



**T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI  
VFT-YL-2011-0002**

**SİTAGLİPTİN'İN RAT KARACİĞER VE BÖBREK  
DOKUSUNDA OKSİDATİF STRES METABOLİZMASI  
ÜZERİNE ETKİSİ**

**Ecz. Emel KOSAT**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Cavit KUM**

**AYDIN-2011**

**T.C.**  
**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI**  
**VFT-YL-2011-0002**

**SİTAGLİPTİN'İN RAT KARACİĞER VE BÖBREK**  
**DOKUSUNDA OKSİDATİF STRES METABOLİZMASI**  
**ÜZERİNE ETKİSİ**

**Ecz. Emel KOSAT**

**DANIŞMAN**  
**Doç. Dr. Cavit KUM**

**AYDIN-2011**

## ÖNSÖZ

Diabetes mellitus (DM) tüm dünyada en sık rastlanan ve endojen insülinin mutlak veya göreceli eksikliği ya da periferik etkisizliği sonucu ortaya çıkan kronik hiperglisemi, karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında bozukluk, kapiller membran değişiklikleri ve hızlanmış arteriosklerozis ile seyreden endokrin bir hastalıktır. İnsülin ve oral antidiabetik ilaçların keşfiyle diabetli hastaların yaşam süreleri belirgin olarak uzatılmış; ancak, buna bağlı gelişen kronik komplikasyonlarının görülme sıklığı da artmıştır. Organizmada gerçekleşen biyokimyasal süreçler zaman içinde daha iyi anlaşıldıkça birçok hastalığın tedavisine yönelik yeni yaklaşımlar gündeme gelmekte ve aydınlatılmaya çalışılmaktadır. Bugün dünyada prevalansı en yüksek hastalıklardan olan, en ağır komplikasyonlarla seyreden ve pandemi halini alan, dünyada 2000’li yıllarda 100 milyon civarında olan DM hasta sayısının, 2010 yılında 220 milyon, 2025 yılında ise 300 milyona ulaşacağı düşünüldüğünde, diabet tedavisinin temelini öncelikle eğitim, plazma glikozunun normale çekilmesi, mikro veya makro-vasküler komplikasyonlar ile kardiyovasküler risk faktörlerinin kontrol altında tutulmasının büyük önem taşıdığı vurgulanmaktadır. Dolayısı ile klinik bulguların, tedavi ile bütünlük sağlanamasa da uygun tedavinin geliştirilmesinde önemli bir basamağı oluşturduğu düşünülmektedir. Özellikle, günümüzde Tip 1 diabetin önlenmesinde etkili olabilecek bir bağışıklık sistemi etkeninin geliştirilmesi bir hayal olmaktan çıkmış, sıcak şok proteini – 65’e (heat-shock protein-65) veya adacık  $\beta$ -hücrelerinin bir başka antijenine dayanan bir aşının geliştirilmesi erişilmesi gereken bir hedef haline gelmiştir.

Oksidatif stresin yaşlanma ile ilişkili fizyolojik ve fiziksel değişikliklerin temelini oluşturduğu kabul edilmektedir. Birçok çalışmada artmış serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun birçok hastalığın patogenezinde rol aldığını göstermektedir. Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde olduğu sürece organizma serbest radikallerden etkilenmediği belirtilmektedir. Kanseri ve yaşlanma dâhil miyokard enfarktüsü gibi kardiyolojik hastalıklar, parkinson, alzheimer ile nöro-dejeneratif bozuklukların şekillendiği bazı nörolojik hastalıklar ile astım, DM, romatoid artritinde dahil olduğu birçok hastalığın oksidatif stres ile ilişkisi olduğu açıklanmıştır. Diyabetik hastalarda serbest oksijen

radikallerinin ve lipid peroksidasyonun önemli derecede arttığı ve oksidatif stresin diabet etiyojisinde ve ilerlemesinde rolü olduğu ifade edilmiştir. Özellikle Tip I diabette pankreatik  $\beta$  hücrelerinin apoptozisine, Tip II diabette ise insülin salgılanmasını uyaran mekanizmanın inhibe edilmesine neden olduğu bildirilmiştir.

DM tedavisinde komplikasyonlara (yüksek glikolize hemoglobin ( $HbA_{1c}$ ), artmış kilo ve hipoglisemi gibi) yol açmayan glukagon benzeri peptid - 1 (GLP-1) agonistleri ile dipeptil peptidaz - 4 (DPP-4) enzim inhibitörleri, diğer sağaltım seçeneklerine göre kilo kaybı yapmaları (GLP-1 agonistleri) veya kilonun korunması (DPP-4 inhibitörleri) ve hipoglisemi risklerinin düşük olması gibi bazı avantajlara sahiptirler. Bu avantajlar tedaviye uyumu arttırdığı gibi özellikle kilo kaybı ve kardiyovasküler sorunlar yaşayan diabetli hastalarda yaşamsal anlamda büyük artılar sağlayabileceği ifade edilmektedir. DM sağaltımında GLP-1 ve glukozu bağımlı insülinotropik peptid (GIP) gibi dışarıdan verilen inkretin hormonları vücutta bulunan *DPP-4 enzimi* tarafından hızla parçalandıkları için pratikte kullanım alanı pek bulunmamaktadır. Bu nedenle oral verilen endojen inkretinlerin parçalanmasını engelleyen DPP-4 enzim inhibitörleri geliştirilmiş ve bu sınıfın öncüsü de kompetitif ve tam reversibl bir DPP-4 enzim inhibitörü olan sitagliptin (*Januvia*<sup>®</sup>, *Xelevia*<sup>®</sup>, *Galactiv*<sup>®</sup>, *Tesavel*<sup>®</sup>) olmuştur.

Çalışmada, sitagliptinin ratlarda ağızdan 36 gün boyunca günde 1, 10 ve 100 mg/kg dozlarda uygulanmasını takiben uygulama öncesi ve sonrası canlı ağırlık, kan glikoz düzeyleri üzerine olası etkileri ile karaciğer ve böbrek doku ağırlıklarındaki olası değişikliklerin belirlenmesi yanında sitagliptinin, artan dozlarda uygulanması ile bu ilacın biyotransformasyonunda ve atılmasında önemli rol oynayan karaciğer ve böbrek doku örneklerinde oksidatif hasar belirteçlerinden SOD (*U/mg doku protein*) ve CAT (*k/mg doku protein*) enzim aktiviteleri ile GSH seviyesi (*mg/mg doku protein*) ve MDA konsantrasyonlarında (*nmol/mg doku protein*) olası etkilerinin incelenmesi hedeflenmiştir.

Bu çalışma, “*Sitagliptin’in Rat Karaciğer ve Böbrek Dokusunda Oksidatif Stres Metabolizması Üzerine Etkisi*” isimli ADÜ Araştırma Fonu Projesi (VFT-10025) olarak, Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL ve ONAY.....	i
ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iv
KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
RESİMLER DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Serbest radikaller.....	2
1.2. Antioksidanlar.....	5
1.2.1. Enzimatik antioksidanlar.....	7
1.2.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1).....	8
1.2.1.2. Katalaz (CAT, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -Oksidoredüktaz, EC 1.11.1.6).....	8
1.2.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px, EC 1.11.1.9).....	9
1.2.1.4. Glutasyon redüktaz (GSSG-R, EC 1.6.4.2).....	10
1.2.1.5. Glutasyon S-transferaz (GST, EC 2.1.1.3).....	10
1.2.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar.....	11
1.2.2.1. Glutasyon (GSH, Redükte glutasyon).....	11
1.3. Lipid Peroksidasyon ve Malondialdehid (MDA).....	12
1.4. Diabetes mellitus (DM).....	14
1.5. Diabetes mellitus (DM) ve oksidatif stres.....	16
1.6. Diabetes mellitus'ta kullanılan ilaçlar.....	19
1.6.1. Dipeptil peptidaz - 4 (DPP-4) enzimi ve inhibitörleri.....	19
1.6.1.1. Sitagliptin.....	22
2. GEREÇ ve YÖNTEM.....	34
2.1. Gereç.....	34
2.1.1. Hayvan materyali.....	34
2.1.2. Kimyasal maddeler.....	36
2.1.3. Cihazlar ve Araç – Gereçler.....	37
2.2. Yöntem.....	37
2.2.1. Kan glikoz düzeyinin ölçülmesi.....	37
2.2.2. Doku örneklerinden süpernatant hazırlanması.....	37
2.2.3. Biyokimyasal analizler.....	38

2.2.3.1.	Doku total protein miktarı analizi .....	38
2.2.3.2	Superoksit Dismutaz (SOD) analizi .....	39
2.2.3.3.	Katalaz (CAT) analizi.....	40
2.2.3.4.	Glutasyon (Glutathione, $\gamma$ -glutamilsisteinilglisin, GSH) analizi .....	42
2.2.3.5.	Malondialdehid (MDA) analizi .....	43
2.3.	İstatistiksel değerlendirme.....	44
3.	BULGULAR.....	45
4.	TARTIŞMA.....	52
5.	SONUÇ.....	64
	ÖZET.....	66
	SUMMARY.....	68
	KAYNAKLAR.....	70
	ÖZGEÇMİŞ.....	88
	TEŞEKKÜR.....	89

## KISALTMALAR DİZİNİ

$\varepsilon$	: Ekstinksiyon katsayısı
4-HNE	: 4-hidroksinonenal
8-OHdG	: 8-hidroksi deoksiguanazin
CAT	: Katalaz
$Cl_R$	: Böbrek klirensi
Cu-SOD	: Cu <sup>++</sup> içeren süperoksit dismutaz
Cu, Zn-SOD	: Sitoplazmada lokalize süperoksit dismutaz
DKA	: Diyabetik ketoasidoz
DPP-4	: Dipeptil peptidaz – 4
EAA	: Plazma eğri altında kalan alan
ESRD	: Son dönem böbrek yetmezliği
FDA	: Gıda ve İlaç Dairesi
G6PDH	: Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz
GIP	: Glukoza bağımlı insülinotropik peptid
GLP-1	: Glukagon benzeri peptid – 1
GSH	: Glutasyon, $\gamma$ -glutamilsisteinilglisin
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
GSSG-R	: Glutasyon redüktaz
GST	: Glutasyon S-transferaz
HbA <sub>1c</sub>	: Glikolize hemoglobin
H <sup>·</sup>	: Hidrojen
HO <sub>2</sub> <sup>·</sup>	: Hidroperoksil
IUPAC	: Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
Max	: Maksimum
MDA	: Malondialdehid
Min	: Minimum
MK-0431	: Sitagliptin fosfat monohidrat
Mn-SOD	: Mitokondrilerde lokalize süperoksit dismutaz
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NBT	: Nitrotetrazolium blue klorit
NDM	: Neonatal diabetes mellitus
NFkB	: Nükleer faktör kapa-B
NO	: Nitrik oksit
NO <sub>2</sub>	: Azot dioksit

$O_2^-$	: Singlet oksijen
$O_2^{\cdot -}$	: Süperoksit
$O_3$	: Ozon
$OH^\cdot$	: Hidroksil
$ONOO^-$	: Peroksinitrit
$PPAR\gamma$	: Peroksizom proliferator-aktivasyonlu reseptör-gamma
PUFA	: $\omega$ -6 çoklu doymamış yağ asidi
$RO^\cdot$	: Alkoksil
$ROO^-$	: Peroksil
$ROOH$	: Hidroperoksitleri
ROS	: Reaktif oksijen ürünleri
$RS^\cdot$	: Tiyol radikal
RSH	: Sülfür merkezli radikaller
SOD	: Süperoksit dismutaz
$t_{1/2}$	: Yarılanma ömrü
TAS	: Total antioksidan
TBA	: 2-tiyobarbitürik asit
TBARS	: Tiyobarbitürik asit ile reaksiyon veren maddeler
TCA	: Trikloro asetik asit
$T_{max}$	: Maksimum doz zamanı
TOS	: Total oksidan



## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1. Önemli bazı serbest radikal çeşitleri, simgeleri ve özellikleri.....	4
Çizelge 1.2. Önemli bazı antioksidanlar, reaksiyonları ve özellikleri.....	6
Çizelge 1.3. Farklı evrelerde bulunan dipeptil peptidaz-4 (DPP-4) enzim inhibitörleri.....	21
Çizelge 1.4. İnsan, köpek ve ratta sitagliptin'nin farmakokinetik parametreleri...	26
Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan standart rat yemi bileşimi ileşimi.....	35
Çizelge 2.2. Çalışmada kullanılan hayvan grupları, ilaç uygulama dozları ve şekli.....	36
Çizelge 2.3. Doku total protein miktarının belirlenmesi.....	39
Çizelge 2.4. Doku süpernatantda SOD analizinin yapılışı.....	40
Çizelge 2.5. Doku süpernatantda CAT analizinin yapılışı.....	41
Çizelge 2.6. GSH standartının hazırlanması.....	42
Çizelge 2.7. Doku süpernatantda GSH analizinin yapılışı.....	43
Çizelge 2.8. Doku süpernatantda MDA analizinin yapılışı.....	44
Çizelge 3.1. Grupların 0. ve 36. gün canlı ağırlık değerleri (g).....	45
Çizelge 3.2. Gruplarda 36. gün karaciğer ve böbrek (sağ ve sol) doku ağırlık değerleri (g).....	47
Çizelge 3.3. Grupların 0. ve 36. gün kan glikoz değerleri (mg/dL).....	48
Çizelge 3.4. Gruplarda 36. gün karaciğer ve böbrek doku örneklerinde SOD ve CAT enzim aktivite ile GSH seviyesi ve MDA konsantrasyon değerleri.....	50

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1. Serbest radikallerin oluşumu ve diğer reaktif türlerinin üretimi.....	4
Şekil 1.2. Serbest radikallerin oluşumu ve enzimatik detoksifikasyonu.....	7
Şekil 1.3. Çoklu doymamış yağ asidi (PUPA) ile başlayan lipid peroksidasyonu ve ürünleri.....	13
Şekil 1.4. Diabetes mellitus'ta artmış oksidatif stresin mekanizması.....	17
Şekil 1.5. Hiperglisemi aracılı ROS üretiminde polioll ve diaçilgliserol yollarının birbiri ile ilişkisi.....	18
Şekil 1.6. Sitagliptin'in kimyasal yapısı.....	23
Şekil 1.7. Sitagliptin'in birinci basamak sentezi.....	23
Şekil 1.8. Sitagliptin'in geriye dönük sentezi.....	24
Şekil 1.9. İnsan, köpek ve ratlarda [ <sup>14</sup> C]-sitagliptin'in biyotransformasyon yolağı.	27
Şekil 3.1. Grupların çalışma öncesi (0. gün) ve sonrası (36. gün) canlı ağırlık (g) değerlerine ait grafik.....	46
Şekil 3.2. Gruplarda 36. gün karaciğer doku ağırlık (g) değerlerine ait grafik.....	47
Şekil 3.3. Gruplarda 36. gün sağ sol böbreğe ait doku ağırlık (g) değerlerine ait grafik.....	48
Şekil 3.4. Grupların çalışma öncesi (0. gün) ve sonrası (36. gün) kan glikoz düzeylerine (mg/dL) ait grafik .....	49
Şekil 3.5. Gruplarda 36. gün karaciğer dokusunda SOD ve CAT enzim aktivitesi ile GSH seviyesi ve MDA konsantrasyon değerlerine ait grafik.....	51
Şekil 3.6. Gruplarda 36. gün böbrek dokusunda SOD ve CAT enzim aktivitesi ile GSH seviyesi ve MDA konsantrasyon değerlerine ait grafik .....	51

## RESİMLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Resim 2.1. Hayvanların bakım odası ve gruplandırma kafesleri.....	34
Resim 2.2. Hayvanların organlarının çıkarılması.....	38

# 1. GİRİŞ

Oksijen radikalleri (reaktif oksijen ürünleri, reactive oxygen species, ROS) kimyasal olarak dengeli olmayan ve aşırı reaktif bileşikler olup, hücre ve dokularda aerobik metabolizma sırasında elektron transport zincirinin normal bir parçası olarak üretilmektedir. Organizmada elektron transportundaki bozulma ile artmış ROSde proteinler, lipidler ve nükleik asidlerde hasar oluşturur. Bütün aerobik organizmalar, mitokondrilerinde moleküler oksijenin indirgenmesi sırasında yan ürün olarak, sıklıkla kısa ömürlü reaktif atom ve moleküler süperoksid formunda serbest radikaller üretirler. Serbest oksijen radikallerinin reaktivite özellikleri nedeniyle organizmada herhangi bir zamanda oluşturduğu hücre ve doku hasarı “*oksidan*” veya “*oksidatif stres*” olarak adlandırılır (Çavdar ve ark1997, Dünder ve Arslan 1999a, Babior 2000, Bonnefont-Rousselot ve ark 2000, Derin ve ark 2001, Bonnefont-Rousselot ve ark 2003, Bulut 2003, Erbay ve ark 2003, Antmen 2005, Gür ve ark 2005, Memişoğulları 2005, Altan ve ark 2006, Oğul 2006, Dönmez 2008, Okutur ve ark 2008).

Oksidatif stresin yaşlanma ile ilişkili fizyolojik ve fiziksel değişikliklerin temelini oluşturduğu kabul edilmektedir. Birçok çalışmada artmış serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun birçok hastalığın patogeneğinde rol aldığını göstermektedir. Kanser ve yaşlanma dahil miyokard enfarktüsü gibi kardiyolojik hastalıklar, parkinson, alzheimer ile nöro-dejeneratif bozuklukların şekillendiği bazı nörolojik hastalıklar ile astım, diabetes mellitus, romatoid artrit de dahil olduğu birçok hastalığın oksidatif stres ile ilişkisi olduğu açıklanmıştır. Serbest radikallerin vücutta yangıya, ateroskleroza, hipertansiyona, iskemik hasara yol açabileceği gibi bazı infeksiyöz, karaciğer, akciğer, göz ve ürolojik hastalıklar ile bağışıklık sistemi hastalıklarına neden olabilecekleri vurgulanmıştır (Floyd 1999, Engin ve Altan 2000, Engin ve ark 2005, Hasanoğlu ve ark 1994, Özenirler ve ark 1994, Engin ve ark 2003, Singh ve ark 2004, Yardım-Akaydın ve ark 2004, Yardım-Akaydın ve ark 2006, Serra ve ark 2009, Kaneko ve ark 1980, Zima ve ark 1995).

Diyabetik hastalarda serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonun önemli derecede arttığı ve oksidatif stresin diabet etiyolojisinde ve ilerlemesinde rolü olduğu ifade edilmiştir. Özellikle Tip I diabette pankreatik  $\beta$  hücrelerinin apoptozisine, Tip II diabette

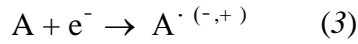
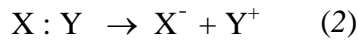
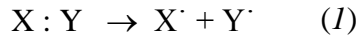
ise insülin salgılanmasını uyaran mekanizmanın inhibe edilmesine neden olduğu bildirilmiştir (Pitkanen ve ark 1992, Bonnefont-Rousselot ve ark 2000). Uzamış oksidatif stresin ve antioksidan kapasitede görülen değişikliklerin ise ateroskleroz, retinopati, nefropati, nörolojik disfonksiyonlar gibi diabetin kronik komplikasyonlarının ortaya çıkışı ile ilişkili olabileceği vurgulanmaktadır (Van Dam ve ark 1995, Bukan ve ark 2003, Aragno ve ark 1999, Ramanathan ve ark 1999, Griffin ve Ojeda 1992, Jain ve ark 1999c, Gumieniczek ve ark 2002). Diyabette meydana gelen hücre içi ve hücre dışı glikoz konsantrasyon artışı oksidatif stresi başlatan temel unsur olarak ifade edilmiştir. Hayvanlarda oluşturulan deneysel diyabette ve diabet hastalarında oksidatif stres oluşturan glikozun otooksidasyonu, protein glikolizasyonu ve gelişmiş glikolizasyon son ürünlerinin oluşumu gibi birçok mekanizmadan söz edilmektedir (West 2000, Anderson ve ark 2001, Gumieniczek ve ark 2002, Maritim ve ark 2003, Düzgüner 2005, Halifeoğlu ve ark 2005).

### **1.1. Serbest radikaller**

*Serbest radikaller* genel olarak moleküler ya da atomik yörüngesinde bir veya daha fazla reaktif eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve etkin moleküller olarak tanımlanabilir. Serbest radikaller, ROS veya metabolitleri olarak da bilinirler ve oksidatif stresin oluşmasında büyük rol oynarlar (Halliwell 1992, Hilmi 1994, Akkuş 1995, Halliwell ve ark 1995, Çavdar ve ark 1997, Ihara ve ark 1999, Kuyvenhoven ve Meinders 1999, Maritim ve ark 2003, Mihmanlı ve ark 2003, Halifeoğlu ve ark 2005, Hazman 2011).

İlaçlar veya ilaç toksikasyonları, kimyasallar, radyasyon, ultraviyole ışınlar, yağ oksidasyonu, immunolojik ve biyokimyasal redoks reaksiyonlar ile stres ve bireysel alışkanlıklar (sigara, alkol gibi) gibi birçok yolla serbest radikal oluşumu gerçekleşebilir. Serbest radikal reaksiyonları nötrofil, makrofaj gibi bağışıklık sistemi hücrelerinin savunma mekanizmasında gerekli olsa da, bu radikallerin fazla üretimi doku hasarına ve hücre ölümlerine neden olabilmektedir. Serbest radikaller hücrelerin karbohidratlar, lipid, protein, DNA gibi tüm önemli bileşiklerinde etkilere yol açarak yapılarında bozulmalara yol açabilirler (Halliwell ve ark 1992, Babior 2000). Ayrıca aralarında diabet, ateroskleroz, anfizem, bronşit ve yaşlanmaya bağlı dejeneratif bozuklukların yer aldığı kalp, serebrovasküler, renal, akciğer ve nörodejeneratif hastalıkların yer aldığı pek çok patolojik durumların oluşumuna katkıda bulunabilirler (Çavdar ve ark 1997, Floyd 1999, Derin ve ark 2001).

Bir serbest radikaller genel olarak üç şekilde oluşabilir. Buna ait reaksiyon modelleri aşağıda belirtilmiş olup, buna göre (1) Kovalent bağ taşıyan normal bir molekülün, bölünme sonrası ortak elektronlardan birinin kalmasıyla sonuçlanan homolitik yıkımlanması sonucu, (2) normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya kovalent bağı oluşturan her iki elektronunda atomlardan birisinde kalmasıyla sonuçlanan heterolitik bölünmesi sonucu, (3) normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi şeklindedir. (Cheeseman ve Slater 1993, Altan ve ark 2006, Halliwell ve Gutteridge 2001)



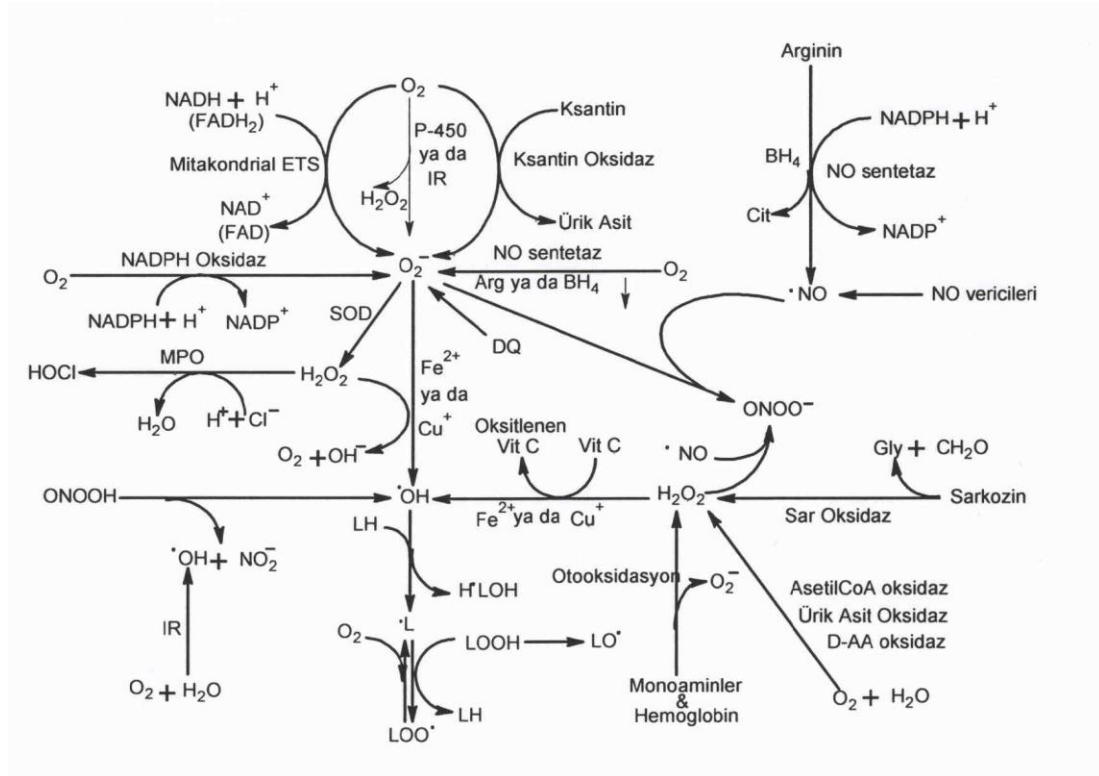
Serbest radikal kaynağı olarak bilinen oksijen ve nitrojen molekülleri yaşam için vazgeçilmez olmakla birlikte, son derece reaktif olan ara ürünlere dönüşürler. Serbest radikaller fizyolojik ve fizyolojik olmayan süreçte oluşan oksijenin hem radikal türevlerini [süperoksit ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidroksil ( $OH^{\cdot}$ ), hidroperoksil ( $HO_2^{\cdot}$ ), peroksil ( $ROO^{\cdot}$ ), alkoksil ( $RO^{\cdot}$ ) gibi] hem de radikal olmayan türevlerini [singlet oksijen ( $O_2^{\cdot}$ ), ozon ( $O_3$ ), hidrojenperoksit ( $H_2O_2$ ), hipoklorik asit ( $HOCl$ ), nitrik oksit ( $NO$ ), azot dioksit ( $NO_2$ ) ve peroksinitrit ( $ONOO^{\cdot}$ ) gibi] kapsamaktadırlar (Çizelge 1.1 ve Şekil 1.1) (Dündar ve Arslan 1999, Yazıcı ve Köse 2004, Gutteridge 1995).

Oluşan serbest radikaller hücreye genel olarak üç temel mekanizma ile zarar verebilirler. Bunlar;

- *Membran lipidlerinin peroksidasyonu*: Membran lipidlerindeki doymamış yağ asitlerinin reaktif oksijen ürünleri tarafından oksidasyonu “lipit peroksidasyon” olarak bilinir. Lipid peroksidasyon sonucunda konjuge dienler, malondialdehid (MDA), 4-hidroksinonenal (4-HNE), akrolein, izoprostanlar ile etan ve pentan gibi alkanlar meydana gelir. Araşidonik asit metabolizması sonucu oluşan serbest radikallerin enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonu sonucu hücre membranının stabilizasyonunu ortadan kaldırılarak hızlı hücre ve doku bozulmalarına neden olabiliyorlar (Haber ve Weiss 1984, Aygün 2010).

Çizelge 1.1. Önemli bazı serbest radikal çeşitleri, simgeleri ve özellikleri.

Serbest radikaller	Simge	Özellikleri
Alkoksil	RO <sup>·</sup>	Organik peroksitlerin yıkımı sonucu üretilen oksijen metabolitidir
Azot dioksit	NO <sub>2</sub>	Nitrit oksitin oksijen ile olan reaksiyonundan üretilir
Hidrojen	H <sup>·</sup>	Basit, bilinen radikaldır
Hidrojenperoksit	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Reaktivitesi ve moleküler hasar düzeyi zayıftır
Hidroksil	OH <sup>·</sup>	En reaktif oksijen metabolitidir
Hidroperoksil	HO <sub>2</sub> <sup>·</sup>	Lipidlerde çözünür ve lipid peroksidasyonu artırır
Hipoklorik asit	HOCl	Myeloperoksidaz reaksiyonu ile oluşan protein oksidasyon ürünüdür
Nitrik oksit	NO	L-arginin amino asitinden <i>in vivo</i> olarak üretilir
Nitröz oksit	HNO <sub>2</sub>	Nitrit oksitin reaksiyonundan üretilir
Peroksil	ROO <sup>·</sup>	Lipidlerde lokalize olur ve perhidroksile oranla zayıf etkilidir
Peroksinitrit	ONOO <sup>-</sup>	NO ile süperoksit hızlı bir reaksiyon sonucu üretilir
Singlet oksijen	O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Oksidatif oksijen formu güçlü, yarılanma ömrü kısadır
Süperoksit	O <sub>2</sub> <sup>·-</sup>	Oksijen metabolizmasının ilk ara ürünü
Tiyol radikal	RS <sup>·</sup>	Sürlü ve çiftlenmemiş elektron içeren türlerdir
Trikloro metil	CCl <sub>3</sub>	Karaciğerde üretilen CCl <sub>4</sub> ürünü metabolit



Şekil 1.1. Serbest radikallerin oluşumu ve diğer reaktif türlerinin üretimi (Kaya 2005).

- *Proteinlerde disülfit bağı oluşumu*: Sülfür merkezli radikaller (RSH) (glutatyon (GSH gibi tiyoller (R-SH)) ve proteinlerdeki homolitik yıkımlanma reaksiyonu sonucu albümin ve immünoglobülin - G gibi çok sayıda disülfit bağları içeren proteinlerin tersiyer yapıları ve konfigürasyonu bozularak vücuttaki metabolik aktiviteleri engellenebilir. Enzimlerde protein yapısında olduklarından aktivitelerinde de değişiklikler meydana gelebilir (Stadtman 1993, Dotan ve ark 2004).

- *DNA hasarı*: DNA sentezlenemeyen; ancak, kopyalanabilen bir molekül olduğundan, DNA'daki modifikasyonlar mutasyona neden olabilmektedir. Bu nedenle DNA hasarının ROS'leri ile indüklenebilen hücresel modifikasyonların en önemlisi olarak değerlendirilmektedir. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu oluşan hidrojen peroksit, okzaldehydler ve diğer peroksitler ile poli ansatüre yağ asitleri ve karbonhidrat oksidasyonunun bir ürünü olan glioksalin DNA, RNA ve hücre bölünmesini etkilediği, bu yolla kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynayabileceği ileri sürülmektedir. Ayrıca oluşan hidrojen peroksitlerin membranlardan kolayca geçerek hücre çekirdeğinde DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna, sonuçta hücre ölümüne yol açabilirler (Halliwell ve ark 1992, Babior 2000).

## 1.2. Antioksidanlar

Hücre ve dokular, radikal ürünleri ve reaksiyonları inhibe edebilecek, dolayısı ile bunların meydana getirdiği hasarı önleyebilecek bir sisteme sahiptirler. Bu sistemde yer alan ve radikallerle oldukça hızlı şekilde reaksiyonlara girerek otooksidasyon ve peroksidasyonun ilerlemesini önleyebilen maddeler "*antioksidan*" olarak tanımlanmaktadır. Oluşan herhangi bir radikal metabolitinün üretimini önlenmesi, üretilmiş radikallerin temizlenmesi, oluşan hücre harabiyetinin onarılması, ikincil radikal üreten zincir reaksiyonlarının durdurulması ve endojen antioksidan kapasitenin artırılması olarak tanımlanan savunma mekanizmaları da "*antioksidan savunma sistemi*" olarak ifade edilmektedir (Gutteridge 1995, Dündar ve Arslan 1999, Memişoğulları 2005, Ekici ve Sağdıç 2007, Özüğür 2007).

Antioksidan savunma sisteminde görev yapan moleküller; yapı ve işleyiş mekanizmalarına göre "*enzimatik*" veya "*enzimatik olmayan*" antioksidanlar olarak gruplandırılabilir gibi, görev aldıkları yapılara göre "*intraseküller*" (SOD, CAT, GPx, sitokrom oksidaz gibi), "*ekstraseküller*" (albümin, transferrin, serüloplazmin, laktoferrin



gibi) ve “*membran*” (vitamin E, koenzim Q,  $\beta$ -karoten gibi) antioksidanları olarak da sınıflandırılabilirler (Çizelge 1.2) (Gutteridge ve ark 1981, Maddipati ve Marnet 1987, Stadtman 1993, Byung 1994, Gutteridge 1995, Halliwell ve ark. 1995, Arslan 1999, Dündar ve Arslan 1999, Ekici ve Sağdıç 2007, Özüğür 2007, Aygün 2010).

Çizelge 1.2. Önemli bazı antioksidanlar, reaksiyonları ve özellikleri.

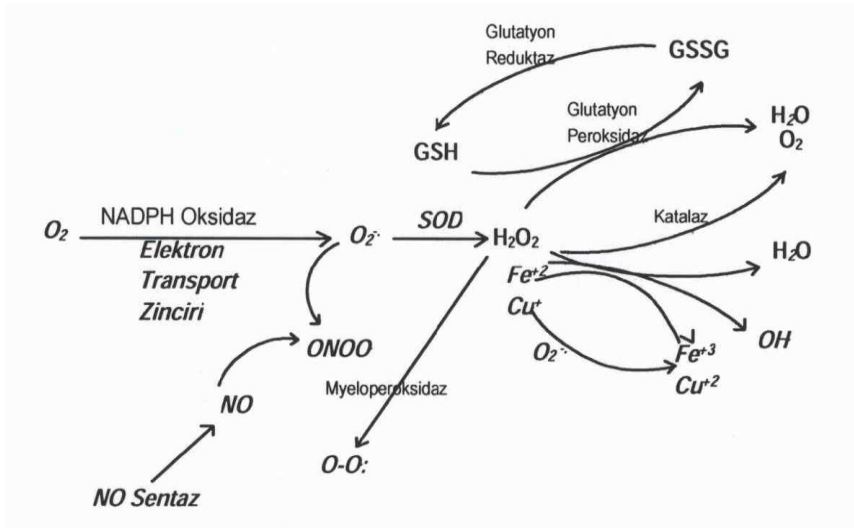
Antioksidan	Reaksiyonu veya Özelliği
<b><i>Intraselüler</i></b>	
Glutasyon (GSH)	GSH redoks substratı
Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 'nin düşük konsantrasyonunun giderilmesinde katalizör
Glutasyon redüktaz (GSSG-R)	Okside glutasyonun redükte glutatyona dönüşümünde katalizör
Glutasyon S-transferaz (GST)	Glutasyonun konjugasyonunu sağlayan katalizör
Katalaz (CAT)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 'nin yüksek konsantrasyonunun giderilmesinde katalizör
Stokrom oksidaz	O <sub>2</sub> 'nin indirgenme basamaklarında toksik madde oluşumu önleyicisi
Süperoksit dismutaz (SOD)	Süperoksidin giderilmesi reaksiyonunda katalizör
<b><i>Ekstraselüler</i></b>	
Albumin	HOCl radikal topalyıcısı, hem proteini ve bakır iyonları bağlayıcısı
Askorbat (Vit C)	Hidroksil radikal giderici ve tokoferolü indirgeyici antioksidan
Bilirubin	Peroksil radikal topalyıcısı
Ferritin	Doku demir bağlayıcısı
Glikoz	Hidroksil radikallerini giderici antioksidan molekülü
Haptogloblinler	Hemoglobini bağlayarak <i>hem</i> 'in salınımını önler
Hemopeksin	Serbest hem proteinlerini bağlayarak oksidasyonunu inhibe eder
Laktoferrin	Düşük pH'da demir iyonları bağlayıcısı
Mukus	Hidroksil radikal topalyıcısı
Serüloplazmin	Süperoksit radikalini nötralize eder ve bakır iyonları bağlayıcısı
Sistein	Organik bileşik indirgeyicisi
Transferrin	Serbest demir iyonlarını <i>fenton tepkimesi</i> ile inhibe eder
Ürat	Metal bağlayıcısı ve değişik radikal topalyıcısı
<b><i>Membran</i></b>	
Koenzim Q10	Enerji metabolizmasında antioksidan
$\alpha$ -Tokoferol (Vit E)	Lipidlerde çözünerek peroksidasyon zincir kırıcısı
$\beta$ -Karoten (Vit A)	Singlet oksijen oluşumunu inhibe eder ve çeşitli radikal topalyıcısı
Ubiquinol	Lipoproteinlerin otooksidasyon önleyicisi

Organizmada çeşitli nedenlerle epinefrin gibi katekolaminlerin artması; hızlı ve aşırı oksijen girişinin olması; laktik asit, laktat dehidrojenaz gibi litik enzim aktivitesinin artması; gebelik, yaşlılık gibi fizyolojik değişimler; çevre kirliliğinin yoğun olduğu alanlarda uzun süreli yaşamın sürdürülmesi; sigara, alkol gibi bağımlılıklar; dengesiz

beslenme alışkanlıkları; elektromanyetik dalgalara, X-ışınlarına maruz kalınması gibi durumlar serbest radikal oluşumunu artırabileceği oksidan – antioksidanlar arasındaki olağan dengenin radikaller lehine bozulması durumunda oksidatif stres oluşma riskinin yüksek olduğu belirtilmiştir. İntraselüler antioksidan enzimlerinin arttığı, ekstraselüler antioksidan düzeylerinin yükseldiği ve hipervitaminozis gibi olgularda ise oksidan – antioksidanlar arasındaki dengenin antioksidanlar lehine bozulduğu ve antioksidatif stres tablosunun görülme olasılığının yüksek olduğu ifade edilmiştir (Thomas 1995, Dündar ve Arslan 1999, Ekici ve Sağdıç 2008).

### 1.2.1. Enzimatik antioksidanlar

Burada çalışmanın değerlendirilmesinde bazı enzimatik antioksidanlar dikkate alındığından bu bölümde süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon ile ilişkili olduğundan glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve glutatyon S-transferaz (Şekil 1.2) hakkında aşağıda bilgi sunulmuş, diğer enzimatik olmayan antioksidanlar hakkında ise yukarıda belirtildiği gibi grup içindeki yeri belirtilerek sadece isim olarak verilmiştir (Çizelge 1.2) (Fridovich 1983, Wood ve Simith 1991, Bhagavan 2002, Düzgüner 2005).



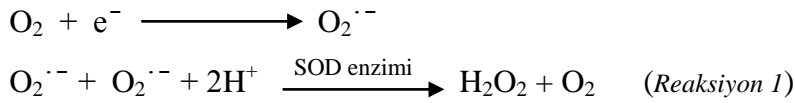
Şekil 1.2. Serbest radikallerin oluşumu ve enzimatik detoksifikasyonu (Memişoğulları 2005).

Aerobik organizmalar oksijen toksisitesinden başlıca antioksidan enzimler yardımıyla korunurlar. Bunlar; süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyonla ilişkili glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve glutatyon S-transferazdır (Fridovich 1983, Boyd 1988, Wheeler ve 1990).

### 1.2.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1)

Oksijenli solunum yapan tüm canlılarda belirlenen, hepatosit, eritrosit ile beyin hücrelerinin mitokondri matriksinde yer alan SOD enzimin üç farklı türü tanımlanmıştır; Bunlar (1) mitokondrilerde lokalize olan “*Mn-SOD*”, (2) stoplazmada lokalize olan “*Cu, Zn-SOD*” ve (3)  $\text{Cu}^{++}$  içeren ve plazmadaki süperoksit radikallerini metabolize eden vasküler endotele bağlı “*Cu-SOD*”dır. Bu SOD formları oksijenin çift değerli indirgenmesine ek olarak genel solunum enzimleri yoluyla stokrom oksidaz ve bazı tek değerli indirgemelerin oluşmasını sağlayan metallo-enzimler /veya metallo-proteinlerdir (Guemouri ve ark 1991, Wood ve Simith 1991).

SOD enzimi katalizörlüğünde süperoksit ( $\text{O}_2^{\cdot -}$ ) anyonunun  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'ye dismutasyonu gerçekleştirilir (Şekil 1.2) (*Reaksiyon 1*). Bu tepkime ile oksidatif strese karşı ilk savunma başlatılmış olur. SOD enzimi fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler olarak öldürülmesinde de önemli rol oynadığından granülosit fonksiyonunda önemli bir role sahip olduğu ifade edilmiştir.

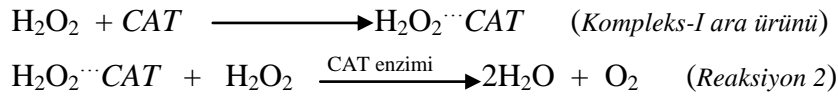


Bu dismutasyon reaksiyonu süperoksit radikalının anyon ve kation formlarının eşit oranda bulunduğu pH 4,8'e kendiliğinden şekillenebildiği gibi, fizyolojik şartlarda yani pH'nın 7,35- 7,45 arasında reaksiyon çok daha yavaş, SOD enzimi varlığında ise (pH en az 7,4'de) 4 kat daha hızlı olacaktır. Diyabette veya birçok deneysel diabet çalışmalarında SOD enzim düzeylerinin arttığı, değişmediği veya azaldığı şeklinde birbirleriyle çelişebilen ifadeler bulunmaktadır (Fridovich 1983, Boyd 1988, Wheeler ve 1990).

### 1.2.1.2. Katalaz (CAT, $\text{H}_2\text{O}_2$ -Oksidoredüktaz, EC 1.11.1.6)

Hepatositlerin mitokondrisinde ve eritrositlerin sitoplazmasında, diğer hücrelerin ise peroksizomlarında yer alan CAT enzimi, yapısında dört tane hem grubu ve her alt biriminde enzimin kararlılığında rol oynayan bir molekül indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) içeren bir hemoproteindir (Boehme ve ark 1992, Armstrong 1998, Dündar ve Arslan 1999a).

CAT enzimi, SOD enziminin süperoksit radikallerinden oluşturduğu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (*Reaksiyon 1*) ile metabolik yollardan oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i indirgeyerek suya dönüştürür (Şekil 1.2) (*Reaksiyon 2*). Bu reaksiyon gerçekte iki basamakta gerçekleşir; (1) kompleks-I olarak ifade edilen ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in enzime bağlanması ile oluşan bir ara ürünün oluşturulması, (2) bu ara ürünün daha sonra ikinci bir H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> molekülü ile tekrar reaksiyonu sonucu su ve moleküler oksijen oluşturması şeklindedir. Bu reaksiyonda enzim, bir molekül H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i elektron verici bir substrat olarak, diğerini de oksidan veya elektron alıcısı olarak kullanabilir (Fridovich 1983, Boyd 1988, Wheeler ve 1990).



Diyabetli hastalar üzerinde yapılan çalışmalarda diabetli hastaların artmış /veya azalmış serum katalaz aktivitesine sahip oldukları vurgulanmaktadır. Ancak, artışın organizmanın kendisinin lipid peroksidasyonundan korumak için kompanze ettiği bir mekanizmadan kaynaklanabileceği vurgulanmaktadır. (Memişoğulları ve ark 2003).

### 1.2.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px, EC 1.11.1.9)

GSH-Px enzimi, büyüme, gelişme ve üreme için gerekli iz element selenyum içeren seleno-sistein yapısında 4 alt birimden oluşan (tetramerik) sitozolik antioksidan metalloenzimdir (Bhagavan 2002, Düzgüner 2005, Kaya 2005, Memişoğulları 2005).

Hidroperoksitlerin yok edilmesinden sorumlu en etkin hücre içi enzim olarak indirgenmiş glutasyonun (GSH), disülfidine (yükseltgenmiş GSSG) dönüşümü süresince H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve hidroperoksitleri substrat olarak kullanır. Enzim, redükte glutasyonu okside glutatona dönüştürürken aynı zamanda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i de suya çevirir (Şekil 1.2) (Reaksiyon 3). Ayrıca enzim lipid ve lipid bulundurmeyen hidroperoksitleri (ROOH) spesifik bir hidrojen donörü olan glutasyonu kullanarak su ve GSSG dönüştürerek indirger (Reaksiyon 4).



Reaksiyon ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in suya çevrilmesi sonucu bir taraftan methemoglobin oluşumunu engellenirken, diğer taraftan membran lipidlerini peroksit anyonuna karşı koruyarak hücre membranının bütünlüğünü sağlamış olur. Yapılan çalışmalarda GSH-Px

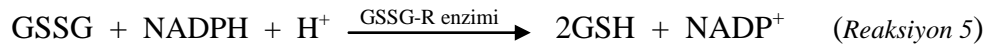
enzim aktivitesinin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yoğunluğuna bağlı olduğu, enzimin düşük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonunda etkin rol oynadığı, yüksek H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonunda ise CAT enzimi aktif rol aldığı ifade edilmektedir (Bhagavan 2002, Düzgüner 2005, Kaya 2005, Memişoğulları 2005).

Enzimin, vitamin E ile sinerjik etkileşimi söz konusu iken, selenyum eksikliğinin enzim aktivitesini azalttığı bilinmektedir. Diyabetli hastalarda ise serum GSH-Px enzim aktivitesinin azalmış olduğu rapor edilmektedir (Bhagavan 2002, Düzgüner 2005).

#### 1.2.1.4. Glutasyon redüktaz (GSSG-R, EC 1.6.4.2)

Yükseltgenmiş glutasyonu (GSSG), indirgenmiş glutasyon (GSH) haline çeviren 2 alt birimden oluşmuş bir dimerdir. Yapısında NADPH bağlayan alan, flavin adenin dinükleotid (FAD) bağlayan alan ve ara yüz alan olmak üzere 3 adet yapısal alt birim alanı bulunur (Özuğur 2007, Kurt 2008, Aygün 2010, Hazman 2011).

GSSG-R enzimi, GSH-Px enzimi katalizörlüğünde ROOH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve indirgenmiş glutatyondan oluşmuş okside glutasyonu (GSSG) (Reaksiyon 3 ve 4), NADPH kullanılarak yeniden redükte glutatyona dönüşmesinde katalizör görevi görür (şekil 1.2) (Reaksiyon 5).



Reaksiyondaki NADPH, eritrosit içindeki heksoz monofosfat yolu ve glikoz-6-fosfat dehidrojenaz enzimi tarafından sağlandığı vurgulanmıştır. Enzim dolayısı ile GSH-Px ile birlikte “*glutasyon redoks döngüsünde*” hidroperoksitlerin uzaklaştırılmasını da sağlar. GSH-Px – GSSG-R enzim sistemi NADP<sup>+</sup> – NADPH’in kaynaklarından biri olması fagositlerin aktivitesini artırarak, vücudun hastalıklara karşı korunmasında önemli rol oynadığı ifade edilmektedir. Yapılan çalışmalarda diabet hastalarında GSSG-R enzim aktivitesinin azalmış olduğu belirtilmektedir (Kurt 2008, Aygün 2010).

#### 1.2.1.5. Glutasyon S-transferaz (GST, EC 2.5.1.13)

GST enzimi, organizmaya giren zenobiyotiklerin biyotransformasyonunda ve toksik metabolitlerin detoksifikasyonunda önemli rol oynayan dimerik bir proteindir. Başta araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipid hidroperoksitlere karşı selenyumdan bağımsız GSH-Px aktivitesi gösterdikleri ifade edilmiştir. Dolayısı ile GST

enzimi, GSH-Px enzim aktivitesine benzer şekilde lipit ve lipit bulundurmeyen hidroperoksitleri (ROOH) glutasyonu kullanarak su ve GSSG dönüştürerek indirgenmesine önemli katkılar sağladığı belirtilmektedir (Reaksiyon 6).



Yapılan çalışmalarda diabetik hastalarda GST enzim aktivitesinin arttığı veya azaldığı şeklinde farklı sonuçlar bildirilmiştir (Özüğür 2007, Kurt 2008, Aygün 2010, Hazman 2011, Bhagavan 2002, Düzgüner 2005).

### 1.2.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar

Enzimatik olmayan antioksidanlardan glutasyon dışında farklı mekanizmalarla oksidatif hasarı önleyen  $\alpha$ -lipoik asit, bakır, çinko, selenyum gibi elementler ile folik asit, ürik asit, albumin gibi kofaktörler ve E, A, C, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> gibi vitaminler yanında melatonin, albümin, sistein, bilirubin, seruloplazmin, ferritin, transferrin, laktoferrin, haptoglobülin, hemopeksin, mannitol, oksipurinol, probukol, deferoksamin, flavonoidler, fitoaleksinler ve araştırma aşamasında olan birçok madde vardır. (Fridovich 1983, Boyd 1988, Wheeler ve ark 1990, Guemouri ve ark 1991, Wood ve Simith 1991, Kaya 2005, Memişoğulları 2005, Özüğür 2007, Aygün 2010). Çalışmanın değerlendirilmesi dikkate alındığından bu bölümde sadece glutasyon (Şekil 1.2) hakkında aşağıda bilgi sunulmuş, diğer enzimatik olmayan antioksidanlar hakkında ise yukarıda belirtildiği gibi grup içindeki yeri belirtilerek sadece isim olarak verilmiştir (Çizelge 1.2).

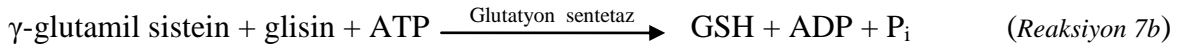
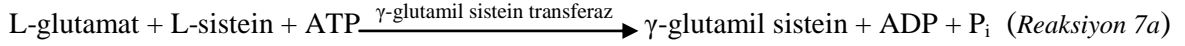
#### 1.2.2.1. Glutasyon (GSH, Redükte glutasyon)

Redükte glutasyon, yapısında glutamik asit, sistein ve glisin bulduran bir tripeptit olup aktif bir tiyol grubuna (-SH) sahiptir (Boehme ve ark 1992, Armstrong 1998, Dündar ve Arslan 1999a, Bhagavan 2002, Düzgüner 2005).

Hücre içinde yoğunluklu olarak sitozolde, mitokondride ve çekirdekte bulunur. Glutasyonun indirgenmiş formu “*redükte glutasyon*”dur ve “*GSH*” şeklinde ifade edilirken, yükseltgenmiş yani oksitlenmiş formu da “*glutasyon disülfid*”tir ve “*GSSG*” şeklinde ifade edilmektedir. Glutasyon, O<sub>2</sub><sup>-</sup> ve OH<sup>-</sup> radikalini doğrudan, diazotrioksit ve peroksinitriti detoksifiye ederek etkisiz kılar. Yine GSH-Px enziminin katalitik etkisiyle lipit peroksitleri

ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'leri detoksifiye ederek (Şekil 1.2), hücredeki önemli fonksiyonlarının (DNA, protein sentezi, enzim aktivitesi regülasyonu gibi) yanı sıra antioksidan olarak oksidatif hasar durumunda DNA onarımı ve ekspresyonu için gerekli protein sülfidrilleri ile diğer proteinlerin sülfidrillerini redükte formda tutarak redoks dengesini sağlamakta büyük öneme sahip olduğu belirtilmiştir (Boehme ve ark 1992, Armstrong 1998).

Vücuttaki GSH'nun büyük bölümü karaciğerde L-glutamat, L-sistein ve L-glisin aminoasitlerinden 2 mol ATP kullanılarak iki aşamalı bir reaksiyonla  $\gamma$ -glutamil sentetaz ve glutatyon sentetaz enzimlerinin katalizi ile sentezlendiği ve periferde kullanılmak üzere kana salındığı ifade edilmiştir (Reaksiyon 7a ve Reaksiyon 7b) (P<sub>i</sub>: İnorganik fosfat).



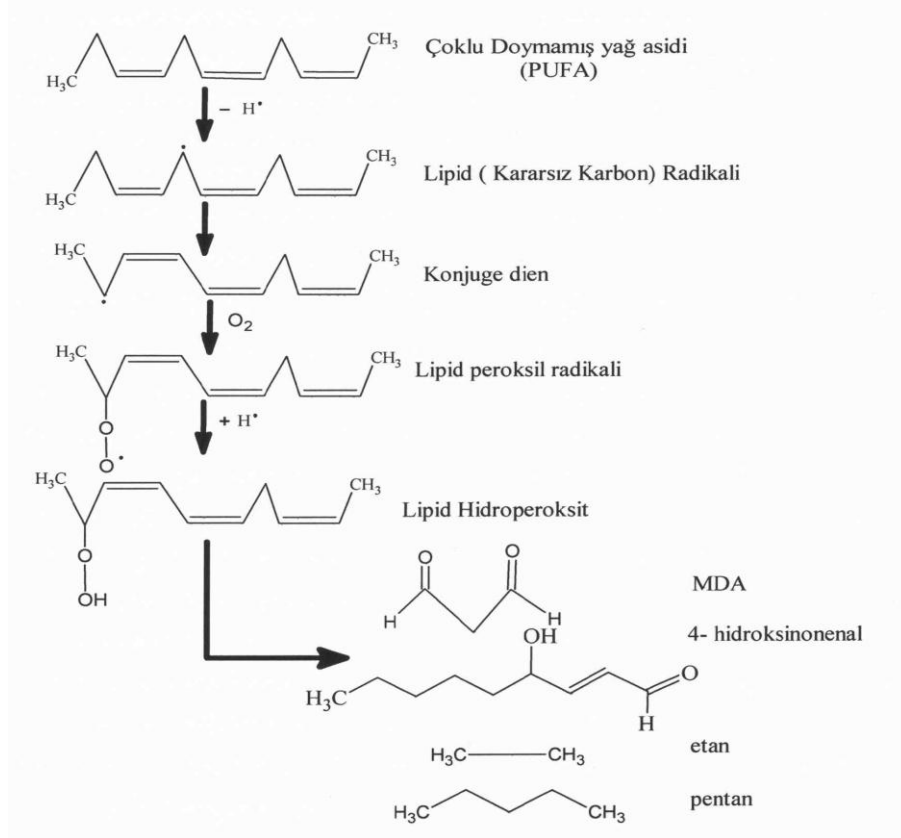
GSH'un, antioksidan etkili vitaminlerin yenilenmesini sağladığı gibi hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşmesini engellerken, eritrosit zarını H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'den, lökositleri fagositozda kullanılan oksidan maddelerden ve proteinlerini oksidatif hasarlardan önemli ölçüde koruduğu belirtilmiştir. Yapılan çalışmalarda diabetes hastalarında GSH düzeylerinin sağlıklı kişilerden anlamlı şekilde düşük olduğu vurgulanmıştır (Kaya 2005, Memişoğulları 2005, Özüğür 2007, Kurt 2008, Aygün 2010, Hazman 2011).

### 1.3. Lipid Peroksidasyon ve Malondialdehid (MDA)

Hücrelerin reaktif oksijen ürünlerine karşı en hassas komponentleri lipidler olup özellikle membran lipidlerindeki doymamış yağ asitleri ve kolesterolün doymamış bağlarının ROS ile reaksiyonu (oksidasyon) sonucu "*lipid peroksidasyon*" olarak tanımlanan bir dizi zincir reaksiyonu başlatılabilirliği belirtilmiştir. Araşidonik asit metabolizması sonucu oluşan serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonuna "*enzimatik lipid peroksidasyonu*", diğer radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonuna ise "*enzimatik olmayan lipid peroksidasyonu*" olarak ifade edilmektedir (Haber ve Weiss 1984, Özüğür 2007).

Lipid peroksidasyonu reaksiyonunda serbest radikaller ve diğer reaktif türler (OH<sup>·</sup>, HOO<sup>·</sup>, ONOO<sup>-</sup>) doymamış yağ açıl zincirinden ( $\omega$ -6 çoklu doymamış yağ asidi [PUFA])

gibi) bir  $H^+$  atomu açığa çıkararak başlattığı bir dizi reaksiyon sonucu lipid peroksitleri, malondialdehid (MDA), 4-hidroksinonenal (4-HNE), konjuge dienler, akrolein, izoprostanlar ile etan ve pentan gibi alkanlar meydana geldiği belirtilmiştir (Şekil 1.3) (Haber ve Weiss 1984, Kavas 1994, Gutteridge 1995, Murray ve ark 1996, Tuma 2002, Dotan ve ark 2004, Kaya 2005, Özüğür 2007). Reaksiyon sonucu şekillenen lipid peroksitleri, MDA, 4-HNE gibi aldehit yapıları ile alkoksil ve peroksil gibi radikaller organizmada yer alan protein ve enzim yapılarının bozulmasına, DNA'da sarmal kırılmalara ve membran lipidlerini parçalayarak hücre büyüklüğünün bozulmasına, sonuçta hücre ölümüne kadar gidebilen hasara neden olabilecekleri vurgulanmıştır (Kavas 1994, Tokaç 2007).



Şekil 1.3. Çoklu doymamış yağ asidi (PUPA) ile başlayan lipid peroksidasyonu ve ürünleri (Kaya 2005).

MDA sınıfından olan ve tiyobarbitürik asit ile reaksiyon veren maddeler (TBARS), lipid peroksidasyonunun en duyarlı göstergelerinden biri olduğu vurgulanmıştır. MDA'nın membran komponentlerinde çapraz bağlanma ve polimerizasyona yol açarak esneklik, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsek



membran özelliklerini değiştirme yeteneği kazanabileceği, DNA'nın nitrojen bazları ile de reaksiyona girebileceği, amino grupları arasında çapraz bağlanmalara yol açabileceği; bu özellikleri ile genotoksik, mutajenik ve karsinojenik karakter kazanabileceği ifade edilmiştir. Ayrıca vücutta ortam pH'sına bağlı olarak MDA'in çeşitli formlarda bulunabildiği, buna bağlı olarak MDA, MDA-asetaldehid ve MDA-protein gibi yapıları karşı oluşabilecek antikörlerin oto-immün hasara neden olabileceği belirtilmiştir (Haber ve Weiss 1984, Kavas 1994, Akkuş 1995, Gutteridge 1995, Halliwell ve Gutteridge 1999, Tuma 2002, Dotan ve ark 2004, Özüğür 2007).

Yapılan çalışmalarda diyabet hastaları ile kronik obstrüktif akciğer hastalığı, romatoid artrit, akut serebral iskemide gibi sistemik hastalıklarda da oksidatif stres hasarı belirleyicisi olarak değerlendirilen serum veya plazma MDA düzeylerinin arttığı bildirilmektedir (Bir ve ark 2006).

#### **1.4. Diabetes mellitus (DM)**

*Diabetes mellitus* (DM); lipid, karbonhidrat ve protein metabolizmalarındaki bozuklukların eşlik ettiği göreceli veya mutlak insülin eksikliği sendromu olarak tanımlanmıştır. Sendromun ilk göze çarpan özelliği hiperglisemidir (Akkan 2009, Gürlek ve Kayaalp 2009, Abak 2010). DM poliüri, polifaji, polidipsi gibi kardinal belirtileri, zayıflama, çevre organlarda trofik bozuklukları ve infeksiyonlar ile bir araya getiren semptomlar topluluğu olarak da dikkati çekmektedir (Güner 2005, Abak 2010).

Klinik olarak hastalık Tip 1 ya da Tip 2 DM ve gestasyonel diyabet olarak sınıflandırılabilir (Guyton ve Hall 2001, Quinn 2002, Akkan 2009, Gürlek ve Kayaalp 2009, Abak 2010). Tip 1 DM otoimmün (Tip 1A) ve otoimmün olmayan veya idiyopatik (Tip 1B) bir hastalık olup pankreastaki  $\beta$ -hücrelerinin yoğun ve seçici kaybı ile mutlak bir insülin yetersizliği ile karakterizedir (Gorsuch ve ark 1981, Akkan 2009, Abak 2010). Bu rahatsızlıkta genetik, çevresel faktörler, virüsler muhtemel sebepler arasında gösterilmektedir. Tip 2 DM'de durum bu kadar açık değildir. Diyabet hastalarının büyük çoğunluğu Tip 2 DM'ye sahiptir ve yapılan çalışmalar Tip 2 DM'li hastalarda  $\beta$ -hücre yoğunluğunun azalmış olduğunu (yaklaşık %50) göstermekte ve hastalığın, daha çok ileri yaşlarda, obezlerde, ailesinde DM öyküsü olanlarda, fiziksel olarak hareketsiz olanlarda ve bazı etnik gruplarda daha yaygın olduğu belirtilmektedir (Akkan 2009). Tip 2 DM'de insülin üretiminin yeterli olmasına karşın farklı nedenlerden yeterince kullanılmaması söz

konusu olup insülin üretimi başlarda yeterli olsa da hastalığın ileri dönemlerinde insülin üretimi giderek azaldığı ve klinik tablonun Tip 1 DM'a daha da benzemeye başladığı vurgulanmaktadır (NIDDK 2008, Gürlek ve Kayaalp 2009, Abak 2010). Diyabetin 3. tipi olan gestasyonel diabet ise bazı kadınlarda gebelikte başlayan veya ilk kez gebelik sırasında tespit edilen ve insüline duyarlılığın azalmasından ileri gelen geçici diabet durumu olarak tanımlanmaktadır (Metzger ve Coustan 1998; Gürlek ve Kayaalp 2009, Abak 2010). Her ne kadar bu durum doğumla düzelse de gestasyonel diabet öyküsü olan kişinin takip eden 5-10 yıl içinde Tip 2 DM hastası olma riski % 40-60 olduğu ifade edilmektedir (Barry ve Gabbe 1998, Abak 2010, Anonim 2010). Diyabet yukarıda belirtilen 3 ana sınıflama dışında klinik olarak rastlanma olasılığı daha düşük olan ve kan glukozunun yükselmesine sebep olan etkenlere göre farklı alt başlıklarda da sınıflandırılabilir. Örneğin gizli otoimmün diabet (Tip 1,5 DM, duble diabet veya Latent Autoimmune Diabetes Adults, LADA), neonatal DM (NDM) bunlardan bazılarıdır (Aguilar-Bryan ve Bryan 2008, Abak 2010, Anonim 2010).

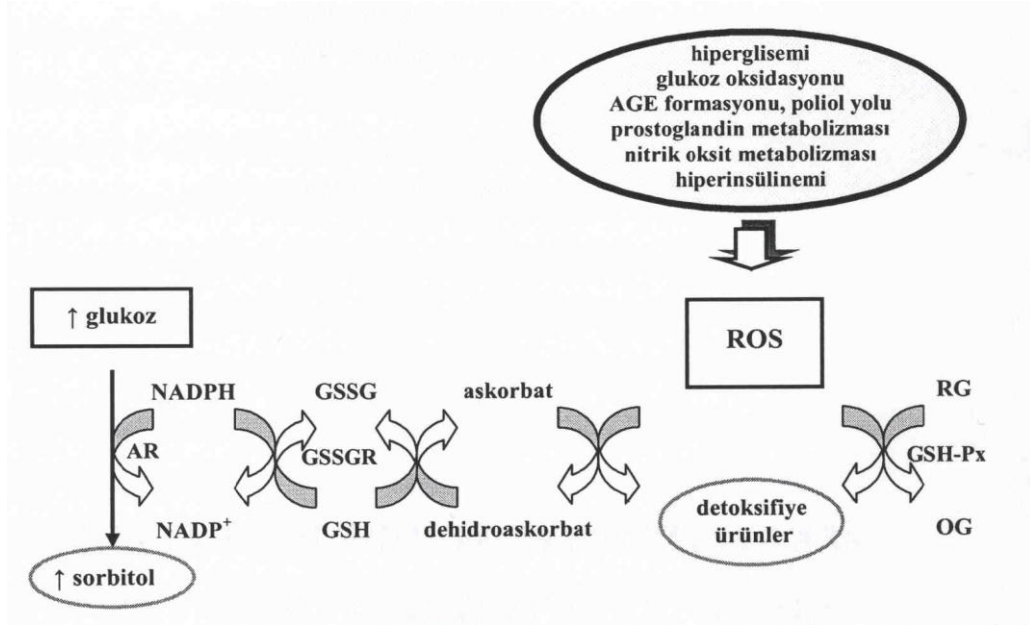
Diyabetin ilk fark edilen bulgularının glukoz metabolizmasında olması (glukozüri ve hiperglisemi gibi) klinik ve laboratuvar incelemelerinde bu tür bulgulara ağırlık verilmesine yol açmıştır. Diyabette sadece glukoz değil lipid ve protein metabolizması bozukluğu da söz konusu olabildiğinden zamanla vasküler sistem ile periferik somatik ve otonom sinir sistemlerinde de bozukluklar şekillenebildiği belirtilmiştir. En fazla etkilenen organlar böbrekler (diabetik nefropati veya diğer adıyla glomerüler mikroanjyopati) ve retina (diabetik retinopati) olarak vurgulanmış, vasküler bozuklukların daha ziyade kapillerler ve arteriyoller gibi küçük damarların düzeyinde genel olarak mikroanjyopati şeklinde gözlendiği ifade edilmiştir (Akkan 2009, Chander ve ark 2009, Gürlek ve Kayaalp 2009, Woo ve ark 2009, Abak 2010, Anonim 2010). Klinik olarak ateroskleroz diyabetin damar düzeyindeki etkilerine bağlı olarak gelişebilir veya mevcut aterosklerozun diyabet varlığı ile beraber daha da kötüleştiği tespit edilmiştir (Kikkawa 2000). Nöron düzeyindeki harabiyette ise (diabetik nöropatide) vücut sıvılarında yükselmiş olan glukozdan *aldoz redüktaz* enzimi aracılığı ile hücre içinde aşırı miktarda sorbitolün meydana gelmesinin önemli katkısının olduğu vurgulanmaktadır. Bunlara ek olarak DM'da gelişen akut rahatsızlıklarda (hipoglisemi, hiperglisemi, diabetik ketoasidoz (DKA) ve hiperglisemik hiperosmolar non-ketotik koma (HHNKC) gibi) tespit edilmiştir (Fishbein ve Palumbo 1995, Wierzba ve ark 2004, Akkan 2009, Palalau ve ark 2009, Abak 2010, Pedro ve ark 2010).

### 1.5. Diabetes mellitus (DM) ve oksidatif stres

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde olduğu sürece organizmanın serbest radikallerden etkilenmediği belirtilmektedir. Ancak, oluşan serbest radikallerin birçok hastalıkla (kalp, akciğer, nörolojik ve bazı infeksiyon hastalıklar gibi) ilişkili olduğu kabul edilmektedir. Ayrıca diğer risk faktörleriyle (hipertansiyon, diabet, yüksek yağ düzeyleri, obezite, kanser, hızlı ve erken yaşlanma gibi) birlikte radikallerin oluşum hızında artma veya ortadan kaldırılma hızında düşme gibi dengenin bozulması neden olabilecek faktörlerin bulunabileceği de vurgulanmaktadır (Serafini ve Del-Rio 2004).

Oksidatif stres hipotezinde ROS ve serbest radikallerin oluşum hızı ile antioksidan savunma kapasitesi arasındaki dengesizlik diabetin kronik komplikasyonlarına neden olduğu belirtilmiştir. Bir başka deyişle hipergliseminin oksidatif strese yol açtığı ifade edilmektedir. Lipid hidroperoksidler, konjuge dienler, TBARS ve isoprostanlar gibi oksidatif stres göstergelerinin düzeylerinin arttığı diabetli hastalarda E ve C vitaminleri, GSH, SOD, CAT, GSH-Px gibi antioksidan parametrelerin miktarının azalması, diabetin kronik komplikasyonlarının patogenezinde oksidatif stresin önemli bir rolü olabileceğini göstermektedir (Memişoğulları 2005).

Mitokondriyal solunum, fagositlerin aktivasyonu ve bazı enzimlerin (NADPH oksidaz, ksantin oksidaz gibi) ve/veya  $Fe^{++}$  ve  $Cu^{++}$  gibi metallerin katalizlediği oksidasyon reaksiyonları sonucunda oluşan serbest radikallerin, diabet sonucu oluşan hiperglisemi, glikozun otooksidasyonuna ve proteinlerin glikolizasyonuna bağlı olarak da şekillendiği tespit edilmiştir. Oluşan bu serbest radikallerin özellikle ROS'nin lökositlerin yabancı maddeleri yok etmeleri sırasında biyolojik olarak aktif olan önemli aracı moleküller olduğu ve yangı ile ilgili temel bileşiklerin oluşmasında rol oynadığı belirtilmiştir (Basu 1999). Diyabet ve diabet komplikasyonlarının ROS ile olan ilişkisini gösteren çalışmalarda nonenzimatik glikasyon, enerji metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan metabolik stres, sorbitol yol aktivitesi, hipoksi ve iskemi-reperfüzyon sonucu oluşan doku hasarının serbest radikal üretimini arttırdığı (Şekil 1.4) (Baynes ve Thorpe 1999, Özüğür 2007) ve antioksidan savunma sistemini değiştirdiği vurgulanmaktadır (Kılıç ve ark 1988, Saxena ve ark 1993, Altan ve ark 1994, Elmalı ve ark 2004, Altan ve ark 2006).

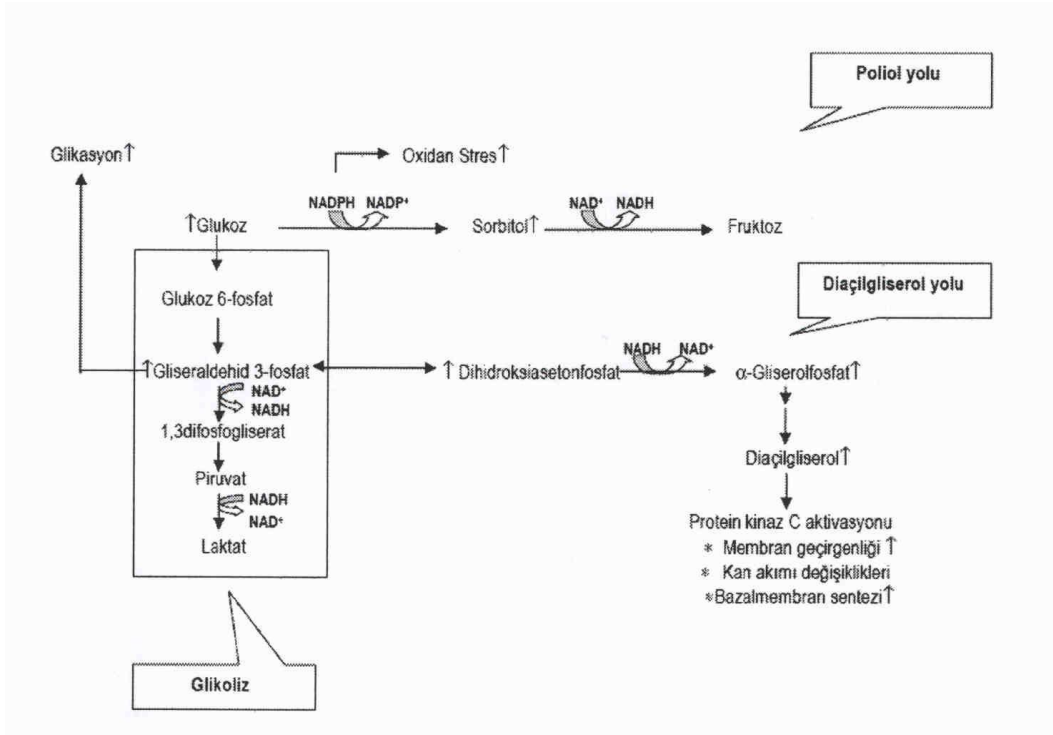


Şekil 1.4. Diabetes mellitus'ta artmış oksidatif stresin mekanizması (Özüğür 2007).  
 AGE: İleri glikasyon son ürünleri, ROS: Radikal oksijen türleri, AR: Aldoz redükaz,  
 RG: Redükte glutatyon, OG: Okside glutatyon.

Serbest radikal oluşumunun hipergliseminin direkt sonucu olduğunu destekleyen çalışmaların (Giugliano ve ark 1996) yanı sıra endotel ve düz kas hücreleri yüksek konsantrasyonda glukoz içeren ortamda inkube edildiğinde de serbest radikal oluşumunun başladığı gözlenmiştir (Rösen ve ark 1998, Du ve ark 1999). Deneysel hayvan çalışmalarında insanlardakine benzer diabet oluşturmak için kullanılan streptozotosin (Davidoff 1990) oksidan maddeler meydana getirerek langerhans adacıklarını selektif olarak tahrip etmekte ve uygun olmayan NO cevapları vererek diabeti başlattığı ifade edilmiştir (Altan ve ark 1998, Das ve Chainy 2001, Altan ve ark 2006). Fakat yapılan epidemiyolojik çalışmalarda plazma lipid peroksidlerindeki artışının, diabetten çok vasküler hastalığın kendisi ve hipertrigliseridemi ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Dillard ve ark 1984, Dean ve ark 1997, Das ve Chainy 2001).

Diyabetik olgularda, lipidlere ilave olarak protein oksidasyonu da artmakta; özellikle kollajen, elastin ve myelin kılıfındaki ekstrasellüler proteinlerin oksidasyonu sonucu; lens, damar, bazal membran gibi dokularda katarakt, mikroanjiyopati, ateroskleroz ve nefropati gibi diyabetik komplikasyonların gelişebildiği belirtilmektedir (Dillmann 1989, Diekman ve ark 1998, Das ve Chainy 2001, Battist ve ark 2003, Januszewski ve ark 2003).

Diyabet hastalarında hiperglisemi aracılı ROS üretimi; (1) glukozun oto-oksidasyonu ve süperoksit üretimi, (2) proteinlerin glikasyonu ile AGE (ilerlemiş glikasyon son ürünleri) oluşumu ve (3) poliol yol olmak üzere başlıca üç mekanizma ile açıklanmaktadır (Şekil 1.5) (Gillery ve ark 1988, Altan ve ark 1997, Chappay ve ark 1997, Giardino ve ark 1998, Koya ve King 1998, Şekeroğlu ve ark 2000, Brownlee 2001, Das ve Chainy 2001, Way ve ark 2001, Bonnefont 2002, Maritim ve ark 2003, Gren ve ark 2004, Memişoğulları 2005, Altan ve ark 2006).



Şekil 1.5. Hiperglisemi aracılı ROS üretiminde poliol ve diaçilgliserol yollarının birbiri ile ilişkisi (Şekeroğlu ve ark 2005).

SOD, CAT, GSH-Px gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonlarının ve antioksidan kapasitenin pankreas adacık hücrelerinde, karaciğer, böbrek, iskelet kası ve adipoz doku gibi diğer dokularla kıyaslandığında en düşük düzeyde olduğu bilinmektedir (Tiedge ve ark 1997, Tiedge ve ark 1998). Diyabetik rat modellerinde oksidatif stres belirteci olarak değerlendirilen 8-hidroksi deoksiguanazin (8-OHdG) düzeylerinde de artışların gözlemlendiği tespit edilmiştir (Ihara ve ark 1999, Andican 2000). Oksidatif strese en duyarlı yapılardan biri olduğu da bilinen  $\beta$ -hücrelerinde gözlenen hasarın, hipergliseminin toksik etkilerinden kaynaklanabileceği vurgulanmaktadır (Robertson ve ark 2004).

## 1.6. Diabetes mellitus'ta kullanılan ilaçlar

Diyabet tedavisinde kullanılan ilaçlar insülin, oral antidiabetik ve diğer antidiabetik ilaçlar olmak üzere 3 ana grupta toplanabilir (Akkan 2009, Gürlek ve Kayaalp 2009, Abak 2010). Bunlar;

- İnsülin
- Oral antidiabetikler
  - 1) İnsülin salgılatıcılar
    - Sulfonilüre türevi ilaçlar (*tolbutamid, tolazamid, asetoheksamid, klorpropamid, gliburid, glipizid, gliklazid, glimeprid, ...vb*)
    - Metglinidler (*repaglinid, nateglinid*)
  - 2) İnsüline duyarlılaştırıcılar
    - Biguanidler (*metformin, fenformin, ...vb*)
    - Tiazolidinedionlar (*troglitazon, rosiglitazon, pioglitazon*)
  - 3) İnkretin – Mimetikler
    - Glukagon benzeri peptid – 1 (GLP-1) agonistleri (*eksenatid*)
    - Dipeptil peptidaz – 4 (DPP-4) inhibitörleri (*sitagliptin, vildagliptin, saxagliptin...vb*)
- Diğer antidiabetikler
  - 1) Alfa-Glukozidaz inhibitörleri (*akarboz, miglitol*)
  - 2) Aldoz redüktaz inhibitörleri (*tolrestat, sorbinil, alrestatin*)
  - 3) Guar sakızı

Çalışma kapsamımızdaki sitagliptin, DPP-4 inhibitörlerinden biri olduğu için bu grup aşağıda detaylandırılmıştır. Diğer grup ilaçlar ise sadece isim olarak yeri belirtilmiştir.

### 1.6.1. Dipeptil peptidaz – 4 (DPP-4) enzimi ve inhibitörleri

Dipeptil peptidaz – 4 (DPP-4) enzimi vücutta yaygın olarak bulunan bir serin proteazdır. Enzim “*T hücre si antijen CD26*” diye de bilinir; barsak, böbrek ve hepatositlerde, kapiler endotel hücrelerinde ve erimiş bir halde plazmada bulunur. Çalışmalarda tip 2 DM’li hastalarda plazma DPP-4 enzim düzeyleri ile glisemik kontrol arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir (Vilsboll 2008, Abak 2010). Ayrıca DPP-4 enziminin (CD26) bozulmasının sağlam endojen GLP-1 düzeyinin artmasına neden

olduğu, DPP-4 enzim inhibitörleri'nin de (*glyptinler* olarak ifade edilir) GLP-1 ve glukozu bağımlı insülinotropik peptid (GIP)'in yıkımını önleyerek insülinotropik etkileri artırdığı bildirilmiştir (Ahren 2007, Anonim 2009a, Tanaka-Amino ve ark 2009, Abak 2010).

İnsülin salıverilmesinin düzenlenmesinde rol oynadığı belirtilen “*inkretinler*”; insülin salgılatıcı olan GLP-1 ve GIP, çok kısa etkili barsak hormonları olup yarılanma ömürleri birkaç dakikadır. Kan dolaşımına salgılandıktan sonra DPP-4 adlı enzim tarafından hızla inaktive edilirler. Bu nedenle inkretin analogu veya agonisti olan uzun ömürlü ilaçlar ya da DPP-4 enzimini inhibe ederek inkretinlerin inaktivasyonunu yavaşlatan DPP-4 enzim inhibitörleri ilaç olarak geliştirilmiş ve kullanıma sokulmuştur. İnkretin yolağını etkileyen ilaçlar Tip 2 DM tedavisindeki son yaklaşımlar olup enjekte (GLP-1 agonistleri) edilebilir ve oral (DPP-4 enzim inhibitörleri) kullanıma uygun şekilleri mevcuttur. Birçok DPP-4 enzim inhibitörü geliştirilmiş; ancak, *sitagliptin* (Januvia® , Xelevia® , Merk Sharp-Dohme; *Glactiv*®, Evaluate Pharma; *Tesavel*®, Almirall), *vildagliptin* (Galvus® , Novartis) ve *saxagliptin* (Onglyza® , Bristol-Myers Squibb) DPP-4 enzim inhibitörü olarak klinik kullanıma girmiş, *alogliptin*, *dutogliptin*, *gemigliptin* ve *linagliptin* gibi ilaçların (Çizelge 1.3) ise halen inceleme ve deneme aşamasında olduğu belirtilmiştir (Holst ve Gromada 2004, Ahren 2007, Chen ve ark 2007, Thornberry ve Weber 2007, Anonim a 2009, Anonim b 2009, Anonim c 2009, Argyrakopoulou ve Doupis 2009, Gürlek ve Kayaalp 2009, Marino 2009, Palalau ve ark 2009, Tiwari 2009, Dhillon 2010, Abak 2010).

İnkretin hormonları ağızdan gıda alımını takiben salınarak pankreastan insülin salımını uyarırlar ve glukagon salımını inhibe ederler (Chen ve ark 2007, Ng ve Kong 2007, Palalau ve ark 2009, Abak 2010). Bu nedenle dışarıdan GLP-1 verilmesi sonucu metabolik kontrolün düzeltilmesine rağmen yine vücutta bulunan DPP-4 enzimi GLP-1 ve GIP gibi dışarıdan verilen inkretin hormonlarını süratle parçalamaları nedeni ile GLP-1 ve GIP'nin verilmesini içeren tedavi seçenekleri pratikte kısıtlamalara neden olmaktadır. Bu nedenle oral verilen endojen inkretinlerin parçalanmasını engelleyen DPP-4 enzim inhibitörleri geliştirilmiş ve bu sınıfın öncüsü de kompetitif ve tam reversibl bir DPP-4 enzim inhibitörü olan *sitagliptin* (*Januvia*®, *Xelevia*®, *Galactiv*®, *Tesavel*®) olmuştur (Kim ve ark 2005, Freeman 2007, Thornberry ve Weber 2007, Vilsboll 2008, Thornberry ve Gallwitz 2009, Abak 2010, Dhillon 2010).

Çizelge 1.3. Farklı evrelerde bulunan dipeptil peptidaz-4 (DPP-4) enzim inhibitörleri.

Adı	Üretici Firma	Geliştirme Aşaması
Sitagliptin ( <i>Januvia</i> <sup>®</sup> ,	<i>Merk Sharp-Dohme</i> , İtalya	Onaylandı
<i>Xelevia</i> <sup>®</sup> ,	<i>Merk Sharp-Dohme</i> , İtalya	Onaylandı
<i>Glactiv</i> <sup>®</sup> ,	<i>EvaluatePharma</i> , İngiltere	Onaylandı
<i>Tesavel</i> <sup>®</sup> )	<i>Almirall</i> , İspanya	Onaylandı
Vildagliptin ( <i>Galvus</i> <sup>®</sup> )	<i>Novartis</i> , İsviçre	Onaylandı
Saxagliptin ( <i>Onglyza</i> <sup>®</sup> )	<i>Bristol-Myers Squibb</i> , USA	Onaylandı
Alogliptin	<i>Takeda</i> , Japonya	Faz III, 2009'da askıya alındı.
Dutogliptin	<i>Phenomik</i> , USA	Faz III
Gemigliptin	<i>LG Life Science</i> , Kore	Faz III
Linagliptin	<i>Boehringer Ingelheim</i> , Almanya	Faz III
PSN-9301	<i>OSI Farnosötikal</i> , USA	Faz II
R 1438	<i>Roche</i> , İsviçre	Faz II
TA-6666	<i>Tanabe</i> , Japonya	Faz II
PHXI 149	<i>Phenomiks</i> , USA	Faz II
GRC 8200	<i>Glenmark Farnosötikal</i> , Hindistan	Faz II
SYR-619	<i>Takeda</i> , Japonya	Faz I
TS-021	<i>Taisho Farnosötikal</i> , Japonya	Faz I
SSR 162369	<i>Sanofi-Aventis</i> , Fransa	Faz I
ALS 2-0426	<i>Alantos Farnosötikal</i> , Almanya	Faz I

Tip 2 DM tedavisinde olumsuz etkilere (yüksek glikolize hemogloblin (HbA<sub>1c</sub>) değeri, artmış kilo ve hipoglisemi gibi) yol açmayan GLP-1 agonistleri ve DPP-4 inhibitörlerinin kullanılması, diğer sağıaltım seçeneklerine göre kilo kaybı yapmaları (GLP-1 agonistleri) veya kilonun korunması (DPP-4 inhibitörleri) ve hipoglisemi risklerinin düşük olması gibi bazı avantajlara sahip olduğu belirtilmiştir. Bu avantajların tedaviye uyumu arttırdığı gibi özellikle kilo kaybı ve kardiyovasküler sorunlar yaşayan diabetli hastalarda yaşamsal anlamda büyük artılar sağlayabileceği ifade edilmektedir (Christel ve Denardo 2007, Vilsboll 2008, Argyrakopoulou ve Doupis 2009, Knop ve ark 2009, Palalau ve ark 2009, Rossi ve Nicolucci 2009, Zarowitz ve Conner 2009, Abak 2010).

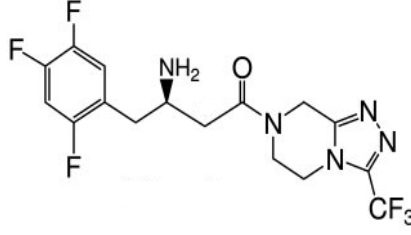
DPP-4 inhibitörlerinin (sitagliptin ve vildagliptin) sülfonilüreler veya insülin ile birlikte kullanıldığında hipoglisemi görülme sıklığı plasebo ile gözlenenenden farklı olmadığı, hipoglisemik risk bakımından DPP-4 inhibitörleri ile tiazolidinedionlar arasında anlamlı bir farklılığın bulunmadığı belirlenmiştir. Ancak, sülfonilürelere göre düşük hipoglisemik risk taşıdığı vurgulanmaktadır (Hanefeld ve ark 2007, Nauck ve ark 2007, Scott ve ark 2007, Abak 2010).



DPP-4 enziminin pek çok hücre membranına bağlanma özelliği nedeni ile tüm etkileri aydınlatılmış değildir. DPP-4 enzim inhibitörlerinin antidiabetik etkisine ilaveten T hücre proliferasyonunu ve sitokin üretimini azaltıcı etkisi olduğunu göstermiş ve bu inhibitörlerin aynı zamanda artrit, multipl skleroz gibi enflamatuvar rahatsızlıklarda da kullanılabileceğini akla getirmişse de klinik olarak henüz kesinlik kazanmamıştır. Ayrıca enzimin T hücre aktivasyon antijeni olmasından dolayı DPP-4 enzim inhibitörlerinin bu aktivasyonu engelleyeceği sonuçta T hücrelerin baskılanması sebebiyle teorikte immun sistem aktivitesi de bloke edilmiş olacağından, enfeksiyon gelişim riskinin artabileceği belirtilmektedir. Bu konuda sitagliptin ile yapılan çalışmalarda sitagliptin kullanımı ile enfeksiyon gelişimi arasındaki ilişki doğrulanmış, DPP-4 enziminin T hücre aktivatörü olduğu, immun sistem üzerinde potansiyel bir rolü olabileceği üzerinde durulmalta; ancak, günümüzde yapılan çalışmalarda DPP-4 enzim inhibisyonunun immün sistem üzerindeki etkisi tam olarak açıklanabilmiş değildir (Matteucci ve Giampietro 2009, Abak 2010). DPP-4 enziminin kanser ve tümör oluşumunu baskıladığı, her ne kadar laboratuvar hayvanlarında yapılan *in vivo* bir çalışmada kanser oluşumunu arttırıcı etkisi kanıtlanamasa da DPP-4 enzim inhibitörlerinin kansere sebep olabileceğinin de göz ardı edilmemesi gerektiği vurgulanmaktadır (Masur ve ark 2006, Abak 2010).

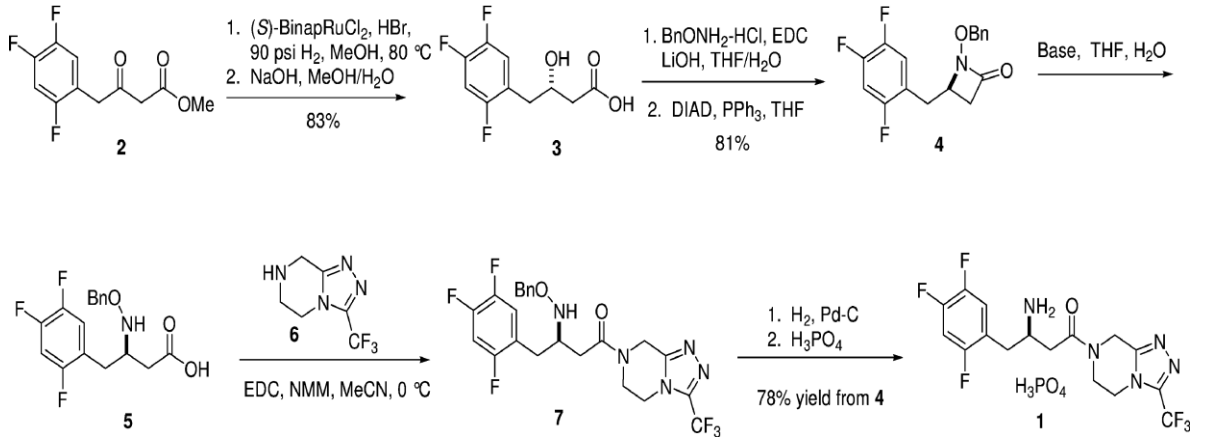
#### 1.6.1.1. Sitagliptin

DPP-4 enzim inhibitörlerinin sunulmuş ilk örneği olan sitagliptin (Şekil 1.6) kimyasal olarak  $C_6H_{15}F_6N_5O.H_3PO_4.H_2O$  yapısındadır. Aktif madde olarak monohidrat-fosfat tuzu yapısında olup Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği'nce (International Union of Pure and Applied Chemistry; IUPAC) 7-[(3R)-3-amino-1-oxo-4-(2,4,5-trifluorophenyl)butyl]-5,6,7,8-tetrahydro -3- (trifluoromethyl) -1,2,4-triazolo [4,3-a] pyrazine phosphate(1:1) monohydrate şeklinde isimlendirilmiştir. Oral antidiabetik olarak sitagliptin “*sitagliptin fosfat monohidrat*” şeklide bulunur ve *MK-0431* olarak da bilinir. Sitagliptin fosfat monohidrat beyaz, kristalize, non-higroskopik bir tozdur. Suda ve N,N-dimetil formamid’de çözünürken metanolde az, etanol, aseton ve asetonitrilde ise oldukça az çözüldüğü tespit edilmiştir (Hansen ve ark 2005, Beconi ve ark 2007, Chen ve ark 2007, EMEA 2007, Vincent ve ark 2007, Zerilli ve Pyon 2007, Hansen ve ark 2009, Abak 2010, Merck 2010).



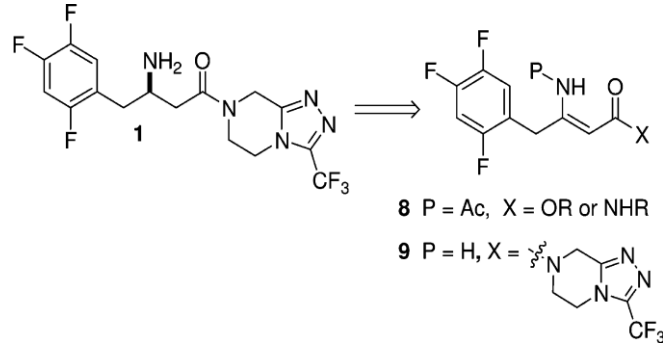
Şekil 1.6. Sitagliptin'in kimyasal yapısı.

Sitagliptin'in büyük ölçekli üretimini sağlayacak işlemler 2005 yılında rapor edilmiştir. Sitagliptin'in birkaç basamaktan oluşan stereokimyasının kaynağı  $\beta$ -hidroksi asit olup  $\beta$ -ketoesterinin asimetrik hidrojenasyonu ile elde edildiği ve *OH*-grubu korunmuş amino aside dönüştüğü belirtilmiştir (Şekil 1.7 ve Şekil 1.8) (Hansen ve ark 2005, Ritter 2006, Chen ve ark 2007, Hansen ve ark 2009, Abak 2010).



Şekil 1.7. Sitagliptin'in birinci basamak sentezi (Ritter 2006, Hansen ve ark 2009, Abak 2010).

- 1: 7-[(3*R*)-3-amino-1-oxo-4-(2,4,5-trifluorophenyl)butyl]-5,6,7,8-tetrahydro-3-(trifluoromethyl)-1,2,4-triazolo[4,3-*a*]pyrazine phosphate (1:1) (Sitagliptin fosfat).
- 2: Methyl-3-oxo-4-(2,4,5-trifluorophenyl)butanoate.
- 3: (3*S*)-3-hydroxy-4-(2,4,5-trifluorophenyl)butanoic acid.
- 4: 1-(benzyloxy)-4-(2,4,5-trifluorobenzyl)azetidin-2-one.
- 5: 3-[(benzyloxy)amino]-4-(2,4,5-trifluorophenyl)butanoic acid.
- 6: 3-(trifluoromethyl)-5,6,7,8-tetrahydro[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyrazine.
- 7: 3-[(benzyloxy)amino]-1-[3-(trifluoromethyl)-5,6-dihydro[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyrazine-7(8*H*)-yl]-4-(2,4,5-trifluorophenyl)butan-1-one.



Şekil 1.8. Sitagliptin'in geriye dönük sentezi (Hansen ve ark 2009, Abak 2010).

1: Sitagliptin

8: *Methyl(Z)-3-(acetylamino)-4-(2,4,5-trifluorophenyl)but-2-enoateethyl(2Z)-3-(acethylamino)-4-(2,4,5-trifluorophenyl)but-2-enoate(2Z)-3-(acethylamino)-N-ethyl-4-(2,4,5-trifluorophenyl)but-2-enamide.*

9: *(Z)-3-amino-1-(3-trifluoromethyl-5,6-dihydro-8H-[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyrazin-7-yl)-4-(2,4,5-trifluorophenyl)-but-2-en-1-one.*

Sitagliptin ağız yolu ile alınabilen yarışmalı (kompetitif) ve geri dönüşümlü (reversibl) bir DPP-4 enzim inhibitörü olup Tip 2 DM tedavisinde kullanılan yeni bir ilaç sınıfının üyesidir. İlaç insülin salgılanmasını engelleyen DPP-4 enzimini bloke ederek pankreasın vücut için gerekli insülin salgılanmasını sağlar. Ayrıca inkretin hormon seviyelerini (GLP-1 ve GIP) artırmalarının bir sonucu olarak glukagon alınımasını inhibe ederler, buda insülin salınımasını artırdığı gibi gastrik boşalmayı yavaşlatır, tokluk hissini uzatır,  $\beta$  hücre etkinliğini artırır ve kan glikoz seviyesini düşürür. Bu amaçla ticari olarak 25, 50 ve 100 mg'lık draje şeklinde hazırlanmış tabletler halinde ticari olarak kullanıma sunulmuştur. Tavsiye edilen doz şekli ise günde 1 kez 100 mg tek başına (mono terapi) veya metformin /veya tiazolidinon türevleri ile ikili tedavi (ikili multiple terapi) şeklinde kullanılmasıdır (Behme ve ark 2003, McIntosh ve ark 2005, Ritter 2006, Ahren 2007, Chen ve ark 2007, Vincent ve ark 2007, Zerilli ve Pyon 2007, Anonim a 2009, Argyrakopoulou ve Doupis 2009, FDA 2009, Abak 2010).

Sitagliptin ağız yolu ile alınabilen yarışmalı (kompetitif) ve geri dönüşümlü (reversibl) bir DPP-4 enzim inhibitörü olup Tip 2 DM tedavisinde kullanılan yeni bir ilaç sınıfının üyesidir. İlaç insülin salgılanmasını engelleyen DPP-4 enzimini bloke ederek pankreasın vücut için gerekli insülin salgılanmasını sağlar. Ayrıca inkretin hormon seviyelerini (GLP-1 ve GIP) artırmalarının bir sonucu olarak glukagon alınımasını inhibe ederler, buda insülin salınımasını artırdığı gibi gastrik boşalmayı yavaşlatır, tokluk hissini uzatır,  $\beta$  hücre etkinliğini artırır ve kan glikoz seviyesini düşürür. Bu amaçla ticari olarak 25, 50 ve 100 mg'lık draje şeklinde hazırlanmış tabletler halinde ticari olarak kullanıma

sunulmuştur. Tavsiye edilen doz şekli ise günde 1 kez 100 mg tek başına (mono terapi) veya metformin /veya tiazolidinon türevleri ile ikili tedavi (ikili multiple terapi) şeklinde kullanılmasıdır (Behme ve ark 2003, McIntosh ve ark 2005, Ritter 2006, Ahren 2007, Chen ve ark 2007, Vincent ve ark 2007, Zerilli ve Pyon 2007, Anonim a 2009, Argyrakopoulou ve Doupis 2009, FDA 2009, Abak 2010).

Hayvanlarda, sağlıklı ve Tip 2 DM'lu kişilerde yapılan çalışmalarda sitagliptinin farmakokinetik profili karakterize edilmiş, buna göre sağaltım dozlarında sağlıklı kişilerde, doz oranına göre değişmekle birlikte köpek ve ratlarda elde edilen farmakokinetik parametreleri Çizelge 1.4'de özetlenmiştir (Beconi ve ark 2007, Zerilli ve Pyon 2007, Abak 2010). Sağlıklı kişilerde ağızdan 100 mg/gün dozda verilen sitagliptin hızla absorbe edildiği ve ortalama maksimum doz zamanı ( $T_{max}$ ) 1 – 4 saat, plazma eğri altında kalan alan (EAA veya AUC)  $8.52 \mu\text{M}\cdot\text{h}$  ve maksimum konsantrasyon ( $C_{max}$ ) değerinin ise 950 nM olduğu, köpekte ise  $T_{max}$  süresinin 0.5 – 2 saat, ratta 0.5 – 4 saat olduğu belirtilmiştir. Sitagliptinin doza bağımlı olarak plazma EAA değeri tek doz (1.5 – 600 mg) ve çoklu dozlarda (günde 25 – 600 mg tek doz ve günde 300 mg 2 doz) arttığı, bununla birlikte  $C_{max}$  değerinin dozla orantılı belli belirsiz şekilde artış gösterdiği vurgulanmıştır (Herman ve ark 2005, Bergman ve ark 2006, Beconi ve ark 2007, Abak 2010). Yüksek yağ içerikli bir kahvaltıdan önce ağızdan 25 mg tek doz olarak verilen sitagliptinin plazma  $EAA_{0-\infty}$ 'da dalgalanmanın bulunmadığı, tok iken  $C_{max}$ 'ın yaklaşık % 20 arttığı gözlenmiş, bunun da anlamlı olmadığı ifade edilmiştir. Farmakokinetik parametrelerde öğüne bağlı dalgalanmaların değerli olmadığı, dolayısı ile sitagliptin alımının yemek öğünleri dikkate alınmaksızın aç veya tok kullanılabilceği açıklanmıştır (Herman ve ark 2005, EMEA 2007, Abak 2010). Sitagliptin alımını takiben kararlı durum yoğunluğuna ( $C_{ort}$ ) 2 – 3 gün içinde ulaştığı ve sağlıklı kişilerde tek doz olarak damar içi 100 mg verilmesini takiben ortalama dağılım hacminin ( $V_{d\text{ort}}$ ) yaklaşık 198 L, köpekte ~ 3 L, ratta ise ~ 7 – 9 L olarak tespit edilmiştir. Plazma proteinlerine bağlanma oranı ile biyoyararlanım oranlarının sırası ile insanda % 38 (34 – 36) ve % 87, köpekte % 31 – 37 ve % 89 – 97, ratta ise % 28 – 36 ve ~ % 59 olduğu belirtilmiştir (Beconi ve ark 2007, Zerilli ve Pyon 2007, Merck 2010, Abak 2010). Sitagliptinin yarılanma ömrü ( $t_{1/2}$ ) insanda takribi 12.4 saat iken köpekte 0.5 – 2 saat, ratta ise 0.5 – 4 saat olarak tespit edilmiştir. Ayrıca ilacın ağızdan kullanımlarında insanda böbrek klirensinin ( $Cl_R = \sim 350 \text{ mL/dk}$ ) ve idrarda (~ % 79) değişmemiş şekilde atılan kısmının doza bağlı olmadığı belirtilmiştir (Herman ve ark 2005, Bergman ve ark 2006, Beconi ve ark 2007, Merck 2010, Abak 2010).

Çizelge 1.4. İnsan, köpek ve ratta sitagliptin'nin farmakokinetik parametreleri.

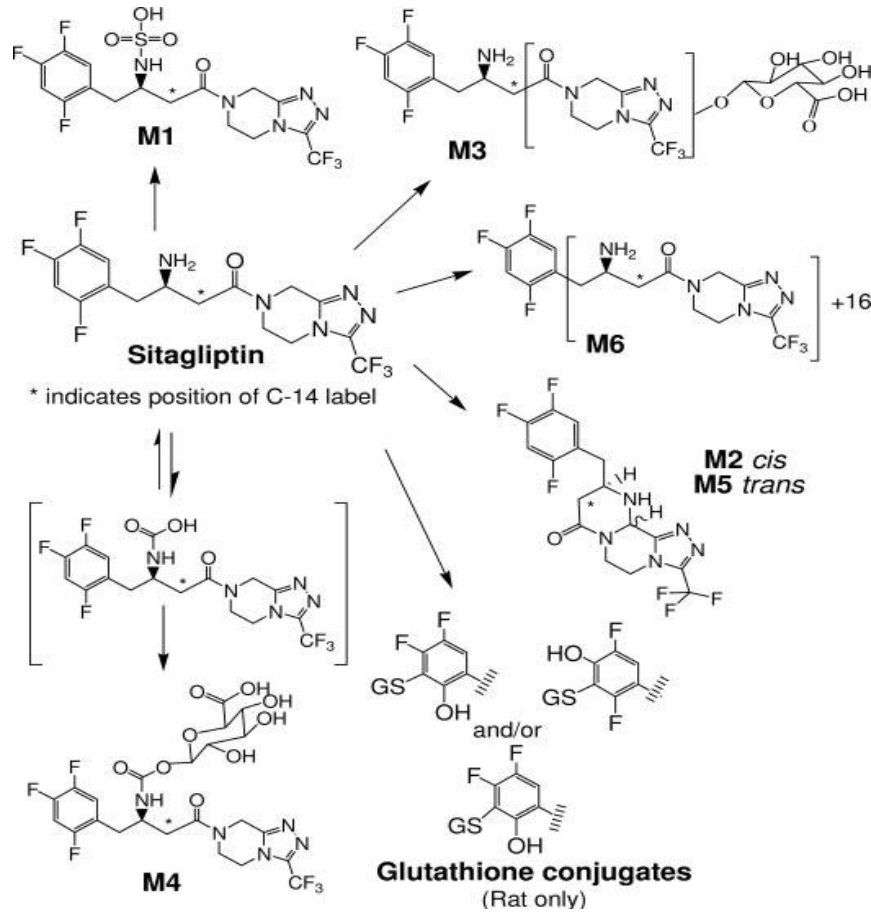
Parametreler	Farmakokinetik değerler		
	İnsan	Köpek	Rat
Biyoyararlanımı	% 87	% 89 – 97	~ % 59
Dağılım hacmi	~ 198 L	~ 3 L	7 – 9 L
Proteinlere bağlanma	% 34 – 46	% 31 – 37	% 28 – 36
T <sub>max</sub>	1 – 4 saat	0.5 – 2 saat	0.5 – 4 saat
Eliminasyon	% 87 idrar (~ % 79 değişmemiş) % 13 dışkı	% 75 (Dİ), % 77.5 (Oral) idrar % 9.3 (Dİ), % 4.2 (Oral) dışkı % 8.1 (Dİ), % 7.8 (Oral) safra	% 54 (Dİ), % 37 (Oral) idrar % 40 (Dİ), % 59 (Oral) dışkı -
t <sub>1/2</sub>	~ 12.4 saat	~ 4 saat	~ 2 saat
Plazma klirensi	-	~ 9 mL/dk	40 – 48 mL/dk
Böbrek klirensi	~ 350 mL/dk	-	-

T<sub>max</sub>: Maksimum doz zamanı, t<sub>1/2</sub>: Yarılanma ömrü, Dİ: Damar içi.

Özel hasta gruplarında sitagliptin kullanımı değerlendirildiğinde; değişik derecelerdeki (ılımlı, orta, şiddetli) böbrek yetmezliği ile son dönem böbrek yetmezliği (ESRD; end-stage renal disease) olan hastalarda 50 mg tek doz olarak ağızdan kullanılması durumunda, sitagliptinin EAA<sub>0-∞</sub> değeri sağlıklı kişilerden sırasıyla 1.6, 2.3, 4.8 ve 4.5-kat daha yüksek bulunmuştur. Normal böbrek fonksiyonu olan kişilerin t<sub>1/2</sub> değeri (~ 13.1 saat) ile karşılaştırıldığında ise bu değer belirtilen hasta gruplarında sırası ile 16.1, 19.1, 22.5 ve 28.4 saat olduğu belirtilmiştir (Bergman ve ark 2007, Abak 2010). Dolayısı ile ilacın farmakokinetiği üzerinde potansiyel klinik etkinin daha çok böbrek yetmezliği ile ilişkili olması nedeniyle sağlıklı kişilerde gözlenen sitagliptin etkisini sağlamak amacıyla orta derecede böbrek yetmezliği olan kişilerde 50 mg, şiddetli böbrek yetmezliği olan kişilerde ise 25 mg'lık doz ayarlamasının yapılması önerilmektedir (Kao ve ark 2008, Abak 2010). Orta derecede karaciğer yetmezliği olan hastalarda 100 mg tek doz olarak ağızdan kullanılması durumunda, EAA değerinin 0.5 – 2.0 aralığında tespit edildiği ve bununda klinik açıdan önemli olmadığı ifade edilmiştir. Sağlıklı kişiler ile karşılaştırıldığında ortalama plazma EAA<sub>0-∞</sub> ve C<sub>max</sub> değerinin sırası ile ~ % 21 ve ~ % 13 arttığı; fakat her iki değerinde belirtilen aralık içinde kaldığı vurgulanmıştır (Stevens ve ark 2006, Abak 2010). Sitagliptin kullanımının yaş, cinsiyet ve obezite yönünden etkileri değerlendirildiğinde plazma EAA<sub>0-∞</sub> ve C<sub>max</sub> değerlerindeki farmakokinetik farklılıkların klinikal anlamda değerli olmadığı açıklanmıştır (Zerilli ve Pyon 2007, Abak 2010).

Vincent ve ark (2007) tarafından yapılan bir çalışmada [<sup>14</sup>C]-sitagliptin'in ağızdan 100 mg tek doz olarak verilmesini takiben plazmada (% 78 – 90) ve idrarda (yaklaşık % 84 – 88) radio-aktivite gösterdiği, küçük miktarlarda 6 metabolitin (M1- M6) belirlendiği

(Şekil 1.9) ve her birinin radio-aktivite oranının plazmada  $< \% 1 - 8$ , idrarda ise  $< \% 1 - 5$  olduğu, dolayısı ile sitagliptinin geniş bir metabolizma geçirmediği, metabolizmasını *N*-sülfasyon (M1), *N*-karbamoil glukuronidasyon (M4) ve hidroksilasyon (M6)'u eter glukuronidasyon (M3)'un takip ettiği, devam eden süreçte de oksidatif desaturasyonu siklizasyon (M2 ve M5)'un izlediği ifade edilmiştir. Ayrıca M1, M2 ve M5'in DPP-4 inhibisyonu ana ilaca karşı test edilmiş ve sırası ile yaklaşık 300-, 1000- ve 1000-kat daha az aktif bulunmuştur. Metabolitlerin plazmadaki düşük seviyeleri ve DPP-4 enzimine düşük affiniteleri yüzünden sitagliptinin farmakolojik aktivitesini açıklamakta katkı sağlayamadıkları vurgulanmıştır (Beconi ve ark 2007, EMEA 2007, Liu ve ark 2007, Vincent ve ark 2007, Abak 2010).



Şekil 1.9. İnsan, köpek ve ratlarda  $[^{14}\text{C}]$ -sitagliptin'in biyotransformasyon yoluğu (Beconi ve ark 2007, Vincent ve ark 2007, Abak 2010).

**M1:** *N*-sülfasyon metaboliti, **M2:** *cis*- yapıda siklizasyon metaboliti, **M3:** Eter glukuronidasyon metaboliti, **M4:** *N*-karbamoil glukuronidasyon metaboliti, **M5:** *trans*- yapıda siklizasyon metaboliti, **M6:** Hidroksilasyon metaboliti.

Sitagliptin tedavisinde DPP-4 enzim aktivitesinin inhibisyon düzeyi doza bağlı olup, kemirgen (rodent) modellerde inhibisyon yüzdesi (%) en yüksek glikoz düşürücü etki ile ilişkili olarak % 80 veya daha yüksek oranda olduğu bulunmuştur. Tek doz çalışmalarında (1.5 – 600 mg) DPP-4 emzim aktivitesinin ağırlıklı ortalama inhibisyon (weighted average inhibition, WAI) değeri  $\geq 50$  mg dozlarda 12 saatlik periyotta,  $\geq 100$  mg dozlarda 24 saatlik periyotta en az % 80 olarak tespit edilmiştir.  $C_{ort}$ 'da ise günde 100 mg tek veya daha büyük dozlarda sitagliptinin DPP-4 enzim inhibisyon oranı  $\geq$  % 80 olarak belirtilmiştir (Herman ve ark 2005, Kim ve ark 2005, Bergman ve ark 2006 , Abak 2010).

Sitagliptinin etkisinin değerlendirilmesinde daha çok organsal belirteçler (proximal biomarkers) olarak DPP-4 aktivitesi ve inkretin düzeyleri (aktif ve toplam GLP-1 ve GIP), çevresel belirteçleri olarak da plazma seviyelerini değerlendirilmektedir. Genellikle DPP-4 enzim aktivite düzeyi toplam plazma GLP-1 miktarının % 10 – 20'si temsil eden biyolojik aktif GLP-1 miktarı ile ifade edildiğinden, sitagliptin tedavisinde inkretin sistemini içerisinde yer alan DPP-4 enzim inhibisyon oranının GLP-1 seviyesindeki değişikliklerle ilişkili olduğu vurgulanmıştır (Bergman ve ark 2006, Drucker ve Nauck 2006, EMEA 2007, Abak 2010). Plasebo sitagliptin tedavisi ile karşılaştırıldığında, standardize yemek alımından 2 saat sonra 25 – 600 mg aralığında verilen sitagliptin ile aktif GLP-1 düzeyinin ağırlıklı ortalama konsantrasyonu yaklaşık 2 kat artış gözlemlendiği belirtilmiştir. Tip 2 DM'lu hastalarda ise tek doz sitagliptin uygulamasının 24 saatlik periyotta DPP-4 enzim aktivitesini inhibe ederek aktif GLP-1 ve GIP seviyelerinde (2 – 3 kat), plazma insülin ve C-peptit düzeylerinde artışa, glukagon ve glikoz seviyelerinde ise azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir. Aktif GLP-1 seviyesindeki bu artışa rağmen toplam GLP-1 seviyesinde tutarlı ve sürekli bir değişiklik gözlenmemiştir. Bu sitagliptinin farmakolojik etkilerinin GLP-1 sekresyonundaki artıştan çok aktif GLP-1 seviyesinin azalmamasından kaynaklanabileceği ifade edilmiştir. Dolayısı ile sağlıklı kişilerde sitagliptinin glikoz, insülin, C-peptit ya da glukagon seviyesi üzerine etkisi yemek sonrası kullanımı ile ilişkili olmadığı belirtilmiştir (Herman ve ark 2005, Bergman ve ark 2006, Herman ve ark 2006a, EMEA 2007, FDA 2009, Thornberry ve Gallwitz 2009, Abak 2010).

Model hayvan (yağlı gıda ile beslenen fare, Tip 2 DM'lu kemirgen, streptozosin ile indüklenmiş diabetik fare gibi) çalışmalarında ve çeşitli egzersiz, diyet ve geleneksel antihiperglisemik ilaçlar ile kontrol altına alınamayan Tip 2 DM tedavisinde sitagliptin tek başına (mono terapi) veya diğer oral antidiabetik ilaçlarla etkileşim göstermediği için çoklu tedavi (ikili/veya üçlü multiple terapi) şeklinde kullanılabileceği, klinik kullanımlarda

güvenli ve iyi tolare edilebildiği ifade edilmektedir. Sitagliptinin tek başına ağızdan 100 mg dozda kullanımlarda plasebo ve Tip 2 DM hastalarda karşılaştırıldığında plazma aç / tok glikoz düzeyi ( $\geq 130 - \leq 240$  mg/dL) ile glikolize hemoglobin (HbA<sub>1c</sub>) miktarında (% 6.5 – % 10) önemli azalmalara neden olduğu belirtilmektedir. Çoklu tedavinin ise daha çok Tip 2 DM'un geleneksel antidiabetik ilaçlarla kontrol edilemediği durumlarda, tedavi protokolüne sitagliptin eklenmesi şeklinde olduğu belirtilmektedir. Bu amaçla birçok araştırmacı tarafından sitagliptinin *metformin* (biguanid türevi) ve *pioglitazon* (tiazolidinedion türevi, peroksizom proliferator-aktivasyonlu reseptör-gamma (PPAR $\gamma$ ) agonisti) ile ikili kombinasyon veya *metformin* – *glipizid* (sulfonilüre türevi) ile birlikte üçlü kombinasyon şeklinde kullanılabilceği; ancak, kan glikoz düzeyinine göre doz düzenlemelerin yapılması gerektiği ifade edilmektedir (Sörhede-Winzell ve Ahren 2003, Charbonnel ve ark 2006, Herman ve ark 2006b, Mu ve ark 2006, Rosenstock ve ark 2006, Ahren 2007, Brazg ve ark 2007, de Valk 2007, EMEA 2007, Goldstein ve ark 2007, Nauck ve ark 2007, Zerilli ve Pyon 2007, Mistry ve ark 2008, Vilsbøll 2008, Argyrakopoulou ve Doupis 2009, FDA 2009, Monami ve ark 2009, Nauck ve ark 2009, Thornberry ve Gallwitz 2009, Abak 2010, Dhillon 2010, Merck 2010).

Monami ve ark 2009 ise sitagliptinin sulfonilüre türevleri ya da insülin ile kombine kullanıldığına hipoglisemi riskinin kontrol grubuna göre önemli fark oluşturmadığını ifade etmişlerdir. Birkaç çalışmada ise DPP-4 enzim inhibitörlerinden vildagliptin ile insülin kombinasyonu sonucu HbA<sub>1c</sub> miktarında önemli azalmalar olduğu ve nadirde olsa şiddetli hipoglisemi riski oluşturabileceği, bununda 65 yaş üstü kişilerde dikkate alınması gerektiği vurgulanmaktadır (Pratley ve ark 2006, Dejager ve ark 2007, Fonseca ve ark 2007, Abak 2010). Sitagliptinin bunların dışında diğer antidiabetik ilaçlar (GLP-1 mimetikler, alfa-glikozidaz inhibitörleri gibi) ile birlikte kullanımına ilişkin henüz bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Sitagliptinin mono- veya metformin ve tiazolidinedion türevleri ile multiple terapilerde tolare edilebilir ve güvenli olduğu, birçok çalışmada da önemli yan etkilerinin gelişmediği mide bulantısı ve kusma gibi klinik semptomların DPP-4 enzim inhibitörleri ile ilişkili olmadığı, bu belirtilerin daha çok GLP-1 analoglarına ait olabileceği ifade edilse de (Vilsbøll ve ark 2001, Ahren 2007, Abak 2010) yaptıkları klinik uygulamalarda GLP-1'nin yüksek konsantrasyonlarının bile hipoglisemiye neden olabilecek yetenekte olmadığını belirtmişlerdir. Sitagliptinin mono terapilerde hipoglisemi riskinin yüksek olmadığı (~ % 1.2), sulfonilüre türevleri ile kombinasyonlarda ~ % 32, biguanid türevleri



ile kombinasyonda ise bu oranın ~ % 5 düzeylerinde kaldığı belirtilmektedir (Herman ve ark 2005, Ahren 2007, de Valk 2007, Nauck ve ark 2007, Scott ve ark 2007, Zerilli ve Pyon 2007, Abak 2010, Dhillon 2010). Buna bağlı olarak hipogliseminin gelişmesinde daha çok sulfonilüre türevlerinin etkili olduğu, bununda ATP'ye bağlı potasyum kanallarını kapatıcı etkisinden kaynaklanabileceği ifade edilmektedir (de Valk 2007, Monami ve ark 2009, Nauck ve Smith 2009, Abak 2010, Dhillon 2010, Merck 2010). Yapılan klinik çalışmalarda nedenine bakılmaksızın sitagliptin ile mono- veya multiple terapi yapılan hastalarda ( $\geq$  % 5) üst solunum yolu infeksiyonu (% 6.3), nazofarenjit (% 5.2) ve baş ağrısı (% 5.1) şikayetlerinin daha yaygın olduğu tespit edilmiştir. Bunların dışında düşük oranlarda karın ağrısı (% 2.1 – 2.3), mide bulantısı (% 0.6 – 1.4), ishal (% 2.3 – 3.0), burun akıntısı, boğaz ve kas ağrısı ile idrar yolu infeksiyonu gözlenebileceği vurgulanmıştır (Zerilli ve Pyon 2007, Argyrakopoulou ve Doupis 2009, Nauck ve Smith 2009, Monami ve ark 2009, Abak 2010, Merck 2010).

Sitagliptin uygulamaları sonrası kan tablosunda nötrofil artışına bağlı beyaz kan hücrelerinde yükselme (~ 200 hücre/ $\mu$ L), ürik asit düzeyinde artış, alkale fosfataz düzeyinde ise azalmaların şekillendiği; ancak kan tablosundaki, idrar kimya panelindeki, rutin kan testleri ve tam kan miktarındaki bu değişimlerin klinik olarak değer taşımadığı belirtilmektedir (Herman ve ark 2006a, EMEA 2007, Zerilli ve Pyon 2007, Abak 2010, Merck 2010). Ek olarak klinik kullanım sonucu gözlenen alerjik reaksiyonlar, anjiyoödem ve kardio-vasküler olayları ile özellikle 2006 – 2009 yılları arasında sitagliptine bağlı 88 pankreatit (2 vakada ise hemorajik ve nekrotik) vakasının tespit edildiği, bu tip hastaların da dikkate alınması gerektiği önemle ifade edilmektedir. Özellikle obeziteli, yüksek kolesterol ve/veya yüksek trigliseridli hastalarda pankreatit gelişiminde önemli risk faktörleri olduğu vurgulanmaktadır (FDA 2009, Marino 2009, Monami ve ark 2009, Nauck ve Smith 2009, Merck 2010, Abak 2010).

Sitagliptinin p-glikoprotein substratı olduğu, CYP izoenzimlerinin (CYP3A4, 2C8, 2C9, 2D6, 1A2, 2C19 ve 2B6) inhibitörü olmadığı, CYP3A4'ü indüklediği belirtilmiştir. Dolayısı ile bu geçiş yolunu kullanan diğer ilaçlar ile etkileşim içinde olma olasılığının oldukça düşük olduğu vurgulanmıştır. Sitagliptin, digoksinin p-glikoprotein aracılık ettiği taşıma sistemini inhibe etmediği; ancak, digoksinin farmakokinetiğini az da olsa etkilediği (plazma  $AUC_{0-24 \text{ saat}}$ 'da % 11,  $C_{\text{max}}$ 'da % 18 artış) ifade edilmiştir. Aksine siklosporin (p-glikoprotein inhibitörü) ile kullanıldığında ise sitagliptinin farmakokinetiğinin etkilendiği (plazma  $AUC_{0-\infty}$ 'da % 29 (1.3 kat),  $C_{\text{max}}$ 'da % 68 (1.7 kat)

artış) belirtilmiştir. Bir veya daha fazla hipertansif ilaç (anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri, anjiyotensin-II antagonistleri, kalsiyum kanal blokörleri,  $\beta$  blokörler ve diüretikler gibi) kullanan hastalarda sitagliptinin genellikle iyi tolere edilebildiği, kan basıncını ılımlı derecede düşürmesine karşın (sistolik kan basıncını 2 mm Hg azalttığı), normal kan basıncını etkilemediği tespit edilmiştir. Benzer şekilde sitagliptinin varfarin, simvastatin ve oral kontraseptifler ile anlamlı etkileşimler göstermediği ifade edilmiştir (Bergman ve ark 2005, Miller ve ark 2006, Wright ve ark 2006, EMEA 2007, Krishna ve ark 2007, FDA 2009, Abak 2010, Merck 2010).

Sitagliptinin insanlarda morbidite ve mortalite üzerine uzun süreli klinik çalışmalara rastlanmamakla birlikte, mortalite oranının farelerde dişilerde, ratlarda ise erkeklerde daha yüksek olduğu belirtilmektedir. İnsanlarda tek seferde 800 mg dozda ağızdan alınmasını takiben genellikle iyi tolere edilebildiği; bunun üstündeki dozlarda ise klinik denemelerin bulunmadığı ifade edilmektedir (EMEA 2007, FDA 2009, Abak 2010, Merck 2010). Farelerde tek doz toksisite çalışmalarında ölümcül olmayan en yüksek dozun 1000 mg/kg (EAA temel alındığında insanların 122 kez maruz kalmasına eş değerdir), ratlarda ise dişilerinde 2000 mg/kg, erkeklerinde 3000 mg/kg (EAA temel alındığında sırası ile insanların 182 ve 271 kez maruz kalmasına eş değerdir) olduğu tespit edilmiştir.

Sitagliptinin tekrarlanan dozlarda farelerde (93 gün), ratlarda (184 gün) ve köpeklerde (365 gün) yapılan denemelerde ölümcül olmayan en yüksek dozun sırası ile 750, 500 ve  $\geq 50$  mg/kg/gün (sırası ile EAA temel alındığında insanların  $\sim 80$ , 48 ve  $\geq 50$  kez maruz kalmasına eşdeğerdir) olduğu belirlenmiştir. Sitagliptinin fare ve ratlarda insanların 19 kez maruz kalmasına eşdeğer dozlarda herhangi bir böbrek toksisitesine yol açmazken, 58 kez maruz kalınan dozlarda böbrek toksisitesine neden olduğu saptanmıştır. Karaciğer toksisitesi üzerine  $\geq 500$  mg/kg/gün dozda 14 hafta boyunca yapılan çalışmalarda hem farelerde hem de ratlarda karaciğer dokusunda merkezi lobuler hepatoselüler hipertrofi, yangı, dejenerasyon nekroz ve ağırlık artışı, 106 hafta uygulandığında ise fokal hepatoselüler değişiklikler ve kistik dejenerasyonların şekillendiği tespit edilmiştir. Tüm bu etkilere rağmen sitagliptinin böbrek ve karaciğer toksisitesindeki indükleyici etkilerinin mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır (EMEA 2007).

Sitagliptinin *in vitro* ve *in vivo* bir dizi denemelerde mutajenite (Ames testi ile), direk DNA hasarı (rat hepatositlerinde *in vitro* test ile) ve klastojenite testlerinde (Çin

hamsterlerinin over hücrelerinde *in vitro* kromozom aberasyon testi ve *in vitro* fare mikronükleus testi ile) genotoksik etkilerinin gözlenmediği belirtilmiştir. Sitagliptinin karsinojenik etkileri için erkek ve dişi ratlarda 50, 150, and 500 mg/kg/gün dozlarda 2 yıl süresince yapılan denemelerde 500 mg/kg dozda (*EAA karşılaştırmasında 100 mg/kg doz temel alındığında, yetişkin insanlar için günlük tavsiye edilen maksimum dozun ~ 60 katına eşdeğerdir*) dişilerde karaciğer karsinomu, erkek ve dişilerde ise karaciğer adenomu/karsinomu insidensinin arttığı gözlenmiştir. Ratlarda kistik dejenerasyon, hepatotoksisite ile hepatikneoplazi oluşumu arasında korelasyon belirtilmiş, dolayısı ile karaciğer tümör insidensindeki artış oranı yüksek doz uygulamaları sonucu gelişen kronik karaciğer toksisitesine bağlanmıştır. Buna karşın karaciğer tümörleri üzerine erkek ve dişi farelerde benzer şekilde 50, 125, 150, and 500 mg/kg/gün dozlarda 2 yıl uygulama süresince herhangi bir organda tümör insidensinde artış gözlenmediği belirtilmiştir. DPP-4 enzim inhibitörlerinin laboratuvar hayvanlarında yapılan uzun süreli klinik çalışmalarda tümör nedeni olmadığı vurgulansa da, bazı kanser türlerinin ilerlemesine neden olabileceği; ancak, kanser ve tümör gelişiminde etkilerinin daha aydınlatıcı çalışmalarla desteklenmesi gerektiği vurgulanmıştır (Pro ve Dang 2004, Wesley ve ark 2005, Masur ve ark 2006, EMEA 2007, FDA 2009, Merck 2010).

*In vivo* ve *in vitro* çalışmalarda çeşitli amaçlarla kullanılan ilaç (uyuşturucular, bazı anestezi, antibiyotik ve antiepileptikler ile nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin ve adriamisin gibi antineoplastikler) ve ilaç metabolitleri ile bunlara bağlı ilaç – ilaç etkileşimleri, ters ilaç reaksiyonları, yüksek dozda ilaç kullanımı veya ilaçların direkt toksisitesi yanında bazı toksik maddelerin (pestisid, sigara dumanı, aromatik hidrokarbonlar, radyasyon, fotokimyasal maddeler gibi) etkileri sonucu ortaya çıkan hepatotoksisite, nörotoksisite, genotoksisite, embriyotoksisite, immünotoksisite gibi etkenlerin patogeneğinde artmış ROS'nin neden olduğu oksidatif doku hasarının rol oynadığı ortaya konmuştur. Çalışmalarda karaciğer, böbrek, kalp, beyin ve tiroit gibi çeşitli doku örnekleri ile serum ve eritrositlerde lipid peroksidasyonun bir göstergesi olan TBARS seviyelerinde artış ve enzimatik antioksidan savunma elemanlarından SOD, CAT, GSH, GSH-Px, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PDH) ve GSSG-R aktivitelerindeki değişikliklerin gösterilmesiyle ilaç veya ilaç toksisitesinde de oksidatif hasarın ortaya konabileceği belirtilmiştir (Banerjee ve ark 1999, Kale ve ark 1999, Öncü ve ark 2002, Altuntaş ve ark 2003, Kaya 2005, Tafazoli 2008).

Bu çalışmada, sitagliptinin ratlarda ağızdan 36 gün boyunca günde 1, 10 ve 100 mg/kg dozlarda uygulanmasını takiben uygulama öncesi (0. gün) ve uygulama sonrası (36. gün) canlı ağırlık (g) ve kan glikoz düzeyleri (mg/dL) üzerine olası etkileri ile 36. gün karaciğer ve böbrek doku ağırlıklarındaki (g) olası değişikliklerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Sitagliptinin artan dozlarda uygulanması ile ilacın biyotransformasyonunda ve atılmasında önemli rol oynayan karaciğer ve böbrek doku örneklerinde oksidatif hasar belirteçlerinden SOD (*U/mg doku protein*) ve CAT (*k/mg doku protein*) enzim aktiviteleri ile GSH seviyesi (*mg/mg doku protein*) ve MDA konsantrasyonlarında (*nmol/mg doku protein*) olası etkilerinin incelenmesi hedeflenmiştir. Yapılan bu çalışmada, ratlar için 10 mg/kg/gün dozda ağızdan uygulanan sitagliptin, ilacın farmakokinetiği dikkate alındığında EAA karşılaştırmasında 100 mg/kg doz temel alındığında, yetişkin insanlar için günlük tavsiye edilen maksimum dozun ~ 6 katına, denemede ratlarda uygulanan en yüksek dozun (100 mg/kg/gün) ise ~ 10 katına eşdeğer olduğu belirtilmiştir (FDA 2009).

## 2. GEREÇ ve YÖNTEM

### 2.1. Gereç

#### 2.1.1. Hayvan materyali

Bu çalışma “*Antidiabetik Olarak Kullanılan Sitagliptin’in Ratlarda Genotoksisitesinin Değerlendirilmesi*” isimli ADÜ Araştırma Fonu Projesi (SAE-09007) ile paralel olarak yürütülmüş olup, ilgili çalışmadaki aynı hayvan materyali kapsamında 2 - 3 aylık, 180 - 279 g arasında değişen,  $229,26 \pm 28,92$  g ortalama canlı ağırlığında toplam 40 adet erkek *Wistar-Albino* rat kullanıldı (Resim 2.1). Hayvanların seçiminde sağlıklı ve herhangi bir bilimsel çalışmada kullanılmamış olmalarına özen gösterildi. Denemeden 1 hafta önce hayvanlar her bir kafeste 5 adet olacak şekilde ayrıldı, ortama adaptasyonları sağlandı ve ortam sıcaklığı  $22 \text{ }^\circ\text{C} (\pm 2)$  olarak ayarlandı. Hayvanların doğal gün ışığından yararlanmalarına imkan verilerek araştırma süresince standart rat yemi (Çizelge 2.1) ve içme suyu *ad libitum* olarak verildi. Çalışma ayrıca “*ADÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’nun*” 13.05.2009 tarih ve 2009/16 sayılı izni alınarak yönergeye uygun olarak gerçekleştirildi.



Resim 2.1. Hayvanların bakım odası ve gruplandırma kafesleri.

Tüm hayvanlarda uyum süresi sonunda uygulama öncesi şeker ölçüm cihazı (plusMED Accuro, Bionime Corporation, Tayvan) ile kuyruk venasından alınan kan

örneklerinde glikoz düzeyi 80 - 150 mg/dL arasında olanlar çalışmaya dahil edildi (Butler 1995, Bayıroğlu ve ark 1999, Dönmez 2008, Klein 2009). Daha sonra hayvanlarda grup içi canlı ağırlıkları birbirine yakın ve her grupta 10 adet olacak şekilde 4 gruba ayrıldı (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan standart rat yemi bileşimi.

Bileşimi	Birimi	Miktarı	Bileşimi	Birimi	Miktarı
Nem		12	Vitamin E		60
Protein		20	Vitamin K		1
Ham lif		7	Vitamin B <sub>1</sub>		3
Ham kül		8	Vitamin B <sub>2</sub>		4
Yağ		6	Vitamin B <sub>6</sub>		1
Lizin	%	1	Vitamin B <sub>12</sub>		0.09
Metiyonin		0.6	Pantotenik asit		1.5
Metiyonin + Sistin		1	Niasin	mg/kg	10
Sodyum klorür		0.2	Biyotin		0.08
Kalsiyum		1	Kolin klorid		1000
Fosfor		0.9	Demir		300
Sodyum		0.5	Bakır		20
Magnezyum	ppm	200	Manganez		10
Enerji	Kcal/kg	2650	Çinko		4
Vitamin A	IU	300	İyodin		1.3
Vitamin D		1000	Selenyum		0.3

Hayvan grupları ve ilaç uygulama dozları paralel yürütülen çalışmada da belirtildiği gibi gruplardan 1 tanesi kontrol olarak ayrıldı ve ilaç sondası (Harvard Apparatus, USA) ile sadece 1 mL serum fizyolojik (% 0,9'luk) oral olarak verilirken, Grup 2'ye 1 mg/kg/gün, Grup 3'e 10 mg/kg/gün ve Grup 4'e 100 mg/kg/gün dozda olacak şekilde sitagliptin'in aktif şekli olan *sitagliptin fosfat monohidrat (Januvia® 100 mg tablet*, Merck Sharp & Dohme İlaçları Ltd. Şti., Türkiye) oral olarak 1 mL serum fizyolojik (% 0,9'luk) içinde rat ilaç sondası yardımıyla 36 gün boyunca ve her gün aynı saatte (09:00) olacak şekilde uygulandı.

İlaç dozlarının belirlenmesinde Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi'nin (U.S. Food and Drug Administration, FDA) sitagliptin üzerine belirtmiş olduğu klinik ve toksikolojik veriler dikkate alındı. Bu kapsamda kullanılan 10 mg/kg/gün'lük doz, sitagliptinin

farmakokinetiği dikkate alındığında eğri altında kalan alan (EAA) karşılaştırmasında yetişkin insanlar için günlük tavsiye edilen maksimum dozun (100 mg/kg/gün) yaklaşık 6 katına, 100 mg/kg/gün'lük oral doz ise yetişkin insanlar için günlük tavsiye edilen maksimum dozun yaklaşık 10 katına eşdeğerdir (FDA 2009, Medsafe 2009).

Çizelge 2.2. Çalışmada kullanılan hayvan grupları, ilaç uygulama dozları ve şekli.

Gruplar	Hayvan sayısı (n)	İlaç dozları (mg/kg)	İlaç uygulama şekli
Grup 1	10	Kontrol	1 mL serum fizyolojik (% 0.9'luk)/gün
Grup 2	10	1	1 mL serum fizyolojik (% 0.9'luk) içinde 1 mg/kg/gün dozda sitagliptin
Grup 3	10	10	1 mL serum fizyolojik (% 0.9'luk) içinde 10 mg/kg/gün dozda sitagliptin
Grup 4	10	100	1 mL serum fizyolojik (% 0.9'luk) içinde 100 mg/kg/gün dozda sitagliptin

### 2.1.2. Kimyasal maddeler

Çalışmada kimyasal maddelerden amonyum sülfat ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Merck 101217), bakır (II) klorür (CuCl<sub>2</sub>, Merck 818247), 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB, [-SC<sub>6</sub>H<sub>3</sub>(NO<sub>2</sub>)CO<sub>2</sub>H]<sub>2</sub>, Sigma D8130), dietileter ((CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>O, Fluka 31700), etanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, Merck 100986), etilendiamintetra asetik asit (EDTA) disodyum tuzu (Sigma E5134), glutasyon (Merck, 104090), hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Merck 108597), hidroklorik asit (HCl, Sigma 320331), ksantin (C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>, Sigma X0626), ksantin oksidaz (Sigma X1875), meta-fosforik asit ((HPO<sub>3</sub>)<sub>n</sub>, Merck 100546), *n*-butanol (CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>OH, Merck 100988), nitrotetrazolium blue klorit (NBT, C<sub>40</sub>H<sub>30</sub>N<sub>10</sub>O<sub>6</sub>·2Cl, Sigma N6876), potasyum dihidrojen fosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Merck 104877), potasyum klorür (KCl, Merck 104936), serum fizyolojik (% 0,9'luk 10 ml ampul, Adeka İlaç San. ve Tic. A.Ş., Türkiye), sığır albümini (Sigma A7906), sitagliptin fosfat (Januvia<sup>®</sup> 100 mg tablet, Merck Sharp & Dohme), sodyum fosfat dibazik (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, Sigma 30427), sodyum fosfat dibazik dihidrat (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, Sigma 30435), sodyum karbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Sigma S7795), sodyum klorür (NaCl, Sigma S9625), sodyum sitrat monobazik (HOC(COONa)(CH<sub>2</sub>COOH)<sub>2</sub>, Aldrich 71498), 2-tiyobarbitürik asit (C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S, Sigma T5500), trikloro asetik asit (CCl<sub>3</sub>COOH, Merck 100810), triklorometan (kloroform, CHCl<sub>3</sub>, Merck 102444), total protein kiti (Archem Health Ind. Co., Türkiye) ve distile su kullanıldı.

### 2.1.3. Cihazlar ve Araç - Gereçler

Çalışma kapsamında soğutmalı santrifüj (Nüve, NF 800R), mikro santrifüj (Hettich. Mikro 200), hassas terazi (Shimadzu, AX-120 ve EB-2200-HU), dijital pH metre (Denver, Model no:225), spektrofotometre (Shimadzu, UV-1601), su banyosu (Nüve, BM 402), otoklav (Nüve OT 4060), etüv (Nüve, FN 500), ısıtmalı manyetik karıştırıcı (Nüve MK 418), vorteks (Nüve NM 110), distile su cihazı (Nüve, NS 112), glukometre (plusMED Accuro, Bionime Corporation), çeker ocak (Motkim Makina), homojenizatör seti (IKA Yellow-Line OST basic, IKA Werke GMBH Co. KG., Almanya), buzdolabı (Profilo), derin dondurucu (Sanyo Ultra Low MDF U40 86S, Japonya), rat ilaç / besleme kanülü (Harvard Apparatus), otomatik mikropipetler (10, 100 ve 1000 µL'lik, Eppendorf), filtre kağıdı, eppendorf tüpü (1,5 ve 2 mL'lik, Roth), steril enjektör (5 mL, Ayset), sarı / mavi pipet ucu, pens, makas, heparinli tüp, insülin enjektörü (Kar-med medikal), değişik ölçülerde deney tüpü, balon joje, huni, beher glas (Isolab), cerrahi eldiveni (Beybi), kurutma ve filtre kağıdı kullanıldı.

## 2.2. Yöntem

### 2.2.1. Kan glikoz düzeyinin ölçülmesi

Tüm hayvanlarda uyum süresi sonunda uygulama öncesi (0. gün) şeker ölçüm cihazı (plusMED - Accuro, Bionime Corporation, Tayvan) ile kuyruk venasından alınan kan örneklerinde glikoz düzeyi ölçülerek 80 - 150 mg/dL arasında olanlar çalışmaya dâhil edildi (Bayıroğlu ve ark 1999, Butler 1995, Dönmez 2008, Klein 2009). Aynı ölçümler uygulama sonrası (36. gün) tekrarlanarak istatistiki karşılaştırmalar için kayıtlar altına alındı.

### 2.2.2. Doku örneklerinden süpernatant hazırlanması

Deneme sonunda (36. gün) ratlar “ADÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’nun” izni ve yönergesine uygun olarak eter anestezi ile servikal dislokasyon altında öldürüldü ve organları çıkartıldı (Resim 2.2). Daha sonra doku ve organlar serum fizyolojik (% 0,9'luk) içinde temizlendi, kurutma kâğıdında su ve nemi alınarak hassas terazide tartıldı. Aynı gün içerisinde doku örneklerinden 1 g alınarak küçük parçalara ayrılarak 1:10 oranında (w/v) buzlu soğuk ortamda %10 150 mM'lık fosfat buffer solüsyonu (PBS, pH 7.4) ile 2000 rpm/dk hızda 2 dk süresince homojenizasyonu gerçekleştirildi [*Fosfat buffer solüsyonu: 8.06 g NaCl, 0.201 g KCl, 12.636 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O, 0.2 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> tartılarak bir miktar*



*distile su ile çözdürüldükten sonra 1 litreye tamamlandı ve pH'sı 7.4'e ayarlandı*]. Elde edilen doku homojenizatları +4 °C'de 10 dk 6000 g'de santrifüj edilerek üst kısımdaki süpernatantlar ayrılarak total protein, SOD, CAT, GSH ve MDA analizleri gerçekleştirilinceye kadar ependorf tüplerde –80 °C'de derin dondurucuda saklandı.



Resim 2.2. Hayvanların organlarının çıkarılması.

### 2.2.3. Biyokimyasal analizler

#### 2.2.3.1. Doku total protein miktarı analizi

Doku total protein miktarının belirlenmesinde ve buna ait hesaplamalarda ticari test kitinde (Ref. kot: A2300, Archem Health Ind. Co., Türkiye) belirtilen yöntemler dikkate alınmıştır. Bu metoda göre;

*Test kiti içinde yer alan ayıraçlar:* Bakır (II) sülfat (CuSO<sub>4</sub>, 6 nM'lık), sodyum potasyum tartarat (21 nM'lık), potasyum iyodür (6 nM'lık) ve sodyum hidroksit (NaOH, 0.75 M'lık).

*Testin prensibi:* Proteinlerin peptidik bağları absorbanı 520 - 560 nm'de ölçülebilen mavi - mor renkte kompleks oluşturmak için alkali bakır (II) solüsyonu ile etkileşme reaksiyonu oluşturması temeline dayanır.

Reaksiyonda her bakır (II) bileşiği 6 peptit bağ ile kompleks oluşturabilmekte, tartarat tuzu ise stabilizasyonu sağlamaktadır. Testte kullanılan iyot molekülleri ise alkali bakır (II) kompleksinin renk kaybının önlenmesi amacıyla ilave edilmiştir.

*Testin yapılışı* Çizelge 2.3’de şematize olarak belirtildi.

Çizelge 2.3. Doku total protein miktarının belirlenmesi.

	<b>Kör tüpü</b>	<b>Standart tüpü</b>	<b>Örnek tüpü</b>
<i>Ayıraç I</i>	1 mL	1 mL	1 mL
<i>Standart</i>	-	10 µL	-
<i>Doku süpernatant</i>	-	-	10 µL
<i>Distile su</i>	10 µL	-	-
Vortekste karıştırıldı			
Karışım 30 °C’lik sıcak su banyosunda 10 dk inkübe edildi			
546 nm’de 30 dk içinde okundu			

*Testin hesaplanması:* Aşağıda verilen bağlantıdan yararlanılarak doku total protein miktarı hesaplandı ve sonuçlar *mg/mL* olarak verildi (Birim çevirme:  $g/dL \times 10 = g/L = mg/mL$ ).

*Doku total proteini (g/dL) = (Örnek absorbansı / Standart absorbansı) × Standart konsantrasyonu*

### 2.2.3.2. Superoksit Dismutaz (SOD) analizi

SOD analizi, Sun ve ark’nın (1988) metoduna dayalı olarak yapıldı. Buna göre;

*Kullanılan ayıraç ve çözeltiler:*

- Ksantin stok çözeltisi (3 mmol/L): 23 g ksantin, 5 ml 0.1 N NaOH ile hafifçe ısıtılarak çözdürül ve distile su ile 50 ml’ye tamamlandı, 10 kat sulandırıldı.
- Ksantin oksidaz enzim çözeltisi: Ksantin oksidaz enzim çözeltisinden (20 U/ml aktiviteli) 20 µl alınarak 2 ml 2 M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisi ile karıştırıldı.
- Reaktif karışımı: 20 ml 10 kez sulandırılmış ksantin oksidaz enzim çözeltisi, 10 ml EDTA, NBT çözeltileri ile 6 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ve 3 ml sığır albümini çözeltisi ile hazırlandı.
- EDTA çözeltisi (0.6 mmol/L), nitrotetrazolium blue klorit (NBT) çözeltisi (150 mmol/L), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi (400 µmol/L), CuCl<sub>2</sub> çözeltisi (0.8 mmol/L) ve sığır albümin çözeltisi (1 g/L).

*Testin prensibi:* Ksantin ve ksantin oksidaz enzimini kullanarak reaksiyon ortamında enzimatik bir tepkime ile oluşturulan superoksit radikalinin, ortamda bulunan NBT’u indirgemesi ile oluşan ve maksimum 560 nm’de absorbans veren kırmızı formozon

oluşum inhisyonunun belirlenmesinde SOD aktivite miktarının indirekt olarak saptanması temeline dayanır.

*Testin yapılışı* Çizelge 2.4’de şematize olarak belirtildi.

Çizelge 2.4. Doku süpernatantda SOD analizinin yapılışı.

	<b>Kör tüpü</b>	<b>Örnek tüpü</b>
<i>Distile su</i>	0.5 mL	-
<i>Doku süpernatant</i>	-	0.5 mL
<i>Etanol</i>	250 µL	250 µL
<i>Kloroform</i>	150 µL	150 µL
Vortekste karıştırıldı		
Karışım +4 °C’de 5 dk 12 000 rpm/dk hızda santrifüj edildi		
Ayrı temiz tüplere		
<i>Reaktif karışımı</i>	2.45 mL	2.45 mL
Santrifüj sonrası her bir tüpte üstteki berrak kısımdan 0.5 mL aktarıldı		
<i>Ksantin oksidaz</i>	50 µL	50 µL
Karışım 25 °C’lik sıcak su banyosunda 20 dk inkube edildi		
<i>CuCl<sub>2</sub></i>	1 mL	1 mL
560 nm’de okundu		

*Testin hesaplanması ve birimi:* Aşağıda verilen bağlantıdan yararlanılarak reaksiyon ortamında bulunan doku SOD enzim aktivitesi *ünite (U)* cinsinden hesaplandı ve sonuçlar *U/mg doku protein* olarak verildi.

$$\% \text{ inhibisyon} = (\text{Körün absorbanansı} - \text{Örnek absorbanansı}) / \text{Körün absorbanansı} \times 100$$

1 U SOD, NBT redüksiyonunu % 50 oranında inhibe eden protein miktarı olarak değerlendirildi ve *U/ml* olarak hesaplandı. Daha sonra numunelerdeki SOD aktivitesi = SOD / doku protein denklemi kullanılarak *U/mg doku protein* olarak ifade edildi.

### 2.2.3.3. Katalaz (CAT) analizi

CAT analizi, Bergmeyer ve ark’nın (1974) yöntemine dayalı olarak yapıldı. Bu metoda göre;

*Kullanılan çözeltiler:*

– Fosfat buffer solüsyonu (1/15 mmol/L): 3.522 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ve 7.268 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , tartılarak bir miktar distile su ile çözdürüldükten sonra 1 litreye tamamlandı ve pH'sı 7.0'a ayarlandı.

– Fosfat buffer solüsyonunda  $\text{H}_2\text{O}_2$  çözeltisi: % 30'luk  $\text{H}_2\text{O}_2$  çözeltisinden 0.16 ml alınarak 100 mL fosfat buffer solüsyonu içerisinde seyreltildi ve bu karışımın 240 nm'deki absorbansı 0.5 olarak ayarlandı (Absorbans bu değerden düşük ise küçük miktarlarda  $\text{H}_2\text{O}_2$  ilave edilerek absorbansın 0.5 olması sağlandı).

*Testin prensibi:* Işık spektrumunun ultraviyole dalga boyunun azalmasıyla, ortamdaki  $\text{H}_2\text{O}_2$  artan bir absorbans verir. Numunede bulunan CAT enziminin etkisiyle uygun bir tampon içinde yer alan  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'nin yıkılması sonucu, 240 nm'de ölçülebilen absorbansta azalmalar gözlenir. CAT enzim aktivitesi, teste 240 nm absorbansta saptanan azalma hızı ile doğru orantılı olması prensibine dayanır.

*Testin yapılışı* Çizelge 2.5'de şematize olarak belirtildi. Analiz sonunda spektrofotometrede her bir örnek için ilk okuma süresindeki ( $t_1$ ) değeri  $A_1$ , ikinci okuma süresindeki ( $t_2$ ) değeri ise  $A_2$  olarak kaydedildi.

Çizelge 2.5. Doku süpernatantda CAT analizinin yapılışı.

	<b>Kör tüpü</b>	<b>Örnek tüpü</b>
<i>Fosfat buffer</i>	2.95 mL	-
<i>Fosfat bufferli <math>\text{H}_2\text{O}_2</math></i>		2.95 mL
<i>Doku süpernatant</i>	50 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$
Quartz küvetin kapakları kapatıldı		
Küvetler alt-üst edilerek karıştırıldı		
240 nm'de 15 saniye arayla 2 kez okundu		

*Testin hesaplanması ve birimi:* Çalışmada belirtilen süre içerisinde absorbanstaki azalma tespit edilerek, aşağıda verilen bağlantıdan yararlanılarak reaksiyon ortamında bulunan doku CAT enzim aktivitesi *hız sabitesi* ( $k$ ) cinsinden hesaplandı ve sonuçlar *k/mg doku protein* olarak verildi.

$$\text{Hız sabitesi } (k) = (2.3 / \Delta t) \times (\log A_1 / A_2)$$

#### 2.2.3.4. Glutasyon (Glutathione, $\gamma$ -glutamilsisteinilglisin, GSH) analizi

Bir tripeptit olan GSH (glutasyon ,  $\gamma$ -glutamilsisteinilglisin) analizi, Tietz'in (1969) metoduna dayalı olarak yapıldı. Bu yöntemeye göre;

*Kullanılan standart ve çözeltiler:*

- Glutasyon standartı: 100 mg glutasyon 100 mL distile su içerisinde çözdürülerek stok standart solüsyonları ( $G_1$ ,  $G_2$ ,  $G_3$ ,  $G_4$  ve  $G_{\text{stok}}$ ) hazırlandı (Çizelge 2.4).
- Sodyum sitrat [ $\text{HOC}(\text{COONa})(\text{CH}_2\text{COOH})_2$ ] çözeltisi: 1 g sodyum sitrat bir miktar distile su ile çözdürüldükten sonra 100 mL'ye tamamlandı.
- 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB, [ $-\text{SC}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)\text{CO}_2\text{H}$ ] $_2$ ) solüsyonu: 40 mg DTNB tartılarak üzerine bir miktar % 1'lik sodyum sitrat çözeltisi ile çözünmesi sağlandıktan sonra yine aynı çözeltisi ile 100 mL'ye tamamlandı.
- Sodyum fosfat dibazik ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) çözeltisi: 42.59 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  bir miktar distile su ile çözdürüldükten sonra 1 L'ye tamamlandı.
- Presipitasyon solüsyonu: 1.67 g ( $\text{HPO}_3$ ) $_n$ , 0.2 g EDTA ve 30 g NaCl tartılarak bir miktar distile su ile çözdürüldükten sonra 100 mL'ye tamamlandı.

Çizelge 2.6. GSH standartının hazırlanması.

	$G_1$	$G_2$	$G_3$	$G_4$	$G_{\text{stok}}$
<i>Glutasyon</i>	-	-	-	-	100 mg
<i>Stok standart</i>	5 mL	10 mL	25 mL	50 mL	-
<i>Distile su</i>	95 mL	90 mL	75 mL	50 mL	100 mL
412 nm'de okundu					
Standart eğri (mg/dL) çizildi					

*Testin prensibi:* Tüm non-sülfidril grupları indirgenmiş GSH formundadır. DNTB disülfid kromojen yapısında olup sülfidril bileşikler tarafından indirgenerek sarı renkte bileşik oluştururlar. Testin prensibi, 412 nm absorbansta okunan GSH konsantrasyonunun, bu indirgenmiş kromojenin ile doğru orantılı olmasına dayanır.

*Testin yapılışı* Çizelge 2.7'de şematize olarak belirtildi.

*Testin hesaplanması:* Aşağıda verilen bağlantıdan yararlanılarak doku total protein *Testin hesaplanması ve birimi:* Glutasyon standartları, ölçüm için filtrasyon basamağı atlanarak yapıldı. Elde edilen absorbans değerleri standart eğri çizilirken kullanıldı.

Örneklerin absorbansları standart eğride yerine konularak değerler *mg/dL* olarak bulundu ve sonuçlar *mg/mg doku protein* olarak verildi.

Çizelge 2.7. Doku süpernatantda GSH analizinin yapılışı.

	<b>Kör tüpü</b>	<b>Standart tüpü</b>	<b>Örnek tüpü</b>
<i>Distile su</i>	2 mL	1.8 mL	1.8 mL
<i>Standart</i>	-	200 µL	-
<i>Doku süpernatant</i>	-	-	200 µL
<i>Presipitasyon solüsyonu</i>	3 mL	3 mL	3 mL
Vortekste karıştırıldı			
Oda ısısında 5 dk inkübe edildi			
İnkübasyon sonrası her bir tüpe 2 mL filtrat alındı			
<i>Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> çözeltisi</i>	8 mL	8 mL	8 mL
<i>DTNB solüsyonu</i>	1 mL	1 mL	1 mL
Alt – üst ederek (3 kez) karıştırıldı			
Quartz küvette 412 nm’de 4 dk içinde okundu			

#### 2.2.3.5. Malondialdehid (MDA) analizi

MDA analizi, Yoshioka ve ark (1979) ile Draper ve Hadley (1990) tarafından belirtilen tiyobarbitürik asit yöntemine dayalı olarak yapıldı. Bu metoda göre;

*Kullanılan çözeltiler:*

- 2-tiyobarbitürik asit (TBA, C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S): 0.675 g TBA 100 ml distile su içinde (% 0.675’lik) çözdürüldü.
- Trikloro asetik asit (TCA, CCl<sub>3</sub>COOH): 10 g TCA 100 ml distile su içinde (% 10’luk) çözdürüldü.

*Testin prensibi:* MDA, aerobik ortamda TBA ile 90°C’de inkübasyonu sonucu pembe renkli kompleks oluşturur. Testin prensibi, bu kompleksin (MDA konsantrasyonu) absorbansının spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda okunması temeline dayanır.

*Testin yapılışı* Çizelge 2.8’de şematize olarak belirtildi.

*Testin hesaplanması ve birimi:* Aşağıda verilen bağlantılardan yararlanılarak reaksiyon ortamında bulunan MDA - TBA kompleksinin 532 nm’deki ekstinksiyon katsayısından ( $\epsilon = 1.56 \times 10^5$  /M/cm) faydalanıldı ve *nmol/ml* cinsinden MDA konsantrasyon değerleri hesaplanarak, sonuçlar *nmol/mg doku protein* olarak verildi. Doku MDA konsantrasyon analizinde standart kullanılmadı.

Çizelge 2.8. Doku süpernatantda MDA analizinin yapılışı.

	Kör tüpü	Örnek tüpü
<i>Distile su</i>	0.5 mL	-
<i>Doku süpernatant</i>	-	0.5 mL
TBA (% 0.675'lik)	1 mL	1 mL
TCA (% 10'luk)	3 mL	3 mL
Vortekste karıştırıldı ve tüplerin ağzı kapatıldı		
Tüpler 90 °C'liki su banyosunda 30 dk bekletildi		
Tüpler buz dolu kap içersinde 15 dk bekletildi		
<i>n</i> -butanol	4 mL	4 mL
Vortekste karıştırıldı		
3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi		
Ayrı temiz tüpe <i>n</i> -butanol'lu kısımdan aktarıldı (en az 2.5 mL)		
240 nm'de okundu		

$$\text{Örnek absorbanısı} = \varepsilon \times a \times b$$

( $\varepsilon$ : Ekstinksiyon katsayısı ( $1.56 \times 10^5$  /M/cm) sabit bir değeri,  $a$ : Işık yolu spektrofotometrik analiz için kullanılan küvetin ışık yolu (1 cm),  $b$ : Örnek konsantrasyonu)

Matematiksel işlemde;

$$\text{Konsantrasyon} = \text{Absorbans} / (1.56 \times 10^5 \text{ /M/cm}) \times 1 \text{ cm}$$

Daha sonra analize ait dilusyon faktörü analizde kullanılan reaktiflerin ve örneğe ilave edilen mL değerlerine göre hesaplanarak yukarıdaki denklem ile çarpıldı. Buna göre;

$$\text{Doku MDA konsantrasyonu (nmol/L)} = \text{Absorbans} / (1.56 \times 10^5 \text{ /M/cm}) \times 1 \text{ cm} \times \text{dilusyon faktörü}$$

### 2.3. İstatistiksel değerlendirme

Çalışmada ilaç uygulama öncesi ve sonrası canlı ağırlık, kan glikoz değerleri ile karaciğer ve böbrek doku ağırlıkları, bu dokulara ait SOD ve CAT enzim aktiviteleri, GSH seviyesi ve MDA konsantrasyonlarının ortalama  $\pm$  standart hata ( $\bar{X} \pm S_x$ ) değerleri verildi. Kontrol ve uygulama grupları arasındaki farklılıklar SPSS 11.5 paket programında *One-Way ANOVA* varyans analizinde *Duncan testi* kullanıldı. Ayrıca uygulama öncesi (0. gün) ve uygulama sonrası (36. gün) canlı ağırlık ve kan glikoz değerlerine ait farkların belirlenmesinde *t-testi* kullanılarak istatistiksel yönden değerlendirildi.  $P < 0.05$  altındaki değerler anlamlı kabul edildi (Özdamar 2003).

### 3. BULGULAR

Çalışma süresi içinde Grup 1 (Kontrol) ve Grup 4 (100 mg/kg)'ten 1'er adet hayvan farklı zamanlarda öldüğü için bu hayvanlara ait veriler değerlendirmeye alınmadı. Ölüm nedenlerinin belirlenebilmesi için yapılan otopside patolojik herhangi bir bulguya rastlanmadı.

Hayvanlar uyum süresi sonunda çalışmaya alınmadan önce (0. gün) canlı ağırlık (g) ve kan glikoz değerleri (mg/dL) ölçüldü ve çıkış değerleri olarak kaydedildi. Çalışma sonunda (36. gün) yine canlı ağırlık ve kan glikoz ile karaciğer ve böbrek (sağ ve sol) doku ağırlıkları (g) ve bu doku örneklerinde SOD (U/mg doku protein) ve CAT (k/mg doku protein) enzim aktiviteleri ile GSH seviyesi (mg/mg doku protein) ve MDA konsantrasyonlarına (nmol/mg doku protein) ait değerlerin ortalama  $\pm$  standart hataları ( $\bar{X} \pm S_x$ ) belirlendi.

Çalışmada grupların 0. ve 36. gün elde edilen canlı ağırlıkları ait minimum, maksimum, ortalama ve standart hata ( $\bar{X} \pm S_x$ ) değerleri Çizelge 3.1, bu gruplara ait grafik ise Şekil 3.1'de gösterildi.

Çizelge 3.1. Grupların 0. ve 36. gün canlı ağırlık değerleri (g).

Gruplar	Hayvan sayısı (n)	Canlı ağırlık (g)				Önemlilik
		0. gün		36. gün		
		Min – Maks	$\bar{X} \pm S_x$	Min – Maks	$\bar{X} \pm S_x$	
Grup 1 (Kontrol)	9	220 – 288	253.11 $\pm$ 7.37 <sup>a</sup>	240 – 315	280.00 $\pm$ 7.71 <sup>ab</sup>	***
Grup 2 (1 mg/kg)	10	180 – 203	193.40 $\pm$ 2.42 <sup>c</sup>	182 – 239	215.00 $\pm$ 9.16 <sup>c</sup>	**
Grup 3 (10 mg/kg)	10	205 – 234	220.80 $\pm$ 3.15 <sup>b</sup>	215 – 276	251.30 $\pm$ 6.34 <sup>b</sup>	***
Grup 4 (100 mg/kg)	9	237 – 279	254.67 $\pm$ 3.94 <sup>a</sup>	266 – 352	302.00 $\pm$ 10.20 <sup>a</sup>	***
Önemlilik			***		***	

Min: Minimum, Maks: Maksimum.

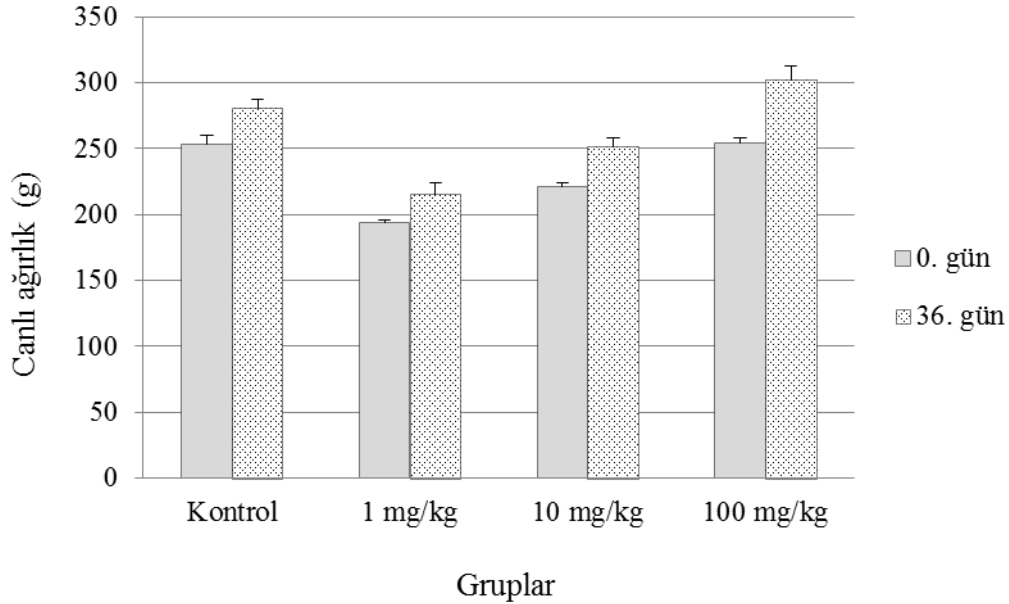
a, b, c: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir.

\*\* :  $P < 0.01$ , \*\*\* :  $P < 0.001$



Çalışmada uygulama öncesi (0. gün) canlı ağırlık bakımından; Grup 2 ve Grup 3'ün hem kendi aralarında hem de kontrol ve Grup 4 ile aralarındaki farkın anlamlı ( $P<0.001$ ) olduğu tespit edildi. Deneme süresi sonunda (36. gün) 0. gün gözlenen 3'üncü grup ile kontrol grubu arasındaki farkın 36. günde ortadan kalktığı; ancak, 3'üncü ve 4'üncü grup arasındaki farkın ( $P<0.001$ ) korunduğu tespit edildi. Grup 2'nin diğer gruplar ile arasındaki farkın ( $P<0.001$ ) devam ettiği gözlemlendi.

Gruplardaki 36 ve 0. gün canlı ağırlık değerleri ile karşılaştırıldığında; artışın en az % 10.05 ile Grup 2'de şekillendiği ( $P<0.01$ ), kontrol, Grup 3 ve Grup 4'te ise sırası ile % 10.62, % 13.62 ve % 18.59 oranında olduğu tespit edildi. Bu artış oranlarının her üç grupta da çıkış değerlerine göre önemli fark ( $P<0.001$ ) gösterdiği saptandı.



Şekil 3.1. Grupların çalışma öncesi (0. gün) ve sonrası (36. gün) canlı ağırlık değerlerine (g) ait grafik.

Tüm gruplarda 36. gün elde edilen karaciğer ve böbrek (sağ ve sol) doku ağırlıklarına (g) ait minimum, maksimum, ortalama ve standart hata ( $\bar{X} \pm S_x$ ) değerleri Çizelge 3.2, bu gruplardaki karaciğer, sağ ve sol böbreğe ait grafikler ise sırası ile Şekil 3.2 ve Şekil 3.3'de gösterildi.

Çizelge 3.2. Gruplarda 36. gün karaciğer ve böbrek (sağ ve sol) doku ağırlık değerleri (g).

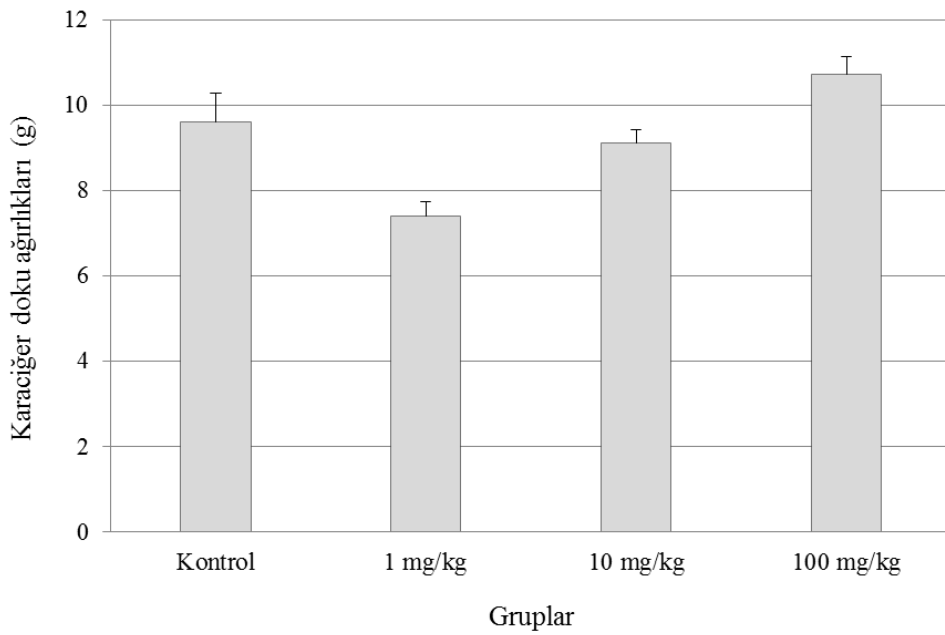
Gruplar	Hayvan sayısı (n)	Doku ağırlığı (g)					
		Karaciğer		Böbrek			
		Min – Maks	$\bar{X} \pm S_x$	Min – Maks	$\bar{X} \pm S_x$	Min – Maks	$\bar{X} \pm S_x$
Grup 1 (Kontrol)	9	7.26–13.55	9.61±0.66 <sup>ab</sup>	0.85–1.25	1.00±0.04 <sup>a</sup>	0.84–1.21	0.94±0.04 <sup>ab</sup>
Grup 2 (1 mg/kg)	10	5.85–09.78	7.39±0.34 <sup>c</sup>	0.62–0.87	0.77±0.02 <sup>c</sup>	0.62–0.85	0.74±0.03 <sup>c</sup>
Grup 3 (10 mg/kg)	10	7.78–11.26	9.12±0.31 <sup>b</sup>	0.72–1.12	0.89±0.04 <sup>b</sup>	0.72–1.07	0.87±0.03 <sup>b</sup>
Grup 4 (100 mg/kg)	9	8.54–12.21	10.71±0.42 <sup>a</sup>	0.90–1.23	1.03±0.03 <sup>a</sup>	0.88–1.22	1.01±0.04 <sup>a</sup>
Önemlilik			***		***		***

Min: Minimum, Maks: Maksimum.

a, b, c: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir.

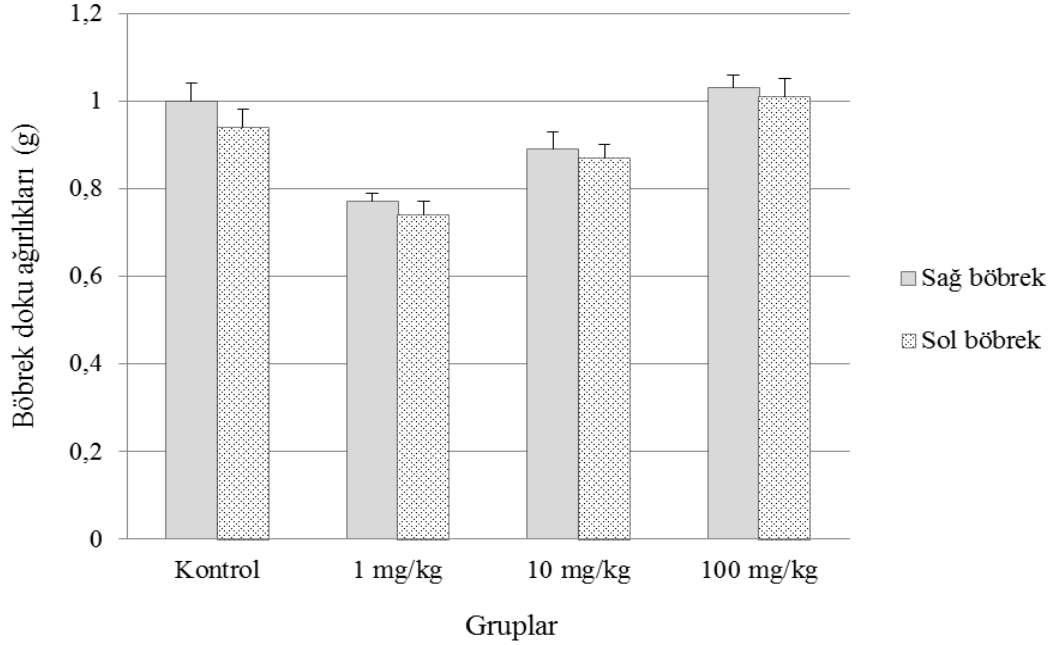
\*\*\*:  $P < 0.001$

Süresi sonunda (36. gün) karaciğer ve sol böbrek doku ağırlıkları bakımından; Grup 2'nin diğer gruplarla, ayrıca 3'üncü ve 4'üncü grup arasındaki farkın anlamlı olduğu ( $P < 0.001$ ) saptandı. Sağ böbrek doku ağırlıkları bakımından ise; kontrol ve 3'üncü grubun diğer gruplarla, ayrıca 2'üncü ve 3'üncü grup arasındaki farkın anlamlı olduğu ( $P < 0.001$ ) tespit edildi.



Şekil 3.2. Gruplarda 36. gün karaciğer doku ağırlık (g) değerlerine ait grafik.

Doku ağırlıkları bakımından bu farklılıkların (kısmen sağ böbrekte kontrol grubu hariç) 36. gün belirlenen canlı ağırlık değerleri ile benzer şekilde olması oluşan gruplar arasındaki farklılıkların canlı ağırlık değişimi ile orantılı olabileceği gözlemlendi.



Şekil 3.3. Gruplarda 36. gün sağ sol böbreğe ait doku ağırlık (g) değerlerine ait grafik.

Gruplarda 0. ve 36. gün kan glikoz değerlerine ait minimum, maksimum, ortalama ve standart hata ( $\bar{X} \pm S_x$ ) değerleri Çizelge 3.3, bu gruplara ait grafik ise Şekil 3.4'de gösterildi.

Çizelge 3.3. Grupların 0. ve 36. gün kan glikoz değerleri (mg/dL).

Gruplar	Hayvan sayısı (n)	Kan glikoz değeri (mg/dL)				Önemlilik
		0. gün		36. gün		
		Min – Maks	$\bar{X} \pm S_x$	Min – Maks	$\bar{X} \pm S_x$	
Grup 1 (Kontrol)	9	124 – 150	134.11±3.64 <sup>a</sup>	95 – 215	153.22±13.01 <sup>a</sup>	Ö.D.
Grup 2 (1 mg/kg)	10	81 – 135	111.00±5.31 <sup>b</sup>	81 – 148	121.40±6.81 <sup>b</sup>	Ö.D.
Grup 3 (10 mg/kg)	10	108 – 130	119.90±2.59 <sup>ab</sup>	103 – 135	122.90±3.07 <sup>b</sup>	Ö.D.
Grup 4 (100 mg/kg)	9	117 – 148	128.44±3.27 <sup>a</sup>	122 – 164	138.11±4.25 <sup>ab</sup>	*
Önemlilik			**		*	

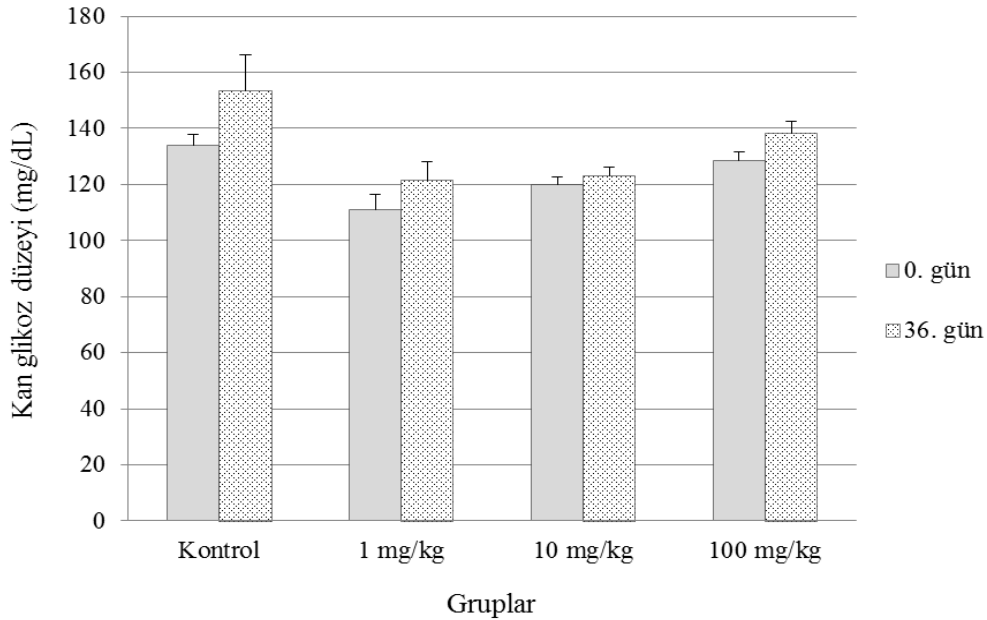
Min: Minimum, Maks: Maksimum.

a, b, c: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir.

\*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$ , Ö.D.: Önemli değil.

Uygulama öncesi (0. gün) kan glikoz değerleri bakımından; 2'inci grubun kontrol ve 4'üncü grup ile aralarındaki farkın önemli ( $P<0.01$ ) olduğu tespit edildi. Çalışma sonunda (36. gün) 0. gün gözlenen 2'inci grup ile 4'üncü grup arasındaki farkın 36. günde ortadan kalktığı ( $P>0.05$ ), fakat kontrol grubu ile 3'üncü grup arasında ise anlamlı fark ( $P<0.05$ ) şekillendiği belirlendi.

Kan glikoz değerleri başlangıçtaki (0. gün) veriler ile karşılaştırıldığında; artışın en az % 2.5 ile Grup 3'de şekillendiği ( $P>0.05$ ) tespit edildi. Kontrol grubu ve Grup 2'de ise sırası ile % 14.25 ve % 9.37 oranında artış olduğu gözlemlendi. Bu artış oranlarının her üç grupta da çıkış değerlerine göre önemli fark ( $P>0.05$ ) göstermediği; ancak, 4'üncü gruptaki artış oranının (% 7.53) çıkış (0. gün) değerlere göre ( $P<0.05$ ) anlamlı olduğu saptandı.



Şekil 3.4. Grupların çalışma öncesi (0. gün) ve sonrası (36. gün) kan glikoz düzeylerine (mg/dL) ait grafik.

Gruplarda 36. gün elde edilen karaciğer ve böbrek doku örneklerinde SOD ( $U/mg$  doku protein) ve CAT ( $k/mg$  doku protein) enzim aktivite ile GSH seviyesi ( $mg/mg$  doku protein) ve MDA konsantrasyonlarına ( $nmol/mg$  doku protein) ait minimum, maksimum, ortalama ve standart hata ( $\bar{X} \pm S_x$ ) değerleri Çizelge 3.4 verildi. Karaciğer ve böbrek dokusundaki bu verilere ait grafikler ise sırası ile Şekil 3.5 ve Şekil 3.6'de gösterildi.

Çizelge 3.4. Gruplarda 36. gün karaciğer ve böbrek doku örneklerinde SOD ve CAT enzim aktivite ile GSH seviyesi ve MDA konsantrasyon değerleri.

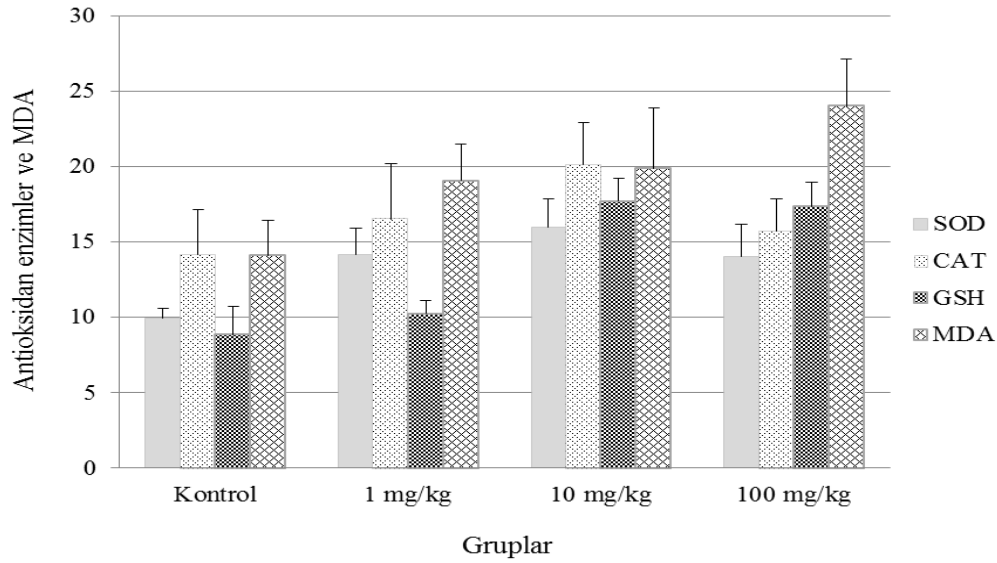
Gruplar	Hayvan Sayısı (n)	Parametreler	Dokular			
			Karaciğer		Böbrek	
			Min – Maks	$\bar{X} \pm S_x$	Min – Maks	$\bar{X} \pm S_x$
Grup 1 (Kontrol)	9	SOD, U/mg doku protein	8.21 – 14.32	9.96 ± 0.62 <sup>Ö.D.</sup>	9.47 – 19.58	15.69 ± 1.10 <sup>Ö.D.</sup>
		CAT, k/mg doku protein	6.00 – 30.70	14.17 ± 2.95 <sup>Ö.D.</sup>	1.79 – 5.90	3.97 ± 0.52 <sup>a</sup>
		GSH, mg/mg doku protein	2.39 – 18.98	8.84 ± 1.89 <sup>b</sup>	2.08 – 19.27	10.46 ± 1.99 <sup>Ö.D.</sup>
		MDA, nmol/mg doku protein	5.79 – 24.86	14.10 ± 2.31 <sup>Ö.D.</sup>	19.13 – 29.46	24.76 ± 1.25 <sup>Ö.D.</sup>
Grup 2 (1 mg/kg)	10	SOD, U/mg doku protein	5.70 – 23.50	14.13 ± 1.76 <sup>Ö.D.</sup>	10.16 – 22.93	16.01 ± 1.30 <sup>Ö.D.</sup>
		CAT, k/mg doku protein	2.79 – 36.03	16.52 ± 3.66 <sup>Ö.D.</sup>	0.54 – 2.50	1.77 ± 0.21 <sup>b</sup>
		GSH, mg/mg doku protein	7.19 – 15.45	10.26 ± 0.86 <sup>b</sup>	4.06 – 17.66	9.97 ± 1.45 <sup>Ö.D.</sup>
		MDA, nmol/mg doku protein	9.78 – 32.90	19.06 ± 2.40 <sup>Ö.D.</sup>	17.23 – 32.20	23.25 ± 1.70 <sup>Ö.D.</sup>
Grup 3 (10 mg/kg)	10	SOD, U/mg doku protein	9.14 – 24.48	15.98 ± 1.85 <sup>Ö.D.</sup>	9.49 – 25.07	17.50 ± 1.60 <sup>Ö.D.</sup>
		CAT, k/mg doku protein	5.18 – 32.96	20.11 ± 2.83 <sup>Ö.D.</sup>	1.01 – 5.15	2.60 ± 0.50 <sup>b</sup>
		GSH, mg/mg doku protein	11.73 – 25.02	17.70 ± 1.53 <sup>a</sup>	4.29 – 18.17	11.24 ± 1.76 <sup>Ö.D.</sup>
		MDA, nmol/mg doku protein	9.46 – 52.66	19.87 ± 4.04 <sup>Ö.D.</sup>	12.44 – 45.25	26.89 ± 3.06 <sup>Ö.D.</sup>
Grup 4 (100 mg/kg)	9	SOD, U/mg doku protein	9.31 – 27.65	14.01 ± 2.14 <sup>Ö.D.</sup>	9.22 – 25.46	16.52 ± 2.10 <sup>Ö.D.</sup>
		CAT, k/mg doku protein	10.28 – 28.49	15.70 ± 2.13 <sup>Ö.D.</sup>	1.25 – 4.45	2.67 ± 0.39 <sup>b</sup>
		GSH, mg/mg doku protein	10.14 – 24.05	17.35 ± 1.62 <sup>a</sup>	4.69 – 15.53	9.33 ± 1.10 <sup>Ö.D.</sup>
		MDA, nmol/mg doku protein	11.71 – 30.10	24.04 ± 3.05 <sup>Ö.D.</sup>	14.87 – 36.58	26.12 ± 2.66 <sup>Ö.D.</sup>
Önemlilik			*** GSH için		** CAT için	

Min: Minimum, Maks: Maksimum.

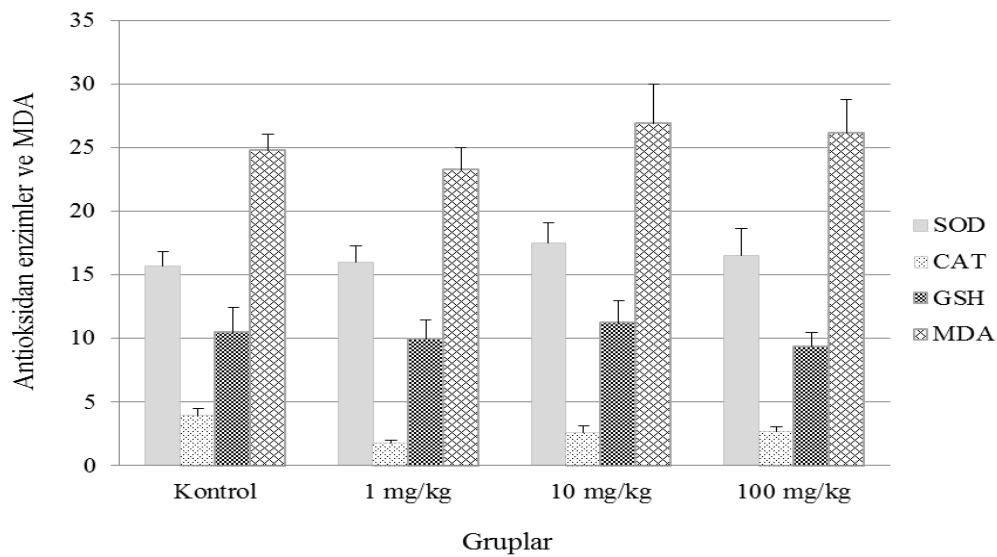
a, b: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir.

\*\* :  $P < 0.01$ , \*\*\* :  $P < 0.001$ , Ö.D.: Önemli değil.

Antioksidan enzimler (SOD ve CAT enzim aktivitesi ile GSH seviyesi) ve MDA konsantrasyonları bakımından; karaciğer dokusunda sadece GSH seviyesi yönünden kontrol ve 2'inci grup arasında, yine 3'üncü ve 4'üncü grup arasında anlamlı fark olmadığı; ancak bu ikili grupların birbirleri ile aralarındaki farkın anlamlı ( $P<0.001$ ) olduğu saptandı. Böbrek dokusunda ise yalnızca CAT enzim aktivitesi bakımından; kontrol grubu ile deneme grupları arasındaki farkın anlamlı ( $P<0.01$ ) olduğu; ancak deneme gruplarının kendi aralarında anlamlı bir fark göstermediği saptandı.



Şekil 3.5. Gruplarda 36. gün karaciğer dokusunda SOD ve CAT enzim aktivitesi ile GSH seviyesi ve MDA konsantrasyon değerlerine ait grafik.



Şekil 3.6. Gruplarda 36. gün böbrek dokusunda SOD ve CAT enzim aktivitesi ile GSH seviyesi ve MDA konsantrasyon değerlerine ait grafik.

## 4. TARTIŞMA

Son yıllarda bazı ilaçların da oksidatif strese neden olduğu düşünülerek bu konudaki çalışmalar yoğunlaştırılmıştır. *In vivo* ve *in vitro* çalışmalarda çeşitli amaçlarla kullanılan ilaç (uyuşturucular, bazı anestezi, antibiyotik ve antiepileptikler ile nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin ve adriamisin gibi antineoplastikler) ve ilaç metabolitleri ile bunlara bağlı ilaç – ilaç etkileşimleri, ters ilaç reaksiyonları, yüksek dozda ilaç kullanımı veya ilaçların direkt toksisitesi yanında bazı toksik maddelerin (pestisid, sigara dumanı, aromatik hidrokarbonlar, radyasyon, fotokimyasal maddeler gibi) etkileri sonucu ortaya çıkabilecek hepatotoksisite, nörotoksisite, genotoksisite, embriyotoksisite, immünotoksisite gibi etkenlerin patogeneğinde artmış ROS'nin neden olduğu oksidatif doku hasarının rol oynadığı ortaya konmuştur (Banerjee ve ark 1999, Kale ve ark 1999, Öncü ve ark 2002, Altuntaş ve ark 2003, Kaya 2005, Tafazoli 2008).

Yapılan bu çalışmada da ülkemizde 2009 yılında kullanıma girmiş DPP-4 enzim inhibitörlerinin ilk temsilcisi olan sitagliptinin sağlıklı ratlarda ağızdan 36 gün boyunca günde 1, 10 ve 100 mg/kg dozlarda uygulanmasını takiben uygulama öncesi (0. gün) ve uygulama sonrası (36. gün) canlı ağırlık (g) ve kan glikoz düzeyleri (mg/dL) üzerine olası etkileri ile karaciğer ve böbrek doku ağırlıklarındaki (g) olası değişikliklerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Sitagliptinin artan dozlarda uygulanması ile bu ilacın biyotransformasyonunda ve atılmasında önemli rol oynayan karaciğer ve böbrek doku örneklerinde oksidatif hasar belirteçlerinden SOD ve CAT enzim aktiviteleri ile GSH seviyesi ve MDA konsantrasyonlarında olası etkilerinin incelenmesi hedeflenmiştir.

Dengeli beslenmeye rağmen meydana gelen kilo kaybının diabet şüphesini artırdığı, bazen tam tersine aşırı kilonun diabete neden olabileceğine dikkat çekilmektedir (Anonim 2010, Abak 2010). Dolayısı ile bazı çalışmalarda kilo artışı ile diabet riski arasında bağlantının önemine vurgu yapılarak (Chan ve ark 1994, Colditz ve ark 1995), diabetli olmayan ve ortalama beden kitle indeksine (body mass index, BMI) sahip kadınlarda  $\geq 5$  kg fazla kilo kaybedenlere göre diabet riskinin  $\sim$  % 50 azaldığı tespit edilmiştir. Aynı doğrultuda da kilo artışı görülenlerin de yüksek risk grubunda olduğu vurgulanmıştır (Colditz ve ark 1995).

DPP-4 enzim inhibitörleri ile aynı grupta yer alan diğer inkretin mimetiklerden farklı olarak kilo kaybı yapmadıkları, kilo kontrolü sağladıkları, diğer oral antidiabetikler gibi artışa da neden olmadıkları ve iyi tolare edilebildikleri belirtilmiştir (Drucker ve Nauck 2006, Karasik ve ark 2008, Abak 2010). Sadece 28 gün sitagliptin verilen (günde 2 kez 200 mg/kg) obez hastalarda kontrol grubuna göre canlı ağırlıkta azalmanın şekillendiği (0.6 kg); ancak, farkın önemli olmadığı ifade edilmiştir (Herman ve ark 2006a). Benzer şekilde 24 hafta sitagliptin uygulamasında (0.1 kg) kontrol grubuna göre (0.2 kg) canlı ağırlık kaybının şekillendiği ve bunun önemli olmadığı rapor edilmiştir (EMEA 2009). Yine 24 hafta süre ile 100 ve 200 mg/kg/gün dozda sitagliptin uygulamasında ağırlık kaybının düşük (sırası ile 0.2 ve 0.1 kg) olduğu, bunun da çıkış değerlerine göre önemli olmadığı; ancak, 1.1 kg azalma gösteren kontrol grubuna göre önemli olduğu tespit edilmiştir (Aschner ve ark 2006). Ferreira ve ark (2010) diabetik ratlara 26 hafta boyunca günde 10 mg/kg dozda sitagliptin uygulamasının bu grup hayvanlarda gözlenen canlı ağırlık kaybını (% 8.7) 6'ncı haftada stabilize ettiğini; ancak, bu düzeyin sağlıklı kontrol grubunda gözlenen ağırlık oranının oldukça altında kaldığını belirtmişlerdir. Aksine Hazman (2011) tarafından deneysel diabetik ratlara 12 hafta boyunca ağızdan 10 mg/kg günde tek doz olarak uygulanan sitagliptinin, kontrol ve diabetik kontrol gruplarına göre canlı ağırlıkta önemli değişiklikler göstermediği rapor edilmiştir.

Diğer klasik antidiabetik ilaçlarla karşılaştırıldığında, 1 yıl boyunca sitagliptin (100 mg/kg/gün) ve sulfonilüre türevi olan glipizid (20 mg/kg/gün) kullanılması sonucunda, sitagliptin grubunda canlı ağırlık kaybının (ortalama 1.5 kg), glipizid grubunda ise ağırlık artışının (ortalama 1.1 kg) şekillendiği ve gruplar arasındaki farkın önemli olduğu vurgulanmıştır (Merck 2010). Benzer şekilde sulfonilüre türevi ilaçların sitagliptin kullananlara göre önemli kilo artışına neden olduğu belirtilmiştir (Nauck ve ark 2007).

Oral antidiabetik ilaçların kombinasyon tedavileri dikkate alındığında; thiazolidinedion (TZD) türevi olan pioglitazon tedavisine ek uygulanan sitagliptin ve metformin ilavesinin vücut ağırlığı değişimini içeren parametreler yönünden karşılaştırması sonucunda, sitagliptin ilavesi ile kilo kaybının gözlenmediği, metformin ilavesi ile kilo kaybının şekillendiği tespit edilmiştir (Derosa ve ark 2009). Biguanid türevi antidiabetiklerden metformin tedavisine sitagliptin ve glipizid ilavesi uygulandığında ise, benzer şekilde sitagliptin ilavesinin önemli kilo kaybına (1.5 kg), glipizid ise kilo artışına (1.1kg) neden olduğu belirtilmiştir (Nauck ve ark 2007). Tip 2 DM tedavisinde kullanılan sulfonilüre ve thiazolidinedion türevi ilaçlarda gözlenen canlı ağırlık artışının DPP-4 enzim



inhibitörlerinin kullanımında şekillenmediği vurgulanmıştır (Ahren 2007, Abak 2010). Biguanid türevi metformin ile birlikte inkretin mimetik ya da DPP-4 enzim inhibitörlerinin kullanılmasında inkretin mimetiklerin düşük ağırlık potansiyellerine karşı DPP-4 enzim inhibitörlerinin ağırlık kazançları açık ve net olmadığı ifade edilmiştir (Nauck ve Smith 2009, Abak 2010). Buna karşın metformin ve sitagliptinin 24 hafta kullanımını takiben başlangıç canlı ağırlık değerlerine göre karşılaştırıldığında metforminde 1.9 kg (1.7 – 2.2), sitagliptinde ise 0.6 kg (0.4 – 0.9) azalmanın şekillendiği ve bu iki grup arasındaki farkın önemli olduğu rapor edilmiştir (Aschner ve ark 2010). Birçok çalışmada da sitagliptinin canlı ağırlık artışında önemli değişikliklerle ilişkisinin bulunmadığı vurgulanmıştır. Dolayısı ile sitagliptinin canlı ağırlık artışına yol açan ve tedavide sınırlayıcı olan diğer tedavi modellerine göre bu yönünün yoksun olması bir avantaj olarak değerlendirilmiştir (Charbonnel ve ark 2006, Drucker ve Nauck 2006, Raz ve ark 2006, Rosenstock ve ark 2006, Goldstein ve ark 2007, Nauck ve ark 2007, Thornberry ve Gallwitz 2009, Abak 2010, Merck 2010).

Çalışmamızda uygulama öncesi (0. gün) canlı ağırlık bakımından (Çizelge 3.1, Şekil 3.1); Grup 2 ve Grup 3'ün hem kendi aralarında hem de bu gruplar (Kontrol ve Grup 4) ile aralarındaki farkın anlamlı ( $P<0.001$ ) olduğu tespit edildi. Çalışma süresi sonunda da (36. gün) başlangıçtaki canlı ağırlık değerlerinin benzer şekilde devam ettiği gözlemlendiğinden başlangıçta tespit edilen gruplar arasındaki farkın önemli olmadığı kanaatine varıldı. Hatta 0. gün gözlenen 3'üncü grup ile kontrol grubu arasındaki farkın 36. günde ortadan kalktığı saptandı. Çalışma sonunda (36. gün) tüm gruplar başlangıçtaki (0. gün) canlı ağırlık değerleri ile karşılaştırıldığında; artışın en az % 10.05 ile Grup 2'de şekillendiği ( $P<0.01$ ), kontrol, Grup 3 ve Grup 4'te ise sırası ile % 10.62, % 13.62 ve % 18.59 oranında ( $P<0.001$ ) olduğu tespit edildi. Her ne kadar 36. günde ilaç uygulama grupları arasında ve doza bağlı önemli ağırlık artışı belirlenmişse de, kontrol grubu ile 10 ve 100 mg/kg doz uygulama grupları arasında önemli fark tespit edilememiştir. Çalışma sonunda kontrol grubu dahil tüm hayvanların normal fizyolojik canlı ağırlık aralıklarına bile ulaşamadıkları (erkek ratlar için 300 – 500 g) (Hanson 2006, Gad 2007, Abak 2010), hayvanlarda belirlenen % 10 – 20 aralığındaki canlı ağırlık artışının fizyolojik gelişim süreci içinde olabileceği dikkate alınarak, diğer çalışmalara benzer şekilde sitagliptinin artan doz uygulamalarına bile önemli derecede canlı ağırlık artışına veya azalmasına neden olmadığı kanaatine varılmıştır.

Farelerde renal toksisiteye bağı gelişen tubüler dejenerasyon ve pelviste dilatasyon eşlik ettiği renal tubüler nekrozisin, beraberinde böbrek ağırlıklarında da artışa neden olabileceği rapor edilmiştir. Erkek ve dişi farelerde ve sıçanlarda  $\geq 500$  mg/kg/gün dozda 14 hafta sitagliptin uygulamalarının karaciğer doku ağırlıklarının artmasına ve hepatoselüler hipertrofi, enflamasyon, dejenerasyon ve nekrozise neden olduğu bildirilmiş; ancak, indüklenmiş karaciğer ve renal toksisitenin mekanizması tam olarak aydınlatılmamıştır (EMEA 2007).

Yapılan birçok çalışmada oluşan /veya deneysel oluşturulan diabet modellerinin sağaltımında kullanılan /veya kullanılacak ilaçların çeşitleri etkileri değerlendirilmiş; ancak, doku ağırlıkları üzerinde pek fazla değerlendirme yapılmamıştır. Bu kapsamda çalışma süresi sonunda (36. gün) karaciğer ve sol böbrek doku ağırlıkları bakımından; kontrol grubu ile 3'üncü ve 4'üncü grup arasında fark ( $P>0.05$ ) olmadığı; ancak, 2'inci grubun diğer gruplarla, benzer şekilde 3'üncü ve 4'üncü grup arasındaki farkın anlamlı olduğu ( $P<0.001$ ) saptandı. Sağ böbrek doku ağırlıkları bakımından ise; kontrol grubu ile 3'üncü arasında fark ( $P>0.05$ ) olmadığı; bu iki grubun diğer gruplarla, benzer şekilde 2'üncü ve 3'üncü grup arasındaki farkın anlamlı olduğu ( $P<0.001$ ) tespit edildi. Doku ağırlıkları bakımından bu farklılıkların (kısmen kontrol grubunda sağ böbrek hariç) 36. gün belirlenen fizyolojik gelişim süreci içindeki canlı ağırlık değer artışları ile benzer şekilde olması, gruplar arasındaki farklılıkların canlı ağırlık değişimine paralel olarak organların gelişime bağı ağırlık kazançları ile orantılı olabileceği, dolayısı ile sitagliptinin artan dozlarda uygulanmasının doku ağırlıklarına etkisinin olmadığı kanaatine varılmıştır.

DPP-4 enzim inhibitörlerin açlık kan glikoz değerleri ve tokluk kan glikozundaki sapmaları azalttığı, sitagliptinin ile tedavi edilen hastalarda kan glikoz düzeyine etkileri bakımından hipoglisemi riskinin klinik olarak oldukça düşük olduğu ve iyi tolere edilebildiği belirtilmiştir (Herman ve ark 2005, Charbonnel ve ark 2006, Herman ve ark 2006, Raz ve ark 2006, Rosenstock ve ark 2006, Ahren 2007, Zerilli ve Pyon 2007, Karasik ve ark 2008, Nauck ve Simith 2009, Thornberry ve Gallwitz 2009, Dhillon 2010, Merck 2010, Abak 2010). Ancak, bu avantajını insülin veya diğer klasik antidiabetik ilaçlardan sulfonilüre türevleri ile kullanıldığında kaybettiği (Hermansen ve ark 2007, Dhillon 2010, Abak 2010) tiazolidinedion türevi ilaçlarda ise korunduğu; bu nedenle kombine ilaç uygulamalarında hipoglisemi riskinin dikkate alınması gerektiği vurgulanmaktadır (Drucker ve Nauck 2006, de Valk 2007, Hermansen ve ark 2007, Abak 2010). Sınırlı sayıda hastada (75 kişi sitagliptin, 50 kişi kontrol) yapılan bir çalışmada ise

sitagliptinin kontrole göre yüksek oranda hipoglisemi riski (sırası ile % 15.5 ve % 7.8) taşıdığı, gruplar arasındaki bu etkinin düşük olmasına rağmen geniş topluluklarda orta derecede önem taşıdığı belirtilmiştir (EMEA 2009, Abak 2010). Sitagliptinin metformin ile birlikte kullanılması durumunda (% 5), glipizid ile kombinasyonuna (% 32) oranla daha düşük hipoglisemi riski taşıdığı belirtilmişse de sitagliptinin sulfonilüre türevleri ya da insülin ile kombine kullanıldığına hipoglisemi riskinin kontrol grubuna göre önemli fark oluşturmadığı ifade edilmiştir (Ahren 2007, Nauck ve ark 2007, Monami ve ark 2009, Abak 2010). Deneysel diabetik ratlara 12 hafta ağızdan 10 mg/kg/gün tek doz uygulanan sitagliptinin, açlık kan şekerini kontrol ve diabetik kontrole göre 4'üncü haftadan sonra etkilediği; açlık kan şekerinin ilaç uygulamasına rağmen diabetik kontrole göre yüksek seyrettiği; 20'inci haftadan sonra önemli oranda düşürdüğü bildirilmiştir (Hazman 2011).

Açlık kan şekerini sitagliptinin (11.5 mg/dL) metformin (19.4 mg/dL) ve glipizid (32.0 mg/dL) kullanımına göre daha zayıf oranda azalttığı belirtilmiştir (Merck 2010, Aschner ve ark 2010). Mono terapi şeklinde kullanılan sitagliptinin (% 1.7) metformine (% 3.3) göre hipoglisemi riskinin de düşük olduğu saptanmıştır (Aschner ve ark 2010). Tip 2 DM'li hastalarda ise açlık ve tokluk kan glikoz düzeyini önemli ölçüde düşürdüğü (Raz ve ark 2006, Argyrakopoulou ve Doupis 2009, EMEA 2009), özellikle ilk 6 hafta içinde kan glikoz değerini istenen düzeylere düşürerek 2.5 yıl boyunca belli bir düzeyde (~ 142 mg/dL) koruduğu, hatta stabil kaldığı ifade edilmiştir (Aschner ve ark 2006, Aschner ve ark 2010). Sitagliptinin 24 hafta, 2 farklı dozda (100 ve 200 mg/kg/gün) kullanılmasında kan glikozunda sırası ile 17.1 ve 21.3 mg/dL düzeyinde, kontrol grubuna göre önemli azalmalar şekillendirdiği, ilk 6 haftadan sonra azalmanın istikrarlı seyrettiği, 12. haftadan sonra ise hafif bir artışın geliştiği saptanmıştır. Bu sırada sitagliptin etkin dozları arasında kan glikoz seviyesi değişimi yönünden fark olmadığı belirtilmiştir. Aynı çalışmada tokluk kan glikoz değerinin 2 saatte içinde kontrole göre (2.2 mg/dL) göre önemli ölçüde azaldığı (sırası ile 48 ve 56.3 mg/dL ) ifade edilmiştir (Aschner ve ark 2006).

Çift inkretin hormonlu (GLP-1 ve GIP) farelerde OGTT sonrası DPP-4 enzim inhibitörlerinin plazma glukoz düzeyini düşürmediği (Hansontia ve ark 2004), tek doz sitagliptinin plazma DPP-4 enzim aktivitesini inhibe ederek, GLP-1 düzeyini doza bağlı olarak anlamlı bir şekilde düşürdüğü (Herman ve ark 2005), dolayısı ile GLP-1 ve GIP'nin DPP-4 enzim inhibitörlerinin şeker düzenlemedeki etkilerinde önemli mediatörler olabileceği ifade edilmektedir (Gautier ve ark 2005, Aschner ve ark 2006, Herman ve ark 2006).

DPP-4 enzim inhibitörlerinden biri olan *sitagliptin* ile uzun süreli tedavi alan Tip-2 DM hastalarında açlık ve tokluk kan şekeri ile HbA1c düzeyi düşerken, beden ağırlıkları, hipoglisemi görülme sıklığının plaseboya göre oldukça düşük olduğu (Ahren ve ark 2004a, Ahren ve ark 2004b), benzer şekilde normal kan glukoz konsantrasyonuna sahip sağlıklı erkeklerde 600 mg'a kadar çıkan (tavsiye edilen günlük dozun 6 katı) tek doz sitagliptin uygulamalarında (Herman ve ark 2005), yine Tip-2 DM'li hastalara 3 ay tek doz, orta yaş obez olgularda ise 200 mg sitagliptin uygulamalarının klinik değerlendirilmesinde plaseboya göre hipoglisemi insidansını yükseltmeden iyi tolare edilebildiği rapor edilmiştir. Orta yaş obez olguların ~ 1 ay sonunda vücut ağırlıklarında ilk güne göre kıyasla 0,6 kg, plasebo grubunda ise 0,2 kg düzeyinde bir düşüşün şekillendiği belirtilmiştir (Herman ve ark 2006a).

Sitagliptinin yine DPP-4 enzim inhibitörü olan vildagliptin ile yapılan bir çalışmada, hipoglisemi oluşturma sıklıklarının plasebodan farklı olmadığı, sülfonilüreler ve insülin ile kombine edildiklerinde de bu etkinin değişmediği tespit edilmiştir. Sitagliptin, GLP-1 peptidini inaktive eden DPP-4 enzimini inhibe ederek GLP-1 düzeylerinin normal düzeylerde kalmasını sağladığı ve glukoz seviyelerini düşürdüğü, DPP-4 enzim inhibitörlerinin hipoglisemik risk bakımından sülfonilürelere göre düşük risk faktörü olduğu, tiazolidindionlar ile arasında farkın bulunmadığı belirtilmiştir (Monami ve ark 2009, Hazman 2011).

Çalışmada uygulama öncesi (0. gün) kan glikoz değerleri bakımından (Çizelge 3.2, Şekil 3.2); 2'inci grubun kontrol ve 4'üncü grup ile aralarındaki farkın anlamlı ( $P<0.01$ ) olduğu tespit edildi. Çalışma süresi sonunda (36. gün) tüm gruplar başlangıçtaki (0. gün) kan glikoz değerleri ile karşılaştırıldığında; artışın en az % 2.5 ile Grup 3'de şekillendiği, kontrol grubu ve Grup 2'de ise sırası ile % 14.25 ve % 9.37 oranında artış olduğu tespit edildi. Bu artış oranlarının her üç grupta da çıkış değerlerine göre önemli fark ( $P>0.05$ ) göstermediği tespit edildi. Ancak, 4'üncü gruptaki artış oranının % 7.53 oranında olmasına rağmen diğer gruplardan farklı olarak ilaç uygulama öncesi (0. gün) değerlere göre farkın ( $P<0.05$ ) anlamlı olduğu belirlendi. Çalışmada 36. günde, uygulama öncesine göre her ne kadar kan glikoz düzeylerinde artışlar (% 2.5 – 14.25 aralığında) gözlenmiş olsa da, bu değerlerin fizyolojik kan glikoz aralığında (80 – 150 mg/dL) kaldığı, özellikle ratlardaki canlı ağırlık artışıda dikkate alındığında ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, sitagliptinin etkin ve yüksek uygulama dozlarında bile doza bağlı olarak kan glikoz düzeyinde önemli derecede artış veya azalmaya neden olmadığı, dolayısı ile hipoglisemi

riskinin oldukça düşük olduğu kanatine varılmıştır. Bu etki DPP-4 enzim inhibitörlerinin glikoz düzenleyici etkilerinde inkretinlerin (GLP-1 ve GIP) majör mediatörler olması şeklinde açıklanabileceği gibi, inkretinlerin glukagon salınımını azaltan (GLP-1 ile) ve insülini artıran (GLP-1 ve GIP ile) glikoza bağımlı birçok karmaşık mekanizma aracılığıyla kan glikozunu düşürmesi şeklinde de açıklanabilir (Herman ve ark 2006a). Ayrıca ağırlık artışına paralel kilo alımının kan glikoz seviyesini yükseltebileceği, ileri düzeylerde ise aşırı canlı ağırlık artışının Tip 2 DM için risk faktörü olabileceği göz ardı edilmemelidir (Chan ve ark 1994, Colditz ve ark 1995, Anonim d 2010).

Artmış serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun birçok hastalığın patogeneğinde rol aldığını göstermektedir. Yapılan birçok çalışmada oluşan /veya deneysel oluşturulan hastalıkların sağaltımında kullanılan /veya kullanılabilecek ilaçların oksidatif stres parametreleri /veya metabolizması üzerine olası etkileri değerlendirilmiş, fakat bu ilaçların kendi /veya metabolitlerinden ya da bunlara bağlı ilaç – ilaç etkileşimleri, ters ilaç reaksiyonları, yüksek dozda ilaç kullanımı veya ilaçların direkt toksisitesi kaynaklanabilecek ROS'ne olan etkileri ve bunların oksidatif doku hasarına olan sonuçları pek değerlendirilmemiş olarak karşımıza çıktığından, çalışmamızda sağlıklı ratlarda sitagliptinin artan dozlarda uygulanması ile bu ilacın biyotransformasyonunda ve atılmasında önemli rol oynayan karaciğer ve böbrek doku örneklerinde oksidatif hasar belirteçlerinden SOD ve CAT enzim aktiviteleri ile GSH seviyesi ve MDA konsantrasyonlarında olası etkileri incelenerek, oksidatif strese olan olası etkilerinin yeni araştırmalara ışık tutması hedeflenmiştir.

Diyabet sağaltımında kullanılan oral antidiyabetik ilaçların glisemik kontrolü sağlamalarının yanında her birinin kendine özgü mekanizmalarla çeşitli dokularda (karaciğer ve pankreas gibi) istenmeyen etki oluşturabildikleri gibi farklı doku ve organlarda diabet komplikasyonlarına karşı koruyucu etkinlikte gösterebilecekleri ifade edilmiştir (Akkan 2009, Hazman 2011). Sitagliptinin yeni kullanım alanı bulması ve çeşitli klinik etkilerine ait çalışmalarda oldukça sınırlı olduğundan, bu bölümde ilacın şu ana kadar oksidatif strese olan olası etkilerine ait çalışmalar yanında diğer oral antidiyabetik ilaçlarında etkileri irdelenmiştir.

Farelerde alloksan veya streptozotosin ile oluşturulan deneysel diabet modellerinde eksojen SOD ve CAT enzimi ile hidroksil radikal süpürücülerinin verilmesi ile pankreatik  $\beta$  hücrelerinin oksidatif doku hasarına karşı korucuyu etkinliğin sağlandığı vurgulanmıştır

(Kaji ve ark 1985). Diyabet ve oksidatif stres arasındaki ilişkiyi araştıran Whiting ve ark (2008), HbA1c düzeyleri arttıkça oksidan madde düzeyini göstermede kullanılan TBARS seviyelerinin de arttığını, total antioksidan (TAS) düzeyleri ve antioksidanlardan vitamin E ile GSH-Px enzim seviyelerinin düştüğünü ifade etmektedirler. Kardiyovasküler komplikasyonların geliştiği tip 2 diabet hastalarında antioksidan parametrelerin incelendiği başka bir çalışmada hastaların glikoz düzeylerinin artış ile SOD, GSH-Px enzim seviyeleri ile TAS seviyelerindeki artış arasında negatif bir korelasyon olduğu ifade edilmektedir (Colak ve ark 2005). Benzer çalışmalarda da Tip 2 diabet hastalarında antioksidan parametrelerin (SOD, CAT ve GSH-Px enzim seviyeleri ile TAS gibi) kontrol grubuna göre düşüş gösterdiği, oksidan parametrelerinin (MDA ve total oksidan (TOS) gibi) ise yükseldiği rapor edilmektedir (Vantoghem ve ark 2000, Dordevic ve ark 2008, Maharjan ve ark 2008). Bununla birlikte tam aksine deneysel diabetik rat modelinde kontrol grubuna göre MDA, NO gibi oksidan maddelerle birlikte SOD, CAT, ve GSH-Px enzim düzeylerinin yükseldiği, GSH seviyelerinin ise düştüğünü bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (Çelik ve Erdoğan 2008, Ferreira ve ark 2010, Hazman 2011). Benzer şekilde Delibaş ve ark (2003) normal ve Tip 2 diabetik hastalarda 8 hafta yürüttükleri bir çalışmada, diabet grubunda beklenen lipid peroksidasyona bağlı MDA düzeyinin arttığını; ancak kontrole göre SOD ve GSH-Px enzim aktivitesi düşmezken, CAT aktivitesinde gözlenen artışın, artan peroksitlerin temizlenmesine yönelik hücrel bir cevaptan söz edilebileceğini, artan MDA düzeylerinde ise CAT enzim aktivitesinin tek başına yetersiz kaldığını ifade etmişlerdir.

Diabetik hastalara 3 ay boyunca antidiyabetik ilaç (tek başına sülfonilüre ve sülfonilüre – biguanidin – akarboz kombinasyonu) uygulaması sonrası, açlık kan şekerleri arasında fark oluşmadığı, CAT enzim aktivitesinin (eritrositlerde) kontrol değerlerinin altına düştüğü, Cu,Zn-SOD enzim aktivitesi (eritrositlerde) ile TBARS (eritrosit ve plazmada) ve  $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$  (plazmada) seviyelerinde artışların gözlemlendiği rapor edilmiştir. CAT enzim aktivitesinde gözlenen azalmanın nedeni tam olarak açıklanamamakla birlikte, bunun oral antidiyabetik ilaçların etkisi ile oluşan düşük kan glikoz seviyesine ve/veya güçlü süperoksit radikal süpürücülerin aktivitesine bağlı olabileceği belirtilmiştir. Yükselen Cu,Zn-SOD enzim aktivitesi ise artmış süperoksit radikali, lipid peroksidasyona bağlı yüksek TBARS seviyesi veya Cu,Zn-SOD ile metabolize olmayan diğer radikaller sebebiyle olabileceği ifade edilmiştir. (Kaji ve ark 1985, Jennings ve ark 1992, Aydın ve ark 2001).

Gliklazid ve insülin alan iki farklı diabetik hasta grubunda yapılan bir çalışmada, gliklazid teavisinin GSH-Px enzim aktivitesinde, insülin tedavisinin ise SOD ve GSH-Px enzim aktivitesinde önemli artışlar şekillendirdiği, CAT enzim aktivitesinin ise her iki hasta grubunda da insülin grubunda anlamlı olmakla birlikte bir miktar düşüşlerin gözleendiği; ancak bunların kontrol grubuna göre yüksek kaldığı rapor edilmiştir (Delibaş ve ark 2003). Aynı araştırmacılar, insülinün daha yüksek olmakla birlikte gliklazidin de antioksidan etkilerinin olduğu; ancak, hem insülin hem de gliklazid tedavisinin lipid peroksidasyonunu benzer düzeyde azalttığı vurgulamışlardır. Oral antidiabetik olarak kullanılan ve bir sülfonilüre grubu olan gliklazidin eritrositlerde SOD enzim aktivitesini artırarak, plazma lipid peroksit seviyelerini ise düşürerek oksidatif stresi azalttığı (Jennings ve Belch 2001), gliburidin kalp dokusunda SOD enzim aktivitesini azalttığı, CAT ve GSH-Px enzim aktivitesini ise artırdığı (Bukan ve ark 2004), glibenklamidin ise karaciğer dokusunda benzer şekilde SOD ve CAT enzim aktivitesini direkt olarak artırdığı; ancak, böbrek dokusunda ise değiştirmedii ifade edilmiştir (Elmalı ve ark 2004).

Pavloviç ve ark (2000) oral antidiabetik ilaçlardan biguanid grubunda yer alan metforminin oksidatif stresi artırdığını belirtirken, Bonnefont-Rousselot ve ark (2003) glikoz ve proteinlerin amino grupları arasında gelişen enzimatik olmayan ileri glikasyon son ürünlerinin (AGE) ve aşırı serbest radikal üretim düzeylerininin direkt düşmesine bağlı olarak antioksidan etkinlik gözlenebildiği belirtilmişlerdir. Yine aynı araştırmacılar lökosit hücrelerinin uyarılmasına bağlı artırılan serbest radikallere karşı kullanılan metforminin, doğrudan serbest oksijen radikallerine karşı süpürücü etki yaptığı, dolaylı yoldan ise intrasellüler süperoksit ( $O_2^{\cdot -}$ ) radikali kaynaklarından *NADPH oksidaz* enzim aktivitesini düzenleyerek  $O_2^{\cdot -}$  radikal oluşumunu azalttığı ve oksidatif stresi önleyebildiğini ifade edilmişlerdir (Bonnefont-Rousselot ve ark 2003). Benzer şekilde Srividhya ve ark (2002) metforminin lipid peroksit seviyelerini etkileyerek, lipid peroksidasyon ve antioksidan sistem arasındaki dengeyi olumlu yönde etkilediği tespit edilmiştir. Kardio-vasküler hastalık riskini artıran polikistik over sendromlu hastalarda artmış ROS'nin paraoksonaz – 1 (PON 1) enzim aktivitesini azaltırken, MDA düzeylerini yükselttiği, metforminin ise bu etkileri tersine çevirerek ateroskleroza neden olan lipid peroksidasyonu azalttığı ve oksidatif stresi önleyebildiği tespit edilmiştir (Koçer ve ark 2008). Aksine Yılmaz ve ark (2005) ise benzer hasta grubunda metforminin sağaltımının MDA düzeylerinde anlamlı etkilere yol açmadığını belirtmişlerdir.

Diabetli hastalarda metformin ve rosiglitazon, vücut ağırlığı ve vücut kitle indeksinde düşüşe neden olduğu, metformin bel çevresinde, rosiglitazon ise kalça çevresinde yoğun azalmalar yaptığı belirtilmiştir. Sülfidril grubu taşıyan antioksidan düzeylerinde (GSH, albümin, sistein gibi) artııcı etkinliğin rosiglitazon ile daha fazla gözlemlendiği ve yine rosiglitazonun, metformine kıyasla oksidatif stres parametrelerinden serum MDA düzeylerini daha fazla oranda düşürmesine rağmen bunların anlamlı olmadığı rapor edilmiştir. Bu da hasta sayısının düşük olmasına ve rosiglitazonun antioksidan enzim düzeyinde daha fazla artış yapmasına bağlanmıştır (Kilit 2007).

Günümüzde karaciğer toksisitesinden dolayı klinik kullanımdan kaldırılmış olmasına rağmen (Akkan 2009) oral antidiabetik ilaç olarak kullanılmış thiazolidinedion (TZD) grubu ilaçların da (rosiglitazon, pioglitazon gibi) diabet hastalarında HbA1c düzeyindeki azalmalara eş zamanlı olarak, diabete bağlı aşırı serbest radikal oluşumunu da inhibe ettiği ve oksidatif stresi önleyebildiği, buna bağlı diabetik komplikasyonların önüne geçilebildiği belirtilmektedir (Daros ve ark 2004). Deneysel diabetik farelerde TZD grubu antidiabetiklerden pioglitazonun  $\beta$ -hücrelerinde *hem oksijenaz-1* (HO-1) enziminin ve 4-hidroksi-2-nonenal (HNE) gibi lipid belirteçlerinde azalma olduğu ve  $\beta$ -hücrelerinin mevcut durumunun korunabildiği tespit edilmiştir (Ishida ve ark 2004). Ayrıca pioglitazonun ROS'nin üretimini insülin gibi hormonlarını düşük konsantrasyonlarda barındıran MIN6 hücre kültürü çalışmalarında % 24 oranında, farelerde pankreastan izole edilen adacık hücrelerinde ise % 53 oranında azalttığı, dolayısı ile ilacın  $\beta$ -hücrelerini apoptoza karşı koruduğu tespit edilmiştir (Saitoh ve ark 2008).

Vaghasiya ve ark (2010) sitagliptin ile endojen GLP-1 etkisinin potansiyalize edildiği ve iskemik reperfüzyon renal (R-I/R) hasarı sırasında artan ROS ve NO'in hücre bozulmasına aracılık ettiği dikkate alınarak oluşturulan farklı gruplardan, diabet – R-I/R ile diabet – R-I/R – sitagliptin (5 mg/kg dozda günde 1 kez, 14 gün) uygulama grupları karşılaştırıldığında; R-I/R ile renal dokuda nitrik oksit (NO) seviyesi, ksantin oksidaz (XO) ve myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ile lipid peroksidasyonun (MDA) arttığı, SOD, CAT ve GSH-Px enzim aktivitesi ile GSH seviyesinde azalmaların gözlemlendiğini tespit edilmiştir. Buna göre hipergliseminin ikincil etkilerinden olan NO oluşumu, yükselen oksidatif stres ve inflamasyo cevabın (tümör nekrozis faktör, TNF- $\alpha$ ) R-I/R ile oluşan böbrek hasarının sebepleri olabileceği ve sitagliptin tedavisi ile R-I/R sonrası böbrek dokusunda lipid peroksidasyonunun düştüğü, antioksidan enzim seviyelerinin artışına bağlı olarak böbrek komplikasyonlarından korunulabileceği rapor edilmiştir.



Ferreira ve ark (2010) Zucker diabetik yağ (ZDF) ratlarına ağızdan 10 mg/kg günde tek doz olarak 6 hafta boyunca verilen sitagliptinin kontrol ZDF ratları ile karşılaştırıldığında, serum lipid peroksidasyonunu (MDA düzeyini) değiştirmediği, TAS seviyesini ise önemli oranda azalttığını belirtilmişlerdir. Pankreas ve kalp dokusunda ise serumdakinin aksine MDA konsantrasyonlarında önemli azalmaların gözlemlendiğini ifade etmişlerdir. Sitagliptinin dokularda ise değişmeyen MDA konsantrasyonun artmış serum TAS düzeyini düşürerek telafi edilebildiği vurgulanmıştır. Dolaysı ile sitagliptinin pankreas ve kalp dokusunda lipid peroksidasyonunu olumlu etki gösterdiği, bununda ilacın endokrin dokuda histopatolojik lezyonların ve pankreasta ekzokrin yangı mediatörlerinin şiddetini azaltığı, insülin direncine,  $\beta$ -hücre sayısında azalma ve mikro- ve makro-vasküler komplikasyonlara bağlı anahtar görevi gören patofizyolojik mekanizmalara açıklanabileceği rapor edilmiştir.

Deneysel diabet oluşturulan ratlarda sitagliptinin (ağızdan 10 mg/kg günde tek doz olarak) oksidan – antioksidan dengeye etkisini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, diabetik kontrole göre plazmalarında oksidatif stresi (TAS ve TOS düzeyinde) etkilemediği, pankreas dokusunda ise TAS seviyelerini düşürerek, TOS seviyesini değiştirmeksizin oksidatif stresi artırdığı tespit edilmiştir (Hazman 2011). Aynı araştırmada karaciğer dokusunda, sitagliptinin nükleer faktör kapa-B (NFkB) ve indüklenbilir nitrik oksit sentaz (iNOS) gen ekspresyonlarını uyararak antioksidan enzimlerin (SOD, CAT ve GSH-Px) mRNA ekspresyonlarını baskıladığı, böylelikle oksidatif stresi diabetik rat karaciğerinde artırdığı belirtilmiştir. Pankreas TAS düzeylerinin düşmesinin nedeni, glikoz seviyelerinin azalmasına bağlı olarak gelişen lipotoksisite ve glikotoksisitenin azalmasının gösterilebileceği ifade edilmektedir. Bununla birlikte sitagliptinin pankreas dokularında TAS düzeylerini düşürürken, TOS düzeylerine etki etmemesi de oksidan – antioksidan dengeye katkısının oksidanlar lehine olduğu, yani oksidatif stresi artırdığı şeklinde ortaya konmaktadır. Sitagliptin, inflamatuvar stokinlerden TNF- $\alpha$  aracılığıyla hücre içi oksidatif stresi tetikleyerek, NFkB’yi aktive ederek çekirdeğe translokasyonunu ve DNA zincirinin ilgili bağlanarak iNOS’un gen aktivasyonu gerçekleştirdiği vurgulanmaktadır. Aktivasyonu gerçekleşen iNOS etkisiyle uzun süreli ve yüksek seviyelerde NO üretilmekte, bununda etkisiyle oluşan daha toksik radikaller ve bu radikallerinde karaciğer antioksidan enzimleri (SOD, CAT ve GSH-Px) inhibe etmesi sonucunda, oksidatif stresi artırdığı rapor edilmektedir. Sonuçta sitagliptinin antioksidan sistemi desteklemeyen antidiabetik bir ilaç profili ortaya koyduğu vurgulamaktadırlar.

Çalışmamızda antioksidan enzimler (SOD ve CAT enzim aktivitesi ile GSH seviyesi) ve MDA konsantrasyonları bakımından; karaciğer dokusunda sadece GSH seviyesinin kontrol ve 2'inci grup arasında, yine 3'üncü ve 4'üncü grup arasında fark ( $P>0.05$ ) olmadığı; bu ikili grupların ise birbirleri ile aralarındaki farkın anlamlı ( $P<0.001$ ) olduğu saptandı. Böbrek dokusunda ise yalnızca CAT enzim aktivitesi bakımından; kontrol grubu ile deneme grupları arasındaki farkın anlamlı ( $P<0.01$ ) olduğu saptandı. Genel olarak üç farklı dozda sitagliptin uygulamalarının; karaciğerde artan MDA konsantrasyonunu ve antioksidan enzim aktivitelerine rağmen, karaciğer ve böbrek dokusunda lipid peroksidasyonuna (MDA düzeyinde) neden olmadığı; karaciğer dokusunda 10 ve 100 mg/kg/gün sitagliptin uygulamalarının GSH seviyesi yönünden kontrol grubuna göre önemli artışlar şekillendirdiği; böbrek dokusunda ise her üç uygulama dozunun da CAT enzim aktivitesi bakımından kontrol grubuna göre önemli düşümlere neden olduğu tespit edilmiştir. Bu etkilerin ilacın dokularda farklı mekanizmaları etkileyerek uyumlu değişikliklere neden olamayabileceği, NFkB ve iNOS gen ekspresyonlarını uyararak antioksidan enzimlerin (SOD, CAT ve GSH-Px) mRNA ekspresyonlarını baskılayabildiği, böylelikle oksidatif stresi karaciğerde artırdığı (Hazman 2011) ya da artırabileceği dikkate alındığında bizim çalışmamızda bunun şiddetli olmadığı; ancak, ilgili mekanizma ile bağlantılı olabileceği kanısına varıldı. Sitagliptinin, normal kan şekerinde anormal dalgalanmalara yol açmadığından (düşük glikotoksitenin riski) karaciğer ve böbrek dokusunda lipid peroksidasyonunu etkilemediği için böbrekte azda olsa oksidan – antioksidan dengeye katkısının antioksidanlar lehine olduğu, yani oluşabilecek oksidatif strese karşı kısmen de olsa katkı sağlayabileceği tespit edilmiştir.

Birçok çalışmada, deney ve hasta koşulları, yaş, ağırlık, diabet hastalığının süresi, uygulanan diyet gibi farklılıklar dikkate alındığında oksidatif stres parametrelerinde tam bir uyumun şekillenmediği gözlenmektedir. Dolayısı ile sitagliptinin oksidan – antioksidan dengeye olan etkilerinin tam olarak belirlenmesinde sadece kalp ve böbrek dokularından elde edilecek verilerin yeterli olamayabileceği, ilaç metabolizması ile ilgili farklı dokularda da değerlendirmelerin yapılması gerektiği dikkate alındığında; farklı deneme modelleri oluşturulmuş hayvanlarda daha geniş parametreleri içine alan, farklı süre ve dozlarda sitagliptinin kullanımını içeren kapsamlı çalışmaların yapılması, ilacın oksidatif stres mekanizmasına olan etkisinin aydınlatılmasına daha fazla katkı sağlayacağı kanısına varılmıştır.

## 5. SONUÇ

*In vivo* ve *in vitro* çalışmalarda çeşitli amaçlarla kullanılan ilaç (antiepileptikler ile nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin ve adriamisin gibi antineoplastikler) ve ilaç metabolitleri ile bunlara bağlı ilaç – ilaç etkileşimleri, ters ilaç reaksiyonları, yüksek dozda ilaç kullanımı veya ilaçların direkt toksisitesi yanında bazı toksik maddelerin (pestisid, sigara dumanı, aromatik hidrokarbonlar, radyasyon, fotokimyasal maddeler gibi) etkileri sonucu ortaya çıkabilecek hepatotoksisite, nörotoksisite, genotoksisite, embriyotoksisite, immünotoksisite gibi etkenlerin patogenezinde artmış ROS'nin neden olduğu oksidatif doku hasarının rol oynadığı ortaya konmuştur.

İnsülin salıverilmesinin düzenlenmesinde rol oynadığı belirtilen “*inkretinler*”; insülin salgılatıcı olan GLP-1 ve GİP, çok kısa etkili barsak hormonları olup yarılanma ömürleri birkaç dakikadır. İnkretin analogu/veya agonisti olan uzun ömürlü ilaçlar ya da DPP-4 enzimini inhibe ederek inkretinlerin inaktivasyonunu yavaşlatan DPP-4 enzim inhibitörleri ilaç olarak geliştirilmiştir.

Bu çalışmada, ülkemizde 2009 yılında kullanıma girmiş DPP-4 enzim inhibitörlerinin ilk temsilcisi olan sitagliptinin sağlıklı ratlarda ağızdan 36 gün boyunca günde 1, 10 ve 100 mg/kg dozlarda uygulanmasını takiben uygulama öncesi ve uygulama sonrası canlı ağırlık ve kan glikoz düzeyleri üzerine olası etkileri ile karaciğer ve böbrek doku ağırlıklarındaki olası değişikliklerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Sitagliptinin artan dozlarda uygulanması ile ilacın biyotransformasyonunda ve atılmasında önemli rol oynayan karaciğer ve böbrek doku örneklerinde oksidatif hasar belirteçlerinden SOD ve CAT enzim aktiviteleri ile GSH seviyesi ve MDA konsantrasyonlarında olası etkilerinin incelenmesi hedeflenmiştir.

Uygulama sonunda (36. günde) sitagliptin verilen gruplar arasında ve doza bağlı önemli canlı ağırlık artışı belirlenmişse de, kontrol grubu ile 10 ve 100 mg/kg sitagliptin verilen gruplar arasında önemli fark tespit edilememiş, hayvanların normal fizyolojik canlı ağırlık aralıklarına bile ulaşamadıkları (erkek ratlar için 300 – 500 g) saptanmıştır. Kontrol grubunda da ratların normal fizyolojik canlı ağırlık düzeyine erişemediği ve tüm hayvanların ağırlığındaki % 10 – 20 arasındaki artışının fizyolojik gelişim süreci içinde

olabileceği dikkate alınarak, sitagliptinin artan doz uygulamalarına bile önemli derecede canlı ağırlık artışı veya azalmasına neden olmadığı tespit edilmiştir.

Karaciğer ve böbrek doku ağırlıkları bakımından; farklılıkların (kısmen kontrol grubunda sağ böbrek hariç) 36. gün belirlenen fizyolojik gelişim süreci içindeki canlı ağırlık değer artışları ile benzer şekilde olması, gruplar arasındaki farklılıkların canlı ağırlık değişimine paralel olarak organların gelişime bağlı ağırlık kazançları ile orantılı olabileceği, dolayısı ile sitagliptinin artan dozlarda uygulanmasının doku ağırlıklarına etkisinin olmadığı kanaatine varılmıştır.

Kan glikoz düzeylerinde sitagliptin uygulama öncesi göre artışlar (% 2.5 – 14.25) gözlenmiş olsada, bu değerlerin fizyolojik kan glikoz aralığında (80 – 150 mg/dL) kaldığı, özellikle ratlardaki canlı ağırlık artışı da dikkate alındığında ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, etkin ve yüksek uygulama dozlarında bile sitagliptinin doza bağlı olarak kan glikoz düzeyinde önemli derecede artış veya azalmaya neden olmadığı, dolayısı ile hipoglisemi riskinin oldukça düşük olduğu gözlenmiştir.

Farklı dozlarda sitagliptinin uygulamalarının; karaciğerde artan MDA konsantrasyonunu ve antioksidan enzim aktivitelerine rağmen, karaciğer ve böbrek dokusunda lipid peroksidasyonuna (MDA düzeyinde) neden olmadığı; karaciğer dokusunda günde 10 ve 100 mg/kg tez doz sitagliptin uygulamalarının GSH seviyesi yönünden kontrol grubuna göre önemli artışlar şekillendirdiği; böbrek dokusunda ise her üç sitagliptin uygulama dozunun da CAT enzim aktivitesi bakımından kontrol grubuna göre önemli düşüslere neden olduğu tespit edilmiştir.

Sitagliptinin oksidan – antioksidan dengeye olan etkilerinin tam olarak belirlenmesinde sadece kalp ve böbrek dokularından elde edilecek verilerin yeterli olmayabileceği, farklı deneme modelleri oluşturulmuş hayvanlarda daha geniş parametreleri içine alan, farklı süre ve dozlarda sitagliptinin kullanımını içeren kapsamlı çalışmaların yapılmasının, ilacın oksidatif stres mekanizmasına olan etkisinin aydınlatılmasına daha fazla katkı sağlayacağı kanısına varılmıştır.

## ÖZET

### Sitagliptin'in rat karaciğer ve böbrek dokusunda oksidatif stres metabolizması üzerine etkisi

Çalışmada dipeptil peptidaz - 4 (DPP-4) enzim inhibitörünün ilk temsilcisi olan sitagliptinin sağlıklı ratlara artan dozlarda uygulanmasını takiben canlı ağırlık (g) ve kan glikoz düzeyleri (mg/dL) ile karaciğer ve böbrek doku ağırlıkları (g) üzerine olası etkileri ile sitagliptinin biyotransformasyonunda ve atılmasında önemli rol oynayan karaciğer ve böbrek doku örneklerinde oksidatif hasar belirteçlerinden süperoksit dismutaz (SOD, U/mg doku protein) ve katalaz (CAT, k/mg doku protein) enzim aktiviteleri ile glutasyon (GSH, mg/mg doku protein) seviyesi ve malondialdehid (MDA, nmol/mg doku protein) konsantrasyonlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla ortalama  $229,26 \pm 28,92$  g canlı ağırlığında 2 – 3 aylık toplam 40 adet erkek *Wistar-Albino* rat kullanıldı. Ratlar doğal gün ışığından yararlanmaları sağlanarak  $22^{\circ}\text{C} (\pm 2)$  tutuldu ve standart rat yemi ile içme suyu *ad libitum* olarak verildi. Ratlar her grupta 10 adet olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. *Grup 1*; kontrol olup sadece 1 mL serum fizyolojik (%0,9), *Grup 2*; 1 mg/kg dozda, *Grup 3*; 10 mg/kg dozda ve *Grup 4*; 100 mg/kg dozda sitagliptinin aktif şekli olan sitagliptin fosfat monohidrat, ağızdan 1 mL serum fizyolojik ile birlikte 36 gün boyunca uygulandı. Çalışma sonunda elde edilen değerlerin ortalama  $\pm$  standart hataları verildi. Gruplar arasındaki farklılıklar SPSS 11.5 paket programında *One-Way ANOVA* varyans analizinde Duncan testi ve *t*-testi kullanılarak değerlendirildi.  $P < 0.05$  altındaki değerler anlamlı kabul edildi.

Canlı ağırlıkları değerleri bakımından; uygulama öncesi (0. gün) gruplar arasındaki farklılıkların 36. günde benzer şekilde devam ettiği, hatta 3'üncü grup ile kontrol grubu arasındaki farkın ortadan kalktığı belirlendi. Canlı ağırlık artışının %10 – 20 aralığında ve en az % 10.05 ile Grup 2'de, kontrol, Grup 3 ve Grup 4'te ise sırası ile % 10.62, % 13.62 – 18.59 oranında olduğu tespit edildi.

Karaciğer ve sol böbrek doku ağırlıkları bakımından; 2'inci grubun diğer gruplarla, 3'üncü ve 4'üncü grupların kendi aralarındaki farkın anlamlı olduğu saptandı. Sağ böbrek

doku ağırlıkları bakımından ise; kontrol grubu ile 3'üncü grubun diğer gruplarla, benzer şekilde 2'üncü ve 3'üncü grup arasındaki farkın anlamlı olduğu tespit edildi.

Kan glikoz değerlerinin, 36. gün sitagliptin uygulama gruplarının kendi arasında ve kontrol grubu ile 4'üncü grup arasında fark olmadığı saptandı. Kan glikoz değeri artışının % 2.5 – 14.25 aralığında ve en az % 2.5 ile Grup 3'de, Grup 2 ve kontrol grubunda ise sırası ile % 9.37 ve % 14.25, Grup 4'te ise % 7.53 düzeyinde olduğu tespit edildi.

Tüm gruplarda belirlenen canlı ağırlık artışının (% 10 – 20) fizyolojik gelişim süreci içinde kaldığı, doku ağırlık kazançlarının da canlı ağırlık ve organ gelişimine paralel olarak arttığı tespit edildi. Kan glikoz düzeylerindeki yükselmelerin (% 2.5 – 14.25) fizyolojik aralıkta seyrettiği saptandı. Buna göre sitagliptinin artan doz uygulamalarında önemli canlı ağırlık ve doku ağırlık değişimlerine neden olmadığı ve hipoglisemi riskinin düşük olduğu gözlemlendi.

Karaciğerde artan MDA konsantrasyonunu ve antioksidan enzim aktivitelerine rağmen, karaciğer ve böbrek dokusunda lipid peroksidasyonuna (MDA düzeyinde) neden olmadığı; karaciğer dokusunda günde 10 ve 100 mg/kg tez doz sitagliptin uygulamalarının GSH seviyesi yönünden kontrol grubuna göre önemli artışlar şekillendirdiği; böbrek dokusunda ise her üç sitagliptin uygulama dozunun da CAT enzim aktivitesi bakımından kontrol grubuna göre önemli düşüslere neden olduğu tespit edilmiştir.

Sitagliptinin oksidan – antioksidan dengeye olan etkilerinin tam olarak belirlenmesinde sadece kalp ve böbrek dokularından elde edilecek verilerin yeterli olamayabileceği, farklı deneme modelleri oluşturulmuş hayvanlarda daha geniş parametreleri içine alan, farklı süre ve dozlarda sitagliptinin kullanımını içeren kapsamlı çalışmaların yapılmasının ilacın oksidatif stres mekanizmasına olan etkisinin aydınlatılmasına daha fazla katkı sağlayacağı kanısına varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** DPP-4 enzim inhibitörü, oksidatif stres, rat, sitagliptin.

## SUMMARY

### **Effects of sitagliptin on oxidative stress metabolism in liver and kidney tissues in rats**

This study aimed to find out the possible effects of sitagliptin, the first representative of dipeptidyl peptidase (DPP-4) enzyme inhibitors, on body mass and blood glucose concentrations and also to assess the possible damage of oxidative stress in liver and kidney tissues, measuring by the level of superoxide dismutase (SOD, *U/mg tissue protein*) and catalase (CAT, *k/mg tissue protein*) enzyme activity, glutathione (GSH, *mg/mg tissue protein*) level and malondialdehyde (MDA, *nmol/mg tissue protein*) concentrations in rats following administration with increased doses.

Forty male *Wistar-Albino* rats, 2 – 3 months old, weighting  $229.26 \pm 28.92$  g, were used in this study. Rats were fed by standard rat food and tap water was given *ad libitum*. Rats were allocated into four groups each containing 10 rats. Group 1, control, was given only 1 ml of % 0.9 NaCl solution, Group 2: at 1 mg/kg dose, Group 3; at 10 mg/kg dose and Group 4: at 100 mg/kg dose active form of sitagliptin's sitagliptin mono phosphate with 1 ml % 0.9 NaCl orally during 36 days were given. At the end of the study achieved values' mean standard deviations were determined and differences between groups were assessed on SPSS 11.5 packet programme in *One-Way* ANOVA variance analysis by Duncan test and *t*-test. The values under  $P < 0.05$  were assumed significant.

In terms of the alive body mass values it was determined that pre application differences between groups kept going similar in 36th day, moreover the differences between 3th group and control group have vanished. The results of increasing alive body mass were between % 10 and % 20 and minimum % 10.05 in group 2 and % 10.62, % 13.62, % 18.59 by order of in control group, group 3 and group 4 were stated. In terms of blood glucose values there were no significant difference both between group control and group 4 and between all sitagliptin applying groups own were determined.

Comparing the liver and left kidney tissue weights; there was a significant difference between groups 3 and 4, and also between group 2 and the other groups. In

terms of the right kidney tissue weights, group 3 and the control group with other groups, and similarly revealed significant difference between group 2 and group 3.

It was stated that increasing blood glucose was between % 2.5 and % 14.25 and minimum in group 3 as % 2.5, % 9.37 and % 14.25 by order of in group 2 and group control, however it was in the level of % 7.53 in group 4.

It was determined that the increase in body weight (10-20 %) to fall within the physiological development, tissue weight gains were increased in parallel with the body weight and organ development. Moreover, it was found that the elevations of blood glucose levels (2,5-14,25 %) were in physiological range. Accordingly, it was observed that the selected doses of sitagliptin didn't cause significant changes in body and tissue weights, and the risk of hypoglycemia was lower.

Although the increasing of MDA concentration and the antioxidant enzyme activities in the liver, do not cause lipid peroxidation (MDA level) in liver and kidney tissue; following daily 10 and 100 mg / kg dose of sitagliptin administration, GSH level increased significantly compared with the control group in liver tissue. Moreover, in term of CAT enzyme activity in renal tissue, it was determined that all three doses of sitagliptin administrations caused significant decrease compare to the control group.

It was concluded that data only obtained from heart and kidney tissues may not be enough to determine completely the effects of sitagliptin's oxidant - antioxidant balance; in animals in which different experimental models are generated into a wider parameters, involving the use of sitagliptin's different dosages and durations of making comprehensive studies may help to clarify the effect of the drug on the mechanism of oxidative stress.

**Key words:** DPP-4 enzyme inhibitor, oxidative stress, rat, sitagliptin.



## KAYNAKLAR

Abak ES. Antidiyabetik olarak kullanılan sitagliptin'in ratların karaciğer ve böbrek dokularındaki oksidatif stresinin değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, Türkiye 2010.

Aguilar-Bryan L, Bryan J. Neonatal diabetes mellitus. *Endocrine Reviews* 2008;29:265-91.

Ahren B, Gomis R, Standl E, Mills D, Schweizer A. Twelve- and 52-week efficacy of the dipeptidyl peptidase IV inhibitor LAF237 in metformin-treated patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004a;27:2874-2880.

Ahren B, Landin-Olsson M, Jansson PA, Svensson M, Holmes D, Schweizer A. Inhibition of dipeptidyl peptidase-4 reduces glycemia, sustains insulin levels, and reduces glucagon levels in type 2 diabetes. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2004b;89:2078-2084.

Ahren B. DPP-4 inhibitors. *Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism* 2007;21(4):517-533.

Akkan AG. İnsülin, oral hipoglisemik ilaçlar ve endokrin pankreasın farmakolojisi. In: Süzer Ö. (çeviri Ed). Goodman and Gilman Tedavinin Farmakolojik Temeli, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., İstanbul, 2009;1613-1645.

Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1. Baskı, Mimoza Yayınları, Konya, 1995.

Altan N, Ongun CÖ, Hasanoğlu E, Engin A, Tuncer C, Sindel P. Effects of the sulfonylurea glyburide on superoxide dismutase activity in alloxan-induced diabetic rat hepatocytes. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 1994;22(2-3):95-98.

Altan N, Yiğit Ş, Elmalı E, Malhatun E, Rota S, Kılıç N. Effects of the sulfonylurea glyburide on superoxide dismutase in streptozotocine-induced diabetic rat muscle. *General Pharmacology* 1997;28(5):795-96.

Altan N, Buğdaycı G, Tutkun-Kosova F, Sancak-Çaycı B, Nazaroğlu NK. The influence of the sulfonylurea glyburide on nitric oxide in streptozotocin induced diabetic rat. *General Pharmacology* 1998;31(2):319-321.

Altan N, Dinçel AS, Koca C. Diabetes mellitus and oxidative stress. *Turkish Journal of Biochemistry* 2006;31(2):51-56.

Altuntaş I, Delibaş N, Demirci M, Kilinc I, Tamer N. The effects of methidathion on lipid peroxidation and some liver enzymes: role of vitamins E and C. *Archives of Toxicology* 2003;76:470-473.

Anderson RA, Roussel AM, Zouari N, Mahjoub S, Matheu JM ve Kerkeni A. Potential antioxidant effect of zinc and chromium supplementation in people with type II diabetes mellitus. *Journal of American Nutrition* 2001;20(3):212-218.

Andican G, Tuğcu V, Gedikbaşı A, Mutlu B, Güner E, Uhri M, Ozbek E, Taşçı AI. Increased testicular 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) and inducible nitric oxide synthetase (iNOS) and nuclear factor kappa B (NF-kappaB) expressions in experimental rat varicocele. *Archivio Italiano di Urologia Andrologia* 2010 Dec;82(4):148-53.

Anonim. Diyabet nedir, <http://www.tip2diyabet.com/diyabet-nedir.html>. Erişim Tarihi: 3 Ocak 2010.

Anonim a. Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor, [http://en.wikipedia.org/wiki/Dipeptidyl\\_peptidase-4\\_inhibitor](http://en.wikipedia.org/wiki/Dipeptidyl_peptidase-4_inhibitor). Erişim Tarihi: 12 Ekim 2009.

Anonim b. Sitagliptin (Januvia), <http://www.glucagon.com/sitagliptin.html>. Erişim Tarihi: 15 Kasım 2009.

Anonim c. Vidagliptin (Galvus), <http://www.glucagon.com/vildagliptin.html>. Erişim Tarihi: 20 Aralık 2009.

Anonim d. Diyabet nedir, <http://www.tip2diyabet.com/diyabet-nedir.html>. Erişim Tarihi: 3 Ocak 2010.

Antmen ŞE. Beta talesemide oksidatif stres. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana, Türkiye 2005.

Aragno M, Tamagno E, Gatto V, Brignardello E, Parola S, Danni O ve Boccuzzi G. Dehydroepiandrosterone protects tissues of streptozotocin-treated rats against oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine* 1999;26(11/12):1467-1474.

Argyropoulou G, Doupis J. DPP4 inhibitors: from sitagliptin monotherapy to the new alogliptin-pioglitazone combination therapy. *Advances in Therapy* 2009;26(3):272-280.

Armstrong DA. *Methods in Molecular Biology*. Vol 108, Humana Press, Toronto, 1998.

Aschner P, Katzeff HL, Guo H, Sunga S, Williams-Herman D, Kaufman KD, Goldstein BJ; Sitagliptin Study 049 Group. Efficacy and safety of monotherapy of sitagliptin compared with metformin in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obesity and Metabolism* 2010;12(3):252-261.

Aschner P, Kipnes MS, Lunceford JK, Sanchez M, Mickel C, Williams-Herman DE. Effect of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor sitagliptin as monotherapy on glycemic control in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2006;29(12):2632-2637.

Aslan R. Homeostatik mekanizmanın korunması ve sağaltımda antioksidanlar. *İlaç ve Tedavisi Dergisi* 1999;12(8):475-480.

Aydın A, Orhan H, Sayala A, Özata M, Şahin G, Işimera A. Oxidative stress and nitric oxide related parameters in type II diabetes mellitus: effects of glycemic control. *Clinical Biochemistry* 2001;34:65-70.

Aygün FÖ. Sıçanlarda deneysel gentamisin nefrotoksisitesinde oksidatif stresin rolünün ve olası oksidatif stres üzerine kafeik asit fenetil ester'in etkisinin araştırılması. Uzmanlık Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Isparta, Türkiye 2010.

Babior BM. Phagocytes and oxidative stress. *The American Journal of Medicine* 2000;109(1):33-44.

Banerjee BD, Seth V, Bhattacharya A, Pasha ST, Chakraborty AK. Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free-radical scavengers. *Toxicology Letters* 1999;107:33-47.

Barry Carr D, Gabbe S. Gestational diabetes: detection, management, and implications. *Clinical Diabetes* 1998;16(1):4-11.

Basu TK. Potential role of antioxidant vitamins. *Kitap: Basu TK, Temple NJ, Garg ML, Antioxidants in Human Health and Disease. 2<sup>nd</sup>, New York, CABI Publishing, 1999;15-17.*

Battist WP, Palmisano J, Keane WF. Dyslipidemia in patients with type 2 diabetes. Relationships between lipids, kidney disease and cardiovascular disease. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 2003;41:1174-1181.

Bayıroğlu F, Baydaş B, Meral İ, Türkdoğan K. Yoğurt ile beslemenin rantlarda serum biyokimyasal parametreleri üzerine etkisi. *Van Tıp Dergisi* 1999;6:5-7

Baynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications: A new perspective on an old paradigm. *Diabetes* 1999;48(1):1-9.

Beconi MG, Reed JR, Teffera Y, Xia Y-Q, Kochansky CJ, Liu, DQ, Xu S, Elmore CS, Ciccotto S, Hora DF. Disposition of the dipeptidyl peptidase 4 inhibitor sitagliptin in rats and dogs. *Drug Metabolism and Disposition* 2007;35(4):525-532.

Behme MT, Dupré J, McDonald TJ. Glucagon-like peptide 1 improved glycemic control in type 1 diabetes. *BMC Endocrine Disorders* 2003;3(1):3.

Bergman AJ, Stevens C, Zhou Y, Yi B, Laethem M, De Smet M, Snyder K, Hilliard D, Tanaka W, Zeng W, Tanen M, Wang AQ, Chen L, Winchell G, Davies MJ, Ramael S, Wagner JA, Herman GA. Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of multiple oral doses of sitagliptin, a dipeptidyl peptidase-IV inhibitor: a double-blind, randomized, placebo-controlled study in healthy male volunteers. *Clinical Therapeutics* 2006;28:55-72.

Bergman AJ, Cote J, Yi B, Marbury T, Swan SK, Smith W, Gottesdiener K, Wagner J, Herman GA. Effect of renal insufficiency on the pharmacokinetics of sitagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor. *Diabetes Care* 2007;30(7):1862–1864.

Bergman AJ, Cote J, Maes A, Zhao J, Roadcap B, Sun L, Valesky R, Yang A, Keymeulen B, Wagner JA, Herman GA. Sitagliptin (MK-0431), a selective dipeptidyl-peptidase-IV (DPP-IV) inhibitor, does not affect the pharmacokinetics of simvastatin in humans. *Journal of Clinical Pharmacology* 2009;49(4):483-438.

Bhagavan NV. *Medical Biochemistry*. Harcourt Academic Press, Kanada, 2002.

Bir LS, Demir S, Rota S. Increased serum malondialdehyde levels in chronic stage of ischemic stroke. *Tohoku Journal of Experimental Medicine* 2006; 208(1): 33-39.

Boehme DS, Hatchkiss JA ve Handerson RF. GSH and GSH dependent enzymes in bronchoalveolar lavage fluid cells in response to ozone. *Experimental and Molecular Pathology* 1992;56:37-48.

Bonnefont-Rousselot D, Bastard JP, Jaudon MC, Delattre J. Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes and Metabolism* 2000;26:163-176.

- Bonnefont-Rousselot D. Glucose and reactive oxygen species. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 2002;5(5):561-568.
- Bonnefont-Rousselot D, Raji B, Walrand S. An intracellular modulation of free radical production could contribute to the beneficial effects of metformin towards oxidative stress. *Metabolism: Clinical and Experimental* 2003;52:586-589.
- Boyd RF. *General Microbiology*, Second edition, Times Mirror/Mosby College Publishing, Missouri, 1988.
- Brazg R, Xu L, Dalla Man C, Cobelli C, Thomas K, Stein PP. Effect of adding sitagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, to metformin on 24-h glycaemic control and beta-cell function in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obesity and Metabolism* 2007;9:186-193.
- Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001;414(6865):813-820.
- Byung PY. Cellular defences against damage from reactive species. *Physiological Review* 1994;74:139-172.
- Bukan N, Sancak B, Yavuz Ö, Koca C, Tutkun F, Özçelikay TA, Altan N. Lipid peroxidation and scavenging enzyme levels in the liver of streptozotocin-induced diabetes rats. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics* 2003;40(6):447-450.
- Bukan N, Sancak B, Bilgihan A, Kosova F, Buğdayci G, Altan N. e effects of the sulfonylurea glyburide on glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase activities in the heart tissue of streptozotocin-induced diabetic rat. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology* 2004;26(7):519-522.
- Bulut S. Alzheimer hastalığı'nda oksidatif stres. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi* 2003;1(1):54-62.
- Butler LK. Regulation of blood glucose levels in normal and diabetic rats. In: Goldman CA (Ed). *Tested Studies for Laboratory Teaching Volume: 16.*, ABLE Publishing Yale University 1995. pp. 181-202.
- Chan JM, Rimm EB, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC. Obesity, fat distribution, and weight gain as risk factors for clinical diabetes in men. *Diabetes Care* 1994;17(9):961-969.
- Chander J, Kaur J, Gulati N, Arora V, Nagarkar N, Sood S, Mohan H.(2009) Sudden vision loss caused by rhino-orbital zygomycosis in diabetic patients: case series. *Mycoses* 2009; Dec 21.
- Chappey O, Dosquet C, Wautier MP, Wautier JL. Advanced glycation end products, oxidant stress and vascular lesions. *European Journal of Clinical Investigation*. 1997;27(2):97-108.
- Charbonnel B, Karasik A, Liu J, Wu M, Meininger G. Sitagliptin study 020 group. Efficacy and safety of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor sitagliptin added to ongoing metformin therapy in patients with type 2 diabetes inadequately controlled with metformin alone. *Diabetes Care* 2006;29(12):2638-2643.

Cheeseman KH, Slater TF. An induction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin* 1993;49(3):481-493.

Chen P, Caldwell CG, Mathvink RJ, Leiting B, Marsilio F, Patel RA, Wu JK, He H, Lyons KA, Thornberry NA, Weber AE. Imidazopiperidine amides as dipeptidyl peptidase IV inhibitors for the treatment of diabetes. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 2007;17(21):5853-5857.

Christel CM, Denardo DF. Absence of exendin-4 effects on postprandial glucose and lipids in the Gila monster, *Heloderma suspectum*. *Journal of Comparative Physiology. B Biochemical Systemic and Environmental Physiology* 2007;177(1):129-34.

Colditz GA, Willett WC, Rotnitzky A, Manson JE. Weight gain as a risk factor for clinical diabetes mellitus in women. *Annals of Internal Medicine* 1995;122(7):481-486.

Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi/Office Journal of the Turkish Nephrology, Association* 1997;3-4:92-95.

Çelik S, Erdoğan S. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) protects brain against oxidative stress and inflammation induced by diabetes in rats. *Molecular and Cell Biochemistry* 2008;312:39-46.

Colak E, Majkić-Singh N, Stanković S, Srecković-Dimitrijević V, Djordjević PB, Lalić K, Lalić N. Parameters of antioxidative defense in type 2 diabetic patients with cardiovascular complications. *Annals of Medicine* 2005;37(8):613-620.

Da Ros R, Assaloni R, Ceriello A. The preventive anti-oxidant action of thiazolidinediones: a new therapeutic prospect in diabetes and insulin resistance. *Diabetic Medicine* 2004;21(11):1249-1252.

Das K, Chainy GBN. Modulation of rat liver mitochondrial antioxidant defense system by thyroid hormone. *Biochimica et Biophysica Acta Molecular Basis of Disease* 2001;1537(1):1-13.

Davidoff AJ, Rodgers RL. Insulin, thyroid hormone, and heart function of diabetic spontaneously hypertensive rat. *Hypertension* 1990;15(6):633-642.

De Valk HW. DPP-4 inhibitors and combined treatment in type 2 diabetes: re-evaluation of clinical success and safety. *The Review of Diabetic Studies* 2007;4:126-133.

Dean RT, Fu S, Stocker R, Davies MJ. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochemical Journal* 1997;324(1):1-18.

Dejager S, Razac S, Foley JE, Schweizer A. Vildagliptin in drug-naïve patients with type 2 diabetes: a 24-week, double-blind, randomized, placebo-controlled, multiple-dose study. *Hormone and Metabolic Research* 2007;39(3):218-223.

Delibaş N, Kılınç İ. İnsülin ve gliklazid tedavisinin streptozotosin diabetik rat hipokampuslerinde lipid peroksidasyonuna etkisi. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi* 2003;1:33-39.

Derin D, Yazıcı A, Erkoç Ş. Şizofrenik bozukluğu olan hastalarda serbest radikal metabolizması ve nonenzimatik antioksidan savunma sistemi elemanlarının incelenmesi. Klinik Psikofarmakoloji Bülteni 2001;11(3):174-182.

Derosa G, Maffioli P, Salvadeo SA, Ferrari I, Ragonesi PD, Querci F, Franzetti IG, Gadaleta G, Ciccarelli L, Piccinni MN, D'Angelo A, Cicero AF. Effects of sitagliptin or metformin added to pioglitazone monotherapy in poorly controlled type 2 diabetes mellitus patients. Metabolism: Clinical and Experimental 2009;59(6):887-895.

Dhillon S. Sitagliptin: A review of its use in the management of type 2 Diabetes Mellitus. Drugs 2010;70(4):489-512.

Diekman MJ, Romijn JA, Endert E, Sauerwein H, Wiersinga WM. Thyroid hormones modulate serum leptin levels: observations in thyrotoxic and hypothyroid women. Thyroid 1998;8(12):108-6.

Dillard CJ, Downey JE, Tappel AL. Effect of antioxidants on lipid peroxidation in iron-loaded rats. Lipids 1984;19(2):127-33.

Dillmann WH. Diabetes and thyroid- hormone induced changes in cardiac function and their molecular basis. Annual Review of Medicine 1989;40:373-94.

Dordević G, Durić S, Apostolskić S, Dordević V, Zivković M. Total antioxidant blood capacity in patients with type 2 diabetes mellitus and distal symmetrical polyneuropathy. Vojnosanitetski Pregled 2008;65(9):663-669.

Dotan Y, Lichtenberg D, Pinchuk I. Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. Progress in Lipid Research 2004;43:200-227.

Dönmez S. Deneysel Diyabetik Nefropatide irbesartan ve antioksidan tedavilerin karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye 2008.

Drucker DJ, Nauck MA. The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. The Lancet 2006;368:1696-1705.

Du X, Stockklauser-Farber K, Rösen P. Generation of reactive oxygen intermediates, activation of NFκB, and induction of apoptosis in human endothelial cells by glucose: role of nitric oxide synthase? Free Radical Biology and Medicine 1999;27:752-763.

Dündar Y ve Aslan R. Hücre moleküler statüsünün anlaşılması ve fizyolojik önem açısından radikaller-antioksidanlar. / Understanding of cellular molecular status and physiological importance of antioxidants. Cerrahi Tıp Bilimleri Dergisi 1999a;2:134-142.

Dündar Y. ve Aslan R. Bir antioksidan olarak vitamin E. Genel Tıp Dergisi 1999b;9(3):109-116.

Dündar Y ve Aslan R. Oksidan-antioksidan denge ve korunmasında vitaminlerin rolü. / The role of vitamins in oxidant and antioxidant balance. Hayvancılık Araştırma Dergisi 1999c;9(1-2):32-39.

Düzgüner V. Deneysel olarak diyabet oluşturulan tavşanlarda çinkonun lipid peroksidasyonu ve antioksidan sistem üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji (VET) Anabilim Dalı. Hatay, Türkiye 2005.

Ekici L, Sağdıç O. Serbest radikaller ve antioksidan gıdalarla inhibisyonu. *Gıda* 2008;33(5):251-260.

Elmalı E, Altan N, Bukan N. Effect of sulphonylurea glibenclamide on liver and kidney antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Drugs in Research and Development* 2004;5(4):203-208.

EMA (European Medicines Agency). Scientific discussion. [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document.../WC500039057.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document.../WC500039057.pdf). Erişim Tarihi: 5 Mayıs 2007.

EMA (European Medicines Agency). Assessment report for Teseval. 28 October 2009. [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_-\\_Assessment\\_Report\\_-\\_Variation/human/000910/WC500035919.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Assessment_Report_-_Variation/human/000910/WC500035919.pdf). Erişim Tarihi: 10 Ocak 2009.

Engin A, Altan N. Effects of obstructive jaundice on the antioxidative capacity of human red blood cells. *Hematologia* 2000;30(2):91-96.

Engin A, Bozkurt BS, Altan N, Memiş L, Bukan N. Nitric oxide-mediated liver injury in presence of experimental bile duct obstruction. *World Journal of Surgery* 2003;27:253-255

Engin A, Altan N, Işık E. Erythrocyte glutathione levels in lithium-induced hypothyroidism. *Drugs in Research and Development* 2005;6(1):35-40.

Erbay A, Erbay AR, Baykal N, Eren Ş, Dokuzoğuz B. Kızamıkta oksidatif stres. *İnfeksiyon Dergisi* 2003;17(4):381-383.

FDA (Food and Drug Administration). Highlights of Prescribing Information, [http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2008/021995s007lbl.pdf](http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2008/021995s007lbl.pdf). Erişim Tarihi: 13 Nisan 2009.

Ferreira L, Lemos E.T, Pinto F, Parada B, Mega C, Vala H, Pinto R, Garrido P, Sereno J, Fernandes R, Santos P, Velada I, Melo A, Nunes S, Teixeira F, Reis F. Effects of sitagliptin treatment on dysmetabolism, inflammation and oxidative stress in an animal model of type 2 diabetes (ZDF Rat). *Mediators Inflammation* 2010;2010:592760.

Fishbein H, Palumbo PJ. Acute metabolic complications in diabetes. In: National Diabetes Data Group. (Eds). *Diabetes in America*, 2nd ed. Washington, DC: U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. NIH Publication No. 95-1468 1995:283-291.

Floyd RA. Antioxidants, oxidative stress and degenerative neurological disorders. *Experimental Biology and Medicine*. 1999;222:236-245.

Fonseca V, Schweizer A, Albrecht D, Baron MA, Chang I, Dejager S. Addition of vildagliptin to insulin improves glycaemic control in type 2 diabetes. *Diabetologia* 2007;50(6):1148-1155.

Freeman JS. The pathophysiologic role of incretins. *Journal of American Osteopathic Association* 2007;107:6-9.

Fridovich I. Superoxide radical: an endogenous toxicant. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 1983;23:239-257.

Gad SC. *Animal Models in Toxicology*. Taylor and Francis Group, New York, 2007.

Gautier JF, Fetita S, Sobngwi E, Salaun-Martin C. Biological actions of the incretins GIP and GLP-1 and therapeutic perspectives in patients with type 2 diabetes. *Diabetes and Metabolism* 2005;31:233-242.

Giardino I, Fard AK, Hatchell DL, Brownlee M. Amino guanidine inhibits reactive oxygen species formation, lipid peroxidation and oxidant-induced apoptosis. *Diabetes* 1998;47(7):1114-1120.

Gillery P, Monboisse JC, Maquart FX, Borel JP. Glycation of proteins as a source of superoxide. *Diabetes* 1988;14(1):1114-1120.

Giugliano I, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 1996;19(3):257-267.

Goldstein BJ, Feinglos MN, Lunceford JK, Johnson J, Williams-Herman DE. Sitagliptin 036 Study Group. Effect of initial combination therapy with sitagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, and metformin on glycemic control in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2007;30(8):1979-1987.

Gorsuch AN, Spencer KM, Lister J, McNally JM, Dean BM, Bottazzo GF, Cudworth AG. Evidence for a long prediabetic period in type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *The Lancet* 1981;318(8260):1363-1365.

Green K, Brand MD, Murphy MP. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. *Diabetes* 2004;53(1):110-118.

Griffin JE ve Ojeda SR. *Textbook of endocrine physiology*. 2<sup>nd</sup> Ed., Oxford University Press, Newyork 1992.

Guemouri, L., Artur, Y., Herbeth, B., Jeandel, C., Cuny, G., Siest, G. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in blood. *Clinical Chemistry* 1991;37(11):1932-1937.

Gumieniczek A, Hopkala H, Wojtowicz Z ve Nikolajuk J. Changes in antioxidant status of heart muscle tissue in experimental diabetes in rabbits. *Acta Biochimica Polonica* 2002;49(2):529-535.

Gutteridge JMC, Peterson SK, Segal AW, Halliwell B. Inhibition of lipid peroxidation by the iron binding protein lactoferrin. *Biochem Journal* 1981;199:259-261.

Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry* 1995; 41:1819-1828.

Guyton AC, Hall JE. *Tıbbi Fizyoloji*, Nobel Kitabevi, Ankara 2001; pp:171-173.

Güner A, Diabetik hastaların diabetik ayak ile ilgili bilgi ve tutumlarının irdelenmesi ve HbA1c'nin diabetik ayak ile ilişkisi. *Uzmanlık Tezi*. Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, Türkiye 2005.



Gür B, Halifeoğlu İ, Telo S, Tolun Sİ. Hipertiroid hastalarda tedavi öncesi ve sonrası malondialdehit ve antioksidan enzim düzeyleri. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi 2005;19(3):221-226.

Gürlek A, Kayaalp SO. İnsülin, oral ve diğer antidiyabetik ilaçlar ve glukagon. In: Kayaalp SO. ( Ed). Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Pelikan Yayıncılık, Ankara 2009. pp.1039-1078.

Haber F, Weiss JJ. The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts. Proceedings of the Royal Society of London Series 1984;147:332-351.

Halifeoğlu İ, Karataş F, Çolak R, Canatan H, Telo S. Tip 2 diyabetik hastalarda tedavi öncesi ve tedavi sonrası oksidan ve antioksidan durum. Fırat Tıp Dergisi 2005;10:117-122.

Halliwell B. Oxygen radicals as key mediators in neurological disease. Fact or Fiction Annals of Neurology. 1992;32:10-15.

Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE. Free radicals, antioxidants and human disease: Where are we now. The Journal of Laboratory and Clinical Medicine 1992;119:598-620.

Halliwell B, Murcia MA, Chirico S, Aruoma OI. Free Radicals and antioxidants in food and in vivo: What they do and how they work. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 1995;35:7-20.

Halliwell, B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine, 3<sup>rd</sup> Ed., Oxford University Press, Oxford 1999.

Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine, 3<sup>rd</sup> Ed., Oxford Science Publications, Oxford 2001.

Hanefeld M, Herman GA, Wu M. Once-daily sitagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, for the treatment of patients with type 2 diabetes. Current Medical Research and Opinion 2007;23:1329-1339.

Hansen KB, Rosner T, Kubryk M, Dormer PG, Armstrong JD. Detection and elimination of product inhibition from the asymmetric catalytic hydrogenation of enamines. Organic Letters 2005;7(22):4935-4938.

Hansen KB, Hsiao Y, Xu F, Rivera N, Clausen A, Kubryk M, Krska S, Rosner T, Simmons B, Balsells J, Ikemoto N, Sun Y, Spindler F, Malan C, Grabowski EJ, Armstrong JD, 3<sup>rd</sup> Ed., Highly efficient asymmetric synthesis of sitagliptin. Journal of American Chemical Society 2009;131(25):8798-8804.

Hanson A. Male rat weight chart, <http://www.ratbehavior.org/maleratweight.htm>. Erişim Tarihi: 10 Ekim 2009.

Hansotia T, Baggio LL, Delmeire D, Hinke SA, Yamada Y, Tsukiyama K, Seino Y, Holst JJ, Schuit F, Drucker DJ. Double incretin receptor knockout (DIRKO) mice reveal an essential role for the enteroinsular axis in transducing the glucoregulatory actions of DPP-IV inhibitors. Diabetes 2004;53:1326-1335.

Hasanoğlu E, Altan N, Sindel P, Ongun CÖ, Bali M, Altıntaş E. The relationship between erythrocyte superoxide dismutase activity and plasma levels of some trace elements (Al,Cu,Zn) of dialysis patients. General Pharmacology 1994;25(1):107-110.

Hazman Ö. Oral antidiyabetik ilaç sitagliptin'in oksidan-antioksidan denge üzerine etkisinin deneysel tip-2 diyabet modeli oluşturulan ratlarda araştırılması. Doktora Tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyon, Türkiye 2011-002.

Herman GA, Stevens C, Van Dyck K, Bergman A, Yi B, De Smet M, Snyder K, Hilliard D, Tanen M, Tanaka W, Wang AQ, Chen L, Zeng W, Musson D, Laethem M, Zhou YY, Winchell G, Davies MJ, Ramael S, Gottesdiener KM, Wagner JA. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of single doses of sitagliptin, an inhibitor of dipeptidyl peptidase-IV, in healthy subjects. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 2005;78(6):675-88.

Herman GA, Bergman A, Liu F, Stevens C, Wang AQ, Zeng W, Chen L, Snyder K, Hilliard D, Tanen M, Tanaka W, Meehan AG, Lasseter K, Dilzer S, Blum R, Wagner JA. Pharmacokinetics and pharmacodynamic effects of the oral DPP-4 inhibitor sitagliptin in middle-aged obese subjects. *Journal of Clinical Pharmacology* 2006a;46(8):876-886.

Herman GA, Bergman A, Stevens C, Kotey P, Yi B, Zhao P, Dietrich B, Golor G, Schrodter A, Keymeulen B, Lasseter KC, Kipnes MS, Snyder K, Hilliard D, Tanen M, Cilissen C, De Smet M, de Lepeleire I, Van Dyck K, Wang AQ, Zeng W, Davies MJ, Tanaka W, Holst JJ, Deacon CF, Gottesdiener KM, Wagner JA. Effect of single oral doses of sitagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, on incretin and plasma glucose levels after an oral glucose tolerance test in patients with type 2 diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2006b;91(11):4612-4619.

Hermansen K, Kipnes M, Luo E, Fanurik D, Khatami H, Stein P; sitagliptin study 035 group. Efficacy and safety of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, sitagliptin, in patients with type 2 diabetes mellitus inadequately controlled on glimepiride alone or on glimepiride and metformin. *Diabetes Obesity and Metabolism* 2007;9(5):733-745.

Hilmi Ş. Oksidanlar ve antioksidanlar. *Türk Hastane Tıp Dergisi* 1994;48(1-2):44-49.

Holst JJ, Gromada J. Role of incretin hormones in the regulation of insulin secretion in diabetic and nondiabetic humans. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism* 2004;287(2):199-206.

Ihara Y, Toyokuni S, Uchida K. Hyperglycemia causes oxidative stress in pancreatic  $\beta$  cells of GK rats, a model of type 2 diabetes. *Diabetes* 1999;48(4):927-932.

Ishida H, Takizawa M, Ozawa S, Nakamichi Y, Yamaguchi S, Katsuta H, Tanaka T, Maruyama M, Katahira H, Yoshimoto K, Itagaki E, Nagamatsu S. Pioglitazone improves insulin secretory capacity and prevents the loss of beta-cell mass in obese diabetic db/db mice: Possible protection of beta cells from oxidative stress. *Metabolism* 2004;53:488-494.

Jain SK, McVie R, Duett J ve Herbst JJ. Erythrocyte membrane lipid peroxidation and Glicosylated Hemoglobin in Diabetes. *Diabetes* 1999;38(12):1539-1543.

Januszewski AS, Alderson NL, Metz TO, Thorpe SR, Baynes JW. Role of lipids in chemical modification of proteins and development of complications in diabetes. *Biochemical Society Transactions* 2003;31(6):1413-1416.

Jennings PE, Scott NA, Saniabadi AR, Belch JFF. Effects of gliclazide on platelet reactivity and free radicals in type II diabetic patients: clinical assesment. *Metabolism* 1992;41(1):36-39.

Jennings PE, Belch JJ. Free radical scavenging activity of sulfonylureas: a clinical assessment of the effectiveness of gliclazide. *Terapevdicheski Arkhiv* 2001;73(4):27-31.

Kaji H, Kurasaki M, Ito K, Saito T, Saito K, Niioka T, Kojima Y, Ohsaki Y, Ide H, Tsuji M, Kondo T, Kawakami Y. Increased lipoperoxide value and glutathione peroxidase activity in blood plasma of Type 2 (Non-Insulin-Dependent) diabetic women. *Journal of Molecular Medicine* 1985;63:765-768.

Kale M, John S, Rathore N, Bhatnagar D. Lipid peroxidative damage on pyrethroid exposure and alterations in antioxidant status in rat erythrocytes: a possible involvement of reactive oxygen species. *Toxicology Letters* 1999;105:197-205.

Kaneko JJ, Harwey JW ve Brust ML. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 3<sup>rd</sup> Ed., Academic Press, London, 1980.

Kao DP, Kohrt HE, Kugler J. Renal failure and rhabdomyolysis associated with sitagliptin and simvastatin use. *Diabetic Medicine: A journal of the British Diabetic Association* 2008;25(10):1229-1230.

Karasik A, Aschner P, Katzeff H, Davies MJ, Stein PP. Sitagliptin, a DPP-4 inhibitor for the treatment of patients with type 2 diabetes: a review of recent clinical trials. *Current Medical Research and Opinion* 2008;24(2):489-496.

Kavas GÖ. Reaktif Oksijen Metabolitlerine fizyopatolojik yaklaşım. *Ankara Tıp Mecmuası* 1994;47:579-592.

Kaya E. Klorprifos ve deltamethrin'in kan ve beyin lipid peroksidasyon ve antioksidan enzim aktivitelerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, Türkiye 2005.

Kikkawa R. Chronic complications in diabetes mellitus, *British Journal of Nutrition* 2000; 84(2):183-185.

Kılıç N, Malhatun E, Elmalı E, Altan N. An investigation into the effects of the sulfonylurea glyburide on glutathione peroxidase activity in streptozotocin-induced diabetic rat muscle tissue. *General Pharmacology* 1988;30(3):399-401.

Kilit TP. Tip 2 diabetes mellitus hastalarında metformin ve rosiglitazonun oksidatif stres, metabolik parametreler ve antropometrik ölçümler üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi. Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Afyon, Türkiye 2007.

Kim D, Wang L, Beconi M, Eiermann GJ, Fisher MH, He H, Hickey GJ, Kowalchick JE, Leiting B, Lyons K, Marsilio F, McCann ME, Patel RA, Petrov A, Scapin G, Patel SB, Roy RS, Wu JK, Wyvrat MJ, Zhang BB, Zhu L, Thornberry NA, Weber AE. (2R)-4-oxo-4-[3-(trifluoromethyl)-5,6-dihydro[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyrazin-7(8H)-yl]-1-(2,4,5-trifluorophenyl) butan-2-amine: a potent, orally active dipeptidyl peptidase IV inhibitor for the treatment of type 2 diabetes. *Journal of Medicinal Chemistry* 2005;48(1):141-151.

Klein RG. Normal rat blood glucose level, [http://www.ehow.com/facts\\_5990203\\_normal-rat-blood-glucose-level.html](http://www.ehow.com/facts_5990203_normal-rat-blood-glucose-level.html). Erişim Tarihi: 11.11.2009.

Knop FK, Vilsbøll T, Holst JJ. Incretin-based therapy of type 2 diabetes mellitus. *Current Protein and Peptide Science* 2009;10(1):46-55.

Koca HB. Koroner arter hastalarında lipid ve protein oksidasyonu ile selenyum içeren antioksidanların düzeyi. Yüksek Lisans Tezi. Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar, Türkiye 2007.

Koçer D, Muhtaroglu S, Bayram F. Polikistik over sendromlu hastalarda, metformin tedavisinin malondialdehid düzeyi ile paraoksonaz 1 aktivitesi üzerine etkisi. *Erciyes Tıp Dergisi* 2008;30(2):65-70.

Koya D, King GL. Protein kinase C activation and the development of diabetic complications. *Diabetes* 1998;47(6):859-66.

Krishna R, Bergman A, Larson P, Cote J, Lasseter K, Dilzer S, Wang A, Zeng W, Chen L, Wagner J, Herman G. Effect of a single cyclosporine dose on the single-dose pharmacokinetics of sitagliptin (MK-0431), a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, in healthy male subjects. *Journal of clinical pharmacology* 2007;47(2):165-174.

Kurt N. Yaşa bağlı olarak antioksidan enzimlerinin süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) aktivitelerinin ve malondialdehit (MDA) seviyesinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, Türkiye 2008.

Kuyvenhoven JP, Meinders AE. Oxidative stress and diabetes mellitus, Pathogenesis of long-term complications. *European Journal of Internal Medicine* 1999;10(1):9-19.

Liu DQ, Arison BH, Stearns RA, Kim D, Vincent SH. Characterization of two cyclic metabolites of sitagliptin. *Drug metabolism and disposition:the biological fate of chemicals* 2007;35(4):521-524.

Maddipati KR, Marnet LJ. Characterization of the major hydroperoxide reducing activity of human plasma: Purification and properties of a selenium-dependent glutathione peroxidase. *The Journal of Biological Chemistry* 1987;262:17393-17403.

Maharjan BR, Jha JC, Adhikari D, Akila, Risal S, Alurkar VM, Singh PP. Oxidative stress, antioxidant status and lipid profile in ischemic heart disease patients from western region of Nepal. *Nepal Medical College Journal* 2008;10(1):20-4.

Marino M. Diabetes drugs: DPP-4 Inhibitors, <http://www.diabetesselfmanagement.com/Blog/Mark-Marino/diabetes-drugs-dpp-4-inhibitors/>. Erişim Tarihi: 3 Kasım 2009.

Maritim AC, Sanders RA, Watkins III JB. Diabetes, oxidative stress and antioxidants: review. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* 2003;17(1):4-38.

Masur K, Schwartz F, Entschladen F, Niggemann B, Zaenker KS. DPP-4 inhibitors extend GLP-2 mediated tumour promoting effects on intestinal cancer cells. *Regulatory Peptides* 2006;137(3):147-155.

Matteucci E, Giampietro O. Dipeptidyl peptidase-4 (CD26): knowing the function before inhibiting the enzyme. *Current Medicinal Chemistry* 2009;16(23):2943-2951.

McIntosh CH, Demuth HU, Pospisilik JA, Pederson R. Dipeptidyl peptidase IV inhibitors: how do they work as new antidiabetic agents? *Regulatory Peptides* 2005;128(2):159-165.

Memişoğulları R, Tayşi S, Bakan E and Capoğlu I. Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus. *Cell Biochemistry and Function* 2003;21:291-296.

Memişoğulları R. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi* 2005;3:30-39.

Merck. Product Information Januvia, <http://www.docstoc.com/docs/1081976/Januvia>. Erişim Tarihi: 3 Ocak 2010.

Metzger BE, Coustan DR. Summary and recommendations of the fourth international workshop-conference on gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1998;21(Suppl. 2):B161-B167.

Mihmanlı A., Güneşlioğlu D., Özşeker F., Arslan S., Özgel M., Akaya E., Astımlı hastalarda serbest oksijen radikalleri ve antioksidan aktiviteleri. *Toraks Dergisi* 2003;4:264-268.

Miller JL, Migoya E, Talaty JE, Bergman AJ, Xu Y, Zheng W, Gutierrez M, Wagner JA Herman GA. The effect of MK-0431 on the pharmacokinetics of digoxin after concomitant administration for 10 days in healthy subjects. *Clinical Pharmacology Therapeutics* 2006;79:P24.

Monami M, Iacomelli I, Marchionni N, Mannucci E. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes: A meta-analysis of randomized clinical trials. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 2009;20(4):224-235.

Mu J, Woods J, Zhou YP, Roy RS, Li Z, Zycband E, Feng Y, Zhu L, Li C, Howard AD, Moller DE, Thornberry NA, Zhang BB. Chronic inhibition of dipeptidyl peptidase-4 with a sitagliptin analog preserves pancreatic beta-cell mass and function in a rodent model of type 2 diabetes. *Diabetes* 2006;55(6):1695-1704.

National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDK). Diabetes and Obesity Disparities in Health Care Systems Conference. June30-July 1, 2008.

Nauck MA, Meininger G, Sheng D, Terranella L, Stein PP. Sitagliptin Study 024 Group. Efficacy and safety of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, sitagliptin, compared with the sulfonylurea, glipizide, in patients with type 2 diabetes inadequately controlled on metformin alone: a randomized, double-blind, non-inferiority trial. *Diabetes obesity and metabolism* 2007;9(2):194-205.

Nauck M, Smith U. Incretin-based therapy: how do incretin mimetics and DPP-4 inhibitors fit into treatment algorithms for type 2 diabetic patients?. *Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism* 2009;23:513-523.

Ng VWS, Kong APS. Dipeptidyl Peptidase (DPP)-IV Inhibitor: A novel class of oral anti-hyperglycemic agents. *Drug Review* 2007;12(5):33-34.

Oğul YT. Romatoid artritli hastalarda antioksidan tablo ve eritrosit membran  $Na^+/K^+$  ATPaz aktivitesinin incelenmesi. *Uzmanlık Tezi. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Erzurum, Türkiye* 2006.

Okutur SK, Bes C, Erkal AY, Erol G, Borlu F. Tip II diabetes mellituslu hastalarda vücut demir depolarının metabolik kontrol, insülin rezistansı ve mikroalbuminüri üzerine etkisi. Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2008;9(1):023-030.

Öncü M, Gültekin F, Karaöz E, Altuntaş I, Delibaş N. Nephrotoxicity in rats induced by chlorpyrifos-ethyl and ameliorating effects of antioxidants. Human and Experimental Toxicology 2002;21(4):223-230.

Özdamar K. SPSS ile Biyoistatistik, 5. Baskı, Kaan Kitabevi, Eskişehir, 2003.

Özenirler S, Tuncer C, Ongun CÖ, Altan N, Kandilci U. Activity of superoxide dismutase in erythrocyte of nonalcoholic chronic liver diseases. General Pharmacology 1994;25(7):1349-51.

Özüğür K. Tip-2 diyabet tanısı alan hastalarda ilk altı aylık tedavinin oksidatif stres ve carbohydrate deficient transferrin (cdt) üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar, Türkiye 2007-021.

Palalau AL, Tahrani AA, Piya MK, Barnett AH. DPP-4 inhibitors in clinical practice. Postgraduate Medicine 2009;121(6):70-100.

Pavlovic D, Kocic R, Kocic G. Effect of four-week metformin treatment on plasma and erythrocyte antioxidative defense enzymes in newly diagnosed obese patients with type 2 diabetes. Diabetes Obesity and Metabolism 2000; 2:251-256.

Pedro RA, Isabel MM, Marc BB, Juan FB, Ester SB. Review of the relationship between renal and retinal microangiopathy in diabetes mellitus patients. Current Diabetes Reviews 2010;6(2):88-101.

Pitkänen OM, Martin JM, Hallman M, Akerblom HK, Sariola H, Andersson SM. Free radical activity during development of insulin-dependent diabetes mellitus in the rat. Life sciences 1992;50(5):335-339.

Pratley RE, Jauffret-Kamel S, Galbreath E, Holmes D. Twelve-week monotherapy with the DPP-4 inhibitor vildagliptin improves glycemic control in subjects with type 2 diabetes. Hormone and Metabolic Research 2006;38(6):423-428.

Pro B, Dang NH. CD26/dipeptidyl peptidase IV and its role in cancer. Histology and Histopathology 2004;19(4):1345-51.

Quinn L. Mechanism in the development of type II diabetes mellitus. Journal of Cardiovascular Nursing 2002;16(2):1-16.

Ramanathan M, Jaiswal AK ve Bhattacharya SK. Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in the brain of STZ induced diabetic rabbits. Indian Journal of Experimental Biology 1999;37(2):182-183.

Raz I, Hanefeld M, Xu L, Caria C. Williams-Herman D, Khatami H; Sitagliptin Study 023 Group. Efficacy and safety of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor sitagliptin as monotherapy in patients with type 2 diabetes mellitus. Diabetologia 2006;49(11):2564-2571.

Ritter SK. Going green keeps getting easier. Science and Technology 2006;84(28):24-27.

Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Poitout V.  $\beta$ -cell glucose toxicity, lipotoxicity, and chronic oxidative stress in type 2 diabetes. *Diabetes* 2004;53(1):119-124.

Rösen P, Du X, Tschöpe D. Role of oxygen derived radicals for vascular dysfunction in the diabetic heart: prevention by  $\alpha$ -tocopherol. *Molecular and Cellular Biochemistry* 1998;188(1-2):103-111.

Rosenstock J, Brazg R, Andryuk PJ, Lu K, Stein P; Sitagliptin Study 019 Group. Efficacy and safety of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor sitagliptin added to ongoing pioglitazone therapy in patients with type 2 diabetes: a 24-week, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study. *Clinical Therapeutics* 2006;28(10):1556-1568.

Rossi MC, Nicolucci A. Liraglutide in type 2 diabetes: from pharmacological development to clinical practice. *Acta Biomedica* 2009;80(2):93-101.

Saitoh Y, Chun-ping C, Noma K, Ueno H, Mizuta M, Nakazato M. Pioglitazone attenuates fatty acid-induced oxidative stress and apoptosis in pancreatic beta-cells. *Diabetes Obesity and Metabolism* 2008;10(7):564-573.

Saxena AK, Srivastava P, Kale RK, Baquer NZ. Impaired antioxidant status in diabetic rat liver. Effect of vanadate. *Biochemical Pharmacology* 1993;45(3):539-542.

Scott R, Wu M, Sanchez M, Stein P. Efficacy and tolerability of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor sitagliptin as monotherapy over 12 weeks in patients with type 2 diabetes. *International Journal of Clinical Practice* 2007;61(1):171-180.

Serafini M, Del Rio D. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool?. *Redox Report* 2004;9(3):145-152.

Serra JA, Domínguez RO, Marschoff ER, Guareschi EM, Famulari AL, Boveris A. Systemic oxidative stress associated with the neurological diseases of aging. *Neurochemical Research* 2009;34:2122-2132.

Singh RP, Sharad S, Kapur S. Free radicals and oxidative stress in neurodegenerative diseases: Relevance of dietary antioxidants. *Journal of Indian Association of Clinical Medicine* 2004;5(3):218-25.

Sörhede Winzell M, Ahren B. The high-fat fed mouse: a model for studying mechanisms and treatment of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Diabetes* 2003;52(1):350.

Srividhya S, Ravichandran MK, Anuradha CV. Metformin attenuates blood lipid peroxidation and potentiates antioxidant defense in high fructose-fed rats. *Journal of Biochemistry, Molecular Biology and Biophysics*. 2002;6(6):379-385.

Stadtman ER. Oxidation of free amino acids and amino acid residues in protein by radiolysis and metal catalyzed reactions. *Annu Rev Biochem* 1993;62:797-821.

Stevens C, Bergman AJ, Liu Q, Luo W, Wang AQ. Lack of clinically significant effect of moderate hepatic insufficiency on the pharmacokinetics of MK-0431 (sitagliptin), a dipeptidyl-peptidase-IV inhibitor. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 2006;79:49.

Sekeroglu MR, Sahin H, Dulger H, Algun E. The effect of dietary treatment on erythrocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and serum lipid peroxidation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clinical Biochemistry* 2000;33:669-74.

Sekeroğlu MR, Kati I, Noyan T, Dülger H, Yalçinkaya AS. Alterations in the biochemical markers of renal function after sevoflurane anaesthesia. *Nephrology (Carlton)*. 2005;10(6):544-547.

Tafazoli S, Mashregi M, O'Brien PJ. Role of hydrazine in isoniazid-induced hepatotoxicity in a hepatocyte inflammation model. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2008;229(1): 94-101.

Tanaka-Amino K, Hatakeyama Y, Takakura S, Mutoh S. Constitutive increase in active GLP-1 levels by the DPP4 inhibitor ASP4000 on a new meal tolerance test in Zucker fatty rats. *Pharmacological Research* 2009; 60(4):264-269.

Thomas MJ. The role of free radicals and antioxidants. How do we know they are working? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 1995;35(1-2):21-39.

Thornberry NA, Weber AE. Discovery of JANUVIA (Sitagliptin), a selective dipeptidyl peptidase IV inhibitor for the treatment of type 2 diabetes. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 2007;7(6):557-568.

Thornberry NA, Gallwitz B. Mechanism of action of inhibitors of dipeptidyl-peptidase-4 (DPP-4). *Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism* 2009;23(4):479-486.

Tiedge M, Lortz S, Drinkgern J, Lenzen S. Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidative defense status of insulin-producing cells. *Diabetes* 1997;46:1733-1740.

Tiedge M, Lortz S, Munday R, Lenzen S. Complementary action of antioxidant enzyme in the protection of bioengineered insulin-producing RIN m5f cells against the toxicity of reactive oxygen species. *Diabetes* 1998;47(10):1578-1585.

Tiwari A. Linagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor for the treatment of type 2 diabetes. *Current Opinion in Investigational Drugs* 2009;10(10):1091-1104.

Tokaç D. Bitkisel kaynaklı fenolik bileşiklerin oksidatif DNA hasarına etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ankara, Türkiye 2007.

Tuma RS. Retinoids and lung cancer: targeting the right population. *Journal of the National Cancer Institute* 2002;94(13):969-970.

Vaghasiya JD, Sheth NR, Bhalodia YS, Jivani NP. Exaggerated liver injury induced by renal ischemia reperfusion in diabetes: effect of exenatide. *Saudi Journal of Gastroenterology* 2010;16(3):174-80.

Van Dam PS, Van Asbeck BS, Erkelens DW, Marx JJ, Gispen WH, Bravenboer B. The role of oxidative stress in neuropathy and other diabetic complications. *Diabetes Metabolism Reviews* 1995;11(3):181-192.



Vantuyghem MC, Balduyck M, Zerimech F, Martin A, Douillard C, Bans S, Degand PM, Lefebvre J. Oxidative markers in diabetic ketoacidosis. *Journal of Endocrinological Investigation* 2000;23(11):732-736.

Vilsboll T, Krarup T, Madsbad S, Holst JJ. No reactive hypoglycaemia in Type 2 diabetic patients after subcutaneous administration of GLP-1 and intravenous glucose. *Diabetic Medicine* 2001;18:144-149.

Vilsboll T. Initial combination therapy with sitagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, and metformin for patients with Type 2 diabetes mellitus. *Expert Review of Endocrinology and Metabolism* 2008;3(1):13-19.

Vincent SH, Reed JR, Bergman AJ, Elmore CS, Zhu B, Xu S, Ebel D, Larson P, Zeng W, Chen L, Dilzer S, Lasseter K, Gottesdiener K, Wagner JA, Herman GA. Metabolism and excretion of the dipeptidyl peptidase 4 inhibitor [<sup>14</sup>C]sitagliptin in humans. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals* 2007;35(4):533-538.

Way KJ, Katai N, King GL. Protein kinase C and the development of diabetic vascular complications. *Diabetic Medicine* 2001;18(12):945-959.

Wesley UV, McGroarty M, Homoyouni A. Dipeptidyl peptidase inhibits malignant phenotype of prostate cancer cells by blocking basic fibroblast growth factor signaling pathway. *Cancer Research* 2005;65(4):1325-34.

West IC. Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabetic Medicine* 2000;17:171-180.

Wheeler, C.R., Salzman, J. A., Elsayed, N. M., Omaye, S. T., Korte, DW. Automated assays for superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and glutathione reductase activity. *Analytical Biochemistry* 1990;184:193-199.

Whiting PH, Kalansooriya A, Holbrook I, Haddad F, Jennings PE. The relationship between chronic glycaemic control and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *British Journal of Biomedical Science* 2008;65(2):71-74.

Wierzba J, Korpala-Szczyrska M, Balcerska A, Kamińska H. Sudden death caused by myocarditis in a 14-year old boy with type I diabetes. *Endokrynologia, Diabetologia I Choroby Przemiany Materii Wieku Rozwojowego* 2004;10(1):49-51.

Woo KT, Wong KS, Chan CM. Clinical trials of the past decade in the management of chronic kidney disease. *Reviews on Recent Clinical Trials* 2009;4(3):159-162.

Wood ES and Simith CA. *Molecular and Cell Biochemistry*, Chapman and Hall, Hong Kong 1991.

Wright D, Maes A, Yi B, Bergman AJ, Liu Q, Lasseter KC, Gottesdiener KM, Wagner JA and Herman GA. Multiple dose administration of MK-0431 (sitagliptin), an inhibitor of dipeptidyl peptidase-IV, does not meaningfully alter the plasma pharmacokinetics or pharmacodynamics of single doses of warfarin. *Clinical Pharmacology Therapeutics* 2006;79:P76.

Yardımcı-Akaydın S, Sepici A, Özkan Y, Torun M, Şimşek B, Sepici V. Oxidation of uric acid in rheumatoid arthritis: Is allantoin a marker of oxidative stress. *Free Radical Research* 2004;38(6):623-628.

Yardıı-Akaydın S, Sepici A, Özkan Y, Şimşek B, Sepici V. Evaluation of allantoin levels as a new marker of oxidative stress in Behçet's disease. *Scandinavian Journal of Rheumatology* 2006;35(1):61-64.

Yazıcı C, Köse K. Melatonin karanlığın antioksidan gücü, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 2004;13(2):56-65.

Yılmaz M, Biri A, Karakoc A. The effects of rosiglitazone and metformin on insulin resistance and serum androgen levels in obese and lean patients with polycystic ovary syndrome. *Journal of Endocrinological Investigation* 2005;28:1003-1008.

Zarowitz BJ, Conner C. The intersection of safety and adherence: new incretin-based therapies in patients with type 2 diabetes mellitus. *Pharmacotherapy* 2009;29(12/2):55-67.

Zerilli T, Pyon EY. Sitagliptin phosphate: A DPP-4 inhibitor for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Clinical Therapeutics* 2007;29(12):2614-2634.

Zima T, Crkovska J, Merta M, , Stipek S, Nemecek K ve Tesar V. Activity of the antioxidant enzymes, glutathione peroxidase, on autosomal dominant 5 4 polycystic kidney disease patient. *Biochemical Molecular Biology International* 1995;35(4):699-704.

## ÖZGEÇMİŞ

İzmir ili Konak ilçesinde 1980 yılında doğdu. İlkokul, ortaokul ve lise eğitimini Trabzon'da tamamladı. Lisans eğitimini 1998 yılında başladığı Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden 2002 yılında mezun olarak bitirdi. 2007 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladı. Serbest eczacı olarak başladığı meslek hayatına halen İzmir ili Karşıyaka ilçesinde devam ettirmektedir.

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamda ilgi, yardım ve hoşgörüsünü eksik etmeyen danışmanım Doç. Dr. Cavit KUM'a, tecrübelerini paylaşan ve manevi desteğini esirgemeyen ADÜ Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji ABD Başkanı Prof. Dr. Ferda AKAR ile Anabilim Dalı diğer öğretim üyelerinden Doç. Dr. Cengiz GÖKBULUT ve Yrd. Doç. Dr. Selim SEKKİN'e, çalışmanın özellikle deneysel aşamasında yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Murat BOYACIOĞLU'na ve Araş. Gör. Hande Sultan YALINKILINÇ 'a sonsuz destek ve anlayışlarından dolayı teşekkür ederim.

Beni bugünlere getirerek sabır ve özverisini esirgemeyen annem Ayşe KOSAT ve babam Mustafa KOSAT'a, manevi desteğini eksik etmeyen kardeşim Oktay KOSAT ile çalışma arkadaşlarıma, her zaman yanımda oldukları için sonsuz teşekkür ederim.