



T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ  
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI  
VBY-YL-2011-0001

**DENEYSEL DİABET OLUŞTURULAN RATLARDA  
BAZI AKUT FAZ PROTEİNLERİ VE İZ  
ELEMENTLER ARASINDAKİ İLİŞKİLER**

**AYŞENUR KAHYAOĞLU**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Pınar ALKİM ULUTAŞ**

**AYDIN-2011**

**T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ  
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI  
VBY-YL-2011-0001**

**DENEYSEL DİABET OLUŞTURULAN RATLARDA  
BAZI AKUT FAZ PROTEİNLERİ VE İZ  
ELEMENTLER ARASINDAKİ İLİŞKİLER**

**AYŞENUR KAHYAOĞLU**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Pınar ALKİM ULUTAŞ**

**AYDIN-2011**

## ÖNSÖZ

Diabetes mellitus, kan şeker düzeyinin yüksekliği ile karakterize, kronik ve çok tehlikeli bir hastalıktır. Tüm dünyada yaygın olarak rastlanır. İnsülin noksanlığına bağlı olduğu gibi, hücre yüzeyinde bulunan reseptörlerin azlığı sonucunda da şekillenebilir. Kanda glukozun normal değerlerin üzerinde bulunması toksik etkilidir ve vücudun tüm hücrelerinde az veya çok tahribata neden olur. Bu tahribat, çok yavaş olmasına karşın oldukça tehlikelidir. Diabetes mellitus, hiperglisemi, dislipidemi, glikozuri ve bunlara eşlik eden birçok klinik ve biyokimyasal bulgu ile seyreden sistemik kronik bir metabolizma hastalığıdır. Eğer hastalık iyi kontrol edilmezse akut ve kronik komplikasyonlar gelişebilir. Hastalığın uzun sürede ortaya çıkan komplikasyonlarının başlıcaları ise; dolaşım sistemi (kardiyovasküler) hastalıkları (hipertansiyon, kalp yetmezliği ve ateroskleroz gibi), kronik böbrek yetmezliği (nefropati), körlüğe sebep olabilen retina hasarı (retinopati), çeşitli tiplerde sinir hasarları (periferik nöropati) ve yara iyileşmesini geciktiren ve impotense sebep olan mikrovasküler bozukluklar sayılabilir. Akut faz cevap herhangi bir doku hasarını takiben kısa sürede ortaya çıkan nonspesifik bir reaksiyondur. Akut faz reaksiyonun en önemli özelliği, karaciğerden CRP, seruloplazmin ve haptoglobin gibi akut faz proteinlerinin üretimidir. AFP infeksiyöz, immunolojik, neoplastik, travmatik ya da paraziter nedenlerden dolayı oluşur. Tanı amaçlı olarak akut faz proteinleri düzeylerindeki artışlar nonspesifik olmasına rağmen ayırıcı tanının konması ve yangının monitorizasyonunda kullanışlı parametreler olarak kabul edilmektedir. İnsanlarda yapılan çalışmalarda diabetli bireylerde myokard infarktüsü ve felç olma olasılığının sağlıklı bireylerden daha yüksek oranda olduğu ve arterioskleroz riskinde normal bireylerden 2 -4 kat fazla olduğu bildirilmiştir. Demir, bakır ve çinko immun sistemle direkt ilişkili önemli iz elementlerdir ve bu iz elementlerin akut faz proteinleri ile de yakın ilişkisi bulunmaktadır. Bu çalışmamızda deneysel diabet oluşturduğumuz ratlarda CRP ile birlikte diğer önemli akut faz proteinlerinden olan seruloplazmin ve haptoglobin düzeyleri belirlendi bu hayvanlardaki inflamatorik süreçte nasıl etkilendikleri ortaya konuldu ve immun fonksiyonun önemli belirteçlerinden olan demir, bakır ve çinko düzeyleri de araştırıldı.

Araştırma “Deneysel Diabet oluşturulan ratlarda bazı akut faz proteinleri ve iz elementler arasındaki ilişkiler” isimli tez VTF- 10005 nolu proje Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Birimi tarafından desteklenerek gerçekleştirilmiştir.

# İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	i
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
1.1. Diyabetes Mellitus	4
1.1.1. Tarihçesi	4
1.1.2. Diyabetes Mellitusun Tipleri	5
1.1.3. Diyabetten Kaynaklanan Komplikasyonların Biyokimyasal Temeli	7
1.1.4. Diyabet ve inflamasyon	9
1.2. Deneysel Diyabet Modelleri	9
1.2.1. Streptozotosin	10
1.2.2. Kimyasal Diyabette Biyokimyasal Değişiklikler	11
1.3. Akut Faz Yanıt	11
1.3.1. Akut Faz Yanıtın Etkileri	12
1.3.2. Akut Faz Yanıt ve Klinik Kullanımı	14
1.3.3. Akut Faz Proteinleri	15
1.3.4. Akut Faz Proteinlerinin Düzenlenmesi	16
1.3.5. Akut Faz Proteinlerinin Biyolojik Fonksiyonları	17
1.3.6. Negatif Akut Faz Proteinleri	19
1.3.7. Pozitif Akut Faz Proteinleri	19
1.3.7.1. Haptoglobin	19
1.3.7.2. C-Reaktif Protein	20
1.3.7.3. Seruloplazmin	21
1.4. İz Elementler	22
1.4.1. Çinko	22
1.4.2. Bakır	24
1.4.3. Demir	26

<b>1.5. Diyabette İz Elementler</b>	<b>29</b>
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>30</b>
<b>2.1. Gereç</b>	<b>30</b>
<b>2.1.1. Deney Hayvan Materyali</b>	<b>30</b>
<b>2.1.2. Kullanılan Cihazlar</b>	<b>30</b>
<b>2.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler</b>	<b>30</b>
<b>2.2. Yöntem</b>	<b>31</b>
<b>2.2.1. Deney Grupları ve Uygulama Protokolü</b>	<b>31</b>
<b>2.2.2. Serum Örneklerinin Hazırlanması</b>	<b>31</b>
<b>2.2.3. Serum Seruloplazmin Düzeyi Ölçümü</b>	<b>31</b>
<b>2.2.4. Serum Haptoglobin Düzeyinin Belirlenmesi</b>	<b>32</b>
<b>2.2.5. Serum CRP Düzeyinin Belirlenmesi</b>	<b>33</b>
<b>2.2.6. Serum Bakır Düzeyinin Belirlenmesi</b>	<b>35</b>
<b>2.2.7. Serum Demir Düzeyinin Belirlenmesi</b>	<b>35</b>
<b>2.2.8. Serum Çinko Düzeyinin Belirlenmesi</b>	<b>36</b>
<b>2.3. 9. İstatistiksel Yöntem</b>	<b>36</b>
<b>3. BULGULAR</b>	<b>37</b>
<b>4. TARTIŞMA</b>	<b>41</b>
<b>5. SONUÇ</b>	<b>45</b>
<b>ÖZET</b>	<b>46</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>47</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>48</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>60</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>61</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

ATP:	Adenozin Tri Phosphate
AFY:	Akut Faz Yanıt
AFP:	Akut Faz Proteini
ACTH:	Adreno Cortico Tropic Hormon
Cu:	Bakır
CRP:	C-Reaktif Protein
DNA:	Deoksirubo Nükleik Asit
DM:	Diabetes Mellitus
EIA:	Enzym İmmunoassay
EPO:	Eritropoietin Hormonu
ESH:	Eritrosit Sedimantasyon Hızı
GSH:	Glutamil-Sisteinil-Glisin(Tripeptit)
HbA1c:	Glikohemoglobin
Hp:	Haptoglobin
HIV:	Human Immunodeficiency Virüs
IL-1:	İnterleukin 1(inflamatör sitokin)
IL-6 :	İnterleukin 6
IGF-2:	İnsülin Growth Factor Typ 2
IFN- $\gamma$ :	İnterferon Gamma
LDL:	Low Density Lipoprotein
MAO:	MonoAminOksidaz
NIDDM:	Non-İnsülin-Dependent-Diabetes
NADPH:	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Phosphate
NAD <sup>+</sup> :	Nikotinamid Adenin Dinükleotit
RNA:	Ribonükleikasit
STZ :	Streptozotosin
SOD:	Superoksit Dizmutaz
SAA:	Serum Amiloid A
SPSS:	Statistical Packages for the social Sciences
SLE:	Sistemik Lupus Eritamatozus
TNF- $\alpha$ :	Tumör Nekrozis Faktör Alfa

TGF- $\beta$ : Transforming Growth Faktör Beta  
WHO: World Health Organization  
VKİ : Vücut Kitle İndeksi  
WOSCOPS: West of Scotland Coronary Protection Study  
Zn: Çinko

## ÇİZELGELER

	<b>Sayfa</b>
Çizelge 1.1. Sitokinler ve Akut faz proteinleri arasındaki ilişki	16
Çizelge 1.2. Türlerine göre temel, hafif ve değişmeyen pozitif akut faz proteinleri	18
Çizelge 3.1. Kontrol ve deneme grubu ratların ortalama serum CRP, haptoglobin, seruloplazmin, demir, bakır ve çinko düzeyi sonuçları	37



## ŞEKİLLER

	<b>Sayfa</b>
Şekil 1.1. Akut faz yanıt	14
Şekil 3.1. Kontrol ve deneme gruplarının ortalama serum CRP düzeyleri	38
Şekil 3.2. Kontrol ve deneme gruplarının ortalama serum haptoglobin düzeyleri	38
Şekil 3.3. Kontrol ve deneme gruplarının ortalama serum seruloplazmin düzeyleri	39
Şekil 3.4.. Kontrol ve deneme gruplarının ortalama serum bakır düzeyleri	39
Şekil 3.5. Kontrol ve deneme gruplarının ortalama serum demir düzeyleri	40
Şekil 3.6. Kontrol ve deneme gruplarının ortalama serum çinko düzeyleri	40

# 1. GİRİŞ

Diyabetes Mellitus yani şeker hastalığı, kronik hiperglisemi ile karakterize kronik bir hastalıktır. Bütün dünyada oldukça yaygın olarak görülür. Diyabet, insülin yetersizliğinin bir sonucu olarak ortaya çıkabileceği gibi hücrelerin yüzeyine lokalize olan insülin reseptörlerin azlığı ya da hiç bulunmaması durumunda da görülür (Szkudelski 2001, Yavuz ve ark 2003). İnsülin eksikliğinde veya yokluğunda, besinler yoluyla alınan karbonhidratlar hücrelere yeteri kadar alınmaz. Bunun sonucu olarak, kandaki şeker düzeyi referans değerlerin üzerine çıkar. Ancak, Diyabetik bireylerin hücrelerindeki glukoz miktarı hücrelerin ihtiyacını karşılamaktan çok uzaktır. Hücrelerin glukozu karşı bir açlığı söz konusudur (Ekmetzoglou ve Zografos, 2006).

Kanda glukozun normal değerlerin üzerinde bulunması toksik etkilidir ve vücudun tüm hücrelerinde az veya çok tahribata neden olur (Mesa ve ark 2006, Song ve ark 2004, Çalışkan ve ark 2006). Bu tahribat, çok yavaş olmasına karşın oldukça tehlikelidir. Tahribatın yavaşlığı zamanında önlem alınmasıyla geri dönüştürülebilir olması yüzünden olumlu olmakla birlikte, şeker hastalarında hipergliseminin önemli bir zararının olmadığı yönünde bir düşüncenin oluşmasına ve hastalıkları konusundaki vurdumduymaz bir tavır sergilemelerine sebep olabilmektedir. Böylelikle, hipergliseminin doku ve organlar üzerinde zamanla oluşturacağı tahribat birçok hastalığın kısa sürede oluşturduğu yıkıcı etkiden çok daha ileri düzeylerde olabilmektedir. Hastaların bir yandan yaşam kaliteleri bozulurken, diğer yandan yaşam süreleri kısalmaktadır. Tahribatın organlar ve dokular üzerindeki etkisi farklılıklar göstermekle birlikte, Diyabetin komplikasyonlarından etkilenmeyen organ yok gibidir. Diyabetli bireyler çok sayıda komplikasyon ile karşı karşıya kalırlar. Damarlarda tahribat, miyokart infarktüsü, görme kaybıyla sonuçlanan katarakt, böbrek yetmezliği, proteinüri, osteoporoz, hiperlipidemi, hiperkolesteremi diyabetin başlıca komplikasyonları arasında sayılabilir (Hausler ve ark 1963, , Drury 1989, Fitzgerald ve Caldwell 1990, Yenigün ve ark 1995, Biberoglu 1998, Chang ve ark 2005, Surendran ve ark 2006, Vásquez ve ark 2006,). Serum glukoz düzeyleri diyabet tanı kriterleri içinde bulunan bireylerin miyokard infarktüsüne maruz kalma olasılığı ile felç olma yüzdelerinin sağlıklı bireylerden çok daha fazla olduğu rapor edilmiştir (Yenigün 1995). Kalbin kendi dokusunu beslemekle görevli koroner arterlerde görülebilen daralma veya tıkanıklık Diyabetli bireylerde sağlıklı bireylere göre 2 ile 4 kat daha fazladır (Güngör ve ark 2004, Farhangkhoe ve ark 2006, Haffner 2006, Huanga ve ark 2006). Diyabetin neden olduğu

komplasyonların sonucu ortaya çıkan kangren yüzünden ayak-bacak kesilmeleri olabilmektedir. Sinir dokusunda görülen tahribata bağı olarak his kusurları, mide-barsak sorunları gelişebilmektedir (Haffner 2006). Pek çok cilt hastalığının temelinde yine şeker hastalığı yatmaktadır. Diyabetli hastalarda hipergliseminin neden olduğu komplasyonlar daha çok hastalığın ileri dönemlerinde görülmekle birlikte, vücut için kısa süreli ancak yüksek düzeydeki kan glukozunun da toksik etkili olduğu ve organizmada çeşitli komplasyonlara neden olabileceği bildirilmiştir (Rolo ve Palmeire 2006). Bu komplasyonlar özellikle artan kan glukoz düzeyini regüle etmeye çalışan organlarda gözlenir. Bunların başında ise yükselen kan glukoz düzeyini ürinyasyon yolu ile regüle etmeye çalışan böbrekler gelir. Ayrıca, artan kan şekerini normal değerlere çekmek için pankreasın  $\beta$ -hücrelerinden aşırı miktarda insülin salgılanır. Özellikle tip II Diyabet hastalarında gözlenen bu durum bir süre sonra  $\beta$ -hücrelerinin iflasına neden olur ve hastalık daha vahim bir hal alır (Yenigün 1995).

Diyabetes Mellitus'da belirgin erken belirtiler ve geç bulgular olmak üzere iki süreç vardır. Erken belirtiler, metabolik defektle alakalı iken geç bulgular ise vasküler defektle ilgili organ komplasyonlarını beraberinde getirir. Diyabetes Mellitus'un geç komplasyonları; diyabetik retinopati, diyabetik nefropati, diyabetik nöropati ve çeşitli vasküler hastalıklardır ki sakatlıkların ve ölümlerin çoğu bunlara bağı meydana gelmektedir. Diyabetik bireylerde salgılanan aşırı insülin tubuluslarda sodyumun tutulmasına neden olur. Sodyumun aşırı tutulması ise hipertansiyonun şekillenmesine katkıda bulunur (Song ve ark 2004). Günümüzde yapılan diyabet taramaları her geçen gün diyabetli hasta oranının sağlıklı bireylere göre arttığı sonucunu vermektedir. Bunun nedenleri arasında diyabet hastalarının yaşam sürelerinin antidiyabetik ilaçları kullanılmaları sonucu uzaması, her geçen gün toplumun beslenme alışkanlığının değişmesi ile birlikte aşırı karbonhidrat ve yağ alınması ile tanı kriterlerinde gözlenen gelişmeler olarak sıralanabilir (Harding ve Scherthaner 1996).

Bu hastalıkta genel olarak karbonhidrat metabolizması etkilenmekle beraber, protein ve lipit metabolizmasında da önemli bozukluklar oluşmaktadır. Diyabetes mellitus'ta metabolizma bozukluklarına yol açan başlıca etken insülin yetersizliği veya insülin reseptörlerinin yokluğudur. İnsülin yetersizliğinde önce karbonhidrat metabolizması, bunu takiben de lipit ve protein metabolizmaları bozulmaktadır (Mieko ve Valentovic 2006). Pankreas önemli fonksiyonları olan bir organdır. İşlevlerinden ikisi, özellikle çok önemlidir. Bunlardan ilki, besinlerin sindirimi için bağırsaklara çeşitli enzimler içeren bir özsu salgılamaktır. İkincisi ise, "Langerhans adacıkları" denen hücre kümeciklerindeki "beta" hücrelerinden insülin, "alfa" hücrelerinden ise glukagon salgılayarak kana aktarmaktır. Bu iki hormon ortaklaşa çalışırlar;

dokulardaki şeker tüketimini denetlerler ve düzenlerler (Tura ve Zhao 2006). Besinler, özellikle de glukoz, sindirim sisteminden kana geçince pankreas da kana insulin salgılar. Aslında pankreas çok önce, daha glukoz kana ulaşmadan çalışmaya başlar. Yemek masaya konduğu anda, görme ya da koklama duygusu yoluyla güdülenip işe koyulur. İnsulin, karaciğere ve kaslara glukozla eş zamanlı olarak ulaşır; büyük bir hızla, glukozun glikojen şeklinde depolanmasında anahtar görevini üstlenir. İnsulin organizma hücrelerinin çoğunu etkiler. Bir hücrenin insulin tarafından etkilenebilmesi için, hücre membranında insulin reseptörlerinin bulunması gerekir. Öyle ki insulin hücre içine girmeden, hücre membranındaki reseptöre bağlanır ve bu bağlantı sonucu, reseptörün hücre içi kısımlarındaki tirozin aminoasitler; ATP'den fosfat radikalleri olarak tirozin fosfat oluşturur. Tirozinlerin fosforilasyonu sonucu, reseptörler uyarılır ve bir tirozin kinaz olarak çalışıp, hücre içinde birtakım olayların başlamasına yol açar. Olaylar, hücrelerin görevlerine göre değişir. Karaciğer hücrelerinde, insulin etkisi altındaki en önemli olaylar arasında, glukozun glikojene çevrilip depolanmasının artması, glikojenin çözülmesinin ve böylelikle glukozun hücre dışına çıkabilmesinin önlenmesi ve başka besinlerin glukozla çevrilmelerinin önlenmesi vardır. Kas veya doku hücrelerinde insulin, hücre içinde önceden yapılmış glukoz taşıyıcılarının hücre membranına gelmelerini sağlar; böylelikle taşıyıcılar glukozun kandan hücre içerisine girmesini kolaylaştırır (Fawcett ve ark 2004, Luis ve ark 2005).

Ayrıca insulin, bu hücrelerde glukozun metabolizmasını arttırarak piruvata (oksijene bağlı olmayan“glikoliz”) çevrilmesini sağlar; sonradan piruvat oksijene bağlı metabolizma ile CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>O'ya çevrilir ve bu arada enerji kaynağı ATP molekülleri yeniden ortaya çıkar. (Krebs siklusu) Sonuç olarak insulin, glukozu kandan dışarı çıkartmak, kullanılması ya da depolanması için organlara sokmak, kandaki şeker düzeyini aşağı değerlere çekmek görevini üstlenir. Dahası insulin, glikozun hücrelere girmesi ve aminoasitler, yağ asitleri gibi karbonhidrat içermeyen maddelerin depolanması için de çalışır (Mohan ve ark 1991, Avramoğlu ve ark 2006). Pankreas beslenme aralarında, bir anlamda dinlenmeye çekilir. Bu evrelerde, çok az miktarda, glukozun yakılmasına yetecek kadar kana insulin salgılanır. Çünkü insulin anahtar görevini yapamazsa, glukoz hücrelerin büyük bir kısmına giremez, dolayısıyla yakılamaz. Bu yüzden, tam yemek sırasında insulin ihtiyacı üst düzeye çıkar, yemek aralarında ise azalır (Rane ve ark 2006). Kanda şeker düzeyi düşünce, insulin salgılanması azalır ve kan şekeri düzeyini arttırıcı hormonlar (glukagon, katekolaminler, büyüme hormonu, kortizol) devreye girer. Ardından, depolardan glukozun kana salınımı başlar. İşte, karbonhidrat metabolizmasını düzenleyen bu sistemin herhangi bir nedenle bozulması, diyabetin ortaya çıkmasına yol açar (Altuntaş 2001). Tüm diyabet vakalarının %80'ini oluşturan Tip II diyabet (insuline bağımlı olmayan diyabet

“NIDDM”)’in toplumumuzdaki sıklığının % 2-5 civarında olduğu tahmin edilmektedir. Özellikle yaşam tarzı büyük ölçüde değişikliğe uğramış ülkemiz gibi endüstrileşmekte ve gelişmekte olan ülkelerde Tip II diyabetin görülme sıklığı artmaktadır (Scherthaner 1996, Bağrıaçık 1997, Molnár 2004, Harding ve ark 2006).

## **1.1.Diyabetes Mellitus**

### **1.1.1.Tarihçesi**

Günümüzde tıp literatüründe kullanılan, Diyabetes ve Mellitus kelimeleri Yunanca akıp gitmek anlamına gelen dia+betes ve bal kadar tatlı anlamına gelen mellitus kelimelerinden türetilmiştir. Diyabet kelimesi ilk kez Anadolu topraklarında, Kapadokya'da M.S. 2. yüzyılda Arateus tarafından kullanılmıştır. Arateus şeker hastalığını idrar miktarında artma, aşırı susama ve kilo kaybının olduğu bir hastalık olarak tanımlamıştır (Bağrıaçık 1997). Diyabet hastalarının idrarının tatlı olduğu 17. yüzyılda bir İngiliz doktor olan Thomas Willis tarafından tekrar keşfedilmiştir. Willis, şekersiz şeker hastalığı olarak adlandırılan ve vücudumuzun su dengesini ayarlayan bir hormon olan antidiüretik hormon eksikliği sonucu ortaya çıkan Diyabetes insipidus ile Diyabetes mellitusun ayırımını yapmıştır (Zoltan ve Willis 2004). Paul Langerhans 1869 yılında verdiği doktora tezinde pankreas bezi içindeki küçük hücre topluluklarını göstermiştir. Bu hücre toplulukları günümüzde "Langerhans Adacıkları" olarak bilinmektedir. Edouard Laguesse de 1893 yılında bu hücrelerin pankreas bezinin endokrin hücreleri olduğunu öne sürmüştür (Kloppe ve Bauer 1969). Banting ve ark köpek pankreasından elde ettikleri çözeltiyi pankreası çıkartılarak diyabetik yapılmış köpeğe vererek kan şekerinin düştüğünü saptamışlar ve ardından insulin'i 1921 yılında izole ederek önemli bir mucize gerçekleştirmişlerdir ( Kenez 1978, Banting ve ark 1991).

Collip elde edilen insulini daha da saflaştırarak ilk kez 1 Ocak 1922 tarihinde diyabetik bir hasta olan Leonard Thompson üzerinde denemiş ve o zamana kadar ölümcül bir hastalık olan şeker hastalığını tedavi etmiştir. Bunu takiben de Eli Lilly firmasının çabaları ile insulin üretimi daha da geliştirilmiş ve 1923 yılından itibaren yaygın olarak Kuzey Amerika ve Avrupa'da kullanılmaya başlanmıştır (Banting ve ark 1991). Amerikalı doktor Eliott P. Joslin insulini ilk kullanan doktorlardandır. Boston'da insulinin kullanılmaya başlandığı 1922 Ağustos'tan itibaren ilk yıl toplam 293 şeker hastasını tedavi etmiştir. Dr. Joslin günümüzde de tedavinin en önemli parçasını oluşturan hasta eğitimini sistemli olarak uygulamaya başlamıştır.

### 1.1.2.Diyabetes Mellitusun Tipleri

Günümüze kadar Diyabetin değişik sınıflandırılmaları yapılmıştır. Önceleri diyabet başlama zamanına göre ‘‘Jüvenil Diyabetes Mellitus’’ ve ‘‘Erişkinlikte Başlayan Diyabetes Mellitus’’ olarak ikiye ayrılmış, zamanla bu şekilde sınıflandırma bazı klinik durumları açıklayamadığı için değiştirilmiştir. 1979 yılında ‘‘National Diyabetes Data Group’’ Dünya Sağlık Örgütüncü (WHO) de kabul gören ve 1985 yılında son şekli verilen bir sınıflandırma yapılmıştır (Yenigün 1995).

Bu sınıflandırmada Diyabet üçe ayrılmıştır:

1. Aşıkâr (Aleni) Diyabetes Mellitus
2. Bozulmuş Glukoz Toleransı
3. Gestasyonel Diyabetes Mellitus

Aşıkâr (Aleni) Diyabetes Mellituslu bireylerde hastanın diyabetli olup olmadığı yönünde bir şüphe bulunmaz. Bu tip şeker hastalarının serum glukoz konsantrasyonları eğer tedavi uygulanmamışsa her zaman normal değerlerin üzerindedir. Aşıkâr şeker hastalığının da iki tipi söz konusudur. Hastanın ketoasidozu önlemek için ekzojen insülin ihtiyacının bulunup bulunmadığına göre Tip I (insülin bağımlı) ve Tip II (insülin bağımlı olmayan) Diyabetes Mellitus olarak ikiye ayrılır (Raju 2003, Tietz 1986). Tip I Diyabet pankreasın  $\beta$ -hücrelerinin otoimmün bir cevap sonucu tahrip olmasından kaynaklanmaktadır.  $\beta$ -hücrelerinin tahrip olması sonucu bu hücrelerden insülin salgılanamamakta ve doğal olarak da glukozun hücrelerin içine girişine aracılık eden bu hormonun yokluğundan kaynaklanan bir hiperglisemi şekillenmektedir. Bu tip şeker hastalığının tüm Diyabetliler içerisindeki oranı yaklaşık %10 gibidir (Rolo ve Palmeire 2006).

Tip II Diyabetes Mellitus pankreastan kana verilen insülinin vücutta yeterince etki gösterememesi sonucu ortaya çıkar. Bu tip hastalarda bazen de uzun süren hiperglisemi durumunun pankreasdaki insülin salgılayan  $\beta$ -hücrelerinde tahribata neden olmasıyla hipoinsülinemiden kaynaklanan bir hiperglisemi söz konusudur. En sık görülen diyabet tipidir. Tip II şeker hastalığının görülme sıklığı, tüm diyabet vakaları içinde %90’dır (Yenigün 1995, Nayak ve Bhaktha 2005, Rolo ve Palmeire 2006). Genç insanlarda da görülebilmemesine rağmen genellikle 35-40 yaşından sonra ortaya çıkar. Tip II Diyabetli hastaların serum insülin konsantrasyonları referans değerler üzerinde ( $> 26 \mu\text{U/ml}$ ) bulunmasına karşın hastaların serum

glukoz düzeyleri de normal değerlerin üzerindedir (Turgut 2000). Yani, hem hiperinsülinemi hem de hiperglisemi durumu söz konusudur. Tip II Diyabet hastalarında insülin direncinin nasıl şekillendiği henüz tam olarak açıklanamamıştır.

İnsülin intoleransından veya anormal insülin sekresyonundan kaynaklanan tip II Diyabet daha yaygın olup, sadece Amerika Birleşik Devletlerinde 16 milyon kişinin Tip II Diyabet hastası olduğu rapor edilmiştir (Khan ve ark 2006). Tip II Diyabet hastalarının yaklaşık yarısının hastalığının farkında bile olmadığı bildirilmiştir (Nayak ve Bhaktha 2005). Tip II diyabet olgularını tip I diyabet hastalarından ayırmak için serum LDL konsantrasyonlar karşılaştırılmalıdır. Tip I diyabet hastalarının serum LDL konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde bir farklılık gözlenmezken tip II diyabetik bireylerin serum LDL konsantrasyonlarında önemli artışların olduğu bildirilmiştir. (Tietz 1986). Tüm diyabet vakalarının %80'ini oluşturan Tip II diyabet (insuline bağımlı olmayan diyabet "NIDDM")'in toplumumuzdaki sıklığının % 2-5 civarında olduğu tahmin edilmektedir. Özellikle yaşam tarzı büyük ölçüde değişikliğe uğramış ülkemiz gibi endüstrileşmekte ve gelişmekte olan ülkelerde Tip II diyabetin görülme sıklığı artmaktadır (Schernthaner 1996, Bağrıaçık 1997, Molnár 2004, Harding ve ark 2006).

Bozulmuş glukoz toleransı ise serum glukoz konsantrasyonu normal sınırların üzerinde olan fakat diyabet tanı kriterlerine uygunluk göstermeyen kişiler için kullanılmaktadır. Bu gruptaki kişilerin ileride diyabet tanısını alması normal popülasyona göre daha yüksektir. Açlık kan şekeri 115-139 mg/dl olarak tespit edilen bireyler için bozulmuş glukoz toleransından bahsedilir (Yenigün 1995).

Diyabetes mellitus, dünyada ölüme sebebiyet veren hastalıklar arasında üst sıralarda yer almaktadır. Diyabet prevalansı ülkeden ülkeye ve halktan halka, büyük farklılıklar gösterir. Az gelişmiş ülkelerde Diyabet sıklığının daha az olduğu kabul edilir. Diyabetes Mellitusun hem insidensi hem prevalansı ileri yaşlarda artmaktadır (Rolo ve Palmeire 2006). Kadınlarda Diyabet, erkeklere oranla biraz daha fazladır (Yenigün 1995). İnsülinin keşfedildiği zamana kadar Diyabet kaynaklı ölümlerin nedenlerinin en başında ketoasidoz gelmekteydi (Khan ve ark 2006). Günümüzde şeker hastalarında gözlenen ölüm nedenleri arasında bu hastalığın çeşitli komplikasyonları yatmaktadır (Aleksandrovski 1998). Diyabetes Mellitus bir kere şekillendimi koroner ve serebrovasküler komplikasyonlar, periferel arterial bozukluklar, nefropati (Drury ve ark 1989) ve retinopati (Hausler ve ark 1963, Fitzgerald ve Caldwell 1990, Brownlee 2000, Chang ve ark 2005) ile karşılaşmak her an olasıdır. İnsülin pankreasdan kan dolaşımına verilir. Ağız yoluyla alınan besinler bağırsaklardan emilerek karaciğere gelir ve

orada vücudun başlıca yakıtı olan glukozla dönüştürülür. Karaciğerde bulunan glukoz daha sonra kan dolaşımına geçerek kan şekerini yükseltir. Yükselen kan şekeri pankreastan insülinin kana geçmesini indükler. İnsülin ise kanda dolaşan şekerin vücudumuzdaki hücrelere alınarak kullanılmasını ve vücudumuzun ihtiyacı olan enerjinin üretilmesini sağlar. Diyabetli bireylerin besinler yolu ile aldıkları ve ana enerji kaynağı olan glukoz insülin sentezinin yapılamaması veya hücrelerin insüline duyarsız kalmaları sonucu yeterince kullanamaz. Glukoz kan dolaşımında kalarak kan şekerini yükseltir. Diyabetli hastaların vücudu şeker denizi içinde yüzerken bu bireylerin hücreleri şekersizlikten, enerji üretmek için yağları ve proteinleri enerji kaynağı olarak kullanmaya başlar. Çünkü şekeri kullanması için gerekli anahtar olan insülin eksiktir veya etkisizdir (Ekmetzoglou ve Zografos 2006).

### **1.1.3. Diyabetten Kaynaklanan Komplikasyonların Biyokimyasal Temeli**

Bugüne kadar diyabetin komplikasyonlarının biyokimyasal temelinin açıklanmasına yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Hayvan modelleri kullanılarak oluşturulan sayısız deneysel çalışmalara karşın komplikasyonların tümünün nasıl ortaya çıktığının açıklanması tam olarak mümkün olmamıştır. Bunun nedeni ise diyabet sonucu ortaya çıkan komplikasyonların çok sayıda organı etkilemesi olarak gösterilmiştir. Kan glukoz seviyesinin uzun süreli yüksek seyretmesi dokularda yapısal değişikliklere neden olmaktadır. Dokularda oluşan hasarın nedenleri arasında proteinlerin nonenzimatik glikolizasyonu önemli bir yer tutar. Glikolize olan proteinler biyolojik fonksiyonlarını yerine getirememektedir (Ekmetzoglou ve Zografos 2006).

Kan glukoz konsantrasyonu referans değerler arasında bulunan sağlıklı bireylerde glukozun çok küçük bir miktarı poliollu yolu ile metabolize edilir ve sorbitol açığa çıkar (Ekmetzoglou ve Zografos 2006). Diyabetik bireylerde artan glukoz konsantrasyonu poliollu yolunun anahtar enzimi olan aldoz redüktazın sentezini stimüle eder ve bunun sonucu olarak da hücrelerde bol miktarda sorbitol birikir. Sorbitol hücre membranını geçemeyen bir komponent olduğundan hücrelerde sorbitol yığılması gözlenir. Hücrelerde biriken sorbitol hücre içi osmotik basınç artışına neden olur. Artan osmotik basınç hücrelerde stres oluşturur. Oluşan bu strese bağlı olarak da diyabet kaynaklı bazı komplikasyonlar açığa çıkar (Ekmetzoglou ve Zografos 2006, Tietz 1986).



Hipergliseminin sonucu poliol yolu oldukça hızlanmış ve NADPH + H<sup>+</sup> tüketimi artmıştır. Diğer yandan, hipergliseminin uyardığı süperoksitin aşırı derecede üretilmesi, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz enzimini inhibe etmektedir. Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz enzimi ise pentoz fosfat yolunun hız sınırlayıcı enzimidir. Yeterince glukoz-6-fosfat dehidrogenaz sentezlenemeyince pentoz fosfat yolunda sentezlenen NADPH + H<sup>+</sup> üretilemez. Buna bağlı olarak da NADPH + H<sup>+</sup> eksikliği daha belirgin bir hal alır. Metabolizma sırasında açığa çıkan serbest radikallerin eliminasyonu zorlaşır ve organizma üzerindeki oksidatif stres artar (Rolo ve Palmeire 2006).

Daha önceki yıllarda yapılan çalışmalarda hipergliseminin diaçilgliserolün *de novo* sentezini artırdığı bildirilmiştir. Bilindiği gibi diaçilgliserol protein kinaz C için endojen bir aktivatördür. Protein kinaz C ise hücre proliferasyonu, hücre kontraksiyonu ve hücre içine kalsiyum alımı gibi birçok metabolik olayda rol almaktadır. Uzun süreli hiperglisemi olgularında diaçilgliserolün fazlalığından kaynaklanan metabolizma bozuklukları görülür (Nishizuka 1992).

Hücrelere yeteri kadar glukoz alınmadığında enerji kaynağı olarak yağlar kullanılmaya başlar. Eğer hücre membranlarının sentezinde kullanılan yağ asitleri hücrenin enerji ihtiyacını karşılamak üzere kullanılırsa, hücre membranı sentezinde aksamalar gözlenir. Diyabetli bireylerde de benzer durum söz konusudur. Zaten bundan dolayıdır ki diyabetli hastaların yara iyileşmeleri geç olur. Yağ asitlerinin β-oksidasyonu sonucu mitokondrielerde açığa çıkan asetil-CoA'nın sitrik asit siklusuna girebilmesi için glukozun parçalanması ile açığa çıkan ürünlerden biri olan okzalasetat'a ihtiyaç duyulmaktadır. Yani, yağların organizma tarafından kullanılabilmesi için karbonhidratlara ihtiyaç duyulur. Diyabetli bireylerin hücrelerine yeteri kadar glukoz alınmadığından asetil-CoA sentezinde artış gözlenir. Yağ asitlerinde gözlenen yıkımın hızı ile keton cisimleri denilen kimyasal bileşikler (asetoasetik asit, β-hidroksibütirik asit ve aseton) ve kolesterol sentez hızı arasında bir paralellik söz konusudur. Buna bağlı olarak da ketozis şekillenir ve kan pH'sı düşer. Düşen kan pH'sı ise organizmanın tümü üzerinde olumsuz etkiler gösterir (Ekmetzoglou ve Zografos 2006).

İnsülin yetersizliğine bağlı olarak, karbonhidratların yeterince kullanılamaması, aşırı glikojen yıkımı ve glikoneogeneze bağlı kan şekeri düzeyinin yükselmesi sonucu idrara glukoz geçer ve glukozüri gözlenir. İdrarda glukoz bulunması ozmatik basıncın artışına neden olacağından şeker hastalarında aynı zamanda poliüri gözlenir. Vücuttan idrar yolu ile kaybedilen bol miktarda su ile birlikte aynı zamanda potasyum kaybı da olur ve bunun sonucunda diyabetli bireylerde genellikle hipokalemi şekillenir. Kasların kasılmasında

esansiyel bir rol üstlenen potasyum iyonlarının eksikliğinden dolayı şeker hastalarında koordinasyon bozuklukları şekillenir (Ekmetzoglou ve Zografos 2006).

#### **1.1.4. Diyabet ve İnflamasyon**

Son yıllarda inflamasyonun insülin direnci ve tip 2 diyabet gelişiminde rol oynadığına dair kanıtlar giderek artmıştır. Sağlıklı bireylerde düşük düzeyli inflamasyonun göstergesi olan CRP düzeylerinin koroner arter hastalığı riskini öngördüğü ve endotel disfonksiyonu ve insülin direnci şiddeti ile korelasyon gösterdiği bildirilmiştir. West of Scotland Coronary Prevention (WOSCOPS) çalışmasında yüksek CRP düzeylerinin VKİ, trigliserid, glukoz düzeyleri ve statin kullanımından bağımsız olarak tip 2 diyabet gelişimi riskini arttırdığı görülmüştür (Freeman ve ark. 2002). Buna ek olarak lökosit sayısında artmanın insülin etkisini kötüleştirdiği ve tip 2 diyabet gelişmesinde bir prediktör olduğu ortaya konmuştur (Ford 1999). Diğer yandan Crook ve ark. (1993) ile Pickup ve ark.(1997) diyabetin kanda akut faz inflamatuvar reaktanlarının artışı ile karakterize olan inflamatuvar bir hastalık olduğunu ortaya koymuşlardır. Diyabetli hastalarda sık görülen abdominal obezitedeki karın içi yağ dokusu düşük seviyeli kronik inflamatuvar durumun önemli bir belirleyicisidir. Visseral adipoz dokudan TNF- $\alpha$  ve IL-6 gibi inflamatuvarsitokinlerin salgılanmaktadır. İnsülin rezistans sendromu ve diyabeti olan hastalarda adipoz dokudan ve kas hücrelerinde TNF- $\alpha$  ve IL-6 ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (Saghizadeh ve ark.1996). İnsanlarda TNF- $\alpha$  infüzyonunun insülin direnci gelişimini indüklediği bulunmuştur. Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada diyet ile oluşturulan adipozitesi olan farelerde TNF- $\alpha$  geninin selektif delesyonunun insülin direnci gelişimini engellediği gösterilmiştir .

#### **1.2. Deneysel Diyabet Modelleri**

Diyabetin neden olduğu komplikasyonların incelenmesi ve tedavi yaklaşımlarının belirlenmesinde deneysel diyabet modelleri önemli bir yer tutmaktadır. Deneysel diyabet çalışmalarında cerrahi, kimyasal, viral yolla oluşturulan ve kendiliğinden gelişen modeller kullanılmaktadır (Baxter ve Duckworth 2004). Günümüzde deney hayvanlarında çeşitli kimyasal ajanlar kullanılarak deneysel diyabet oluşturmak mümkündür. Laboratuvar hayvanlarında kimyasal diyabet (tip I), yaygın olarak streptozotocin (STZ) ya da alloxan enjeksiyonuyla oluşturulmaktadır. STZ ve alloxan pankreatik  $\beta$  hücrelerine olan spesifik toksisiteleri nedeniyle diyabetojenik ajan olarak kabul edilmektedirler. Her iki ajan da kan

şekeri düzeyinde üç fazlı etki oluşturur. Maddenin kullanımını izleyen 2 saat içinde kan şekeri karaciğer glikojeninin ani yıkımı nedeniyle yükselir. İkinci faz ölümle sonuçlanabilecek hipoglisemik fazdır. Bu sırada hasara uğrayan  $\beta$  hücrelerinden hızla salıverilen insulinin plazma düzeyi hızla yükselir. Üçüncü faz, kalıcı hiperglisemik fazdır. Bu noktadan başlayarak insulin düzeyleri, kullanılan diyabetojenik ajanın dozu ile ilişkili olarak düşer ve kan şekeri yükselir (Szkudelski 2001). STZ, pankreasta serbest radikal temizleyicisi (scavenger) olan superoksit dismutazı inhibe eder ve böylece serbest radikallerin birikmesi sonucu  $\beta$  hücreleri yıkıma uğrar (Aruzmozhi ve ark 2004).

Hayvan modellerinde gözlenen diyabetik durum klinik diyabete çok benzemekle birlikte, deneysel modeller aslında hem kendi aralarında farklı özellikler taşımakta, hem de bu modellerden hiçbiri insanda gözlenen diyabeti tam olarak yansıtmamaktadır. Ancak, insanlar üzerindeki araştırmaların etik nedenlerden dolayı kısıtlı olması, diyabet ile ilgili araştırmalarda kullanmak amacıyla çok çeşitli deneysel modellerin geliştirilmesini sağlamıştır. Yine de diyabet araştırmalarında kullanılan hayvan modellerinin, insanlardaki diyabetin birçok özelliğini taşıdığı kabul edilmektedir (Öztürk ve ark 1998).

### **1.2.1. Streptozotosin (STZ)**

2-Deoksi-2-(3-Metil-3-Nitrozoüreido)-D-Glukopiranoz'dur. Streptomyces griseus'un metaboliti olan STZ'in antibiyotik, antitümöral ve karsinojenik etkileri vardır (Pickup ve ark 2002). STZ, pankreas  $\beta$  hücrelerine doğrudan toksik etkilidir. Yapısında bir glukoz molekülü içerdiği için plazma membranındaki glukoreseptörlere bağlanan STZ glukozla uyarılan insülin salınımını bloke eder. STZ'in temel etki yerlerinden biri de nükleer DNA'dır. STZ'in hücre içinde dekompozisyonu ile oluşan reaktif karbonyum iyonları DNA bazlarında alkilasyona neden olur. Bunu DNA tamiri izler ve tamir sırasında görev alan poli (ADPriboz) sentetaz hücre içindeki  $NAD^{+}$ 'ı kullanarak  $NAD^{+}$  depolarını boşaltır (Pickup ve ark. 2002).

Adacık hücrelerinin ekzojen nikotinamid ile tedavisi STZ'in diyabetojenik etkilerine karşı koruyucudur. STZ de alloksan gibi oksidan özelliğe sahiptir.  $\beta$  hücrelerinde glutatyon (GSH) düzeylerini, eritrositlerde ise süperoksit dismutaz(SOD) düzeylerini düşürür. STZ pankreas dokusu dışında böbrek ve karaciğere de hasar verir. Dokulara karşı irritan olduğundan uygulanımı sırasında damar dışına sızdırılmamalıdır. STZ - 20°C'de ışıktan korunarak saklanmalıdır. Çözeltisi uygulamadan hemen önce taze olarak ve

pH'sı 4 sitrat tampon içinde çözülerek hazırlanmalı ve 4°C'de ışıktan korunarak hemen kullanılmalıdır. Sıçanlarda 50-100 mg/kg dozunda I.V. veya I.P. uygulanabilir. Rodentlerde yaş ilerledikçe etkinliği azalmaktadır (Bell ve Hye 1983). Dozaj, birbirini izleyen 5-6 gün boyunca çok kez (multiple) ve ufak dozlar şeklinde (5 mg/kg/ gün) de uygulanabilir, buna subdiyabetojenik doz uygulaması denir. Bu modelde adacık hücrelerinde hücreyel immun yanıtın artışını düşündüren ağır bir mononükleer hücre infiltrasyonu (insülitis) oluşur ( Like ve Rossini 1976).

### **1.2.2. Kimyasal Diyabette Biyokimyasal Değişiklikler**

Diyabetojenik ajan uygulanım sonrası kan glukozunda üç fazlı bir yanıt oluşmaktadır:

**1. Geçici hiperglisemi fazı:** İlk 2 saatte oluşur; karaciğerde glikojenin ani yıkılımına bağlı olarak kan şekeri yükselir. Bu durum uygulamadan önce hayvan 12-18 saat aç bırakılırsa azaltılabilir. Bu dönemde plazma insülin düzeyleri düşüktür ( Bell ve Hye 983).

**2. Şiddetli hipoglisemi fazı:** Uygulamadan yaklaşık 6 saat sonra başlar. Diyabetojenik ilaç uygulamasını izleyen ilk 24 saat içindeki ölümlerden bu hipoglisemi sorumludur, bu nedenle diyabet indüksiyonundan sonraki ilk 24 saatlik dönemde hayvana şekerli sıvı (örneğin %10 glukoz solüsyonu) verilmesi tavsiye edilir. Hipoglisemi, hücrelerinin ölümüyle birlikte aşırı miktarda insülinin kana salınımına bağlıdır ve plazma insülin düzeyleri çok yüksektir. Aç bırakılan hayvanlarda bu etki daha da belirgindir, bu nedenle şiddetli hipoglisemiye bağlı ölümlere engel olabilmek için diyabetojenik ajanın tok karnına uygulanması da önerilmektedir ( Bell ve Hye 1983).

**3. Kalıcı hiperglisemi fazı:** Diyabetojenik ajan uygulanımından 10-12 saat sonra başlar. Bu fazda plazma insülin düzeyleri düşer ve aylarca düşük düzeylerde seyreder .

Kimyasal diyabette genel olarak glukagon fazlalığı söz konusudur ve ilk 24 saatte plazma glukoz ve insülin düzeylerine paralel değişiklikler oluşur. Glukagonla ilgili değişikliklerin doğrudan  $\beta$ -hücre hasarıyla mı yoksa insülin eksikliği nedeniyle mi geliştiği tam bilinmemektedir. Somatostatin salgılayan delta hücreleri ise diyabetojenik ajandan etkilenmez ancak uygulamadan 2 hafta kadar sonra insülinin düşüşü ve glukagonun yükselişine yanıt olarak somatostatin düzeylerinde artış olur (Bell ve Hye 1983).

### **1.3. Akut Faz Yanıt (AFY)**

Enfektif, immunolojik, neoplastik, travmatik, paraziter veya diğer nedenlere bağlı doku hasarının oluşmasından kısa bir süre sonra ortaya çıkan non-spesifik bir reaksiyondur (Eckersall ve ark 2006). AFY, doku hasarının olduğu bölgede aktive edilmiş lökositlerden salınan interlökin 1 (IL-1), interlökin 6 (IL-6) ve tmor nekrozis faktor-(TNF $\alpha$ ) gibi proinflamator sitokinler tarafından stimüle edilir (Gruys ve ark 1994). Bu sitokinler enfeksiyöz hastalıklara ve yangıya karşı primer yanıtı yönetir ve sistemik reaksiyonları geniş bir aralıktaki stimüle eder. Karaciğerde bu sitokinler akut faz proteini (AFP) olarak bilinen glikoproteinlerin üretimini ve plazma salınımını stimüle ederler (Eckersall ve ark 2006).

#### **1.3.1. Akut Faz Yanıtın Etkileri**

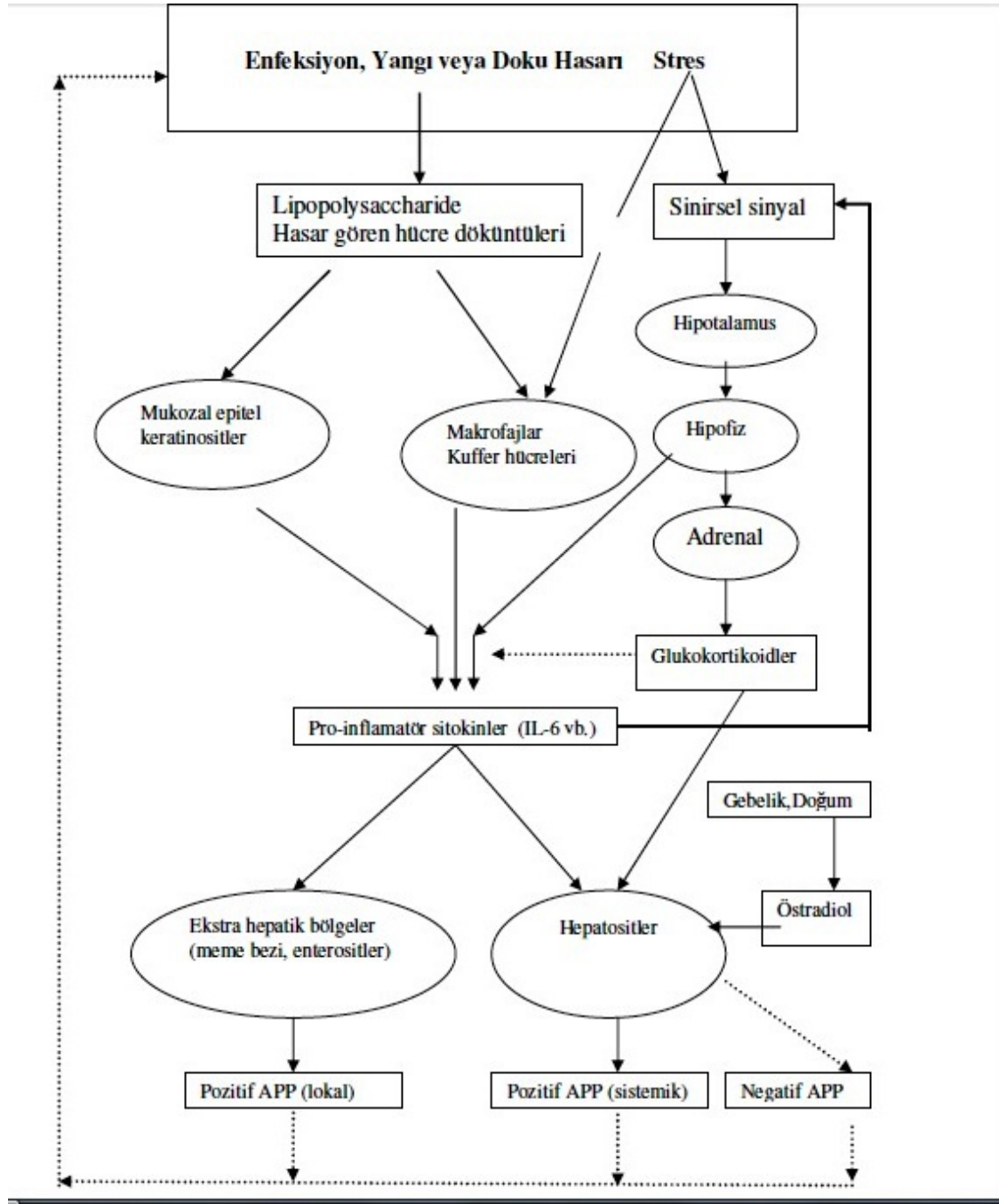
Mikroorganizmalar veya travmalar tarafından etkilenen dokular kendi başına çok sayıda cevabı başlatır. İlk olarak Pro-inflamatör sitokinler salınır, vasküler sistem ve yangısal hücreler aktive edilir. Bu cevapların oluşması ile sitokin ve dolaşımdaki diğer yangısal mediatörlerin üretimi artar. Sitokinler, hipofiz bezinin adrenal bölgesini aktive ederek ve büyüme hormon sekresyonunu azaltarak sistemik bir reaksiyona neden olan farklı hedef hücreler üzerindeki reseptörleri aktive eder. Bu aktivasyon sonucu ateş, anoreksi, negatif nitrojen balansı, kas hücrelerinin yıkımlanması, plazma düşük ve yüksek dansiteli kolesterol seviyelerinde azalma, lkositozis, ACTH ve glukokortikoid salınımında artış, komplement sistem ve kan pıhtılaşma sisteminin aktivasyonu, serum Ca, Zn, Fe, vitamin A ve alfa-tokoferol seviyesinde azalmanın yanı sıra akut faz proteinleri olarak bilinen bazı plazma proteinlerde değişiklikler meydana gelir (Dinarello 1989, Gruys ve ark 1994, Niewoldve ark 2003). Enfeksiyondan sonraki ilk saatler içerisinde karaciğerden sentezlenen bazı kan proteinlerinde şiddetli düşüş gözlenir. Bunlar Transthyretin (prealbumin), kortizol, binding protein, transferrin, ve albumin gibi negatif AFP'lerdir (Niewold ve ark 2003). Bazı AFP'ler ise bu süre içinde önemli artış gösterirler. C-reaktif protein (CRP), Serum Amiloid-A (SAA), haptoglobin (Hp), seruloplazmin (Cp), fibrinojen, alpha 1-asid glikoprotein (AGP) gibi proteinler pozitif AFP'lerdir (Niewold ve ark 2003, Murata ve ark 2004). Interleukin-6, TNF-I ve IL-1İ gibi pro-inflamatör sitokinler karaciğerden sentezlenen AFP'lerin temel mediatrleridir. İnterleukin-6 daha çok hepatik akut faz cevabında etkili olurken IL-1 ve TNF ekstrahepatik akut faz cevapta etkilidir. Bu sitokinler temel olarak makrofajlardan salınır fakat aynı zamanda internal veya eksternal uyarımlar sonucu diğer hücrelerden de salınır. İnterleukin-1 aktive edilmiş monosit ve makrofajlar tarafından

üretirken TNF, lipopolisakkaridlerce stimüle edilen makrofajlardan salınan bir polipeptittir. İnterleukin-6 karaciğer kuffer hücrelerinden, keratinositlerden, hipofizden veya mukozal epitelden sentezlenebilir.

Yangı, enfeksiyon veya doku hasarında savunmayı organize eden hücreler tarafından sitokinlerin salınması uyarılacaktır. Böylece AFP'lerin sentezlenmesi de uyarılır. İnsanlarda ve deney hayvanlarında fiziksel ve fizyolojik stresin plazma IL-6 ve AFP seviyelerini artırdığı ifade edilmiştir. Ayrıca fiziksel stresin sıgırlarda da AFP 'lerini arttırdığı bildirilmiştir (Nukina ve ark 2001).

İnflamasyona cevap olarak ortaya çıkan akut faz proteinlerindeki artışlar seruloplazmin gibi proteinlerde %50 oranında iken, bu oranlar kompleman komponentlerinde birkaç kat, CRP ve SAA gibi proteinlerde 1000 kat kadar olabilmektedir. Hali hazırda klinik uygulamada AFP 'nin en yaygın kullanılan göstergeleri; ESH, CRP, albumin ve SAA'dır. AFY' bağlı olarak adrenokortikotropik hormon ,kortizol, katekolominler, glukagon, insülin, büyüme hormonu, aldesteron, vazopressin, prolaktin hormonlarının serum konsantrasyonları artış gösterirken akut dönemde renin, tiroksin ve gonadal steroidlerin serum konsantrasyonlarında azalmalar gözlemlendiği bildirilmektedir. AFY de gelişen endokrinolojik değişikliklerin temel nedenleri tam anlamıyla açıklığa kavuşturulmamış olmakla birlikte, değişikliklerin vücuttaki enerji metabolizmasının uyarılması sonucu oluştuğu düşünülmektedir (Akay 2009).

Şekil 1.1. Akut faz yanıt



### 1.3.2. AFY ve Klinik Kullanımı:

Vücutta akut-kronik, lokal-sistemik etkiler sonucu ortaya çıkan AFY hafif kronik doku hasarı, lokalize hastalıklar, tekrarlayan ataklara bağlı inflamasyon durumlarında veya ülseratif kolit ve SLE gibi bazı sistemik hastalıklarda (ESH ve CRP gibi) normal olabilmektedir. AFY'nın şiddeti genellikle inflamasyonun büyüklüğü ve aktivitesine bağlıdır. Son derece şiddetli AFY bakteriyel infeksiyonlarda görülür ve bunun muhtemel nedeni makrofajlardan

salınan TNF ve sistemik endotoksinlerin uyardığı IL-1 ve, IL-6 salınmasıdır. Diğer klinik ve laboratuvar değerlendirmeler göz önüne alındığında AFY'nin değerlendirilmesi genellikle 4 ana nedene yöneliktir.

Bunlar;

- 1.Organik hastalığın belirlenmesi
- 2.Hastalığın aktivitesinin ve yaygınlığının belirlenmesi,
- 3.Tedavinin izlenmesi ve progresyonun takibi
- 4.Araya giren enfeksiyonların tespit edilmesidir.

### **1.3.3. Akut Faz Proteinleri**

Proteinler organizmada pek çok fizyolojik olayda rol oynayan maddelerdir. Dokuların temel yapı taşlarını oluşturmakla birlikte enzim ve hormon gibi vücutta çok sayıdaki kimyasal reaksiyonları düzenler. Proteinlerin sentezlenmesi genetik düzeyde kontrol edilmektedir. Bunun için de bireyler ve türler arasında proteinler bakımından farklılıklar ortaya çıkmaktadır. Kanda bulunan bazı proteinler, çeşitli yangı durumlarında hızla yükselir veya düşer. Özellikle bu hızlı artma /azalma akut dönemde daha belirgindir. Akut faz proteini, her hangi bir inflamatuvar hastalık süresince en az %25 kadar plazma miktarları artan (pozitif akut faz proteini) ve azalan (negatif akut faz proteini) protein olarak ta tanımlanır. Bu proteinler temel olarak karaciğerden sentezlenir ve çoğu glikoprotein yapısındadır. Akut faz proteinlerin salgılanması proinflamator sitokinler tarafından düzenlenir (Coşkun 2008).

Akut faz yanıt; immunolojik hastalıklar, neoplastik oluşumlar, travmalar, doku yaralanmaları veya enfeksiyonların sebep olduğu lokal veya sistemik hemostazis bozukluğuna karşı oluşan önemli sistemik bir reaksiyondur. AFP' ler enfeksiyon, yangı veya travmaya cevapta proinflamator sitokinlerin stimülasyonu ile çeşitli hastalık durumlarına tepki olarak üretilmektedir. AFP'lerin cevabının genişliği ve bir hastalık için spesifik olmaması bir dezavantaj olarak görülebilirken diğer uygun testlerle beraber değerlendirildiğinde klinisyenler için önemli tanı parametresi olacağı ifade edilmektedir. Bu yüzden AFP'ler 'Kimyasal Termometre' olarak adlandırılmıştır. Gerçekten de memelilerde beden ısısının ölçümünden daha stabil olduğu ve AFP'in cevabının hastalığın prognozu veya iyileşmesi ile yakın ilişkili olduğu vurgulanmaktadır (Coşkun 2008).



AFP ler, fagosit kaynaklı proteazların inhibisyonu, hücresel debrislerin temizlenmesi inflamatuvar sürecin yönlendirilmesi ve inhibisyonu şeklinde fonksiyon görürler.

#### 1.3.4.Akut Faz Proteinlerinin Düzenlenmesi:

Sitokinler aktif hücreler tarafından üretilen sinyalizasyon proteinlerdir. İnflamatuvar olaya katılan ve inflamasyon süresince üretilen sitokinler AFP'nin üretimini esas uyarıcılarıdır. Bu inflamasyonla ilişkili sitokinler arasında IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , ve muhtemelen IFN- $\gamma$  sayılabilir. Çeşitli hücre tipleri tarafından üretilen bu sitokinlerin en önemli kaynakları inflamasyon bölgesindeki lenfosit ve monositlerdir. IL-6 birçok akut faz protein üretimini esas uyarıcısı iken, diğerleri AFP'nin alt gruplarını etkilerler. Lipopolisakkaritler AFP'nin üretimini uyarma yeteneğinde olan diğer sitokinlerin üretimine neden olur.

Sitokin üretimi ve AFY farklı inflamatuvar durumlarda farklı özellikler gösterir. Birçok sitokinler, diğer sitokinler ve sitokin reseptörleri üzerine düzenleyici etki gösterirler. Sitokinler ve AFP'leri arasındaki ilişki aşağıdaki gibidir;

Çizelge1.1. Sitokinler ve Akut faz proteinleri arasındaki ilişki

Grup 1 sitokinler	Tip 1 AFP'leri
(TNF $\alpha,\beta$ , IL-1 $\alpha$ )	$\Rightarrow$ $\alpha$ 1 asit glikoproteinleri SAA,CRP, C3
	$\begin{matrix} \nearrow + \\ \searrow \end{matrix}$
Grup 2 sitokinler (IL-6 ailesi)	Tip 2 AFP'leri Fibrinojen, seruloplazmin $\alpha$ 1 antiitripsin, $\alpha$ 1 antikemotripsin haptoglobulin, hemopeksin

### **1.3.5. Akut Faz Proteinlerinin Biyolojik Fonksiyonları:**

AFP ile ilgili yeni araştırmalar sonucu her geçen gün yeni verilere ulaşılmaktadır (Peterson ve ark 2004, Ceron ve ark 2005). AFY sırasında plazma konsantrasyonları artan ve metal bağlayan proteinler arasında haptoglobin ve seruloplazmin bulunmaktadır (Pannen ve Robotham 1995). Haptoglobin demiri bağlamakta ve böylece demir kaybını önlemektedir. Demir kullanımındaki bu azalma,mikrobiyel gelişim için demirin gerekli olması nedeniyle dirençli bakteriyel enfeksiyonların engellenmesi açısından önemli bir durumdur.Haptoglobin temel fonksiyonu hemoglobinin bağlayabilme yeteneği ve haptoglobin-hemoglobinin kompleksini karaciğere taşıma özelliği olduğu düşünülmektedir.Bundan dolayı intravasküler hemolizde AFY 'ın devam etmesine rağmen haptoglobin düzeyleri belirgin derecelerde düşebilmektedir (Thompson ve ark 1992).

Bu nedenle haptoglobin gösterdiği reaksiyon intravasküler hemoliz durumlarında diğer yangısal durumlardan farklıdır.Haptoglobinin imminolojik fonksiyonlarda immuniteti baskılayıcı görevleri bulunduğu da düşünülmektedir (Murata ve Miyamoto 1993). Haptoglobin ayrıca eritrosit agregasyonunda (Weng ve ark 1997) ve sinirsel depresyonda (Maes 1993) da görev almaktadır.Bakır seruloplazminin önemli bir kısmıdır,bakır yetmezliği durumlarında seruloplazmin konsantrasyonları artış göstermektedir (Mulher ve Koller 1988). Serum Amiloid A ailesi yeleri yüksek dansiteli lipoproteinlerin bir fonksiyonuna bağlı olarak bulunan küçük apolipoproteinlerdir (Sellar ve ark 1991,Peterson ve ark 2004). SAA ailesi yesi proteinlerin yangısal durumlarda kolesterol metabolizmasının düzenlenmesinde görevli olduğu düşünülmektedir (Peterson ve ark 2004). AFP 'leri yangısal olayları olmayanlardan ayırmada ,tedavi takibinde,prognoz belirleyici olarak kullanılmaktadır (Habif 2005).

Çizelge1.2. Türlerle göre temel, hafif ve değişmeyen pozitif akut faz proteinleri.

<b>TÜR</b>	<b>TEMEL (MAJOR)</b>	<b>HAFİF-ILIMLI (MİNÖR)</b>	<b>DEĞİŞMEYENLER</b>
İnsan	SAA - CRP - LBP	Hp - AGP - Fibrinojen	SAP - $\alpha$ 2MG
Sığır	Hp	SAA-Cp- $\alpha$ 2MG-LBP- AGP-CRP	SAP
Koyun	Hp	Cp- Fibrinojen	CRP
Keçi	Hp		CRP
Köpek	CRP -SAA	Hp - AGP - Cp	
Kedi	SAA	CRP - Hp - C	
At	SAA-CRP	Hp - Fibrinojen - AGP	
Domuz	MAP-CRP-Hp	SAA - Cp - AGP	
Tavşan	SAA-CRP-LBP	$\alpha$ 2MG	
Fare	SAA-SAP	AGP - LBP - CRP	
Hamster	SAA-CRP		
Tavuk	CRP - SAA – AGP Fibrinojen– CRP-SAA		
Balık	CRP-SAA		

### **1.3.6. Negatif Akut Faz Proteinler**

Fiziksel veya enfeksiyöz etkenlere bağı olarak karaciğerden sentezlenmeleri azalan proteinlerdir. Serum albumin, transferin, kortizol binding ,globulin, transtretin ve retinol-binding proteinler negatif akut faz proteinler olarak belirlenmiştir (Niewold ve ark 2003).

### **1.3.7. Pozitif Akut Faz Proteinler**

Evcil hayvanlardaki AFP'ler insandakine benzerlik gösterir. Canlı türlerine göre pozitif akut faz proteinleri Tablo da verilmiştir (Niewold ve ark 2003).

#### **1.3.7.1. Haptoglobin**

Haptoglobin, globulin yapısında olup plazmada parçalanmış eritrositlerden açığa çıkan hemoglobini bağlayan glikoprotein yapıda bir AFP'dir. Plazmadaki proinflatör ve toksik olan serbest hemoglobinleri bağlayarak hemolizle ilişkili oksidatif hasarın azalmasını görevli olduğu ve immunomodilatör etkili olduğu ifade edilmektedir. Haptoglobin bakterisidal aktiviteye, fagositozis ve granülosit semotaksis üzerinde inhibe edici özelliğe sahiptir. Mast hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği, epidermal langerhans hücrelerinin spontan olgunlaşmasını engelleyebildiği veya T hücrelerinin proliferasyonunu baskıladığı belirtilmektedir (Niewold ve ark 2003, Murata ve ark 2004). Yükselmiş Hp konsantrasyonu sadece yangıyı göstermez aynı zamanda yangı veya doku hasarı ile ilişkili olmayan bazı durumları da ifade edebilir (Murata ve ark 2004). Haptoglobin karaciğer parankim hücreleri tarafından sentezlenir ve serbest olarak kanda bulunur. 1/1 oranında hemoglobini kovalent olmayan sıkı bir kompleks tarzında bağlayarak, serbest hemoglobinin böbreklerden atılmasını engelleyen bir plazma glikoproteinidir. Haptoglobin sentezinde sitokinler, interlökin I, interlökin 6 ve TNF önemli mediyatörlerdendir. Haptoglobin, yangı oluşturucu uyarılardan yaklaşık 8 saat sonra artış gösterir (Gruys ve ark 1993). Bir molekül haptoglobin bir molekül hemoglobini bağlar. Haptoglobinin hemoglobine bağlanması ile idrarla hemoglobin ve demir kaybı önlenmiş olur. İkisinin yaptığı kompleks, retikuloendotelial sistemde parçalanarak aminoasitler ve demir açığa çıkar (Akkuş 1995). Bir kısım araştırmacı tarafından yapılan çalışmalarda köpeklerde haptoglobin miktarının bazı hastalıklarda (cerrahi travmayı takiben, tripanosomiazis, erlichiosis hastalıklarında, diroflariaziste, yangısal hastalıklarda, hepatitiste, kronik nonspesifik hepatitiste, akut ve kronik kolongiohepatitiste, akut karaciğer hastalıklarında) arttığı belirtilmiştir. (Gruys ve ark 1993).

### 1.3.7.2. CRP (C-reaktif protein)

CRP; ilk kez Tillet ve Francis tarafından tanımlanmış ve pnömokok C polisakkariti ile presipite olma yeteneğinden dolayı C-presipitin adı verilmiştir. Önceleri antikor sanılan bu protein, değişik inflamatuvar durumlarda kanda ortaya çıkan bir protein olduğunun saptanması ve C polisakkariti ile tepkime verme özelliğinden yola çıkılarak CRP olarak adlandırılmış ve 1941 yılında MacLeod ve Avery tarafından pürüfiye edilmiştir. İnflamasyonun çok spesifik ve duyarlı bir göstergesidir. Hepatositlerde depolanmış olmadığından ilk uyarandan 6-10 saat sonra yeni sentezlenen CRP görülmeye başlar ve 48 saatte maksimal seviyeye ulaşır. Kısa sürede normal değerlerine döner. CRP'nin dondurularak saklanmış serumlarda bakılabilmesi önemli bir üstünlüğüdür. Akut faz yanıtının büyüklüğü ile reaktanların miktarındaki artış genellikle doğru orantılıdır. Ancak bunu etkileyen çeşitli faktörler olabilir. Örneğin, kronik inflamasyonlarda aktivitede artış dönemlerinde yanıtın büyüklüğü klinik tabloya göre beklenenden daha az olabilir (Ishak ve ark 1989).

CRP, karaciğerde IL-6 (interlökin-6)'nın denetimi altında hepatositlerde sentezlenir ve akut faz yanıtının önemli mediyatörlerinden biridir. CRP inflamasyonun nonspesifik bir göstergesi olmasının yanı sıra infeksiyon, malignite ve otoimmün hastalıklar gibi birçok durum bu proteinin düzeylerinde artışa yol açabilir. C-reaktif proteinin semotaksi ve nötrofillerin yıkımını engellediği, yangısal cevabının düzenlenmesinde, otoimmunizasyonun önlenmesinde, hasarlı dokuların temizlenmesinde, toksik otojen maddelerin detoksifiye edilip uzaklaştırılmasında ve enfeksiyonlardan korunmada önemli rol oynadığı belirtilmektedir (Mold ve ark 2002).

Tip II diyabetiklerde ateroskleroza bağlı mikrovasküler ve makrovasküler lezyonlar daha sık görülmektedir. CRP geni 1. kromozomun uzun kolunda bulunan, 5 eşit alt birimden oluşan, 125000 molekül ağırlıklı bir proteindir. Yapılan çalışmalarda sitokin düzeyleri ile miyokard infarktüsü ve koroner arter hastalığından ölümler arasında ilişki bulunmuştur. Yine obezlerde CRP düzeyleri sağlıklı bireylerden daha yüksek saptanmıştır (Visser ve ark 1999). CRP 'nin aterosklerotik hastalık belirteçleri ile birlikteliğini konu alan bir çalışmada yükselmiş CRP trombotik risk için güçlü bir belirteç olarak nitelendirilmiştir (Folsom ve ark 2001).

CRP klasik akut faz reaktanıdır ve inflamatuvar süreçlerde genellikle dramatik olarak yükselir, hatta 1000 kat gibi değerlere ulaşabilir. Periton sıvısı, plevral sıvı, perikardial sıvı ve sinovial sıvıda da yüksek miktarlarda bulunabilir. CRP inflamatuvar olaylarda kanda en geç 18-24 saat içinde ortaya çıkar (Ishak ve Hassan 1989). İnfeksiyon hastalıkları açısından CRP düzeyi ölçümleri başlıca 3 durumda klinikte yararlı olmaktadır:

a. Araya giren infeksiyonların saptanması: Özellikle çok az ya da hiç akut yanıt uyandırmayan organik hastalık varlığında araya giren infeksiyonların gösterilmesinde CRP önemli yardımlar sağlar. Örnek: Nötropenik lösemili hastalardaki infeksiyonların, operasyon sonrası inflamasyon ve doku nekrozunun, Graft Versus Host reaksiyonunun , klinik silik olan yeni doğan infeksiyonlarının saptanabilmesi.

b. Başka hastalıklarla eş zamanlı seyreden infeksiyonların tanısında değerlidir.

c. Komplikasyonların izlenmesinde lökosit, sedimentasyon, ateş ve kalp hızından daha duyarlıdır.

### 1.3.7.3. Seruloplazmin

Seruloplazmin insan plazmasında bakırın başlıca taşıyıcısı olup (Mc Pearson ve ark 1996), sağlıklı erişkinlerde dolaşımdaki total bakırın yaklaşık %90-95'i seruloplazminde bulunur (Fox ve ark 2000). Başlıca karaciğerde sentezlenen seruloplazmin aynı zamanda inflamasyon ve doku hasarı gibi durumlarda ılımlı yanıt gösteren bir akut faz proteindir (Mc Pearson ve ark 1996). Yapısının %7-8'lik karbonhidrat içeriğini sialik asit oluşturur (Fox ve ark 1995). Seruloplazmin, ferrokسيدaz aktivitesiyle ferröz demirin ( $Fe^{2+}$ ) ferrik demire ( $Fe^{3+}$ ) oksidasyonunu katalizleyerek demirin transport proteini olan transferrin ve depo proteini olan ferritine yüklenmesini kolaylaştırır ve aynı zamanda Fenton reaksiyonunu da önleyerek antioksidan aktivite gösterir (Fox ve ark 2000). Seruloplazmin, süperoksid ve diğer reaktif oksijen türlerini uzaklaştırabilme yeteneği ile de bir plazma antioksidanı olarak kabul edilmektedir (Floris ve ark 2000).

Seruloplazmin, plastisitesi ve multiple bağlanma bölgesine sahip olması nedeniyle, 'moonlighting protein' olarak isimlendirilmektedir (Gürer 2005). Seruloplazmin, organizmanın fizyolojik ve patolojik durumuna göre değişikliğe uğrayabilen, bir gen-bir yapı fonksiyonunu aşmış bir yapıdır. Normal bireylerde miktarı her 1 lt kan plazması için 300-400 mg'dır. 6 bakır atomu içeren bir enzim proteindir. Kandan elde edilen seruloplazmin solusyonu, açık mavi renktedir.

Seruloplazmin, diğer AFP'lere göre daha az yaygın olarak teşhiste kullanılmaktadır.

Son yıllarda seruloplazminin endotelial nitrik oksit sentaz fonksiyonunu değiştirebileceği gösterilmiştir. Nitrik oksit sentaz, damar tonusunun korunması ile ilişkili olduğundan, seruloplazminin damarların nitrik okside bağlı gevşemesinin kontrolü ile ilişkili bir rolü de olabileceği düşünülmektedir (Floris ve ark 2000). Seruloplazmin düzeylerinde, ateroskleroz

(Bustementa ve ark 1976), abdominal aort anevrizması (Powell ve 1987), “unstable” anjina (Jayakumari ve ark 1992), vaskülit ve periferik arter hastalığı (Belch ve ark 1989) gibi çoklu kardiyovasküler bozukluğu olan hastalarda yükselme olduğu bildirilmiştir. Myokard infarktüsünde de serüloplazmin düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (Amereshwar Singh 1992, Klipstein ve ark 1999).Ayrıştırılmış insan serüloplazminin, lipidlerin artıklarını, poliansatüre yağ asitlerinin ve fosfolipidlerin oksidasyonunu inhibe ettiği ortaya konmuştur. Ayrıca, DNA hasarını da engellediği bilinmektedir (Gürer 2005). Serüloplazmin, akut faz proteini olma özelliği sayesinde, doğal organizma defansının temel faktörlerindedir (Gürer 2005).

## **1.4. İz Elementler**

### **1.4.1. Çinko**

İnsan vücudunda demirden sonra en çok bulunan ikinci eser elementtir. 70 kg ağırlığındaki birinsanda bulunan yaklaşık 1.4-2.5 gr çinkonun başlıca eritrositler, prostat, semen, karaciğer, böbrek, hipokampus, retina, kemik ve kas dokusunda dağıldığı bildirilmektedir. Eritrositlerde çinko miktarı, plazmanın yaklaşık 10 katıdır. Çünkü eritrositler, çinko içeren karbonik anhidraz gibi enzimler yönünden zengindir (David 1999).

Zn, gen ekspresyonu, DNA sentezi, enzimatik kataliz, hormonların depolanması ve salınımı, nörotransmisyon, hafıza ve görme, büyüme ve gelişme gibi pek çok metabolik olaya katılmaktadır. Çinkonun vücuttaki rolü şimdi daha iyi bilinmektedir. Pek çok immün ve hormonal olaylar ve 300’den fazla enzimin aktivitesi çinkoya bağlıdır. Bu nedenle çinko eksikliğinde, hücre çoğalması, yara iyileşmesi, kemik oluşumu, membran stabilitesi, büyüme ve gelişme, gebelik, fertilité, beyin fonksiyonları, tat ve iştah gibi pek çok fizyolojik işlevlerde aksamalar ortaya çıkmaktadır. Alkolizm, malabsorpsiyon, orak hücreli anemi, kronik renal hastalıklar ve kronik yatalak hastalıklar çinko eksikliği için predispozan faktörlerdir. Akrodermatitis enteropatika da olduğu gibi şiddetli çinko eksikliği yaşamı tehdit edebilir. Pediyatrik yaş grubunda olanlar, gebe ve yaşlılar gibi risk grubunda olanlara diyetle çinko takviyesi yapılmalıdır. Biyolojik sistemlerde sadece 2+ değerlikli olarak bulunan çinko, demir ve bakırdan farklı olarak oksidasyon veya redüksiyona uğramaz (David 1999).

Çinko içeren enzimler arasında karbonik anhidrazın yanı sıra, alkalin fosfataz, DNA polimeraz, RNA polimeraz, karboksipeptidaz, ve alkol dehidrogenaz sayılabilir. Çinko atomu enzime sıkıca bağlı olup sıklıkla aktif bölgeye de katılmakta ve pek çok metaloenzimin

stabilitesini sağlamada görev almaktadır (David 1999). Çinko eksikliğinde özellikle timidin kinaz, alkalen fosfataz ve pankreatik Karboksipeptidaz A aktiviteleri daha düşüktür. Çünkü gen ekspresyonunda çinkonun, hem katalitik hem de yapısal rolü bulunmaktadır. Çinkonun DNA ve RNA'ya bağlanması bu yapıların protein sentezi ve replikasyonunu etkilemektedir. DNA'ya bağlanan en büyük protein grubunu oluşturan çinko parmak proteinler (zinc-finger) gelişme ve diğer proseslerle ilgili gen ekspresyonlarını kontrol ederler. Kataliz ve gen ekspresyonuyla ilgili fonksiyonlarına ilaveten proteinleri ve nükleik asitleri stabilize eden çinko subsellüler organelleri bütünlüğünü korur, transport proseslerine katılır, viral ve immün olaylarda da önemli roller alır. Yara iyileşmesinde çinko oldukça önemli bir elemettir. Bağ dokusunun biyosentezi ve integrasyonu için çinko gereklidir. Bu nedenle cerrahi sonrası yeterli oranda çinkonun alınması önem taşımaktadır (Vallee ve Falchuk 1993).

Doku yaralanması veya inflamasyon sonucu açığa çıkan interlökin-1- $\beta$  (IL-1- $\beta$ ), kısmen akut-faz yanıtını uyaracak şekilde etki gösterir. Akut-faz yanıtı, karmaşık bir biyolojik olaylar zincirini kapsar. Bunların arasında hormon üretimi (kortizol, glukagon, insülin), depo ve taşıma havuzları arasında minerallerin dağılımında değişiklikler, T ve B hücre aktivasyonu, nötrofillerin üretimi ve serbestleşmesi ile bir çok hepatik proteinin sentezi bulunur (Lothar ve Holger 2000). Çinko-eksik lenfosit kültürlerinde IL-1 üretimi azalırken; çinko eksikliği bulunan ratlarda, IL injeksiyonuna yanıtın da azaldığı görülmüştür (Bui ve ark 1994). Mocchegiani ve ark (1995) çinkonun ekstratimik T hücrelerinin matürasyonu için gerekli olduğunu bildirmişlerdir. Çinko, hücre aracılı immün sistemin normal fonksiyonları için gerekli bir hormon olan ve timustan salgılanan timulin'in aktivitesi için gereklidir (Dardenne ve ark 1982). Çinko eksikliğinde, HIV pozitif hastalarda özellikle dolaşımdaki T lenfositleri azalmaktadır (Kupka ve Fawzi 2002). Yaşlılıkta olduğu gibi, marjinal çinko eksikliğinde timulin aktivitesinin azalması, timus yetmezliğine değil çinkonun periferik eksikliğine bağlanmaktadır (Mocchegiani ve ark 1997). Farklı stres durumlarında sitoprotektif etkileri olan ısı şok proteinlerinin konsantrasyonları artmaktadır. Çinkonun karaciğer ısı şok proteinlerini indüklediği ve buna bağlı olarak karaciğerin, transplantasyon öncesi bekletildiği soğuk ortamda, daha iyi korunduğu gösterilmiştir (Cheng ve ark 2002).

Çinko eksikliği olan ratlarda karbonhidrat ve lipit metabolizmasında da bazı bozukluklar meydana gelmektedir. Trigliserid depolarındaki yıkıma bağlı olarak kan serbest yağ asit konsantrasyonlarında yükselme gözlenir. Çinko eksikliği olan ratlarda pankreasın proteolitik aktivitesi azalmaktadır. Ayrıca; pankreatik karboksipeptidazın bir çinko metallo enzimi olduğu, çinko eksikliği olan ratlarda karboksipeptidaz aktivitesinin düşük olduğu ve



çinko tedavisi ile çabucak normale döndüğü bildirilmiştir (Underwood 1977). Diyabetli hastalarda idrarla çinko atılımı artmakta ve total vücut çinko miktarında azalma görülmektedir. Çinko, insülinin sentezi, depolanması ve sekresyonuyla birlikte yapısal bütünlüğünün sağlanması ve üç boyutlu yapısının korunmasında da rol almaktadır. Bu nedenle çinko eksikliğinde pankreas adacık hücrelerinde insülin salınımı olumsuz etkilenmektedir. Diyabet komplikasyonlarının çoğunluğu, hücre içi çinko ve çinko bağımlı antioksidan enzimlerin aktivitelerinin azalması sonucu ortaya çıkan hücre içi serbest radikallerin artmasıyla ilişkilidir (Chausmer 1988).

#### **1.4.2. Bakır (Cu)**

Bakır insanlar ve hayvanlar için esansiyel bir elementtir. Vücutta, Cu+1 (cuprous) ve Cu+2 (cupric) formu olup, büyük çoğunluğu Cu+2 formdadır. Bakır, kolayca elektron alma ve verme yeteneğine sahip olup, böylelikle oksido-redüksiyon reaksiyonlarında önemli rol oynamaktadır. Hipokrat'ın, 400 B.C. de bakırı hastalıkların tedavisinde kullandığı bilinmekle beraber, halen günümüzde araştırmacılar, her geçen gün bakırın fonksiyonlarına yönelik yeni bilgiler edinmektedir (Gürer 2005).

Bakır, pek çok esansiyel enzimin yapısında bulunan bir elementtir. Bakıra bağlı fonksiyonlar şunlardır:

1. Enerji üretimi: Bakır bağımlı bir enzim olan sitokrom c oksidaz, enerji üretiminde kritik bir öneme sahiptir. Moleküler oksijeni, suya redüksiyonunu katalize ederken, sitokrom c oksidaz, ATP üretimini sağlamak amacıyla elektriksel bir gradient oluşturur.

2. Bağ dokusu oluşumu: Lizil oksidaz, bakır bağımlı bir enzim olup, kollajen ve elastinde çapraz bağların oluşumunda görevlidir. Böylelikle, sağlam ve fleksible, bağ dokusu oluşur. Ayrıca lizil oksidaz, kan damarları ve kemik formasyonunda rol oynamaktadır.

3. Demir metabolizması: İki bakır içeren enzim, seruloplazmin (ferrooksidaz I) ve ferrooksidaz II, ferröz demiri (Fe+2)'i ferik demire (Fe+3)'e okside etme kapasitesine sahiptir. Demir bu formu ile, transferrin yardımıyla, kırmızı kan hücre oluşum bölgesine transport olabilir.

4. Santral sinir sistemi: Bakır içeren enzimlerin, beynin ve sinir sisteminin normal fonksiyonlarını idame ettirmesi adına üstlendikleri çok önemli fonksiyonları vardır.

5. Nörotransmitter sentezi: Dopamin beta- oksidaz, dopamininin diğer bir nörotransmitter olan, norepinefrine dönüşümünü katalize eder.

a) Nörotransmitterlerin metabolizması: Monoamin oksidaz (MAO), norepinefrin, epinefrin ve dopaminin metabolizmasında rol oynar. MAO , ayrıca başka bir nörotransmitter olan serotoninin yıkımında görevlidir, buda MAO inhibitörlerinin antidepresan özelliklerinin temelini oluşturmaktadır.

b) Myelin oluşumu ve devamlılığı: Miyelin kılıfı fosfolipidlerden oluşmuş olup, bunların sentezinde sitokrom c oksidaz aktivitesine bağlıdır.

c) Melanin oluşumu: Trozinaz, bakır içeren bir enzim olup, melanin pigmentinin oluşumunda etkilidir. Melanin, melanositler tarafından oluşturulur, ve saç, deri ve gözlerin pigmentasyonunda rol oynar (Gürer 2005).

Bakır içeren transkripsiyon faktörleri, spesifik genlerin transkripsiyonunu regüle eder. Böylelikle, sellüler bakır seviyesi, bu genlerin transkripsiyonunu arttırarak veya inhibe ederek, proteinlerin sentezini regüle eder. Bakır içeren transkripsiyon faktörleri ile regüle edilen genler, bakır/çinko süperoksid dismutaz , katalaz ve bakırın hücrel depolanımı için gerekli olan proteinlerdir. Seruloplazminin bakır transportundaki rolü uzun zamandır bilinmektedir. Ancak son çalışmalar, seruloplazminin bakır metabolizmasından ziyade demir metabolizmasında önemli rolü olduğunu ortaya koymaktadır. Aslında, plazma bakırının %95'i seruloplazmin içinde ihtiva edilmektedir. Bu bakırın, doku bakır ile serbestçe değişimi olmamaktadır ve bakır aslında seruloplazmin turnover'ını regüle etmemektedir. Dolayısıyla, seruloplazmin eksikliği olan kişilerde bakır metabolizması normaldir (Graf ve Noetzel 1999). Tam aksine, seyrek görülen otozomal resesif bir bozukluk olan aseruloplazminemia'da seruloplazmin yokluğu demirin biyolojik aktivite ve dağılımını etkilemektedir. Seruloplazmin, bir plazma ferrooksidaz olup, apotransferrin yardımı ile ferröz demirin ferik demire oksidasyonunu regüle eder. Transferrine bağlanan demir, hemoglobin sentezi ve eritropoezis amacıyla kemik iliğine ilerler. Eritrositlerin degradasyonu sonrası, seruloplazmin retikuloendotelial sistemden demiri serbest bırakır. Demirin transferine bağlanması, dokuyu direkt demir hasarından koruyan, major antioksidan savunma mekanizmasıdır.

Bakır, ince bağırsakların üst kısmından spesifik bir mekanizma ile emilir; plazmada özellikle histidin olmak üzere amino asitlere ve serum albuminine bağlanarak taşınır. Yeni emilmiş olan bakır, bir saatten kısa bir zaman içinde karaciğer tarafından dolaşımdan alınır. Karaciğer tarafından tutulan bakır, ya safra ile sindirim kanalına atılır, ya da karaciğerde sentez edilen seruloplazminin yapısına katılır. Plazmadaki bakırın %96'sı seruloplazminde, geri kalanı ise albumine ve bir dereceye kadar da amino asitlere bağlı haldedir. Seruloplazmin, bakır taşıyıcı protein değildir; bakıra bağımlı bir ferrooksidazdır. Seruloplazmin, yarısı kupröz (Cu<sup>+</sup>) ve yarısı

kuprik ( $\text{Cu}^{2+}$ ) iyonlar halinde olmak üzere molekülüne başına 6-8 bakır iyonu içerir; ancak seruloplazminin bakır, bakır iyonu veya diğer moleküllere bağlı bakır ile değiştirilmez. Seruloplazmin, plazmada %18-45 mg kadar bulunur ve gastrointestinal kanalda demir emiliminde rol alır.

Bakırın vücuttaki toplam miktarı 100-150 mg kadardır ki bunun 18 mg kadarı karaciğerde (hepatokuprein), 23 mg kadarı kemikte, 64 mg kadarı kasta bulunur; böbrek, kalp, beyin ve saç da bakır içerir. Beyindeki bakır, serebrokuprein olarak, eritrositlerdeki bakır eritrokuprein olarak bilinir.

Bakırın vücuttan atılımı başlıca dışkı ile olur; insan idrarı sadece eser miktarda bakır içerir.

### 1.4.3. Demir

Demir vücutta pek çok önemli ve elzem fonksiyonu bulunan temel elementlerden biridir. Kolayca elektron alıp verebilme yeteneği ile ferrik ( $\text{Fe}^{+2}$ ) ve ferröz ( $\text{Fe}^{+3}$ ) formları arasında değişim gösterir. Bu fonksiyonu (kapasitesi) onu sitokrom, oksijen bağlayan moleküller (hemoglobin ve miyoglobin) ve birçok enzimin yararlı bir komponenti haline getirir (Mc Cord 2004).

Sağlıklı bir erişkin erkekte normalde 35-42 mg /kg demir bulunur. Premenapozal kadınlarda menstrüasyon ile sık kan kaybı nedeniyle demir depoları düşüktür. Vücut demir içeriğinin %80' i eritroid prekürsör hücre ve olgun eritrosit oluşturmak üzere hemoglobine inkorpore olmuştur. Kalan %10-15' i ise kas liflerinde (miyoglobin) ve diğer dokularda (sitokrom ve enzimlerde) bulunur. Demir, plazmada 2 demir bağlama bölgesi bulunan ve 80 kDA ağırlığındaki bir protein olan transferrin ile kompleks halde taşınır. 70 kg.lık bir erişkinde plazmada yaklaşık 3 mg demir bulunur ve bunun büyük çoğunluğu transferrine bağlı taşınır. Plazma ile her gün hücelere yaklaşık 30 mg demir taşınır.

Demirin hücreler tarafından, özellikle eritroid hücrelerce alımı (her matür eritrosit 1 milyar demir atomu içerir, normal turnover hızında bu konsantrasyon her gün  $2 \times 10^{20}$  atomun inkorporasyonu demektir) transferrin reseptörüne (TfR) bağlı diferrik transferrinin reseptör yoluyla endositozuna dayanır. TfR, matür eritrositler dışında tüm hücrelerde bulunan özel bir proteindir. TfR en fazla eritroid prekürsör hücreler, normal hızlı bölünen hücreler ve neoplastik hücrelerde bulunur. Geriye kalan demirin büyük bölümü depo görevi yapan hepatositler ve retikuloendotelial makrofajlarda bulunur. Karaciğer, diyetle alınan besinlerin ilk geçiş yeridir ve transferrinin bağlama kapasitesini aşan dolaşan demirin bir kısmını alır. Retikuloendotelial

makrofajlar yaşlı eritrositleri sindirir, demiri ayırmak üzere hemoglobini parçalar ve demiri yeniden kullanılmak üzere transferrine verir (Mc Cord 2004).

İntestinal demirin emilimi birçok yolla düzenlenir. İlk olarak; demir emilimi diyetle alınan demir miktarı ile modüle edilebilir, bu mekanizmaya “diet regülatörü” denmektedir. Dietle birkaç günlük demir bolusundan sonra absorbtif enterositler ek demir kazanımının dirençli hale gelir. Bu fenomen “mukozal blok” olarak adlandırılmıştır. Bu blokaj olayı, muhtemelen enterositlerin ayar noktasının ihtiyaçların karşılandığını algılamasına yol açan intrasellüler demir birikiminin bir sonucudur. Bu olay sistemik demir eksikliğinin varlığında bile olabilir ( Andrews NC 1999). İkinci düzenleyici mekanizma da demir miktarını algılar, fakat diet demirinden ziyade toplam vücut demirine yanıt verir. Bu mekanizma “depo regülatörü” olarak isimlendirilir. Bu mekanizma emilen demirin miktarını sınırlı bir yere kadar değiştirebilir. Depo regülatörün moleküler ayrıntıları bilinmese de kript hücre programlanması düzeyinde etki göstermektedir ve plazma transferrininin demir ile saturasyonuna yanıt verir. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar apikal transporter DMT1 seviyelerinin vücut demir depolarındaki değişikliklere yanıt verdiğini göstermektedir. “Eritropoetik regülatör” olarak bilinen üçüncü düzenleyici mekanizma tamamen demir depolarına yanıt vermez. Onun yerine eritropoezin ihtiyacına göre demir emilimini modüle eder. Eritropoetik regülatör, depo regülatörden daha çok demir absorbe etme kapasitesine sahiptir. Vücut demirin çoğu eritropoez için kullanıldığından eritron’un intestinal demir emilimi üzerinde bariz etkisi olduğu görüşü mantıklıdır. Fakat bunun tam olarak nasıl gerçekleştiği henüz bilinmemektedir. Eritropoetik regülatör, muhtemelen kemik iliğinden barsaklara gidebilen ve plazmada taşınan solubl bir sinyal molekülü içermektedir (Andrews 1999).

Araştırmalar inflamasyon, oksidatif stres ve insülin rezistansının diyabet gelişiminde anahtar rol oynadığını göstermektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda vücut demir depoları ile insülin direnci ve tip 2 Diyabet arasındaki ilişki dikkat çekmektedir. Serbest demir en güçlü prooksidan moleküllerden biridir. Demirin oksidan stres, toksik serbest radikal oluşumu, lipid peroksidasyonu ve endotel disfonksiyonu gibi pek çok süreçte aktif rol oynadığı bilinmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda vücut demir depolarının iyi bir ölçütü olan serum ferritini ile insülin rezistansı, tip 2 Diyabet gelişimi ve metabolik sendrom arasında direkt ilişki olduğu bildirilmektedir. Demir; karaciğer ve periferik dokular düzeyinde etki göstererek insülin direnci ve hiperinsülinizme yol açmaktadır. Yapılan kesitsel çalışmalarda vücut demir depolarının insülin rezistansı ile direkt olarak ilişkili olduğu ve yüksek ferritin düzeylerine sahip sağlıklı kişilerde tip 2 Diyabet gelişme riskinin ferritin düzeyi normal olanlara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Ayrıca ferritin düzeyi yüksek olan tip 2 Diyabetes mellituslu hastalarda demir

şelasyonu veya flebotomiyle demir depolarının azaltılmasının insülin rezistansı ve metabolik kontrolde düzelme sağladığına dair yayınlar vardır.

Demir ile tip 2 DM arasındaki ilişki 2 yönlüdür (Okutur ve ark 2008):

Demir glukoz metabolizmasını etkilerken glukoz metabolizması da bazı metabolik demir yollarını etkilemektedir. Oksidatif stres ve inflamatuvar sitokinler bu ilişkilerin başlangıç etkilerini artırır ve güçlendirir. Son yıllarda artmış demir depolarının tip 2 Diyabet gelişiminin göstergesi olduğu yönünde kanıtlar ortaya çıkmıştır. Demire bağlı hasar ayrıca Diyabet komplikasyonlarını da etkilemektedir. Demir depleksiyonunun tip 2 Diyabette koroner arter yanıtlarını, endotel disfonksiyonunu, insülin sekresyonunu, etkisini ve metabolik kontrolü düzelttiği gösterilmiştir (Okutur ve ark 2008).

İnsülin, demir metabolizmasını etkiler. İnsülin; heksoslar, aminoasitler, katyonlar ve anyonları içeren pek çok nutrientin hücrenel uptakeini uyaran anabolik bir hormondur. İnsülinin, yağ hücrelerinde bulunan transferrin reseptörlerini intrasellüler membran alanından hücre yüzeyine çıkararak bu hücrelerin demir alımında hızlı ve belirgin stimülasyona yol açtığı bilinir. Kültürde yetiştirilmiş rat gliom hücrelerinde insülinin artmış ferritin sentezine yol açtığı görülmüştür. Ayrıca transferrin reseptörlerinin, kültüre edilmiş yağ hücrelerinin mikrozomal membranlarında bulunan insüline yanıtı glukoz transporterları ve IGF-2 reseptörleriyle aynı yerde yerleştiği tespit edilmiştir. Bu gözlem, insülinin demir alımının regülasyonu ile glukoz transportu üzerindeki etkilerinin paralel olduğunu düşündürmektedir. İnsülinin, muhtemelen “hipoksi ile uyarılabilir factor-1  $\alpha$ ” aktivasyonu yolu ile EPO üretimini uyardığı ve demir emilimini arttırdığı gösterilmiştir. Hiperinsülinemiye yol açan herhangi bir faktör (kilo alımı, yaşlanma, sık infeksiyon geçirme, periodontit gibi), demir emiliminin uyarılması ve depolanmış demirin artması yoluyla uzun vadede insülin direncini artırıyor olabilir.

Demir, insülinin karaciğerde glukoz yapımını inhibe edici etkisini azaltır. İnsülinin karaciğerden atılımı ve metabolizması, artmış demir depoları ile azalır ve bu da periferik hiperinsülinemiye yol açar. Aslında demir yüklenmesinin ilk ve en sık gözlenen anormal etkisi karaciğerde insülin rezistansıdır. Demir yüklenmesinin ayrıca iskelet kaslarını da etkilediğine dair bazı kanıtlar vardır (Okutur ve ark 2008).

Oksidatif stres hem glukoz hem demir metabolizmasını etkiler. Oksidatif stres insülinin internalizasyonunu azaltarak insülin direncine yol açmakta ve ferritin sentezini arttırmaktadır. Hiperferritinemi tip 2 Diyabetli hastaların %6.6’ında bulunur. Ferritin serum konsantrasyonları genellikle kötü kontrollü tip 2 Diyabetli hastalarda artmıştır ve ferritin glukozdan bağımsız olarak

HbA1c' nin prediktörüdür ve muhtemelen oksidatif stresi yansıtır. Glisemik kontrolün kısa süreli düzelmesiyle, serum ferritin konsantrasyonlarında değişik düzeylerde azalma gözlenir. Sitokinler demir ve glukoz metabolizmasını etkiler. Sitokinler hücre yüzeyinde bulunan transferrin reslerini arttırarak demirin dokuda depolanmasına ve insülin direncine yol açar. Suçlanan başlıca sitokinler TNF $\alpha$  ve IL-6' dır (Okutur ve ark 2008) .

### **1.5. Diyabette İz Elementler**

Diyabetes mellitus da organizmada iz element ve inorganik bileşiklerin metabolizmasının etkilendiği bildirilirken bunun nedeni henüz açıklığa kavuşturulmamıştır (Godeny ve ark. 1986). Birçok enzim sisteminin esansiyel bileşeni olan çinko ve bakır DM de sıkça araştırılmaktadır. Çinko insülin fizyolojisine doğrudan katılan bir elementtir (Kinlaw ve ark 1983).İnsülinin depo ve salgılanması için Zn gereklidir (Mooradian ve Morley 1987). İnsülin Zn içeren kristaller şeklinde pankreasın hücrelerinde depolanır ( Kinlaw 1983). Zn insülin yapısına katıldığı gibi, aktivitesinde de önemli etkilere sahiptir. DM ve bazı komplikasyonlarının patogenezisinde anormal Zn metobalizmasının rol oynayabileceğini düşündüren çeşitli nedenlerin varlığı bu hastalıkta Zn ye olan ilgiyi arttırmaktadır. Diyabetik çocuk ve adölesanlardaki büyüme ve seksüel gelişme geriliği. Diyabetiklerde bozuk tat alma duygusu ,immün fonksiyonların bozulması,enfeksiyonların artması ve yara iyileşmesindeki gecikme çinko eksikliği ile açıklanabilecek rahatsızlıklardandır (Mooradian ve Morley 1987). Diyabette Cu metabolizmasının değiştiği de belirtilmiştir. Ancak glukoz homeostazında bakırın rolü yeterince açıklanamamıştır (Walter ve ark 1991). Diyabetiklerde idrarda aşırı Zn atılması ortak bir bulgu iken, serum Zn ve Cu düzeyleri ile ilişkili çelişkili sonuçlarla karşılaşılmaktadır (Mooradian ve Morley 1987). Tip II DM' ta serum Cu ve Zn düzeylerinin cinsiyet ve yaşa göre nasıl değiştiğini gösteren çok az sayıda çalışma bulunmaktadır ( Mooradian ve Morley 1987).

## **2. GEREÇ VE YÖNTEM**

### **2.1.Gereç**

#### **2.1.1. Deney Hayvanı Materyali**

Bu çalışmada ortalama 250-300 g ağırlığında 27 adet Wistar dişi sıçan kullanılarak yapıldı. Deneme süresince Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesinde kontrollü odalarda (Isı  $24\pm^0C$ ; ışık 12 saat aydınlık/12 saat karanlık) tutuldu. Hayvanlara yem ve su ad libitum olarak verildi.

#### **2.1.2. Kullanılan Cihazlar**

Bu çalışmada Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarlarında bulunan  $-20^0C$  Derin Dondurucu (Ariston), ELISA okuyucu (Optik İvymen System, Spain); santrifüj (Nüve NF800R, Türkiye), spektrofotometre (Shimatzu UV1601, Avusturalya), fotometre (BS 3000P, Sinnowa, China), benmari (Nüve, ST402, Türkiye), pH metre (Hanna, Amerika), hassas terazi (Sartorius, Almanya), otomatik pipetle (2-20  $\mu$ l, 20-200  $\mu$ l, 5-50  $\mu$ l, 100-1000  $\mu$ l) kullanıldı.

#### **2.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler**

Ratlarda diyabet oluşturmak amacıyla Streptozocin (Sigma, SO130); seruloplazmin analizinde, sodyum asetat, asetik asit, p-fenilen daimin; haptoglobin analizinde ticari ELISA test kiti (Tridelta LTD, İrlanda); CRP analizi için rat spesifik ticari ELISA test kiti (AssayPro, Assay Max Rat CRP, Amerika) kullanıldı. Bakır (Copper Reagent Set, Pointe Scientific, Belgium), çinko(Zinc Reagent Set, Pointe Scientific, Belgium) ve demir (Archem, Türkiye) analizleri ticari test kitleriyle fotometrik olarak çalışıldı.

## **2.2. Yöntem**

### **2.2.1. Deney Grupları ve Uygulama Protokolü**

Çalışma grubundaki hayvanlar kontrol (n=11) ve diyabetli (n=16) olmak üzere 2 gruba ayrıldı. Denemeye başlamadan önce hem kontrol hem de deney grubunda bulunan bütün sıçanların vücut ağırlıkları ölçüldü ve açlık kan glukoz düzeyleri belirlendi. Sıçanlarda diyabet oluşturmak için 0,01 M sodyum sitrat tamponu (pH 4.5) içinde streptozosin (572201, Calbiochem) 50mg/kg intraperitoneal olarak deneme grubuna (n=16) tek doz enjekte edildi. Kontrol grubu hayvanlara deney grubuna benzer şekilde aynı oranda 0.01 M sodyum sitrat tamponu intraperitoneal olarak uygulandı. Enjeksiyonu takiben 21 gün sonra hayvanlar 12 saat süre ile aç bırakılacak, sonra tekrar serum glikoz düzeyleri ölçüldü. Deneme grubundaki bütün hayvanların diyabetli olduğu belirlendikten sonra eter anestezisi altında kalp içi kan örnekleri alındı ve servikal dislokasyon ile ötanazi uygulandı.

### **2.2.2. Serum örneklerinin hazırlanması**

Tüm hayvanlardan toplanan kan örnekleri 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edilerek serum örnekleri ayrıldı ve analiz yapıncaya kadar -20<sup>0</sup>C de saklandı.

### **2.2.3. Serum Seruloplazmin Düzeyi Ölçümü**

Sunderman ve Numato'nun(1970) bildirdiği yöntem ile spektrofotometrik olarak yapılmıştır.

Prensip: Seruloplazmin, p-fenilen diaminin oksidasyonunu katalize ederek mavi-viyole renkli bir oksidasyon ürünü oluşturur. Renkli ürünün meydana gelme oranı serum seruloplazmin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

#### **Ayırıcılar:**

1. Substrat çözelti: 144 mg p-fenilendiamin(Sigma P-6001)100 ml asetat tamponda eritildi. (pH= 5,6)

2. Asetat tampon:1,34 ml asetik asit (Merck818755) 26,49 sodyum asetat (Merck 106264) 1 L distile suda eritildi (pH=5.6).

3.Sodyum Azid (Merck 106688): 3g /100 ml sodyum azid içermektedir.



**İşlem:**

	Kör	Test
Sodyum azid	1 ml.	-
Substrat	5 ml.	5 ml.
Test serumu	0.1 ml.	0.1 ml.

37 °C de 15 dakika inkübe edildi

Sodyum azid	-	1 ml.
-------------	---	-------

546 nm de distile suya karşı kör ve test örneklerinin absorbansları okundu.

**Hesaplanması**

$$\% \text{ mg Seruloplazmin} = 237 \times (A \text{ test} - A \text{ kör})$$

**2.2.4. Serum Haptoglobin Düzeyinin Belirlenmesi**

**Prensip:** Serbest hemoglobin, düşük pH da peroksidaz aktivitesini inhibe eder. Haptoglobin hemoglobin ile bağlanır ve bağlı hemoglobin peroksidaz aktivitesini düşük pH da korur. Hemoglobinin peroksidaz aktivitesini koruması haptoglobin miktarını gösterir.

**Ayırıcılar:**

- 1.Hemoglobin
- 2.Hemoglobin diluent
- 3.Kalibratör
- 4.Kromojen
- 5.Substrat
- 6.Örnek sulandırıcı

**Yapılışı:**

- 1 . 7.5 µl örnek ve hazırlanmış standartlardan her kuyucuğa konuldu.
- 2.Standartlara ve örneklere 100µl Hemoglobin solüsyonu eklendi. Plate karıştırılarak örnek,standart ve hemoglobinin birleşmesi sağlandı.
- 3.Tüm kuyucuklara 140µl kromojen/substrat solüsyonu eklendi.
4. 5 dakika oda ısısında inkübe edildi ve 630 nm.de okundu.

**Hesaplanması:**

Her örneğin, kontrol ve standardın absorbansı belirlendi. Standart grafik kağıdı kullanılarak kalibrasyon eğrisi hazırlandı ve örneklerin konsantrasyonu bu eğriden yararlanılarak belirlendi.

**2.2.5. Serum CRP Düzeyinin Belirlenmesi**

**Prencip:** Bu analiz rat CRP düzeyini ölçmek için kullanılan kantitatif kompetatif bir enzim immunoassay tekniğidir. Rat CRP spesifik poliklonal antikor ile kaplı 96 kuyucuk bulunmaktadır. CRP içeren standart ve örnekler kaplı kuyucuklarda peroksidaz konjugatı ve immobilize antikor ile sandwich bağlanma yapabilmek için biotinleleated CRP ile yarışır. Daha sonra bütün bağlı olmayan materyal yıkanır ve peroksidaz enzimi eklenir. Renk oluşumu durdurulur ve rengin şiddeti belirlenir.

**Ayırıcılar:**

1. Rat CRP'sine karşı oluşmuş poliklonal antikor kaplı mikroplate.
2. Rat CRP standardı( 25 µg, liyofilize)
3. Biotinylated Rat CRP(liyofilize)
4. EIA Seyreltme solusyonu (10×)
5. Yıkama Solusyonu (20×):
6. Streptavidin-Peroxidase Konjugatı(SP Conjugate)
7. Kromogen Substrate
8. Durdurma solusyonu: 0,5 N HCl.

**Hazırlık:**

1. Tüm ayıraçlar ve serumlar oda ısısına getirildi.
2. EIA Seyreltme solusyonu (10×): 1:10 oranında sulandırıldı.
3. CRP Standart: 25µg CRP standardı 1,25 ml EIA seyreltme solusyonu ile sulandırılıp 20µg/ml standart elde edildi. Standart solusyon (20µg/dl) 1:4 oranında seyreltme solusyonu ile seri sulandırılarak sırasıyla 5, 1.25, 0.313, 0.078 µg/ml konsantrasyonlarında seri standartlar elde edildi. Son tüpe standart çözeltiden konulmadı(0 µg/dl).
4. Biotinylated CRP: Liyofilize Biotinylated CRP 4 ml seyreltme solusyonu ile sulandırıldı.
5. Yıkama solusyonu konsantrasyonu(20x):1:20 oranında sulandırılıp kullanıldı.
6. SP conjugate (100x) 1:100 oranında sulandırılarak kullanıldı.

**Analiz Prosedürü:**

1. Tüm ayıraçlar oda ısısına getirilir.
2. Mikroplate kuyucuklarına standart ve örnekler konuldu.
3. Tüm kuyucuklara 25 µl Biotinylated CRP eklendi. Bu ayıraçlar eklendikten platein üzeri kapatılarak oda ısısında 2 saat bekletildi.
4. Daha sonra her bir kuyucuk 200 µl' lik yıkama solusyonu ile 5 kez yıkandı. Son yıkama yapıldıktan sonra solüsyonun fazlası kurutma kağıdı ile alındı.
5. Mikroplate kuyucuklarının üzerine 50 µl Streptavidin-Peroxisidase eklenir. (Streptavidin- Peroxisidase EIA içinde çözündürülür.)30 dakika oda ısısında inkübe edilir. Tekrar her bir kuyucuk 200 µl' lik yıkama solusyonu ile 5 kez yıkanır. Yıkama sonrasında yıkama solusyonunun fazlası tekrar kurutma kâğıdı ile alınır. Kuyucuklara 50 µl kromogen substrat eklenip 10 dakika beklenir.
6. Tüm Kuyucuklara 50 µl stop solüsyonu eklenir ve 450 nm dalga boyunda absorbansı ölçülür.

**Hesaplaması:**

Standart konsantrasyonlar kullanılarak grafik çizilir. Bilinmeyen örneğin konsantrasyonu standart eğri kullanılarak belirlenir, sonuç dilüsyon faktörü ile çarpılır.

### 2.2.6. Serum Bakır Düzeyinin Belirlenmesi

**Prensip:** 3,5-Di-Br-PAESA Cu (II) ile birleşerek mavi-mor formda kompleks oluşturur. Oluşan rengin absorbansı 580 nm de ölçülür. Reaksiyon yüksek özgüllüktedir.

**Ayırıklar:**

Reagent A: 2x25 ml(acetate buffer 100 mM pH 4.90)

Reagent B: 2x25 ml(3,5 Di-Br-PAESA 10 mM)

**Yapılışı:** Reagent A ve Reagent B den bire bir oranında karıştırarak çalışma solüsyonu hazırlanılır.

Kör: 500µl Reagent A+500µl Reagent B

Standart: 500µl Reagent A+500µl Reagent B ve üzerine 50µ standart solüsyonundan eklenir.

Test: 500µl Reagent A+500µl Reagent B ve üzerine 50µ örnekten eklenir.

Kör, standart ve test solüsyonları hazırlandıktan sonra 5 dakika 37<sup>0</sup>Cde bekletilir sonra fotometre ile ölçülür.

**Hesaplaması:** Testin absorbansı/standartın absorbansı x Standartın konsntrasyonu

### 2.2.7. Serum Demir Düzeyinin Belirlenmesi

**Prensip:** Serum demiri cromazurol-B ve CTMA-Br ile reaksiyona girerek mavi renkli bir ürün oluşturur. 630 nm ölçülen absorbans numunedeki demir miktarı ile doğru orantılıdır.

**Ayırıklar:**

Chromazurol-B 0,13 mM

CTMA-bromür:0,82mM,pH4.75tamponasetat.

Standart: Demir (III) çözeltisi 200 mg / dl - 5 ml

**Yapılışı:** Kör, standart ve test tüplerine 1 er ml ayıraç eklenir. Daha sonra kör tüpüne 40 µl distile su; standart tüpüne 40 µl standart, test tüpüne 40 µl örnek karıştırılır. Karışım yapıldıktan sonra 37°C de 5 dakika inkübe edilir. Köre karşı reaktif standardı ve örneklerin absorbansları 630 nm de okunur.

**Hesaplanması :** Standart birim dönüşümü mg / dl x 0,1791 = mmol / L

### 2.2.8. Serum Çinko Düzeyinin Belirlenmesi

**Prensip:** Çinko formları 2-(5-Brom -2 pyridylazo)-5-(N-propyl-N sulfopropylamino)-phenol ile kırmızı şelat bileşiği oluştururlar. Örnekteki total çinko konsantrasyonunu absorbanstın artışı ile ölçülür.

#### **Ayıracılar:**

Monoreagent:

5-Br-PAPS 0.02 mmol/l

Bicarbonate buffer ph: 9.8 200 mmol/l

Sodiumcitrate 170 mmol/l

Dimetilhyglyoxime 4 mmol/l

Detergent 1%

Standart: 200 µg/dl(30.6 µmol/l)

<b>Yapılışı:</b>	<b>Standart</b>	<b>Örnek</b>
Reagent	1000µl	1000µl
Serum veya plazma	-	50µl
Standart	50µl	-

Örnekler konulduktan sonra karıştırılır 25-35 °C'de arasında5-8 dakika kadar bekletilir. Sonra 560 nm' de fotometrede okuma yapılır.

**Hesaplanması:**  $C = 200 \times A(\text{sample}) / A(\text{standart}) (\mu\text{g/dl})$

**2.3.9. İstatistiksel Yöntem:** Elde edilen sonuçların istatistiksel analizi SPSS (for Windows Release 11.5 Standart Versiyon) paket programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arası farkın belirlenmesinde bağımsız örnekleme testi (Indepent Samples Test) ile önem düzeyleri belirlendi. Veriler Ortalama ±standart hata şeklinde gösterildi.

### 3. BULGULAR

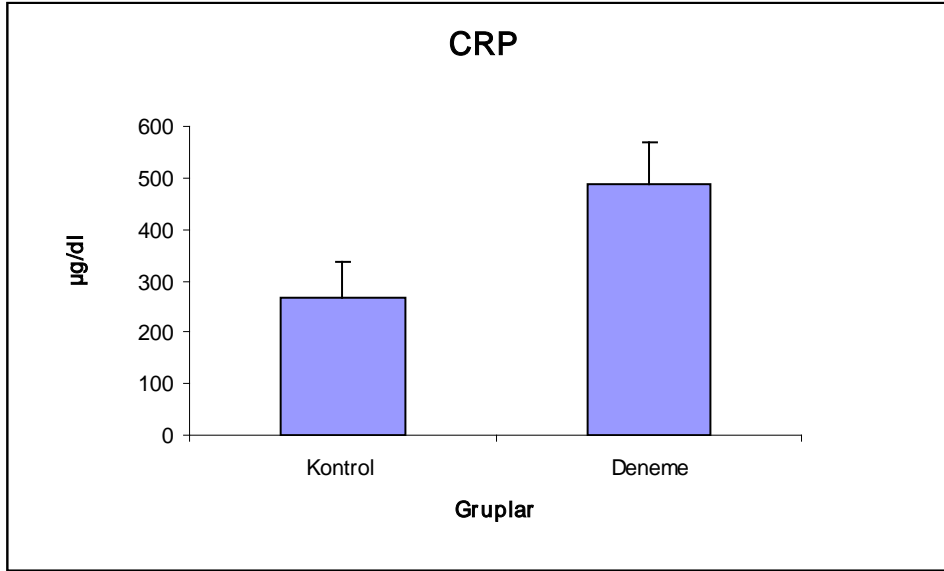
Çalışmada bulunan kontrol ve deneme grubu ratlarının ortalama serum CRP, haptoglobin, seruloplazmin, demir, bakır ve çinko düzeyi sonuçları ve standart hataları Tablo.1’ de gösterilmiştir. Ayrıca CRP, haptoglobin, seruloplazmin, demir, bakır ve çinko düzeyleri Şekil 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 da grafikler halinde verilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Kontrol ve deneme grubu ratların ortalama serum CRP, haptoglobin, seruloplazmin, demir, bakır ve çinko düzeyi sonuçları ( $\bar{X} \pm S_x$ )

Parametreler	Kontrol n=11 $\bar{X} \pm S_x$	Deneme n=16 $\bar{X} \pm S_x$	p
CRP $\mu\text{g/dl}$	267,49 $\pm$ 70,29	488,28 $\pm$ 81,70	*
Haptoglobin g/L	1,67 $\pm$ 0,12	2,07 $\pm$ 0,15	*
Seruloplazmin mg/dl	48,80 $\pm$ 2,18	48,83 $\pm$ 3,33	Ö.D.
Bakır $\mu\text{g/dl}$	330,79 $\pm$ 31,57	514,09 $\pm$ 65,85	*
Demir $\mu\text{g/dl}$	0,18 $\pm$ 0,01	0,36 $\pm$ 0,02	***
Çinko $\mu\text{g/dl}$	269,16 $\pm$ 17,0	214,05 $\pm$ 6,66	*

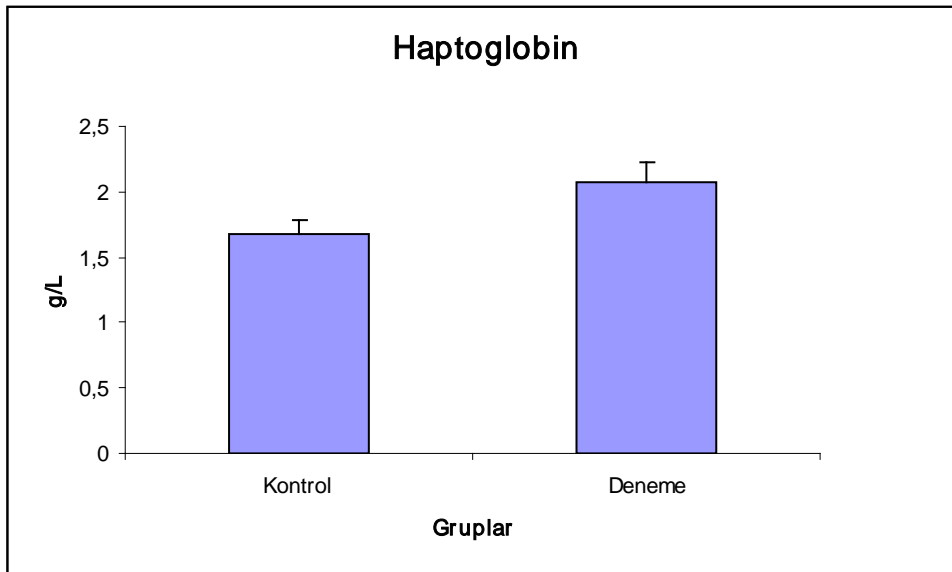
\*\*\*:p<0.001, \*:p< 0.05, Ö.D.:Önemli Değil

Kontrol grubunda ortalama serum CRP düzeyi  $267,49 \pm 70,29$   $\mu\text{g/dl}$  bulunmuştur. Diabetli grubun ortalama serum CRP düzeyleri ise  $488,28 \pm 81,70$   $\mu\text{g/dl}$  olarak ölçülmüştür. Deneme grubunun ortalama CRP düzeyleri kontrol grubundan istatistiki olarak anlamlı düzeyde yüksek olarak belirlenmiştir ( $p < 0,05$ ).



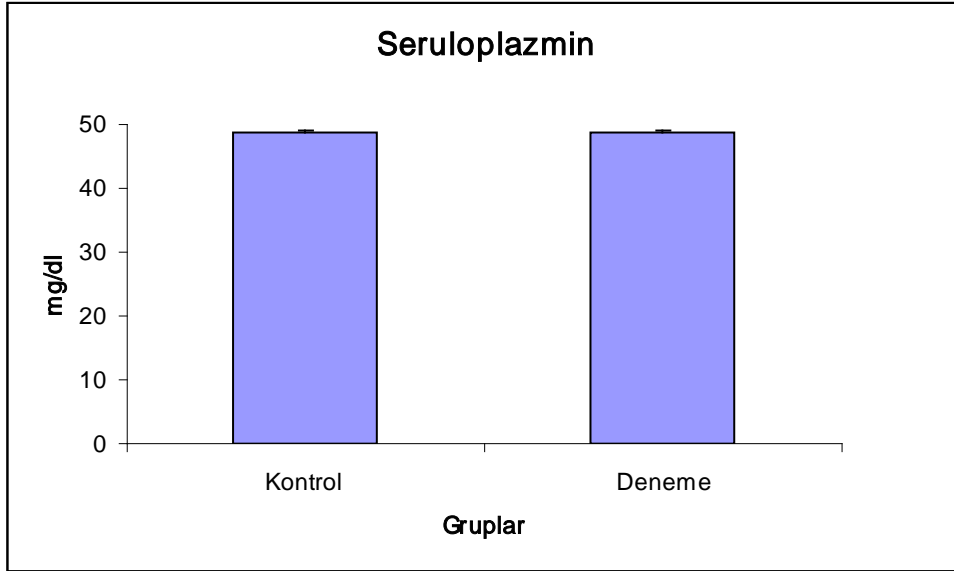
**Şekil 3.1.** Kontrol ve deneme gruplarının ortalama serum CRP düzeyleri ( $\bar{X} \pm S_x$ ).

Diabet grubunun ortalama serum haptoglobin düzeyi  $2,07 \pm 0,12$  g/L iken kontrol  $1,67 \pm 0,12$  g/L olarak belirlenmiş ve deneme grubunda haptoglobin konsantrasyonunun arttığı belirlenmiştir. Gruplara arasındaki istatistiki farkın önemi olduğu belirlenmiştir ( $p < 0,05$ ).



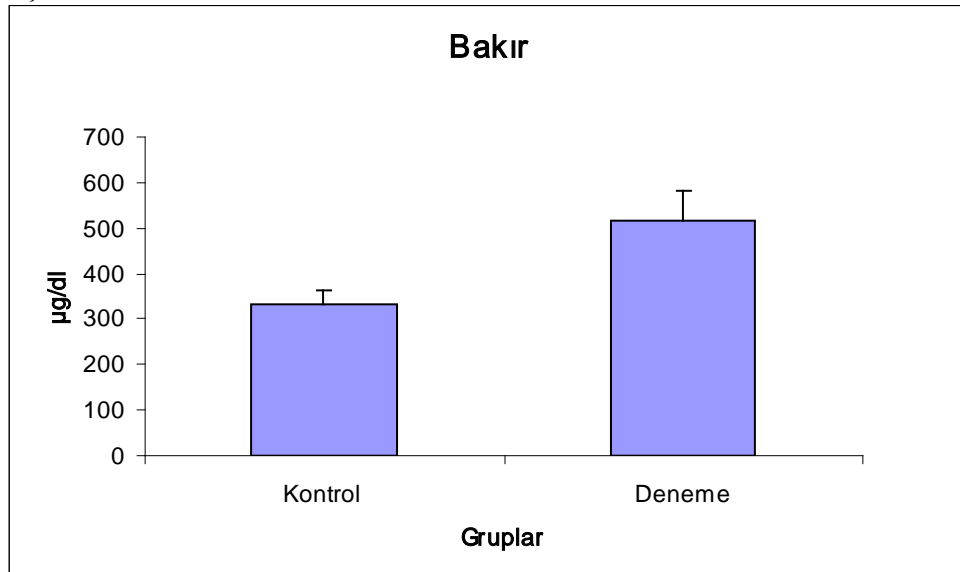
**Şekil 3.2.** Kontrol ve deneme gruplarının ortalama serum haptoglobin düzeyleri ( $\bar{X} \pm S_x$ ).

Serum seruloplazmin konsantrasyonları kontrol ve deneme grubunda sırasıyla  $48,83 \pm 3,33$  mg/dl ve  $48,80 \pm 2,18$  mg/dl olarak bulunmuştur. Serum seruloplazmin konsantrasyonları arasında kontrol grubu ve diyabetli grup arasında önemli bir istatistiksel farka rastlanmamıştır.



**Şekil 3.3.** Kontrol ve deneme gruplarının ortalama serum seruloplazmin düzeyleri ( $\bar{X} \pm S_x$ )

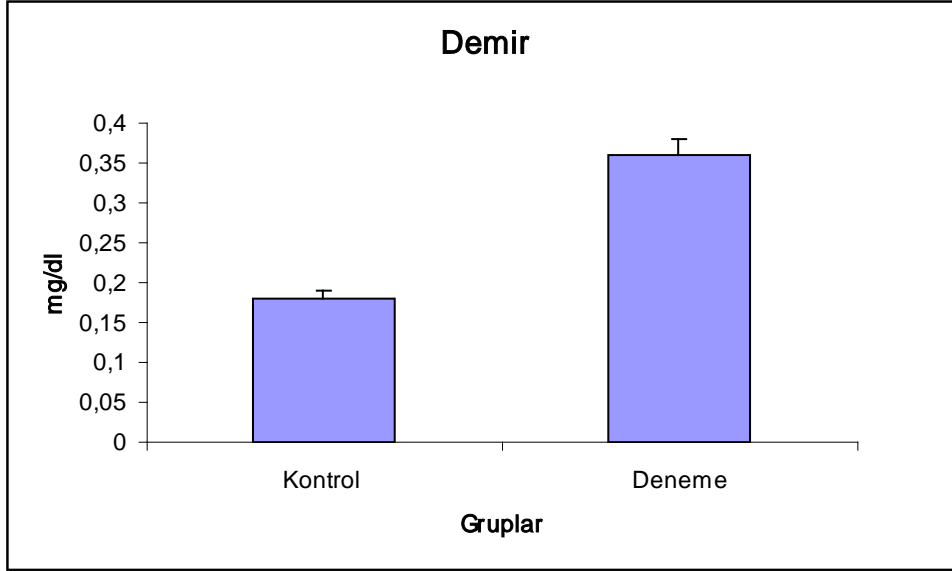
Analiz sonuçlarına göre serum bakır düzeyleri kontrol ve diyabetli ratlarda sırasıyla  $330,79 \pm 31,57$   $\mu$ g/dl ve  $514,09 \pm 65,85$   $\mu$ g/dl olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre kontrol grubu bakır düzeyleri diyabetli ratlara göre istatistiki açıdan önemli düzeyde düşük ( $p < 0,001$ ) olarak belirlenmiştir.



**Şekil 3.4..** Kontrol ve deneme gruplarının ortalama serum bakır düzeyleri ( $\bar{X} \pm S_x$ )

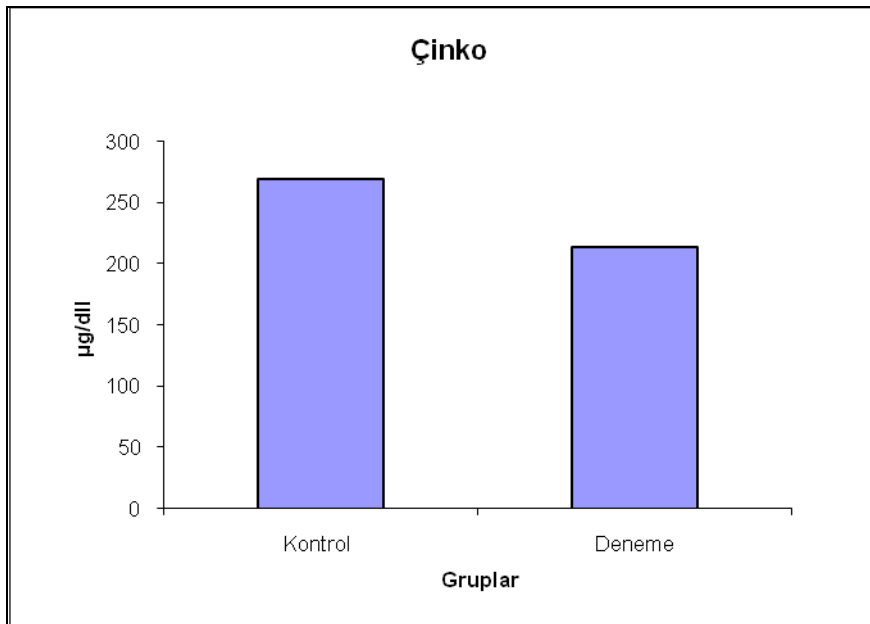


Serum demir düzeyi kontrol grubunda  $0,18\pm0,01$   $\mu\text{g/dl}$  diabetli ratlarda ise  $0,36\pm0,02$   $\mu\text{g/dl}$  olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlara göre diabetli ratların demir konsantrasyonları istatistiki olarak önemli düzeyde ( $p<0,001$ ) yükseldiği belirlenmiştir.



**Şekil 3.5.** Kontrol ve deneme gruplarının ortalama serum demir düzeyleri ( $\bar{X}\pm S_x$ )

Çalışmada kullanılan ratların serum çinko düzeyi diyabetli grubunda  $214,05\pm6,66$   $\mu\text{g/dl}$  ve kontrol grubunda ise  $269,16\pm17,0$   $\mu\text{g/dl}$  olarak belirlenmiştir. İki grup serum çinko düzeyleri karşılaştırıldığında diyabetli grubun çinko düzeyinin azaldığı ve aradaki farkın  $p<0,05$  düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir.



**Şekil 3.6.** Kontrol ve deneme gruplarının ortalama serum çinko düzeyleri ( $\bar{X}\pm S_x$ )

## 4. TARTIŞMA

Diabetes mellitus kanda glukoz seviyesinin artması ile karakterize kronik bir hastalıktır. Yapılan çalışmalar ile, etiyojisinde bir çok değişik etkenin rol oynadığı gösterilmiş olan gerek kendiliğinden gerekse deneysel olarak streptozotosin veya alloxan gibi diabetojenik etkenler ile oluşturulan diabetes mellitusun genellikle özellikle damarsal yapılar üzerinde yoğunlaşan komplikasyonları daha çok göz, böbrek, sinir ve arterlerde olmak üzere pek çok dokuda bozukluklara neden olmaktadır (Kafa 2006). Hastalarda ortaya çıkan en önemli semptomlar polidipsi, polifaji ve poliüridir (Öztürk ve ark 1996).

Streptozotocin deneysel diyabet oluşturmak amacıyla oldukça fazla kullanılan bir ajandır. Hayvanlarda cerrahi uygulamalar, travma, neoplazma yada alloxan ve streptozotocin uygulanarak deneysel diyabet oluşturulabilmektedir. Streptozotocin hem pankreatik insülin salınımını azaltarak hem de hedef hücrelerde insülin reseptörlerinde azalma ile etki göstererek diyabete neden olmaktadır (Feldman ve ark 1993, Sochor ve ark 1991).

Diyabetes mellitusta oksidatif stresin ve inflamasyonun arttığı ve diyabetin makro ve mikrovasküler komplikasyonlarının gelişiminde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Kanda glukoz düzeyinin yükselmesi, endotelial kökenli reaktif oksijen radikallerinin yapımını arttırmaktadır (Okutur ve ark 2008). Diyabetli hastalarda inflamatuvar parametrelerin ve oksidatif stresin göstergesi olan serbest oksijen radikallerinin düzeylerinin sağlıklı bireylere göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Bununla beraber oksidatif stres ve inflamasyon, hücresel düzeyde insülinin internalizasyonunu inhibe ederek insülin direncine ve hiperglisemiye yol açmaktadır (Van Campenhout ve ark 2006). Son zamanlarda yapılan çalışmalar, insülin direncine eşlik eden inflamasyonun adipositlerden kaynaklanan artmış sitokin salınımıyla ilişkili olabileceğini göstermiştir (Aktaş 2006).

Diyabette ortaya çıkan akut faz yanıtının, zeminde varolan bir sublinik inflamasyonu yansıttığı ve bu sürecin progresif olarak diyabet ve ateroskleroz gelişiminden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Doku hasarı ve enfeksiyonuna karşı metabolizmada oluşan bu hasarı düzeltmek için çeşitli mekanizmaları devreye sokular (Eckersall ve Bell 2010). Bu mekanizmalardan en önemlisi akut faz yanıtıdır. Akut faz proteinlerinin uyarılara karşı duyarlılıkları, sentez hızları, molekül büyüklükleri, serum konsantrasyonları ve

katabolizmaları büyük farklılıklar gösterir (Eckersall ve Bell 2010). Akut olaylarda serum düzeylerindeki artışlar genellikle inflamasyonun şiddetine ve yaygınlığına paralellik gösterirken; kronik inflamasyonlarda sentezde baskılanma veya tüketimlerinde artışa bağlı olarak değişen dengeler oluşur ve akut faz cevabı, inflamasyon aktivitesini ve yaygınlığını tam olarak yansıtmayabilir (Koyuer 2005).

Haptoglobin; doku hasarı, infeksiyon, yangı sonucu sitokinler etkisiyle karaciğerde üretilen, hemoglobin ile stabil bir bileşik oluşturarak böbreklerden serbest hemoglobin kaybını engelleyen, mikroorganizmaların kullanabileceği demir miktarını minimuma indiren bir glikoproteindir (Gruys ve ark. 1994, Salonen ve ark 1996, Young ve ark 1996, Nakagawa 1997, Regessa ve Noakes 1999, Subiela ve ark 2002). Diyabetes mellitusta, yüksek kan glukoz düzeyleri oldukça reaktif ve stabil olmayan glikasyon son ürünlerinin oluşumunu uyarır (Ritz 2006). Haptoglobin, ortaya çıkan bu reaktif ürünleri karşı koruyucu antioksidant olarak rol oynar (Shor ve ark 2007, Vania ve ark 2009). Haptoglobin serbest hemoglobini yüksek bir affinite ve stabiliteyle bağlayarak hidroksil serbest radikal oluşumunu önler ve diabetik hastalarda ortaya çıkan vasküler komplikasyonları durdurur (Shor ve ark 2007). Bu çalışmada da diyabetli grubun ortalama serum haptoglobin konsantrasyonları  $2,07 \pm 0,12$  g/L olarak belirlenmiş ve bu düzeyin kontrol grubundan ( $1,67 \pm 0,12$  g/L) önemli düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Bu yüksekliğin nedeninin artan kan glukozu sonucu ortaya çıkan reaktif ürünleri inhibe etmek ve serbest hemoglobini bağlamak üzere artan haptoglobin sentezine bağlı olduğu düşünülmüştür. Nitekim diyabetli hastalarda yapılan çeşitli çalışmalarda karaciğerden haptoglobin sentezini uyaran IL-6 düzeyinin arttığı da bildirilmiştir (Koyuer 2005).

C-reaktif protein (CRP) akut faz proteinlerinin öncüsüdür. CRP hepatositlerde üretilen ve pek çok stimulanstan sorumlu olan akut faz proteinidir. Karaciğer fonksiyonu normal olan kişilerde serum düzeyi inflamatuvar aktivasyonu gösteren iyi bir parametredir. CRP sentezi ve salgılanması IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$  sonucu tetiklenir. Serum IL-6 en önemli proinflamatorik sitokindir ve aktive olmuş lökositlerden, yağ hücrelerinden ve endotellerden salınır. IL-6 etkisiyle akut faz yanıtın önemli bir üyesi olan CRP sentezi artar (Eckersall ve Bell 2010). Yapılan çeşitli çalışmalarda Diyabetes mellitusta serum CRP düzeyinin sağlıklı kontrollerden yüksek olduğu bildirilmiştir (Koyuer 2005, Aktaş 2006, Pradhan 2011). Subklinik inflamasyonun önemli belirteçlerinden kabul edilen CRP ve IL-6 diyabetli hastalarda kardiyovasküler riskin göstergesi olarak da kullanılmaktadır (Hafner ve ark 2002). Bu çalışmada da serum CRP düzeyleri kontrol grubunda ortalama  $267,49 \pm 70,29$   $\mu$ g/ml iken

diyabetli grupta ortalama  $488,28 \pm 81,70$   $\mu\text{g/ml}$  olarak ölçülmüştür. Diyabetli grubunun ortalama CRP düzeyleri kontrol grubundan istatistiki olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir ( $p < 0,05$ ). Bu çalışmada diyabetli ratlarda artan CRP konsantrasyonları diyabete bağlı şekillenen inflamatorik sürecin bir göstergesi olarak kabul edilebilir.

Seruloplazmin molekül ağırlığı 125 kDa olan ve bakır ve demir metabolizmasındaki rolü iyi bilinen hepatositlerde sentezlenen bir plazma proteindir. Primer fonksiyonu redoks reaksiyonları olan seruloplazmin, demirin transferin içine girmesini sağlar. Seruloplazmin lipid peroksidasyonunu önler (Memişoğulları ve ark 2004). Yapılan çalışmalarda Diabetes mellitusta serum seruloplazmin düzeyinin arttığı bildirilmiştir (Cunningham ve ark 1995, Daimon ve ark 1998). Ancak biz yaptığımız bu çalışmada diyabetli grubun serum seruloplazmin düzeylerinde anlamlı bir yükselme belirleyemedik. Bunun nedeni olarak seruloplazminin geç bir akut faz reaktanı olması ve kronik süreçte seruloplazmin konsantrasyonundaki artışın belirgin olarak saptanamaması ile ilişkili olduğu kanısına vardık. Benzer şekilde Collier ve ark (1990) ve Telci ve ark (2000) yaptıkları çalışmalarda diyabet ve kontrol grupları serum seruloplazmin konsantrasyonları arasında anlamlı bir fark ortaya çıkmadığını bildirmişlerdir.

Serbest demir en güçlü prooksidan moleküllerden biridir. Demirin oksidatif stres, toksik serbest radikal oluşumu, lipid peroksidasyonu ve endotel disfonksiyonu gibi pek çok süreçte aktif rol oynadığı bilinmektedir (Mc Cord 1998). Serbest demir, süperoksit ve hidrojen peroksitin serbest radikallere dönüşümünü katalizleyerek hücrel membranlar, proteinler ve DNA'ya zarar vermektedir. Kesitsel çalışmalarda serum ferritini ile gösterilen vücut demir depolarının hipertansiyon, dislipidemi, obezite ve ateroskleroz ile ilişkili olduğu görülmüştür. Tüm bu bulgular ferritinin insülin direnci patogenezinde yer alıp almadığının araştırılmasına yol açmıştır. Deneysel çalışmalarda artmış demir yükünün lipid oksidasyonu ve oksidatif stresi arttırarak, periferik dokularda insülinin utilizasyonunu azalttığı gösterilmiştir. Hayvan modeli çalışmalarında insülin rezistansı, normal glukoz toleransı varlığında bile total demir depolarıyla ilişkili bulunmuştur (Dmochowski ve ark 1993 Haap ve ark 2003). Ayrıca demir fazlalığının pankreas  $\beta$  hücrelerinden insülin sentezini ve sekresyonunu bozduğu düşünülmektedir (Okutur ve ark 2008). Bu çalışmada da diyabetli ratlarda serum demir konsantrasyonu  $0,36 \pm 0,02$  ve kontrol grubunda ise  $0,18 \pm 0,01$   $\mu\text{g/dl}$  olarak belirlenmiş ve gruplar arası istatistiki fark  $p < 0,001$  düzeyinde önemli bulunmuştur. Benzer şekilde streptozotzin ile deneysel diyabet oluşturulan ratlarda yapılan bir çalışmada serum demir düzeylerinin arttığı bildirilmiştir (Zhao ve ark 2010). Diabetes mellitusta

inflamasyon ve oksidatif stresin arttığı ve buna bağlı olarak diyabetin makro ve mikro komplikasyonlarının gelişiminde önemli rol oynar(Okutur 2008). Diyabetli hastalarda yapılan çalışmalarda artan demir düzeylerinin yaş, kolesterol, trigliserid düzeyi, CRP, HbA1c düzeyleri ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Ford ve Cogswell 1999, Kim ve ark 2000).

Diyabetes mellituslu hastalarda Zn ve Cu düzeylerinin araştırıldığı çeşitli çalışmalar bulunmasına rağmen çalışma sonuçlarında farklılıklar olduğu görülmektedir. Serum çinko ve bakır düzeylerinin diyabetli hastalarda sağlıklı bireylerden daha düşük olduğunu gösteren pek çok araştırma bulunmasına rağmen(Pai ve ark 1988, Melinkeri ve ark.1990, Raz ve ark 1990 Walter ve ark 1991) yüksek (Canfield ve ark 1984) ya da normal (Sircar ve ark 1985, Mooradian ve ark 1987) olarak bildiren çalışmalarda bulunmaktadır. Bu çalışmada serum çinko düzeyinin diyabetli ratlarda  $214,05 \pm 05 \mu\text{g/dl}$  olarak bulunmuş, kontrol grubunun serum çinko düzeylerinin ise diyabetli gruptan istatistiki olarak anlamlı düzeyde ( $p < 0,05$ ) yüksek( $269,16 \pm 6,66 \mu\text{g/dl}$ ) olduğu bulunmuştur. Diyabetik ratlarda belirlenen düşük çinko düzeylerinin nedeni tam olarak aydınlatılmamıştır ancak bazı araştırmacılar diyabette gelişen üriner Zn atılımından olduğunu ileri sürmüşlerdir (Sircar ve ark 1985). Kinlaw ve ark. (1983) diyabette görülen düşük Zn düzeylerinin sebeplerinin hiperglisemiye bağlı gelişen intestinal Zn emilimindeki azalma ve renal kaybın artmasıyla açıklamıştır. Aynı zamanda organizmada inflamasyona bağlı salgılanan sitokinler beyin, karaciğer ve diğer dokuları etkilerler. Beyinde ateş oluşumu uyarılırken karaciğerde kana çinko salınımını engelleyen hepatik metalloproteinlerin sentezi artar ve kana çinko salınımı engellenir (Ulutaş 2003). Bu çalışmada da diyabetin komplikasyonu olarak gelişen yangısal sürecin serum çinko düzeylerinde azalmaya neden olduğu düşünülmüştür.

Serum Cu düzeylerinde de farklı sonuçlar rapor edilmiş olsa da diyabetik hastalarda bakır düzeyinin yükselmesi daha sık rastlanan bir durumdur. Cu düzeylerindeki artışın nedeni tam olarak bilinmemektedir ve glukoz hemostazında bakırın rolü yeterince aydınlatılmamıştır. Bu çalışmada bizde bakır düzeyinin kontrol grubuna göre önemli düzeyde arttığını tespit ettik. Yapılan çalışmalarda diyabetli ratlarda bakırın intestinal emilimin arttığı ve bunun artmasının serum ve doku Cu düzeylerinde artışa sebep olduğu rapor edilmiştir (Moordian ve ark 1987). Kurtul ve ark. 2007 de yaptıkları bir çalışmada diyabetli hastalarda serum Cu düzeyinin sağlıklı kontrolden anlamlı düzeyde yüksek olduğunu bildirmişler ve bunun nedeni benzer mekanizmaya bağlı olarak açıklamışlardır. Bizde bu çalışmada diyabetli ratlarda belirlenen yüksek serum Cu düzeyinin bakırın intestinal emiliminin artışı ile ilişkili olduğu kanısına vardık.

## 5. SONUÇ

Diyabetes Mellitus kan şekerinin yüksekliği ile karakterize kronik ve oldukça sık rastlanılan bir hastalıktır. Kanda glukozun normal değerlerin üzerinde bulunması toksik etkilidir ve vücudun tüm hücrelerinde az veya çok tahribata neden olur. Akut faz cevap herhangi bir doku hasarını takiben kısa sürede ortaya çıkan nonspesifik bir reaksiyondur. Akut faz reaksiyonun en önemli özelliği, karaciğerden CRP, seruloplazmin ve haptoglobin gibi akut faz proteinlerinin üretimidir. Demir, bakır ve çinko immün sistemle direkt ilişkili önemli iz elementlerdir ve bu iz elementlerin akut faz proteinleri ile de yakın ilişkisi bulunmaktadır. Bu nedenle bu çalışmada deneysel şeker hastalığı oluşturulmuş ratlarda CRP, seruloplazmin ve haptoglobin düzeyleri belirlenmiş ve diyabete bağlı ortaya çıkan yangısal süreçten nasıl etkilendiklerini ortaya çıkarmak amaçlanmıştır. Ayrıca immün fonksiyonun önemli belirteçlerinden olan ve akut faz proteinleri ile ilişkileri bilinen demir, bakır ve çinko düzeyleri de araştırılmıştır.

Bu çalışmanın sonucunda deneysel diyabet oluşturulan ratlarda CRP ve haptoglobin düzeylerinin önemli düzeyde etkilendiği belirlenmiştir. Seruloplazmin düzeyinde kontrol ve diyabetli grup arasında bir fark bulunamamıştır. Ratlarda seruloplazminin geç ve minör bir akut faz proteini olması bu sonucun normal olduğunu düşündürmüştür. CRP ve haptoglobindeki önemli artışların ise diyabette şekillenen yangısal sürecin yansıması olduğu kanısına varılmıştır. Ayrıca Fe ve Cu düzeylerinin diyabetli ratlarda kontrol grubundan yüksek olduğu görülmüş ve bunun bu elementlerin intestinal emilimlerindeki artışla ilişkili olduğu, diyabetik ratlarda belirlenen düşük serum çinko düzeylerinin ise üriner Zn atılımının artması, intestinal emilimin azalması ve hepatik metalloproteinlerin sentezi nedeniyle kana çinko salınımının kısıtlanmasından kaynaklanmış olabileceği sonucuna varılmıştır.

Bu çalışmanın sonucunda diyabetli hastalarda yangısal sürecin izlenmesinde akut faz proteinlerinden CRP ve haptoglobinin diyabetin komplikasyonların belirlenmesinde erken tanı amaçlı kullanılabileceği sonucunu doğurmuştur. Ayrıca Fe, Zn ve Cu metabolizmalarının ve kan düzeylerinin de diyabetle birlikte değiştiği ve bununda hastalığın seyrinin izlenmesinde önemli olabileceği kanısına varılmıştır.

## ÖZET

Diyabetes mellitus, kan şeker düzeyinin yüksekliği ile karakterize, kronik ve çok tehlikeli bir hastalıktır. Tüm dünyada yaygın olarak rastlanır. Diyabetli hastalarında yavaş fakat devamlı bir tahribat söz konusudur. Akut faz cevap herhangi bir doku hasarını takiben kısa sürede ortaya çıkan nonspesifik bir reaksiyondur. İnfeksiyöz, immunolojik, neoplastik, travmatik ya da paraziter nedenlerden dolayı oluşur. Akut faz reaksiyonun en önemli özelliği, karaciğerden CRP, seruloplazmin ve haptoglobin gibi akut faz proteinlerinin üretimidir. Bu çalışmada deneysel diyabet oluşturulmuş ratlarda CRP, haptoglobin ve seruloplazmin gibi akut faz proteinleri ile bunlarla ilişkili olan önemli iz elementlerden Fe, Cu ve Zn düzeylerinin belirlenmesi ve bunların birbirleriyle ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmada 27 adet Wistar rat kullanılmıştır. Deneme grubunda bulunan 16 rata diyabet oluşturmak amacıyla 0,01 M sodyum sitrat tamponu (pH 4.5) içinde streptozosin (572201, Calbiochem) 50mg/kg intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Enjeksiyonu takiben 21 gün sonra hayvanlar 12 saat süre ile aç bırakılmış, kan glukoz düzeyleri belirlendikten sonra eter anestezisi altında kalp içi kan örnekleri toplanmış ve servikal dislokasyon ile ötanazi uygulanmıştır. Kan alımını takiben serum örnekleri ayrılmış, CRP, haptoglobin, seruloplazmin, Fe, Cu ve Zn analizleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Deneysel diyabet oluşturulan ratlarda CRP ve haptoglobin düzeylerinin önemli düzeyde etkilendiği fakat seruloplazmin düzeyinde kontrol ve diyabetli grup arasında fark olmadığı gözlenmiştir. Fe ve Cu düzeylerinin diyabetli ratlarda kontrol grubundan yüksek; Zn düzeyinin ise düşük olduğu bulunmuştur.

Sonuç olarak, diyabetli hastalarda akut faz proteinlerinden CRP ve haptoglobinin ile iz elementlerden Fe, Cu ve Zn düzeylerinin belirlenmesi yangısal sürecin takibinde, hastalığın komplikasyonlarının belirlenmesinde ve tedavinin etkinliğinin kontrolünde kullanışlı parametreler olarak kabul edilebilir.

Anahtar kelimeler: Diyabet, akut faz proteinleri, iz elementler, rat.

## SUMMARY

Diabetes mellitus, characterizing with increased blood sugar, is a chronic and dangerous disease. Diabetes mellitus commonly exists all around the world. Slowly but continuously destruction occurs at patients with diabetes mellitus. Acute phase response is a nonspecific reaction that appears a little while after tissue damages. Infections, immunologic and neoplastic diseases, parasites or trauma can cause the acute phase response. Releasing acute phase proteins from liver such as CRP, ceruloplasmin and haptoglobin is the most characteristic feature of acute phase response. In this study, determining levels of acute phase proteins such as CRP, haptoglobin, ceruloplasmin and some of important trace elements related to acute phase proteins such as Fe, Cu and Zn; and searching a relationship between their levels, was purposed.

27 Wistar rats were used in this study. 50mg/kg streptozosin(572201, Calbiochem) in 0.01 M sodium citrate tampon(pH 4.5) was injected intraperitoneally to 16 rats for developing diabetes. 21 days later following injection, rats were left to hunger for 12 hours. After determination of blood sugar level, intracardiac blood samples were taken under ether anesthesia; and euthanasia was applied with cervical dislocation. Following the blood take, serum samples were distinguished and CRP, haptoglobin, ceruloplasmin, Fe, Cu, Zn analyses were performed. Results were statically assessed. In the rats with experimental diabetes mellitus, it was observed that CRP and haptoglobin levels were significantly affected but there were no difference in ceruloplasmin levels between control and diabetes groups. It was found that in diabetes group Fe and Cu levels were higher than control group; however Zn level was lower.

As a result; determining levels of acute phase proteins such as CRP and haptoglobin and some of trace elements such as Fe, Cu, Zn can be accepted as useful parameters for observation of inflammatory process, detection of disease complications and controlling of treatment efficiency.

**Key words:** Diabetes, acute phase proteins, trace elements, rat.



## KAYNAKLAR

Adams PC, Kertezs AE, Valberg LS,. Clinical presentation of hereditary hemochromatosis: a changing scene. Am J Med, 1991; 90:445-9.

Akay B ,Sığırlarda kan akut faz proteinleri düzeyleri üzerine hemoliz,lipemi ve bilirubineminin etkileri .Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya A.B.D. Yüksek lisans Tezi. Aydın, 2009.

Akkuş İ, Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza Yayınları .Konya, 1995.

Aktaş S. Tip 2 diabetes mellitus ve crp, fibrinojen, mikroalbüminüri ilişkisi Uzmanlık Tezi T.C. S.B. DR. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2. İç Hastalıkları Kliniği, 2006.

Aleksandrovski YA. Molecular mechanisms of diabetic complications, Biochemistry (Mosc), 1998; 63, 1249-1257.

Altuntaş Y, 2001, Diabetes mellitusun tanımı, tanısı ve sınıflaması her yönüyle diabetes mellitus, Yenigün, Nobel , 51-63.

Amareshwar Singh TK, Serum ceruloplasmin in acute myo-cardial infarction, Acta Cardiol, 1992; 4, 321-9. .

Andrews NC, Disorders of iron metabolism, N Engl J Med. 1999; Dec 23, 341(26):1986-95.

Aruzmozhi DK, Veeranjanyulu A, Bodhankar SL, 2004, Neonatal streptozotocin-induced rat model of type 2 diabetes mellitus: a glance, Indian J. Pharmacology, 36, 4, 217-221.

Ayşe B, Gençer S, Özer S, Enfeksiyon göstergesi olarak akut faz reaktanları: C-reaktif protein (CRP) ve serum amiloid A (SAA) Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi, 2003; Cilt XIV: 3, 220-221

Avramoğlu RK, Basciano H, Adeli K, 2006, Lipid and lipoprotein dysregulation in insulin resistant states, Clinica Chimica Acta, 368, 1-2, 1-19.

Bağrıaçık N, Diabetes mellitus tanımı, tarihçesi, sıklığı, I.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Diabetes Mellitus Sempozyumu, İstanbul.1997

Banting FG, Best CH, Collip JB, Campbell WR, Fletcher AA, Pancreatic extracts in the treatment of diabetes mellitus: preliminary report 1922, CMAJ, 1991; 145(10), 1281–1286

Belch JJ, Chopra M, Hutchison S, Lorimer R, Sturrock RD, Forbes CD, Smith WE. Free radical pathology in chronic arterial disease. Free Radic. Biol. Med. 1989; 6, 375-8.

Bell RH, Hye RJ. Animal Models of Diabetes Mellitus: Physiology and Pathology. Journal of surgical Research, 1983; 35: 433-460.

Biberoğlu S., Sekonder Osteoporoz. In: *Osteoporoz* Gökçe Kutsal Y, Ed. Istanbul, 1998; 56-72.

Bui LM, Dresendorfer RH, Keen CL, Summary JJ, Dubick MA. Zinc status and interleukin-1- $\beta$ -induced alterations in mineral metabolism in rats. PSEBM. 1994; 206: 438-444.

Bustamente J, Martin Mateo MC, Fernandez J, de Quiros, B, Ortiz Manchado O. Zinc, copper and ceruloplasmin in arteriosclerosis. Biomedicine. 1976; 25, 244-5.

Çalışkan D, Özdemir O, Ocaktan E, İdil A., Evaluation of awareness of Diabetes Mellitus and associated factors in four health center areas, Patient Education and Counseling. 2006; 62 (1), 142-147.

Canfield WK, Hambidge KM, Johnson LAK., Zinc Nutrition in Type I DM : Relationship to Growth Measures and Metabolic Control. J Ped Gastro Nutr, 1984; 3:577-584.

Ceron JJ, Eckersall PD, Subiela MB, Acute Phase Proteins in Dogs and Cats: Current Knowledge and Future Perspectives, Veterinary Clinical Pathology, 2005; 34(2):85-99

Chang JM, Kuo MC, Kuo HT, Chiu YW, Chen HC., Increased glomerular and extracellular malondialdehyde levels In patients and rats with diabetic nephropathy, Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 2005; 146(4), 210-215.

Chausmer AB, Zinc, insulin and diabetes. J Am Coll Nutr. 1998; 17: 109-115.

Cheng Y, Liu YF, Liang J, Protective effect of zinc: a potent heat shock protein inducer in cold preservation of rat liver. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2002, 1: 258-261.

Christian H, Diabetes and Trace elements The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine, 1999; 12:367–374.

Collier, A, Wilson, R, Bradley H, Thomson JA, & Small, M Free radical activity in type 2 diabetes. *Diabetic Medicine* ,1990. 7 (1), 27–30

Conner JG. Eckersall PD. Doherty M. Douglas TA., Acute phase response and mastitis in the cow, *Res Vet Sci*, 1986; 41,1, 126-8.

Coşkun A, lipopolisakkarid (*E.coli*) ile deneysel olarak endotoksemi oluşturulan buzağılarda akut faz proteinlerin klinik teşhisteki önemi, Doktora Tezi Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2008.

Crook MA, Tutt P, Pickup JC , Elevated serum sialic acid concentration in NIDDM and its relationship to blood pressure and retinopathy, *Diabetes Care*, 1993; 16:57-60.

Cunningham J, Leffell M, Mearkle P, & Harmatz, P. Elevated plasma ceruloplasmin in insulin-dependent diabetes mellitus: evidence for increased oxidative stress as a variable complication. *Metabolism*, (1995). 44 (8), 996–999.

Daimon M, Susa S, Yamatani K, Manaka H, Hama K, Kimura M, Ohnuma H & Kato T. Hyperglycemia is a factor for an increase in serum ceruloplasmin in type 2 diabetes. *Diabetes Care*, (1998). 21(9), 1525–1528.

Dardenne M, Pleau JM, Nabama B, Lefancier P, Denien M, Choay J, et all. Contribution of zinc and other metals to the biological activity of the serum thymic factor. *Proc Natl Acad Sci*, 1982, 79: 5370-5373.

David BM, Trace elements. In: Carl AB, Edward RA (eds): *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. Philadelphia. W. B. Saunders Company, 1999; Pp 1029-1055.

Dmochowski K, Finegood DT, Francombe W, Tyler B, Zinman B. Factors determining glucose tolerance in patients with thalassaemia major. *J Clin Endoc Metab* 1993, 77:478-483.

Dinarello CA, Interleukin-1 and its biologically related cytokines, *Adv. Immunol*, 1989; 44,153-205.

Drury YPL, Watkins PJ, Viberti GC, Walker JD, Diabetic nephropathy. *Br Med Bull*, 1989; 45,127-147

Eckersall PD, Bell R. Acute phase proteins: Biomarkkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *The Veterinary Journal*, 2010. 185:23-27.

Eckersall PD, Young FJ, Nolan AM, Knight C, McComb HC, Waterston M, Hogarth CJ, Scott EM, Fitzpatrick JL, Acute phase proteins in bovine milk in an experimental model of *Staphylococcus aureus* subclinical mastitis. *J Dairy Sci*, 2006; 89:1488-1501.

Ekmektzoglou A, Zografos CG, A concomitant review of the effects of diabetes mellitus and hypothyroidism In wound healing. *World Journal of Gastroenterology*, 2006; 12(17), 2721-2729.

Engler R, Bienvenu J, and Chopin N. Recommendation de la Commission des Proteins sur le Choix et l'Interet Respectif du Dosage des Proteins de la Reaction Inflammatoire", *Information Scientifique du Biologiste*, 1982; pp 171- 174 .

Farhangkhoe H, Khan ZA, Kaur H, XIN X, Chen S, Chakrabarti S, 2006, Vascular endothelial dysfunction in diabetic cardiomyopathy: pathogenesis and potential treatment targets, *Pharmacology & Therapeutics*, 111, 2, 384-399.

Fawcett J, Tsui TB, Kruer MC, Duckworth W , 2004, Reduced action of insulin glargine on protein and lipid metabolism: possible relationship to cellular hormone metabolism, *Metabolism*, 53, 8, 1037-1044.

Feldman EC, 1993, Disease of endocrin pancreas. In *Textbook of Veterinary Internal Medicine Disease of the Dog and Cat*, Philadelphia, W.B. Saunders Company, 2, 67(2), 1615-1650.

Fitzgerald MCE., Caldwell RB., The retinal microvasculature of spontaneously diabetic BB rats: Structure and luminal surface properties. *Microvasc Res* 39, 1990; 15-27.

Floris G, Medda R, Padiglia A, Musci G. The physiopathological significance of ceruloplasmin. A possible therapeutic approach. *Biochem. Pharmacol.* 2000; 60, 1735-41.

Folsom AR, Raankow JS, Tracy RP, Arnett DK, Peacock JM, Hong Y. Association of C-reactive protein with markers of prevalent atherosclerotic disease. *Am J Cardiol*, 2001; 88(2):112-7.

Ford Es, Cogswell ME. Diabetes and serum ferritin concentration among US adults. *Diabetes Care*, 1999, 22(12)1978-83.

Fox PL, Mazumder B, Ehrenwald E, Mukhopadhyay CK, Ceruloplasmin and cardiovascular disease. *Free Rad. Biol. & Med.* 2000; 28 (12), 1735-44.

Freeman DJ, Norrie J, Caslake MJ. C-reactive protein is an independent predictor of risk for the development of diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Diabetes* 2002; 51:1596-600.

Godeny S.,Borbely-Kiss I., Koltay E., Laszlo S., Szabo G., Determination of Trace and Bulk Elements in Plasma and Erythrocytes of Diabetic Pregnant Women By Pixe Method. *Int J Gynaccol Obstet* 1986; 24:201-207.

Graf WD, Noetzel MJ., Radical reactions from missing ceruloplasmin, the importance of a ferroxidase as an endogenous antioxidant *Neurology* 1999;53:446-447

Gruys E, Obwolo MJ, Toussaint MJM, Diagnostic significance of major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: a review, *Vet. Bull.*, 1994,64,1009-1018

Güngör Ö, Sunar B, Özçelik F, Aktaş Z, Gökmen SS, Akut myokard infarktüsünde sialik asit düzeyleri ve seruloplazmin ile ilişkisi, *Türk Biyokimya Dergisi*, 2004;29(3), 226-231.

Gürer R, İdiopatik parkinson hastalığı etyopatogenezinde seruloplazminin yeri ve proton mr spektroskopisi ile verifikasyonu , *Uzmanlık Tezi*, 2005.

Haap M, Fritzsche A, Mensing H, Haring H, Stumwoll M. Association of high serum ferritin concentration with glucose intolerance and insulin resistance in healthy people. *Ann Intern Med* 2003, 139: 869-70.

Habif S, İnflamatuvar Yanıtta Akut Faz Proteinleri, *İzmir Atatürk Eğitim Hastanesi Tıp Dergisi*, 2005; (43):55-56.

Steven M. Haffner, MD; Andrew S. Greenberg, MD; Wayne M. Weston, PhD; Hongzi Chen, PhD;Ken Williams, MS; Martin I. Freed, MD Effect of Rosiglitazone Treatment on Nontraditional Markers of Cardiovascular Disease in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus. *Circulation*, 2002;106:679-684

Haffner S, Diabetes and the metabolic syndrome-When is it best to intervene to prevent?, *Atherosclerosis Supplements*, 2006; 7(1), 3-10.

Harding AH, Griffin SJ, Wareham NJ, Population impact of strategies for identifying groups at high risk of type 2 diabetes, *Preventive Medicine*, 2006; 42(5), 364-368.

Hausler HR, Sibay TM, Stachowska B, Observations of retinal microaneurysms in a metabolic diabetic Chinese diabetic hamster. *Amer J Ophthalmol*, 1963; 56, 242-244.

Huanga E J, Kuoc WW, Chend YJ, Chene TH, Changf MH, Lug MJ, Tzangh BS, Hsui HH, Huangh CY, Leej SD, Homocysteine and other biochemical parameters in Type 2 diabetes mellitus with different diabetic duration or diabetic retinopathy, *Clinica Chimica Acta*, 2006; 366(1-2) 293-298.

Ishak R, Hassan K, The erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein, plasma fibrinogen and viscosity in chronic renal disease patients with infection, *Malays J Pathol*, 1989;11:29-31.

Jayakumari N, Ambikakumari V, Blaakrishnan KG, Subramonia Iyer K, Antioxidant status in relation to free radical production during stable and unstable anginal syndromes. *Atherosclerosis* 94, 1992; 183-90.

Kafa B, Streptozotocin ile deneysel diabet oluşturulan ratlarda karaciğ e enzimleri ve serum proteinlerindeki elektroforotik değişiklikler. ADÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek lisans Tezi. Aydın 2006.

Kenez J, 1978, Who invented insulin? (Charles H. Best, Frederick Grant Banting), *Orv Hetil.*, 119(44), 2693-2699.

Khan AZ, Farhangkhoe H, Chakrabarti S, Towards newer molecular targets for chronic diabetic complications, *Current Vascular Pharmacology*, 2006; 4, 45-57.

Kim NH, Oh JH, Choi KM, Kim YK, Baik SH, Choi DS, Kim SJ. Serum ferritin in healty subjects and type 2 diabetic patients. *Younsei Med*, 2000, 41(3):387-392.

Kinlaw WB, Levine AS, Morley JE, Silvis SE, Mcclain CJ. Abnormal Zinc Metabolism in Type II DM. *Am J Med* 1983;75:273-277.

Klipstein K, John F Koster, Grobbee DE, Lindermans J, Hofman A, Serum Ferritin and Risk of Myocardial İnferation in the elderly: The Rotterdam Study. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1999;69:1231-6

Kloppe W, Bauer G, 1969, Prescribing euglucon 5 (HB 419) for diabetics unsuccessfully pre-treated with a diet, *Dtsch Med J.*, 20, 18, 584-585.

Koyuer E, Obez, Tip 2 Diyabetli Hastalarda İnsülin Direnci ile IL-6, CRP ve Fibrinojen ile isi 2005.

Kupka R, Fawzi W., Zinc nutrition and HIV infection. *Nutr Rev.* 2002, 60: 69-79.

Kurtul N, Peñçe S, M.Y. Çil, Aksoy H, Erman F, Tip 2 Diabetes Mellituslularda Serum Çinko ve Bakır Değerleri İle Cinsiyet ve Yaş Arasındaki İlişki . Gaziantep Tıp Dergisi 2007. 7-12

Like AA, Rossini AA. Streptozotocin-induced pancreatic insülitis: A new model of diabetes mellitus. Science 1976; 193: 415-17.

Lindley P, Card G, Zaitseva I, Zeitsev V, Reinhammer B, Selin-Lindgren E, Pamela Bielli and Lilia Calabrese: Structure tu function relationships in ceruloplasmin medline et. al. J. Biol. Inorg. Chem., 1997; 2: 454 - 463.

Lothar R, Holger K. Zinc-altered immune function and cytokine production. J Nutr 2000; 130: 1407S-1411S.

Luis DM, Ferrerira B, Palmer TN, Fournier PA, 2005, Effect of impaired glucose uptake on postexercise glycogen repletion in skeletal muscles of insulin-treated streptozotocin-diabetic fasted rats, Metabolism, 54, 11, 1420-1427.

Maes M ,Araview on the Acute Phase Response in Major Depression,Reviews in the Neurosciences, (1993) 4(4):407-416

Mc Cord JM, Iron, free radicals, and oxidative injury. J Nutr Nov, 2004; 134(11):3171S-3172S.

Mc Pearson RA, Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods . (In: Henry JB, editor.) 237-57 Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1996.

Mesa J, Salcedo D, Calle H, Delgado E, Nóvoa J, Hawkins F, Navarrete GS, Parramón M, Acosta D, Detection of ketonemia and its relationship with hyperglycemia in type 1 diabetic patients, Diabetes Research and Clinical Practice, 2006; 72(3), 292-297.

Memisoğulları R, Bakan E. Levels of ceruloplasmin, transferrin, and lipid peroxidation in the serum of patients with Type 2 diabetes mellitus. Journal of Diabetes and Its Complications 2004, (18): 193– 197

Mieko S, Hiromi K, Hayami N, Kazue K, Masahiro H, Masafumi M, Kohei K, Masaaki E, Plasma lipid levels and nutritional intake in childhood and adolescence-onset young type 1 diabetic patients in Japan, Diabetes Research and Clinical Practice, Volume, 2006; 73(1), 29-34.

Mohan C, Memon RA, Bessman SP, 1991, Amphibolic role of the krebs cycle in the insulin-stimulated protein synthesis, Archives of Biochemistry and Biophysics, 289, 1, 83-89.

Mold C, Rogriguez W, Rodic-Polic B, Du Clos TW. CRP mediates protection from lipopolysaccharide through interactions with Fc-gammaR. Journal of Immunology 2002; 169,7019-7025

Molnar D, 2004, The prevalence of the metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus in children and adolescents. Int J Obesity, 28, 70-74.

Mooradian AD. Morley JE, Micronutrient Status in DM. Am. J Clin Nutr, 1987; 45:877-895.

Mulhern SA, Koller LH, Severe or marginal copper deficiency results in a graded reduction in immune status in mice ,Journal of Nutrition, (1988) 118:1041-1047

Murata H, Shimada N, Yoshioka M, Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis, The Veterinary Journal, 2004; 168, 28-40

Nayak S, Bhaktha G, Relationship between sialic acid and metabolic variables in India type 2 diabetic patients, Bio Med Central, 2005; 4, 15-23.

Nishizuka Y, Intracellular signaling by hydrolysis of phospholipids and activation of protein kinase C. Science, 1992; 258, 607-614.

Niewold TA, Tousaint MJM, Gruys E, Monitoring health by acute phase proteins Fourth European Colloquim on acute phase proteins, Segova, İspanya 2003; 57-67.

Nukina H, Sudo N, Aiba Y, Oyama N, Koga Y, Kubo C. Restraint stress elevates the plasma interleukin-6 levels in germ-free mice, Journal of Neuroimmunology, 2001; 115,46-52

Okutur S K, Bes C, Erkal AY, Erol G, Borlu F, Tip 2 Diabetes Mellituslu Hastalarda Vücut Demir Depolarının Metabolik Kontrol, İnsülin Rezistansı ve Mikroalbuminüri Üzerine Etkisi ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi, 2008; 9(1):23-30

Öntürk H, Özbek H, Deneysel diyabet oluşturulması ve kan şeker seviyesinin ölçülmesi Genel Tıp Derg. 2007;17(4):231-236

Öztürk Y, Altan VM, Yıldızoğlu-Arı N, Effects of experimental diabetes and insulin on smooth muscle functions, Pharmacol Rev, 1996;48: 69-112. 2008

Pai LH, Prasad AS., Cellular Zinc in Patients with DM. Nutrition Research, 1988; 8(8):889-897.



Pannen BH, Robothom JL, The acute phase response, *New Horizons*, 1995; 2:183-197

Park YS, Suzuki K, Taniguchi N, and Gutteridge, J.M.C. *F.E.B.S. Lett*, 1999; 458, 13-136.

Peterson HH, Neilsen JP, PMH Heegaard, Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Veterinary in Research*, 2004; 353:1-25

Pickup JC, Williams G, *Textbook of Diabetes* 2nd ed. Volume 1. BlackwellScience, Inc, 2002.

Powell JT, Muller BR, Greenhalgh RM., Acute phase proteins in patients with abdominal aortic aneurysms. *J. Cardiovasc. Surg.* 1987; 28, 528-30. .

Raju VK, *Susruta of ancient India*, *Indian Journal of Ophthalmology*, 2003; 51(2), 119-122.

Rane SG, Lee J H, Lin HM, 2006, Transforming growth factor-beta pathway: role in pancreas development and pancreatic disease, *Cytokine Growth Factor Rev.*, 17, 1-2, 107-119.

Rolo P, Palmeira Mc, Diabetes and mitochondrial function role of hyperglycemia and oxidative stress, *Toxicology and applied pharmacology*, 2006; 212, 167-178.

Saghizadeh M, Ong JM, Garvey WT. The expression of TNF alpha by human muscle. Relationship to insulin resistance. *J Clin Invest* 1996; 97:1111-1116.

Schernthaner G, Cardiovascular mortality and morbidity in type-2 diabetes mellitus, *Cardiovascular Alterations In Diabetes Mellitus: Workshop of the International Society for Heart Research XVth World Congress, Diabetes Research and Clinical Practice*, 1996; 31(1), 3-13.

Seda V, Gülinaz A, Deneysel Diabet Modelleri, *Türk Klinik Biyokimya Dergisi* 2004; 2(3):127-136

Seller GC, Debeer MC, Leilas JM, Synder PW, Glickman LT, Feliburg PJ, Whitehead AS Dog serum amyloid A protein, *The Journal of Biological Chemistry*, 1991; 266(6)3505-3510

Sircar AR, Yadav SK, Mittal A, Kamboj VP, Chowdhury AR, Plasma and Tissue Zinc in Type 2 DM. *Ind J Physiol Pharmacol*, 1985; 4(29):259-62.

Sochor M, Kunjara S, BaQuer NZ, Mclean P, 1991, Regulation of glucose metabolism in livers and kidneys of nod mice, *Diabetes*, 40, 1467-1471.

Song KH, Lee JW, Koh J, Kim HS, Youn JY, Park HS, Koh EH, Kim MS, Youn HJ, Lee KU, Park JY,  $\alpha$ -Lipoic acid prevents diabetes mellitus in diabetes-prone obese rats, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2004; 326(1), 197-202.

Surendran S, Matalon R, Tying SK, 2006, Upregulation of aspartoacylase activity in the duodenum of obesity induced diabetes mouse: Implications on diabetic neuropathy, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 345, 3, 973-975.

Sunderman Fw, Numato S, Measurement of human serum ceroloplazmin by its p-pheynlene daimine oxidase activity. *Chin, Chemistry*. 1970.16:903-910

Szkudelski T, The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res* 2001;50:536-46.

Telci A, Cakatay U, Kayalı R, Erdoğan C, Orhan Y, Sivas A ve Akcay T. Oxidative protein damage in plasma of type 2 diabetic patients. *Hormone and Metabolic Research*, 2000. 32 (1), 40–43.

Thompson D, Milfordvard A, Whicher JT, The value of acute phase protein measurments in clinical practice ,*Annals of Clinical Biochemistry*, 1982; 26:123-131

Tura A, Willer AK, Pacini G, 2006, Insulinogenic indices from insulin and C-peptide: Comparison of beta-cell function from OGTT and IVGTT, *Diabetes Research and Clinical Practice*, 72, 3, 298-301.

Turgut K, Endokrin, Metabolik ve Lipit Bozuklukları ve Testleri, *Veteriner Klinik Laboratuar Teşhis, Bahçivanlar Basım Sanayi A. Ş.*, 2000; 415-487.

Ulutaş PA, Deneysel *Pasteurella haemolytica* enfeksiyonlu koyunlarda kolostrum ve anne sütü ile beslemenin kan akut faz proteinleri ve bazı mineral düzeylerine etkisi. Doktora tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2003.

Ulutaş PA, Ozpinar A, Effect of Mannheimia (*Pasteurella*) haemolytica infection on acute-phase proteins and some mineral levels in colostrum-breast milk-fed or colostrum-breast milk-deprived sheep. *Vet Res Commun*, 2006; 30: 485-495.

Ulutaş PA, Voyvoda H, Ulutaş B, Aypak S, Miks Helmint Enfeksiyonlu Keçilerde Haptoglobin, Serum Amiloid-A ve Seruloplazmin Konsantrasyonları, Türkiye Parazitoloji Dergisi, 2008; 32 (3): 229 – 233.

Underwood JE, Zinc. İn: Trace elements in human and animal nutrition; New York, Academic Press, 1977; Pp 196-237,

Ülger H, Coşkun A, Çinko: Temel Fonksiyonları ve Metabolizması Düzce Tıp Fakültesi Dergisi 2003; 5 (2): 38-44.

Vallee BL, Falchuk KH, The biochemical basis of zinc physiology . *Physiol Rev*, 1993; 73: 79-118.

Van Campenhout C, Nichane M, Antoniou A, Pendeville H, Bronchain OJ, Marine JC, Mazabraud A, Voz ML, and Bellefroid, E.J. Evi1 is specifically expressed in the distal tubule and duct of the *Xenopus* pronephros and plays a role in its formation , 2006 *Dev. Biol.* 294(1):203-219 (Journal)

Vania PA, Wobeto Priscila MD, Garcia Taniar Zaccoriotto, Maria De Fatima Sonatı, Haptoglobin Polymorphism and Diabetic Nephropathy in Brezilian Diabetic Patients, *Annals of Human Biology*, July-Augst, 2009; 36(4):437-441

Vásqueza NA, Lascurainb R, Cerónc E, Vandad B, Sandovalc G, Tapiac A, Guevarae J, Felipe L, Zentenob E, Oral glycine administration attenuates diabetic complications in streptozotosin-induced diabetic rats , *Life Sciences* , 2006; 79(3), 225-232.

Visser M, Bouter M, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB, Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults, 1999; 232:2131-5.

Walter RM, Uriu-Haare JY, Olin KL, Oster MH, Anawalt D, Critchfield JW, Keen CL, Copper Zinc, Magnesium Status and Complications of DM. *Diabetes Care* ,1991;14(11):1050-1056.

Weng X, Cloutier Ş, Beaulieu R, Roederer GO, İnfluence of acute phase proteins on erythrocyt aggregation, *American Journal of Physiology*, 1997; 271:2346-2352.

Yavuz O, Cam M, Bukan N, Guven A, Silan F, Protective effect of melatonin on beta-cell damage İn streptozotosin-Induced diabetes in rats, *Acta Histochem*, 2003; 105, 261–266.

Yenen O, İnfeksiyon hastalıklarında akut faz reaktanları, “Çalangu S, Eraksoy H, Özsüt H (eds): İnfeksiyon Hastalıkları '90-'91” kitabında s.21-42,Yüce Yayınları, İstanbul ,1990.

Yenigün M, Diabetes Mellitus: Fizyopatolojisi, Heryönüyle Diabetes Mellitus, Nobel Tıp Kitapevi, 1995; 47-81.

Yoshioka M, Watanabe A, Shimada N, Muratha H, Yokomizo Y, Nakajima Y, Regulation of haptoglobin secretion by recombinant bovine cytokines in primary cultured bovine hepatocytes. Domestic Animal Endocrinology, 2002; 234,425-433

Zhao Y, Feng DD, Chen C, Contribution of adipocyte derived factors to beta-cell dysfunction in diabetes. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2006; 38, 804-819.

Zhao N, Sun Z, Mao Y, Hang P, Jiang X, Sun L, Zhao J, Du Z. Myocardial iron metabolism in the regulation of cardiovascular diseases in rats. Cell Physiology Biochemistry. 2010;25(6): 587-594.

Zoltan M , Thomas Willis 2004, (1621-1675) the founder of clinical neuroscience, Nature Reviews Neuroscience, 5, 329-330.

## ÖZGEÇMİŞ

Ayşenur KAHYAOĞLU 1977 yılında İstanbul'da doğmuştur. İlk ve orta eğitimini Hatay da ,lise, yüksekokul,üniversite eğitimini Aydın'da tamamlamıştır.Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu Ebelik bölümü lisans mezunudur.1994 yılından beri Aydın ilinde Devlet Hastanesi,Doğumevi ,Huzurevi,Sağlık ocakları gibi kurumlarda ebelik ve hemşirelik görevini yapmış, hem çalışıp hem de okuyarak kariyerine devam etmiştir.Halen ADÜ Araştırma ve Uygulama Hastanesi Hematoloji Kemotoropi ünitesinde mesleğine devam etmektedir.Araştırmacı 2008 yılında ADÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başlamış ve 2011 Ağustos ayında tamamlamıştır.2010-2011 döneminde ADÜ Eğitim Fakültesi Pedagojik Formasyon Programından başarıyla mezun olmuştur.Mesleki ve eğitim birikimini kullanarak mesleğinin mutfak kısmında yer alıp eğitmen olmayı hedeflemektedir.

## TEŞEKKÜR

Tezimin planlanması ve gerçekleştirilmesi sırasında ,tezin bütün aşamalarına titizlikle eğilen,tezime yol gösterici çok değerli katkılarda bulunan mesai dışı zamanlarda dahi vaktini benim için harcayan saygıdeğer danışman hocam Sayın Doç. Dr. Pınar ALKIM ULUTAŞ Hanfendiye,

Sağlık bölümlerinden hiçbirini ayırt etmeden öğrencilerin önünü açan ve huzurlu ve güzel bir ortam oluşturan saygıdeğer Biyokimya A.B.D.başkanımız Sayın Prof. Dr. Ayşegül BİLDİK Hocama,ve bu sürecime ve de bu ortama değerli katkılarından dolayı Prof. Dr. Funda KIRAL ve Prof Dr. Kamil SEYREK Hocalarıma,

Eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleri ile desteklerini her zaman yanımda hissettiğim Yrd. Doç. Dr. Hasan AKŞİT ve Yrd. Doç. Dr. Serap ÜNÜBOL AYPAK hocalarıma, ayrıca tezimin bütün aşamalarımda bana yardımcı olan sevgili bölüm arkadaşlarım Mürüvet URAL ve Turgut ŞEKERLER'e,

Eğitimim konusunda her zaman beni destekleyen yüksek lisans ta da desteğini hiçbir zaman esirgemeyen çok sevdiğim Hocam Yrd. Doç. Dr. Belgin YILDIRIM 'a,

Birde bu işin çalışma hayatı kısmında ve özel hayatımda desteğini esirgemeyen ve her zaman kahrımı çeken arkadaşlarım Sayın Dilber KARASULU ve Büşra KARADEMİR Hanfendilere,

Ayrıca bu günlere gelmemde en büyük paya sahip olan, destek, ilgi ve sevgilerini esirgemeyen ve hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan çok sevdiğim annem Ayşe Yüksel KAHYAOĞLU ve çok sevdiğim babam Mehmet KAHYAOĞLU'na ve bu süreçte kardeşlik vazifemi askıya aldığımda benden beklentileri olmayan abim Yener KAHYAOĞLU'na ve ablam Hatice TEMEL'e sonsuz teşekkürler ederim. Teşekkürler.