Res and Clin Prac* 22: 95-98, (1994b).
8. Mc Lennan SV, Heffernan S, Wright L, Rae C, Fisher E, Yue DK, Turtle JR.: Changes in hepatic glutathione metabolism in diabetes. *Diabetes*, 40: 344-348, (1991).
9. Pittman CS, Suda AK, Chambers JB, McDaniel HG, Ray GY, Pretson BK.: Abnormalities of thyroid hormones turnover in patients with diabetes mellitus, before and after insulin therapy. *Clin Endocr Metab.*, 48: 854-860, (1979).
10. Takiguchi Y, Satoh N, Hashimoto H, Nakashima M.: Reversal effect of thyroxine on altered vascular reactivity in diabetic rats *J. Cardiovasc Pharmac.*, 13:520-524, (1989).
11. Castells S.: Thyroid function in juvenile diabetes *Pediatric Clinics of North America* 31(3):623-634, (1984).

12. Sochor M., Ball MR., Baquer N.Z.: Effect of thyroid hormones on the levels of metabolic intermediates in diabetic rat liver *Biochemistry International*, 16(1):15-23, (1988).
13. Koh H., Tsushima M., Harano Y.: Effect of Carbohydrate intake on serum 3,5,3' Triiodothyronine response to glucose ingestion and its relation to glucose tolerance in lean non-insulin dependent diabetic patients *Arzneim-Forsch./Drug Res.*, 49(1):30-34, (1999).
14. Ladenson P.W., Kieffer J.D., Farwell A.P., Ridway E.C.: Modulation of myocardial L-Triiodothyronine receptors in normal, hypothyroid and hyperthyroid rats. *Metabolism*, 35:5-12; (1986).
15. Hafner R.P., Nobes C.D., McGown A.D., Brand M.D.: Altered relationship between proton motive force and respiration rate in non-phosphorylating liver mitochondria isolated from rats of different thyroid hormone status. *Eur. J. Biochem.* 178:511-518; (1988).
16. Simo R., Hernandez C., Zafon C., Galofre P., Castellanos J.M. and et all: Short-term hypothyroidism has no effect on serum leptin concentrations, *Diabetes Obesity and Metab.*, 2: 317-321, (2000).
17. Flier J.S., Harris M., Hollenberg A.N.: Leptin, nutrition and the thyroid: the why, the wherefore, and wiring, *The journal of clinical investigation*, Vol: 105, No. 7, (2000).
18. Khan B.B., Flier J.S.: Obesity and insulin resistance, *J. Clin. Invest.*, No. 4, Vol. 106, (Aug 2000)
19. Bloom, A., Ireland, J.: A colour atlas of diabetes, Second ed., 13-300, Wolfe publishing, Spain, (1992).
20. Mycek, M.J., Harvey, R.A., Champe, P.C.: Lippincott's illustrated reviews farmakoloji, 2. Baskı, 247-62, Nobel, İstanbul, (1998).
21. Khan R., Weir G.C., Lea and Febighrig: *Joslin Diabetes Mellitus*, 13 ed., 613-641, Waverly comp., (1994).
22. Committee Report: Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, Vol.20, Number 7, 1183-1197, (1997).
23. Laker, M.F.: *Clinical chemistry*, 200-208, Saunders Com., Second ed., 1-14 bölüm, England, (1996).

24. Champe, P.C., Harvey, R.A.: Lippincott's illustrated reviews Biyokimya, 2. Baskı, 24-26 bölüm, 269-301, Nobel, İstanbul, (1997).
25. Mathews, C., Holde, K.: Biochemistry , Second ed., 786-810, 10, 15 chapter, Cummings Publishing company, (1990)
26. Craighesd J.E.: Current views on the etiology of insülin dependent diabetes mellitus, N. Engl. J. Med., 299: 1439, (1978).
27. Apps, D.K., Cohen, B.B, Steel, C.M.: Biochemistry, fifth ed., ELBS, Great Britain, (1992).
28. Oldstone M.B.A.: Virüs persists in β - cells of islets of Langerhans and is associated with chemical manifestations of diabetes. Science 224: 1440, (1984).
29. Srikanta S., Ganda O.P., Rabizadeh A., Soeldner J.S., Eisenbarth G.S.: First degree relatives of patients with type I diabetes mellitus. Islet cell antibodies and abnormal insülin secretion. N. Engl. J. Med., 313:461-464, (1985).
30. Eisenbarth G.S.: Type I diabetes mellitus. A chronic autoimmune disease, N. Engl. J. Med., 314:1360, (1986).
31. Robbins, S.L., Kumar, V.: Basic pathology, 106-22, 880-95, 4 ed, Saunders comp., USA, (1987).
32. Unger R. H., Orci L.: Glukagon and A cell physiology and pathology, N. Engl. J. Med., 304:1518-1575, (1981).
33. Raskin P., Unger R.H.: Hyperglukagonemia and its suppression, importance in the metabolic control of diabetes, N. Engl. J. Med., 299: 433-436, (1978).
34. Barnes A.J., Bloom S.R., Mashiter K., Alberti K.G.M.M., Smythe P., Turnell D.: Persistent metabolic abnormalities in diabetes in the absense of glukagon. Diabetologia, 13: 71-75, (1977).
35. Thompson, G.R.: Hiperlipidemi el kitabı, 1 baskı, 144-49, Merck&CO., İstanbul, (1991).
36. Lebovitz E.Horald: Type II Diabetes: An overview, Beckman conference, Clinical chemistry, 45,(8B), 1339-1345, (1999).
37. Harris, R.A., Crabb, D.W., : Metabolic İnterralations, Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations, (Devlin, T.M., ed), 575-606, 1124-1125: John Wiley and Sons, Inc., Publication, Newyork, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore, (1993).
38. Anderoli T.E., Carpenter C.C.J.: Diabetes mellitus: Cecil essential of medicine, İkinci baskı, Dyson J (ed) WB Saunders, Philelphia, 496-505, (1990).

39. Lernmark A.: Type I diabetes, Beckman Conference, Clinical chemistry, 45, No. 8(B),1331-1338,(1999)
40. Lebovitz, H.E.: Oral Antidiabetic Agents, Joslin's Diabetes Mellitus, (Kahn, C. R., Weir, G. C., ed) : Thirteenth Edition, Vol.29, Lea& Febiger, Philadelphia, Baltimore, Honkong, London, Sydney, Tokyo, (1994).
41. Wolff, S. P. : Diabetes Mellitus and Free Radicals, British Medical Bulletin, Vol. 49(3), 642-652, (1993).
42. Akkuş, İ.: Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik etkileri, 1. Baskı, Mimoza yayınları, Konya, (1995).
43. Uchigata, Y., Yamamoto, H., Kawamura, A., Okamoto, H. : Protection by Superoxide Dismutase, Catalase and Poly (ADP- ribose) Synthetase İnhibitors against Alloxan and Streptozotocin-İnduced islet DNA Strand Breaks and against the İnhibition of Proinsülin Synthesis, The Journal of Biological Chemistry, Vol. 257, No.(11), Issue of June 10, 6084-6088, (1982).
44. Woharib, S.A., Godin, D.V.: Alterations in Free Radical Tissue- Defense Mechanisms in Streptozocin- Induced Diabetes in Rat, Diabetes, Vol. 36, 1014-1018, (1987).
45. Ohkuwa, T., Sato, Y., Naoil, M: Hydroxyl radical formation in diabetic rats induced by STZ, Life Sci., Vol.56, No.21, pp. 1789-1798, (1995).
46. Southorn, P. A., Powis, G.: Free Radicals in Medicine. II. Involment in Human Disease, Mayo. Clin. Proc., Vol. 63, 390-408, (1988).
47. Armstrong, D., Al-Awadi, F.: Lipid Peroxidation and Retinopathy in Stretozotocin-induced Diabetes, free Radical Biology & Medicine, Vol. 111, 433-436, (1991).
48. Yagi, K. : Lipid Peroxides and Human Diseases, Chemistry and Physics of Lipids, Vol. 45, 337-351, (1987).
49. Dean R.T., Fu S., Stocker R., Davies M.J.: Biochemistry and Pathology of Radical-mediated Protein Oxidation, Biochem. J., Vol. 324, 1-18, (1997).
50. Scharf J., Mokady S., Zeidler A.: Aldolase, Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase, Superoxide Dismutase and Aldose Reductase Activity in the Lenses of Diabetic Rats, İsrail. J. Med. Sci., Vol. 27(2), 102-104, (1991).
51. Kayaalp, O.: Tıbbi Farmakoloji, 5. Baskı, 2416-48, 2543-70, Feryal matb., Ankara, (1990).
52. Bingöl, G.: Biyokimya, 4. Baskı, 345-48, Taş kitab., Ankara, (1983)

53. Karam, J. H., Salber, P. R., Forsham, P.H., : "Pancreatic Hormones & Diabetes Mellitus" Basic and Clinical Endocrinology, 595-663, (Greenspan, F. S., Strewler, G.J.: ed), Fifth ed., Appleton & Lange, London, Sydney, Toronto, New Jersey, Singapore, (1997).
54. Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwell, V.W.: Harper'm Biyokimyası, 24. Baskı, 564-636, Barış kitab., İstanbul, (1996).
55. Bhagavan, N.V.: Medical biochemistry, 2. ed., 500-797, Bartlett pub., England, (1992).
56. Ersoy, İ.: Biyokimya, 2. Baskı, 216-30, Türkiye klinikleri, Ankara, (1999).
57. White, M.F.: The İnsülin Signaling System and the IRS Proteins. Diabetologia, 40, p2-17, (1997).
58. Sacks, D.B.: Tietz Textbook of Clinical Chemistry: Carbonhydrates, 2. ed., Burtis CA, Ashwood ER(ed) WB Saunders, Philadelphia, 928-1001, (1994).
59. Berne, R.M., Levy, M.N.: Principles of pshiology, 504-10, USA,(1990).
60. Caro, J.F.: Effects of Glyburide on Carbonhydrate Metabolism and İnsülin Action in the liver, The American Journal of Medicine, Vol.89 (Supl 2A), p 17-25, (1990).
61. Simonson, D.C.: Effects of Glyburide on Invivo İnsülin- Mediated Glucose Disposal, The American Journal of Medicine, Vol.89, 2A, 44S-50S, (1990).
62. Khan, C.R., Shechter, Y.: " İnsulin, Oral Hypoglycemic Agents, and the Pharmacology of the Endocrine Pancreas", The Pharmacological Basis of Thrapeutics, (Gilman, A.G., Rall, T.W., Nies, A.S., Taylor, P. Ed), 8. Ed., Vol.2, p1463-1495, McGraw-Hill, Inc., New York, San Fransisco, Colorada, (1992).
63. Kakkar, R., Kalra, J., Mantha, S.V., Prasad, K.: Time course study of oxidative stress in aorta and heart of diabetic rat. Clin. Science, 91: 441-448, (1996).
64. Montgomery, R., Conway, T.W., Spector, A.A.: Biochemisrty, Sixth ed., 571-93, palme yay., Ankara, (2000).
65. Shashkin, P.N., Shashkina, E.F., Fernqvist,-Forbes, E., Zhou, Y.P., Grill, V., Katz, A.: İnsülin Mediators in Man: Effects of Glucose Ingestion and İnsülin Resistance, Diabetologia, 40, p557-563, (1997).
66. Nelson, D:L., Cox, M.M.: Lehninger principles of biochemistry, third ed., 444-48, Worth pub., USA,(2000).
67. Harris, E.D.:Regulation of antioxidant enzymes, Faseb. J., Vol.6, 2675-2683, (1992).

68. Büyükdevrim, S.A., Demiroğlu, C.: Diabetik hastalarda akut metabolik çöküntü sendromu, 287-95, Adilna Sanovel, İstanbul, (1999).
69. Bullock, J., Boyle, J., Wang, M.B.: Fizyoloji, 2. Baskı, 390-408, Saray kitab., İzmir, (1994).
70. Duckworth, W.C.: İnsülin Degradation : Mechanisms, Products and Significance, Endocrine Reviews, Vol.9, No(3), 319-345, (1988).
71. Catt K.J.: ABC of endocrinology 6. thyroid gland, Lancet, 1(7661), 1383,(1970).
72. Greenspan F.S., Rapoport B.: Thyroid gland, Basic and clinical Endoc., 2. ed., 143, Lange, Los Altos,(1986).
73. Griffin J.E.: The thyroid, Textbook of Endocrine physiology, 222, Oxford U. Press, New york, (1988).
74. Hall E.D., Braughter J.M. : Thyrotropin releasing hormone for spinal trauma, N. Engl. J. Med., 306, 429, (1982).
75. Larsen P.R.: Thyroid pituitary interaction, Feedback regulation of thyrotropin secretion by thyroid hormone, N. Engl. J. Med., 306,23, (1982).
76. Winokur A., Utiger R.D.: Thyrotropin releasing hormone, Regional distribution in rat brain. Science, 185, 265, (1974).
77. Thomas I.D.: Hyperthyroidism; diagnosis and treatment, Drugs, 11: 119-127, (1976).
78. Kress B.C., Spiro R.G.: Studies on the glycoprotein nature of the thyrotropin receptor, interaction with lectins and purification of the bovine protein with the use of Bandeiraea(griffonia) simplicifolia I affinity chromatography, Endocrinology, 118: 974-979, (1986).
79. Basaga H.S: Biochemical aspects of free radicals, Biochem., Cell Biol., Vol. 68, p989-998, (1990).
80. Cheeseman K.H. , Slater T. F. : An introduction to free radical biochemistry. British Medical Bulletin Vol 49, No 3, pp 481-493, (1993).
81. Arıcıoğlu A.: Serbest oksijen radikalleri ve hücre hasarı. Doktor, (Mayıs 1994).
82. Glazer A. N. , Packer L.: Oxygen Radicals in Biological Systems. Methods in Enzymology, Vol 186 , 1-86, (1990).
83. Halliwell, B.: Current Status Review: Free radicals, reactive oxygen species and human disease : a critical evaluation with special referance to atherosclerosis, Br. J. Exp. Path., Vol.70, 737-757, (1989).

84. Ikeda, Y., Langn, D.M. : The molecular basis of brain injury and brain edema : The role of oxygen free radicals. *Neurosurgery*, Vol.27, 1-11, (1990).
85. Hinder R.A., Stein H.J.: Oxygen-Derived Free Radicals. *Arch. Surg.*, Vol. 126,104-105, (Jan 1991).
86. Reiter, R.J. : Oxidative processes and antioxidative defence mechanisms in the aging brain, *Faseb J.*, Vol.9, 526-533, (1995).
87. Beckman, J., Tsai, J.H. : Reactions on Diffusion of Nitric Oxide and Peroxynitrite, *The Biochemist*, Oct/Nov., 8-10, (1994).
88. Darley-Usmar, V., Radomski, M. : Free Radicals in the Vasculature : The Good, The Bad and The Ugly, *The Biochemist*, Oct/Nov, 15-18, (1994).
89. Hermes-Lima M., Willmore W., Storey K.B.: Quantification of lipid peroxidation in tissue extracts based on Fe(III) xylenol orange complex formation, *Free Rad. Biol. Med.*, Vol:19, No.3, pp. 271-280, (1995).
90. Jiang Z:Y., Wolllard C:S:A., Wolff, S. P. : Hydrogen peroxide production during experimental protein glycation, *European Biochemical Societies*, Vol. 268, No. 1, 69-71, (1990).
91. Cavarocchi NC, England M.D., O'Brein JF.,Solis E., Schaff H.V. and et all.: Superoxide generation during cardiopulmonary bypass: Is there a role for vitamin E ?. *J of Surgical Research* 40 : 519-27, (1986).
92. Saran M, Michel C: Reactions of NO with O_2^- Implication for the action of endothelium-derived relaxing factor, *Free Radic Commun.*, 83 :1705-1715, (1989).
93. Porter NA.: Autoxidation of polyunsaturated fatty acids : initiation, propagation and product distribution (basic chemistry). In: Vigo-Pelfrey C, ed. *Membrane Lipid Oxidation*. Boca Raton: pp33-62 (1990).
94. Esterbauer H, Zollner H, Schaur RJ.: Hydroxyalkenals: cytotoxic products of lipid peroxidation. *ISI Atlas Sci* 1:311-317, (1988).
95. Esterbauer H, Zollner H, Schaur RJ.: Aldehydes formed by lipid peroxidation: mechanisms of formation, occurrence and determination. In: Vigo-Pelfrey C,ed. *Membrane Lipid Oxidation*. Baco Raton: CRC,: 239-283, (1990).
96. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H.: Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malondialdehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med.*, 11: 81-128, (1991).
97. Cerutti, P.: Oxy-radicals and Cancer, *The Lancet*, Issue: 8926, Vol.344, 862-863, (1994).

98. Harman, D. : Free Radicals in Aging, Molecular and Cellular Biochemistry, Vol.84, 155-161, (1988).
99. McCord JM, Fridovich I.: The biology and pathology of oxygen radicals. *Annals of Internal Med.* 89: 122-127, (1978).
100. Fantone J.C, Ward P.A.: Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte- dependent inflammatory reactions. *Am. J. Pathol.*, 107:397-418, (1982).
101. Chaudhri G, Clark I.A, Hunt N.H.: Effect of antioxidants on primary alloantigen-induced T cell activation and proliferation. *J. Immunol.*, 137: 2646-52, (1986).
102. Halliwell, B., Gutteridge, JMC. : Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Arch Biochem Biophys.*, 246: 501-14, (1986).
103. Hirschelmann R, Bekmeier H.: Influence of the iron-chelating agent desferrioxamine on two rat inflammation models. *Free Radical Res Commun.*, 2: 125-7, (1986).
104. Dillard CJ, Downey JE., Tappel A.L.: Effect of antioxidants on lipid peroxidation in iron-loaded rats. *Lipids.* 19: 127-33, (1984).
105. Ames B.N, Cathcart R, Schwiers E., Hochstein P.: Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant caused and radical caused aging and cancer a hypothesis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78: 6858-62, (1981).
106. Troll W., Weisner R.: The role of oxygen radicals as a possible mechanism of tumor promotion, *Ann Rev Pharmacol Toxicol.*, 25: 509-28, (1985).
107. Clark IA, Cowden WB.: Free radical-induced pathology. *Med Res Rev.* 1095; 5: 297-332, (1999).
108. Morgan RW : Hydrogen peroxide-inducible proteins in *Salmonella typhimurium* overlap with heat shock and other stress proteins. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 83: 8059-63, (1986).
109. Rice-Evans C.: Sick cell membranes and oxidative stress. *Biochem J.*, 237:265-9, (1968).
110. Ward PA.: Host-defence mechanism for lung injury. *J Allergy Clin Immunol.*, 78: 373-8, (1986).
111. Brigham KL.: Role of free radicals in lung injury, *Chest.*, Vol.89: 859-63, (1986).

112. Schrauftatter IU., Revak S.D., Cochrane C.G.: Proteases and oxidants in experimental pulmonary inflammatory injury, *J. Clin Invest.*, Vol.73, pp1175-84, (1984).
113. Heinecke JW, Baker L., Rosen H., Chait A.: Superoxide-mediated modification of low density lipoprotein by arterial smooth muscle cells. *J Clin Invest.* , 77: 757-61, (1986).
114. Jolly SR, Kane W.J., Bailie M.B., Abrams G.D., Lucchesi B.R.: Canine myocardial reperfusion injury: its reduction by the combined administration of superoxide dismutase and catalase. *Cric Res.*, 54: 277-85, (1984).
115. Becker LC, Ambrosio G.: Myocardial consequences of reperfusion. *Prog Cardiovasc Dis.*, 30:23-44, (1987).
116. Rehan A., Johnson K.J., Wiggins R.C., Kunkel R.G., Ward P.A.: Evidence for the role of oxygen radicals in acute nephrotoxic nephritis. *Lab Invest.*, 51: 396-403, (1984).
117. Janoff A., Harp H.: Proteases, antiproteases and oxidants: pathways of tissue injury during inflammation. In: Cotran RS, Kaufman N, Majno G, eds. *Current Topics in inflammation and Infection*. Baltimore: Williams & Wilkins Company, 62, (1982).
118. Comporti M.: Lipid peroxidation and cellular damage in toxic liver injury. *Lab Invest.*, 53: 599-623, (1985).
119. Davies K.J.A: Free radicals induce lipid peroxidation and protein degradation by independent mechanisms, *J.Am. Chemi. Soc.*, 63: 418-419, (1986).
120. Sevanian A, Nordenbrand K., Kim E., Hochstein P.: Microsomal lipid peroxidation the role of NADPH cytochrome P450 reductase and cytochrome P450, *J. Free Radic Biol. Med.* 8(2):145-152, (1990).
121. Demple B, Halbrook J.: Inducible repair of oxidative DNA damage in *E.coli*, *Nature*, 304: 466-68, (1983).
122. Tomasi A., Özben T., Skulachevi V.: Free radicals, nitric oxide and inflammation: molecular, biochemical and clinical aspects, *Life and behavioural scien.*, Vol.344, (2001).
123. Terao J, Matsushita S.: Quinone formation from benzopyrene by free radicals effects of antioxidants, *Free Radic. Biol. Med.*, 4: 205-8, (1988).
124. Makar, T.K., Nedegarard, M., Preuss, A., Gelbard, A.S.: Vitamin E, Ascorbate, Glutathione, Glutathione Disulfide and Enzymes of Glutathione Metabolism in

- Cultures of Chick Astrocytes and Neurons : Evidence that Astrocytes Play an important Role in Antioxidative Processes in the Brain, *Journal of Neurochemistry*, Vol.62, 45-53, (1994).
125. Chance B, Sies H and Boveries A.: Hydroperoxide metabolism in mammalian organs, *Physiol. Rev.*, 59: 527-605, (1979).
 126. McCord J.M.: Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury, *N. Engl. J. Med.*, 312: 159-63, (1985).
 127. Oliver C. N, Ahn B.W.: Age-related changes in oxidized proteins, *J. Biol. Chem.* 262: 5488-91, (1987).
 128. Marklund, S.L.: Extracellular Superoxide Dismutase in Human Tissue and Human Cell Lines, *J. Clin. Invest.*, Vol.74, 1398-1403, (1984).
 129. Asayama K, Yokota S, Kato K.: Peroxisomal oxidase in various tissue of diabetic rats, *Diabetes Research and Clin Practice* 11: 89-94, (1991).
 130. Jones, D.P., Eklöw, L., Thor, H., Orrenius, S.: Metabolism of Hydrogen Peroxide in Isolated Hepotocytes: Relative Contributions of Catalase and Glutathione Peroxidase in Decomposition of Endogenously Generated H₂O₂, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, Vol.210, No.2, 505-516, (1981).
 131. Bendich A, Machlin L.J., Scandura O.: The antioxidant role of vitamin C, *Adv. Free Radic. Biol. Med.*, 2: 419-44, (1986).
 132. Ames BN.: Dietary carcinogens and anticarcinogens: oxygen radicals and degenerative diseases, *Science*, 221: 1256-64, (1983).
 133. Davies K.J.A, Goldberg A.L.: Proteins damaged by oxygen radicals are rapidly degraded in extracts of red blood cells, *J. Biol. Chem.* 262: 8227-34, (1987).
 134. Oliver C. N.: Inactivation of enzymes and oxidative modification of proteins by stimulated neutrophis, *Arch. Biochem. Biophys.* 253: 62-72, (1987).
 135. Dillmann W.H. : Diabetes and thyroid- hormone induced changes in cardiac function and their molecullar basis, *Ann. Rev. Med.*, 40: 373-94, (1989).
 136. Song YM, Sheu WH, Lee WJ, Wu CJ, Kao CH.: Plasma leptin concentrations are related to body fat mass and gender but not to thyroid dysfunction. *Kaohsiung J. med Sci.*, 15(3):119-26, (1999).
 137. Sreenan S, Caro JF, Refetoff S.: Thyroid dysfunction is not associated with alterations in serum leptin levels, *Thyroid.*, 7(3):407-9, (1997).
 138. Šesmiło G, Casamitjana R, Halperin I, Gomis R, Vilardell E.: Role of thyroid hormones on serum leptin levesls, *Eur J Endocrinol.*, 139(4):428-30, (1998).

139. Kristensen K, Pedersen SB, Langdahl BL, Richelsen B.: Regulation of leptin by thyroid hormone in humans: studies in vivo and in vitro. *Metabolism.*, 48(12):1603-7, (1999).
140. Diekmann MJ, Romijn JA, Endert E, Sauerwein H, Wiersinga WM.: Thyroid hormones modulate serum leptin levels: observations in thyrotoxic and hypothyroid women, *Thyroid.*, 8(12):108-6, (1998).
141. Pinkney JH, Goodrick , Katz J, Johnson AB, Lightman SL, Coppack SW, Mohamed-Ali V.: Leptin and the pituitary-thyroid axis: a comparative study in lean, obese, hypothyroid and hyperthyroid subjects. (*Oxf.*) 1998 Nv;49(5):583-8 ,Comment in: *Clin Endocrinol (Oxf).*, 49(5):569-72, (1998).
142. Uchiyama M., Miheran M.: Determination of Malondialdehyde precursor in tissue by thiobarbituric acid test, *Ann. Biochem.*, 86: 271-278, (1978).
143. Aebi H.: Catalase in vitro. *Methods in enzymology*, 105: 121-126, (1984).
144. Yi – Sun, Oberley L.W., Li Y.: A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin. Chem.* 34 (13): 497-500, (1988).
145. Paglia D.E., Valentine W.N.: Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte GPx. *J. Lab. Clin. Invest.* 70 (1): 158-169, (1967).
146. Mishra O.P., Delivoria-Papadopolus M., Wagerle L., C. : Anti-oxidant enzymes in the brain of newborn piglets during ischemia followed by reperfusion. *Neuroscience*, 35(1): 211-215, (1990).
147. Lowry O.H.: Protein measurement with the folin reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275,(1951).
148. Loven DP., Schedl H:P., Oberley L.W., Wilson H.D., Brunch L. and et all: Superoxide dismutase activity in the intestine of the streptozotocin- diabetic rat. *Endocrinology*, 111(3): 737-742, (1982).
149. Loven DP., Schedl H:P., Wilson H.D., Daabees T.T., Stegink L.D., Diekus M., Oberley L.W.: Effect of insulin and oral glutathion on glutathion levels and superoxide dismutase activities in organs of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Diabetes*, 35, 503-507, (1986).
150. Asayama K, Englih D., Slonim A.E., BurrI.M.: Chemiluminensence as an idex of drug-induced free radical production in pankreatic islets. *Diabetes*, 33: 160-163, (1984).
151. Featherstone H.J., Steward D.K.: Angina in thyrotoxicosis: thyroid- related coronary artery spasm, *Arch. Intern. Med.* 143: 554-55, (1983).

152. Kessler I.: Mortality experience of diabetic patients: a twenty six year follow up study, *Am. J. Med.*, 51, 715-24, (1971).
153. Gumieniczk A., Hopkala H., Woojtowich Z., Nieradko M.: Differences in antioxidant status in skeletal muscle tissue in experimental diabetes, *Clinica Chimica Acta*, 314: 39-45, (2001).
154. Godin D.V., Wohaieb S.A., Garnett M.E., Goumeniouk A.D.: Antioxidant enzyme alterations in experimental diabetes, *Moll. Cell. Biochem.*, 84: 223-231, (1988).
155. Yıldırım Ö., Büyükbıngöl Z.: Effect of cobalt on the oxidative status in heart and aorta of streptozotocin- induced diabetic rats, *Cell Biochem Funct.*, 21: 27-33, (2003).
156. Kakkar, R., Kalra, J., Mantha, S.V., Prasad, K.: Lipid Peroxidation and Activity of Antioxidant Enzymes in Diabetic Rats, *Molecular and Cellular Biochemistry*, Vol. 151, 113-119,(1995).
157. Kefe L.,Swan P.N., Hegarty P.V.: Evidence for increased peroxidative activity in muscles from streptozotocin – diabetic rats, *Proc Soc Exp Biol Med.*, 176 (1) : 27-31, (1984).
158. Hansen D., Bennedbaek F., Hansen L.K., Madsen H.M., Jacobsen B.B., et all: Thyroid function, morphology and autoimmunity in young patients with insülin-dependent diabetes mellitus, *Europ. J. Endoc.* , 140: 512-518, (1999).
159. Das K., Chainy G.B.N.: Modulation of rat liver mitochondrial antioxidant defence system by thyroid hormone, *Biochimica et Biophysica Acta.*, 1537: 1-13, (2001).
160. Mano T., Shinohara R., Nagasaka A., Nagasaka H., Uchimura K., Hayashi R.: Scavenging effect of nicorrandil on free radicals and lipid peroxide in streptozotocin-induced diabetic rats, *Metabolism.*, 49 (4) :427-31, (2000).
161. Angiles K.L.D. Barp J., Dall ago P., Fernandes T.G., Bello A.A., Liesuy S. , Irigoyen M.C.: Oxidative stres in latismus dorsi muscle of diabetic rats,Braz. J. Med. Biol. Res., 33: 1363-1368, (2000).
162. Rauscher F.M., Sanders R.A., Watkins J.B.: Effects of Isoeugenol on oxidative stres pathways in normal and streptozotocin- induced diabetic rats, *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, 15 : 159-164, (2001)
163. Bukan N., Sancak B., Bilgihan A., Kosova F., Buğdaycı G., Altan N.: The effects of the sulfonylurea glyburide on süperoxide dismutaz, catalase and glutathion peroxidase activities in the heart of streptozotocin induced diabetic rat, *Klinik Lab. Araştırma Dergisi*, (Basımda).

164. Martin A., Dene A.B., Sanders R.A., Watkins J.B: Effects of β - Carotene on oxidativ stres in normal and diabetic rats, J. Biochem. Mol. Toxicol., 16: 203-208, (2002).
165. Escobar Morreale H.F., EscobarF., Escobar G.: Throid hormones influence serum leptin concentrations in the rat, Endocrinology, 138: 4485-4488, (1997).
166. Atkinson L.L, Fischer A.A., Lopaschuk D.: Leptin activates cardiac fatty acid oxidation independent of changes in the AMP- activated protein Kinase- Acetyl-CoA Carboxylase- malonly CoA axis, Vol. 277, No. 33, 29424-29430, (2002).

