

70555

**T.C
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA L-KARNİTİNİN
STREPTOZOTOCİNLE DİYABET OLUŞUMU VE
OKSİDAN STRES ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Nazan UYSAL

**Tez Danışmanı
Yard. Doç. Dr. Giray YALAZ**

**Aralık 1998
İZMİR**

TEŞEKKÜR

Bu tezin yürütülmesi sırasında büyük yardım ve katkılarını gördüğüm tez danışmanım Yard. Doç. Dr. Giray Yalaz' a; uzmanlık eğitimime katkılarından dolayı Prof. Dr. Ataman Güre, Prof. Dr. Abdullah Arslan, Doç. Dr. İlgi Şemin, Yard. Doç. Dr. Muammer Kayatekin, Yard. Doç. Dr. Sevil Gönenç, Yard. Doç. Dr. Osman Açıkgöz' e; deney aşamalarındaki yardımları için Yard. Doç. Dr. Giray Yalaz, Yard. Doç. Dr. Muammer Kayatekin, Yard. Doç. Dr. Sevil Gönenç, Yard. Doç. Dr. Osman Açıkgöz, Tıp. Tek. Ferma Kandemir, Dr. Mustafa Akhisaroğlu' na ve arkadaşım Murat Gezgin' e teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER:

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	4
I. Diyabetes Mellitus	4
II. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türleri	6
1) Serbest Radikal Teorisi	7
2) Reaktif Oksijen Türleri	9
3) Serbest Radikallerle Oluşan Hücresel Hasarlar	13
4) Antioksidan Savunma Sistemleri	16
III. Oksidan Stres	26
IV. Diyabetes Mellitus ve Oksidan Stres	27
V. Deneysel Diyabet Modelleri	29
VI. Karnitin	40
GEREÇ VE YÖNTEM	45
I. Deney Hayvanları	45
II. Deney	45
III. Homojenizasyon	46
IV. SOD Aktivitesinin Ölçümü	47
V. GPx Aktivitesinin Ölçümü	49
VI. MDA Ölçümü	50
VII. Protein Ölçümü	51
VIII. Kan Şekeri Ölçümü	52
IX. İstatistiksel Değerlendirme	53
BULGULAR	54
TARTIŞMA	62
ÖZET	71
KAYNAKLAR	73

GİRİŞ VE AMAÇ

Diyabetes mellitus, pankreasta insülin üreten β hücrelerinin inflamatuvar haraplanması sonucu oluşan insülin eksikliği, yokluğu veya hedef hücrede insülin reseptöründe rezistans gelişmesi ile meydana gelen kronik bir hastalıktır (119). Klinikte insüline bağımlı (IDDM) ve insüline bağımlı olmayan (NIDDM) diyabet olarak iki tipi bulunmaktadır (21, 119). Etiyolojisi kesin olarak bilinmemektedir.

IDDM' de otoimmünite olası nedenlerin başında olmakla birlikte viral enfeksiyonlar, fiziksel veya emosyonel stres (veya her ikisi birden), besinsel faktörler ve çevresel toksinlerin de diyabete neden olabileceği düşünülmektedir (18). β hücre hasarının immün sistemdeki değişikliklerle veya toksik kimyasal etkenler aracılığı ile oluştuğu düşünülmektedir. Sitotoksik T hücrelerinin aktivasyonu ile görülen hücre immünite; pankreas β hücre antikoru, β hücresi yüzey antikoru ve insülin antikoru oluşturan humoral immüniteden daha önemli görünmektedir. Toksik mekanizmalarda ise streptozotocin gibi β hücre toksinleri β hücre çekirdeğinde ADP-riboz sentetaz aktivasyonuna neden olur ve hızla NAD harcanır, DNA' da kırıklar oluşur. Sonuçta hücre içinde serbest oksijen radikalleri birikir. Oysa normalde β hücresi oksidatif metabolizmasıyla, bu oluşan radikalleri kendi radikal temizleyicileriyle temizler. Son zamanlardaki araştırmalarda lenfokinlerdeki değişikliklerin serbest radikallerin hücre içinde birikmesiyle birleşerek β hücresinde hasarlanmaya neden olduğu düşünülmektedir (18, 52, 103). IDDM' de diyabet oluşumunda plazmada ve pankreasta serbest radikallerin düzeyini gösteren lipid peroksidasyonunun arttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (55, 121).

Genetik faktörlerin NIDDM gelişiminde önemli katkısı olduğu düşünülmektedir. Bunun yanında beslenme, fiziksel egzersiz gibi çevresel faktörlerle genetik yatkınlığı olan kişilerde diyabet açığa çıkmaktadır. NIDDM' in genetik bir hastalık olduğu kabul edilmektedir. Bazı kişilerde gen mutasyonları olduğu görülmüştür. NIDDM' in patofizyolojisinde insülin rezistansı ve insülin yetersizliği olarak iki defekt tanımlanmıştır. Ancak hangi defektin birincil öneme sahip olduğu bilinmemektedir (110).

Tek doz alloksan ve streptozotocinin pankreas β hücrelerine olan toksik etkilerini, süperoksit dismutaz (22), vitamin E (75), nikotinamid (39, 51), melatonin (88) gibi antioksidan ajanların önlediğini veya iyileştirdiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır.

Çok sayıda düşük doz streptozotocinde otoimmün mekanizmalar aracılığı ile diyabet oluşmaktadır. Bu tip diyabetin immünsupresiflerle önlenemediği görülmüştür (76, 121).

Karnitin, vücutta doğal olarak bulunan, yağ asit metabolizmasındaki β oksidasyonda, yağ asitlerinin mitokondri membranından geçişini sağlayan bir maddedir. Bunun yanında antioksidan etkisinin de bulunduğu düşünülmektedir (79). Diyabette plazmada ve pankreasta karnitin düzeyi düşerken idrarla karnitin çıkarılması artmaktadır (119, 83). Deney hayvanlarında diyabetin hem erken dönemlerinde hem de ileri dönemlerinde, pankreasta karnitin düzeyinin düştüğü, idrarla karnitin atılmasının arttığı görülmüştür (62). İnsanlarda da özellikle tip I diyabette karnitin idrarla atılmasının arttığı, kan karnitin düzeyinin azaldığı gösterilmiştir (82).

Reddi ve ark. L-karnitin tek doz streptozotocin verilmesinden 2 hafta sonra karaciğer, beyin ve pankreasta karnitin düzeylerinin düştüğünü göstermişlerdir (87).

Karnitin antioksidan etkisini araştırmak amacıyla değişik çalışmalar yapılmış ve farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Yıldız ve ark. tek doz alloksanla oluşturulan diyabette alloksan enjeksiyonundan sonraki 3. ve 4. haftalarda nöral malonildialdehid (MDA) düzeyinin arttığını; karnitin tedavisi ile nöral MDA düzeyinin düzeldiğini bulmuşlardır (122).

Reznick ve arkadaşlarının çeşitli karnitin derivelerinin antioksidan etkilerini karşılaştırdığı bir çalışmada L-propionil karnitin myokardı, endoteli ve eritrositleri peroksidatif hasarlanmadan koruduğu, hasarlanmış hücre membranını stabilize ettiği, MDA düzeyini düşürdüğü gösterilmiştir. Aynı çalışmada sadece L-propionil karnitin böyle bir etkisi olduğu, L-karnitin de dahil diğer hiçbir karnitin derivativesinin böyle bir etkisinin görülmediği öne sürülmüştür (89).

Bu projenin amacı, vücutta doğal bir madde olarak bulunan karnitin, sıçanlarda streptozotocinle deneysel diyabet oluşumuna ve karnitin antioksidan enzimlerle, lipid peroksidasyonuna etkilerinin incelenmesidir.

Şimdiye dek yapılan çalışmalarda diyabet oluşumu birçok yöntemle önlenmeye çalışılmış, ama vücutta doğal olarak bulunan bir madde olan ve besinlerle de alabildiğimiz ve şimdiye kadar hiçbir yan etkisi görülmeyen karnitin bu amaçla henüz denenmemiştir.

Bu çalışmada L-karnitin bu yönde bir etkisi bulunabilirse diyabet gelişme riski bulunan kişilere erken dönemde önerilebileceği düşünülmektedir.

GENEL BİLGİLER

I. DİYABETES MELLİTUS:

Diyabetes mellitus, pankreatik insülin sekresyon eksikliği ve / veya doku insülin yanıtının bozukluğu ile birlikte çok çeşitli komplikasyonlara yol açan metabolik bir hastalıktır (71). Kan glukozunun kronik yüksekliği ile karakterizedir. Klinikte bu şiddetli su içme ihtiyacı, çok yemek yeme, kilo kaybı ve stupor ile kendini gösterir. Tüm biyokimyasal değişiklikler endokrin pankreastaki β hücrelerinin eksikliği ve / veya insülinin hedef hücrelerdeki hassasiyetinin azlığı sonucunda meydana gelir.

Hastalık genel olarak iki gruba ayrılır: İnsülin Dependent Diyabetes Mellitus (IDDM), Non İnsülin Dependent Diyabetes Mellitus (NIDDM) (21, 119).

IDDM' de total veya totale yakın insülin sekresyon kaybı bulunur. Kan glukozunun normal sınırları 5 milimol/L ile 10 milimol/L arasındadır (121). 11 milimol/L' nin üstü diyabetik kabul edilir (76).

Diyabetes mellitusun etyolojisi kesin olarak bilinmemektedir. IDDM, pankreasta insülin üreten β hücrelerinin inflamatuvar yıkımı sonucu meydana gelir (80, 103). Diyabetin patogenezi genetik zeminli otoimmün olaylar açıklamakla birlikte, immünolojik anormallikler de sorumlu tutulmaktadır. Viral enfeksiyonlar, besinsel faktörler, dış toksinler, fiziksel veya emosyonel stres (veya ikisi birden) patogenezi suçlanmaktadır (18).

Lenfokinlerdeki değişiklikler ve oluşan serbest radikaller β hücre hasarında doğrudan sorumlu tutulmaktadır (18). Nadiren diyabette insülin geninde nokta mutasyonlar olabilmektedir (110). Diyabetik hastalarda pankreatik dokuda hücresel prostaglandin metabolizmasındaki değişiklikler

insülin sekresyonunu bozabilmekte ve hedef hücrelerde insülin sensitivitesini azaltmaktadır (8). Hedef hücredeki insülin sensitivite azlığı hem insülin reseptör sayısı, hem de insülin reseptöründe tirozin kinaz aktivitesinde azlıkla birliktedir (6, 103). Diyabet oluşumundaki bir diğer hipotez hücrelerde glukoz birikmesiyle insülin- glukoz transportuna yanıtın azalmasıdır (102). Deney hayvanlarında serbest radikal temizleyicileriyle (antioksidan maddeler) IDDM oluşumu ertelenebildiğinden beri β hücre yıkımının patogenezesinden serbest radikaller suçlanmaktadır (42, 102). Bio Breeding (BB) sıçanlarda ve insanlarda IDDM' de serbest radikallerin göstergesi olan lipid peroksidasyon düzeyi artmaktadır (102). β hücrelerinde harabiyet sonucu oluşan hiperglisemi de ek olarak serbest radikal oluşumunu arttırmaktadır (28, 74). Yapılan araştırmalarda diyabette pankreasta süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan savunmada görevli enzimlerin düzeyi düşerken (76), lipid peroksidasyonunu gösteren malondialdehid (MDA) düzeyi yüksek bulunmuştur (83).

I. 1. IDDM:

Sıklıkla 40 yaşından önce başlar, çocukluk ve adölesan döneminde görülür. Klinik tablo NIDDM' lilere göre daha şiddetlidir. Semptomların başlangıcı ani olabilir. Plazma insülin düzeyi düşük veya ölçülemez, çünkü pankreas β hücrelerinin total eksikliği vardır. Glukagon düzeyleri artmıştır, ama insülin ile baskılanabilir. Oral antidiyabetiklere yanıt vermez. İnsülin tedavisi her zaman gereklidir (119).

I. 2. NIDDM:

Hastalığın bu formu sıklıkla yaşamın ortasında veya daha sonra başlar. Semptomların başlaması IDDM' e göre daha yavaştır. Tanı, sıklıkla rutin laboratuvar araştırmasında asemptomatik kişilerde plazma glukoz yüksekliği bulunması ile konur. Plazma insülin düzeyleri normal veya yüksektir (119).

Obesitenin insülin rezistansı için risk faktörü olduğu sanılmaktadır, bu nedenle obesitenin tedavi edilmesi çok önemlidir (15). İnsülin rezistansı görülen NIDDM' de hem dokularda insülin reseptör sayısı azalmıştır, hem de kesin olarak henüz tanımlanmamış bir postreseptör defekt görülmektedir. NIDDM' de insülin reseptör tirozin kinaz aktivitesinde (6) ve / veya insüline hassas glukoz taşıyıcısında değişiklikler görülmektedir (102). NIDDM' de oral antidiyabetikler tedavide kullanılır, hatta sadece diyet ve egzersizle tedavi edilebilen hasta grubu bile vardır. Hipergliseminin iyileştirilmesi ve diyabetin uzun dönem kontrolü için oral antidiyabetiklerle insülin kombinasyonu klinikte faydalı bulunmuştur (119).

II. SERBEST RADİKALLER VE REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ:

Atomlardaki elektronlar çevrelerindeki orbital denenen alanda bulunurlar. Her orbital, birbirine ters yönde dönen iki elektron taşıyabilir. Eğer bir yörüngede tek elektron bulunursa, o elektron çiftlenmemiş olarak adlandırılır. Serbest radikal, bir yada daha çok çiftlenmemiş elektron içeren herhangi bir atom veya moleküldür. Kovalent bağ ile moleküllerin son orbitalinde çiftlenmiş elektronlar oluşturulur. Bu kovalent bağın homolitik parçalanması ile serbest radikaller oluşur (31, 123). Serbest radikaller

kimyasal sembollerinin üst tarafına konulan nokta ile gösterilirler. Örneğin O_2^- : süperoksit radikali, $OH^\cdot$: hidroksil radikali (29).

Çiftlenmemiş iki elektron içerdiğinden oksijen molekülü (O_2) de bir radikaldir. Nitrik oksit ($NO^\cdot$) ve nitrojen dioksit ($NO_2^\cdot$) diğer gaz serbest radikallerdendir. Serbest radikallerin kimyasal reaktiviteleri çok değişiktir. Serbest radikaller genellikle radikal olmayan maddelere göre daha reaktiftir. Oksijen molekülü bu kuralın dışında kalır. Oksijen molekülünün çiftlenmemiş elektronlarının herbiri farklı orbitallerde bulunur ve bunlar birbirleriyle aynı yönde dönerler. Aynı yönde dönüş oksijenin zayıf reaktivitesinin nedenini açıklar. Oksijen molekülü herhangi bir molekülden iki elektron alarak onu yükseltgerken (okside ederken), bu elektronların mutlaka oksijendeki elektronların zıt yönünde dönmesi gerekir. Dönüş kısıtlaması oksijenin radikal olmayan moleküllerle tepkimeye girmesini yavaşlatır. Oksijen daha çok radikallerle tepkimeye girer (33, 123).

Organizmada yer alan moleküllerin çoğunluğu çiftlenmemiş elektron içermediğinden, serbest radikaller daha çok radikal olmayan maddelerle tepkimeye girerek yeni serbest radikaller oluştururlar. Bu nedenle serbest radikal tepkimeleri, zincir tepkimeleri olarak sürmek eğilimindedir. Bu kural serbest radikal kimyasının temel kuralıdır (29).

II. 1. Serbest Radikal Teorisi:

Oksijenli solunum sırasında üretilen serbest radikaller oksidatif hasardan sorumludurlar. Vücutta reaktif oksijen türlerinin üretiminde önemli dört bölge vardır (44):

- a) Mitokondrial elektron transportu.
- b) Peroksizomal yağ asit metabolizması.

c) Sitokrom P-450 reaksiyonları.

d) Fagositik hücreler.

a) Mitokondrial solunumda, elektron transport zincirinde oksijenden suya 4 elektron üretilir ve bu oluşan elektronları indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) veya süksinat kompleks I veya II alır. Ancak mitokondrial elektron transportu en son oksijen molekülü (O_2) oluştuktan sonra tamamlanamaz ve O_2 'nin $O_2^{\cdot -}$ 'ye dönüşmesi ile bir elektron üretilir. Spontan ve / veya enzimatik bir dismutasyonla $O_2^{\cdot -}$ 'den hidrojen peroksit (H_2O_2) meydana gelir, bu nedenle oksidasyon - redüksiyon zincir reaksiyonlarının ürünleri $O_2^{\cdot -}$ ve H_2O_2 'dir. H_2O_2 bir elektron alarak hidroksil radikali ve hidroksil iyonunu ($OH^{\cdot}$) oluşturur. İki hidroksil iyonu, iki hidrojen ile birleşerek iki molekül suyu oluşturur (29, 44).

Sitokrom oksidaz enzim sistemi elektron taşıma zincirinde oksijeni kullanır, oksijen suya dönüşürken serbest radikaller oluşur, ancak bu ara ürünler sitokrom oksidazın aktif bölgelerine sıkıca bağlıdır ve hücreye zarar vermezler (101).

b) Yağ asitlerinin peroksizomal β -oksidasyonunda da oksijen radikalleri (H_2O_2 ve ürünleri) oluşur. Peroksizomlar yüksek katalaz konsantrasyonlarına sahip olduklarından normal koşullarda H_2O_2 'nin sızmasını engellediklerinden sitozolik oksidatif stres nedeni olup olmadıkları tam olarak anlaşılamamıştır. Bununla birlikte nonmutajenik kanserler, peroksizomların proliferasyonu, karaciğer kanserleri sonucunda hepatosellüler peroksizomların artması oksidatif stres ve hasar nedeni olabilmektedir (4). Parsiyel hepatektomiden sonraki rejenerasyon sırasında peroksizomlardaki katalaz aktivitesi aynı değildir (69), hızlı hücre proliferasyonu peroksizomlardan oksidan sızmasını arttırabilmektedir.

c) Mikrozomal sitokrom P-450 enzimi ksenobiyotikleri metabolize eder, sıklıkla bitki kökenlidir, tek yönlü oksidasyon veya redüksiyon olaylarını

katalize eder. Bu reaksiyonlar NADPH' yi içerir ve çeşitli sitokrom P-450 izoenzimleri oksijen molekülünden $O_2^{\cdot -}$ oluşturulur ve oksidatif strese neden olur (26).

d) Fagositik hücreler patojenlere $O_2^{\cdot -}$, H_2O_2 , $NO^{\cdot}$ ve hipoklorid gibi serbest radikaller ve oksidanlarla birlikte saldırırlar (64). Fagositoz sırasında hücre zarına bağlı olan indirgenmiş NADPH enzimi aktifleşir. Ve sonuçta fagositozla artan O_2 tüketiminin tamamı enzimatik olarak hidrojen peroksit yapımı şeklinde kullanılır. Aktive olmuş fagositik hücrelerin bol miktarda H_2O_2 oluşturduğuna inanılır. H_2O_2 yerel doku yangısında görülen sitotoksik potansiyelden sorumludur. Fagositoz sırasında Fenton ve Haber - Weis tepkimeleri aracılığı ile H_2O_2 ' den hidroksil radikali meydana gelir (101, 123)

Nötrofillerde bulunan bir diğer öldürme sistemi miyeloperoksidaz enzimidir Bu enzim makrofajlarda bulunmaz. Miyeloperoksidaz varlığında $HO^{\cdot}$ ve klor birleşerek güçlü bakterisidal aktiviteye sahip olan hipokloröz asidi oluşturur(32).

II. 2. Reaktif Oksijen Türleri:

Süperoksit radikali, hidroksil radikali, hidrojen peroksit, singlet oksijen, hipokloröz asit reaktif oksijen türü olarak anılan oksidanlardır. Bunlardan hidroksil radikali, hidrojen peroksit, singlet oksijen ve hipokloröz asit okside edici ajanlardır, ancak süperoksit radikali hem okside edici, hem de redükte edicidir (44).

II. 1. a. Süperoksit Radikali: ($O_2^{\cdot-}$)

Moleküler oksijen, dış orbitalinde çiftlenmemiş iki elektron içermektedir. Bu dış orbitallerden herbiri birer elektron daha kabul edebilir. Bu orbitallerin tek elektron alması ile süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) oluşmaktadır (33, 36).

Tüm radikaller içinde hem çevresel etkenler hem de organizmalardaki enzimatik ve enzimatik olmayan tepkimelerle en çok ve en kolay oluşan radikaldir. Canlılarda diğer radikallerin oluşumu çoğunlukla süperoksit radikallerinin birikmesine bağlıdır. Bu radikaller biriktikten sonra bir seri zincirleme tepkimeler sonucu diğer radikaller de oluşur (123). Sıvı ortamlarda süperoksit radikali, daha çok indirgen olarak etki eder ya da iki süperoksit radikali birbiri ile kendiliğinden etkileşerek biri oksitlenirken diğeri indirgenmekte ve böylece H_2O_2 ve O_2 meydana gelmektedir.



Süperoksit radikallerinin ortamdan temizlendiği bu tepkimeye dismutasyon tepkimesi denir. Süperoksit dismutaz enzimi bu tepkimenin hızını 10^4 kat artırır (24).

Organik çözücülerde süperoksit radikali daha reaktif ve tehlikelidir. Biyolojik zarların iç bölümünde üretilen süperoksit radikali hasara neden olabilir (29).

II. 1. b. Hidroksil Radikali: ($OH^{\cdot}$)

Bilinen en reaktif, bu nedenle de en toksik oksijen radikalidir. Çok büyük biyolojik hasar yapma potansiyeline sahiptir. Tüm biyolojik moleküllere etki ederek serbest radikal zincir tepkimelerini başlatabilir (123).

Eğer dokular γ -radyasyona maruz kalırsa, yüksek su içerikleri olduğundan su aracılığı ile yüksek enerjiyi tutarlar. Radyasyon, suyun yapısındaki oksijenle hidrojen arasındaki kovalent bağların birini ayırır; bir elektron hidrojen, bir elektron da oksijen atomu üzerinde ayrılır ve $H^\cdot$ ve $OH^\cdot$ radikalleri meydana gelir. $OH^\cdot$, DNA'ya saldırarak serbest radikal zincir reaksiyonlarını başlatır ve DNA'da kırıklar oluşturur, deoksiriboz parçalanır, pürin ve pirimidin bazlarında kimyasal değişiklikler meydana gelir (9).

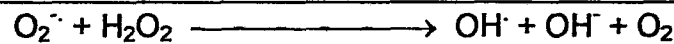
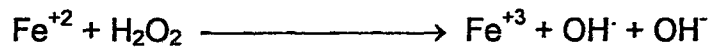
$OH^\cdot$ ile oluşan DNA hasarının kusurlu tamiri, proto-onkogen aktivasyonuna ve kanserlerin oluşmasına neden olur. Yüksek enerjili radyasyon kanser gelişimine neden olabilir, $OH^\cdot$ 'nin bir karsinogen olduğu söylenebilir (9).

Vücutta iki önemli kaynağı vardır:

1. Fenton tepkimesi: Hidrojen peroksitten oluşur



2. Haber - Weis tepkimesi: İn vivo $OH^\cdot$ üretimi bakımından en önemli tepkimedir. Tepkime demir tarafından katalizlenir. Ancak tepkimeye demir dışında bakır, kobalt, mangan, titanyum gibi diğer geçiş metalleri de katılabilir (34).



II. 1. c. Hidrojen Peroksit: (H_2O_2)

Hidrojen peroksit çiftlenmemiş elektron içermediğinden radikal değildir. Ancak biyolojik olarak önemli bir yükseltgendir. Biyomedikal

literatürlerde geçen reaktif oksijen türleri teriminin içine sadece süperoksit ve hidrojen radikalleri değil aynı zamanda radikal olmayan H_2O_2 ' de girer (31).

Yüksek konsantrasyonları dışında yalnız başına hücreler için toksik değildir. Ancak geçiş metalleri ile birleşerek hücreler için zararlı olan hidroksil radikalini oluşturur. Hidrojen peroksit küçük, yüksüz bir molekül olduğundan zararlardan kolayca geçer (33, 35, 44).

II. 1. d. Singlet Oksijen: (1O_2)

Bir diğer reaktif oksijen türüdür, fakat radikal değildir. Biyolojik moleküllerdeki oksijenin yeniden elektriksel düzenlenmesi ile oluşur. Enerji absorpsiyonu ile oksijenin paylaşılmamış dış elektronlarının spinleri değişebilir. Oksijenin bu uyarılmış şeklinde dış iki elektron ayrı ayrı veya aynı orbitali işgal edebilir. Oksijenin uyarılmış bu iki formuna singlet oksijen (1O_2) denir (44).

Singlet oksijen doymamış yağ asitlerini doğrudan etkileyerek membran lipidlerinde bölge değişikliği ile lipid peroksitlerini oluşturur.

Küçük miktarlardaki singlet oksijen lipid yapılarda peroksidasyon oluşturabilir, ancak fotosensitivite reaksiyonları dışında singlet oksijen insan vücudunda büyük hasarlar oluşturmaz. Bununla birlikte aktive eozinofillerin üretimine neden olur (31).

Karotenler, bilirubin, histidin, metiyonin, 2-5-difenil furan, 1-4-diazobisikloalefan singlet oksijeni temizler. Bu inhibitör etkili bileşikler olay sırasında oksitlenmezler ve tüketilmezler, singlet oksijenin enerjisini alırlar (45).

II. 1. e. Hipokloröz Asit: (HOCl)

Doku hasarındaki inflamatuvar yanıtta göç eden veya endotel hücrelerine yapışmış olan polimorfonükleer hücreler ve yine sadece insanlarda bulunan fagositlerdeki myeloperoksidaz - H_2O_2 - Cl sistemi tarafından üretilen major oksidandır. Çeşitli hücresel yapılar için son derece toksiktir. Radikal değildir, çiftlenmemiş elektronları yoktur. Glutasyon ve askorbik asitle hızla nötralize edilir (31, 44).

II. 2. Serbest Radikallerle Oluşan Hücresel Hasarlar

Hücrede koruyucu mekanizmaları aşacak kadar serbest radikal oluştuğunda farklı şekillerde metabolik ve hücresel bozukluklar meydana gelir. Oksidatif stres hücrelerde ve dokularda reaktif oksijen türlerinin artması ve / veya antioksidan savunma sisteminin azalması ile oluşur. Genel olarak serbest radikaller DNA' nın yapısında değişikliğe neden olarak mutasyon ve sitotoksikite oluşturmaktadırlar (31).

Toksik etkilerin yanı sıra oksijen radikallerinin üretimi normal biyolojik fonksiyonun ayrılmaz bir parçasıdır. Tepkimelerin bir kısmında üretilen radikaller tekrar kullanılmaktadırlar. Önemli ölçüde birikime izin verilmez. Ancak radikal üretiminde artış veya eliminasyonunda azlık durumunda toksik etki görülmeye başlar (31, 44, 123).

Oksidatif stres öncelikle hücre içindeki serbest kalsiyumu artırır. Hücreye bağlı inaktive enzim sistemleri endoplazmik retikulum ve mitokondride serbest kalsiyumu tutar ve plazma membranında transport sisteminde hasar meydana gelir ve kalsiyumu hücre dışına atar (1). Eğer intrasellüler serbest kalsiyum çok artarsa hücre iskeletine bağlı proteazlar

aktive olur. Kalsiyum, endonükleazları aktive ederek DNA kırıklarına neden olur. Yine serbest radikallerin doğrudan etkisi ile ADP-riboz sentetaz aktivasyonu ile DNA' da kırıklar meydana gelir.

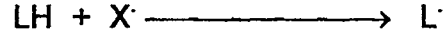
Genel olarak oksidatif stresin hücrelerde aşağıdaki etkileri görülür (44):

- Doğrudan DNA' ya etki ile DNA hasarı ve ATP sentezi inhibisyonu,
- Proteinleri yine doğrudan etkileyerek protein hasarı ve hücre içi kalsiyum artışı,
- Hücre içi glutatyonu azaltarak hücre iskelet hasarı,
- Hücre içi serbest demir konsantrasyonunu artırarak sonrasında membran peroksidasyonu ve yıkımı, DNA, protein ve lipidlerde hasar,
- Lipid peroksidasyonu.

Lipid Peroksidasyonu:

Sitoplazmik yapının ve biyolojik membranların temel elemanı, organik dünyanın belki de en stabil olmayan molekülleri olan fosfolipidlerin içerdiği doymamış yağ asidi zincirleridir. Lipid peroksidasyonu yağların, özellikle çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif oksijen bağımlı yıkımı olarak tanımlanabilir ve dallanan bir zincir reaksiyonudur (29). Singlet oksijen, azot dioksit veya hidroksil radikalinin herikisi de lipid peroksidasyonunu başlatabilir.

Doymamış yağ asidinden serbest radikalın etkisiyle bir hidrojen atomu çıkması ile başlar ve tepkimenin sonucunda lipid radikali oluşur.

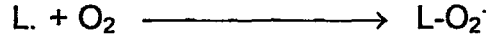


(X ; serbest radikali

LH ; doymamış yağ asidini

L[·] ; lipid radikalini göstermektedir)

Oluşan lipid radikali oksijen ile tepkimeye girerek oldukça reaktif olan lipid peroksiti oluşturur.



(L-O₂[·] ; lipid peroksiti göstermektedir)

Oluşan lipid peroksit zar proteinleri ve zardaki komşu yağ asidi yan zincirleri ile tepkimeye girerek lipid hidroperoksitlerini ve lipid radikalini oluşturur.



Oluşan lipid radikali, bu zincirleme tepkimelerin en baştakine döner ve oksijenle birleşir. Böylece bu tepkimeler zincirleme şekilde sürer (29, 33).

Lipid peroksidasyonu sonucunda zar yapısı ve akışkanlığı bozulur, kalsiyum gibi iyonlar hücre içine girer.

Lipid peroksitleri ortamda demir ve bakır gibi metal iyonları bulunmadığı sürece kararlı bileşiklerdir. Metal iyonları özellikle demir ve bakır, lipid hidroperoksitlerini parçalayarak lipid peroksidasyonuna neden olur (30).

Lipid peroksidasyonunun son ürünleri hidrokarbon gazlar ve toksik aldehidlerdir (33). Bu aldehidler komşu hücrelere zarar verebilirler; zardaki enzimler ve reseptörleri inaktive edebilirler. Ayrıca fosfolipaz aktivitesini artırıp araşidonik asit salınmasını uyarak prostaglandin ve çeşitli endoperoksitlerin oluşumuna neden olabilirler. Aldehidlerden

malonildialdehid (MDA) ölçümü, lipid peroksidasyonunun göstergesidir ve bu amaçla yaygın olarak kullanılmaktadır (33, 101).

Lipid peroksidasyonunun temel yan ürünlerinden olan MDA ve 4-hidroksinonenal hem sitotoksik hem de mutajeniktir (123). Hücreler bu aldehydlerin potansiyel sitotoksitesine karşı koruyucu olarak onları detoksifiye edecek düzenekler geliştirmiştir. Aldehyd dehidrogenaz ile MDA'nın mitokondride oksidasyonu buna örnektir (123).

Hücre zarlarında lipid peroksidasyona uğrayan başlıca yağ asitleri linoleik asit, araşidonik asit, dokasaheksaenoik asit ve diğer çoklu doymamış yağ asitleridir (123).

Vücutta MDA, CO₂'ye metabolize olmasına rağmen idrarda asit ile hidrolize edilebilen formda küçük miktarda çıkarılmaktadır (17).

II. 3. Antioksidan Savunma Sistemleri:

Hücreleri serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı koruyan maddeler antioksidan savunma sistemleri adı altında toplanır. Hücreler antioksidan enzim depoları ile donatılmıştır, bununla birlikte küçük antioksidan moleküller büyük oranda diyetdeki meyve ve sebzelerle alınmaktadır (44, 123).

Antioksidanlar hem hücre içinde hem de hücre dışı sıvıda bulunurlar ve birlikte çalışarak serbest radikal hasarını önlerler. SOD, GPx ve katalaz gibi antioksidan enzimler hem sitozolde, hem de hücre içinde serbest radikallerin en çok üretildiği yer olan mitokondride bulunurlar (123).

Genel olarak iki grupta toplanırlar (31):

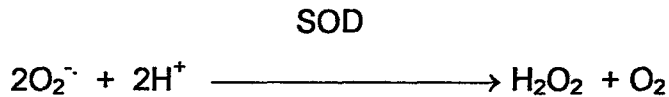
1) Doğal Antioksidanlar (Süperoksid dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon, α -tokoferol, askorbik asit, adenosin, laktoferin, nikotinamid, karotenoidler)

Sentetik Antioksidanlar (Merkaptopropiyonilglisin ve diğer tiyoller, ebselen, allopurinol, oksipurinol ve diğer ksantin oksidaz inhibitörleri, deferroksamin, hidroksipridonlar, lazaroidler, probukol ve diğer zincir kırıcı antioksidanlar)

DOĞAL ANTİOKSİDANLAR:

II. 2. a. Süperoksit Dismutaz: (SOD)

Süperoksit radikallerinin hidrojen iyonları (H^+) ile hidrojen peroksite dismutasyonunu katalizleyen bir enzimdir. Bu tepkime normal koşullarda çok yavaştır, ancak SOD bu tepkimeyi 10^4 kat hızlandırır (64).



Aerobik canlıların bütün doku, hücre sitoplazması ve hücre mitokondrisi SOD içermektedir.

SOD kofaktör olarak yapısında içerdği metal iyonuna göre üç gruba ayrılabilir:

1) Bakır ve çinko içeren dismutazlar (Cu, Zn - SOD): Ökaryotik hücrelerin sitoplazmasında bulunur. Enzimin etkinliği için bakır mutlaka gereklidir. Ancak yapısındaki çinko; kobalt, civa veya kadmiyum ile yer değiştirebilir. Siyanid çinkoya bağlanarak enzimi inhibe ettiğinden siyanide duyarlı SOD' da denmektedir. Cu, Zn - SOD sitozol, çekirdek ve peroksizomlarda bulunur (64, 86).

2) Mangan içeren dismutazlar (Mn - SOD): Hücrenin mitokondrisinde bulunur. Mitokondri elektron taşıma zincirindeki sızma ve mitokondrial oksidaz enzimleri tarafından oluşturulan süperoksit radikalini uzaklaştırır (64, 86).

3) Demir içeren dismutazlar (Fe - SOD): Bakterilerin çoğunda periplazmik bölgede ve bazı bitkilerde bulunur, insanlarda bulunmaz (86).

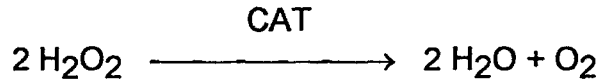
SOD aktivitesi dokulara göre değişiklik göstermektedir. Karaciğer, böbreküstü bezi, böbrek ve dalakta en yüksek düzeydedir. Biyosentezi doku oksijenlenmesine duyarlıdır ve aktivitesi biyosenteziyle düzenlenir. Artmış parsiyel oksijen basıncı yada artmış hücre içi oksijen konsantrasyonu SOD biyosentezini artırır (123).

SOD etkinliği, indirekt olarak kimyasal bir tepkimeyi inhibe etmesi ile ölçülmektedir. Direkt ölçüm yöntemleri elektron paramanyetik rezonans, stopped-flow spektroskopisi, polarografik teknikler ve nükleer manyetik rezonans spektroskopisidir (45).

II. 2. b. Katalaz: (CAT)

Katalaz (CAT) aktif bölgesinde hem' e bağlı demir içeren büyük bir enzimdir ve daha çok peroksizomlarda bulunur. Ancak kalp dokusunda,

mitokondride, sitozol ve mikrozomlarda da az miktarda CAT bulunur (29). CAT dokularda yaygın şekilde bulunur ancak karaciğer, böbrek ve eritrositlerde diğer dokulara göre daha yüksek CAT aktivitesi bulunur (29, 123). CAT hidrojen peroksiti doğrudan oksijen ve suya parçalar. CAT' ın hidrojen peroksiti yıkma kapasitesi çok yüksektir.



Hidrojen peroksit affinitesi çok düşük olduğundan, hızlı bir şekilde çalışması için yüksek hidrojen peroksit konsantrasyonu gerekir. Hidrojen peroksit düşük konsantrasyonlarda glutatyon peroksidaz tarafından yıkılırken, yüksek konsantrasyonlarda CAT tarafından yıkılır (123).

II. 2. c. Glutatyon (GSH) ve prekürsörleri:

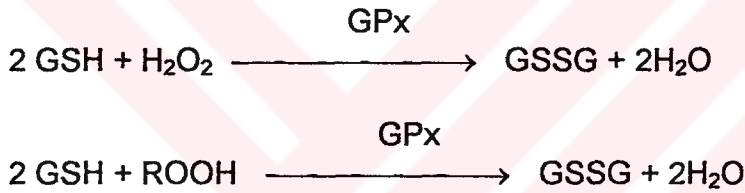
Glutatyonun insan vücudunda xenobiyotiklerin detoksifikasyonunu da içeren pek çok fonksiyonu vardır. Antioksidan savunmada görevlidir. Glutatyon peroksidazları ve transferazları aktive ederek iyonizan radyasyona maruz kalan hücreyi DNA hasarından korur. GSH antioksidan olarak kullanılmaktadır. Genel olarak hücreyi koruyucu fonksiyonu vardır. Transplantasyonda organları korur. Siklofosamid gibi sitotoksik ilaçlarla oluşan doku hasarına karşı da koruyucu etkisi vardır. Aerosol olarak kullanılan GSH solüsyonları kistik fibrozis gibi hastalıklarda aktive fagositlerle meydana gelen reaktif oksijen türleri ile oluşan akciğer hasarını azaltır (31).

GSH hemen hemen tüm memeli dokularında yüksek konsantrasyonlarda bulunur (29, 123). GSH' nin hidrojen peroksitin suya dönüştürülmesindeki görevinin yanısıra antioksidan özellikleri de vardır.

GSH kolaylıkla süperoksit radikali, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve organik radikallerle tepkimeye girerek serbest radikal hasarını önleyebilir (123).

II. 2. d. Glutasyon Peroksidaz: (GPx)

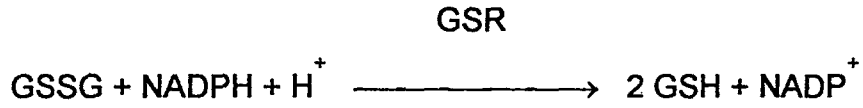
Glutasyon peroksidaz (GPx) hidrojen peroksiti suya dönüştüren hücre içinde sitozol ve mitokondride bulunan bir enzimdir. GPx hem hidrojen peroksiti, hem de organik hidroperoksitlerin suya indirgenmesini katalizler (123).



GPx' in selenyuma bağımlı ve selenyumdan bağımsız olmak üzere iki tipi bulunur. Her iki tipteki GPx de yukarıdaki tepkimeleri katalizleyerek peroksitleri suya dönüştür ve hücreyi serbest radikal hasarına karşı korur. Selenyuma bağımlı GPx sitozolde bulunur ve daha düşük hidrojen peroksit konsantrasyonlarında etkilidir. Selenyumdan bağımsız GPx ise organik hidroperoksitleri ve aşırı derecede artmış hidrojen peroksitin suya indirgenmesini sağlar (123).

GPx büyük bir hızla hidrojen peroksiti suya indirgerken indirgenmiş glutasyonu (GSH), yükseltgenmiş glutatyon (GSSG) dönüştürür. Tepkimeye giren glutasyonlar disülfid bağları ile birbirine bağlanarak indirgeyici özelliklerini yitirirler. GPx'ın işlevini sürdürebilmesi için ortamda GSH

bulunması gereklidir. Bu nedenle GSSG NADPH bağımlı bir enzim olan glutatyon redüktaz (GSR) tarafından GSH'ye dönüştürülür (29).



Bu tepkimelere kofaktör olarak kullanılan NADPH' nin yeniden sentezi için heksozmonofosfat şantı ve bu şantın anahtar enzimi olan glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) enzimi gereklidir. Bu nedenle GSR ve G6PD enzimleri de antioksidan savunma sistemi içinde yer alır (115).

GPx memeli hücrelerinde büyük oranda sitozolde daha az miktarda mitokondride bulunur. Benzer bir yerleşim SOD' da da görüldüğünden Cu,Zn-SOD tarafından sitozolde, Mn-SOD tarafından mitokondride üretilen hidrojen peroksitin yıkılmasından temel olarak GPx' in sorumlu olduğu düşünülmektedir (29).

Selenyuma bağımlı GPx' in antioksidan aktivitesinden yapısında bulunan Se sorumludur. GPx aktivitesi ile kan Se konsantrasyonu arasında pozitif korelasyon vardır. Süperoksit radikali GPx' i inaktive eder (123).

II. 2. e. α -tokoferol: (Vitamin E)

E vitamini hem bitkilerde hem de hayvanlarda yaygın olarak bulunan bir antioksidandır (118). Tokoferoller, lipidperoksi radikalleri ve alkoksil radikali ile birleşerek lipid peroksidasyonunu önlerler. E vitamini zarlarda bulunan zincir kırıcı bir antioksidandır. Ancak zarlar çok miktarda E vitamini içermezler. Bin çoklu doymamış yağ asidi yan zincirine karşın, bir tane E vitamini molekülü bulunur (31).

E vitamini böbreküstü bezi, kalp, testis, karaciğer gibi dokularda yüksek düzeyde bulunur. Hücre içinde E vitamini mitokondri ve endoplazmik retikulum zarları gibi lipidden zengin zarlarda bulunur (123).

Antioksidan aktivitesi olan plazma lipoproteinlerindeki α -tokoferol ateroskleroza karşı koruyucudur. Vitamin E' nin insan hastalıklarında oksidatif strese karşı kullanımının çok önemli olduğu düşünülmektedir. Örneğin antrasiklinlerin oluşturduğu kardiyak hasarı geniş ölçüde önlediği görülmüştür (31, 44).

II. 2. f. Askorbik Asit: (Vitamin C)

Vitamin C insan diyetinde bulunan çeşitli hidroksilaz enzimleri için kofaktör görevi yapan, eksikliği ateroskleroza meyil yapacağından eksikliğinden kaçınılması gereken bir vitamindir. C vitamini (askorbik asit) doğrudan süperoksit radikali, hidroksil radikali ve çeşitli lipid hidroperoksitlerle tepkimeye girerek antioksidan özellik gösterir (31).

Vitamin C' nin akciğerler için önemli bir antioksidan olduğu düşünülmektedir. Nitrozaminlerin karsinogen etkisine karşı koruyucudur. Sigara vitamin C ihtiyacını arttırmaktadır, bu nedenle sigara içenlerin vitamin C ihtiyacı içmeyenlere göre daha fazladır. Metal iyonlarının yokluğunda, askorbat invitro olarak güçlü bir antioksidandır (31).

C vitamini yaygın bir şekilde memeli dokularında bulunur. Böbreküstü bezi ve hipofizde diğer dokulara oranla daha yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Karaciğer, dalak, pankreas ve beyinde az miktarda bulunur (123).

II. 2. g. Adenozin:

Nötrofiller doku hasarlanmasında önemli rol alırlar. Örneğin antikorlar, nötrofillerin yapışmasını önlerler. Kardiyak reoksijenasyon hasarı modelinde iskemiden sonra infarktı azaltırlar. Burada çeşitli dokularda nötrofillerin birikmesi ve endotele yapışması endotel hücreleri tarafından üretilen çeşitli maddeler tarafından düzenlenmektedir. Örneğin prostasiklin yapışmayı azaltır, $O_2^{\cdot-}$ ise yapışmayı artırır (31).

Adenozin nötrofillerdeki $O_2^{\cdot-}$ üretimini azaltmaktadır. Çeşitli hayvan modellerinde reoksijenasyon hasarına karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (78).

II. 2. h. Laktoferrin:

Laktoferrin demir bağlayan bir proteindir, transferrine benzerdir fakat demir iyonlarına affinitesi özellikle asidik pH' da daha yüksektir. İnsan salgıları olan süt, tükürük, gözyaşı ve burun salgısında bulunur; aktive nötrofillerden salınır (31).

Demir iyonlarını bağlayan laktoferrin serbest radikal reaksiyonlarını katalizleyemez. Aktive nötrofillerden salınan laktoferrin, koruyucu mekanizmasını demir bağımlı serbest radikal reaksiyonlarını azaltarak gerçekleştirmektedir. Örneğin, laktoferin sıçanlarda reaktif oksijen türleri aracılığı ile oluşan akciğer hasarına karşı koruyucudur. Laktoferinin diğer etkileri fagositoz üzerinedir (31).

II. 2. i. Nikotinamid:

Oksidatif strese maruz kalan hücrelerde hücre içi ADP-riboz sentetaz aktivasyonu yoluyla nikotinamid nükleotidinde azalma görülür. Hücre kültürü ortamına aminobenzamidin gibi ADP-riboz sentetaz inhibitörlerinin veya nikotinamid veya nikotinik asit (niacin) eklendiğinde hücre ölümüne karşı koruyucu etkisi görülmüştür. İnsanlar üzerinde yapılan bir çalışmada dolaşımdaki lenfositlerde yükseltgenmiş nikotinadenin dinükleotid (NAD^+) konsantrasyonunun arttığı ve izole edilen lenfositlerin oksidatif hasara son derece dayanıklı olduğu görülmüştür (31).

ADP-riboz sentetaz inhibitörlerinin kullanımındaki potansiyel problem, bu enzimin bloke edilmesiyle DNA onarımı azalabilmektedir ve bu nedenle karsinogenezis riski artmaktadır. Hayvanlarda streptozotocinin diyabetogenik etkisine karşı ADP-riboz sentetaz inhibitörleri koruyucudur, fakat insülinoma geliştiği görülmüştür . Sonuçlar nikotinamidle tekrarlandığında dokuları oksidatif hasarlanmaya karşı iyi bir koruyucu olduğu gösterilmiştir (31, 70).

II. 2. i. Karotenoidler:

Karotenoid pigmentlerinden β -karoten güçlü singlet oksijen gidericisidir. Porfiri hastalarında derilerindeki fotosensitizasyon hasarına karşı, hayvanlarda da fotosensitizasyon yapan ilaçlara karşı koruyucu olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda kanser önleyici etkileri de bulunmaktadır. Diyetle önemli oranda sebzelerle alınmaktadır. Karotenoidler, lipid peroksidasyonunu inhibe etmektedirler. Tedavi için çok geniş kullanım alanlarına sahip olmakla birlikte etki mekanizması henüz tam olarak açık değildir (31).

SENTETİK ANTİOKSİDANLAR

II. 2. j. Merkaptopropiyonilglisin (MPG) ve diğer tiyoller:

GSH ve prekürsörleri, dimerkaprol ve merkaptopropiyonilglisin gibi tiyollerin hücreleri iyonizan radyasyona karşı koruyucu etkileri vardır. Sisteamin ve sistein en toksik olanlardır, çünkü eğer ortamda geçiş metallerinin iyonları bulunursa ve/veya sülfür bağımlı radikaller oluşursa hızla okside olarak biyolojik moleküllerde hasar oluşturlar (31).

Bir tiyol olan merkaptopropiyonilglisinin deney hayvanı myokardında iskemiden sonra reperfüzyon hasarına karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (29). Reaktif oksijen türlerini temizleyici etkisi vardır ancak hangi türler olduğu henüz tam olarak açık değildir (31).

II. 2. k. Ebselen: (Bir glutatyon peroksidaz benzeri)

Bir organoselenyum olan ebselen peroksidlerle GSH reaksiyonunu katalizler ve glutatyon peroksidaz benzeri bir madde meydana gelir. Antiinflamatuvar etkisi vardır. Aktive nötrofiller ve membrandaki lipid peroksidasyon ile oluşan reaktif oksijen türlerinin oluşumuna neden olan siklooksijenaz ve lipooksijenazı inhibe eder. Ebselen sıçan karaciğer mikrozomlarında uzun zincirli yağ asitlerinin desatürasyonunu ve uzamasını inhibe eder (31).

II. 2. I. Allopurinol, oksipurinol ve diğer ksantin oksidaz inhibitörleri:

Allopurinol, O_2^- , H_2O_2 ve ürik asit üreten ksantin oksidaz enzimini inhibe eder. İskemik doku reoksijenasyonunda ksantin oksidaz reaktif oksijen türlerinin oluşmasına neden olur. Doku hasarına karşı koruyucu olarak allopurinol veya oksipurinol kullanılır. Bazı hayvan deneylerinde allopurinolün kalp, beyin ve gastrointestinal sistemde reoksijenasyon hasarına karşı koruyucu etkisi görülmüştür. Allopurinol insanlarda hiperüriseminin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. İskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucudur, reaktif oksijen türlerinin oluşmasını önler (66).

Oksipurinol, insan vücudunda allopurinolden oluşan bir metabolittir. Oksipurinolde ksantin oksidazı inhibe eden koruyucu bir ajandır. Oksipurinol hipokloröz asiti ortamdan temizler (66).

II. 2. m. Fagositler tarafından oluşturulan reaktif oksijen türleri inhibitörleri:

Aktive fagositler tarafından üretilen reaktif oksijen türleri inflamasyonda ve reoksijenasyon hasarında oluşurlar. Çeşitli antienflamatuar ilaçlar fagositlerin O_2^- oluşturmalarını baskırlar (66).

II. 2. n. Desferroksamin: (şelate edici ajanlar)

Şelate edici ajanlar çok uzun yıllardır metal iyon zehirlenmelerinin tedavisinde kullanılmaktadır. Desferroksamin demir iyonlarını (Fe^{+++}) güçlü

şelate etmenin yanısıra demir bağımlı serbest radikal reaksiyonlarını baskılayan bir ajandır. Streptomyces pilosusdan üretilir, demir yüksek dozu almış olan hastalarda oral demir tuzlarının toksik oral alımı veya pekçok kan transfüzyonu gerektiren talassemi gibi hastalıklarda önleyici ve tedavi edici olarak kullanılmaktadır. Desferroksamin aynı zamanda alüminyum iyonlarına (Al^{+++}) da bağlanır, diyaliz hastalarında alüminyum fazlasını azaltmada kullanılır (31).

Fizyolojik tampon sistemlerinde demir bağımlı lipid peroksidasyonu ve yüksek reaktif oksijen türlerinden olan $OH^\cdot$, $O_2^\cdot$ ve H_2O_2 ' nin üretilmesini önler. Yüksek doz desferroksamin demir eksikliğine neden olmaz (31).

II. 2. o. Probukol ve diğer zincir kırıcı antioksidanlar:

MK-447 (2-aminometil-4-tert-butiril-6-iodofenol), ONO-3144 (2-aminometil-4-tert-butiril-6-propionilfenol), R-830 (2,6-di-tert-butiril-4-(2'-tenoksil)fenol). Hepsi hayvan modellerinde akut inflamasyonda antiinflamatuvar etki gösterir. R-850, deri inflamasyonunda topikal olarak kullanılır. Zincir kırıcı antioksidanların sıklıkla lipid dışı biyomoleküllerle prooksidan özellik gösterdikleri unutulmamalıdır. Lipooksigenaz ve siklooksigenazı inhibe ederek prostaglandin ve/veya lökotrienlerin sentezine interferans yaparlar. Lipid peroksidasyonunu inhibe ederler (31).

III. OKSİDAN STRES

Oksidan stres oksidan üretimi, antioksidan savunma, oksidatif hasarın tamiri olarak üç komponentten oluşur. Oksidan üretiminin artması ve antioksidan savunma ve tamir sistemlerinin azalması serbest radikal

teorisinin bir göstergesidir (44). Serbest radikallerin zararlı etkileri antioksidan savunma sistemleri tarafından azaltılır. Normal hızda üretilen serbest radikallere karşı yeterli etkinlikte antioksidan savunma sistemleri bulunur yani serbest radikal üretimi ile antioksidan savunma sistemleri yaklaşık olarak dengededir. Oksidan stres olarak adlandırılan dengenin serbest radikaller yönünde değişmesi, hücrenin biyokimyasını bozar. Hücrelerin çoğu hafif derecede oksidan stresi tolere edebilir. Çünkü onarım sistemleri hasarlı molekülleri tanır ve uzaklaştırır; yerine yeni moleküller yapılır. Ayrıca hücreler oksidan strese yanıt olarak antioksidan savunmalarını arttırabilir. Örneğin % 100 O₂ bulunan bir ortama koyulan sıçanlar birkaç gün içinde ölür. Ancak hayvanlar giderek artan düzeyde O₂ konsantrasyonlarıyla karşılaştığında akciğerler antioksidan savunmalarını arttırarak uyum sağlayabilirler. Böylece hayvanlar % 100 oksijene dayanabilirler. Bununla birlikte şiddetli oksidan stres hücreleri hasara uğratabilir, hatta öldürebilir. Antioksidanların azalması, serbest radikal üretiminin ya da geçiş metallerinin artması oksidan strese neden olabilir (29).

Antioksidan savunma sistemlerinin büyük bir yedeği yoktur. Belki de bunun nedeni, bazı radikallerin fagositoz gibi yararlı olaylarda görev alması olabilir (29).

IV. DİYABETES MELLİTUS VE OKSİDAN STRES

Lipid peroksidasyon göstergesi olan plazma MDA düzeyi kimyasal ve kendiliğinden oluşan diyabet gibi pek çok dejeneratif değişikliklerde, IDDM ve NIDDM hastalarında yüksek bulunmuştur (33, 102). Normal diyabetik olmayan kişilere göre diyabetiklerde plazma ve doku lipid peroksidasyon

düzeyleri yüksek bulunmuştur ve diyabetiklerde prostaglandin metabolizmasında değişiklikler görülmüştür (119). Burada en önemli nokta oksidasyonun işareti olan lipid peroksidasyonun gösterilmesi bir etyolojik faktör müdür yoksa doku hasarının sonucu mudur? Bu sorunun yanıtı için öncelikle antioksidan savunma ile de bilgi sahibi olmak gereklidir.

Diyabetik hayvan ve insanlarda askorbik asidin, vitamin E' nin plazma düzeyleri düşmüş, dehidroaskorbat gibi oksidasyon ürünlerinin düzeyleri artmıştır (73). Bu antioksidanların aşırı tüketimi ile serbest geçiş metalleri dokularda hasarlayıcı etki oluşturabilir. Bu spekülasyonun nedeni subklinik idyopatik hemokromatozisin diyabet nedeni olabilmesi (11, 41) ve demir şelatörü olan desferoksaminin düşük plazma düzeylerinin diyabetiklerde ateroskleroz için risk faktörleri olan glisemi, trigliseridemi ve kolesterol düzeyi yüksekliği gibi risk faktörlerine neden olmasıdır (31). Bunun yanında deferroksamin BB sıçanlarda diyabet oluşumunu önlemektedir (93). Yine normal kişilere göre plazma total bakır düzeyi yüksek olan diyabetiklerde bakır metabolizmasında da anormallikler mevcuttur.

Glukozun oluşturduğu protein hasarı ile ilgili yapılan son in vitro çalışmalarda glukoz, proteinin amino grupları ile Schiff bazı oluşturarak daha stabil olan amadori ürünlerine dönüşür (21). Bu ürünler protein moleküllerinde formasyon değişikliğine neden olur. Bununla birlikte glukozda diğer α -hidroksialdehidler gibi fizyolojik koşullarda moleküler oksijeni indirgeyebilir, geçiş metallerinin katalizlediği glukoz oksidasyonu ile serbest radikaller ve hidrojen peroksit üretilir, bu da proteinlerde yapısal hasara yol açar (96). Örneğin konformasyondaki değişiklikler inek serum albümininde fizyolojik koşullarda meydana gelir ve dietilentriamin penta asetik asit veya etilendiamin tetra asetik asit gibi metal şelate edici ajanlar ve hidroksi radikal temizleyicileri ile inhibe edilir (2, 119).

Daha detaylı çalışmalarda pentosidin denen kollagen üzerinde önemli floresans veren bir madde tanımlanmıştır. Pentosidin yüksek floresans veren pentoz derivasyonudur. Orijininin riboz olduğu sanılmaktadır, bir glikooksidasyon ürünüdür (37). Glikooksidasyon ürünleri olan nepsilon, lizin ve pentosidin yaşlılıkta, diyabette (115) ve romatoid artrit (56) artar. Pentosidin gibi glikooksidasyon ürünleri oksidatif stresin göstergesidir. Pentosidine bağlı doku floresansı doku hasarının göstergesidir (57).

Spontan diyabetik sıçanlarda kan şekeri düzeyleri normal ve yüksek olan gruplar arasında yapılan bir çalışmada, kan şekeri düzeyi yüksek seyreden grubun pentosidin düzeyi dramatik olarak artmıştır (67). Diyabette pentosidin ve oksidasyon ürünü olan dehidroaskorbat düzeyi artmıştır, bu da sistemik oksidatif stresin sonucudur. Burada oksidatif stres, katalitik aktif geçiş metallerinin düzeyinin artması, H_2O_2 ve diğer sitotoksin formasyonlarının oluşması sonucunda meydana gelir (123). Diyabette plazma lipid peroksidasyon konsantrasyonu artmakta ve antioksidan defans sistemi azalmaktadır (102). Streptozotocin verildikten sonra pankreas SOD düzeyi altıncı günde en yüksek, sonra giderek azalmakta ve onsekizinci günde en düşük olarak bulunmuştur (76). Serbest radikal temizleyicisi olan SOD profilaktik olarak verilerek streptozotocin ile oluşacak hasar önlenmiştir (20). Tek doz alloksan ve streptozotocinin pankreas β hücrelerine olan toksik etkilerini süperoksit dismutaz (22), vitamin E (75), nikotinamid (39, 51), melatonin (61) gibi antioksidan ajanlarla önlendiğini veya iyileştirdiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır.

V. DENEYSEL DİYABET MODELLERİ

Diyabet kronik bir hastalıktır. Uzun dönem incelemeler, veri toplama açısından çok vakit alacağından hayvan modellerinde çalışmak büyük ölçüde bu sorunu çözer. Hayvan modellerinde diyabetin etyolojisi, diyet, egzersiz, ilaçlar, toksinler, enfeksiyöz ajanlar gibi çevresel faktörlerle ilişkisi ve diyabetin komplikasyonları çalışılabilir.

Çok çeşitli deneysel diyabet modelleri vardır. Hayvan diyabet modelleri genel olarak insan diyabetine benzerlik gösterir ama hiçbir model insan hastalığı ile tıpatıp aynı değildir. Her modelin avantaj ve dezavantajları vardır. Alloksan ve streptozotocin verilerek oluşturulan diyabet daha çok IDDM' e benzerlik gösterir (71).

Diyabet modelleri çeşitli şekillerde oluşturulabilir:

- 1) Cerrahi Diyabet
- 2) Kimyasal Diyabet
- 3) Spontan Diyabet
- 4) Viral Diyabet
- 5) Transgenic Diyabetik Model

V. 1. Cerrahi Diyabet:

Bu metodda hayvanlarda total veya subtotal pankreatektomi yapılır; IDDM ve NIDDM' dekine benzer hiperglisemi vardır. Diyabet ve komplikasyonlarının araştırılmasında nadiren kullanılır. Pankreatektomide diyabetin kesin uzun dönem komplikasyonları gösterilebilir. Örneğin koroner arterde relaksasyon yapan prostoglandin I₂' ye sensivite azlığı ve koroner prostoglandin I₂ üretim azlığı pankreatektomili köpeklerde gösterilmiştir.

Uygulama zorluğu nedeniyle rutin deneysel diyabet modeli olarak kullanılmaz (71).

V. 2. Kimyasal Diyabet:

Deneysel çalışmalarda çeşitli ilaçlar ve kimyasallar diyabet benzeri tabloya neden olur. Bunlardan streptozotocin ve alloksan en spesifik ve kullanışlı olanlardır, diğerleri sadece bir haftalık ve reversibl diyabetogenic etki oluşturur ve etkileri pankreas β hücrelerine spesifik değildir (71). Alloksan ve streptozotocin β hücre yıkımı ile insanlardaki IDDM' e benzer diyabet meydana gelir (111).

V. 2. a. Streptozotocin:

Streptomyces achromogenes' den izole edilmiştir, gram (+) ve (-) organizmalara etkili bir ajandır ve antitümör etkisi de vardır. Pankreas β hücrelerine hızla bağlanarak diyabetojenik aktivitesini gösterir. Streptozotocin yapısal olarak yüksek reaktif yan zinciri olan bir glukoz olduğundan insülin üreten hücreler tarafından selektif olarak alınırlar. Toksisitesi taşınabilir şekerlerin yerine geçmesinden kaynaklanır. Glukoz analogları, streptozotocinin diyabetojenik etkisine karşı koruyucu etkiye sahiptirler. Streptozotocin enjeksiyonundan sonra pankreas β hücresinde ADP-riboz sentetaz aktivasyonu ile hızla NAD harcanır. Böylece streptozotocin DNA' da kırık oluşturan karbonyum iyonlarının artışına sebep olur ve bunlar aracılığı ile DNA hasarına yol açar (51). Streptozotocin hasarı enjeksiyondan sonraki 30 dakika ile 2 saat arasında görülür. NAD harcanmasıyla oluşan açık, oksidatif metabolizmayı etkiler ve β hücre ölümü

meydana gelir (19). Son zamanlardaki bulgularla IL-1 ve TNF gibi sitokinlerin salınması da streptozotocinin diyabetojenik aktivitesinde önemli rol oynar (52). Yine yakın geçmişte streptozotocine bağlı nitrik oksit üretimi (106) ve hidroksil radikal oluşumu da gösterilmiştir (68).

Diyabet oluşumunda da oksidatif stres ve antioksidan enzim düzeylerinde değişiklikler görülür. Oluşan oksidatif stresin diyabete mi, yoksa streptozotocine mi bağlı olduğunun karışabileceği akla gelebilir. Ancak streptozotocinin yarılanma ömrü 6 saat olduğundan bu dönemden sonraki oksidatif stres streptozotocine bağlı değildir (43).

Major histopatolojik değişiklikler olarak; pankreas β hücresinde granüllerin total kaybı veya azlığı, büzülmüş β hücresi, nükleer piknozis, nükleer karyolizis, sitoplazma parçalanması, hücre membranının sınırlarının kaybı ve hücrenin yığıntı kitlesi haline dönüştüğü görülür. Sadece β hücrelerine toksik olduğundan alfa hücreleri normaldir. Streptozotocin alloksana göre daha efektif ve β hücrelerine daha spesifiktir (71).

Streptozotocinden sonra kan keton cisimleri, kan plazma serbest yağ asitleri ve glikolitik ara ürünler, glikojen, sitrat düzeyleri normaldir, hiperglisemi görülür. Çok yüksek doz streptozotocinden sonra ketonüri, insülinopeni meydana gelir. Hemogloblin A_{1c} düzeyi artmıştır. Kalıcı diyabet meydana gelir.

Diyabetojenik dozları sıklıkla letal dozlarından 4- 5 kat daha azdır. Tek intraperitoneal veya intravenöz doz tercih edilir ve insülin tedavisi yapılmadan bir iki yıl yaşarlar. İlk 24 saatte hipoglisemi sonucu konvülsiyon, koma ve ölüm görülebilir. Sıçan, kobay, fare, maymun ve köpeklerde başarılı bir şekilde diyabet oluşturulur. Tavşanlar streptozotocinin diyabetojenik etkisine rezistandır (71).

Streptozocinle Oluşturulan Diyabet Modelleri:

- 1) **Tek Doz:** Tek doz intravenöz veya intraperitoneal streptozotocinle diyabet oluşturulur. IDDM' e benzer tablo meydana gelir (111).
- 2) **Çok sayıda düşük doz:** Subdiyabetogenik dozlarda arka arkaya 5 gün enjeksiyonla diyabet oluşturulur. Otoimmün diyabet meydana gelir(76).
- 3) **Neonatal enjeksiyon:** 2 günlük sıçanlara intraperitoneal streptozotocin enjeksiyonu ile NIDDM' e benzer hiperglisemik bir tablo meydana gelir. Önce hızla geçici hiperglisemi oluşur, 2- 4 gün sürer, sonra 6 haftalık olana kadar plazma glukozu 200- 350 mg/dl arasındadır. Şiddetli diyabet değildir, insülin tedavisi gerektirmez. Yüksek glukoz konsantrasyonlarında insülin sekresyon yanıtı son derece azdır ve glukagon ve somatostatin sekresyonlarında da değişiklikler görülmüştür. Pankreas β hücrelerindeki fonksiyonel tükenme ve endojen insüline sensitivite azlığı gösterilmiştir (80).

V. 2. b. Alloksan:

Selektif olarak β hücrelerini harap ederek diyabet oluşturur. Alloksan ürik asit ve glukozla benzer yapıda bir pirimidindir. Streptozotocinden daha eski bir ilaçtır, daha az onkogeniktir, ancak streptozotocinden daha az kullanılır, çünkü hiperglisemisi daha şiddetlidir ve diyabet oluşumu daha zordur. Alloksan diyabeti sıçanlarda, tavşan, fare, köpek, balık, kuşlarda, deniz kaplumbağalarında, kedi, koyun, maymun ve güvercinlerde oluşturulabilir, ancak kobayda diyabet oluşturamaz. Çünkü kobaylarda çinko eksikliği bulunur ve alloksanın diyabetogenik etkisi çinko metabolizması ile ilişkilidir (63).

Alloksanın pankreas β hücrelerine toksisitesinin mekanizması tam olarak bilinmemektedir, ancak hücrel permeabiliteyi arttırması ile ilişkilidir ve plazma membranında morfolojik değişiklikler görülmüştür (113). Serbest radikalleri temizleyen kimyasallar alloksan diyabetine karşı koruyucudur ve endojen serbest radikal temizleyicisi olan süperoksid dismutaz enziminin ilaç verilmeden önce aynı şekilde koruyucu olduğu görülmüştür (120). Son zamanlardaki çalışmalar pankreas β hücrelerinde mitokondrial disfonksiyonla alloksanın diyabetogenik etkisini gösterdiğini ortaya koymuştur. Alloksana yanıt olan mitokondriyal disfonksiyon sonucunda kalsiyumun mitokondriyal tutulumu azalmıştır ve β hücrelerinde serbest kalsiyum düzeyleri artmıştır. Hücre sitoplazmasındaki aşırı kalsiyum konsantrasyonu son derece tehlikelidir ve hücre ölümüne dek gider (7, 66). Alloksanın DNA' ya da etkisi vardır. Reaktif oksijen türlerini arttırarak doğrudan DNA kırıklarına neden olur (51).

Alloksan yapısal olarak glukozu benzediği için streptozotocin gibi toksisitesi, taşınabilir şekerlerin yerine geçmesinden kaynaklanır. Glukoz ile yarışarak glukokinazı inhibe eder. Glukokinaz glukozun stümüle ettiği insülin sekresyonunda önemli role sahiptir (47). Glukoz ve mannoz alloksanın oluşturduğu hasardan koruyucudur. Nikotinik asit, alloksanın diyabetogenik etkisini baskılar; ancak streptozotocin diyabetine etkisi yoktur. Alloksan da streptozotocin gibi pankreas hücresinde ADP-riboz sentetaz aktivasyonu ile NAD harcanmasına neden olur. Alloksan hasarı enjeksiyondan sonraki 2-5 dakika içinde başlar, 1 saat içinde irreversibl yapısal değişiklikler görülür. Histopatolojik değişiklikler streptozotocinde görülenin aynısıdır. Alloksan, streptozotocin kadar spesifik olmadığından diyabetogenik dozdan daha yüksek miktarda verilirse böbrek ve adrenal medulla gibi diğer organlarda reversibl lezyonlar meydana gelir. Özellikle nefrotoksisitesi çok yüksek olduğu için alloksan enjeksiyonundan önce renal arteri klampe ederek

alloksanın böbreğe direkt etkisi önlenebilmektedir. Nefrotoksisitesi özellikle proksimal tüpler üzerinedir, N-asetil- β -D-Glukozaminidazın idrarla atılması proksimal tübül hasarının göstergesidir (111). Alloksan enjeksiyonundan sonraki kan keton cisimleri, plazma serbest yağ asitleri, glikolitik ara ürünler, glukojen, sitrat artmıştır, hiperglisemi, insülinopeni görülür. Glukoneogenezisin artması, glikojenolizin artması, protein katabolizmasının artması, hepatik glukojenin subnormal değerleri, hiperlipidemi ve artmış insülin reseptörleri karakteristiktir. Hemogloblin A_{1c} artmıştır (47).

Alloksanla Oluşturulan Diyabet Modelleri:

1) **Tek doz:** Tek doz streptozotocinin aynıdır (54).

2) **Neonatal enjeksiyon:**

Alloksanla oluşan hiperglisemi streptozotocinle oluşandan daha şiddetlidir. Bu nedenle neonatal 2. günde alloksan vererek daha az şiddetli bir diyabet meydana gelir. Neonatal β hücreleri doğumdan sonra glukozaya yanıt olan insülini sekrete edemezler, ancak bu yaş ile artar. Bu da β hücrelerindeki glukokinaz aktivitesinin neonatal dönemde düşük olmasından kaynaklanır ve yaşla aktivitesi artar. Sonuçta alloksana sensitivite artar. Hiperglisemi sıçanlar büyüdükçe gelişir. Alloksan ile yıkılan β hücrelerinden bir kısmı rejenere olur, ancak bu inkomplettir ve β hücre kitlesi kontrol grubuna göre küçülmüştür. Böylece oluşan diyabet NIDDM' e benzer (46).

3) Spontan Diyabet:

Genetik olarak yatkın çeşitli hayvanlarda spontan diyabet oluşanlar vardır. Diğer modellere göre insandaki diyabete daha çok benzerlik

gösterirler ancak bu deney hayvanlarının temini her zaman çok kolay değildir (27, 71).

a) **Çin Hamsteri:** Diyabet herediterdir ve hiperfaji, polidipsi, glikozüri, hiperglisemi ve azalmış yaşam süresi ile karakterizedir. Hepatik glikoneogenesis ve glikojenolizin düzenlenmesi bozulmuştur. Plazma insülin düzeyleri çeşitlilik gösterir. Normal veya artmış insülin düzeyi bulunur. Pankreatik glukojen düzeyi artmıştır. Pankreatik somatostatin azalmıştır (71).

b) **BB (Bio Breeding) Wistar Sıçan:** Otozomal resesif genle kalıtılır. Kanada, Ottawa' da BioBreeding laboratuvarlarında üretilirler, bu nedenle oluşan soya Ottawa adı verilmiştir. Elde edilen hayvanların hepsi inbreddir (27, 71). IDDM' in pek çok karakteristiklerini gösterir. Otoimmün diyabettir (107). Dolaşımda adacık hücre antikoru bulunmaktadır, pankreasta insülitis gelişir. Mide kası, tiroglobin, iskelet kası, gastrik paryetal hücreler, tiroid folliküler hücreler ve nükleer proteinlere karşı otoantikorlar bulunur (48). Lenfopeni, yardımcı T hücre defektleri, β hücre lenfomaları, enfeksiyonlara meyil gibi yaygın immünolojik defektler bulunmaktadır. Doğumda normoglisemiktirler ancak 3 ay sonra %70 hiperglisemi, hipoinsülinemi ve pankreas β hücre hasarı görülür, ketoza meyil vardır. Tüm sıçanlar Ottawa denen aynı soydan gelir fakat iki farklı grup tanımlanmıştır: 1. Diyabet prone (DP) BB sıçan: diyabete meyilli grup, 2. Diyabet rezistan (DR) BB sıçan: Diyabet dirençli grup.

Diyabet Prone BB sıçan: Bu şişman olmayan hayvanlarda birden bire ketoasidozu takiben hiperglisemi meydana gelir. Ekzojen insülin verilmezse iki hafta içinde ölürlür. %40- 70 oranında 60- 120 (ortalama 96 gün) günlükken diyabet gelişir. Plazma glukoz düzeyleri ≥ 250 mg/dl ve

dolaşımdaki keton cisimcikleri ve serbest yağ asitleri yükselmiştir. Histolojik olarak pankreas hücrelerinin mononükleer infiltrasyonu ile oluşan pankreas β hücre hasarı görülür. %50' nin üstünde 120 günlükken tiroidit meydana gelir. BB sıçanlarda IDDM' de insanlardan farklı olarak lenfopeni, enfeksiyonlara meyil, lenfopenik maligniteye eğilim görülür (25).

Diyabet Rezistan BB Sıçan: Kolonide DR ratlarda %1' in altında diyabet gelişir. Sıklıkla 60 günlükten küçükken diyabet meydana gelir. (DR) BB sıçanlar lenfopenik değildir (27).

c) **OB (DB: C57BL / KSJDB) fare:** Bu farelerde obezite, infertilite ve hiperglisemi ile karakterize olan sendrom NIDDM' e benzer. Obezite hiperfajiden önce gelir. Sıklıkla ilerleyici ketozis ve kilo kaybı ile 10 ayda ölüm meydana gelir. β hücrelerindeki pankreatik insülin yaşamın birinci ayı civarında azalır. DB farelerde nondiyabetiklere göre diyabetiklerde glukagon 2-4 kat fazladır, pankreatik somatostatin ise %50 daha azdır. Bu model obezite ve komplikasyonların çalışıldığı araştırmalarda yaygın olarak kullanılır. DB farelerde de pankreas β hücrelerine karşı hücrel ve humoral immün değişiklikler görülmüştür (71).

d) **Non Obes Diyabetik Fare (NOD):** BB sıçanlara alternatif bir modeldir. NOD' da otoimmün mekanizma ve genetik yatkınlıkla diyabet gelişir (7). Diğer hiç bir diyabetik modelde diyabet oluşumunda cinsiyet farklılığı bulunmazken NOD farelerde dişilerde %80' in üstünde olasılıkla diyabet oluşurken erkeklerde % 10- 20 olasılıkla diyabet oluşmaktadır. Ancak bu farklılığın nedeni bilinmemektedir. 80- 200 günlükken diyabet oluşmaktadır. Otoimmün bozukluklar dışındaki diyabetin tüm klinik bulguları BB sıçanlardaki veya insandaki gibidir. Diyabet oluşumu için 3 adet otozomal

resessif gene ihtiyaç vardır. Oluşan diyabet otoimmün diyabettir. İmmünsupresyon diyabet oluşumunu önlemektedir (27).

e) Diğer spontan diyabetik hayvanlar:

Makak maymunu: İnsan dışı canlılar arasında en iyi diyabet çalışılabilen modeldir. Pankreaslarında yoğun amiloid infiltrasyonu görülür. Hafif hiperglisemiktirler. Oluşan diyabette polidipsi, poliüri, letarji, kilo kaybı karakteristiktir. Plazma insülin ve glukagonu normaldir, ketotik değillerdir (71).

Güney Afrika hamsteri: %10' unda glukozüri görülür. Ketozis gelişir, tedavi edilmezse iki ay içinde ölürlür. Obes değillerdir (71).

Sarı fare: Hafif glukoz intoleransı ve yüksek plazma insülini ile ilişkili obesite karakteristiktir, ketotik değillerdir (71).

Japon KK faresi: Hafif obes, hiperglisemik ve hiperinslinemiktir. Hepsi 4-9 aylıkken hiperglisemiktir. Birinci yıldan sonra kan glukoz ve insülin düzeyleri normal olur, remisyon olur (71).

Welesley hibrid fare: Orta dereceli obes, hiperglisemik ve hiperinslinemiktir. Diyet düzenlenmesi ile reversibl bir sendrom gelişir (71).

Spiny fare: Orta doğu kıraç bölgelerinde yaşar. %40' ında spontan glikozüri gelişir. Bu hayvanların çoğu obesdir. Plazma insülin düzeyleri ile pozitif korelasyon gösterir, hatta obesite hiperinsülinemiye seconder gelişiyor olabilir (71).

Kum sıçanları: Orta doğu çöllerinde yaşar. Hipometabolik ve glisemiktir. Eğer besinlerinde değişiklik ile kalori alımları sınırlanmadan serbest bırakılırsa diyabet gelişir. Hiperfajik, hiperinsülinemik, hafif hiperglisemik ve kilosu artmıştır. Nekrotik β hücrelerinin bulunduğu küçük pankreasları vardır (71).

Zucker sıçanlar: Obes, hiperinsülinemik, fakat bazal hiperglisemiye sahip değildir (71).

Diğer obes diyabetik modeller: N2O fare, PBB/Ld fare, Djungorion hamsteri (71).

4) Viral Diyabet:

Viral enfeksiyonlar hem insanlarda hem hayvanlarda diyabet nedeni olabilmektedir. Deneysel diyabet oluşturan viruslar şunlardır: Encephalomyokardit virusunun M varyantı, coxachi virus, el- ayak hastalığı virusu, rubella, reovirus, Venezuela equine ensefalit virusu (16). Otoimmün patogeneze mevcuttur, immünsupresiflerle sendrom tedavi edilir. Hayvan modellerinde diyabet oluşması için bazı faktörler gerekir. Genetik etki viral inokülasyon için kritik nedendir. Eğer enfeksiyona genetik yatkınlık varsa Langerhans adacıklarında lezyon ile diyabet gelişir. β hücre çeperindeki viral reseptörler enfeksiyona hassasiyete neden olmaktadır (16, 71).

5) Transgenik Diyabet Modeli:

Transgen bir hayvanın genomuna sokulan yabancı bir gendir. Transgenic hayvan teknolojisi bir protein ürününün daha sonraki yavrularda üretilmesi için, fertilize bir yumurtaya protein kodlayan genin yerleştirilmesini sağlayan bir teknolojidir (97). Transgenic diyabetik modelde sıçan veya insan insülin promotor elementlerinden oluşan transgenler ki bunlar pankreas β hücrelerini hedef alan heterolog proteinlerdir, eksprese edilerek hiperglisemik hale getirilir. Yüksek affinite ile insülini bağlar (95). Immün sistem dışı bir mekanizma ile β hücre fonksiyonunu bozarak, insülin sekrete eden ve insüline hassas dokulardaki dengeyi bozarak hiperglisemi oluşur.

Solübl ve yüksek affiniteli insülin bağlayıcı protein ekspresyonu yapılan transgenic farede glukoz homeostazisindeki değişiklikler tip II diyabetin erken dönemine benzer. Hepatik glukoz üretiminin artmasına bağlı postabsorbtif hiperglisemi meydana gelir. Hiperinsülinemi bulunur. Hem glukoz üreten hem glukoz kullanan dokularda insülin rezistansı gelişir. Glukoz homeostazisindeki değişiklikler serbest insülin konsantrasyonunu düzenleyen IR 921 solübl proteininin tamponlama kapasitesinin üstüne çıkması ile açıklanabilir. Tip II diyabetin etyolojisi ve kontrolünün araştırılması için kullanılabilecek bir modeldir (56, 95).

VI. KARNİTİN: (=vitamin BT)

Karnitin memeli metabolizması için önemli suda eriyebilen küçük bir moleküldür (108). Fazla organik asitlerin detoksifikasyonu ve enerji üretimini sağlayan β oksidasyon için, uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondri membranından transportunda gerekli esansiyel bir taşıyıcıdır (97).

İnsan vücudunda diyetssel alım ve biyosentezle oluşan karnitin olarak iki şekilde bulunur. Hayvan dokularında total karnitin bitkilere göre daha yüksek miktarlarda bulunur. Karnitinden zengin besinler sığır eti, sığır kalbi, domuz etidir ve bunlarda sırasıyla 771, 548, 166 $\mu\text{mol}/100\text{g}$ karnitin bulunur. Sadece 0.40 $\mu\text{mol}/100\text{g}$ ' ı vücuda geçer, pişirme ile %35' i kayba uğrar (42).

Esansiyel bir besin değildir, vücutta sentez edilebilir (42). Lizin ve metiyonin aminoasitlerinden karaciğer, böbrek ve beyinde sentezlenir(87). Biyosentezde görevli bir enzim olan γ -butirobetain hidroksilaz sadece karaciğer, böbrek ve beyinde bulunur. Doğumda erişkinlere göre toplam karnitin düzeyi düşüktür. Prematüre doğumlarda bu düşüklük daha fazladır

(70). Bunun nedeni de biyosentezinde görevli γ -butirobetain hidroksilaz aktivitesinin erişkindekinin % 12' si civarında olmasıdır (85).

Karnitinin çeşitli kimyasal tipleri bulunmaktadır, ancak bunlardan sadece L- carnitine biyolojik olarak aktiftir. Karnitinin ince barsak mukozasından absorpsiyonu iki mekanizma ile olur. 1000 μ molün altındaki konsantrasyonlarda aktif transport ve 1000 μ molün üstündeki konsantrasyonlarda pasif diffüzyon. Karnitinin aktif transportu enerji ve sodyumu gerektirir, D-karnitin ve L-asetilkarnitinle inhibe olur. Pasif diffüzyon sadece ince barsakta değildir, aynı zamanda kolondan da olur. Karnitin barsak mukozasından absorbe olduktan sonra portal dolaşımla karaciğere taşınır ve sonra oradan sistemik dolaşıma salınır. İskelet kasında depolanır, plazmaya göre 70- 80 kat yüksek konsantrasyona sahiptir. İntravenöz yolla L-karnitin verilen 6 yetişkin insanda kinetik kompartmantal analiz tekniğiyle vücutta dağılım oranına bakılmış; %95 iskelet kası ve kalp kasında, %1 ekstrasellüler sıvılarda, %4 diğer dokularda bulunur. Öncelikle karaciğer ve böbrek olmak üzere tüm vücutta karnitin turnover zamanı 66 gündür. İskelet kasında 8 gün, karaciğer, böbrekte ve ekstrasellüler sıvılarda 11.6 saattir. Vücuttan atılımı idrarla olur. Normal plazma karnitin konsantrasyonuna sahip kişilerde %90' ın üstünde filtre edilen karnitin böbrek proksimal tüplerinden reabsorbe edilir ve böbrekte sentezlenen karnitinle birlikte dolaşıma verilir. Bununla birlikte plazma karnitin konsantrasyonu arttığında renal reabsorpsiyon azalır (10, 108).

Uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondri matriksine transportunda ve intramitokondial açıl KoA / KoA oranının düzenlenmesinde çok önemli bir role sahiptir. KoA' lara karşı geçirgen olmayan mitokondri membranından uzun zincirli yağ asitlerinin transportunu aktive eder ve sonrasında β oksidasyon ile hücresel enerji sağlanır (108).

Hücrel KoA' ların çoğu mitokondri içinde bulunur ve pekçok metabolik yolda kullanılırlar, bununla birlikte spesifik açıl-KoA' ların mitokondri içindeki birikimi başta sitrat döngüsündeki enzimler olmak üzere pek çok enzimi inhibe edebilir, bu nedenle açıl-KoA / KoA oranı çok önemlidir. Karnitin, mitokondri içindeki açıl KoA / KoA oranını artırır ve fazla asetil gruplarını tamponlayarak trikarboksilik asit (TCA) döngüsünde CoA' ların yeniden kullanılmasını sağlar. (108).

Mitojenik stümlasyondan sonra hem insan hem de kemirgenlerde lenfositlerin proliferatif yanıtını artırır, polimorfonükleer lenfositlerin kemotaksisini artırır, lipidlerin neden olduğu immünsupresyonu nötralize eder ve agregasyon proteinleri veya fibrinojen ile oluşan eritrosit agregasyonunu inhibe eder (108).

Karnitinin etki mekanizması ile ilgili iki hipotez vardır:

Metabolik hipotez; mitokondriyal enerji üretiminde mitokondri membranında uzun zincirli yağ asitlerinin β oksidasyon için membrandan karşı tarafa transferinde en çok karaciğer ve kasta bulunan esansiyel taşıyıcıdır, bunun yanında fazla organik asitlerin detoksifikasyonunu sağlar (97).

Serbest Radikal hipotezi; L ve D propiyonil karnitin fenton sisteminde hidroksil radikal üretimini durdurur (89). Myokardiyum, eritrositler ve endoteli peroksidatif hasarlanmadan korur ve aynı zamanda hasarlanmış hücre membranını stabilize eder. Diyabet ile bozulmuş eritrosit membran fosfolipid yağ asit turnoverini düzeltebilmektedir (3), invitro çalışmalarda MDA oluşumunu azaltır (60, 70).

Diyabette deney hayvanlarında diyabetin hem erken dönemlerinde hem de ileri dönemlerinde pankreasta karnitin düzeyinin düştüğü idrarla karnitin çıkarılmasının arttığı görülmüştür (61). İnsanlarda da özellikle tip I

diyabette karnitinin idrarla çıkarılması artmıştır (42). Ancak idrar karnitin düzeyinde değişikliğin görülmediği ve kan karnitinin düzeyinin azaldığı sonucunu bulan araştırmalar da bulunmaktadır (82).

Yapılan çalışmalarda diyabette çeşitli dokuların karnitin konsantrasyonunda değişiklikler olduğu gözlenmiştir. Özellikle pankreasta, nöronlarda, karaciğer ve beyinde karnitin konsantrasyonun azaldığı gözlenmiştir (42, 122).

Diyabette L-karnitinin plazma ve dokulardaki konsantrasyonlarının düşüklüğünün nedeni tam olarak açıklanamamıştır.

Diyabet oluşumuna karnitinin etkisi ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır ancak komplikasyonlarında karnitin kullanımı ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Yıldız ve ark. karnitin diyabetik nöropatili sıçanlarda streptozotocin diyabeti oluşturulduktan 3 hafta sonra 1 ay süresince verilmiş; sinir ileti hızını ve artmış olan nöral MDA düzeyini düşürdüğünü görmüşlerdir (122).

GEREÇ VE YÖNTEM

I. DENEY HAYVANLARI

Ağırlıkları 210 ± 9.86 gram (ortalama $\pm$ standart sapma) olan *Rattus norvegicus* L. (Wistar Albino) suşu erkek sıçanlar kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan deney hayvanları F₈ jenerasyonunda inbred, % 87.7 oranında homojenitedir. Bu yüksek homojeniteden dolayı her grupta 3 adet deney hayvanı yeterli olmasına rağmen, muhtemel teknik hatalar göz önüne alınarak sayı artırılmıştır. Sıçanlar 12 saat aydınlık (07.00 - 19.00), 12 saat karanlık (19.00 - 07.00) ortamda, 20 ± 2 °C' de barındırılmıştır. Deney hayvanlarının standart pellet yemlerinde ve içme sularında kısıtlama yapılmamıştır.

II. DENEY

Deney hayvanları beş gruba ayrılmıştır:

- 1) Diyabetik grup,
- 2) 500 mg / kg karnitin alan diyabetik grup (38, 49, 90)
- 3) 2 g / kg karnitin alan diyabetik grup (49, 90, 91)
- 4) 2 g / kg karnitin alan grup,
- 5) Serum fizyolojik alan grup.

İlk üç grupta 7' şer, sonraki iki grupta 5' er hayvan bulunmaktadır. Deneye alınan tüm hayvanlarda deneye başlamadan önce kan şekeri bakılmıştır. Kan şekeri normal sınırlarda bulunan hayvanlar deneye dahil edilmiş, kan şekeri normal olmayanlar deneyin dışında bırakılmıştır.

Üçüncü ve dördüncü gruba 2 g / kg karnitin, ikinci gruba aynı hacimde 500 mg / kg karnitin, birinci ve beşinci gruba yine aynı hacimde serum fizyolojik intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. Enjeksiyonlara 30 gün boyunca devam edilmiştir (100). 31. gün birinci, ikinci ve üçüncü gruplara diyabet oluşturmak amacı ile tek doz 0. 1 M / L sitrat tamponunda (pH 4.5) çözölmüş 65 mg/kg streptozotocin (43, 77, 111), dördüncü ve beşinci gruplara eşit hacimde serum fizyolojik intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. Bu sırada karnitin enjeksiyonlarına 18 gün daha devam edilmiştir. Streptozotocin enjeksiyonundan 48 saat sonra ve sonrasında haftada bir gün kan şekeri bakılmıştır. Streptozotocin enjeksiyonundan 48 saat sonra kan şekeri yüksekliği görölmüştür. Onbeşinci günün sonunda sıçanlar servikal dislokasyon yapılarak ex edilmiş; pankreasları en çok 30 saniye içinde çıkarılmıştır. Kan şekeri bakılmak üzere kan örnekleri alınmış ve hemen kan şekerlerine bakılmıştır. Homojenizasyon sıvısı olan soğuk distile su ile pankreaslar hemen yıkanmıştır. Pankreaslar SOD, GPx ve MDA bakımı için homojenize edilmiştir. Deney süresince 2 g/kg karnitin alan diyabetik grup pnömoni nedeniyle ex olmuşlardır.

III. HOMOJENİZASYON

Homojenatlar Carrillo ve arkadaşlarının yöntemine göre hazırlanmıştır (14). Pankreas örnekleri homojenizatör (Potter S - B. Braun) ile 1300 devir / dakika'da, 2 ml soğuk distile su içinde homojenize edilmiştir. Homojenat ultrasonik homojenizatörde (Vibra Cell - Sonics Material) 1 dak. süreyle sonike edilmiştir. Homojenizasyon işlemleri buzla soğutulmuş ortamda yapılmıştır. Malondialdehit ölçümü için ependorf tüpüne tam homojenat alınmış, geri kalan homojenat + 4 °C'de 10000 g' de 2 dak süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonucu elde edilen süpernatant, enzim ve protein

ölçümleri için ayrılmıştır. Örnekler - 70 °C' de saklanmış; ölçümler 15 gün içinde yapılmıştır.

IV. SOD AKTİVİTESİNİN ÖLÇÜMÜ

SOD aktivitesi Randox'un RANSOD (Kat. No. SD 125) kiti ile ölçülmüştür. SOD' un rolü, oksidatif enerji süreçleri sırasında oluşan toksik süperoksit radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dismutasyonunu sağlamaktır. Kitin çalışma yöntemi, süperoksit radikalleri oluşturmak üzere ksantin ve ksantin oksidazı kullanır. Oluşan süperoksit radikalleri 2-(4-iodophenil)-3-(4-nitrophenol) -5-phenyltetrazolium chloride (I.N.T.) ile tepkimeye girerek, kırmızı renk oluşturur. Yöntemin temeli, bu tepkimenin SOD tarafından inhibisyon derecesine dayanır.



4.1. Spektrofotometrik yöntem

Ölçümler 505 nm dalga boyunda, 37 °C'de, Shimadzu UV-1201V spektrofotometrede yapılmıştır. 0.05 ml süpernatana 1.7 ml miyar eklenip iyice karıştırılmış; daha sonra bu karışıma 0.25 ml ksantin oksidaz eklenmiş ve aynı anda süre başlatılmıştır. 30 saniye sonra başlangıç absorbansı (A_1)

ve bundan 3 dakika sonra son absorbans (A_2) okunmuştur. Aynı işlemler standart ve kör için de yapılmıştır.

4.2. Sonuçların hesaplanması:

Kör, standart ve örnekler için ΔA hesaplanmıştır.

$$\Delta A = \frac{A_2 - A_1}{3}$$

Değişik konsantrasyonlarda hazırlanan standartların ve örneklerin % inhibisyon değerleri aşağıdaki formüllerle hesaplanmıştır.

$$\% \text{ inhibisyon} = 100 - \frac{(\Delta A \text{ std. / dak.} \times 100)}{(\Delta A \text{ kör / dak.})}$$

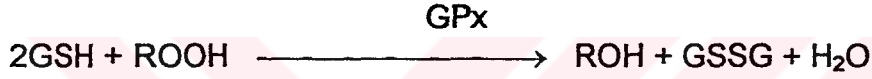
$$\% \text{ inhibisyon} = 100 - \frac{(\Delta A \text{ örn. / dak.} \times 100)}{(\Delta A \text{ kör / dak.})}$$

Standartlardan yapılan ölçümler sonucunda, yatay eksene Ünite / ml ($\bar{U}$ /ml) SOD, düşey eksene % inhibisyon değerleri gelecek şekilde standart eğri hazırlanmıştır. Örneklerden yapılan ölçümlerle SOD değeri, standart eğriden $\bar{U}$ / ml süpernatant olarak çıkarılmıştır. Ölçülen protein miktarına göre, enzim aktivitesi aşağıdaki formülle hesaplanarak $\bar{U}$ /mg protein olarak gösterilmiştir.

$$\text{SOD } \bar{U} / \text{mg protein} = \frac{\text{SOD } \bar{U} / \text{ml süpernatant}}{\text{mg protein / ml süpernatant}}$$

V. GPx AKTİVİTESİNİN ÖLÇÜMÜ

GPx aktivitesi Randox'un RANSEL (Kat. No. RS 504) kiti ile saptanmıştır. Bu kit Paglia ve Valentine'ın tanımladığı yöntemle göre hazırlanmıştır (72). GPx, kümen hidroperoksit ile glutatyonun (GSH) oksidasyonunu katalizler. Glutatyon redüktaz (GR) ve NADPH varlığında, okside glutatyon (GSSG) süratla indirgenmiş formuna (GSH) çevrilir, bu sırada NADPH, NADP⁺'e okside olur. Spektrofotometrede 340 nm'de, 37 °C'de absorbansdaki azalma ölçülür.



5.1. Spektrofotometrik yöntem

0.02 ml süpernatana 1.00 ml miyar eklenip karıştırılmış; daha sonra karışıma 0.04 ml kümen hidroperoksit eklenmiştir. 1 dakika sonra örneğin başlangıç absorbansları Shimadzu UV-1201V spektrofotometrede okunmuş; aynı anda süre başlatılmıştır. Bundan 1 dakika (A₁) ve 2 dakika (A₂) sonra absorbanslar okundu. Aynı işlemler kör için de yapılmıştır.

5. 2. Sonuçların hesaplanması

Örnek ve kör için Δ değerleri aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\Delta(\text{örnek veya kör için}) = \frac{A_1 - A_2}{2}$$

Süpermatanın GPx konsantrasyonu aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\bar{U} / L \text{ süpermatan} = 8412 \times \Delta A 340 \text{ nm/dak}$$

$$\Delta A = \Delta \text{ örnek} - \Delta \text{ kör}$$

Ölçülen protein miktarına göre, enzim aktivitesi aşağıdaki formülle hesaplanarak $\bar{U}/\text{mg}$ protein olarak gösterildi.

$$\text{GPx } \bar{U}/\text{mg protein} = \frac{\text{GPx } \bar{U} / \text{ml süpermatan}}{\text{mg protein} / \text{ml süpermatan}}$$

VI. MDA ÖLÇÜMÜ

MDA değerleri Rehncrona ve ark. yöntemine göre ölçülmüştür (86). 0.5 ml homojenat, 0.5 ml % 20'lik triklor asetik asitle karıştırılarak 10 dakika (3000 devir / dak.) santrüfuj edilmiştir. Santrüfujden sonra 0.9 ml süpermatan alınarak üzerine 1 ml % 0.67'lik tiyobarbitürik asit eklenmiştir. Örnekler kaynar su banyosunda 10 dakika bekletilmiş; soğuduktan sonra 532 nm'de absorbanslar ölçülmüştür.

MDA standardından (1, 1, 3, 3 tetraethoksipropan) yapılan ölçümlerle, yatay eksen standart konsantrasyonunu, dikey eksen absorbans değerlerini gösterecek şekilde standart eğri grafiği hazırlanmıştır. Örneklerin MDA miktarları grafikten bulunup sonuçlar nmol/ml olarak hesaplanmıştır. Bu değer homojenatta bulunan doku miktarına bölünerek nmol/mg protein olarak gösterilmiştir.

VII. PROTEİN ÖLÇÜMÜ

Süpernatanın protein miktarı Markwell'in modifiye Lowry yöntemi ile saptanmıştır (53). Yöntem alkali ortamdaki iki değerlikli bakırın protein ile etkileşmesiyle oluşan, Cu^{+2} aromatik amino asitlerin (tirozin, triptofan) fosfomolibdik ve fosfotungustik asitleri (Folin-Ciocalteu reaktifi) hetero polimolibdenyuma indirgeyip mavi renkli bir kompleks oluşturmaları temeline dayanır.

7. 1. Ayıraçlar:

7. 1. 1. **Reaktif A:** % 2 Na_2CO_3 , % 0.4 NaOH, % 0.16 sodyum tartarat, % 1 sodyum dodesil sülfat içermektedir. 5 g Na_2CO_3 , 1 g NaOH, 0.4 g sodyum tartarat, 2.5 g sodyum dodesil sülfat tartılarak bidistile su ile 250 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

7. 1. 2. **Reaktif B:** % 4 $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ içerir. 2 g CuSO_4 tartılarak bidistile su ile 50 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

7. 1. 3. **Folin Ayıracı:** 2 N Folin - Ciocalteu reaktifi 1/1 oranında bidistile su ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

7. 1. 4. **Reaktif C:** 100 hacim Reaktif A , 1 hacim reaktif B ile karıştırılarak taze olarak hazırlanmıştır.

7. 1. 5. **Protein Standart Çözeltileri:** Sığır serum albumini standart olarak kullanılmıştır. Bidistile su içinde 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 μg / ml konsantrasyonlarda standart çözeltiler hazırlanmıştır.

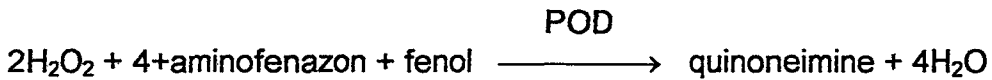
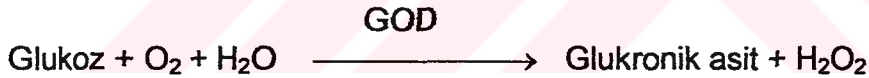
7. 2. Yöntem

0.01 ml süpernatın bidistile su ile 1 ml'ye tamamlanmıştır. Kör olarak kullanılacak tüpe 1 ml bidistile su koyulmuştur. Tüplerin üzerlerine 3 ml

reaaktif C eklenerek 25 °C'de 30 dakika bekletilmiş; bu süre sonunda tüplere 0.30 ml seyreltik folin ayıracı eklenerek 25 °C'de 45 dakika bekletilmiştir. Daha sonra oluşan rengin absorbansı 660 nm'de köre karşı spektrofotometrede okunmuştur. Protein miktarları, standart protein çözeltilerinin absorbansları ile konsantrasyonları arasında çizilen grafikten yararlanarak saptanmıştır.

VIII. KANDA GLİKOZ ÖLÇÜMÜ

Kan glikozu Randox'un GOD / PAP - LIQUID (Kat. No. GL 2623) kiti ile ölçülmüştür. Glikoz , glukoz oksidaz ile enzimatik olarak okside olur ve glukronik asitle hidrojen peroksit oluşur. Oluşan hidrojen peroksit 4-aminofenazon ve fenol ile reaksiyona girer ve sonuçta kırmızı - mor renkli bir madde olan quinoneimine oluşur. Yöntem oluşan bu rengin spektrofotometrik olarak okunması esasına dayanır.



8. 1. Spektrofotometrik yöntem

İki tüp alınıp içlerine 1000 µl reagent konulmuştur. Birine 10 µl standart, diğerine 10 µl heparinize plazma eklenmiştir. 15 - 25 °C' de 20 dakika beklenmiştir. Ölçümler 500 nm dalga boyunda, Shimadzu UV-1201V spektrofotometrede yapılmıştır. Örnek ve standart A değerleri okunmuştur.

8. 2. Sonuçların hesaplanması

Spektrofotometreden okunan A değerlerinden aşağıdaki formül kullanılarak milimol/litre (mmol/l) veya miligram/desilitre (mg/dl) olarak glukoz konsantrasyonu hesaplanır.

$$\text{Glukoz konsantrasyonu (mmol/l)} : \frac{A_{\text{örnek}}}{A_{\text{standart}}} \times 5.55$$

$$\text{Glukoz konsantrasyonu (mg/dl)} : \frac{A_{\text{örnek}}}{A_{\text{standart}}} \times 100$$

IX. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Grupların ortalamaları arasındaki fark, Mann Whitney-U testi kullanılarak değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Grup 3' deki (2 g/kg karnitin alan grup) tüm hayvanlar deney süresince pnömoni nedeniyle ex olduklarından grup 3 ile ilgili değerlendirme yapılamamıştır.

SOD, GPx ve MDA sonuçları; kontrol grubu tablo 1' de, 2 g/kg karnitin alan grup tablo 2' de, diyabetik grup tablo 3' de, 500 mg/kg karnitin alan diyabetik grup tablo 4' de gösterilmektedir.

SOD aktivitesi kontrol grubunda 0.979 ± 0.082 (ortalama $\pm$ standart hata), 2 g/kg karnitin alan grupta 0.932 ± 0.192 , diyabetik grupta 1.088 ± 0.103 , 500 mg/kg karnitin alan diyabetik grupta 1.155 ± 0.110 Ü / mg protein olarak bulunmuştur. SOD aktivitesinde tüm gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. (Grafik 1)

GPx aktivitesi kontrol grubunda 0.067 ± 0.011 (ortalama $\pm$ standart hata), 2 g/kg karnitin alan grupta 0.039 ± 0.015 , diyabetik grupta 0.098 ± 0.016 , 500 mg/kg karnitin alan diyabetik grupta 0.053 ± 0.011 Ü / mg protein olarak bulunmuştur. GPx aktivitesi diyabetik grupta, kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek olarak bulunmuştur ($p<0.05$). GPx aktivitesi diyabetik grupta, 500 mg/kg karnitin alan diyabetik gruba göre anlamlı yüksek ($p<0.05$), 2 g/kg karnitin alan grupta GPx aktivitesi, kontrole göre yüksek olarak bulunmuştur ($p<0.05$). (Grafik 2)

MDA düzeyi kontrol grubunda 0.028 ± 0.008 nmol/mg doku (ortalama $\pm$ standart hata), 2 g/kg karnitin alan grupta 0.029 ± 0.007 nmol/mg doku, diyabetik grupta 0.046 ± 0.017 nmol/mg doku, 500 mg/kg karnitin alan diyabetik grupta 0.039 ± 0.006 nmol/mg doku olarak bulunmuştur. MDA düzeyi diyabetik grupta kontrole göre anlamlı yüksek ($p<0.05$), 500 mg/kg

karnitin alan diyabetik grupta kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek olarak bulunmuştur ($p < 0.05$). (Grafik 3)

Kan glukoz değerleri streptozotocin enjeksiyonundan 48 saat sonra ve deney bitiminde diyabetik grup ve 500 mg/kg karnitin alan grup kontrole göre ve 2 g/kg karnitin alan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($p < 0.01$). Kontrol, 2 g/kg karnitin alan grup, diyabetik grup, 500 mg/kg karnitin alan diyabetik grupların sırasıyla tablo 5, 6, 7, 8' de gösterilmektedir. (Grafik 4, 5)

TABLO 1: Kontrol grubunun sonuçları.

DENEK NO	SOD (Ü/mg protein)	GPx (Ü/mg protein)	MDA (nmol/mg protein)
1	1.238	0.104	0.061
2	1.057	0.059	0.021
3	0.890	0.046	0.021
4	0.963	0.046	0.018
5	0.747	0.080	0.022
Ort ±SH	0.979 ± 0.082	0.067 ± 0.011	0.028 ± 0.008

TABLO 2: 2 g/kg karnitin alan grubun sonuçları

DENEK NO	SOD (Ü/mg protein)	GPx (Ü/mg protein)	MDA (nmol/mg protein)
1	0.593	0.023	0.024
2	1.476	0.071	0.048
3	0.766	0.051	0.020
4	0.891	0.013	0.024
Ort ±SH	0.9315 ± 0.1915	0.039 ± 0.015	0.029 ± 0.007

TABLO 3: Diyabetik grubun sonuçları

DENEK NO	SOD (Ü/mg protein)	GPx (Ü/mg protein)	MDA (nmol/mg protein)
1	0.838	0.091	0.024
2	1.060	0.121	0.028
3	1.492	0.105	0.055
4	0.730	0.083	0.013
5	1.243	0.154	0.026
6	1.303	0.056	0.029
7	0.951	0.076	0.145
Ort ±SH	1.088 ± 0.103	0.098 ± 0.016	0.046 ± 0.017

TABLO 4: 500 mg/kg karnitin alan diyabetik grubun sonuçları

DENEK NO	SOD (Ü/mg protein)	GPx (Ü/mg protein)	MDA (nmol/mg protein)
1	1.345	0.023	0.066
2	1.460	0.067	0.024
3	0.835	0.058	0.026
4	1.442	0.074	0.049
5	0.733	0.004	0.025
6	1.236	0.084	0.033
7	1.035	0.062	0.052
Ort ±SH	1.155 ± 0.110	0.053 ± 0.011	0.039 ± 0.006

TABLO 5: Kontrol grubunun kan şekerleri

DENEK NO	Deney öncesi Kan şekeri (milimol/dl)	streptozotocinden 48 saat sonraki Kan şekeri (milimol/dl)	Deney bitimi Kan şekeri (milimol/dl)
1	6.016	6.024	6.059
2	6.369	6.256	6.059
3	7.170	7.324	8.146
4	6.388	7.564	8.643
5	6.779	6.128	7.451
Ort ±SH	6.544 ± 0.442	6.659 ± 0.325	7.272 ± 1.185

TABLO 6: 2 g/kg karnitin alan grubun kan şekerleri

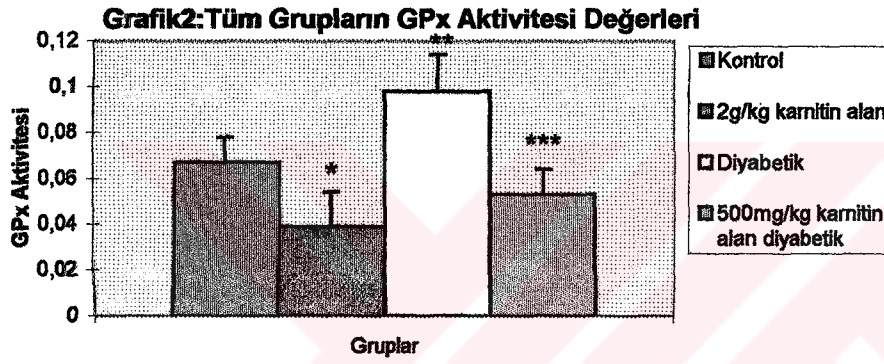
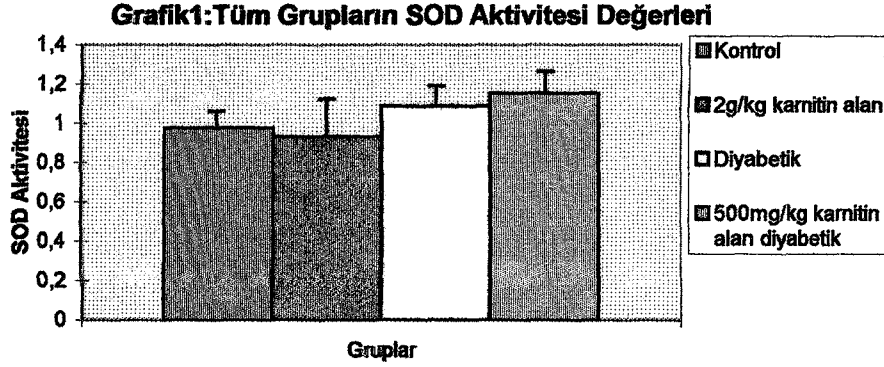
DENEK NO	Deney öncesi Kan şekeri (milimol/dl)	streptozotocinden 48 saat sonraki Kan şekeri (milimol/dl)	Deney bitimi Kan şekeri (milimol/dl)
1	7.114	7.341	8.113
2	6.835	6.955	8.215
3	6.667	6.426	6.857
4	6.146	6.593	6.891
Ort ±SH	6.691 ± 0.407	6.829 ± 0.203	7.519 ± 0.746

TABLO 7: Diyabetik grubun kan şekerleri

DENEK NO	Deney öncesi Kan şekeri (milimol/dl)	streptozotocinden 48 saat sonraki Kan şekeri (milimol/dl)	Deney bitimi Kan şekeri (milimol/dl)
1	5.946	11.338	12.263
2	5.730	11.727	12.356
3	5.856	11.102	12.407
4	5.568	11.203	12.247
5	5.532	11.876	12.415
6	6.001	11.727	12.500
7	5.784	11.826	12.382
Ort ±SH	5.774 ± 0.178	11.542 ± 0.121	12.367 ± 0.887

TABLO 8: 500 mg/kg karnitin alan diyabetik grubun kan şekerleri

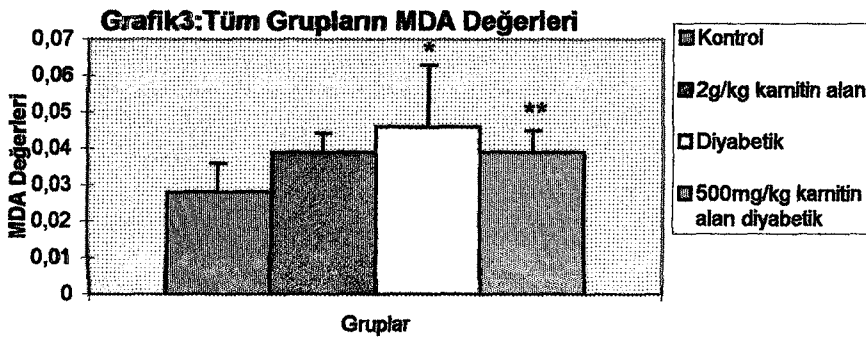
DENEK NO	Deney öncesi Kan şekeri (milimol/dl)	streptozotocinde n 48 saat sonraki Kan şekeri (milimol/dl)	Deney bitimi Kan şekeri (milimol/dl)
1	6.649	12.025	12.382
2	6.361	11.821	12.483
3	7.172	12.784	12.096
4	6.685	12.112	12.517
5	5.237	11.100	12.524
6	6.454	11.781	12.416
7	4.075	12.042	12.517
Ort ±SH	6.090 ± 1.067	11.952 ± 0.189	12.419 ± 0.153



*2g/kg karnitin alan grup kontrole göre düşük

** Diyabetik grupta kontrole göre yüksek

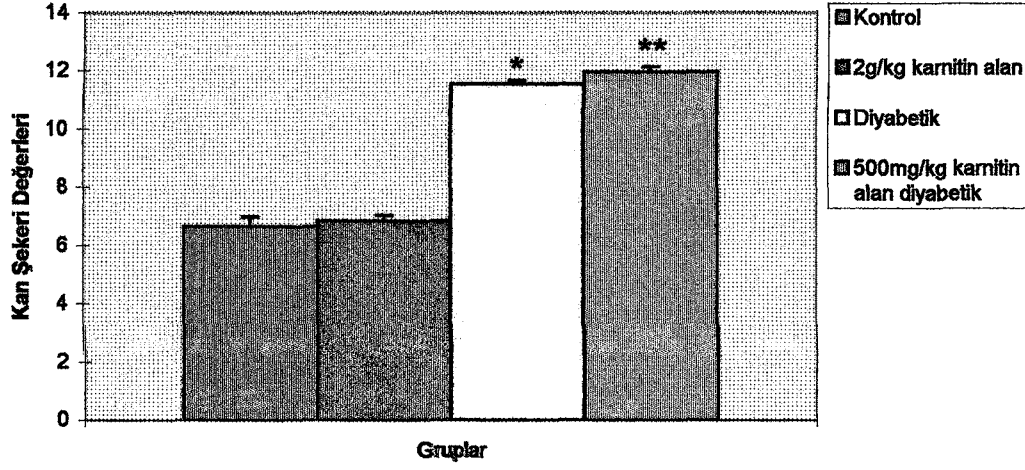
*** Diyabetik grupta 500 mg/kg karnitin alan diyabetik gruba göre yüksek



* Diyabetik grupta kontrole göre yüksek

** Diyabetik grupta 500 mg/kg karnitin alan diyabetik gruba göre yüksek

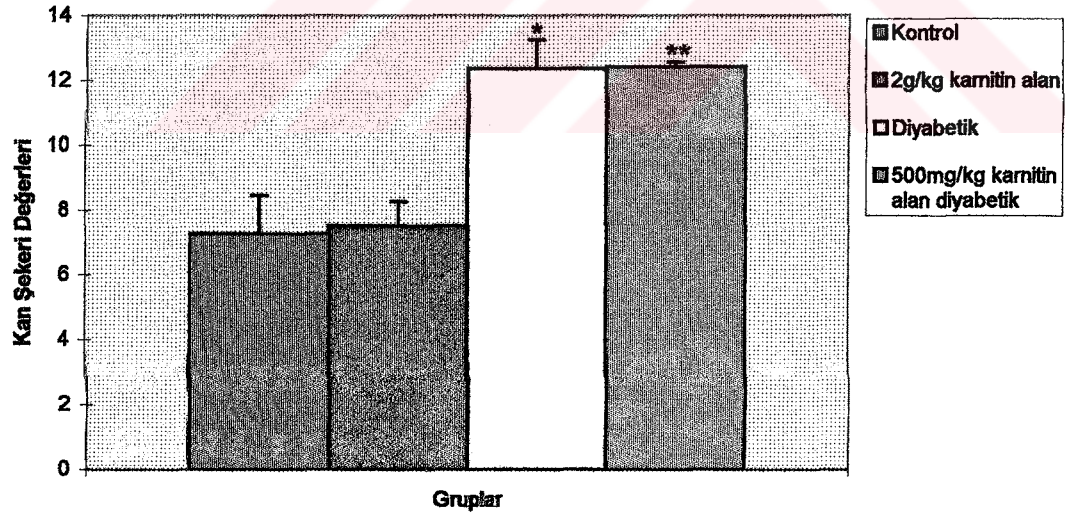
Grafik4:Tüm Grupların 48.Saat Kan Şekeri Değerleri



* Diyabetik grupta kontrole göre yüksek

** 500 mg/kg karnitin alan grupta kontrole göre yüksek

Grafik5:Tüm Grupların Deney Sonu Kan Şekeri Değerleri



* Diyabetik grupta kontrole göre yüksek

** 500 mg/kg karnitin alan grupta kontrole göre yüksek

TARTIŞMA

Diyabetes mellitus, kan şekeri yüksekliği ile giden böbrek, sinir sistemi ve gözde hasarlar oluşturabilen, yüksek ateroskleroz riski taşıyan ilerleyici bir hastalıktır (94, 119). Kronik bir hastalık olduğundan diyabetik insanlar üzerindeki uzun dönem incelemeler çok vakit alacağı için deney hayvanları üzerinde deneysel diyabet modellerinde çalışmak avantajlı olmaktadır (71). Bu amaçla kimyasal diyabete neden olan tek doz, intraperitoneal veya intravenöz streptozotocin veya alloksan verilmesi en çok tercih edilen deneysel diyabet modelleridir. Çünkü bu modelin uygulaması kolaydır, kalıcı diyabet oluşturulur ve hayvan uzun süre diyabetik olarak yaşayabilir. Streptozotocin, β hücrelerine selektif hasarlayıcı etkisinin olması ve böbrek, karaciğer gibi diğer organları hasarlayıcı toksik etkisinin olmaması nedeniyle alloksana göre daha çok kullanılmaktadır (111). Bu çalışmada tek doz daha önce diyabete neden olduğu gösterilmiş olan 65 mg/kg dozda intraperitoneal streptozotocin kullanılmıştır (13, 77, 111). Bu şekilde oluşan diyabet insandaki IDDM' e benzer (111).

Streptozotocin enjeksiyonundan 48 saat sonra kan şekeri yüksekliği meydana gelmektedir (12, 39). Bu çalışmada da daha önce yapılan çalışmalarla uyumlu olarak streptozotocin enjeksiyonundan 48 saat sonra tüm hayvanlarda kan şekeri yüksekliği oluşmuştur ($p < 0.01$). Streptozotocin enjeksiyonundan sonraki 8. günde akut diyabet (107), 3 hafta sonra kronik diyabet oluşmaktadır (65).

Diyabet diyebilmemiz için kan şekerinin 11mmol/l ve üstünde olması gereklidir (76). Bu çalışmada streptozotocin enjeksiyonu yapılan 3. ve 4. gruplarda deney sonunda kan şekeri grup ortalaması sırası ile $12.367 \pm$

0.887 ve 12.419 ± 0.153 olarak bulunmuştur. Her iki grubun kan şekeri düzeyleri 1. ve 2. gruptan istatistiksel olarak anlamlı yüksektir ($p < 0.01$).

Diyabet, pankreasta insülin üreten β hücrelerinin haraplanması sonucunda oluşan insülin eksikliği, yokluğu veya hedef hücrede insülin reseptöründe rezistans gelişmesi nedeniyle meydana gelir. β hücre hasarının immün sistemdeki değişikliklerle veya toksik kimyasal etkenler aracılığı ile oluştuğu düşünülmektedir. Son zamanlardaki araştırmalarda tetikleyici çeşitli nedenlerle oluşan lenfokinlerdeki değişikliklerin serbest radikallerin hücre içinde birikmesiyle birleşerek β hücresinde hasarlanmaya neden olduğu düşünülmektedir (18, 52, 103).

Yüksek pankreatik sitotoksitesi olan moleküllere karşı pankreas kendi antioksidan savunma sistemini kullanır. Ancak pankreasta katalaz ve GPx enzimleri diğer dokulara göre daha düşük düzeydedir (118). İnsan pankreas hücreleri, adacık hücre toksinleri olan alloksan, streptozotocin, nitropurissid veya sitokinle oluşan hasara fare ve sıçanlara göre daha dayanıklıdır. İnsan ve sıçanlarda pankreas adacık hücrelerinde glutatyon düzeyi daha düşüktür ve fare adacık hücrelerinde hidrojen perokside yanıt daha azdır. CAT ve SOD fare adacık hücrelerinde insandakinden daha düşük düzeydedir, CAT aktivitesi sıçanlarda insanlardan daha düşüktür. Tüm bu farklar insan adacık hücrelerinin β hücre toksinlerine karşı dayanıklı olduğunu göstermektedir (116).

Bu çalışmada streptozotocin verilerek diyabet oluşturulan grupta pankreas SOD enzim aktivitesi normal ($p > 0.05$), GPx aktivitesi kontrole göre artmış ($p < 0.05$) ve MDA düzeyleri kontrole göre artmış ($p < 0.05$) olarak bulunmuştur.

Tek doz streptozotocinle diyabet oluşturulan çalışmalarda SOD aktivitesi ile ilgili olarak farklı sonuçlar bulunmuştur. Bazı çalışmalarda SOD bazılarında değişmemiş (81), bazılarında da artmış (121) olarak

bulunmuştur. Bu çalışmada da SOD aktivitesi değişmemiş olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada diyabetik sıçanların pankreasında GPx aktivitesi kontrole göre artmış olarak bulunmuştur ($p<0.05$).

Sitozolik H_2O_2 glutatyon peroksidaz ile metabolize edilmektedir. Okside glutatyonun indirgenmesi NADPH bağımlı glutatyon redüktaz tarafından yapılmaktadır. Diyabette glukoz metabolizmasındaki bozukluk, heksozmonofosfat şantı yoluyla NADPH üretiminin azalmasına neden olabilir. Böylece H_2O_2 dokularda birikebilir (50). Ayrıca diyabette insülin eksikliğine bağlı olarak yağ asitlerinin β oksidasyonunu başlatan enzim olan açıl-KoA oksidaz aktivitesi artmaktadır. β -oksidasyonun artması da H_2O_2 oluşumunu arttırmaktadır (118). Bu çalışmada GPx aktivitesinin artması H_2O_2 artışını kompanze etmek için ortaya çıkmış olabilir. Wohareb ve ark. diyabetik sıçanlarda yaptıkları bir çalışmada kalp ve pankreas glutatyon peroksidaz aktivitesinin yükselmiş olduğunu göstermişlerdir (118). Tek doz streptozotocinle diyabet oluşturulan çalışmalarda GPx aktivitesi artmış olarak bulunmuştur (109, 121)

Bu çalışmada lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeyleri streptozotocin uygulanan sıçanlarda kontrole göre yüksek olarak bulunmuştur. Diyabetik sıçanlarda yukarıda açıklanan nedenlerle H_2O_2 oluşumu artmaktadır. H_2O_2 miktarındaki artış hidroksil radikali oluşumuna neden olarak lipid peroksidasyonuna yani MDA düzeyinde artışa neden olabilir. Tatsuki ve ark. da tek doz streptozotocin verilmesinden 2 hafta sonra pankreas, kalp ve karaciğerde lipid peroksidasyonunun arttığını bulmuşlardır (109).

Streptozotocinin etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir ancak nitrik oksit ve hidroksil radikal oluşumuna neden olarak etkisini gösterdiği düşünülmektedir (68, 106). Streptozotocin verilmesiyle oluşan oksidatif

stresin diyabete mi, yoksa streptozotocine mi bağlı olduğunun karışabileceği akla gelebilir. Ancak streptozotocinin yarılanma ömrü 6 saat olduğundan bu dönemden sonraki oksidatif stresin streptozotocine bağlı değil, diyabete bağlı olduğu düşünülmektedir (43). Bu çalışmada ölçümler streptozotocin enjeksiyonundan 18 gün sonra yapıldığından MDA düzeyindeki artışın diyabete bağlı olduğu düşünülmektedir.

Diyabet oluşumunu engellemek amacıyla deney hayvanları üzerinde pek çok araştırma yapılmıştır. Özellikle IDDM bu konuda çok önemli bir araştırma alanı olmuştur. Otoantijenler, sitokinler, antisitokin antikorları, antisitokin reseptör antikorları, aşılar, viral ajanlar ve gen tedavisi IDDM' i önlemek amacıyla geçmişten beri en çok kullanılanlardır. İmmün teknikler  hücrelerini oksidatif hasardan korumak ve  hücre otoantijenlerine tolerans geliştirmek amacı taşımaktadır (117).

Son zamanda en yaygın denenen ilaç grubu serbest radikal temizleyicileridir. Hem BB sıçanlarda hem de streptozotocin verilerek oluşturulan diyabette ekzojen verilen radikal temizleyicileriyle  hücre hasarı önlenerek diyabet oluşumunun engellendiği gösterilmiştir (116).

Mitra ve ark. bir sentetik antioksidan madde olan D-400' n tek doz streptozotocinle diyabet oluşumuna etkilerini incelemişler. D-400' n streptozotocinle pankreas  hücrelerinde oluşan SOD düşüklüğünü düzelterek streptozotocine bağlı oluşacak hasarı önlediğini bulmuşlardır (55).

Tek doz streptozotocinden 12 saat önce metallothionin enjekte edilen sıçanlarda 30 saat, 3 ve 6 hafta sonra plazma, karaciğer ve pankreasta lipid peroksidasyonunun azaldığı gösterilmiştir (121).

Papacci ve ark. düşük doz streptozotocinle oluşturdukları diyabetik farelere vitamin E vermişler ve sonuçta lipid peroksidasyonunun inhibe

olduğunu, SOD miktarının arttığını ve diyabet oluşumunun engellendiğini göstermişlerdir (118).

Nikotinamidin diyabeti önleyici etkileri vardır (36). Hu ve ark. yaptığı bir çalışmada 1g / kg / gün nikotinamid vermeye başladıktan sonraki 3. günde tek doz streptozotocini intraperitoneal olarak verip nikotinamid enjeksiyonuna 14 gün daha devam edilmiş ve diyabet oluşumunu önlediği öne sürmüşlerdir (117).

Montilla ve ark. yaptığı çalışmada antioksidan özelliği yeni tanımlanan melatonin tek doz streptozotocinle diyabet oluşturmada 3 gün önce iki farklı dozda enjekte edilmiştir. Melatonin enjeksiyonuna streptozotocin uygulanmasından sonra 8 hafta devam edilmiştir. Sekizinci haftanın sonunda plazma ve eritrositlerdeki streptozotocin diyabeti ile yükselen MDA düzeyini düşürdüğü görülmüştür. Ayrıca yüksek doz melatonin ile %55 oranında kan şekeri düzeyini de düşürdüğü görülmüştür (61).

Rabinowitch ve ark' nın NOD fareler üzerinde yaptıkları bir araştırmada bir antioksidan olan probukol ile kortikosteroid kombinasyonunun pankreas adacık hücrelerinin makrofaj ve lenfositlerle infiltrasyonunu azalttığını ve pankreas β hücre kaybını önlediğini gösterilmiştir (84).

Diyabeti önlemek amacıyla yapılan bir başka çalışma pankreas transplantasyonudur. Tek doz (70 mg/kg) streptozotocin verilen sıçanlarda yapılan pankreas transplantasyonu ile hipergliseminin önlendiği gösterilmiştir (5).

Bu çalışmada antioksidan bir madde olduğu öne sürülen karnitin diyabeti önlemedeki rolü ve lipid peroksidasyonuna etkisi araştırılmıştır.

Karnitin, uzun zincirli yağ asitlerini β oksidasyona girmek üzere mitokondri matriksine transportunda ve enerji üretimi için krebs siklüsünde önemli olan intramitokondial açıl KoA / KoA oranının düzenlenmesinde ve

fazla organik asitlerin detoksifikasyonunda görevli, vücutta doğal olarak bulunan bir maddedir (98, 108).

Diyabette pankreasta karnitin düzeyi düşerken idrarla karnitin çıkarılması artmaktadır (82). Reddi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada tek doz streptozotocinle oluşturulan diyabetten 2 hafta ve 20 hafta sonra çeşitli dokularda karnitin konsantrasyonuna bakılmıştır. Streptozotocin verilmesinden 2 hafta sonra üriner karnitin çıkarımı anlamlı yüksek bulunmuş, ancak kan karnitin konsantrasyonunda normalden bir farklılık bulunmamıştır. Doku karnitin düzeyleri ise; karaciğer, beyin, pankreas karnitinlerinde anlamlı düşüş olurken kalp, iskelet kası ve böbrek karnitin konsantrasyonlarında bir değişiklik görülmemiştir. Streptozotocinden 20 hafta sonra yine idrarla karnitin çıkarımı artmış ama kan karnitininde bir değişiklik görülmemiştir. Kalp, beyin, iskelet kası ve pankreas karnitin düzeyleri düşük, karaciğer karnitini yüksek bulunmuş ancak böbrek karnitin konsantrasyonunda kontrole göre bir farklılık bulunmamıştır (87). Bu değişiklikler karnitin sentezindeki artış ve azalmaya, karnitin katabolizmasındaki değişikliğe bağlı olabilir. Hem uzun dönem hem de kısa dönem diyabette karnitin pankreas tarafından tutulumunun azalması veya yıkımının artması nedeniyle pankreas karnitin düzeyi anlamlı azalmış olarak bulunmuştur (87). Bu nedenle diyabette dışarıdan karnitin verilmesi düşünülebilir.

Diyabette L-karnitin insanlarda veya deney hayvanı diyabet modellerinde plazma ve dokulardaki düşüklüğünün nedeni tam olarak açıklanamamıştır (87).

Bu çalışmada karnitin streptozotocin verilen sıçanlarda diyabet oluşumunu önlemediği görülmüştür. Kan şekerleri karşılaştırıldığında diyabetik grupla karnitin alan diyabetik grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı görülmüştür ($p>0.05$).

SOD aktivitesinde tüm gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p>0.05$). GPx aktivitesi 2 g/kg karnitin alan grupta kontrole göre düşük bulunmuş ($p<0.05$), 500 mg/kg karnitin alan diyabetik grupta diyabetik gruba göre düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Karnitin, diyabetik hayvanın pankreasında GPx' i bilinmeyen bir nedenle inhibe ederek GPx düzeyinin düşmesine neden olmuş olabilir. MDA düzeyi ise 2 g/kg karnitin alan grupta değişmezken ($p>0.05$), 500 mg/kg karnitin alan diyabetik grupta kontrole göre yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). MDA' nın yüksekliğinin streptozotocin diyabetinden kaynaklandığı düşünülebilir.

L-karnitin GPx düzeyine etkileriyle ilgili farklı sonuçların bulunduğu çalışmalar bulunmaktadır. Plazmada ve karaciğerde L-karnitin GPx aktivitesine etkisine bakılan bazı çalışmalarda GPx aktivitesini değiştirmemiş (58), bazılarında ise arttırdığı görülmüştür (104). Ancak yapılan literatür araştırmasında L-karnitin diyabetik hayvan pankreasında GPx aktivitesine etkisi ile ilgili bir çalışma bulunmadığından karşılaştırılamıştır. Bu çalışmada pankreas GPx düzeyi düşük olarak bulunmuştur.

L-karnitin MDA düzeyi üzerine etkileriyle ilgili yapılan çeşitli araştırmalarda MDA düzeyinin azaldığı (122) veya değişmediği (58) şeklinde değişik sonuçlar bulunmaktadır. Ancak yine L-karnitin diyabetik hayvanda pankreas MDA düzeyine etkisi ile ilgili yapılmış bir çalışmaya rastlanmadığından karşılaştırma yapılamamıştır. Bu çalışmada L-karnitin MDA düzeyine bir etkisinin olmadığı bulunmuştur.

Karnitin antioksidan etkisini araştırmak amacıyla yapılmış çok değişik çalışmalar bulunmaktadır. Yıldız ve ark. tek doz alloksanla oluşturulan diyabette alloksan enjeksiyonundan sonraki 3. ve 4. haftalarda nöral malonildialdehid (MDA) düzeyinin yükseldiğini görmüşler. Alloksan verilmesinde sonraki 3. hafta L-karnitin tedavisi başlanmış ve 4 hafta devam

edilmiştir. Bu tedavi ile kan şekerinde bir değişiklik olmazken nöral MDA düzeyinin düştüğünü görmüşlerdir (122).

Yine yapılan bir başka çalışmada L-karnitin yüklemesinin periferik kanda lenfosit proliferasyonunu arttırdığı ve periferik kan lenfositlerini hücreler tarafından açığa çıkarılan oksidatif stresten koruduğu görülmüştür (23).

Monti ve ark. insan lenfositlerini in vitro olarak H_2O_2 ile inkübe etmişler, sonra ortama nikotinamid ve L-karnitin eklenmiş. Her iki ilacın da hücreleri reaktif oksijen türlerinin oluşturduğu hasardan koruduğunu bulmuşlardır (60). L-propionil karnitin myokardı, endoteli ve eritrositleri peroksidatif hasarlanmadan koruduğunu, hasarlanmış hücre membranını stabilize ettiğini bulan çalışmalar bulunmaktadır. Aynı çalışmada eritrositleri in vitro olarak hidrojen peroksit ile inkübe etmişler ve MDA düzeyini düşük bulmuşlardır (92).

L-karnitinle ilgili birbirine tamamen zıt sonuçlar bulunmaktadır. Reznick ve ark. L-propionil karnitin kalpte iskemi-reperfüzyondan sonra mekanik gücünü ve metabolik parametreleri iyileştirdiğini bulmuşlardır. L-propionil karnitin bu etkisini iki mekanizma ile gösterdiğini öne sürmektedirler. Birincisi metabolik hipotez, diğeri ise serbest radikal hipotezi. Metabolik hipotez L-propionil karnitin enzimatik olarak propionil KoA' ya dönüştürülerek krebs siklüsünde döngüye katılır ve enerji üretimi gerçekleşir, serbest radikal hipotezinde ise L-propionil karnitin fenton sisteminde hidroksil radikal üretimini baskıladığı savunulmaktadır, bunu da hidroksil radikali üretimi için gerekli olan demiri şelate ederek yaptığı düşünülmektedir. Sadece L-propionil karnitin böyle bir etkisi olduğunu L-karnitin de dahil diğer hiçbir karnitin derivativesinin böyle bir etkisinin görülmediğini savunan araştırmacılar da bulunmaktadır (89).

Bu alışmada L-karnitinin 500 mg/kg dozunda antioksidan etkisi bulunmamıştır. Yüksek doz olan 2 g/kg alan grup ex olduğundan sonuçları bilinmemektedir. Deneydeki tüm gruplara enjeksiyon aynı şekilde yapıldığı halde yüksek doz karnitin alan grubun tümüyle pnömoni nedeniyle ex olması nedeniyle L-karnitinin immün sistem üzerine olan etkilerinin araştırılması gerektiği kanısına varılmıştır.



ÖZET

İnsüline bağımlı diyabet (IDDM), insülin üreten pankreas β hücrelerinin inflamatuvar hasarı sonucunda meydana gelir. İmmün değişiklikler veya kimyasal (toksik) ajanların aynı yolla β hücresinde hasarında oluşturduğu düşünülmektedir. Son zamanlardaki çalışmalarda lenfokinlerdeki değişiklikler ve serbest radikallerin birikmesi β hücre hasarında doğrudan sorumlu tutulmaktadır. Hayvanlarda toksik ajanlarla oluşturulan diyabet hidroksil radikal üretimini inhibe eden ajanlar olan antioksidanlar verilerek önlenebilmiştir.

Bu çalışmanın amacı L-karnitin diyabeti önlemedeki rolünün ve pankreas lipid peroksidasyonu üzerine etkilerinin incelenmesidir. Streptozotocinden önce L-karnitin verilmesinin streptozotocinle oluşan diyabette kan şekereine bir etkisi olmamıştır. Pankreas süperoksit dismutaz enzim aktivitesinde anlamlı bir farklılık görülmemiştir ancak GPx aktivitesi hem sadece karnitin alan hem karnitin alan diyabetik grupta düşük bulunmuştur. Lipid peroksidasyonu streptozotocin alan diyabetik grupta diyabetik gruba göre düşmüş fakat sadece karnitin alan grupta değişmemiştir. Diyabetik hayvan pankreasında L-karnitin GPx aktivitesini bilinmeyen bir nedenle düşmüştür.

L-karnitin streptozotocinle diyabet oluşan diyabet üzerine bir etkisi görülmemiştir.

ABSTRACT

Insulin dependent diabetes mellitus results from an inflammatory process leading to destruction of the insulin producing β cells of the pancreas. It is possible that a number of quite different initiating events may lead to β cell destruction through a common pathway of immune alterations or chemical (toxic) events. Recent research has implicated alterations in the lymphokines and related compounds as well as the accumulation of free radicals as direct mechanisms of β cell damage. Toxin induced diabetes in animals can be prevented by antioxidant therapy, while an agent that inhibits hydroxyl radical formation.

The aim of this study was to investigate the role of L-carnitine on preventing diabetes and its effects on pancreas lipid peroxidation. Giving L-carnitine prior to streptozotocin did not have any effects on the blood glucose levels in diabetes induced by streptozotocin. There was no significant change on the pancreas süperoksid dismutase enzyme activity, however GPx activity was found to be decreased in both the carnitin-taking control group and the carnitin-taking diabetic group. Lipid peroxidation was decreased in the streptozotocin-induced diabetic group compared to the diabetic group, but not changed in the carnitin-taking control group. L-carnitine GPx activity was reduced in the diabetic animals' pancreas due to an unexplained reason.

No effect of L-carnitine was observed on streptozotocin induced diabetes.

KAYNAKLAR

1. Albano E, Belomo G, Paiola M et al, Stimulation of lipid peroxidation increases the intracellular calcium content of isolated hepatocytes, *Biochimica et Biophysica Acta* 1091, 310- 316, 1991.
2. Ansari NH, Wang L, Erwin AA, Church DF, Glukose dependent formation of free radical species in lens homogenate, *Biochem Mol Med* 59(1): 68-71, 1996.
3. Arduini A, Dottori S, Sciarroni AF et al, Effect of propionil-L-carnitine treatment on membrane phospholipid fatty acid turnover in diabetic rat, *Mol cell Biochem* 8, 152 (1); 31- 37, 1995.
4. Arnaiz SL, Travacio M, Llesuy S et al, Hydrogen peroxide metabolism during peroxisome proliferation by fenofibrate, *Biochim Biophys Acta* 1272, 175- 180, 1995.
5. Ar' Rajab Ai Ahren B, Prevention of hyperglycemia improves the long-term result of islet transplantation in streptozotocin-diabetic rats, *Pancreas* 7(4):435-442, 1992.
6. Block NE, Komori K, Robinson KA et al, Diabetes associated impairment of hepatic insulin receptor tyrosine kinase activity: a study of mechanisms, *Endocrinology* 128, 312-322, 1991.
7. Boquist L, Alloksan diabetogenicity: determinants of potentiation, protection and β cell selectivity, *Diabetes Metabolism* 15, 23- 29, 1989
8. Borissova AM, Zaharieva S, Tankova TS et al, Prostaglandin E2 effects both insulin sekresyon and periferal insulin sensitivity, *Diyabetes Metabolism* 17, 346- 349, 1991.
9. Breimer LH, Ionizing radiation-induced mutagenesis, *British Journal of Cancer* 57, 6- 18, 1988.

10. Bremer J, Carnitine metabolism and functions, *Physiol Rev* 63, 1420, 1983.
11. Buysschaert M, Paris I, Selvais P, Hermans MP, Clinical aspects of diabetes secondary to idiopathic haemochromatosis in French speaking Belgium, *Diabetes Metab*, 23(4); 308-313, 1997.
12. Cameron NE, Cotter MA, Interaction between oxidative stress and γ -linolenic acid in impaired neurovascular function of diabetic rats, *Am J Physiology* 271, E471- E476, 1996.
13. Cameron NE, Cotter MA, Neurovascular dysfunction in diabetic rats. Potential contribution of oxidation and free radicals examined using transition metal chelating agents, *J Clin Invest*, 96(2); 1159- 1163, 1995.
14. Carrillo MC, Kanai S, Nokuba M, Kitani K, Deprenyl induces activities of both superoxide dismutase and catalase but not of glutathione peroxidase in the striatum of young male rats, *Life Sciences* 48, 517-521, 1991.
15. Carpenter MA, Bodansky HJ, Drug treatment of obesity in type 2 diabetes mellitus, *Diabet Med* 7, 99- 104, 1990.
16. Craighead JE, Mc Lane MF, Diabetes Mellitus induction in mice by encephalomyokarditis virus, *Science* 162, 913- 914, 1986.
17. Draper HH, Polensek L, Hadley M et al, Urinary malondialdehyde as an indicator of lipid peroxidation in the diet and in the tissues, *Lipids* 19, 836- 843, 1984.
18. Drash AL, Rudert WA, Borquaye S et al, Effect of probucol on development of diabetes mellitus in BB rats, *Am J cardiol* 62, 27B- 30B, 1988.
19. Eizirik D, Sandler S, Function and metabolism of pancreatic β cells maintained in culture following induced damage, *Pharmacol Toxicol* 65; 163- 168, 1989.

20. Enghofer M, Usadel KH, Beck O, Kusterer K, SOD reduces by streptozotocine in the rat, *Am J Physiol*, 273(2 Pt 1): E376- E382, 1997.
21. Feingold KR, Funk JL, Disorders of the endocrine pancreas. McPhee SJ, Lingappa VR, Ganong WF, Lange JD, *Pathophysiology of disease*, Second edition, Appleton and Lange, USA, 423- 448, 1997.
22. Flechner I, Maruta K, Burkart V et al, Effects of radical scavengers on the development of experimental diabetes, *Diabetes Res* 13(2):67-73, 1990.
23. Franceschi C, Cossarizza A, Troiano L et al, Immunological parameters in aging: studies on natural immunomodulatory and immunoprotective substances, *Int J Clin Pharmacol Res* 10(1-2):53-57, 1990.
24. Fridovich I, Superoxide radical: an endogenous toxicant, *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, 23, 239-257, 1987.
25. Greiner DL, Handler ES, Nakano K et al, Absence of the RT6 T cell subset in diabetes prone BB wistar rats, *J Immunol* 130, 148- 151, 1986
26. Goeptar AR, Scheerens H, Vermeulen NP et al, Oxygen and xenobiotic reductase activities of cytochrome P-450, *Crit Rev Toxicol* 25, 25- 65, 1995.
27. Gottlieb AP, Rossini AA, Mordes JP et al, Approaches to prevention and treatment of IDDM in animal models, *Diabetes Care* 11 (Suppl 1), 29- 36, 1988.
28. Guigliano D, Ceriello A, Poalisso G, Oxidative stress and diabetic vascular complications, *Diabetes Care* 19(3), 257- 267, 1996.
29. Gutteridge JMC, Halliwell B, *Antioxidants in Nutrition, Health, and Disease* First edition, Oxford University Press, New York, 1994.
30. Gutteridge JMC, Lipid peroxidation initiated by superoxide dependent hydroxyl radicals using complexed iron and hydrogen peroxide, *FEBS* 172, 245- 249, 1984.

31. Halliwell B, Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry and role in human disease, *The Am J of Med*, 91 (Suppl 3C), 14S- 22S, 1991.
32. Halliwell B, Drug antioksidant effects, *Drugs* 42 (4), 569- 605, 1991.
33. Halliwell B, Oxidants and the central nervous system: some fundamental questions, *Acta Neurology Scandinavia* 126, 23-33, 1989.
34. Halliwell B, Gutteridge JMC, Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts, *Archives of Biochemistry and Biophysics* 246, 501-514, 1986.
35. Halliwell B, Gutteridge JMC, Oxygen radicals and the nervous system, *TINS* 22-26, 1985.
36. Harris ED, Regulation of antioxidant enzymes, *The FASEB Journal* 6, 2675-2683, 1992.
37. Horie K, Miyata T, Maeda K et al, Immunohistochemical colocalization of glyco oxidation products and lipid peroxidation products in diabetic renal glomerular lesions. Implication for glycoxidative stress in the pathogenesis of diabetic nephropathy, *J Clin Invest* 15; 100(12): 2995- 3004, 1997.
38. Hotta N, Koh N, Sakakibara F et al, Effect of propionyl-L-carnitine on oscillatory potentials in electroretinogram in streptozotocin-diabetic rats, *Eur J Pharmacol* 12;311(2-3):199-206, 1996.
39. Hu Y, Wang Y, Wang L et al, Effects of nicotinamide on prevention and treatment of streptozotocin-induced diabetes mellitus in rats, *Chin Med J (Engl)* 109(11):819-822, 1996.
40. Ido Y, McHowat J, Chang KC et al, Neural dysfunction and metabolic imbalances in diabetic rats. Prevention by acetyl-L-carnitine, *Diabetes* 43(12):1469-1477, 1994.
41. Inoue Y, Nakanishi K, Hiraga T et al, Recovery of pancreatic beta cell function in hemochromatosis: combined treatment with recombinant

- human erythropoietin and phlebotomy, *Am J Med Sci*, 314(6); 401-402, 1997.
42. Jacob C, Belleville F, L-carnitine: metabolism, functions and value in pathology, *Pathol Biol* (Paris) 40(9):910-919, 1992.
43. Kakkar R, Mantha SV, Kalra J et al, Time course study of oxidative stress in aorta and heart of diabetic rat, *Clinical Science* 91, 441- 448, 1996.
44. Kenneth B, Beckman KB, Ames BN et al, The free radical theory of aging matures, *Physiol Rev* 78 (2); 547- 581, 1998.
45. Kılınç K, Oksijen radikalleri, üretilmeleri, fonksiyonları, toksik etkileri, *Biyokimya Dergisi* 10, 59- 89, 1985.
46. Kodama T, Iwase M, A new diabetes model induced by neonatal alloxan treatment in rats, *Diabetes Res and Clinical Practise* 20, 183- 189, 1993.
47. Lenzen S, Panten U, Alloxan: History and mechanism of action, *Diabetologia* 31, 337- 342, 1988.
48. Like AA, Appel MC, Rossini AA et al, Autoantibodies in the BB wistar rat, *Diabetes* 31, 816- 820, 1982.
49. Lohninger A, Laschan C, Auer B, Linhart L, Salzer H, [Animal experiment and clinical studies of the significance of carnitine for energy metabolism in pregnant patients and the fetus during the pre- and perinatal period], *Wien Klin Wochenschr* 108(2):33-9, 1996.
50. Loven DP, Schedl HP, Oberley LW et al, Superoxide dismutase activity in the intestine of the streptozotocine diabetic rat, *Endocrinology* 111, 737- 742, 1982.
51. Mandrup Poulsen T, Nicotinamide treatment in the prevention of IDDM, *Diabetes Metab Reviews*, 9 (4): 295- 309, 1993.

52. Mandrup-Poulsen T, Cytokine mediated beta cell destruction: the molecular effector mechanism causing IDDM, *J Autoimmun* 3; 77, 1990.
53. Markwell MA, Hass SM, Bieber LL, Tolbert NE, A modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples, *Analytical Biochem* 87, 206-210, 1978.
54. Mayasa K, Hidehisa M, Sachiko Y et al, Effects of diethyldithiocarbamate on diabetogenic action of alloxan in rats, *Diabet Res Clin Pract* 19, 39- 47, 1993.
55. Mitra SK, Gopumadhavan S, Muralidhar TS et al, Effect of D-400, a herbomineral formulation on liver glycogen content and microscopic structure of pancreas and liver in streptozotocin induced diabetes in rats, *Indian J Exp Biol* 34(10), 964-967, 1996.
56. Miyata T, Ishiguro N, Yasuda Y et al, Increase pentosidine and advanced glycation end product in plasma and synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis and its relation with inflammatory markers, *Biochem Biophys Res Commun* 6, 244(1): 45- 49, 1998.
57. Miyata T, Ueda Y, Shinzato T et al, Accumulation of albumin linked and free form pentosidine in the circulation of uremic patients with end stage renal failure: Renal implications in the pathophysiology of pentosidine, *J Am Soc Nephrol* 7(8): 1198- 1206, 1996.
58. Miguez MP, Soler F, Garcia-Rubio L, Accentuation of paraquat-induced toxicity by L-carnitine in mice, *Biofactors* 8(1-2):73-8, 1998
59. Moller DE, Transgenic approaches to the pathogenesis of NIDDM, *Diabetes* 43: 1394- 1401, 1994.
60. Monti D, Troiano L, Tropea F et al, Apoptosis—programmed cell death; a role in the aging process? *Am J Clin Nutr* 55 (6 Suppl), 1208S- 1214S, 1992.

61. Montilla PL, Vargas JF, Tunez IF et al, Oxidative stress in diabetic rats induced by streptozotocin: protective effects of melatonin, *J Pineal Res* 25(2):94-100, 1998.
62. Morabito E, Corsico N, Marzo A, Serum and urine levels of levocarnitine family components in genetically diabetic rats, *Arzneimittelforschung* 44(8):965-968, 1994.
63. Mordes JP, Rossini AA, Animal models of diabetes, *Am J Med* 70: 353-360, 1981.
64. Moslen MT, Reactive oxygen species in normal physiology, cell injury and phagocytosis, *Adv Exp Med Biol* 366, 17- 27, 1994.
65. Mulder H, Ahren B, Sundler F, Islet amyloid polypeptide (amylin) and insulin are differentially expressed in chronic diabetes induced by streptozotocin in rats, *Diabetologia* 39, 649- 657, 1996.
66. Nicotera P, Bellomo G, Orrenius S et al, Calcium mediated mechanisms in chemically induced cell death, *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 32, 449-470, 1992.
67. Odetti P, Traverso N, Cosso L et al, Good glycemic control reduces oxidation and glycation end-products in collagen of diabetic rats, *Diabetologia* 39 (12): 1440- 1447, 1996.
68. Ohkuwa T, Sato Y, Naoi M, Hydroxyl radical formation in diabetic rats induced by streptozotocine, *Life Science* 56: 1789- 1798, 1995.
69. Oikawa I, Novikoff PM, catalase- negative peroxisomes: transient appearance in rat hepatocytes during liver regeneration after partial hepatectomy, *Am J Pathol* 146; 673- 687, 1995.
70. Okamoto H, Molecular basis of experimental diabetes: degeneration, oncogenesis and regeneration of pancreatic β cells of islets of langerhans, *Bioessays* 2, 15- 21, 1986.

71. Öztürk Y, Altan VM, Yıldızoğlu-Arı N et al, Effects of experimental diabetes and insulin on smooth muscle functions, *Pharmacological reviews*, 48, 1, 69- 112, 1996.
72. Paglia DE, Valentine WN, Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase, *J Lab Clin Med* 70, 158-169, 1967.
73. Palmer AM, Thomas CR, Gopaul N et al, Dietary antioksidant supplementation reduces lipid peroxidation but impairs vascular function in small mesenteric arteries of the streptozocin diabetic rat, *Diabetologia* 41(2); 148-156, 1998.
74. Paolisso G, Guigliano D, Oxidative stress and insulin action: is there a relationship? *Diabetologia* 39,357-363,1996.
75. Papaccio G, Baccari GC, Frascatore S et al, The vitamin-E derivative U-83836-E in the low-dose streptozocin-treated mouse: effects on diabetes development, *Diabetes Res Clin Pract* 30(3):163-171, 1995.
76. Papacci G, Frascatore S, Pisanti FA et al, An increase in SOD counteracts islet vascular alterations in low dose streptozotocin treated mice, *Histochemistry* 101, 215- 224, 1994.
77. Paulson DJ, Gupta M, Zak R, Zhao J, Effects of exercise training and diabetes on cardiac myosin heavy chain composition, *Mol Cell Biochem* 117, 175- 179, 1992.
78. Pitarys CJ, Virmani R, Vildibill HD et al, Reduction of myocardial reperfusion injury by intravenous adenosine administered during the early reperfusion period, *Circulation* 83, 237- 247, 1991.
79. Pitkanen MO, Martin JM, Hallman M et al, Free radical activity during development of insulin dependent diabetes mellitus in rat, *Life Science* 50, 335- 339, 1992.

80. Portha B, Blondel O, Serradas P et al, The rat models of NIDDM induced by neonatal streptozotocine, *Diabet Metab* 15: 61- 75, 1989.
81. Prechl J, Somogyi A, Pustai P et al, [Free radical reactions in juvenile rats treated with streptozotocin], *Orv Hetil* 5;137(18):979-982, 1996.
82. Pregant P, Schemthaner G, Legenstein E, Decreased plasma carnitine in Type I diabetes mellitus, *Klin Wochenschr* 16, 69:12, 511-516, 1991.
83. Rabinowitch A Suarez Pinzon WL, Strynadka K, Rabinowitch A, Pancreatic islet β -cells by cytokines involves oxygen free radicals and aldehyde production, *J Clin Endocrin Metab* 81, 9, 3197- 3202, 1996.
84. Rabinovitch A, Suarez WL, Power RF et al, Combination therapy with an antioxidant and a corticosteroid prevents autoimmune diabetes in NOD mice, *Life Science* 51:25, 1937-43, 1992.
85. Rebouche CJ, Engel AG, Tissue distribution of carnitine biosynthetic enzymes in man, *Biochem Biophys Acta* 622- 630, 1980.
86. Rehncrona S, Smith DS, Akesson B et al, Peroxidative changes in brain cortical fatty acids and phospholipids, as characterized during Fe^{2+} and ascorbic acid-stimulated lipid peroxidation in vitro, *J Neurochem* 34, 1630-1638, 1980.
87. Reddi AS, Jyothirmayi GN, DeAngelis B et al, Effect of short and long term diabetes on carnitine and myoinositol in rats, *Comp Biochem Physiol* 98 A 1, 39- 42, 1991.
88. Reddi AS, Jyothirmayi GN, Leevy CB et al, Effect of genetic diabetes and alcohol on tissue carnitine and inositol concentrations in mice, *Alcohol Alcohol* 25(2-3), 137-41, 1990.
89. Reznick AZ, Kagan VE, Ramsey R et al, Antiradical effect in L-propionil carnitine protection of the heart against ischemia- reperfusion injury, *Arc Biochem Biophys* 296 (2), 394- 401, 1992.

90. Rodrigues B, Ross JR, Farahbakshian S, McNeill JH, Effects of in vivo and in vitro treatment with L-carnitine on isolated hearts from chronically diabetic rats, *Can J Physiol Pharmacol* 68(8):1085-92, 1990.
91. Rodrigues B, Xiang H, McNeill JH, Effect of L-carnitine treatment on lipid metabolism and cardiac performance in chronically diabetic rats, *Diabetes* 37(10):1358-64, 1988.
92. Ronca F, Palmieri L, Malengo S, Bertelli A, Effect of propionyl-L-carnitine on invitro membran alteration of sickle cell anemia erythrocytes, *Int J Tissue React* 16 (4); 187- 194, 1994.
93. Roza AM, Slakey DP, Pieper GM et al, Hydroxyethyl starch deferroksamine, a novel iron chelator, delays diabetes in BB rats, *J Lab Clin Med*, 123 (4): 556- 560, 1994.
94. Sara H, Turgan N, Mutaf I et al, Plasma catalase, glutatyon peroksidaz and selenium levels in adult diabetic patients, *Turk J Med Sci* 27, 139-141, 1997.
95. Schaefer EM, Viard V, Morin J et al, A new transgenic mouse model of chronic hyperglycemia, *Diabetes* 43, 143- 153, 1994.
96. Schmidt RE, Dorsey DA, Beaudet LN et al, Effect of aminoguanidine on the frequency of neuroaxonal dystrophy in the superior mesenteric sympathetic autonomic ganglia of rats with streptozotocin induced diabetes, *Diabetes* 45(3): 284- 290, 1996.
97. Schuldiner AR, Transgenic animals, *N Eng J Med* 334 Marc 7, 653- 655, 1996.
98. Shihabi ZK, Oles KS, McCormick CP et al, Serum and tissue carnitine assay based on dialysis, *Clin Chem* 38/8, 1414- 1417, 1992.
99. Slieker LJ, Roberts EF, Shaw WN et al, Effects of streptozotocin induced diabetes on insulin receptor tyrosine kinase activity in obese Zucker rats, *Diabetes* 39, 619-625, 1990.

100. Soneru IL, Khan T, Orfalian Z, Abraira C, Acetyl-L-carnitine effects on nerve conduction and glycemic regulation in experimental diabetes, *Endocr Res*;23(1-2):27-36, 1997.
101. Southom PA Powis G, Free radicals in medicine, 1. Chemical nature and biologic reactions, *Mayo Clin Proc* 63,381- 389, 1988.
102. Strout HV, Vicario PP, Biswas C et all, Vanadate treatment of streptozotocin diyabetic rats restores expression of the insülin-responsive glukose transporter in skeletal muscle, *Endocrinology* 126, 2728- 2732, 1990.
103. Suarez Pinzon WL, Strynadka K, Rabinowitch A et all, Destruction of rat pancreatic islet β -cells by cytokines involves the production of cytotoxic aldehydes, *Endocrinology* 137, 12, 5290- 5296, 1996.
104. Sushamakumari S, Jayadeep A, Kumar JS, Menon VP, Effect of carnitine on malondialdehyde, taurine and glutathione levels in heart of rats subjected to myocardial stress by isoproterenol, *Indian J Exp Biol* 27(2):134-7, 1989.
105. Tager HS, Abnormal products of the human insülin gene, *Diyabetes* 33 (7), 693-699, 1984.
106. Tanaka Y, Shimizu H, Sato N et all, Involvement of spontaneous nitric oxide production in the diabetogenic action of streptozotocine, *Pharmacology* 50, 69- 73, 1995.
107. Tanguay KE, Amano K, Hart DA et all, A cytotoxic monoclonal autoantibody from the BB rat which binds on islet cell surface protein, *Diabetes Res Clin Pract* 8, 23- 28, 1990.
108. Tanphaichitr V, LeeLahagul P, Carnitine metabolism and human carnitine deficiency, *Nutrition* 9 (3), 246- 254, 1993.

109. Tatsuki R, Satoh K, Yamamoto A, Lipid peroxidation in the pancreas and other organs in streptozotocin diabetic rats, *Jpn J Pharmacol* Nov;7 (3):267-73, 1997.
110. Taylor SI, Accili D, Imai Y, Insulin resistance or insulin deficiency. Which is the primary cause of NIDDM? *Diabetes* 43, 735-740, 1994.
111. Vega P, Gaule C, Mancilla J et al, Comparison of alloxan and streptozotocin induced diabetes in rats: Differential effects on microsomal drug metabolism, *Gen Pharmacol* 24, 2, 489- 495, 1993.
112. Volkovova K, Chorvathova V, Jurcovicova M et al, Antioxidative state of the myocardium and Kidneys in acute diabetic rats, *Physiol Research* 42, 251- 255, 1993.
113. Walter JH, L-Carnitine, *Arch Disease in Childhood*, 74(6), 1996.
114. Weaver DC, McDaniel ML, Naber SP et al, Alloxan stimulation and inhibition from isolated rat islets of langerhans, *Diabetes* 27, 1205- 1214, 1978.
115. Wells-Knecht MC, Lyons YJ, McCance DR et al, Age dependent increase in orthotyrosine and methionine sulfoxide in human skin collagen is not accelerated in diabetes. Evidence against a generalized increase in oxidative stress in diabetes, *J Clin Invest* 15; 100(4): 839-846, 1997.
116. Welsh N, Margulis B, Borg LA et al, Differences in the expression of heat-shock proteins and antioxidant enzymes between human and rodent pancreatic islets: implications for the pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus, *Mol Med* 1(7), 806-820, 1995.
117. Winter WE, House DV, Schatz D, Pharmacological approaches to the prevention of autoimmune diabetes, *Drugs* 53(6):943-956, 1997.

118. Wohaleb SA, Godin DV, Alterations in free radical tissue-defense mechanisms in streptozotocin induced diabetes in rat, *Diabetes* 36, 1014-1018, 1987.
119. Wolff SP, Diabetes mellitus and free radicals, *British Medical Bulltein* 49, 3, 642- 652, 1993.
120. Yadav P, Sarkar S, Bhatnagar D, Action of capparidic acid against alloxan induced oxidative stress and diabetes in rat tissues, *Pharmacol Res* 36(3), 221- 228, 1997.
121. Yang J, Cherian MG, Protective effects of metallothionein on streptozotocin-induced diabetes in rats, *Life Science* 55(1):43-51, 1994.
122. Yildiz O, Ozata M, Ozkardes A et al, Comparison of the effects of aminoguanidine and L-carnitine treatments on somatosensorial evoked potentials in alloxan-diabetic rats, *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 354(4):526-531, 1996.
123. Yu BP, Cellular defences against damage from reactive oxygen species, *Physiol Rev* 74, 139- 162, 1994.