TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DİYABET VE YÜKSEK YAĞLI DİYETİN SIÇANLARDA ALDO-KETO REDÜKTAZ ENZİM AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Evin YILMAZ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Net Daş EVCİMEN

2011- ANKARA

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DİYABET VE YÜKSEK YAĞLI DİYETİN SIÇANLARDA ALDO-KETO REDÜKTAZ ENZİM AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Evin YILMAZ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Net Daş EVİMEN

2011- ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Biyokimya Yüksek Lisans Programı

çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir

Tez Savunma Tarihi: 25/ 05/ 2011

Prof Dr. Serpil NEBİOĞLU
Ankara Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Zeliha BÜYÜKBİNGÖL
Ankara Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi

Prof. Dr. Fügen AKTAN
Ankara Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi

Doç. Dr. Net DAŞ EVCİMEN
Ankara Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi

Doç. Dr. Nuray YAZIHAN
Ankara Üniversitesi
Tıp Fakültesi

ÖNSÖZ

Bu çalışmada wistar cinsi erkek sıçan karaciğer dokusunda aldo-keto redüktaz süperailesi enzimlerinin diyabet ve obezite koşullarındaki aktivite düzeyleri in vitro spektrofotometrik bir çalışma ile test edilmiştir.

Yüksek lisans eğitimim süresince bilimsel bakış açısı, disiplini ve şevkati ile her zaman yanımda olan, bana yol gösteren, sabır ve hoşgörüsüyle beni her zaman destekleyen çok saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. Net. DAŞ EVCİMEN' e çok teşekkür ederim.

Ayrıca Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya A.B.D. Başkanı Prof. Dr. Serpil NEBİOĞLU başta olmak üzere tüm hocalarıma teşekkür ederim.

Tez çalışmam sürecinde katkılarından dolayı Konya Selçuk Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji A.B.D öğreti üyesi Prof. Dr. Ahmet Levent BAŞ' a, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyopatoloji B.D. öğretim üyesi Doç Dr. Nuray YAZIHAN' a teşekkür ederim.

Deneylerim süresince bana her konuda yardımlarını esirgemeyen Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya A.B.D. araştırma görevlisi Uzm. Ecz. Arzu Zeynep KARABAY, Uzm. Ecz. Filiz BAKAR ve Dr. Bio. Aslı KOÇ' a ve tüm arkadaşlarıma benim yanımda oldukları ve yardımları için çok teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca her zaman yanımda olan, sevgi ve hoşgörüsünü hiçbir zaman esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay ii
Önsöz iii
İçindekiler iv
Simgeler ve Kısaltmalar vi
Şekiller viii
Çizelgeler ix

1. GİRİŞ

1.1. Diyabetin Tanımı 2
1.2.. Diyabet Sınıflandırılması 4
1.2.1. Tip 1 Diyabet 6
1.2.1.1. İmmünolojik Diyabet 6
1.2.1.2. İdiyopatik Diyabet 7
1.2.2. Tip 2 Diyabet 7
1.3. Diyabetik Komplikasyonlar 9
1.3.1. Makrovasküler Komplikasyonlar 10
1.3.2. Mikrovasküler Komplikasyonlar 12
1.3.2.1. Diyabetik Retinopati ve Katarakt 12
1.3.2.2. Diyabetik Nöropati 13
1.3.2.3. Diyabetik Nefropati 14
1.4 Diyabetik Komlikasyonlarla İlişkili Metabolik Yolaklar 15
1.4.1 Poliol Yolağı 16
1.4.2 Heksozamin Yolağı 19
1.4.3. Protein Kinaz C yolağı 20
1.4.4. İleri Glikasyon Ürünlerinin Oluşumu 21
1.5. Aldo-keto Redüktaz Süperailesi 23
1.5.1. Aldehit Redüktaz 24
1.5.2. Aldoz Redüktaz 25

1.5.3. İnce Barsak Aldoz Redüktaz 31
1.5.4. Hidroksisteroit Dehidrogenazlar 32
1.5.5. Δ4-3 Ketosteroit-5-β Redüktaz 34
1.5.6. Kvβ Proteinleri 34
1.5.7. Aflatoksin Redüktaz 35
1.6. Obezite 36
1.6.1 Obezitenin Tanımı 36
1.6.2. Obezite ve Diyabet İlişkisi 37

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Gereçler 43
2.1.1. Kullanılan Cihazlar 43
2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler 43
2.1.3. Materyal 44
2.2. Yöntem 45
2.2.1. Protein Miktar Tayini 45
2.2.2. Aldo-keto Redüktaz Enzim İzolasyonu 46
2.2.3. Aldo-keto Redüktaz Aktivite Tayini 46
2.2.4. Veri Analizleri 48
2.2.4.1. Lineer Regresyon Analizi 48
2.2.4.2. İstatistiksel Analiz 48

3. BULGULAR 49
4. TARTIŞMA 58
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 62
ÖZET 63
SUMMARY 64
KAYNAKLAR 65
EKLER 80
Ek-1. Hayvan Yerel Etik Kurulu 80
ÖZGEÇMİŞ 81

SİMGELER ve KISALTMALAR

ADA : Amerikan Diyabet Birliği (American Diabetes Association)
AGE : İleri Glikasyon Son Ürünü (Advanced Glycation Endproduct)
AKR : Aldo-keto Redüktaz
AKR1A1 : Aldehit Redüktaz
AKR1B1 : Aldoz Redüktaz
AKR1B10 : İnce Bağırsak Aldoz Redüktaz
AKR1C : Hidroksisteroid Dehidrogenazlar
AKR1D : Δ4-3 Ketosteroit-5-β Redüktaz
AKR6 : Kvβ Proteinleri
AKR7A : Aflatoksin Redüktaz
AR : Aldoz Redüktaz
BSA : Sığır Serum Albumin (Bovin Serum Albumine)
$cPLA_2$: Sitosolik Fosfolipaz A_2 (Cytosolic phospholipase A_2)
DAG : Diaçilgliserol
DCCT : Diabetes Control and Complications Trial
ER : Endoplazmik Retikulum
ET-1 : Endotelin-1 (Endothelin-1)
GABA : γ-Aminobütirik asit
GAPDH : Gliseraldehit-3-fosfat-dehidrogenaz
GFAT : Glutamin:fruktoz-6-fosfat amino transferaz
GlcN-6-P : Glukozamin-6-fosfat
GSH : Redükte Glutatyon
GSSG : Okside Glutatyon
ICA : Adacık Hücre Antikorları (Islet Cell Antibodies)
ICAM : Hücre İçi Adezyon Molekülü (Intracellular Adhesion Molecule)
IDDM : İnsüline Bağımlı Diyabet (Insulin Dependent Diabetes Mellitus)
IFG : Bozulmuş Açlık Glukozu (Impaired Fasting Glucose)
IGT : Bozulmuş Glukoz Toleransı (Impaired Glucose Tolerance)
IL : İnterlökin

LDL : Düşük Dansiteli Lipoprotein (Low Density Lipoprotein)

MAPK : Mitojen Aktive Edici Protein Kinaz (Mitogene Activated Protein Kinase)

NDDG : Amerikan Ulusal Diyabet Veri Toplama Grubu (National Diabetes Data Group)

NFk-B : Nükleer Faktör Kapa B (Nuclear Factor Kappa B)

NIDDM : İnsüline Bağımlı Olmayan Diyabet (Non-insulin Dependent Diabetes Mellitus)

NO : Nitrik Oksit

NOS : Nitrik Oksit Sentaz

PAI-1 : Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1 (Plasminogen Activator Inhibitor1)

PG : Prostaglandin

PKC : Protein Kinaz C

ROS : Reaktif Oksijen Türleri (Reactive Oxygen Species)

SD : Sorbitol Dehidrogenaz

SSA : Süksiniksemialdehit

STZ : Streptozotosin

TGF : Dönüştürücü Büyüme Faktörü (Transforming Growth Factor)

TNF-α : Tümör Nekroz Faktör-Alfa

UDP-GlcNAc: Uridin-5'-difosfat-N-asetil glukozamin

UKPDS : United Kingdom Prospective Diabetes Study

VCAM : Vasküler Hücre Adezyon Molekülü (Vascular Cell Adhesion Molecule)

VEGF : Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (Vascular Endothelial Growth Factor)

VKİ : Vücut Kitle İndeksi

WHO : Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)

YYD : Yüksek Yağlı Diyet

ŞEKİLLER

Şekil 1.1: Diyabetik komplikasyonlara yol açan yolaklar 16

Şekil 1.2: Poliol yolağı 18

Şekil 1.3: Aldoz redüktaz enziminin kristal yapısı 28

Şekil 1.4: Aldoz redüktaz enziminin aktif bölge kalıntıları 29

Şekil 1.5: AKR1C3 enziminin Prostaglandin F sentaz enzimi gibi davranarak sentez işleminde yer alması 33

Şekil 1.6: İnsülin ile glukoz ve yağ asitleri arasındaki ilişki 42

Şekil 3.1: 0., 3. ve 6. haftalarda kontrol, diyabetik ve yüksek yağlı diyet gruplarının ağırlık değişimleri 51

Şekil 3.2: 0. ve 6. haftalarda kontrol, diyabetik ve yüksek yağlı diyet gruplarının glukoz düzeyleri 53

Şekil 3.3: Protein miktar tayini 54

Şekil 3.4: Artan protein miktarına bağlı olarak değişen enzim aktivitesi 55

Şekil 3.5: Kontrol, diyabetik ve yüksek yağlı diyet gruplarının enzim aktivitesi ortalama değerleri 57

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1: Diyabetin tanı kriterleri 3

Çizelge 1.2: Diyabetin etiyolojik sınıflaması 5

Çizelge 1.3: İnsan aldo-keto redüktazlarının filogenetik ağacı 24

Çİzelge 1.4: İnsan dokularında bulunan aldoz redüktaz konsantrasyonları 27

Çizelge 1.5: WHO'nün belirlemiş olduğu obezite tanısına göre VKİ'leri 37

Çizelge 1.6: Obezite ve insülin direnci 39

Çizelge 3.1: 0., 3. ve 6. haftalarda kontrol, diyabetik ve yüksek yağlı diyet gruplarının ağırlık değişimleri 51

Çizelge 3.2: 0. ve 6. haftalarda kontrol, diyabetik ve yüksek yağlı diyet gruplarının glukoz düzeyleri 52

Çizelge 3.3: Kontrol, diyabetik ve yüksek yağlı diyet gruplarının enzim aktivitesi ortalama değerleri 56

1. GİRİŞ

Obezite, dünyada ve ülkemizde hızla artan önemli bir sağlık sorunudur. Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organisation, WHO) obeziteyi ciddi sorunlara yol açabilen önemli bir hastalık olarak kabul etmektedir. Diyabet, hipertansiyon, ateroskleroti̇k damar hastalığı, solunum sistemi hastalıkları, sindirim sistemi hastalıkları, eklem hastalıkları ve psikolojik rahatsızlıklar bu hastalıkların bazılarıdır..

Tip 2 diyabet, obezitenin neden olduğu hastalıkların başında gelmektedir. Toplumumuzda tip 2 diyabetin, prevelansı % 7'lerde olup, obezite ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Obez bireylerde ağırlık kaybının tip 2 diyabet görülme riskini önemli şekilde düşürdüğü bilimsel çalışmalarda gösterilmiştir. Hiperglisemi ile karakterize edilen tip 2 diyabette glukozun hücrelere girişinin artması poliol yolağının ilk enzimi olan aldoz redüktaz enzimin aktivitesinin artmasına neden olmaktadır. Normal koşullar altında bu yolak hücrelerin osmotik dengesini sağlamakta, enerji ihtiyacını karşılamakta ve toksik yapıdaki aldehitleri detoksifiye etmektedir. Poliol yolağındaki artış hücrelerde sorbitol ve fruktoz birikimine neden olmakta, protein kinaz C, ileri glikasyon yolağı ve heksozamin yolağı gibi yolakların aktivasyonun artmasına neden olmaktadır. Hücrelerde meydana gelen bu değişiklikler diyabete bağlı olarak gelişen ikincil komplikasyonlara neden olmaktadır. Bu nedenle kan glukoz düzeyinin belli sınırlar içerisinde tutulması organizma için çok önemlidir. Kan glukoz düzeyindeki denge, karaciğer tarafından glukoz üretimi ve çevre dokular tarafından glukozun kullanımının hormonal mekanizma ile düzenlenmesiyle sağlanmaktadır.

Aldoz redüktaz ve aldehit redüktaz enzimi aldo-keto redüktaz enzim ailesinin önemli iki üyesidir. Aldo-keto redüktaz süperailesine ait diğer üyelerin yapısal özellikleri birbirleri arasında önemli derecede benzerlikler göstermektedir. Karaciğerde aldo-keto redüktaz ailesine ait enzimler önemli konsantrasyonlarda

ekspresse edilmektedir. Birçok araştırmada yüksek yağlı diyetle beslenme sonucunda tip II diyabetin ortaya çıktığı gösterilmiştir ve aldo-keto redüktaz enziminin karaciğer dokusunda belli konsantrasyonlarda bulunması ve bu dokunun metabolizma, diyabet ve obezite açısından önemli olması nedenleri ile planlanan bu çalışmada aldo-keto redüktazın diyabet ve yağlı diyetteki olası aktivite değişikliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

1.1 Diyabetin Tanımı

Diyabet, dolaşımdaki insülin düzeyi ve/ veya dokuların insüline yanıt veren reseptörlerinin yetersizliği sonucu kan glukoz düzeyinin artışı ile karakterize metabolik bir sendromdur (Anonymous, 1997).

Diyabet, glukoz metabolizması bozukluğu olduğu için tanıda farklı koşullarda glukoz ölçümleri kullanılır (Anonymous, 1997; Anonymous, 2004).

Diyabetin kesin tanısından önce ortaya çıkan belirtiler aşırı susama (polidipsi), aşırı idrara çıkma (poliüri), aşırı yeme (polifaji) ve kilo kaybıdır. Glukoz ölçümlerine ek olarak idrarda glukoz varlığı (glukozüri) ve keton cisimciklerinin varlığının (ketonüri) aranması tanıda destekleyici testler olarak yapılmaktadır (Anonymous, 1997).

Amerikan Diyabet Birliği (American Diabetes Association, ADA) ve Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization, WHO) tarafından belirlenmiş ölçümler tanı kriterlerinde esas olarak alınmaktadır. Belirlenen tanı kriterlerine göre rasgele bir zamanda alınan plazma glukoz değerinin $\geq$126 mg/dl olması diyabet olarak tanımlanmıştır (Tablo 1), (ADA, 1997; WHO, 1999a; Anonymous, 2003).

Diyabet ⇨	- Diyabet semptomlarına ek olarak rasgele bir zamanda alınan plazma glukoz değerinin ≥ 200 mg/ dl (11,1mmol/L) olması. - Açlık plazma glukoz değerinin ≥126 mg/dl (7,0 mmol/L) olması (en az 2 ölçümde) . -Oral glukoz tolerans testinde (OGTT) 2.saat plazma glukoz değerinin ≥200 mg/dl olması.
Bozulmuş glukoz toleransı ⇨	Açlık plazma glukozunun <126 mg/dl (7.0 mmol/L) olması ve OGTT'de 2 saat glukoz değerinin ≥140 mg/dl (7.7mmol/L), <200 mg/dl (11.1mmol/L) olması.
Bozulmuş açlık glukozu ⇨	Açlık plazma glukoz değerinin ≥110 mg/dl (6mmol/L) <126 mg/dl (7.0 mmol/L) olması.
Gestasyonel Diyabet ⇨	Eğer açlık plazma glukozu 105 mg/dl'nin veya OGTT'nin 1.saatindeki plazma glukoz değeri 140 mg/dl'nin üzerinde ise tanı amaçlı 100 mg glukoz ile OGTT tekrarlanır. Bu testte aşağıdaki değerlerden en az iki kritere ulaşılmışsa gestasyonel diyabet tanısı konur. o Açlık ≥105mg/dl (5,8 mmol/L), o 1.saat ≥190mg/dl (10,6mmol/dl), o 2.saat ≥165mg/dl (9.2 mmol/dl), o 3.saat ≥145mg/dl

Çizelge 1.1**:** Diyabetin tanı kriterleri (Anonymous, 2004)

Açlık kan glukoz düzeyi 100-125 mg/dl arasında olan bireyler için 'Bozulmuş Açlık Glukozu' (Impaired Fasting Glucose, IFG) tanımı yapılmaktadır. Bu bireylerde kesin tanının belirlenebilmesi için oral glukoz testinin yapılması öngörülmüştür. Oral glukoz testinde 2. saat sonunda plazma glukoz seviyesinin

140-200 mg/dl aralığında çıkması IFG' nin kesin tanı kriteri olarak belirlenmiştir. Bu değerlere de 'Bozulmuş Glukoz Toleransı' (IGT) adı verilmektedir (Çizelge 1.1), (ADA, 2004).

Oral glukoz tolerans testinde 200 mg/dl' nin üzerinde çıkan glukoz seviyesi için ise doğrudan diyabet tanısı konulmaktadır (Anonymous, 2003).

1.2 Diyabetin Sınıflandırması

Diyabetin sınıflandırılması 1979 yılında Amerikan Ulusal Diyabet Veri Grubu (National Diabetes Data Group, NDDG) ve 1985 yılında WHO tarafından yapılmıştır (Anonymous, 1999; Anonymous, 2002). 2003 yılında ADA tarafından tekrar gözden geçirilmiş ve günümüzde halen geçerliliğini koruyan şekline getirilmiştir (Çizelge 1.2)

Diyabet tüm dünyada yaklaşık 100 milyon insanda görülmektedir. Bu 100 milyon hastanın yaklaşık % 5-10'unda Tip 1 diyabet (insülin bağımlı diyabet, Insuline Dependent Diabetes Mellitus, IDDM), % 90-95'inde ise Tip 2 diyabet (insülin bağımlı olmayan diyabet, Non-insuline Dependent Diabetes Mellitus, NIDDM) bulunmaktadır (Anonymous, 2009; Anonymous, 2010).

⇨ Tip 1 diyabet (İnsüline bağımlı diyabet, gençlik diyabeti, (Insuline Dependent Diabetes mellitus-IDDM)

A- İmmunolojik

B- İdiopatik

⇨ Tip 2 diyabet (İnsüline bağımlı olmayan diyabet, yetişkin diyabeti, Non-insuline Dependent Diabetes mellitus, NIDDM)

⇨ Diğer spesifik tipler

A- Beta hücre fonksiyonunda genetik defekt

B- İnsülin etkisinde genetik defekt

C- Ekzokrin pankreas hastalıkları

D- Endokrinopati

E- İlaç yada kimyasallara bağlı

⇨ Gestasyonel Diyabet

Çizelge 1.2: Diyabetin Etiyolojik sınıflaması (Kahn ve ark., 2005)

1.2.1 Tip 1 Diyabet

Pankreasın insülin salgılayan beta hücrelerinin otoimmün (genetik faktörler, insan lökosit antijeni, T lenfosit ve makrofajların otoimmün saldırısı) olarak hasar görmesi sonucunda gelişen hiperglisemi tip 1 diyabet olarak tanımlanmaktadır. Tip 1 diyabette pankreastaki harabiyet sonucu insülin sekresyonu ya tamamen yoktur ya da organizma için yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle insüline bağımlı Diabetes mellitus ya da erken yaşta ortaya çıkması nedeni ile gençlik diyabeti olarak da bilinmektedir (ADA, 1997; Anonymous, 1999).

Tip 1 diyabet her yaş grubunda görülebilir. Ancak, en çok 7- 15 yaşlarında ortaya çıkmaktadır (Alemzadeh ve Wyett, 2004). Tip 1 diyabetin tanısında polidipsi, ketoasidoz, lipoliz ve kilo kaybı görülmektedir.

Etiyolojik olarak tip 1 diyabette genetik, çevresel ve otoimmün faktörler baskındır. Genetik defektler, virüsler, dışsal uyaranlar pankreas beta hücrelerine otoimmün saldırıda bulunarak hastalığı tetiklemekte ve 5-10 yıllık bir süreçte hastalık tamamen kendini göstermektedir (Haller, 2005).

Tip 1 diyabet otoimmüniteye bağlı olarak immünolojik ve idiyopatik olarak 2 grupta sınıflandırılmaktadır.

1.2.1.1 İmmünolojik Diyabet

Genetik olarak diyabete yatkın olan bireylerde dış etkenlerle birlikte hastalık tetiklenir. Virüsler, stres, fiziksel ve kimyasal uyaranların pankreasın beta hücrelerine yapmış oldukları uyarı sonucu T-lenfosit ve makrofaj hücreleri immün yanıt oluştururlar. Bunun sonucunda beta hücrelerinde amiloid plaklar

oluşur ve insülin salgılama kapasitesi azalır veya tamamen kaybolur. Bu harabiyetin gösterdiği patolojiye 'insülitidis' denir (Devendra ve ark., 2004).

Bu bireyler yaşamları boyunca dışarıdan insülin takviyesine ihtiyaç duyarlar (Devendra, 2004).

1.2.1.2 İdiyopatik Diyabet

İdiyopatik tip 1 diyabetin etiyolojisinde geniş kentsel alanlarda yaşayan zenci obez bireyler yer alır. Bu bireylerde adacık hücre antikoru (Islet Cell Antibodies, ICA) negatif olmasına rağmen insülin yetersizliği görülmektedir. Tedavileri süresince insüline gereksinim duyarlar. İdiyopatik diyabette de beta hücrelerinde harabiyet gözlenmiştir fakat patogenezi halen kesin olarak bilinmemektedir (Anonymous, 1999). Son yapılan çalışmalar sonucu idiyopatik tip 1 diyabetin lipotoksisite, glukoz toksisitesi ve transkripsiyon faktörleri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Pinero- Pilona ve ark., 2001).

1.2.2 Tip 2 Diyabet

Diyabetik hastaların ortalama % 90'ı tip 2 diyabettir. Genellikle orta yaş ve üzerinde hastalık kendini gösterdiği için erişkin başlangıçlı diyabet de denilmektedir. Hastalığın gelişiminde obezite, genetik faktörler, yaşlanma, stres ve hareketsiz yaşam şekli gibi faktörlerin önemli olduğu bilinmektedir (Zimmet, 2001; Sacks, 2005).

Tip 2 diyabet pankreastaki beta hücrelerinin fonksiyon bozukluğu nedeni ile insülin hormonunun salgılanmasındaki yetersizlik ve/veya insüline bağımlı olan periferik dokularda (karaciğer, kas ve yağ dokusu gibi dokular) insüline yanıt

verme yeteneğinin azalması yani insülin direncinin oluşması sonucunda gelişir. (Pratley ve Weyer, 2001; Patricia, 2003; Gilligan ve Spector, 1984).

İnsülin, plazma glukozunun enerji üretiminde kullanılması veya glikojen şeklinde depolanması için kas ve yağ dokularına taşınmasını sağlamaktadır. Ayrıca insülin glukojenoliz ve glukoneogenezi inhibe ederek hepatik glukoz üretimini de engellemektedir. Ancak genetik ve çevresel faktörler nedeniyle periferik dokularda oluşan insülin direnci sonucu plazma glukoz düzeyi artmaktadır. Plazma glukoz düzeyini düşürmek için pankreatik beta hücrelerinden daha fazla insülin salgılanmaktadır. Bunun sonucunda pankreasın aşırı çalışmasına bağlı olarak β-hücrelerinde fonksiyon bozukluğu meydana gelmekte ve insülin salgılanması azalmaktadır. Buna bağlı olarak da kan glukoz düzeyi artmakta ve diyabet oluşmaktadır (Jain ve Saraf, 2008).

Tip 2 diyabetin gelişiminde primer rolü genetik faktörler oluşturmaktadır. Monozigot ve heterozigot ikizlerde yapılan genetik araştırmalar neticesinde monozigot ikizlerde % 80 ve üzeri bir yatkınlık, heterozigotlarda ise % 50 oranında bir genetik yatkınlık olduğu ortaya çıkmıştır (WHO, 1999b; Radha ve Mohan, 2007). Birinci derecede akrabalar üzerine yapılan çalışmalarda tip 2 diyabette, akraba bireylerin diyabet riskini % 45-80 oranında arttırdığı kanıtlanmıştır (Anonymous, 2000; ADA, 2000).

Günümüzde tip 2 diyabetin gelişiminde genetik faktörlerin yanı sıra obezite de çok önemli rol oynamaktadır. Obezite sonucu gelişen insülin direncinin neden olduğu tip 2 diyabetin dengeli beslenme ve egzersiz ile kilo kontrolünün yeniden sağlanması sonucu kontrol altına alınabildiği görülmüştür (WHO, 1999b; Hu ve ark., 2001; Tanasescu ve ark., 2001).

1.3 Diyabetik Komplikasyonlar

Diyabet hiperglisemi ile karakterize edilmektedir. Hipergliseminin etkilediği 4 temel metabolik mekanizma bulunmaktadır ve bu mekanizmalarında birbirleri ile olan etkileşimleri diyabetik komplikasyonları meydana getirmektedir. Bu mekanizmalar; poliol yolağı, glukoz oksidasyonu, protein kinaz C (PKC) aktivasyonu ve ileri glikasyon ürünleri (AGE) oluşumudur (Brownlee, 2001; Yamagishi, 2004; Oates, 2008).

Bu yolakların aktivasyonu sonucu öncelikli olarak oluşan oksidatif stres ile endotel fonksiyon bozuklukları oluşmakta ve böylece diyabetik vasküler komplikasyonlar meydana gelmektedir (UKPDS, 1998; De Vriese, 2001).

Diyabette mevcut olan hiperglisemi sonucunda insülinden bağımsız olan lens, retina, periferal sinir sistemi, renal glomerulus ve endotelyal dokularda da metabolik defektler oluşmaktadır (Robinson, 1983; Nishimura, 1987; King, 2005).

Bu dokularda oluşan defektler zamanla katarakt, diyabetik retinopati, nöropati ve nefropati gibi komplikasyonlarla kendini göstermektedir. Bu komplikasyonlara mikrovasküler komplikasyonlar adı verilmektedir. Kardiyovasküler, periferal arteriyel ve serebrovasküler semptomlara ise makrovasküler komplikasyonlar adı verilmektedir.

Makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlar tip 1 ve tip 2 diyabetli hastaların ölüm oranlarının yükselmesinde çok önemli bir yere sahiptir (De Vriese, 2000).

1.3.1 Makrovasküler Komplikasyonlar

Makrovasküler komplikasyonlar;

- Kardiyovasküler hastalıklar
- Serebrovasküler hastalıklar
- Periferik damar hastalıkları olarak kendini göstermektedir. Bunlar hiperglisemi sonucu oluşan vasküler fonksiyon kaybına bağlı olarak gelişmektedir.

Diyabetik makrovasküler komplikasyonlarda kardiyovasküler hastalıklara daha sık rastlanmaktadır (Di Carli ve Hachamovitch, 2005; Hamsten. Steiner, 1994; National Diabetes Group, 1995). Kardiyovasküler hastalıklar diyabetiklerde ölüm oranını önemli derecede arttırmaktadır (Ajan ve Grant, 2006). Tip 2 diyabetiklerde diyabetik olmayanlara oranla kardiyovasküler hastalıkların görülme riski 2- 4 kat daha fazladır (Kahn ve ark., 2005). Hipergliseminin kontrol altına alınabilmesinin kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde önemli olduğu bilinmektedir (Carroza, 1993).

Makrovasküler hastalıklar ateroskleroz sonucu meydana gelmektedir. Hiperglisemi ve hiperlipidemi ateroskleroz için önemli birer risk faktörleridir. (Beckman, 2002).

Dislipidemi hiperglisemi ile artan oksidatif stres sonucu oluşan okside LDL ile meydana gelmektedir. Oluşan okside LDL' ler zamanla arterlerin endotel duvarında birikmektedirler. Makrofaj hücreleri ise bu okside LDL' leri yabancı madde olarak tanıyarak fagosite eder ve burada köpük hücreleri oluştururlar. Zamanla bu köpük hücreler damar içi endotelinde aterosklerotik plaklar oluşturup damarın geçirgenliğini azaltır ve damar sertliği olarak da adlandırılan ateroskleroza neden olur (Ajan ve Grant, 2006; Fawler, 2008).

Hiperglisemi ve hiperlipideminin yanı sıra sigara kullanımı, ileri yaş, stres ve hipertansiyon da ateroskleroz gelişimini tetiklemektedir (Armstrong, 1998).

Diyabetiklerde miyokard enfarktüsü genellikle komplikasyonlarla seyreder. Örneğin kalp yetmezliğine çok sık rastlanmaktadır. Fakat belirtiler ve bulgular hafif ya da atipik olabilir. Belirtilerin belirgin olmamasının en olası nedeni olarak otonom ve duyusal nöropatiler gösterilebilir. Bu nedenle diyabetli hastalarda sessiz miyokard iskemisi ve miyokard enfarktüsü görülme sıklığı çok yüksektir (Cipolla ve ark., 1997).

Kontrolsüz hiperglisemi sonucu kan akışı bozulmaktadır ve bu da serebrovasküler fonksiyon bozukluklarına bağlı serebral damar hastalıklarını meydana getirmektedir (Mankovsky ve ark., 1996; Cipolla ve ark., 1997).

Periferik arter hastalıkları diyabetiklerde genellikle alt ekstremiteleri tutarak ülserasyon ve/veya gangrene neden olabilir (Kreines ve ark., 1985). Vasküler fonksiyonların azalması sonucu kan akışı azalır. Bunun sonucunda dokuya yeterli oksijen girişi gerçekleşemez ve iskemi gerçekleşir. Böylece iskemi nedenli ülserasyon ve /veya gangren gelişmektedir (Kreines ve ark, 1985; Lanzern, 2001). Diyabetli hastalarda periferik arter hastalıkların gelişmesi de mortaliteyi arttırabilmektedir (Kreines ve ark., 1985).

1.3.2 Mikrovasküler Komplikasyonlar

Mikrovasküler komplikasyonlar;

- Diyabetik Retinopati
- Diyabetik Nöropati
- Diyabetik Nefropati

Mikrovasküler komplikasyonların ortaya çıkma süreci hipergliseminin süresi ve şiddeti ile ilişkilidir. Yapılan klinik çalışmalar sonucunda hipergliseminin kontrol altında tutulması ile mikrovasküler komplikasyonların oluşum riskinin azaldığı veya oluşan komplikasyonların tedavisinde olumlu sonuçlar elde edildiği gösterilmiştir (The Diabetes Control and Complications Trial, DCTT, 1995; The United Kingdom Prospective Diabetes Study, UKPDS, 1998).

Mikrovasküler komplikasyonların gelişmesinde retina, böbrekler ve sinir dokularında non-enzimatik glikasyon, poliol yolağı ve protein kinaz C (PKC) yolaklarının etkili olduğu düşünülmektedir (İliçin ve ark., 2003; Akpolat ve ark., 2007). Bu mekanizmalara bağlı olarak bu dokularda hiperglisemiye bağlı periferal nöropati, retinopati ve nefropati meydana gelmektedir (Sato, 1992; Oates, 2002; Chibber ve ark., 2007).

1.3.2.1 Diyabetik Retinopati ve Katarakt

Diyabetik retinopati kronik hiperglisemi sonucu gelişen bazal membran kalınlaşması, perisit kaybı ve retinal kapiller permeabilitesindeki değişiklikler sonucunda meydana gelmektedir (Davidson, 1991).

Hiperglisemi sonucu retinopati gelişiminde hemodinamik değişikliklerin, biyokimyasal ve hormonal mekanizmaların etkili olduğu düşünülmektedir. Bu mekanizmaların retinal kan akımının bozulmuş otoregülasyonu, retinal hücrelerle sorbitol birikimi, ekstraselüler sıvıda ileri glikolizasyon son ürünlerinin (AGE) birikimi olduğu ortaya çıkmıştır (Sheetz ve King, 2002). DDCT ve UKPDS'nin 1995 ve 1998 yıllarına ait verilerinde diyabetik hastalarda körlüğün primer nedeni retinopati kaynaklı olduğu gösterilmektedir.

Diyabetik katarkt gelişiminde en önemli faktörü Aldoz Redüktaz (AR) enziminin glukozu sorbitole dönüştürdüğü poliol yolağı oluşturmaktadır. Hiperglisemiye bağlı olarak poliol yolağının aktivitesindeki artışı ile glukoz redüklenerek sorbitole dönüşmektedir. Meydana gelen sorbitoller lenste birikerek ozmotik artışa, membran permeabilitesinde değişikliklere ve katarakt gelişimine neden olmaktadır (Wolfensberger ve Hamilton, 2005; Srivastava, 2005; Van Heyningen, 1959).

1.3.2.2 Diyabetik Nöropati

Diyabetik nöropati hiperglisemiye bağlı poliol yolağı, PKC yolağı ve AGE oluşumunun periferik ve otonom sistemini bozması sonucu gelişen mikrovasküler bir komplikasyondur (Bhada ve ark., 2001; Edward ve ark., 2008). Diyabetik nöropati multifokal bir hastalıktır ve diyabette önemli bir morbidite nedenidir (Fıçıcıoğlu ve ark., 1994; Pfeifer ve Schumer, 1995; Said, 1996).

Diyabetik nöropatinin patogenezinde alt ekstremitede tekrarlayan enfeksiyonlar, ülserasyonlar görülmektedir. Daha sonrasında gelişen ampütasyonlar nedeni ile önemli bir morbidite nedeni olarak gösterilmektedir ve bu risk hastalığın süresi ve hipergliseminin şiddeti ile artmaktadır (Humphrey ve ark., 1994).

İlerlemiş hiperglisemi sonucu sinir hücrelerinde gelişen hasarlar ve bu sinirleri besleyen kan damarlarındaki kan akışının azalması sonucu nöral iskemi meydana gelmektedir. Bunun sonucunda da diyabetik nöropati gelişmektedir (Edward, 2008; Sheetz ve King, 2002).

Kronik hiperglisemi sonucu ileri glikasyon ürünlerinin (AGE) aşırı oluşumu ile bu ürünlerin nöral liflerde birikmesi aksonal taşınmayı bozmakta ve periferal nöropatinin gelişiminde rol oynamaktadır (Wautier ve Schmidt, 2004).

Miyelin proteinlerinin hücreye girişinin azalması ile gelişen miyoinositol eksikliği nedeni ile sinir sisteminde iletim hızı azalmaktadır. Bu eksikliğe Na^+/ K^+/ATPaz enzim aktivitesindeki azalma neden olmaktadır. Na^+/ K^+/ATPaz enzim aktivitesi AR enziminin aşırı aktivasyonu sonucu gelişmektedir. Miyelin proteinin hücreye girişi Na^+' a bağlı olarak gerçekleşmektedir ve bu enzim aktivitesindeki azalma sonucu miyelin proteinlerinin hücreye girişi azalmakta ve sonuçta sinir iletim hızı yavaşlamaktadır (Bhada, 2001; Greene, 1992; Hammerman, 1980).

Yapılan araştırmalar sonucunda hipergliseminin kontrol altına alınması, AR inhibitörlerinin, AGE inhibisyonunun ve antioksidanların diyabetik nöropatinin tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir (Coppey, 2002; Obrossova, 2002).

1.3.2.3 Diyabetik Nefropati

Diyabetik nefropati diyabete bağlı olarak gelişen önemli bir mikrovasküler komplikasyondur. Tip 1 diyabetli hastaların % 25-45 'inde, tip 2 diyabetli hastaların % 15-20'sinde nefropati görülmektedir (Orchard ve ark., 1990). Türk Nefroloji Derneğinin 2006 yılına ait verilerine göre ülkemizde diyalize bağlı

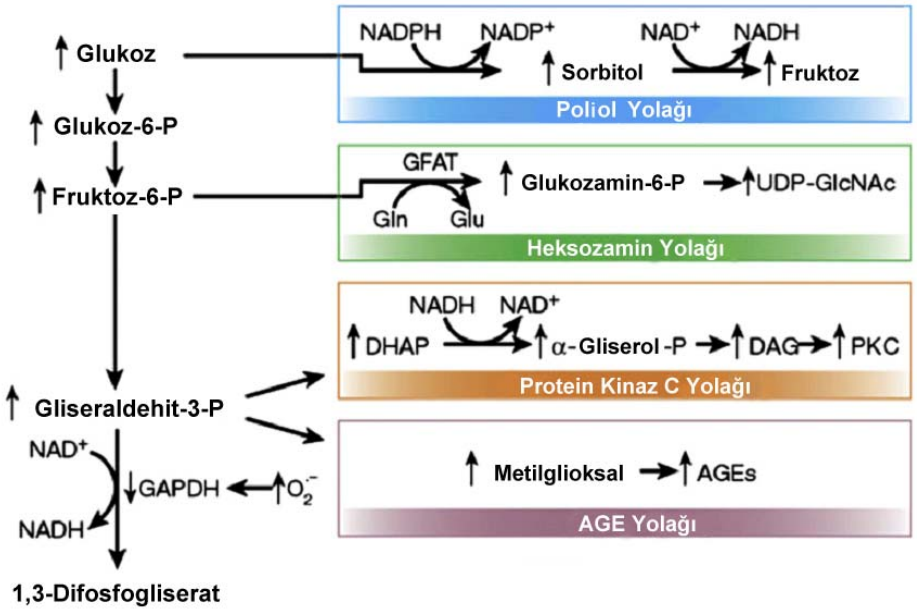
böbrek hastalarının % 28,9 ‘unda diyabete bağlı böbrek yetmezliği görülmektedir (Türk Nefroloji Derneği Yayınları, 2006).

Diyabetik nefropati glomerular filtrasyon oranında azalma ve kan basıncının artması ile gelişen bir komplikasyondur (Costantino ve ark., 1999a). Diyabetik nefropatinin klinik bulgularında hiperfiltrasyon ve mikroalbuminüri gözlenmektedir (Akpolat ve ark., 2007; Mayne, 2001; Hostetler, 1981). Diyabetik nefropanin gelişiminde hiperglisemi ilişkili poliol yolağı, PKC yolağı, non-enzimatik glikasyon ve oksidatif stres rol oynamaktadır.

Diyabetik nefropatide ailede diyabetik nefropati varlığı, kontrolsüz hipertansiyon, kontrolsüz plazma glukoz düzeyi ve erkek cinsiyet önemli risk faktörleridir (Marshall, 2004).

1.4 Diyabetik Komplikasyonlarla İlişkili Metabolik Yolaklar

Bugüne kadar yapılmış olan tüm klinik çalışmalardan elde edilen verilere göre yüksek glukoz düzeyleri diyabetik komplikasyonların patogenezinde en önemli etiyolojik faktöre sahiptir (UKPDS Research Group, 1998; Temelkova-Kurktschiev ve ark., 2000). Fakat hipergliseminin organizmadaki bütün hücreleri etkilemediği saptanmıştır. Örneğin, hiperglisemik vasküler hasarların retinada kapiller endotel hücreler, glomerulusta mezenkimal hücreler ve periferal sinirlerde schwann hücrelerinde meydana geldiği tespit edilmiştir (Brownlee, 2001; Dunlop, 2000). Bu hasarlara 4 intrasellüler mekanizmanın yol açtığı düşünülmektedir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1: Diyabetik komplikasyonlara yol açan yolaklar (Brownlee, 2001).

1.4.1 Poliol Yolağı

Poliol yolağı glukoz metabolizmasını takip eden alternatif bir yolaktır (Jang ve ark., 2009). Hiperglisemi glukoz alımı için insüline gerek duyulmayan dokularda poliol yolağının kullanımını tetiklemektedir (Brownlee, 2001). Son zamanlarda yapılan çalışmalar poliol yolağının hiperglisemik oksidatif stresle ilişkili olabileceğini göstermektedir. (Lee ve Chung, 1999; Pitkanen ve ark., 1992; Kuroki ve ark., 2003).

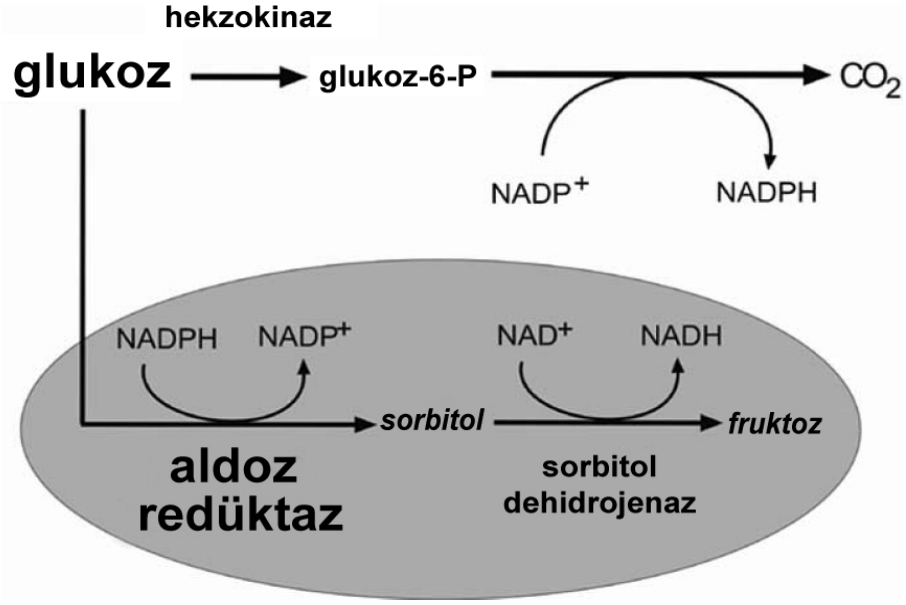
Poliol yolağı glukozun sorbitole ve ardındanda sorbitolün fruktoza dönüştüğü 2 aşamalı bir yolaktır (Şekil 2). Aldoz redüktaz (AR) poliol yolağının ilk enzimidir. Normal koşullarda glukoz hekzokinaz enzimi tarafından fosforillenerek glikoz-6-fosfata (G-6-P) dönüşmektedir. Aldoz redüktaz enzimi fosforile olmamış glukozun % 3' ünü sorbitole dönüştürür. Çünkü aldoz redüktaz enziminin glukoza olan affinitesi çok düşüktür. Meydana getirdiği sorbitol böbreklerdeki

ozmotik regülasyonun düzenlenmesinde kullanılır, sorbitolden oluşan fruktoz ise sperm hücrelerinin enerjisini karşılamaktadır (Mansour, 2007).

Hiperglisemik koşullar altında retina, böbrek, sinir dokuları gibi insülinden bağımsız dokularda yüksek glukoz konsantrasyonu aldoz redüktaz enziminin aktivitesini arttırmaktadır. Çünkü hekzokinaz enzimi glukoz için doygunluğa ulaşmıştır ve aldoz redüktaz enzimi metabolizmadaki glukozun yaklaşık % 33' ünü kullanmaktadır.

Aldoz redüktaz enzimi poliol yolağının ilk enzimidir ve yolakta hız sınırlayıcı rolü vardır. NADPH'dan aldığı elektronları glukoza aktararak glukozun sorbitole dönüşümünü gerçekleştirir. Yolağın ikinci enzimi olan sorbitoldehidrogenaz (SD) ise NAD^+ kofaktörünü indirgeyerek sorbitolü fruktoza oksitler (Şekil 1.2), (Alexiou ve ark., 2009).

Sorbitol hidrofilik özellikte olan bir alkol ürünüdür. Bu nedenle de hücre zarından kolayca geçemez ve hücre içinde birikir. Sorbitolün hücre içinde birikmesi hücrede ozmotik stresin gelişmesine neden olmaktadır. Sorbitol birikimi ile hücrenin su kapasitesi artar ve ozmotik stres meydana gelir ve bu da dokuda ozmotik hasarlar oluşturmaktadır. Böbrekte mezenkimal ve proksimal tübül hücrelerinde sorbitol birikimi miyoinositol miktarı azalmakta ve bunun sonucunda da Na^+/K^+/ATPaz enzim aktivitesini azaltmaktadır. Na^+/K^+/ATPaz enzim aktivitesinin azalması ile vasküler disfonksiyon meydana gelmektedir ve sinir dokusunda intraaksonal sodyum birikmesi sonucunda sinirsel iletim hızı yavaşlar, sinir hücrlerinde morfolojik bozulmalar meydana gelmektedir (Mansour, 2007).



Şekil 1.2: Poliol yolağı (Mansour, 2007)

Retinada sorbitol birikimi oküler lenslerde hiperozmolariteye neden olarak hücrenin permeabilitesini ve hücre içi sodyum-potasyum dengesini bozmaktadır. Hücredeki bu anormal değişiklikler katarakta neden olmaktadır.

AR enzimi tarafından glukozun sorbitole indirgenmesinde kofaktör olarak NADPH' ın kullanılması organizmada NADPH /$NADP^+$ dengesinin bozulmasına neden olmaktadır. NADPH organizmada birçok metabolik yolakta kullanılmaktadır. Örneğin antioksidan savunma sisteminde önemli bir yeri olan okside glutatyonun (GSSG) redükte glutatyona (GSH) dönüşümünü sağlayan glutatyon redüktaz enzimi NADPH' a ihtiyaç duymaktadır. Hücrede GSH eksikliği oksidatif strese yol açmaktadır (Lee ve Chung, 1999).

Organizma için önemli bir vazodilatör olan nitrik oksit (NO) sentezini gerçekleştiren nitrikoksit sentaz (NOS) enzimi de kofaktör olarak NADPH' ı kullanmaktadır. Poliol yolağının aktivitesinin artması sonucu NADPH azalması ile vücutta NO miktarı azalarak damarlarda kan akışı azalır ve sinirsel iletim hızı yavaşlamaktadır (Williamson ve ark., 1993).

Sorbitolün fruktoza dönüşümünde oluşan NADH miktarının artması reaktif oksijen türlerinin (Reactive Oxygen Species, ROS) oluşumuna neden olur. ROS gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH) enzimini inhibe etmektedir. Bu da AR enziminin aktivitesinin artmasına neden olmaktadır.

Diyabetik hayvan modellemeleri üzerinde yapılan birçok deney sonucunda AR enzim inhibitörlerinin kullanılması ile diyabetik komplikasyonların tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir (Zatechka ve ark, 2003, Ramana ve ark., 2003, Calcutt ve ark., 2004, Hallam ve ark., 2006).

1.4.2 Heksozamin Yolağı

Diyabetik koşullar altında hekzosamin yolağının aktivasyonu artmaktadır. Genel olarak bu artış nedeni ile dokularda glukoz taşıyıcılarında insüline karşı direnç meydana gelmektedir.

Bu yolakta, glikolitik yolda G-6-P' tan oluşan fruktoz-6-fosfat (F-6-P) glutamin:fruktoz-6-fosfat aminotransferaz (GFAT) enziminin katalizi ile glutaminden F-6-P' a bir amino grubu transfer etmekte ve böylece glukozamin-6-fosfat (GlcN-6-P) oluşmaktadır. Devam eden farklı enzimatik reaksiyonlar dizisi sonucunda ise GlcN-6-P' tan uridin-5'-difosfat-N-asetilglikozamin (UDP-GlcNAc) meydana gelmektedir. Bu molekül glikolipitlerin sentezi için önemli bir substrattır.

Glukoz konsantrasyonunun aşırı artması ile artan hekzosamin yolağında kullanılan GFAT enziminin aktivasyonunun ve sentezinin artması organizmada glikoz taşıyıcılarının translokasyonunu bozarak bunların insüline karşı direnç geliştirmelerine neden olmaktadır. Böylece iskelet kası ve adipoz doku gibi

insüline bağımlı dokularda glukoz kullanımını bozmaktadır (Kolmlitty ve ark., 1998).

Heksozamin yolağının hiperglisemi ve obezite ile tetiklenen insülin direnci oluşumunda önemli bir rolü bulunmaktadır (Marshall ve ark., 1991; Hawkins ve ark., 1997).

1.4.3 Protein Kinaz C Yolağı

Protein kinaz C'nin (PKC) aktivatörü olan diaçilgliserol (DAG) miktarı diyabetik koşullarda retina, aort, kalp ve renal glomerulide artmaktadır (Daş-Evcimen ve King 2007). Diyabetik koşullarda glikoliz ara ürünü olan gliseraldehit-3-fosfat gliserol-3-fosfata indirgenir ve gliserol-3-fosfat açillenerek DAG' ü meydana gelmektedir. DAG konsantrasyonunun artması ile PKC enzim aktivitesi artmaktadır (Garcia ve ark, 2001).

Diyabetik koşullarda DAG konsantrasyonunun atması birçok yolakla sağlanmaktadır. (Daş-Evcimen ve King, 2007). Sorbitolden fruktoz oluşumu sonucunda artan NADH/NAD^+ oranı, ROS' lerinin GAPDH enzimini inhibe etmesi ve glikoliz ara ürünlerinin artması DAG sentezinin artmasına neden olmaktadır.

PKC yolağının aktivasyonu Na^+/K^+/ATPaz, sitozolik fosfolipaz A2 (cPLA2), mitojen aktive edici protein kinaz (MAPK) gibi enzimlerin aktivasyonunu etkileyerek bazal membran kalınlaşmasına, anjiyogeneze, hücre büyümesine, ekstraselüler matriksin genişlemesine, kan akışında değişikliklere ve vasküler permeabilitenin artmasına neden olmaktadır (Daş-Evcimen ve King, 2007; Bursel ve King, 1999; Koya ve King, 1998).

PKC yolağının aktivasyonu vasküler endotelyal büyüme faktörünün (VEGF) hücre içi konsantrasyonunun artmasına neden olmaktadır. VEGF vasküler geçirgenliği kontrol eden bir büyüme faktörüdür. Yapılan arştırmalarda Endotelin-1 (ET-1) ekspresyonun diyabetin erken döneminde arttığı gösterilmiştir. Bu da kan akışında değişikliklere neden olmaktadır. PKC aktivasyonunun artması ile diyabetik koşullarda glomerular prostaglandinlerin (PGE2, PGEI, PGEF2-alfa) konsantrasyonları da artmaktadır (Daş-Evcimen ve King, 2007; Yasuda ve King, 2004).

PKC aktivasyonunun artması kardiyovasküler hastalıkların gelişimini tetiklemektedir. Bunu TGF, PAI-1, NFk-B ve NADPH-oksidaz gibi moleküllerin aktivasyonunu arttırarak gerçekleştirmektedir.

1.4.4 İleri Glikasyon Ürünlerinin Oluşumu

Poliol yolağında oluşan fruktoz, non-enzimatik glikasyon ürünleri olan fruktoz-3-fosfat (F-3-P) ve 3-deoksiglikoza (3-DG) metabolize olmaktadır (Hamada ve ark., 2000; Brownlee, 1992; Tsukushi ve ark., 1999). Oluşan 3-DG' ler proteinler ile reaksiyona girerler ve diğer glikasyon ürünlerini (pentozidin, N-karboksimetilizin, imidazolon ve piralin) oluştururlar.

Diyabetik koşullarda beyin, böbrek, sinir, ve retina gibi insüline bağlı olmayan dokularda non-enzimatik glikasyon gerçekleşir. Bunun sonucunda oluşan ileri glikasyon ürünleri (Advanced Glycation End Products, AGEs) proteinlerin amino gruplarına kovalent bağ ile bağlanarak bu proteinlerde geri dönüşümsüz yapısal ve fonksiyonel değişikliklere neden olmaktadırlar. Bu değişiklik ilk olarak diyabetli hastaların kollagen dokularında anlaşılmıştır.

Diyabette AGE ürünleri ile kollagenler arasındaki bağlanma ile oluşan oksidatif stres sonucu yaşlanmanın daha erken ve hızlı olduğu kanıtlanmıştır. AGE ürünlerinin Tip-IV kollagenle etkileşimi sonucu endotelyal hücre adezyonu azalmaktadır. Laminin proteini ile bağlanması sonucunda ise aksonların gelişimi inhibe edilmektedir (Brownlee, 2001). Tip-1 kollagen ve elastin proteinleri ile AGE' nin etkileşimi ile damar içi sertleşmeler meydana gelmektedir (Goh ve Cooper, 2008).

Poliol yolağının aşırı aktivasyonu sonucu artan $NADH/NAD^{+}$ oranı GAPDH enzimini inhibe ederek trioz fosfat konsantrasyonunun artmasına neden olmaktadır. Trioz fosfatlar AGE prekürsörü olan metilenglioksallara dönüşmektedirler. Metilglioksallar yüksek derecede elektrofilik özellikte olmalarına bağlı olarak proteinlerin lizin, arjinin, ve sistein gibi amino asitlerin –SH ve –NH2 grupları ile non-enzimatik reaksiyonla bağlanarak AGE ürünlerini meydana getirmektedirler.

AGE ürünlerinin proteinler ile yaptıkları geridönüşümsüz çapraz bağlanmalar nedeni ile proteinlerin fonksiyonları bozulmakta ve bunun sonucunda da bazal membranda kalınlaşmalar gözlenmektedir. AGE ürünlerinin kollagen tip-I ve tip-IV, LDL, kristalin, fibrin, matriks proteinleri ile etkileşimi diyabetik nöropati, retinopati, nefropati, katarakt ve Alzheimer gibi hastalıklarının gelişimine neden olmaktadır (Molnar, 2006).

Makrofaj, endotelyal, mezenkimal, lenfosit, monosit, düz kas ve nöron hücreleri AGE reseprörlerine sahiptirler. Bu reseptörlerin AGE' ler tarafından uyarılması sonucunda oksidatif stres meydana gelmektedir. (Meerwaldt ve ark., 2009). Artan ROS' lar NFk-B' nin aktivasyonunu sağlayarak ET-1, ICAM, VCAM, TNF-alfa, IL-1, IL-6 gibi sitokinlerin ekspresyonunu arttırmakta ve NO' lerin azalmasına neden olmaktadırlar.

1.5 Aldo-keto Redüktaz Süperailesi

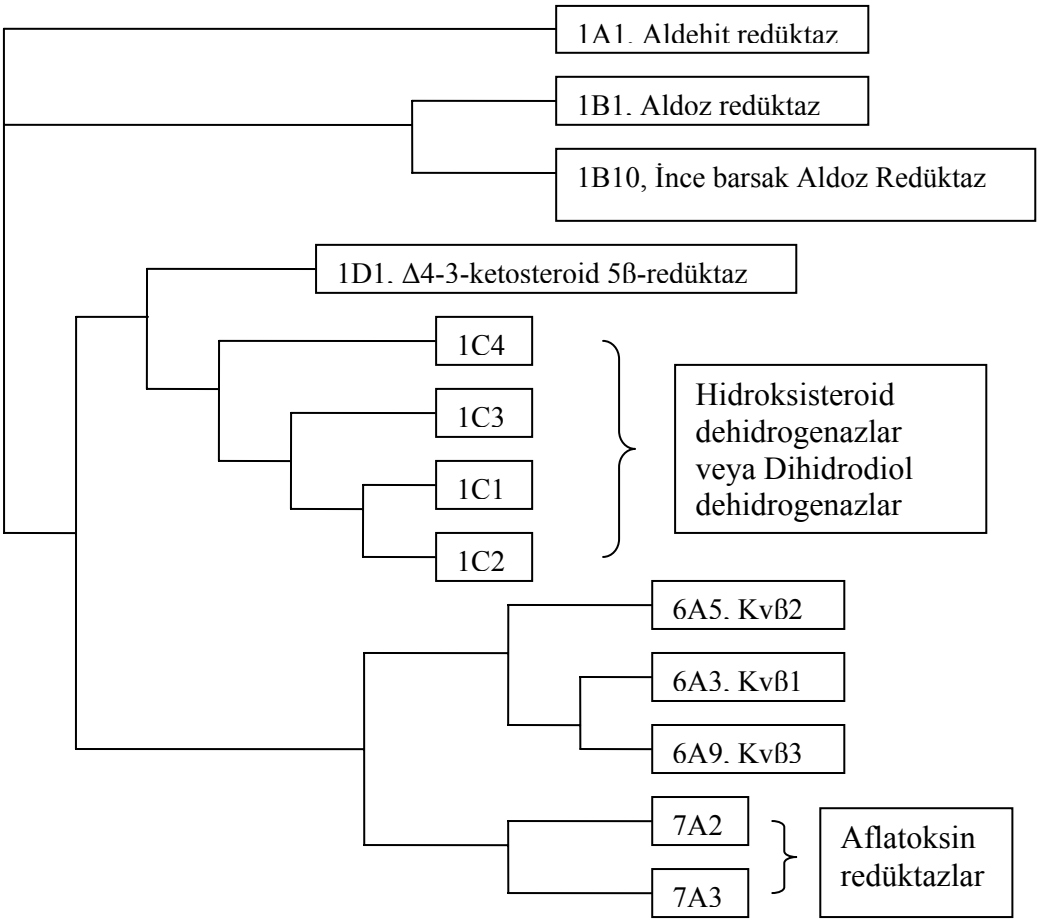
Aldo-keto redüktaz (AKR) süper ailesi enzimleri canlı organizmalarda birçok metabolik etkileşimde yer almaktadır. Aldehit veya ketonları katalizleyebilme yetenekleri AKR' ların en karakteristik özellikleri arasında yer almaktadır (Barski ve ark. 2008).

AKR süperailesi biyosentez, ara metabolizma ve detoksifikasyonda yer alan redoks transformasyonlarını katalizleyen enzimlerden oluşur. Bu enzim ailesi aldehit fosfolipidlerin redüksiyonu ile proinflamasyon cevabın düzenlenmesi, in vivo steroidlerin modifikasyonları, prostaglandinlerin sentezi gibi metabolik olaylardan sorumludur (Barski, 2008).

AKR üyeleri $(\alpha\text{-}\beta)_8$ katlanması gösteren ortalama 315-320 amino asitten oluşan genelde monomerik yapıda bulunan NADPH kofaktörüne bağlı oksidoredüktaz grubu enzimlerdir (Bohren, 1989; Wilson, 1992; Costantino, 1999). Daha sonraki çalışmalarda ise AKR2, AKR6 ve AKR7 enzim gruplarının multimerik yapı sergiledikleri tespit edilmiştir (Yi Jin ve Penning, 2007).

AKR' in substratları glukoz, steroidler, ileri glikasyon ürünleri (Advanced Glycation End Products, AGE) , lipit peroksidasyon ürünleri ve çevresel kirleticilerdir. Mayalardan memelilere kadar tüm bitki ve hayvanlarda ve mikroorganizmalarda Akr geninin ekspresse edildiği gösterilmiştir (Ellis, 2002).

İnsanda AKR süperailesinin 3 üyesi bulunmaktadır. Bunlar AKR1, AKR6 ve AKR7 enzim gruplarıdır. Bu enzim ailelerinde toplam 13 protein tespit edilmiştir. Bu enzimler AKR1A1 (Aldehit Redüktaz), AKR1B1 ve –B10 (Aldoz Redüktaz), AKR1C1, -C2, -C3 ve –C4 (Hidroksisteroid dehidrogenazlar), AKR6A3, -A5 ve –A8 (Kvβ proteinleri), AKR7A2 ve -7A3 (Aflatoksin redüktazlar) proteinlerini içermektedirler (Çizelge 1.3), (Penning ve Drury, 2007; Barski ve ark.; 2008).



Çizelge 1.3: İnsan AKR' larının filogenetik ağacı (Barski ve ark., 2008)

1.5.1 AKR1A1: Aldehit redüktaz

AKR süperailesinin ilk keşfedilen enzimlerinden biri AKR1A1'dir. 1961 yılında Mono ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir araştırmada askorbik asit biyosentezinde AKR1A1'in anahtar enzim rolü oynadığı anlaşılmıştır (Mono ve ark., 1961; Barski ve ark., 2004).

Bu enzim grubu insanda birçok dokuda bulunmaktadır. Fakat en çok böbrek proksimal tübül hücrelerinde bulunduğu gözlenmiştir (Barski, 1999). Karaciğer dokusunda böbrek dokusuna kıyasla daha az bulunmaktadır. AKR1A1 proteini

316 amino asitten oluşmaktadır. Kristal yapılarında C-terminalindeki aktif bölge yerleşimi ile B-fiçı modeli göstermektedir (El-Kabbani ve ark., 1995). Proteine NADPH' ın bağlanma şekli diğer AKR' lar ile benzerlikler göstermektedir.

AKR1A1' ler geniş bir substrat aktivitesi göstermektedir. Her ne kadar aromatik aldehitler, steroid aldehitler ve 3-karbonlu aldehitler yüksek affinitede indirgenselerde AKR1A1'deki bir karboksil grubu negatif yüklü substratlarla etkileşmektedir (Wermutt ve ark., 1977; Wermutt ve Monder, 1983).

Kemirgenlerde yapılan araştırmalarda askorbik asit sentezinin ilk aşamasında bulunan D-glukuronatın L-glukonata indirgenmesinde AKR1A1' in fizyolojik bir rolü olduğu düşünülmektedir (Linster ve Van Schaftingen, 2007). Farelerde AKR1A1'in inhibisyonu gerçekleştirildikten sonra idrar örneklerinde askorbik asit miktarında azalma ve glukuronat miktarında artma gözlenmiştir. Bu da AKR1A1'in askorbik asit sentezinde bir rolü olduğunu kanıtlamaktadır (Barski ve ark., 2005).

İnsanda AKR1A1 enzimi böbreklerde miyoinositol dehidrogenaz enzimi ile ilişkilidir. Miyoinositol dehidrogenaz enzimi miyoinositolü D-glukuronata dönüştürmektedir. Yapılan araştırmalar sonucunda AKR1A1 enziminin miyoinositol katabolizmasında indikatif bir rolü olduğu düşünülmektedir (Reddy ve ark., 1981).

1.5.2 AKR1B1: ALDOZ REDÜKTAZ

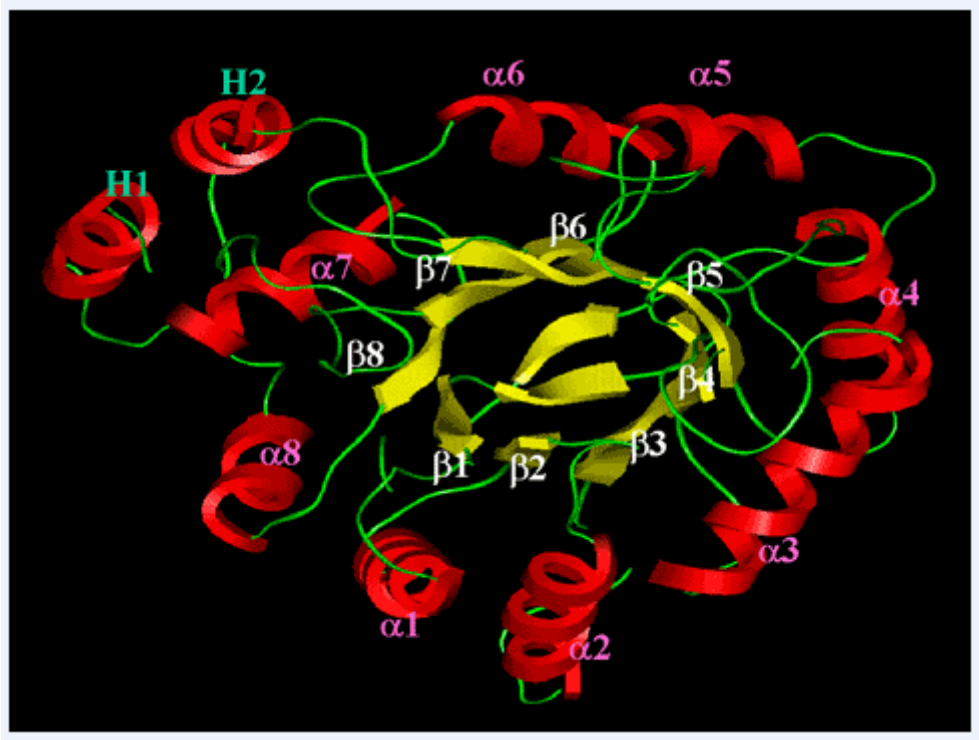
Aldoz redüktaz (ALR2) enzimi ilk defa 1956 yılında Hers tarafından koyun plasentası ve seminal veziküllerde tayin edilmiştir (Hers, 1956). Daha sonra yapılan çalışmalar ile AR enziminin lens, retina, böbrek üstü bezi ve testislerde de geniş oranda bulunduğu saptanmıştır (Srivastava, 2005). Karaciğer dokusunda AR enzimi bulunmaktadır ancak diğer dokulara kıyasla ekspresyonu daha az

olmaktadır (Çizelge 1.4), (Tanimoto ve ark. 1998). Cao ve arkdaşları yapmış oldukları bir çalışmada karaciğerde AR enziminin ifadesinin bir uyarı olmadan devamlı olarak gerçekleştiğini rapor etmişlerdir (Cao ve ark., 1998). Bunu takip eden bir süreçte O' Connor ve arkadaşları benzer bir çalışma ile bu bilgiyi doğrulamışlardır (O' Connor ve ark., 1999).

Enzim komisyonu tarafından 1.1.1.21 kodu verilen aldoz redüktaz enzimi AKR1B1 geni tarafından kodlanan, 315 amino asit dizisinden oluşan ve 36 kDa ağırlığında monomerik bir proteindir (Carper ve ark., 1989). Enzim merkezde uç uca eklenmiş olan 8 beta zincirinin etrafını 8 alfa heliksinin sarması ile $(\alpha/\beta)_8$ fıçı modeli yapısına sahiptir. Ayrıca enzimin yapısına H1-α-heliks, A, B ve C ilmek modelleri de eşlik etmektedir. (Şekil 1.3), (Wilson ve ark., 1992; Jez ve ark., 1997; Bohren ve ark., 2005).

İnsan Dokusu	Aldoz Redüktaz (μg/mg protein)
Böbrek medullası	29,3
Siyatik sinirler	5,1
Lens	2,8
Testis	1,9
Kalp	1,7
Kornea	1,4
Karaciğer	0,8
Böbrek korteksi	0,7
Mide	0,7
Dalak	0,7
Akciğer	0,5
İnce barsak	0,4
Kolon	0,4

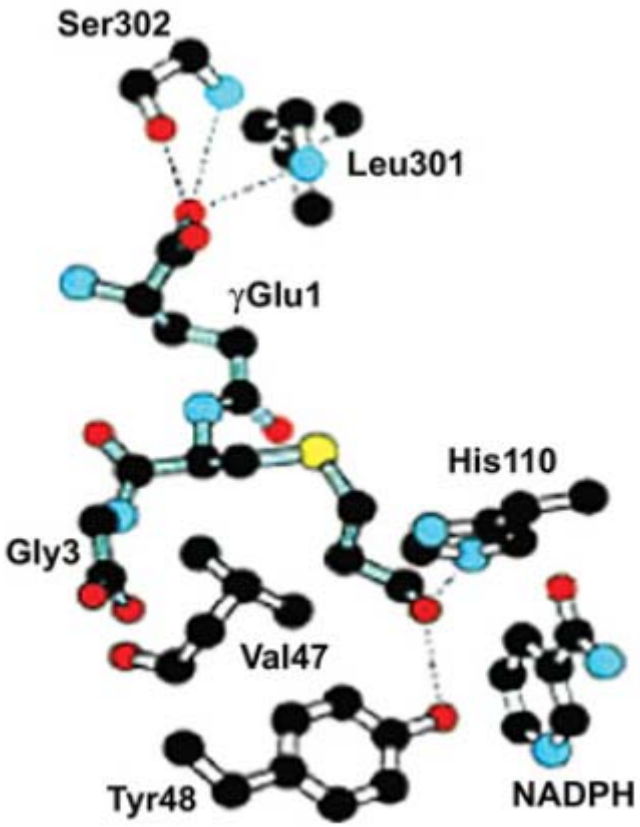
Çizelge 1.4: İnsan dokularında bulunan aldoz redüktaz konsantrasyonları (Tanimoto ve ark., 1998)



Şekil 1.3: Aldoz Redüktaz enziminin kristal yapısı (Barski ve ark., 2008)

Enzimin aktif bölgesi fıçının iç kısmındaki karboksil ucunda yer almaktadır. Bu bölge oldukça hidrofobik özelliktedir ve aromatik kalıntılar (Trp20, Tyr79, Trp111, Phe122 ve Trp129), apolar kalıntılar (Val47, Pro218, Leu300, ve Leu301) ve polar kalıntılardan (Gln49, Cys298 ve His110) oluşmaktadır (Şekil 1.4), (El-Kabbani ve ark., 2004b; Alexiou ve ark., 2009).

NADPH kofaktörü enzimin iç kısmındaki hidrofobik bölgeye menteşe gibi sıkıca bağlanmaktadır. Nikotinamid halkası fıçının iç kısmında, pirofosfat kısmı ise fıçının kenarında yer almaktadır. Enzimin iç kısmında bulunan Tyr48, His110 ve Cys298 amino asitleri proton vericisi olarak görev yapmaktadırlar (Şekil 1.4), (Kumar ve Reddy, 2005).



Şekil 1.4: Aldoz redüktaz enziminin aktif bölge kalıntıları (Kumar ve Reddy, 2005)

Yapılan mutajenik çalışmalar His110 amino asitinin ALR2 enzimi dahil AKR süperailesindeki diğer bazı enzimlerde de proton vericisi olarak görev yaptığını yani türler arasında korunmuş olduğunu göstermektedir (Fersht, 1998). His110 amino asitinin asparagin, glutamin veya alanin ile yer değiştirmesi sonucunda enzimin gliseraldehit üzerinde gösterdiği katalitik aktivitede önemli derecede azalma olduğu tespit edilmiştir (Tarle ve ark., 1993). Tyr48 ile fenilalaninin yer değiştirmesi sonucunda ise enzimin total aktivitesinde önemli derecede kayıp gözlenmiştir (Bohren ve ark., 1994). Cys298 amino asiti ile yapılan mutajenik çalışmalar sonucunda ALR2 enzim aktivitesinde bir değişiklik gözlenmemiştir ve bu amino asitin proton transferindeki rolü tam olarak bilinmemektedir (Petrash ve ark., 1992).

NADPH kofaktörü, nikotinamid halkası ve adenozin-2-pirofosfat kısmıyla ALR2 enziminin aktif kısmına bağlanmaktadır. ALR2'deki B ilmeğinin kofaktör üzerine kapanması ile enzim-kofaktör yapısı oluşmaktadır. Bu oluşan ikili yapıya substrat molekülü eklenerek substrattaki karbonil karbon ve karbonil oksijene sırasıyla nikotinamidin 4. karbonundan hidrojen transferi, tirozin amino asidinin hidroksil kısmından proton transferi gerçekleşmektedir. Böylece aldehit formundaki substrat alkole indirgenmekte ve indirgen formdaki NADPH okside formu olan NADP' ye dönüşmektedir. B ilmeğinin tekrar açık konformasyona geçişi ile yapıdan öncelikle oluşan ürün daha sonra okside yapıdaki kofaktör ayrılmaktadır (Barski ve ark., 2008).

ALR2 organizma için fizyolojik önemi olan 4-hidroksinonenal (HNE) ve okside fosfolipitler gibi lipit peroksidasyon ürünleri, doymamış aldehitlerin glutatyon konjugatları, ileri glikasyon ürünleri, izokortikosteroidler ve çevresel kirleticilerin indirgenmesini katalizlemektedir (Srivastava ve ark., 2004; Srivastava ve ark., 1995; Vander ve ark., 1992; Wermut ve Monder, 1983).

ALR2 enziminin organizmadaki en önemli rolü poliol yolağında birincil enzim olmasıdır. ALR2 poliol yolağında glukozu sorbitole dönüştürmektedir. Hiperglisemide hekzokinaz enzimlerinde glukoza karşı oluşan doygunluk sonucunda hücre içi glukozun yaklaşık % 33'ü polyol yolağı ile metabolize olmaktadır (Kinoshita ve ark., 1974; Gonzales ve ark., 1984).

Artan ALR2 aktivitesi sonucunda azalan NADPH / NAD^+ ile organizmada kinazların aktivasyonu ve apoptoz regülasyonu gibi çeşitli metabolik düzensizlikler gerçekleşmektedir. Bunun sonucunda diyabetik komplikasyonların hedef organları olan oküler lens, retina, periferik sinirler ve böbrek glomerülerinde doku hasarları meydana gelmektedir (Kinoshita ve Nishimura, 1988; Pugliese ve ark.; 1991).

ALR2 enziminin ateroskleroz sürecinde vasküler düz kas hücre proliferasyonunda önemli rolü vardır. (Ramana ve ark., 2002). Ayrıca yapılan araştırmalar sonucunda sitokinler ve büyüme faktörleri tarafından mitojenik sinyal mekanizmasının başlatılmasında aracı bir rolü olduğu saptanmıştır (Ramana ve ark. 2003; Barski ve ark, 2008).

ALR2 ifadesinin beyin, iskelet kası, kalp gibi dokularda artması ile glukoz metabolizması ve ozmotik regülasyondaki bozulmalara ek olarak organizmada ayrıca kalp yetmezliği, miyokardiyal iskemi, vasküler inflamasyon ve aşırı demir birikimi gibi hastalıklar ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir ve bu konular ile ilgili çalışmalar halen devam etmektedir (Yang ve ark., 2000; Shinnuma ve ark., 2000; Rittner ve ark., 1999; Ruef ve ark., 2000; Barisani ve ark., 2000; Ramana ve ark. 2002).

1.5.3 AKR1B10: İnce barsak Aldoz redüktaz

Bu enzim ailesi 1998 yılında keşfedilmiştir (Cao ve ark., 1998; Hyndman ve Flynn, 1998). AKR1B10 enzimi ince barsak, kolon, akciğer, timus ve adrenal bezlerde ifade edilmektedir. (Cao ve ark., 1998; Hyndman ve Flynn, 1998). AKR1B10'un amino asit dizilimi Aldoz redüktazlar ile % 71 oranında benzerlik göstermektedir. Aldoz redüktaz enzimi ile inhibitör madde seçiciliği ve substratlara olan spesifiklikleri de benzerlik göstermektedir.

AKR1B10 enziminin over-ekspresyonu karaciğer kanseri, akciğer kanserinde oldukça yüksektir (Fukumoto ve ark., 2005; Cao ve ark., 1998). Kolorektal kanser hücrelerinde, AKR1B10 geninin susturulması sonucunda kanser hücrelerinin kolonizasyonunda azalma gözlenmiştir. Bu da AKR1B10 proteininin kanser hücre proliferasyonunda rolü olduğunu göstermektedir (Yan ve ark.,

2007). AKR1B10 enzimi ayrıca retinoik asit sinyal mekanizmasına da katılmaktadır (Penning ve ark., 2007).

AKR1B10 enzimi sigarada bulunan akrolein ve krotonaldehitler ile yüksek bir katalitik aktivite göstermektedir. Bunun sonucunda AKR1B10 geninin sigara içen bireylerin oral hücrelerinde yüksek olduğu saptanmıştır (Yan ve ark., 2007).

AKR1B10 enzimi elektrofilik hasarlarda koruyucu bir etkiye sahiptir. Ayrıca yapılan araştırmalar sonucunda yağ asidi biyosentezinde düzenleyici bir görevi olduğu tespit edilmiştir (Ma ve ark., 2008).

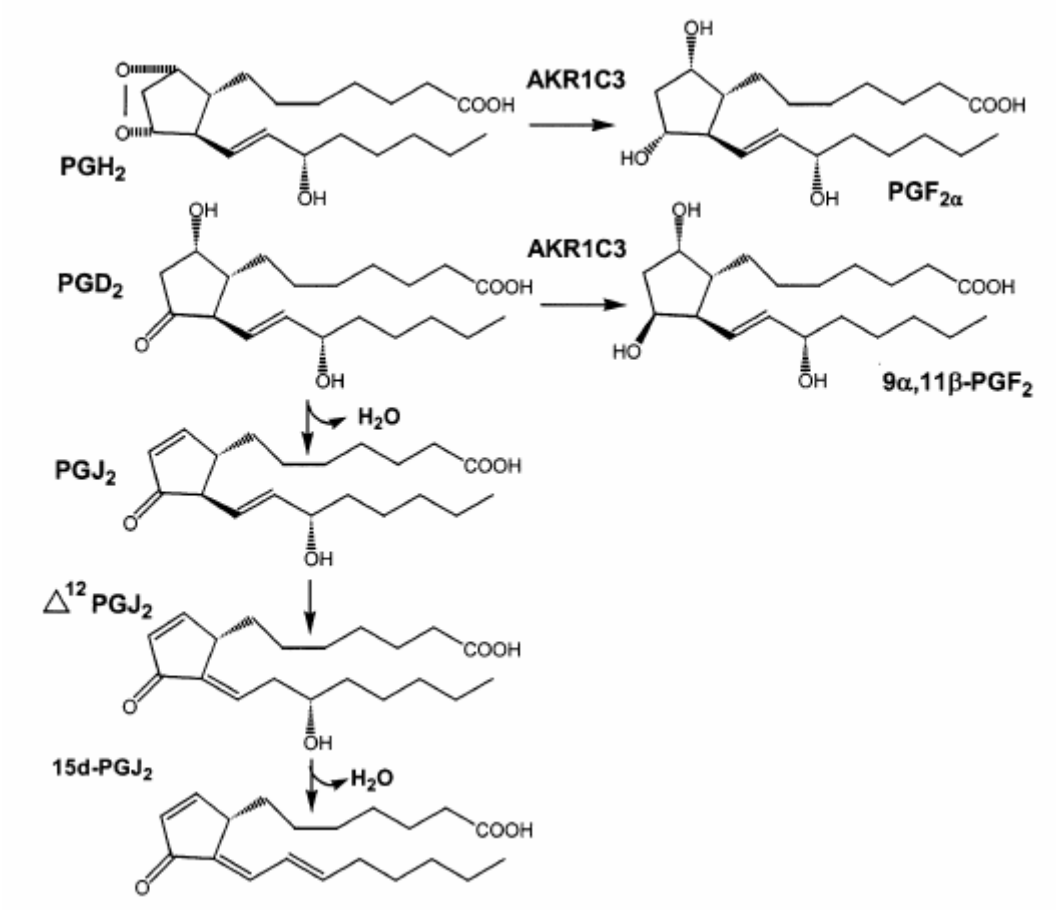
1.5.4 AKR1C1, AKR1C2, AKR1C3 ve AKR1C4: Hidroksisteroid dehidrogenazlar

Bu enzim ailesi karaciğerde bulunmaktadır. Bu enzim ailesine ait proteinler birbirleri ile % 86 oranında aynı homolojiye sahiptirler. Fakat karaciğer dışı dokulara dağılımlarında farklılıklar göstermektedirler. -C2 ve –C3 proteinlerinin ifadesi daha çok prostat ve meme bezlerinde görülmektedir (Penning, 2004). Bu enzim ailesinin doğal substratları steroidler ve prostaglandinlerdir.

AKR1C ailesi genel olarak düşük k_{cat} değerine sahiptirler ve AKR' ın diğer alt grupları ile kıyaslanabilir bir verimde oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarını katalizlemektedirler (Penning ve ark., 2000). AKR1C1 enziminden yoksun kişilerde doğumda gecikme yaşandığı gözlenmiştir (Piekorz ve ark., 2005).

AKR1C2 enzimi üre asidi bağlayıcı protein olarak da bilinmektedir. Bu enzim üre asidini kanalikülden hepatositlerin polar ucuna doğru taşınmasında rolü bulunmaktadır. (Stalz ve ark., 1993; Barski ve ark., 2008).

AKR1C3 enzimi 17-β-hidroksisteroid dehidrogenaz aktivitesine sahiptir ve estron ile estradioller arasında gerçekleşen dönüşümü katalizlemektedirler (Şekil 1.5), (Deyashiki ve ark., 1995).



Şekil 1.5: AKR1C3 enziminin Prostaglandin F sentaz enzimi gibi davranarak sentez işleminde yer almaktadır (Deyashiki ve ark., 1995).

AKR1C4 enziminin ifadesi sadece karaciğerde gerçekleşmektedir. AKR1C enzim ailesinin dokulara dağılımları ve substratlara olan spesifikleri bilinmesine rağmen organizmadaki fizyolojik rolleri ile ilgili çalışmalar halen devam etmektedir (Barski ve ark., 2008).

1.5.5 AKR1D1: Δ4-3-Ketosteroid-5-β redüktaz

AKR1D1 enzimi ilk defa 1984 yılında Okuda tarafından karaciğerden saflaştırılmıştır (Okuda ve Okuda, 1984; Barski ve ark., 2008). Bu enzim, üre asiti sentezi yolağında 5β-stereospesifik redüksiyonu katalizlemektedir.

AKR1D1 enzimi testeron, progesteron, kortizol ve kortizon gibi birçok steroid hormon için enzimatik aktiviteye sahiptir. Yapılan çalışmalar sonucunda AKR1D1 enziminin eşey hormonlarının indirgenme metabolizmasında önemli bir rol oynadığı saptanmıştır. Ayrıca kadın ve erkek karaciğerinde enzimin farklı konsantrasyonlarda bulunduğu tespit edilmiştir (Mode ve Rafter, 1985; Barski ve ark., 2008).

1.5.6 AKR6 Ailesi: Kvβ Proteinleri

AKR6 proteinleri voltaj-gated K kanalları (Kv) ile ilişkilidirler. Bu ilişkiyi Kv kanallarının α-alt ünitelerinin N-terminal T1 sitozolik uçları sayesinde gerçekleştirmektedirler (Sewing ve ark., 1996; Gulbis ve ark., 2000). Bu proteinler endoplazmik retikulumdaki (ER) kanal biyogenezi sürecinde α-altüniteleri ile bir araya gelir ve böylece altünitelerin birleşmelerini, kolaylaştırarak protein olgunlaşmasını ve hücre-yüzey ifadesini teşvik etmektedirler (Fink ve ark., 1996; Shi ve ark., 1996; Manganas ve Trimmer, 2000).

AKR6 proteinlerinin NADPH kofaktörüne bağlanma aktivitesi yüksektir fakat aromatik aldehitler, ketonlar için zayıf bir katalitik aktiviteye sahiptirler. Bu özellikleri bu proteinlerin AKR fonksiyonuna dair önemini belirsiz kılmaktadır (Weng ve ark., 2006; Tipparaju ve ark., 2008).

1.5.7 AKR7A2-A3: Aflatoksin redüktazlar

Bu enzim ailesi ilk olarak sıçan karaciğer dokusunda keşfedilmiştir (Ellis ve ark., 1993). Sıçanlardaki formu AKR7A1 ve AKR7A4' tür. İnsan karaciğerinde bulunan formu ise AKR7A2 ve AKR7A3' tür (Ireland ve ark., 1998). Sıçanlardaki formu insanlarda bulunan formu ile % 78 benzerlik taşımaktadır.

AKR7A2 temel olarak karaciğerde ekspresse edilirler ve ekstrahepatik dokulara geniş oranda yayılırlar. AKR7A3 ekspresyonu ise mide, pankreas, böbrek ve karaciğerde gerçekleşmektedir (Ireland ve ark., 1998).

AKR7A2 enzimi süksiniksemialdehit (SSA) için yüksek bir katalitik aktiviteye sahiptir. SSA' lar bir nörotransmitter olan GABA' nın önemli bir metabolitidir. SSA' lar AKR7A2' nin doğal fizyolojik substratıdır.

AKR7A3'ün sıçanlarda bulunan formu olan AKR7A1 enzimi aflatoksin B1 dialdehitin indirgenmesinde etkilidir (Guengerich ve ark., 2001). Bu enzimin detoksifikasyonda önemli bir rolü bulunmaktadır (Gardner ve ark., 2004).

Sıçanlarda yapılan çalışmaları sonucunda Akr7a1 geninin karaciğerdeki ekspresyonunun antioksidanlar ve elektrofiller tarafından 5 kat daha fazla arttırıldığı gözlenmiştir. Fakat insanda bulunan formu ile böyle bir artış rapor edilmemiştir (McLellan ve ark., 1994).

1.6 Obezite

1.6.1 Obezitenin tanımı

Obezite, kalori alımı ve harcanması arasındaki farkla ortaya çıkan, vücutta harcanan enerjiden daha çok besin alındığında görülen fazladan yağ birikimi ile gelişen çok yönlü bir hastalıktır. Obezite oluşumuna genetik, nörolojik, endokrin, sosyoekonomik, psikolojik faktörler ile birlikte fiziksel aktivite azlığı ve cinsiyet de etkili olmaktadır (Guyton ve Hall, 2007).

Obezite, besinlerle alınan enerji miktarı, bazal metabolizma ve fiziksel aktivite şeklinde harcanan enerji miktarını geçtiğinde ortaya çıkmaktadır. Dünyada en yüksek obezite oranı Amerika Birleşik Devletleri'ndedir. Ülkemizde de her geçen gün fast-food tipi beslenmenin artışına bağlı olarak obezitede artış gözlenmektedir.

Dünya Sağlık Örgütünün belirlemiş olduğu obezite tanısına göre vücut kitle indeksi (VKİ) 30 kg/m^2 'nin üzerinde olan bireyler obez olarak kabul edilmektedir (Çizelge 1.5), (WHO 1995). Bu oran aşağıdaki formülle hesaplanmaktadır;

Vücut kitle indeksi (VKİ)= Vücut ağırlığı (kg) / Boy (m^2)

Sınıflama	VKİ (kg/m2)	Eş Zamanlı Hastalık Riski
Düşük kilolu	<18,50	Düşük (fakat diğer klinik problemler açısından riskli
Normal	18,50- 24,90	Ortalama
Fazla Kilolu (Preobez)	25,00- 29,00	Orta
Obez Sınıf I	30,00- 34,00	Artmış
Obez Sınıf II	35,00- 39,99	Şiddetli
Obez Sınıf III	>40,00	Çok Şiddetli

Çizelge 1.5: Dünya Sağlık Örgütünün belirlemiş olduğu obezite tanısına göre VKİ'leri (WHO, 1995; WHO, 2000).

1.6.2 Obezite ve diyabet ilişkisi

Obezitenin, hipertansiyon, hiperlipidemi, tip 2 diyabet, bazı kanser tipleri ve pek çok hastalık için teşvik edici bir faktör olduğu kabul edilmektedir. Örneğin, genel populasyon ile karşılaştırıldığında, Tip 2 diyabet ve hipertansiyon obez kişilerde 2.9 kat, hiperlipidemi ise 1.5 kat daha sık görülmektedir. (Bjorntorp ve Rosmond, 2000).

Obezler arasında diyabet varlığı, obez olmayanlardan en az iki kat daha fazla görülmektedir (Bağrıaçık, 1997). Obezitenin Tip 2 diyabet, hipertansiyon, koroner kalp hastalığı gibi birçok hastalığa etiyolojik anlamda katkıda bulunduğu

bilinmektedir. Tip 2 diyabet, hipertansiyon ve koroner kalp hastalığı gelişme riski her iki cinste de vücut kitle indeksinin (VKİ) artması ile birlikte artmaktadır (Özbey ve Orhan, 2003).

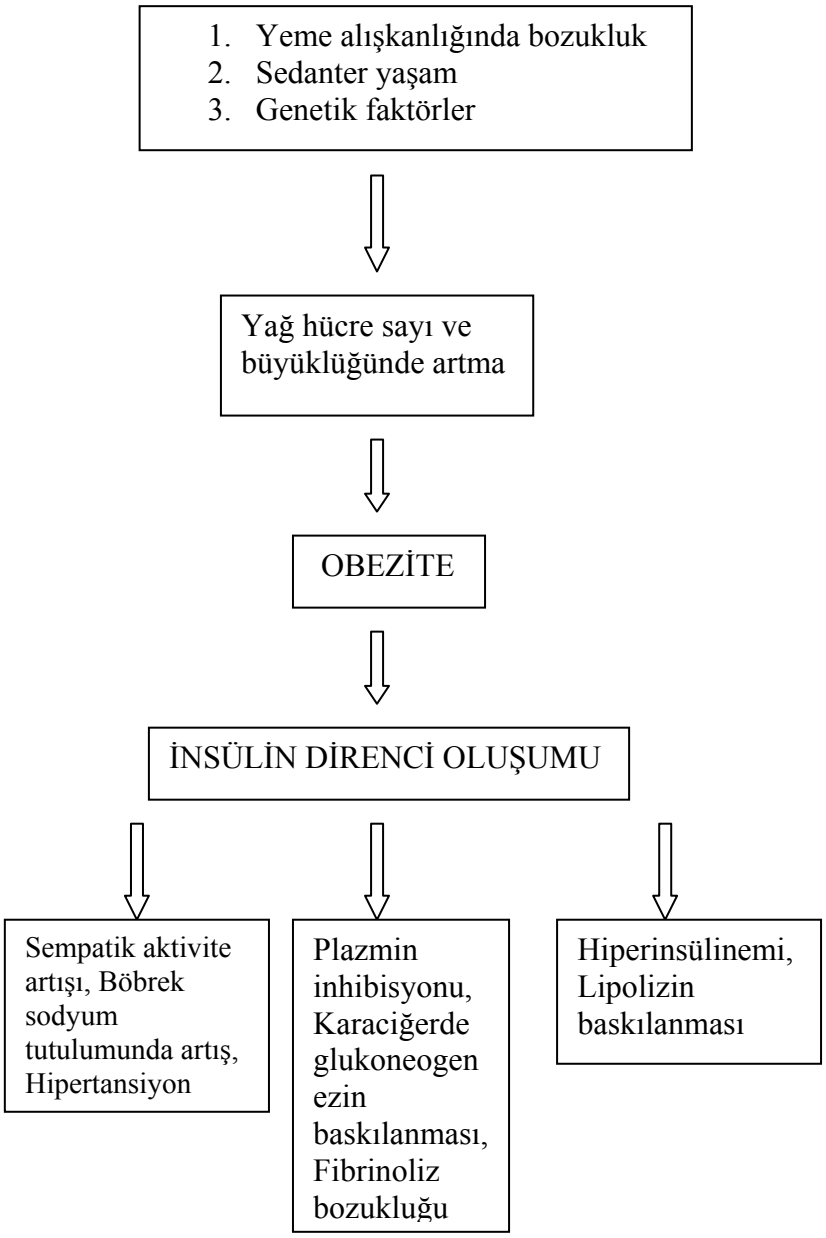
Son yıllarda yapılan çalışmalarda obez hastalar incelendiğinde büyük çoğunluğunda tip 2 diyabet hastası olması dikkati çekmiş ve araştırmacılar bu iki hastalık arasında bir bağlantı olabileceği konusunda çalışmalara yönelmişlerdir. Yapılan çalışmalarda bu iki hastalığın gerçekten de birbiri açısından risk oluşturduğu yani birbiri ile ilişkili olduğu gösterilmektedir (Colditz ve ark., 1995; Perry ve ark., 1995).

Birleşik Devletler Sağlık Çalışanları Takip Çalışmasında tip 2 diyabet ile bel çevresi arasında anlamlı bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Bu değer, bel-kalça oranı hesaplanarak yapılan yağ dağılımı ölçümünde en üst % 5 içinde bulunanlarda tip 2 diyabet için iyi bir gösterge olarak kabul edilmiş, üst % 20'lik diliminde bulunanlarda ise bel çevresi ile tip 2 diyabet riski arasında anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır (Chan ve ark., 1994).

Obezitenin en önemli bulgularından biri de santral yağ dağılımı olarak kabul edilir. Santral yağ dağılımı obezite için önemli bir faktör olarak kabul edilirken glukoz dengesinin bozulmasında da önemli rol oynadığı düşünülmektedir. En önemli klinik bulgular arasında plazma serbest yağ asidi miktarında artış, karaciğer glukoz üretiminde artış, periferik insülin direnci yer almaktadır (Reaven ve ark., 1988).

İnsülin direnci obeziteden diyabete geçişte en önemli faktörlerden birini oluşturmaktadır ve bir sinyal olarak kabul edilmektedir (Zimmet ve ark., 1991). Yapılan epidemiyolojik çalışmalar sonucunda tip 2 diyabet gelişimi için hiperinsülinemi ve bunu takip eden süreçte oluşan insülin direnci ile obezite arasında bir bağlantı gözlenmiştir (Çizelge 1.6). Elde edilen bulgular sonucunda

hiperinsülinemi VKİ (vücut kitle indeksi) artısı ve santral obezite ile doğru orantılı bir artış göstermiştir (Wing ve ark., 1992; Manolio ve ark., 1991).



Çizelge 1.6: Obezite ve insülin direnci oluşumu ve sonuçları

Glukoz toleransı normal olan obez kişiler insüline dirençlidir ancak beta hücreleri insülin direncini kompanse edebildiği için glukoz toleransını normal sınırlarda tutabilirler (Golay ve Felber, 1994; Lemieux ve Despres, 1994). Hiperinsülinemi ve hiperglisemiye rağmen diyabet gelişmektedir. Kronik hipergliseminin bir sonucu olarak, zaman içinde insülin sekresyonu tedrici olarak azalmakta ve tam pankreas dekompansasyonu gelişmektedir (Golay ve Felber, 1994).

Bu aşamada karaciğerde glukoz üretimi artmaktadır. Obeziteden diyabete geçişte en önemli faktör, lipit peroksidasyonundaki artıştır (Golay ve Felber, 1994). Serbest yağ asitlerinin kullanımında ve oksitlenmesinde meydana gelen artış obezitede diyabet gelişimini tetikleyen en önemli faktörlerden birisidir (Groop ve ark., 1991). Glukoz-yağ asidi siklusu aracılığı ile glukoz metabolizmasındaki oksidatif ve non-oksidatif yollarda bozukluğa ve sonuç olarak da glukoz kullanımında yetersizliğe yol açmaktadır (Groop ve ark., 1991).

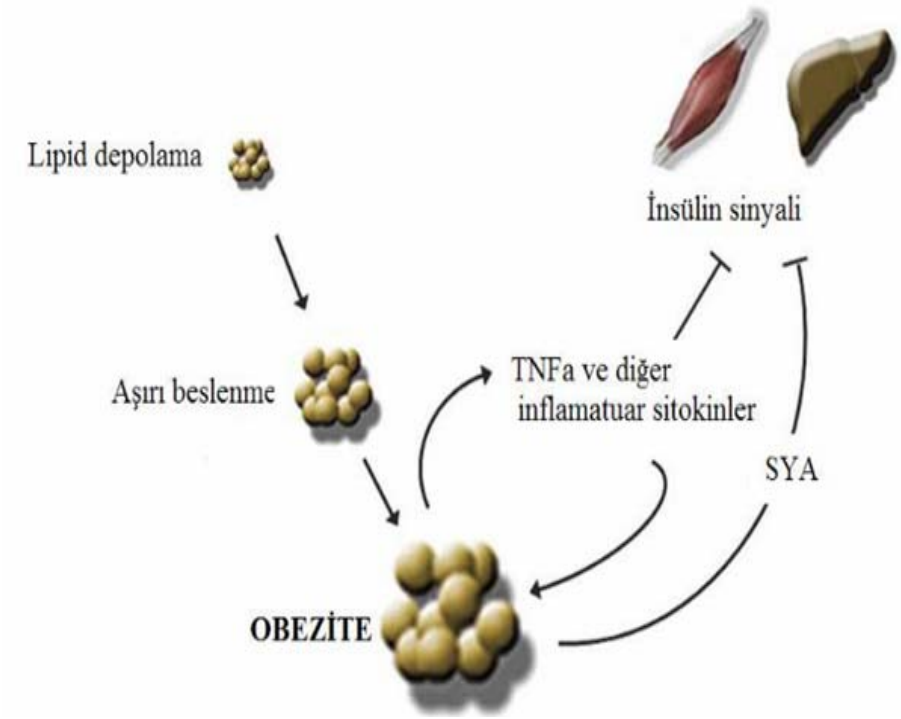
Bölgesel yağ birikiminin baskın olduğu kişilerde hepatik insülin direnci ve serbest yağ asidi döngüsünde ve oksidasyonunda artış gözlenmektedir. Dolaşan serbest yağ asitleri, bir substrat- kompetisyon mekanizması ile karaciğer glukoz üretimini artırmakta ve periferik dokular tarafından kullanılmasını azaltmaktadır (Randle ve ark., 1993). Bu da sonuç olarak insülin direncine yol açabilmektedir.

Yağ dokusu adiponektin ve leptin gibi hormonlar ile beraber diğer protein sinyal çeşitleri ve yağ dokusu sitokinleri (adipokinler) denilen ürünleri salgılamaktadır. Adipokinler enerji dengesi, lipit ve glukoz metabolizması, anjiyogenez, vasküler yapı ve kan basıncı regülasyonuna katılan yağ hücresi ürünleridir. Bu ürünler, visseral obezite ve inflamasyon, insülin direnci, tip2 diyabet ve aterosklerozis gelişimine de katılmaktadırlar (Şekil 1.6), (Vettor ve ark., 2005, World Health Organisation 1997).

Obezite sonucu lipolitik yanıtın artması plazma yağ asitlerinin artmasına, kasta glukoz oksidasyonunun bozulmasına, lipit oksidasyon hızının değişmesine yol açmaktadır (Randle ve ark., 1993). Serbest yağ asitlerinin artışı sonucu;

karaciğerde glukoz yapımı artmakta, kas dokusunda glukoz kullanımı azalmakta ve pankreasın beta hücrelerinden insülin sekresyonu azalmaktadır. Obezite süresinin ve plazmada serbest yağ asitlerinin artması ile beraber insülin direnci gelişmektedir. Yağ dokusunda trigliserit depolarının artması ile obezite gelişimi doğru orantılı ilerlemektedir. Sonuçta kas ve yağ dokusunun insüline yanıtı ve insülin ile gerçekleşen glukoz transportu azalmaktadır (Kahn ve ark., 2006).

Obezite ve diyabet gelişimi arasındaki var olduğu düşünülen diğer bir mekanizmada lipotoksisitedir. Kas, karaciğer ve pankreas adacık hücrelerinde trigliseritin aşırı depolanması bu dokuların insüline olan yanıtını bozmaktadır. Bu durum lipotoksisite olarak adlandırılmaktadır. Lipotoksisite nedeni ile kas, karaciğer ve pankreas beta hücre fonksiyonlarının bozulması ile tip 2 diyabet gelişmektedir (Kahn ve ark., 2006).



Şekil 1.6: İnsülin ile glukoz ve yağasitleri arasındaki ilişki (SYA: serbest yağ asiti), (WHO, 1997)

İnflamatuvar sitokinler, insülin direnci ve plazma serbest yağ asidi artışından sorumludur. Yapılan çalışmalar sonucunda obezlerde yağ dokusundan salgılanan IL-6, tümör nekrozis faktörü alfa (TNFα) ve solubl TNF reseptörlerinin plazma düzeylerinde artış gözlenmiştir (Jeong ve ark., 2005).

Karaciğere gelen yağ dokusu kaynaklı yağ asitleri, glukoneogenezle, diğer enerji kaynaklarına dönüştürülebildiği gibi lipoprotein olarak da tekrar kana verilebilmektedir. Yağ hücreleri, serbest yağ asidi salgılamalarının yanı sıra insülin direnci gelişiminde etkili olabilen rezistin, TNFα ve IL-6'yı da içeren ürünler de salgılamaktadırlar (Keller, 2006).

Obez bireylerin tedavi edilmesi sonucunda elde edilen bulgularda bireylerde obeziteye bağlı olarak meydana gelmiş olan fiziksel, metabolik, endokrinolojik problemlerin normale döndüğü ve obezite ile ilişkili mortalitede belirgin bir azalma olduğu gözlenmiştir (Aynacıoğlu ve ark., 1999; Bjorntorp ve ark., 2000).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Gereçler

2.1.1. Kullanılan Cihazlar

- Hassas Terazi (AND Electronic Balance FY-300)
- Hassas Terazi (Sartorius- CP 224S)
- Homojenizatör (Heildoph)
- Magnetik Karıştırıcı (Torrey Pines Scientific)
- Vorteks (Heidolph)
- Otomatik Pipetler (Gilson)
- Soğutmalı Santrifüj (Sigma)
- pH-Metre (Inolab WTW Series pH 720)
- Spektrofotometre (Shimadzu UV-1700)
- Derin Dondurucu (-80 ^{o}C) (Bosch)
- Buzdolabı (+4 ^{o}C) (Arçelik)

2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

$(NH4)_2SO_4$ (Merck), NaCl (Merck), NADPH (Sigma), DL-Gliseraldehit (Sigma), KH_2PO_4 (Sigma), K_2HPO_4 (Sigma), sığır serum albumin (BSA) (Sigma), Bio-Rad Reagent (BIO-RAD) firmalarından temin edilmiştir. Deney hayvanları için Streptozotosin (STZ) (Applichem GmbH Darmstadt, Almanya), di-kalsiyum fosfat, dl-metiyonin, Ketamin HCl (Merck KgaA Darmstadt, Almanya), Rhompun (Merck KgaA Darmstadt, Almanya) kimyasalları diyet ve kesim aşamalarında kullanılmıştır.

2.1.3. Materyal

Deneyde kullanılan erkek wistar albino sıçanlar Konya Selçuk Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji A.B.D.' da modellenmiştir. Sıçanlar kontrol, diyabetik ve yüksek yağlı diyet olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Her bir grupta 5 adet hayvan bulunmaktadır. Yüksek yağlı diyet (YYD) ve Streptozotozin (STZ) enjeksiyonu ile diyabet oluşumu Srinivasan ve arkadaşları tarafından belirtilen yöntem esas alınarak yapılmıştır (Srinivasan ve ark., 2005; Srinivasan ve Ramarao, 2007). Yüksek yağlı diyetin bileşimi: bitkisel yağ % 3, hayvansal yağ % 37, mısır % 30, sarı kazein % 20, kurutulmuş soya küspesi % 4.5, di-kalsiyum fosfat % 1.7, dl-metiyonin % 0.2, kireç taşı % 1.6, tuz % 0.5, vitamin-mineral karması % 1 şeklindedir. Birinci grup 6 hafta boyunca YYD bileşimi ile beslenmiştir. 6. haftanın sonunda hayvanlara anestezi (Ketamin HCl 50 mg/kg) ve refleks uyaranı (Rhompun %2, 10 mg/kg) intraperitoneal olarak uygulandıktan ve anestezi derinliği, göz refleksi ve ağrılı uyarana yanıtları kontrol edildikten sonra karaciğer dokuları alınmıştır. İkinci grup deneklere ağırlık esasına göre sitrat tamponunda (20mg/ml) (pH 4.3, 4°C) çözülmüş 35mg/kg STZ periton içi yolla tek doz olarak uygulanarak diyabetik modelleme gerçekleştirilmiştir. Kan glukoz düzeyi 300 mg/dl olan hayvanlar diyabetik kabul edilmiş ve 6. hafta sonunda aynı şekilde karaciğer dokuları alınmıştır. Üçüncü grup olan kontrol grubuna ise normal diyet uygulanarak 6. haftanın sonunda aynı şekilde karaciğer dokuları alınmıştır.

2.2 Yöntem

2.2.1 Protein Miktar Tayini

Kullanılan çözeltiler:

1. Sığır serum albumin çözeltisi (Bovine Serum Albumine, BSA) :2 mg/ml
2. Bio-Rad Reagent

Çalışmamızda protein miktar tayini için Bradford yöntemi esas alınmıştır (Bradford 1976). Protein miktar tayininde standart olarak sığır serum albumin (BSA) kullanılır. Stok BSA çözeltisinden konsantrasyonları 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 ve 1.4 mg/ml olan standartlar hazırlanır.

Organik boya olarak kullandığımız Bio-Rad Reagent, 1/5 oranında seyreltilir ve Watman No.1 filtre kağıdı aracılığı ile süzülür. Protein miktar tayininde daha hassas sonuç elde etmek için enzim, 1/10 oranında seyreltilir. Deney tüplerine; stok BSA çözeltisinden hazırlanan standart çözeltilerden ve protein ölçümü yapılacak olan 1/10 oranında seyreltilmiş örneklerden 0,1 ml alınarak üzerlerine hazırlanan organik boyadan 5'er ml ilave edilir. 96'lık platelere bu çözeltilerden 0,2 ml eklenerek spektrofotometrede 595 nm'de ölçümleri yapılır. Enzimlerin protein miktarları, standart çözeltilerden elde edilen sonuçlar ile oluşturulan standart grafiğine göre mg/ml cinsinden hesaplanır.

2.2.2 Aldo-Keto Redüktaz Enzim İzolasyonu

Deneylerde 5 adet sağlıklı, 5 adet diyabetik ve 5 adet obez albino rat karaciğer dokularından aşağıda anlatılan yöntem ile enzim izole edilmiş ve aktivite tayinleri yapılmıştır (Das ve Srivastava, 1985).

İzolasyon işlemi için albino rat karaciğerlerinden ortalama 1000 mg kesilip hassas terazide tartılır. Dokulara ağırlıklarının 3 katı kadar distile su eklendikten sonra homojenizasyon işlemi yapılır. Elde edilen homojenizat +4 ^{o}C, 10000g' de, 20 dakika santrifüj edilir. Elde edilen süpernatan üzerine %40 doygunluk oluşturabilmek için doymuş amonyum sülfat çözeltisi eklenir ve 15 dakika beklendikten sonra tekrar +4 ^{o}C, 10000g' de, 20 dakika santrifüj edilir. Bu şekilde inert proteinlerin bir kısmı ayrılır ve % 50 doygunluk için supernatana doygun amonyum çözeltisi ilave edilir ve 15 dakika manuel şekilde karıştırılarak bekletilir. Supernatan tekrar +4 ^{o}C, 10000g' de, 20 dakika santrifüj edilir. Elde edilen supernatana % 75 doygunluk için katı amonyum sülfat eklenir ve bekletmeden +4 ^{o}C, 10000g' de, 20 dakika santrifüj edilir. Santrifüj sonunda elde edilen pellet 5 ml 0.05 M NaCl çözeltisinde çözülür. Daha sonra aktivite ve protein miktar tayini yapılmak üzere – 80 ^{o}C derin dondurucuda saklanır.

2.2.3 Aldo-Keto Redüktaz Aktivite Tayini

Kullanılan Çözeltiler:

1. Doymuş Amonyum Sülfat Çözeltisi
2. 0.006 M stok NADPH çözeltisi
3. 0.15 M stok DL-gliseraldehit çözeltisi
4. 0.067 M fosfat tamponu, pH:6.2
5. 0.05 M NaCl çözeltisi

Karaciğer dokularından elde edilen enzimin aktivitesi 340 nm dalga boyunda UV-1700 spektrofotometre cihazı kullanılarak tayin edilmiştir. Enzim aktivitesi 340 nm' de NADPH konsantrasyonundaki azalmaya bağlı olarak ölçülmektedir. (Cerelli ve ark., 1986).

İnkübasyon ortamı 0.2 ml fosfat tamponu, 0.1 ml NADPH (2×10^5 M final konsantrasyon), 2.3 ml distile su ve 2,15 mg protein eklenerek hacim 2.9 ml' ye tamamlanmıştır. Reaksiyon küvete 0.1 ml DL-gliseraldehitin (5×10^4 M final konsantrasyonu) eklenmesi ile başlatılır. 37 ^oC' de, 340 nm dalga boyunda NADPH konsantrasyonundaki azalma 5 dakika süresince takip edilir.

Reaksiyonun bitiminden sonra elde edilen aktivasyon eğrisinde absorbans değerleri lineer olan aralıklar tespit edilip eğim değerleri hesaplanır. Eğim değerleri aşağıda belirtilen formüle uygulanarak enzimin U/L cinsinden aktivite hesapları yapılır.

$$U/L = \frac{\Delta A}{\Delta t} \times \frac{V\,(L)}{v\,(L)} \times \frac{1000}{\varepsilon \times d} \quad (\mu\ mol/min^{-1}\ /L^{-1})$$

ΔA = Test tüpündeki absorbans farkı

Δt = Zaman (Dakika)

$\frac{\Delta A}{\Delta t}$ = Eğim

ε = Ekstinsiyon katsayısı ($6{,}22\times10^3\ mmol^{-I}\times mm^{-I}$)

d = Işık Yolu (10 nm)

V(L) = Total Hacim

Veri Analizleri

2.2.4.1 Lineer Regresyon Analizi

Elde edilen proteinlerin spektrofotometrik ölçümünde absorbans değişimleri sonucu elde edilen protein miktarları ve aktivite değerleri Excel programında lineer regresyon analizi ile belirlenmiştir.

2.2.4.2 İstatistiksel Analiz

U/L olarak hesaplanan aktivite değerlerine SPSS (Statistic Program for Social Sciences 15.0) paket programı kullanılarak varyans analizi (ANOVA) yapılmıştır ve gruplar arası farklar tespit edilmiştir.

3. BULGULAR

Deneylerimizde kullanılacak deneklerimizin 0, 3 ve 6. haftalarda kilo ölçümleri yapılmış ve kuyruklarından alınan kan örnekleri ile plazma glukoz ölçümleri yapılmıştır. 6. haftada yapılan ağırlık ölçümleri sonucunda diyabetik grubun ortalama 9,6 ± 13,8gr kilo kaybettiği, yağlı diyetle beslenen grubun ortalama 99,8 ± 24,4 gr kilo kazancının olduğu ve sağlıklı grubun da ortalama 45,2 ± 17,05 gr kilo kazancının olduğu görülmüştür.

Şekil 3.1'de gruplar arası ağırlık değişimleri grafik üzerinde gösterilmiştir. Yapılan ölçümlerin istatistiksel analizleri tek yönlü ANOVA testi kullanılarak yapılıp gruplar arasındaki farklar Duncan ve Tukey analizleri ile belirlenmiştir.

Grupların birbirleri arasındaki ağırlık farkları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde her 3 grup arsında 0. haftada anlamlı bir fark bulunmazken, 3. haftada diyabet grubuna göre YYD grubunda anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,05$).

6. haftada ise kontrole göre diyabet ve YYD grupları arasında ve diyabet grubu ile YYD grubu arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,05$). Şekil 3.1 ve çizelge 3.1'de 0., 3. ve 6. haftalarda belirlenen oratalama ağırlık değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri gösterilmiştir.

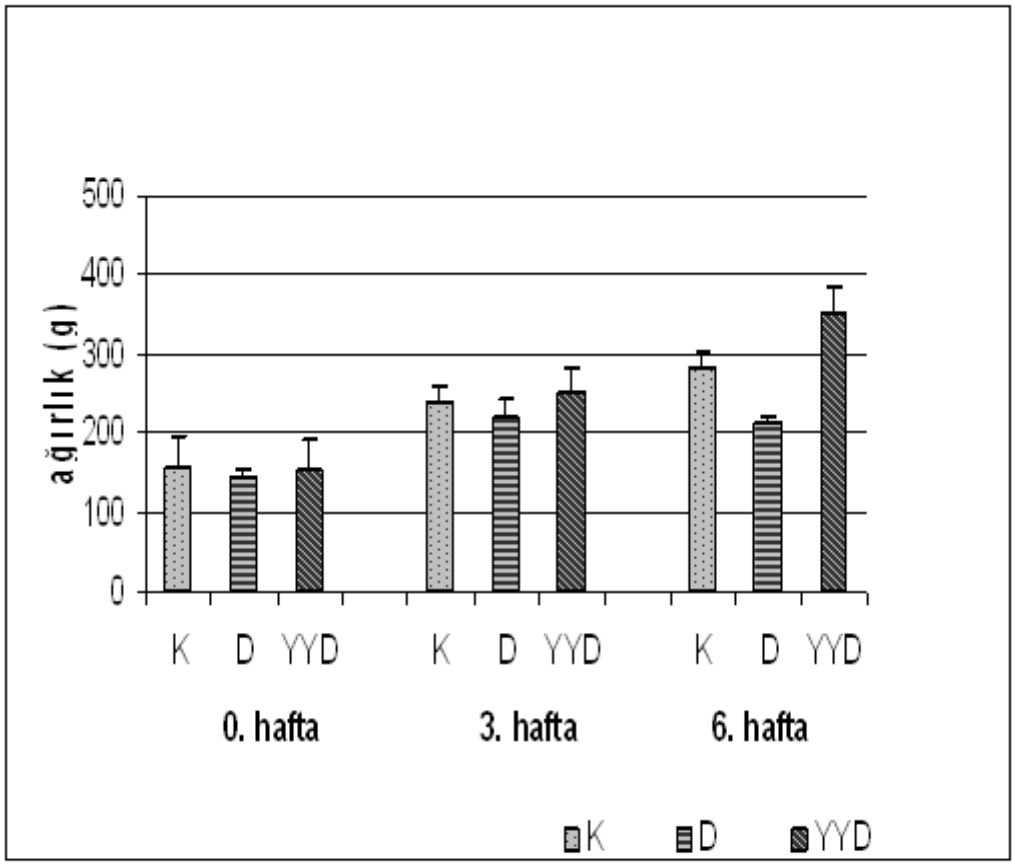
Hafta	Kontrol (g)	Diyabet (g)	Yüksek Yağlı Diyet (g)
0	157,2 ± 39,71	146,2 ± 8,32	153 ± 39,15
3	238,2 ± 23,11	c 222 ± 23	c 250,2 ± 31,75
6	283,4 ± 19,91	a, c 212,4 ± 10,02	b, c 350 ± 34,91

Çizelge 3.1: 0., 3. ve 6. haftalarda kontrol, diyabetik ve yüksek yağlı diyet gruplarının ağırlık değişimleri. Değerler ortalama ± S.D. olarak verilmiştir. Her grupta 5 adet hayvan kullanılmıştır.

a: Kontrol grubuna göre diyabet grubunun anlamlılığı,

b: Kontrol grubuna göre YYD grubunun anlamlılığı,

c: Diyabet grubuna göre YYD grubunun anlamlılığı ($p < 0,05$)



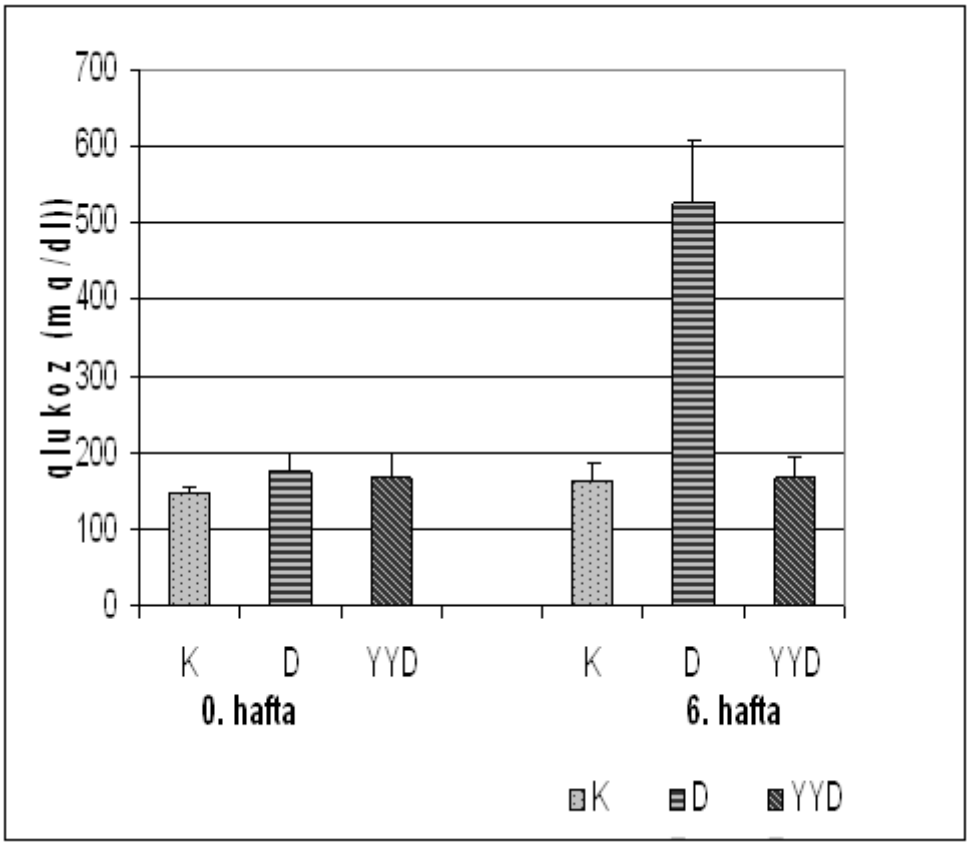
Şekil 3.1: 0., 3. ve 6. haftalarda kontrol, diyabetik ve yüksek yağlı diyet gruplarının ağırlık değişimleri. Değerler ortalama ± S.D. olarak verilmiştir. Her grupta 5 adet hayvan kullanılmıştır. (K: sağlıklı kontrol, D: diyabetik , YYD: yüksek yağlı diyet).

Tüm grupların kan glukoz düzeylerinin ölçümleri 0. ve 6. haftada yapılmıştır (Şekil 3.2). Gruplar arası farklar tek yönlü ANOVA istatistik testi uygulanarak belirlenmiştir. 0. haftada gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0,05$).

6. haftada yapılan glukoz ölçümleri sonucunda sağlıklı grubun ortalama kan glukoz değerleri 161,6 ± 23,59 mg/dl, diyabetik grupta 525,6 ± 83,50 mg/dl, YYD grubunda ise 166,4 ± 27,21 mg/dl düzeylerinde bulunmuştur (Şekil 2.2). Yapılan istatistiksel analiz sonucunda sağlıklı ve YYD grubu arasında anlamlı bir fark bulunmazken ($p>0,05$), sağlıklı ve YYD gruplarının diyabetik gruba göre glukoz seviyeleri arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$) (Çizelge 3.2) .

Hafta	Kontrol (mg/dl)	Diyabet (mg/dl)	Yüksek Yağlı Diyet (mg/dl)
0	145,2 ± 9,54	176,8 ± 20,07	168,8 ± 28,76
6	161,6 ± 23,59	525,6 ± 83,50 a	166,4 ± 27,21 b

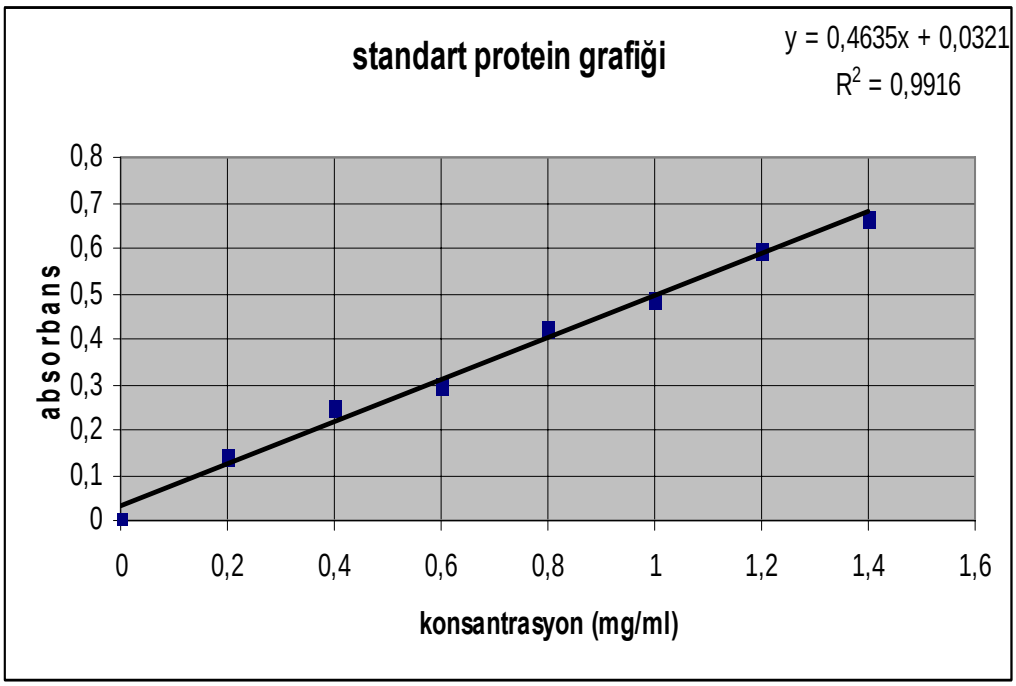
Çizelge 3.2: 0. ve 6. haftalarda kontrol, diyabetik ve yüksek yağlı diyet gruplarının kan glukoz düzeyleri. Değerler ortalama ± S.D. olarak verilmiştir. Her grupta 5 adet hayvan kullanılmıştır. (K: sağlıklı kontrol, D: diyabetik, YYD: yüksek yağlı diyet).
a: kontrol grubuna göre diyabet grubunun anlamlılığı,
b: diyabet grubuna göre YYD grubunun anlamlılığı ($p\leq 0,05$).



Şekil 3.2: 0. ve 6. haftalarda grupların kontrol, diyabetik ve yüksek yağlı diyet gruplarının kan glukoz düzeyleri. Değerler ortalama ± S.D. olarak verilmiştir. Her grupta 5 adet hayvan kullanılmıştır. (K: Sağlıklı kontrol, D: Diyabetik, YYD: Yüksek yağlı diyet)

3.1 Enzim Aktivite Bulguları

Aldo-keto redüktaz enzim aktivitelerinin belirlenmesi için karaciğer dokularından elde ettiğimiz enzimin protein miktar tayini Bradford yöntemi ile yapılmıştır (Bradford, 1976). Protein miktar tayini için standart olarak kullanılmak üzere hazırladığımız stok BSA çözeltisinden 0,4- 0,6- 0,8- 1,0- 1,2- 1,4 mg/ml oranlarında standart çözeltiler hazırlanmış ve 595 nm' de spektrofotometre cihazında ölçümleri yapılmıştır (Şekil 3.3).



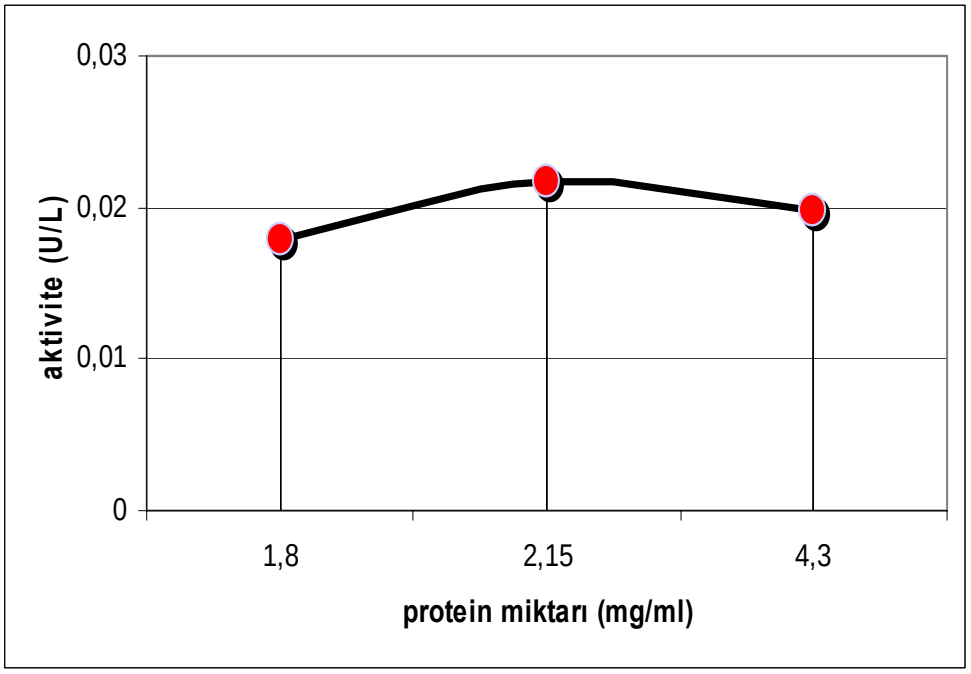
Şekil 3.3: Protein miktar tayini standart grafiği

1/10 oranında dilüe edilen 0,1ml'lik enzime 5ml BIO-RAD çözeltisi eklenerek 595nm' de spektrofotometrik ölçümü yapılmıştır ve standart grafiğe göre protein miktarları hesaplanmıştır.

Karaciğer dokularından elde ettiğimiz enzimlerin aktivitesi 340 nm' de NADPH konsantrasyonundaki azalmaya bağlı olarak ölçülmüştür. Standart grubu olarak

sağlıklı sıçan karaciğerinden elde edilen enzim aktivitesi kabul edilmiştir. Enzimin bazal aktivitesi sabit substrata karşı arttırılmış enzim konsantrasyonun ile belirlenmiştir.

Yapılan denemeler sonucunda 2,15mg proteinin oluşturduğu inkübasyon koşullarında maksimum enzim aktivitesi görülmüştür. Buna göre elde ettiğimiz bazal aktivite değeri $2{,}1704\times10^{-2}$ U/L olarak hesaplanmıştır (Şekil 3.4). Bu değer %100 enzim aktivitesi olarak kabul edilerek diyabet ve yüksek yağlı diyetin enzim aktivitesi üzerine etkileri sağlıklı kontrol grubu esas alınarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.4: Artan protein miktarına bağlı olarak değişen enzim aktivitesi.

Her deney grubunda 5 hayvanın aktivite düzeyleri çalışılmıştır ve her bir deney en az 3 kez tekrarlanmıştır. Aktivite düzeyleri U/L cinsinden hesaplanmıştır ve sonuçların değerlendirilmesinde her grubun ortalama sonuçları dikkete alınmıştır. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda diyabet ve yüksek yağlı diyet gruplarının enzim aktivite düzeyleri sağlıklı gruba göre yüksek bulunmuş ve anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p<0,05$). Fakat diyabet ve obez grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Çizelge 3.3), ($p>0,05$)

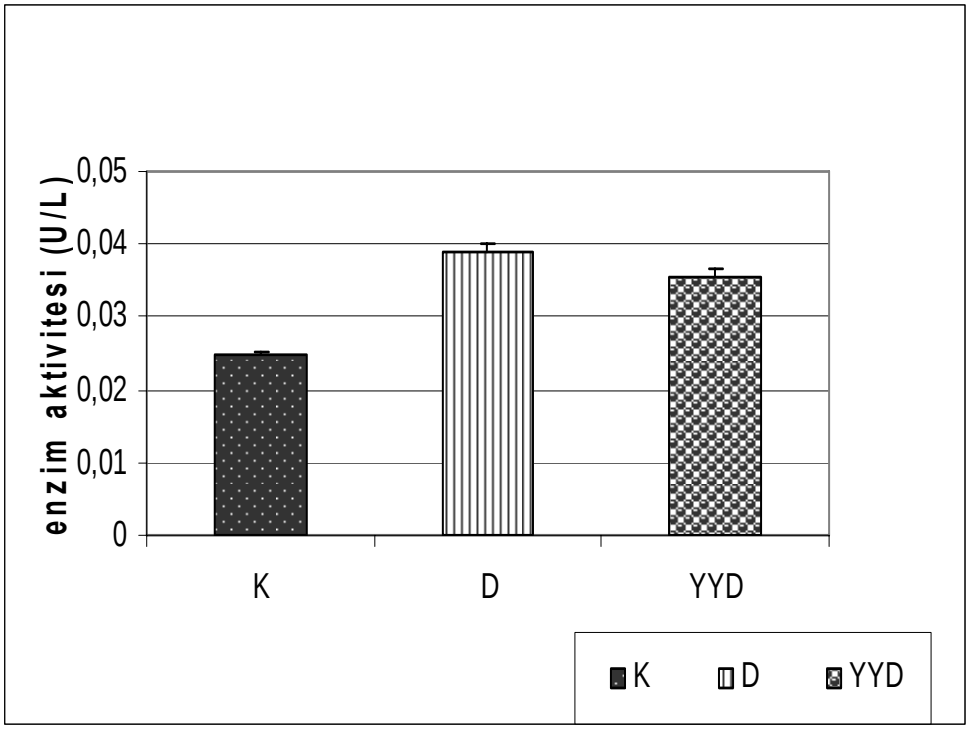
Gruplar	Enzim aktivitesi (U/L)
K (n= 5)	$2,487 \times 10^{-2} \pm 0,044 \times 10^{-2}$
D (n= 5)	$3,886 \times 10^{-2} \pm 0,13 \times 10^{-2}$ a
YYD (n= 5)	$3,556 \times 10^{-2} \pm 0,17 \times 10^{-2}$ b

Çizelge 3.3: Kontrol, diyabetik ve yüksek yağlı diyet gruplarının enzim aktivitesi ortalama değerleri. Değerler ortalama ± S.D. olarak verilmiştir. Her grupta 5 adet hayvan kullanılmıştır. Her deney en az 3 kez tekrarlanmıştır.(K: Sağlıklı kontrol, K: Diyabet, YYD: Yüksek yağlı diyet).

a: Kontrol grubuna göre diyabet grubunun anlamlılığı,

b: Kontrol grubuna göre YYD grubunun anlamlılığı ($p\leq 0,05$)

Ölçümler sonunda elde edilen enzim aktiviteleri sağlıklı kontrolde ortalama 2,487 $\times 10^{-2} \pm 0{,}044 \times 10^{-2}$ U/L, diyabetik kontrolde ortalama $3{,}886 \times 10^{-2} \pm 0{,}13 \times 10^{-2}$ U/L, yüksek yağlı diyet grubunda ise ortalama aktivite düzeyi $3{,}556 \times 10^{-2} \pm 0{,}17 \times 10^{-2}$ U/L' dir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5: Kontrol, diyabetik ve yüksek yağlı diyet gruplarının enzim aktivitesi ortalama değerleri. Değerler ortalama ± S.D. olarak verilmiştir. Her grupta 5 adet hayvan kullanılmıştır. Her deney en az 3 kez tekrarlanmıştır. (K: sağlıklı kontrol, D: diyabetik kontrol, YYD: yüksek yağlı diyet).

4.TARTIŞMA

Diyabet, bilindiği gibi tüm dünyada hızla yaygınlaşan, yüksek mortalite ve morbidite oranına sahip, insülin yokluğuna veya insülin kullanımındaki defektlere bağlı olarak ortaya çıkan, öncelikli olarak karbohidrat metabolizması yetersizliği olarak kendini gösteren, sonrasında ise protein, lipit ve nükleik asit metabolizması gibi organizmanın hemen hemen tüm metabolizmasını olumsuz yönde etkileyen metabolik bir hastalıktır.

Yapılan birçok araştırmaların sonucunda diyabetin gelişmesinde genetik, çevresel ve otoimmün faktörlerin etkili olduğu kanıtlanmıştır. Epidemiyolojik çalışmalar sonucunda tip 2 diyabetin gelişmesinde çevresel faktörlerin önemli derecede etkili olduğu gösterilmiştir. Diyabete neden olan çevresel faktörlerin başında ise obezite gelmektedir (İmamoğlu,2006)

Obezite, vücuda besinler ile alınan enerjinin, harcanan enerjiden fazla olmasından kaynaklanan ve vücut yağ kitlesinin, yağsız vücut kitlesine oranının artması ile karakterize olan kronik bir hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütünün tanımına göre obezite tip 2 diyabet, hipertansiyon, aterosklerotik kalp hastalığı, serebrovasküler hastalıklar, solunum sistemi hastalıkları, bazı kanser çeşitleri ve daha birçok problemlere neden olabilen sistemik bir hastalık olarak kabul edilmektedir (WHO 1997; Sovers, 1998, Sovers, 2003; Brook ve Julius, 2000).

Obezite ile tip 2 diyabet arasındaki ilişkinin patofizyolojisi ile ilgili çalışmalar halen devam etmektedir. Ancak yapılan çalışmalar ile tip 2 diyabet ile obezite arasındaki ilişki insülin direncine bağlı olduğunu kanıtlanmıştır. Tip 2 diyabetin ortaya çıkışındaki temel mekanizma hiperinsülinemi ve insülin direncidir.

Obezite ile beraber diyabetin gelişmesi diyabetik komplikasyonların ortaya çıkma riskini daha da arttırmaktadır. Organizmada kan glukozunun yükselmesine bağlı olarak metabolik faaliyetlerin bozulması ile nöropati, nefropati, retinopati, katarakt ve aterosklerozis gibi ikincil semptomlar gelişmektedir (Kinoshita ve Nishimura 1988, Puglise ve ark. 1991, Van-den-Enden ve ark., 1995, Dunlop 2000; Lizicarova ve ark., 2010).

Yapılan araştırmalar sonucunda diyabet sürecinde bu ikincil komplikasyonların meydana gelmesinde bazı yolakların etkili olduğu düşünülmektedir. Bu yolaklar PKC yolağı, poliol yolağı, heksozamin yolağı ve ileri glikasyon son ürünlerinin oluşumudur (Dunlop,2000; Brownlee, 2001; Mendenev, 2010) .

Bu hipotezler arasında öncelikli olarak poliol yolağının etkili olduğu üzerine durulmaktadır. Yüksek glukoz konsantrasyonu poliol yolu ile sorbitol üretimine neden olmaktadır. Glukoz aldoz redüktaz enzimi yardımıyla sorbitole dönüşmektedir. Bu mekanizmada NADPH kullanılmaktadır. Bilindiği gibi okside glutayonun redükte formuna dönüşmesi ve NO sentezi için NADPH gerekmektedir. Bu nedenle poliol yolağının hiperglisemi sonucunda aktivitesinin artması ile NADPH tüketimi de artacaktır (Ishii ve Jirousek, 1996; Kuboki ve ark., 2000). Sonuçta hücrede NADPH' nin yokluğu hücrenin antioksidan kapasitesinde azalma meydana gelmektedir. Ayrıca sorbitolün kendisi de bir doku toksini gibi hareket eder (Bravi ve ark., 1997; Yabe-Nishimura 1998; Morrisey ve ark., 1999). Bu nedenle retinopati, nöropati ve kalp hastalıklarının patogenezinde önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir.

Diyabetik komplikasyonlarla ilişkisi olduğu düşünülen poliol yolağının en önemli enzimi olan aldoz redüktaz Aldo-keto redüktaz süperailesine ait bir enzimdir. Aldoz redüktaz ayrıca toksik aldehitlerin detoksifikasyonunda, böbreklerde osmoregülatör olarak ve sperm hücrelerinin oluşumunda da düzenleyici olarak görev yapmaktadır.

Günümüzde diyabetik komplikasyonların tedavisi için çalışmalar aldoz redüktaz inhibitör ilaçları üzerine yoğunlaştırılmıştır. Fakat aldoz redüktaz inhibitörlerinin nonspesifik toksisitesi önemli bir sorundur (Kumar 2005). Bu yan etkilerin en muhtemel nedeni ilaçların aldoz redüktaza yapısal olarak benzeyen enzimlere de etki etmesidir (Kumar ve Reddy, 2006; Barski ve ark., 1995).

Örneğin aldo-keto redüktaz süperailesinin bir diğer enzimi olan aldehit redüktazlar yapısal olarak aldoz redüktazlara benzemektedir. Aldehit redüktazlar detoksifikasyonda, trigliserit ve kolesterol biyosentezinde merkezi bir rol oynamaktadır (Jin ve Penning 2007).

Sonuçta diyabetik komplikasyonların tedavisinde kullanılması amaçlanan aldoz redüktaz inhibitör maddelerinin daha etkili ve spesifik olması için AKR proteinlerinin organlardaki ekspresyon düzeylerinin daha ayrıntılı incelenmesinin aldoz redüktaz inhibitörleri ile tedavi yöntemleri için daha farklı bakış açısı kazandırabileceği düşünülmektedir (Kumar ve Reddy 2006).

Bu çalışmada diyabet, obezite ve poliol yolağı arasındaki ilişki göz önüne alarak aldo-keto redüktaz enziminin diyabet ve yüksek yağlı diyetteki aktivite düzeylerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Wistar cinsi erkek sıçanlar kontrol, diyabetik ve yüksek yağlı diyet grupları oluşturulup bu ilişki incelenmiştir.

Bu çalışmada oluşturulan hayvan modellerinin karaciğer dokularından elde ettiğimiz enzim grubu aldo-keto redüktaz süperailesinin iki önemli üyesi olan aldoz redüktaz ve aldehit redüktaz enzim ailesine spesifik olarak izole edilmiş ve spektrofotometrik olarak aktivite ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

Araştırmacılar, aldoz redüktaz enziminin ekspresyonunun organizmanın metabolik faaliyetleri için çok önemli bir organ olan karaciğer dokusunda sürekli olarak gerçekleştiğini göstermiştir (Penning, 2005).

Çalışmamızın sonucuna göre diyabetik ve obez karaciğer dokusunda gözlenen aktivitie düzeyi sağlıklı gruba göre sırasıyla % 56 ve % 42 daha yüksek bulunmuştur. Tüm gruplar arasındaki enzim aktiviteleri arasındaki fark istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. İstatistik sonuçları göz önüne alındığında diyabetik ve obez grubun enzim aktivite düzeylerinin sağlıklı gruba göre anlamlı düzeyde artmış olduğu gözlenirken ($p< 0,05$), diyabetik grup ile obez grubun birbirleri arasındaki enzim aktivite düzeyleri arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p> 0,05$).

Yapılan pek çok araştırmada ileri diyabetik koşullarında mikrovasküler komplikasyonların gelişmesinde aldoz redüktaz enziminin ekspresyonunun arttığı rapor edilmiştir. Bu sonuçlar bizim çalışmamızı desteklemektedir. Ancak, obezite ile ilgili moleküler düzeyde çalışmalar henüz hız kazanmamıştır. Elde ettiğimiz sonuçlara göre obezitede aldo-keto redüktaz enzim aktivitesinin yüksek bulunmasının obeziteye bağlı komplikasyonların gelişme riskinin yüksek olabileceğini düşündürmektedir. Obezitedeki aldoz redüktaz enzim aktivitesindeki yükselmenin kan glukoz konsantrasyonuna bağlı olmadığı tarafımızdan tespit edilmiş olup bu artışın antioksidan savunma sistemi ile ilgili olabileceği kanısına varılmıştır. Bu da daha sonra yapılacak olan çalışmalara yön verecektir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Obezite vücuda besinler ile alınan enerjinin harcanan enerjiden fazla olması sonucu meydana gelen vücut yağ kitlesinin artması ile karakterize, ileriki dönemlerinde de hipertansiyon, ateroskleroz, kardiyovasküler hastalıklar, solunum sistemi hastalıkları, kanser, diyabet gibi birçok problemlere neden olabilen sistemik bir hastalıktır. Yaşam koşullarının değişmesi ve insanların fast-food tarzı beslenme alışkanlıkları nedeni ile obezite oranı gün geçtikçe daha da artmaktadır. Diyabetin günümüzde artış göstermesinin nedenlerinden biri de obezitedir. Yapmış olduğumuz çalışmada diyabetik komplikasyonların meydana gelmesinde çok önemli rolü olan aldoz redüktaz enziminin obez sıçanlarda da yüksek aktivite düzeyinde olduğunu gösterilmiştir. Diyabetik ve obez karaciğer dokularında gözlenen aktivite düzeyi sağlıklı gruba göre sırasıyla % 56 ve % 42 oranında daha yüksek bulunmuştur. Aldoz redüktaz enziminin her iki grupta da yüksek çıkması bu enzime bağlı olan komplikasyonların kişi diyabetik sürece girmeden de gelişebileceği düşüncesini oluşturmaktadır. Obezitede kan glukoz düzeyine bağlı olmayan enzim aktivitesi artışının antioksidan savunma sistemi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışma, aldoz redüktaz enziminin obezite nedeni ile ortaya çıkan komplikasyonlar ile bir ilişkisinin olabileceği ihtimalini düşündürmekte ve bundan sonra yapılacak olan çalışmalara ışık tutmaktadır.

ÖZET

Diyabet ve Yüksek Yağlı Diyetin Sıçanlarda Aldo-keto Redüktaz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi

Çalışmamızın amacı diyabetik ve obez sıçanların karaciğer aldo-keto redüktaz enziminin aktivite düzeylerini kıyaslamaktır.

Obezite, diyabetin gelişmesinde majör bir risk faktörüdür. Diyabet nedeni ile gelişen hiperglisemi ise diyabetik komplikasyonların meydana gelmesine neden olmaktadır. Bu sistemik komplikasyonlar diyabet hastalarının mortalite ve morbidite oranını arttırmaktadır. Diyabetik komplikasyonlar ateroskleroz, koroner arter hastalıklarının bulunduğu makrovasküler komplikasyonlar ve retinopati, nefropati ve nöropatinin bulunduğu mikrovasküler komplikasyonlar olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Hiperglisemi nedeni ile poliol yolağı, oksidatif stres, non-enzimatik glikasyon ve PKC aktivasyonları artmaktadır. Poliol yolağı aktivasyonunun artması diyabetik komplikasyonların gelişmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Aldo-keto redüktaz süperailesi aldehit redüktaz ve aldoz redüktaz enzimlerinin yer aldığı NADPH bağımlı oksidoredüktazlardır. Aldoz redüktaz enzimi retina, lens, sinir dokusu, plasenta, böbrek ve karaciğer dokularında bulunmaktadır. Karaciğer dokusu karbohidrat metabolizması için majör bir organdır. Glukoz homeostazisinin karaciğer için bilinen bu merkezi rolü glukoz intoleransı patogenezi için önemli bir ipucudur. Çalışmamızda kontrol, diyabetik ve yüksek yağlı diyet sıçan gruplarının 6 hafta süre sonunda karaciğer aldo-keto redüktaz enzim düzeyleri karşılaştırılmıştır. Aktivite düzeyleri spektrofotometrik yöntem ile belirlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda enzim aktiviteleri kontrol grubunda 0,249 U/L, diyabetik grupta 0,389 U/L, yüksek yağlı diyet grubunda 0,356 U/L olarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçların istatistiksel analizleri yapıldığında enzim aktivite düzeylerinde kontrol grubuna göre diyabetik ve yüksek yağlı diyet gruplarında anlamlı düzeyde artış tespit edilmiştir ($p< 0,05$). Diyabetik ve yüksek yağlı diyet gruplarının enzim aktiviteleri birbirlerine göre kıyaslandığında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Sonuç olarak, hiperglisemik ve obez koşullarda enzim aktivitesinin artışı poliol yolağının aktivasyonuna neden olmaktadır ve bu da birçok metabolik komplikasyonlara yol açabilir.

Anahtar kelimeler: Aktivite, aldo-keto redüktaz, diyabet, yüksek yağlı diyet

SUMMARY

The Effect of Diabetes and High-fat Diet on Aldo-keto Reductase Enzyme Activity.

The aim this study is to compare the aldo-keto reductase enzyme activities in liver of diabetic rats and obese rats.

Obesity is a major risk factor for the development of diabetes. Hyperglycemia has been shown to be the risk factor responsible for the diabetic complications.. Systemic complications are the major cause of morbidity and mortality in patients with diabetes. These are macrovascular complications such as atherosclerosis, coronary artery disease; and microvascular disease which includes retinopathy, nephropathy and neuropathy. Several mechanisms have been responsible from the adverse effects of elevated glucose levels including the polyol pathway, oxidative stress, non-enzymatic-glycation and protein kinase C activation. Increased polyol pathway flux has been implicated in the development of diabetic complications. The aldo-keto reductase family is a NADPH-dependent oxidoreductase which includes aldhyde reductase and aldose reductase enzymes. They catalyses the reduction of variety of aldhydes and carbonyls including monosaccharides. Aldose reductase catalyses the NADPH-dependent conversion of glucose to sorbitol, the first step in polyol pathway of glucose metabolism. Aldose reductase is present in lens, retina, nerves, placenta, liver, kidney and red blood cells. The liver plays a central and crucial role in the regulation of carbohydrate metabolism. This central role for the liver in glucose homeostasis ofer a clue to the pathogenesis of glucose intolerance. In our study, we compared the enzyme activity differences between control, diabetic and high- fat diet groups which are followed by 6 weeks. Aldo-keto reductase enzyme is isolated from rat livers. Liver aldo-keto reductase enzyme activities of these groups were determined by a spectrophotometric method. The enzyme activities are 0.249 U/L in control group, 0.389 U/L in diabetic group and 0.356 U/L in high-fat diet group. As a result, significantly increased enzyme activities are found in diabetic and high-fat diet groups according to the control group ($p<0.05$). Differences between diabetics and obese groups were not significant. In conclusion, under hyperglycemic and obese conditions the enhancement of enzyme activities causes the polyol pathway activation and this may cause several metabolic complications.

Key Words: Activity, aldo-keto reductase, diabetes, high-fat diet

KAYNAKLAR

AJAN, R. A., GRANT, P.J. (2006). Cardiovascular Disease Prevention in Patients with Type 2 Diabetes: The Role of Oral Anti-diabetic Agents. *Diab Vasc Dis Res*. **3** (3): 147-158.

AKPOLAT, T., UTAŞ, C., SÜLEYMANLAR, G. (2007). Diabetik nefropati. Nefroloji el kitabı Nobel Tıp Kitabevleri 243–251.

ALEMZADEH, R., WYATT, D.T. (2004). Diabetes Mellitus. In: Behrman R.E, Kliegman R.M, Jenson H.B (eds). Nelson Textbook of Pediatrics. **17** edition. Pennsylvania: *Elsvier Saunders*; p. 1947-72.

ALEXIOU, P., PEGKLIDOU, K., CHATZOPOULOU, M., NICOLAOU, I., DEMOPOULOS, V.J. (2009). Aldose reductase enzyme and its implication to major health problems of the 21st century. *Current Medicinal Chem*. **16**: 734- 752.

AMERİCAN DIABETES ASSOCIATION. (1997). The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. **20** (1): 1183-1197.

AMERİCAN DIABETES ASSOCIATION. (2000). Type 2 diabetes in children and Adolescents. *Diabetes Care*. Vol. **23.** No: 3.

AMERİCAN DIABETES ASSOCIATION. (2004). Screening for type 2 diabetes. *Diabetes Care*. **27** (1): 11-14.

ANONYMOUS. (1997). The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. **20**: 1183-1197.

ANONYMOUS. (1999). World Health Organization. Department of Noncommunicable Disease Surveillance: Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *WHO Publication, Geneva*. 1-59.

ANONYMOUS. (2000). American Diabetes Association. Type 2 Diabetes in Children and Adolescent. *Diabetes Care.* **23** (3): 381-389.

ANONYMOUS. (2002). Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care.* **25** (1): 3-20.

ANONYMOUS. (2003). Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Follow-up Report on the Diagnosis of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. **26**: 3160-3167.

ANONYMOUS. (2004). American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. **27** (1): 5-10.

ANONYMOUS. (2009). American Diabetes Association. Standarts of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care*. **32**: 13-61.

ANONYMOUS. (2010). American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. **33**: 62-69.

ARMSTRONG, D.G., LAVERY, L.A., QUBEDEAUX, T.L., WALKER, S.C. (1998). Surgical Morbidity and the risk amputation due to infected puncture wounds in diabetic versus nondiabetic adults. *Arc Intern Med.* **158**: 289-292.

AYNACİOGLU, CASCORBİ, GÜNGÖR, ÖZKUR, BEKİR, ROOTS & BROCKMÖLLER: Population frequency, mutation linkage and analytical methodology for the Arg16Gly, Gln27Glu and Thr164Ile polymorphisms in the D2-adrenergic receptor among Turks Blackwell Science Ltd Br *J Clin Pharmacol*, **48:** 761–764 (1999)

BAGRIAÇIK, N. (1997). Diabetes Mellitus; Tanımı, tarihçesi, sınıflaması ve sıklıgı. Diabetes Mellitus 7.Ü.Cerrahpasa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Egitimi Komisyonu Yayın No: 4, Deonta, sayfa : 11. , İstanbul

BAHADA, S.K., SAHAY, R.K., JYOTSNA, V.P., AGRAWAL, J.K. (2001). Diabetic neuropathy: current consepts. *Journal, Indian Academy of Clinical Medicine*. **2**(4): 305-318.

BARISANI, D., MENEVERI, R., GINELLI, E., CASSANI, C., CONTE, D. (2000). Iron overload and gene expression in HepG2 cells: analysis by differential display FEBS Lett. 10;**469**(2-3):208-12.

BARSKI, O.A., TRIPPARAJU, S.M., BHATGANAR, A. (2008). The aldo-keto reductase superfamily and its role in drug metabolism and detoxification. Drug Metabolism Reviews. **40**:553-624.

BARSKİ, O. A., GABBAY, K. H., BOHREN, K. M. (1999). Characterization of the human aldehyde reductase gene and promoter. *Genomics* **60**:188–198.

BARSKİ, O. A., GABBAY, K. H., GRİMSHAW, C. E., BOHREN, K. M. (1995). Mechanism of human aldehyde reductase: characterization of the active site pocket. *Biochemistry* **34:**11264–11275.

BARSKİ, O.A., PAUSHA, V. Z., KUNKEL, G.R., GABBAY, K.H. (2004). Regulation of aldehyde reductase expression by STAF andCHOP. *Genomics.* **83:**119-129.

BARSKİ, O. A., PAPUSHA, V. Z., IVANOVA, M. M., RUDMAN, D. M., FİNEGOLD, M. J. (2005). Developmental expression and function of aldehyde reductase in proximal tubules of the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* **289:**F200–F207.

BECKMAN, J.A., CREAGER, M.A., LIBBY, P. (2002). Pathophysiology and management diabetes and atherosclerosis: Epidemiology. Journal of the American Medical Association (JAMA). **287**(19): 2570-2581.

BHADADA, S.K., SAHAY, R.K., JYOTSNA, V.P., AGRAWAL, J.K., (2001). Diabetic Neuropathy: Current Concepts. *Journal, Indian Academy of Clinical Medicine.* 2(4):305- 318.*Biochem J* **00**:117–124.

BJORNTORP, P., ROSMOND, R. (2000). Neuroendocrine abnormalities invisceral obesity, Int J Obes Relat Metab Disord; **24**(2): 80-5.

BOHREN, K.M., GRIMSHAW, C.E., LAI, C.J., HARRISON, D.H., RINGE, D.H., PETSKO, G.A., GABBY, K.H. (1994). Tyrosine-48 is the proton donor and histidine-110 directs substrate stereochemical selectivity in the reduction reaction of human aldose reductase: enzyme kinetics and crystal structure of the Y48H mutant enzyme. *Biochemistry.* **33**: 2021-2032.

BOHREN, K.M., BULLOCK, B., WERMUTH, B., GABBAY, K.H. (1989). The aldo-keto reductase superfamily. cDNAs and deduced amino acid sequences of human aldehyde and aldose reductases. *J. Biol. Chem.* **264**:9547-9551.

BROOK, R. D., JULIUS, S. (2000). Autonomic imbalance, hypertension, and cardiovascular risk. *Am J Hypertens* **13**:112S–122S.

BROWNLEE M. (1992). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. **414**: 813-820.

BROWNLEE, M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature. Vol.* **414**. 813-820.

BURSEL, S.E, KING, G.L. (1999). Can protein kinase C inhibition and vitamin E prevent thr development of diabetic vascular complications? *Diabetes Res Clin Pract*. **45:** 169-182.

CALCUTT, NA, FRESHWATER, JD, MİZİSİN, AP. (2004). Prevention of sensory disorders in diabetic Sprague-Dawley rats by aldose reductase inhibition or treatment with ciliary neurotrophic factor. *Diabetologia* **47**:718 –724.

CAO D, TAT FAN S, CHUNG S. (1998). Identification and characterization of a novel human aldose reductase-like gene. *J. Biol. Chem.* **273**(19): 11429-11435.

CARPER, D.A., WISTOW, G., NISHIMURA, C., GRAHAM, C., WATANABE, K., FUJI, Y, HAYASHI H, HAYAISHI O. (1989). A superfamily of NADPH-dependent reductases in eukaryotes and procaryotes. *Exp. Eye. Res.* **49**: 377-388.

CARROZZA, J.P., KUNTZ, R.E., FISHMAN, R.F., BAIM, D.S. (1993). Restenosis after arterial injury caused by coronary stenting in patients with diabetes mellitus. *Ann Intern Med.* **118**:344-349.

CERELLI, M.J., CURTIS, D.L., DUNN, J.P., NELSON, P.H., PEAK, T.M., WATERBURY, L.D. (1986). Antiinflammatory and aldose reductase inhibitory activity of some tricyclic aryacetic acids. *J. Med. Chem.* **29**(11): 2347-51.

CHAN JM., RİMM EB., COLDİTZ GA.. (1994). Obesity, fat distribution, andweight gain as risk factors for clinical diabetes in men, *Diabetes Care* **17**:961–969.

CHIBBER R, CHIBBER S, KOHNER E.V. (2007). 21st Century treatment of diabetic retinopathy. *Expert Review of Endocronology and Metabolism.* **2**(5): 623-631.

CIPOLLA M.J, PORTER J.M, OSOL G. (1997). High glucose concentrations dilate cerebral arteries and diminish myogenic tone through an endothelial mechanism. *Stroke.* **28**: 410-411.

COLDİTZ GA., WİLLETT WC., ROTNİTZKY A., MANSON B. (1995). Weight gain as arisk factor for clinical diabetes mellitus in women, Ann Intern Med,122, 481–486

COPPEY L.J, GELLETT J.S, DAVIDSON E.P, DUNLAP J.A, YOREK M.A. (2002). Effect of treating streptozotocin- induced diabetic rats with sorbinil myo-inositol or aminoguanidine on endoneurial blood flow, motor nevre conduction velocity and vascular function of epineurial arterioles of the sciatic nevre. *Int J Exp Diabetes Res* **3**: 21-36 .

COSTANTINO, L., RASTELLI, G., VIANELLO, P., CIGNARELLA, G., BARLOCCO, D. (1999). Diabetes Complications and Their Potential Prevention: Aldose Reductase Inhibition and other approaches. *Med Res Rev.* **19**(1):3-23.

COSTANTINO, L., RASTELLI, G., VIANELLO, P., CIGNARELLA, G., BARLOCCO, D. (1999). Diabetes Complications and Their Potential Prevention: Aldose Reductase Inhibition and other approaches. *Med Res Rev.* **19**(1):3-23.

DAS, B. AND SRIVASTAVA, S.K. (1985). Purification and properties of aldose reductase and aldehyde reductase II from human erythrocyte. *Arch. Biochem. Biophys.* **238:**670-679.

DAŞ EVCİMEN, N., KING, G.L. (2007). The role of protein kinase C activation and the vascular complications of diabetes. *Pharmacological Researc.* **55**: 498-510.

DAVIDSON, J.K. (1991). Clinical diabetes mellitus, diabetic eye disease. Thime Medical Puplishers. P: 427-444.

DCCT RESEARCH GROUP. (1995). The relationship of glycemic exposure to the risk of development and progression of retinopathy in the DCCT. *Diabetes*. 44:968-83.

DE VRIESE, A.S., VERBEUREN, T.J., VAN DE VOORDE, J., LAMEIRE, N.H., VAHOUTTE, P.M. (2000). Endothelial dysfunction in diabetes. *British Journal of Pharmachology*. **130**(5): 963-974.

DEVENDRA, D., LIU, E., AISENBARTH, G.S. (2004). Type 1 diabetes: recent developments. *British Medical Journal*. **328**: 750-754.

DEYASHİKİ, Y., OHSHİMA, K., NAKANİSHİ, M., SATO, K., MATSUURA, K., HARA, A. (1995). Molecular cloning and characterization of mouse estradiol 17 beta-dehydrogenase (A-specific), a member of the aldoketoreductase family. *J Biol Chem* **270:**10461–10467.

DI CARLI, M.F., HACHAMOVITCH, R. (2005). Should we screen for occult coronary artery disease among asymptomatic patients with diabetes? *J Am Coll Cardiol*. **45:**50-53.

DOÇ. DR. NESE ÖZBEY, PROF. DR. YUSUF ORHAN. (2003) Diabetes mellitus; Nobel tıp kitabevi 1/80 ,SBN : 9754201870 ,ANKARA.

DUNLOP, M. (2000). Aldose reductase and the rol of the polyol pathway in diabetic nephropathy. *Kidney Internaional Supplement*. **58**: 2-12.

EDWARDS, J.L., VINCENT, A..M., CHENG, H.T., FELDMAN, E.L. (2008). Diabetic neuropathy: Mechanism to management. *Pharmacology and Therapeutics.* **120**:1-34.

EL-KABBANI, O., DARMANIN, C., T, R, HAZERMANN, I., RUIZ, F., OKA, M., JOACHIMIAK, A., SCHULZE-BRIESE, C., TOMIZAKI, T., MITSCHLER, A., PODJARNY, A. (2004). Ultrasight resolution drug design. II. Atomic resolution sutructures of human aldo-keto reductase holoenzyme complexed with fidarestad and minalrestat: Implication fort he binding of cyclic imide inhibitors. *Proteins: Structure, Function and Bioinformatics.* **55:**805-813.

EL-KABBANI O, RUIZ F, DARMANIN C, CHUNG R.P.T. (2004). Aldose reductase structures: Implications for mechanism and inhibition. Cellular and Molecular Life Sciences. **61**: 7-8.

EL-KABBANI, O., JUDGE, K., GINELL, S. L., MYLES, D. A., DE LUCAS, L. J., FLYNN, T. G. (1995). Structure of porcine aldehyde reductase holoenzyme. *Nat Struct Biol* **2**:687–692.

ELLİS, E. M. (2002). Microbial aldo-keto reductases. *FEMS Microbiol Lett* **216**:123–131.

ELLİS, E. M., JUDAH, D. J., NEAL, G. E., HAYES, J. D. (1993). An ethoxyquin-inducible aldehyde reductase from rat liver that metabolizes aflatoxin B1 defines a subfamily of aldo-keto reductases. *Proc Natl Acad Sci U S A* **90**:10350–10354.

FAWLER, M.J. (2008). Microvascular and macrovascular complications of diabetes. *Clinical Diabetes.* **26**(2): 77-82.

FICICIOGLU, C., AYDIN, A., HAKAN, M., KIZILTAN, M. (1994). Peripheral neuropathy in children with insulin-dependent diabetes mellitus. *Türk J. Pediatri*. **36**:97-104.

FINK, M., DUPRAT, F., LESAGE, F., HEURTEAUX, C., ROMEY, G., BARHANİN, J. (1996). A new K+ channel beta subunit to specifically enhance Kv2.2 (CDRK) expression. *J Biol Chem* **271**:26341–26348.

FUKUMOTO, S., YAMAUCHİ, N., MORİGUCHİ, H., HİPPO, Y., WATANABE, A., SHİBAHARA, J. (2005). Overexpression of the aldo-keto reductase family protein AKR1B10 is highly correlated with smokers' non-small-cell lung carcinomas. *Clin Cancer Res* **11**:1776–1785.

GARCIA, S.F., VIRAG, L., JAGTAP, P., SZABO, E., MABLEY, J.G., LIAUDET, L., MARTON, A., HOYT, D.G., MURTHY, K.G., SALZMAN, A.L., SOUTHAN, G.J., SZABO, C. (2001). Diabetic endothelial dysfunction: the role of poly(ADP-ribose) polymerase activation. *Nature Med*. **7:**108-113.

GARDNER, R., KAZİ, S., ELLİS, E. M. (2004). Detoxication of the environmental pollutant acrolein by a rat liver aldo-keto reductase. *Toxicol Lett* **148**:65–72.

GILLIGAN, J.P., SPECTOR, S. (1984). Synthesis of collagen in cardiac and vascular walls. *Hypertension*. **6**(3): 11144-9.

GOH S.Y, COOPER M.E. (2008). The role of advenced glycation and products in progression and complications of diabetes. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* **93:** 1143-1152.

GOLAY A., FELBER J-P.(1994). Evolution from obesity to diabetes, *DiabeteMetab.* **20:**3–14.

GONZALES R, BARNETT P, AGUAYO J, CHENG H.M, CHYLACK L.T.J. (1984). Direct measurement of polyol pathway activity in the ocular lens. *Diabetes.* **33**:196.

GREENE, D.A., SIMA, A.A.F., STEVENS, M.J., FELDMAN, E.L., LATTIMER, S.A. (1992). Complications:neuropathy, parhogenetic considerations. *Diabetes Care*. **15:**1902-1925.

GROOP, L.C., SALORAUTA, C., SHANK, M., (1991). The role of free fatty acidmetabolism in the pathogenesis of insulin resistance in obesity andnon-insulin dependent diabetes mellitus, *J Clin Endocrinol Metab*; **72**: 96–107.

GUENGERİCH, F. P., CAİ, H., MCMAHON, M., HAYES, J. D., SUTTER, T. R., GROOPMAN, J. D. (2001). Reduction of aflatoxin B1 dialdehyde by rat and human aldo-keto reductases. *Chem Res Toxicol* **14:**727–737.

GULBİS, J. M., ZHOU, M., MANN, S., MACKİNNON, R. (2000). Structure of the cytoplasmic beta subunit-T1 assembly of voltage-dependent K+ channels. *Science* **289:** 123–127.

GUYTON, A. C., HALL, J. E. (2007). Tıbbi Fizyoloji (65. ve 67. bölümler). 11. basım. Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul.

HALLAM K, GOMEZ T, Lİ Q, ANANTHAKRİSHNAN R, YAN S, SCHMİDT AM, RAMASAMY R. (2006). Polyol pathway inhibition improves age-related vascular dysfunction in rats. *Experimental Biology* **18**:C276.

HALLER, M.J., ATKINSON, M.A., SCHATZ, D. (2005). Type 1 diabetes mellitus: etiology, presentation and management. *Pediatr Clin North Am.* **52:**1553-78.

HAMADA Y, NAKAMURA J, NARUSE K, KOMORI T, KATO K, KASUYA Y, NAGAI R, HORIUCHIS , HOTTA N. (2000). Epalrestat, an aldose reductase inhibitor, reduce the levels of Nepsilon-(carboxymethyl)lysine protein adducts and their precursors in erytrocytes from diabetic patients. *Diabetes Care.* **23:** 1539-1544.

HAMMERMAN M.R, SACKTOR B, DAUGHADAY W.H. (1980). Myoinositol transport in renal bruch border vesicles and its inhibition by D-glucose. *Am J Physiol.* **239:** 113-20.

HAMSTEN A, STEİNER G. (1994).Non-insulin-dependent diabetes mellitus and atherosclerosis: A lipoprotein perspective (Editorial). *J Intern Med Suppl* **736**:1–3,

HAWKINS, M., BARZILAI, N., LIU, R., HU, M., CHEN, W., ROSSETTI, L. (1997). Role of the glucosamine pathway in fat-induced insulin resistance. *J. Clin. Invest*. **99**:2173-2182.

HERS, H. G. (1956).Le mechanism de la transformation de glucose en fructose par les vesicules seminales. *Biochim Biophys Acta* **37:**120–126.

HOSTETTER, T.H., TROY, J.L., BRENNER, B.M. (1981). Glomerular hemodynamics in experimental diabetes mellitus. *Kidney Int.* **19**: 410-415.

HU, F.B, MANSON J.E, STAMPFER M.J, COLDITZ G, LIU S, SOLOMON C.G, WILLETT W.C. (2001). Diet, lifestyle and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *The New England Journal of Medicine.* **345**: 790-797.

HUMPHREY, L.L., BALLARD, D.J., FROHNERT, P.P., CHU, C.P., O´FALLON, W.M., PALUMBO, P.J. (1989). Chronic renal failure in non-insulin-dependent diabetes mellitus. A population-based study in Rochester, Minnesota. *Ann Intern Med*. **111**:788-796.

HUMPHREY LL, PALUMBO PJ, BUTTERS MA ET AL. (1994) . The contribution of non-insukindependent diabetes to lower-exremty amputation in the comminity Arch Intern Med. 154:885.

HYNDMAN, D. J., FLYNN, T. G. (1998). Sequence and expression levels in human tissues of a new member of the aldo-keto reductase family. *Biochim Biophys Acta Gene Struct Expr* **1399***:* 198-202.

IRELAND, L. S., HARRİSON, D. J., NEAL, G. E., HAYES, J. D. (1998). Molecular cloning, expression, and catalytic activity of a human AKR7 member of the aldo-keto reductase superfamily: evidence that the major 2-carboxybenzaldehyde reductase from human liver is a homologue of rat aflatoxin B1-aldehyde reductase. *Biochem J* **332:**21–34.

İLİÇİN G, BİBEROĞLU K, SÜLEYMANLAR G, ÜNAL S. (2003). İç Hastalıkları Güneş kitapevi 2279-2332.

JAIN S, SARAF S. (2008). Type 2 diabetes mellitus-its global prevalence and therapeutic strategies. Diabetes and Metabolic Syndrome: *Clinical Research and Reviews*. **1**-14.

JEONG, S. K., NAM, H. S., SON, M. H., SON, E. J., CHO, K. H. (2004). Interactive effect of obesity indexes on cognition. *Dement Geriatr Cogn Disord* **19**:91-6.

JEONG, S.-K. I., SEO, M-W., KIM, Y.-H., KWEON, S.-S., NAM, H.-S. (2005). Does waist indicate dyslipidemia beter than BMI in Korean adult population? *J Korean Med Sci* **27**:7- 12.

JEZ, J.M, BENNET, M.J., SCHLEGEL, B.P., LEWIS, M., PENNING, T.M. (1997). Comperative anatomy of the aldo-keto reductase superfamily. *Biochem. J.* **326**: 625-636.

JİN, Y., PENNİNG, T. M. (2007). Aldo-keto reductases and bioactivation/detoxication. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **47:**263–292.

JUHAN-VAGUE, I., ALESSI, M. C., MAVRI, A., MORANGE, P. E. (2003). PAI-1, inflammation, obesity, insulin resistance and vascular risk. *J Thromb Haemost* **1**(7):1575-9.

KAHN, CR., WEİR, GC, KİNG, GL., MOSES, AC., SMİTH, RJ., JACOBSON, AM. (2005). *Joslin's Diabetes Mellitus 14th Edition,;*332-340.

KAHN CR, WEİR GC, KİNG GL, MOSES AC, SMİTH RJ, JACOBSON AM. (2005). *Joslin's Diabetes Mellitus 14th Edition;*977.

KAHN, SE., HULL, RL., UTZSCHİNDER, KM. (2006). Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature.* **444:** 840-46.

KELLER, U. (2006). From obesity to diabetes. *Int J Vitam Nutr Res* **76**(4):172-7.

KING K.D, JONES J.D, WARTHEN J. (2005). Microvascular and macrovascular complications of diabetes mellitus. *American Journal of Pharmaceutical Education*. **69**(5): 1-10.

KINOSHITA J.H, NISHIMURA C. (1988). The involvement of aldose reductase in diabetic complications. *Diabetes Metabo. Reu.* **4:**323-337.

KINOSHITA, J.H. (1974). Mechanisms initiating cataract formation. Proctor Lecture. *Invest Ophtalmol*. 13:713-724.

KOLM-LITTY V, SAUER U, NERLICH A, LEHMANN R, SCHLEICHER E.D. (1998). High glucose induced tarnsforming growth factor beta 1 production is mediated by the hexosamine pathway in porcidine glomerular mesangial cells. *The Journal of Investigation*. **101**: 160-169.

KOYA D, KING G.L. (1998). Protein kinase C activation and the development of diabetic complications. *Diabetes.* **47:** 859-866.

KREİNES K . (1985). The course of peripheral vascular disease in non-insulin-depentend diabetes. Diabetes Care. **8**:235-243.

KUMAR A.P, REDDY G.B. (2007). Focus on molecules: Aldose reductase. *Experimental Eye Research.* **85:** 739-740.

KUROKI, T., ISSHIKI, K., KING, G.L. (2003). Oxidative stres: The lead or supporting actor in the pathogenesis of diabetic complications. *J Am Soc Nephrol*. **14:**S216-S220.

LANZERN P. (2001). Topographic distribution of peripheral arteriopathy in non diabetics and type 2 diabetics. *Kardiol*. **90**:99-103.

LEE A.Y, CHUNG S.S.M. (1999). Contributions of polyol pathway to oxidative stres in diabetic cataract. *FASEB Journal.* **13:** 23-30.

LEMİEUX S., DESPRES JP. (1994). Metabolic complications of visceral obesity:contribution to the aetiology of Type 2 diabetes and implications for prevention and treatment, *Diabete Metab*. **20**: 375–393.

LİNSTER, C. L., SCHAFTİNGEN, E. (2007). Vitamin C. Biosynthesis, recycling, and degradation in mammals. *FEBS J* **274**:1–22.

LİZİCÁROVÁ D, HİRNEROVÁ E, KRAHULEC B. (2010). Obesity--the risk factor of cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease?. **56**(10):1088-92.

MA, J., YAN, R., ZU, X., CHENG, J. M., RAO, K., LİAO, D. F. (2008). Aldo-keto reductase family 1 B10 affects fatty-acid synthesis by regulating the stability of acetyl-CoA carboxylase-alpha in breast cancer cells. *J Biol Chem.* **283**:3418–3423.

MANKOVSKY, B.N., METZGER, B.E., MOLITCH, M.E., BILLER, J. (1996). Cerebrovascular disorders in patients with diabetes mellitus. *Journal of Diabetes an its Complications.* **10:**228-242.

MANGANAS, L. N., TRİMMER, J. S. (2000). Subunit composition determines Kv1 potassium channel surface expression. *J Biol Chem* **275**:29685–29693.

MANOLİO TA., SAVAGE PJ., BURKE GL. (1991). Correlates of fasting insulin levels in young adults: the CARDIA study, J Clin Epidemiol, 44,571–578,

MANSOUR M.A. (2007). Aldose reductase in retina. Current Enzyme Inhibition. **3**(1): 1-12.

MARSHALL S.M. (2004). Recent advances in diabetic nephropathy. Postgraduate Medical Journal. 949: 624-633.

MARSHALL, S., BACOTE, V., TRAXINGER, R.R. (1991). Discovery of a metabolic pathway mediating glucoseinduced desensitization of the glucose transport system. Role of hexosamine biosynthesis in the induction of insulin resistance. *J. Biol. Chem*. **266**:4706-4712.

MAYNE D.P, ED. (2001). Nephropathy: In clinical chemistry in diagnosis and treatment 6th edition. ELST print. 331-332

MCLELLAN, L. I., JUDAH, D. J., NEAL, G. E., HAYES, J. D. (1994). Regulation of aflatoxin B1-metabolizing aldehyde reductase and glutathione S-transferase by chemoprotectors. *Eur J Biochem* **131**:423–426.

MEERWALDTH R, ZEEBREGTS J.C, NAVIS G, HILLEBRANDS J.L, LEFRANDTH J.D, SMITH A.J. (2009). Accumulation of advanced glycation end products and chronic complications in ESRD treated by dialysis. *American Journal of Kidney Diseases.* **53**(1): 138-150.

MODE, A., RAFTER, I. (1985). The sexually differentiated delta 4-3-ketosteroid 5 beta-reductase of rat liver. Purification, characterization, and quantitation. *J Biol Chem* **260**:7137–7141.

MOLNAR G.A. (2006). Pathogenesis of the chronic complications of type 2 diabetes mellitus, chronic kidney disease and ageing. The role of ozidative stres, endothelial dysfunction and the renin-angiotensin system. Ph. D. Theses. University of Pecs,

Medical Faculty 2nd Department of Medicine and Nephrological Center Pecs, Hungary, 109.

NATİONAL DİABETES DATA GROUP. (1979). Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *Diabetes* **28:**1039-1057.

NATIONAL DIABETES DATA GROUP. (1995). Diabetes in America. 2nd ed. Bethesda (MD): National Institutes of Health.

NISHIMURA C, LOU M.F, KINOSHITA J.H. (1987). Depletion of myo-inositol and amino acids in galactosemic neuropathy. *J. Neurochem.* **49:** 290-295.

O' CONNOR T, IRELAND L, HARRISON D.J, HAYES J.D. (1999). Major differences exist in the function and tissue-specific expression of human aflatoxin B1 aldehyde reductase and principal human aldo-keto reductase AKR1 family members. *Biochem. J.* **343:** 487-504.

OATES P. (2002). Polyol pathway and diabetic peripheral neuropathy. *İnternational Review of Neurobiology.* **50:** 325.

OATES P.J. (2008). Aldose reductase, stil a compelling target for diabetic neuropathy. *Curr. Drug Targerts.* **9:** 14.

OBROSOVA, I.G. (2002). How does glucose generate oxidative stres in peripheral nevre? *Int Rev Neurobiol*. **50**:3-35.

OKUDA, A., OKUDA, K. (1984). Purification and characterization of delta 4-3-ketosteroid 5 betareductase. *J Biol Chem* **259**:7519–7524.

ORCHARD TJ, DORMAN JS, MASER RE,ET AL, (1990) Prevalance of Complications in İDDM by sex and duration. Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study II, *Diabetes Care* **39**:1116.

PATRICIA, I., KIRSTI, H., VESA O., KIRSI, A. V., JUKKA, K., OLOF, S., ELE, F., JUHANI, K., PIRJO, N. (2003). Insulin-Mediated Hepatic Glucose Uptake Is Impaired in Type 2 Diabetes: Evidence for a Relationship with Glycemic Control. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 88(5):2055-2060.

PENNİNG, T. M., BURCZYNSKİ, M. E., JEZ, J. M., HUNG, C. F., LİN, H. K., MA, H. C., et al. (2000). Human 3 alpha-hydroxysteroid dehydrogenase isoforms (AKR1C1–AKR1C4) of the aldo-keto reductase superfamily: functional plasticity and tissue distribution reveals roles in the inactivation and formation of male and female sex hormones. *Biochem J* **351**:67–77.

PENNİNG, T. M., DRURY, J. E. (2007). Human aldo-keto reductases: function, gene regulation, and single nucleotide polymorphisms. *Arch Biochem Biophys* **464**:241–250.

PENNİNG, T. M., JİN, Y., STECKELBROECK, S., RİZNER, T. L., LEWİS, M. (2004). Structure-function of human 3 alpha-hydroxysteroid dehydrogenases: genes and proteins. *Mol Cell Endocrinol* **215**:63–72.

PERRY IJ, WANNAMİATHEE SG, WALKER M ET AL. (1995). Prospective study of riskfactors for development of non-insulin dependent diabetes inmiddle aged British men. *Br Med.* **310:** 560–564.

PETRASH, J.M., HARTER, T.M., DEVINE, C.S., OLINS, P.O., BHATNAGAR, A., LIU, S.Q. (1992). Involvement of cysteine residues in catalysis and inhibition of human aldose reductase – site-directed mutagenesis of cys-80, cys-298 and cys-303. *J. Biol. Chem.* **267**:24833-24840.

PINERO-PILONA, A., RASKIN, P. (2001). Idiopathic type 1 diabetes. *Journal of Diabetes and Its Complications.* **15**: 328-335

PİEKORZ, R. P., GİNGRAS, B., HOFFMEYER, A., IHLE, J. N., WEİNSTEİN, Y. (2005). Regulation of progesterone levels during pregnancy and parturition by signal transducer and activator of transcription 5- and 20-alpha-hydroxysteroid dehydrogenase. *Mol Endocrinol* **19**:431–440.

PITKANEN, O.M., MARTIN, J.M., HALLMAN, M., AKERBLOM, H.K., SARIOLA, H., ANDERSSON, S.M. (1992). Free radical activity during development of insulin dependent diabetes mellitus in the rat. *Life Science*. 50(5), 335-339.

PRATLEY, E.R., WEYER, C. (2001) The role of impared early insulin secretion in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. Diabetologia. **44**: 929-945.

PFEIFER, M., SCHUMER, M.P. (1995). Clinical trials of diabetic neuropaty, *Diabetes*. **44:**1355-1360.

PUGLIESE, G., TILTON, R.G, WILLIAMSON, J.R. (1991). Glucose-induced metabolic imbalances in the pathogenesis of diabetic vascular disease. *Diabetes Metabolism Reviews.* **7**:35-39.

Purification and characterization of the oxygenase and of an enzyme complex containing the

RADHA, V., MOHA, V. (2007). Genetic predisposition to tyype 2 diabetes among Asian Indians. *Indian Journal of Medical Research.* **125:** 259-274.

RAMANA K.V, CHANDRA D, SRIVASTAVA S, BHATNAGAR A, AGGARWAL B.B, SRIVASTAVA S.K. (2002). Aldose reductase mediates mitogenic signaling in vascular smooth muscle cells. *The Journal of Biological Chemistry*. **277:** 32063-32070.

RAMANA KV, FRİEDRİCH B, BHATNAGAR A, SRİVASTAVA SK. (2003). Aldose reductase mediates cytotoxic signals of hyperglycemia and TNF-alpha in human lens epithelial cells. *FASEB J,* **17**(2):315–317.

RANDLE PJ, GARLAND PB, HALES CN, NEWSHOLME EA. (1963). The glucose fattyacid cycle.Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus, Lancet; I: 785

REAVEN GM. (1988). Role of insulin resistance in human disease, *Diabetes*. **37**:1595–1607,

REDDY, C. C., SWAN, J. S., HAMİLTON, G. A. (1981). *myo*-Inositol oxygenase from hog kidney. I.*Rev* **26**:380–392.

RITTNER H.L, HAFNER V, KLIMIUK P.A, SZWEDA L.I, GORONZY J.J, WEYAND C.M. (1999). *J. Clin. Invest*. **103**:1007-1013.

ROBINSON, W.G, JR, KADOR, P.F, KINOSHITA, J.H. (1983). Retinall capillaries: basement membrane thickening by galactosemia prevented with aldose reductase inhibitor. *Science.* **221:** 1177-1179.

RUEF, J., BODE, C., ROSANI, M., RUNGE, M.S, BHATNAGAR, A. (2000). Involvement of aldose reductase in vascular smooth muscle cell growth and lesion formation after arterial injury. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **20**: 1745-1752.

SACKS, D.B. (2005). Carbohydrates. In: Burtis, C.A., Ashwood, E.R. Tietz Fundamentals of clinical chemistry, Sacks, D. Fifth edition. p.:427-462.

SAID, G. (1996). Diabetic Neuropathy: on updata. *J Neurol*. **243**:431-440.

SATO S. (1992). Rat kidney aldose reductase and aldehyde reductase and polyol production in rat kidney. *Am. J. Physiol*. **263**: F799.

SEWİNG, S., ROEPER, J., PONGS, O. (1996). Kv beta 1 subunit binding specific for shaker-related potassium channel alpha subunits. *Neuron* **16**:455–463.

SHEETZ MJ, KING GL. (2002). Molecular understanding of hyperglicemia' s adverse effects for diabetic complications*. JAMA*. **288**: 2579-2588.

SHINMURA K, LIU S.Q, TANG X.L, KODANI E, XAUN Y.T, BHATNAGAR A, BOLLI R. (2000). *Circulation* **102**, Suppl. II,II-20.

SHİ, G., NAKAHİRA, K., HAMMOND, S., RHODES, K. J., SCHECHTER, L. E., TRİMMER, J. S. (1996). Beta subunits promote K+ channel surface expression through effects early in biosynthesis. *Neuron* **16**:843–852.

SOVERS, J.R., (1998). Obesity and cardiovascular disease. *Clin. Chem.* **4:** 1821-25.

SOVERS, J.R. (2003). Obesity as a cardiovascular risc factor. *Am. J. Med.* **115:**37-41.

SRINIVASAN, K., VISWANAD, B., LYDIA ASRAT, KAUL, C.L. AND RAMARAO, P.(2005**)** *Pharmacological Research,* **52**(4), 313-320

SRINIVASAN, K. AND RAMARAO, P. (2007). Indian J Med Res, **125**: 451-472

SRIVASTAVA, S., CHANDRA, A., BRATNAGAR, A., SRIVASTAVA, S.K., ANSARI, N. (1995). Lipid peroxidation product, 4-hydroxynoneal and its conjugate with GSH are excellent substrates of bovine lens aldose reductase. *Biochem . Biophys. Res. Commun*. **217**: 741-746.

SRIVASTAVA, S.K., RAMANA, K.V., BHATNAGAR, A. (2005). Role of Aldose Reductase and Oxidative Damage in Diabetes and the Consequent Potential for Therapeutic Options. *Endocrine Reviews.* **26**(3):380-392.

SRIVASTAVA, S., SPITE, M., TRENT, J.O., WEST, M.B., AHMED, Y., BRATNAGAR, A. (2004). Aldose reductase-catalyzed reduction of aldehyde phospholipids. *J. Biol. Chem*. **279**: 53395-53406.

SRİVASTAVA, S. K., RAMANA, K. V., BHATNAGAR, A. (2005). Role of aldose reductase and oxidative damage in diabetes and the consequent potential for therapeutic options. *Endocrine Revievs.* **26**(3):380-392.

STOLZ, A., HAMMOND, L., LOU, H., TAKİKAWA, H., RONK, M., SHİVELY, J. E. (1993). cDNA cloning and expression of the human hepatic bile acid-binding protein. A member of the monomeric reductase gene family. *J Biol Chem* 268:10448–10457.

TANASESCU, M., HU, F.B, WILLETT W.C, STAMPFER M.J, RIMM E.B. (2001). Alcholol consumption and risk of coronary heart disease among men with type 2 diabetes mellitus. *Journal of the American College of Cardiology.* **38**(7): 1836-1842.

TANİMOTO T, MAEKAWAA K, OKADAA S, YABE-NISHIMURAB C. (1998). Clinical analysis of aldose reductase for differantial diagnosis of the pathogenesis of diabetic complication. *Analytica Chimica Acta*. **365**: 285-292.

TARLE I, BORHANI D.W, WILSON D.K, QUIOCHO F.A, PETRASH J.M. (1993). Probing the active site of human aldose reductase. *The Journal of Biological Chemistry*. **268**: 25687-25693.

TEMELKOVA-KURKTSCHIEV, T.S., KOEHLER, C., HENKEL, E., LEONHARDT, W., FUECKER, K., HANEFELD, M. (2000). Postchallenge plasma glucose and glycemic spikes are more strongly associated with atherosclerosis than fasting glucose or sHbA1c levels. *Diabetes Care*. 12:1830-1834.

TİPPARAJU, S. M., BARSKİ, O. A., SRİVASTAVA, S., BHATNAGAR, A. (2008). Catalytic mechanism and substrate specificity of the beta-subunit of the voltage-gated potassium channel. *Biochemistry* **47**:8840–8854.

TSUKUSHI S, KATSUZAKI T, AOYAMA I, TAKAYAMA F, MIYAZAKI T, SHIMOKATA K, NIWA T. (1999). Increased erytrocyte 3-DG and AGEs in diabetic hemodialysis patients: Role of the polyol pathway. *Kidney International* **55**: 1970-1976.

TÜRK NEFROLOJİ DERNEĞİ YAYINLARI, Türkiye'de Nefroloji, Diyaliz ve Transplantasyon. 2006;7.

UKPDS RESEARCH GROUP. (1998). Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin, compared with conventional treatment and risk of complications in patients with Type 2 diabetes (UKPDS). *Lancet*. **352**:837-853.

VAN HEYNINGEN. (1959). Metabolism of xylose by the lens, 2. Rat lens in vivo and in vitro. *Biochem J*. **73**: 197-207.

VAN-DEN-ENDEN, M.K., NYENGAARD, J.R., OSTROE, E., BURGAN, J.H., WILLIAMSON, J. (1995). Elevated glucose levelsincrease retinal glycosis and sorbitol pathway metabolism. *Inves. Ophtal. Vis Sci.* **36:** 1675-85.

VANDER JAGT, D.L., ROBINSON, B., TAYLOR, K.K., HUNSAKER, L.A. (1992). Reduction of trioses by NADPH-dependent aldoketo reductases. Aldose reductase, methylglyoxal and diabetic complications. *J. Biol. Chem*. **267**:4364-4369.

VETTOR, R., MILAN, G., ROSSATO, M., FEDERSPIL, G. (2005). Review article: adipocytokines and insulin resistance. *Aliment Pharmacol Ther 22* Suppl **3+**:3-10.

WAUTIER J.L, SCHMIDT A.M. (2004). Protein glycation: a firm link to endothelial cell dysfunction. *Circ Res*. **95**: 233-238.

WENG, J., CAO, Y., MOSS, N., ZHOU, M. (2006). Modulation of voltage-dependent Shaker family potassium channels by an aldo-keto reductase. *J Biol Chem* **281**:15194–15200.

WERMUTH, B., MONDER, C. (1983). Aldose and aldehyde reductase exhibit isocorticosteroid reductase exhibit isocorticosteroid reductase activitiy. *Eur J Biochem* **131**: 423-26.

WERMUTH, B., MUNCH, J. D., AND VON WARTBURG, J. P. (1977). J. Biol. Chem. **252**:3821-382

WILLIAMSON J.R, CHANG K, FRANGOS M, HASAN K.S, IDO Y, KAWAMURA T, NYENGARD J.R, VANDEN-ENDEN M, KILO C, TILTON R.G. (1993). Hyperglycemic pseudohypoxia and diabetic complications. *Diabetes.* **42**: 801-813.

WILSON D.K, BOHREN K.M, GABBAY K.M, QUIOCHO F.A. (1992). An unlikely sugar substrate site in the 1.65 Astructure of human aldose reductase holoenzyme implicated in diabetic complications. *Science*. **257**: 81-84.

WILSON, D.K., BOHREN, K.M., GABBAY, K.H., QUIOCHO, F.A. (1992). An unlikely sugar substrate site in the 1.65 A structure of the human aldose reductase holoenzyme implicated in diabetic complications. *Science*. **257**:81-84.

WİNG RR., MATTHEWS KA., KULLER LH.(1992).: Environmental and familial contributions to insulin levels and change in insulin levels in middle-aged women, *J Am Med Assoc*, **268**:1890 –1895,

WOLFWNSBERGER TJ, HAMILTON AM. (2001). Diabetic retinopathy an historical review. *Semin Ophthalmol*. **16**(1):2-7.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. (1995). Expert Committee: Physical Satates: The use and interpretation of antrhepovetry ser, Geneva. **854:**1-452.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. (1997). Obesity: preventing and managing the global epidemic. Geneva 3-5.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. (1999a). Department of Noncommunicable Disease Surveillance: Definition, Diagnosis anc Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. Report of a WHO Consultation, *WHO Publ*., Geneva.

WORLD HEALTH ORGANİZATİON. (1999b). Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications; Part 1: Diagnosis and Classification of

Diabetes Mellitus. Geneva: WHO Department of Noncommunicable Disease Surveillance

WORLD HEALTH ORGANIZATION. (2000). Obesity: preventing and managing the global epidemic, Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech. Rep. Ser.* Geneva. **894,** i-xii: 1-253**.**

YABE-NISHIMURA, C. (1998). Aldose reductase in glucose toxicity: a potential target fort he prevention of diabetic complications. *Pharm. Rev.* **50:**21-34.

YAMAGISHI S, TAKEUCHI M. (2004). Inhıbıtıon of protein kinase C might be harmful to diabetic retinopathy. *Med Hypotheses*. **63**: 135-137.

YAN, R. L., ZU, X. Y., MA, J., LİU, Z. W., ADEYANJU, M., CAO, D. L. (2007). Aldo-keto reductase family1 B10 gene silencing results in growth inhibition of colorectal cancer cells: implication forcancer intervention. *Int J Cancer* **121**:2301–2306.

YANG J, MORAVEC C.S, SUSSMAN M.A, DIPAOLA N.R, FU D, HAWTHORN L, MITCHELL C.A, YOUNG J.B, FRANCIS G.S, MCCARTHY P.M, BOND M. (2000). Decreased SLIM1 expression and increased galsolin expression in failing human hearts measured by high-density oligonucleotide arrays. *Circulation.* **102**: 3046-3052.

YUTAKA YASUDA; KİNG, G.L. (2004). The role of protein kinase C activation in cardiovascular dysfunctions of diabetes and insulin resistance. *International Congress Series* **1262**: 152–155

Yİ JİN AND TREVOR M. PENNİNG. (2007). Ann. Rev. of Pharm. and Toxico. **47**:263-292.

ZATECHKA DS JR, KADOR PF, GARCİA-CASTİNEİRAS S, LOU MF. (2003). Diabetes can alter the signal transduction pathways in the lens of rats. *Diabetes* **52**(4): 1014–1022.

ZIMMET P, ALBERTI K.G.M.M., SHAW J. (2001). Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature*. **414**: 782-787.

ZİMMET P., DOWSE G., BENNETT P.(1991). Hyperinsulinaemia is a predictor ofnoninsulin-dependent diabetes mellitus, *Diabete Metab*, **17**:101–108.

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

05/05/2010

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ	:05/05/2010
TOPLANTI NO	:2010-63
DOSYA NO	:2010-275
KARAR NO	:2010-63-318

Üniversitemiz Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç.Dr.Net Daş Evcimen'in araştırma yürütücüsü ve Evin Yılmaz'ın araştırmacı olduğu "Diyabet ve Yüksek Yağlı Diyetin Sıçanlarda Aldo-Keto Redüktaz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi" başlıklı çalışmaları, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunda incelenmiştir. Buna göre Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurulunun 25/01/2007 tarih ve 2007/002 sayılı kararı ile yapılması uygun bulunan "Nerium Oleander'in Obezite-Yangı Diyabet ilişkisindeki Etkisinin Deneysel Tip II Diyabetik Ratlarda Değerlendirilmesi" araştırma projesi kapsamında temin edilen karaciğer dokularında başvuru formunda belirtildiği şekilde inceleme yapılmasının uygun olduğuna Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine göre, katılan üyelerin oy birliği ile karar verilmiştir.

ASLININ AYNIDIR
05/05/2010

Prof.Dr.Hakan YARDIMCI
Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel
Etik Kurulu Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

ADI : Evin

SOYADI : YILMAZ

DOĞUM TARİHİ : 08.06.1984

UYRUĞU : Türkiye Cumhuriyeti

T.C. NO. : 39862065414

MEDENİ DURUMU : Bekar

E-POSTA ADRESİ : ewin_yilmaz@hotmail.com

YABANCI DİL : İngilizce, Almanca

EĞİTİM :

- Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya ABD Tezli Yüksek Lisans Programı (2008-2011)
- Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Lisans Programı (2001-2006)
- Çorum Atatürk Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi (1998- 2001)