

**T.C.
BOZOK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Yüksek Lisans Tezi

**DİYABETİK RATLARDA
FURANIN NEFROTOKSİK ETKİSİ VE
LİKOPENİN KORUYUCU ROLÜ**

Betül ÜNAL

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Dilek PANDIR**

Yozgat 2016

**T.C.
BOZOK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Yüksek Lisans Tezi

**DİYABETİK RATLARDA
FURANIN NEFROTOKSİK ETKİSİ VE
LİKOPENİN KORUYUCU ROLÜ**

Betül ÜNAL

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Dilek PANDIR**

**Bu çalışma, Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından 2014FBE/T101 kodu ile desteklenmiştir.**

Yozgat 2016

T.C.
BOZOK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TEZ ONAYI

Enstitümüzün Biyoloji Anabilim Dalı 70110312006 numaralı öğrencisi Betül ÜNAL'ın hazırladığı "Diyabetik Ratlarda Furanın Nefrotoksik Etkisi ve Likopenin Koruyucu Rolü" başlıklı Yüksek Lisans tezi ile ilgili Tez Savunma Sınavı, Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği uyarınca 09/02/2016 Salı günü saat 14:00'te yapılmış, tezin onayına oy birliği ile karar verilmiştir.

Başkan : Yrd. Doç. Dr. Fahriye ERCAN



Üye : Doç. Dr. Dilek PANDIR (Danışman)



Üye : Yrd. Doç. Dr. Sedat PER



ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun 12/02/2016 tarih ve .06. sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Doç. Dr. Fuat KÖKSAL
Müdür

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
TABLolar LİSTESİ	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
KISALTMALAR LİSTESİ	viii
1.GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER	1
1.1. Furan.....	2
1.1.1. Furan İçeren Besinler	2
1.1.2. Furan Toksisitesi	4
1.1.3. Furan Miktarının Azaltılması	6
1.2. Likopen.....	7
1.2.1. Yapısı.....	7
1.2.2. Likopenin Antioksidatif Etkisi	10
1.2.3. Diyabette Likopen	11
1.3. Diyabetes Mellitus.....	12
1.3.1. Diyabetes Mellitus Tipleri.....	13
1.4. Oksidatif Stres	14
1.5. Malondialdehit (MDA).....	14
1.6. Antioksidanlar	15
1.6.1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	15
1.6.2. Katalaz (CAT)	15
1.6.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx).....	15
1.6.4. Glutasyon S-Transferaz (GST)	16
1.7. Böbrek	16
2. MATERYAL VE YÖNTEM	18
2.1. Hayvanlar	18
2.2. Kimyasallar	18
2.3. Hayvanlara Uygulama Planı.....	18
2.4. Diyabet Oluşturulması.....	20
2.5. Malondialdehit Miktarının Belirlenmesi	20

2.6. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi	21
2.6.1. Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	21
2.6.2. Katalaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	21
2.6.3. Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	21
2.6.4. Glutasyon-S-Transferaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	21
2.7. Serum Böbrek Fonksiyon Testlerinin Belirlenmesi	22
2.8. Işık Mikroskobu İncelemeleri	22
2.9. Verilerin Değerlendirilmesi.....	22
3. BULGULAR.....	23
3.1. Biyokimyasal Bulgular	23
3.2. Histolojik Bulgular	29
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	37
KAYNAKLAR	41
ÖZGEÇMİŞ.....	52

**DİYABETİK RATLARDA
FURANIN NEFROTOKSİK ETKİSİ VE
LİKOPENİN KORUYUCU ROLÜ**

Betül ÜNAL

**Bozok Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

2016; Sayfa:52

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Dilek PANDIR

ÖZET

Furan bir besin ve çevre kirleticisidir ve hayvanlarda güçlü bir kanserojendir. Likopen; domates, karpuz ve greyfurt gibi meyvelerde bulunan diyetsel bir karatenoiddir. Bu çalışmada streptozotosin (STZ) ile oluşturulmuş diyabetik ratların böbreklerinde furanın yol açtığı oksidatif hasara karşı likopenin koruyucu rolü araştırıldı. Çalışma sonunda (28 gün), likopenin furan uygulanan ratların böbrekte MDA düzeyinin, serumlarında üre, ürik asit ve kreatinin düzeylerinin azalttığı tespit edilmiştir. Furan uygulanan ratların böbreklerindeki histopatolojik artış etkili bir şekilde likopen ile baskılandı. Ayrıca furan uygulanan ratların böbreklerindeki süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon-S-transferaz (GST) enzim aktiviteleri likopen ile oldukça düzeltildi. Sonuç olarak likopenin; böbrek fonksiyonunu arttırarak, histopatolojik değişiklikleri önleyerek, MDA üretimini azaltarak ve antioksidan enzimlerin aktivitelerini düzenleyerek fare böbreklerini furan kaynaklı hasarlara karşı koruyabilir.

Anahtar Kelimeler: Furan, Likopen, Diyabet, Böbrek, Oksidatif stres

**FURAN INDUCED
NEPHROTOXICITY IN DIABETIC RATS AND
PROTECTIVE ROLE OF LYCOPENE**

Betül ÜNAL

**Bozok University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology
Master of Science Thesis**

2016; Page:52

Thesis Supervisor: Assoc. Prof. Dilek PANDIR

ABSTRACT

Furan is a food and environmental contaminant and a potent carcinogen in animals. Lycopene is one dietary carotenoid found in fruits such as tomato, watermelon and grapefruit. The present study was studied the protective effect of lycopene against furan-induced oxidative damage in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rat kidney. At the end of the experimental period (28 days), it was detected that lycopene markedly decreased the malondialdehyde (MDA) levels in the kidney, urea, uric acid and creatinine levels in the serum of furan-treated rats. The increase of histopathology in the kidney of furan-treated rats were effectively suppressed by lycopene. Furthermore, lycopene markedly restored superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) and glutathione-S-transferase (GST) activities in the kidney of furan-treated rats. In conclusion, these results suggested that lycopene could protect the rat kidney against furan-induced injury by improving renal function, attenuating histopathologic changes, reducing MDA production and renewing the activities of antioxidant enzymes.

Key Words: Furan, Lycopene, Diabetes, Kidney, Oxidative stress

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesinde ve ilerlemede bana yardımcı olan hocam Sayın Doç. Dr. Dilek PANDIR'a;

Histolojik incelemelerde ve çalışmanın istatistiklerini yapmamda yardımlarını esirgemeyen Sayın Araş. Gör. Dr. Hatice BAŞ'a;

Bu tez çalışması Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje Kodu: 2014FBE/T101). Maddi desteklerinden dolayı Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne;

Tüm çalışma boyunca maddi ve manevi yönden desteklerini esirgemeyen aileme teşekkürü borç bilirim.

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1. Deneyde oluşturulan gruplar ve uygulanan madde miktarları 19

Tablo 2. Kontrol ve uygulama gruplarının kan üre, ürik asit ve kreatinin düzeyleri.23



ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. Likopenin kimyasal yapısı	8
Şekil 2. Kontrol ve uygulama grupları arasında GPx aktivitelerinin karşılaştırılması	24
Şekil 3. Kontrol ve uygulama grupları arasında CAT aktivitelerinin karşılaştırılması	25
Şekil 4. Kontrol ve uygulama grupları arasında SOD aktivitelerinin karşılaştırılması	26
Şekil 5. Kontrol ve uygulama grupları arasında GST aktivitelerinin karşılaştırılması	27
Şekil 6. Kontrol ve uygulama grupları arasında MDA seviyelerinin karşılaştırılması	28
Şekil 7. Kontrol grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı.	30
Şekil 8. Diyabetik kontrol grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı	31
Şekil 9. Diyabetik kontrol grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı	31
Şekil 10. Likopen uygulanan gruptaki diyabetik ratların böbrek histolojik yapısı....	32
Şekil 11. Likopen uygulanan gruptaki diyabetik ratların böbrek histolojik yapısı....	32
Şekil 12. Furan uygulanan gruptaki diyabetik ratların böbrek histolojik yapısı.....	33
Şekil 13. Furan uygulanan gruptaki diyabetik ratların böbrek histolojik yapısı.....	33
Şekil 14. Furan uygulanan gruptaki diyabetik ratların böbrek histolojik yapısı.....	34
Şekil 15. Furan uygulanan gruptaki diyabetik ratların böbrek histolojik yapısı.....	34
Şekil 16. Furan+likopen uygulanan gruptaki diyabetik ratların böbrek histolojik yapısı	35
Şekil 17. Furan+likopen uygulanan gruptaki diyabetik ratların böbrek histolojik yapısı	35
Şekil 18. Furan+likopen uygulanan gruptaki diyabetik ratların böbrek histolojik yapısı	36
Şekil 19. Furan+likopen uygulanan gruptaki diyabetik ratların böbrek histolojik yapısı	36

KISALTMALAR LİSTESİ

CAT	: Katalaz
DM	: Diyabetes Mellitus
EFSA	: Avrupa Gıda Güvenliği Kurumu
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
GSH	: Glutasyon
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GST	: Glutasyon S-Transferaz
HAM	: Hücreler arası Matriks
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırma Merkezi
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LOAEL	: En Düşük Gözlenen Yan Etki Düzeyi
LPO	: Lipid Peroksidasyonu
MDA	: Malondialdehit
MDA-LDL	: Malondialdehit- Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
NOAEL	: Gözlenebilen Hiçbir Yan Etki Göstermeyen Doz
NTP	: Ulusal Toksikoloji Programı
Ox-LDL	: Oxidized- Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
SOD	: Süperoksid Dismutaz
STZ	: Streptozotosin
VLDL	: Çok Düşük Özgül Ağırlığa Sahip Lipoprotein
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

1.GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

Besinler ısıya maruz kaldıklarında çok fazla miktarda madde açığa çıkmakta ve pek çok toksik bileşik oluşmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda ısı sonucu açığa çıkan bazı bileşiklerin hayvan modellerinde ya da hücre mutajenite testlerinde karsinogen olarak tanımlanan toksik özellikte yapıya sahip olduğu tespit edilmiştir [1].

Isıtılan besinlerden son derece fazla bileşik meydana geldiği bilinmektedir. Son yıllarda benzilpirenler gibi poliaromatik hidrokarbonları da içeren çeşitli bileşiklerin var olduğu tanımlanmıştır. İsveçli araştırmacılar tarafından yine son yıllarda çok sayıda pişmiş besinde (120 °C üzerinde kızarmış, fırınlanmış besinler) akrilamid varlığının olduğu tespit edilmiştir [1].

Besinlerde genelde, ısıyla indüklenen toksik maddelerin oluşumu pişirme süresine, sıcaklığa ve tekniğe göre değişiklik göstermektedir. Genellikle kızarmış ve ızgarada pişen besin maddelerinin kaynatılanlara göre daha yüksek miktarda toksik bileşik oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu bileşiklere insan maruziyeti oldukça fazladır ve miktarları nanogramdan grama kadar değişiklik gösterebilmektedir. Heterosiklik aminler, nitrozaminler, polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve akrilamid, haklarında bilgi sahibi olunan ve yaygın olarak bulunan bileşiklerden iken; furan ve 5-hidroksimetilfurfural gibi bazı bileşikler toksikolojik bilgisi sınırlı olan bileşikler arasında yer almaktadır. Bu bileşiklerden bazılarının muhtemelen beslenmeyle ilişkili kanserlere neden olabileceği bildirilmesine rağmen kesin toksikolojik değerlendirme için bekleyen pek çok bilinmeyen maddenin de bulunduğu bilinmektedir [2, 3].

1.1. Furan

Furan şeffaf, renksiz, eterik kokuya sahip, kaynama noktası 32°C, donma noktası -85,6 °C olan uçucu bir sıvıdır. Alkol, eter ve çoğu organik çözücüde çözünebilir bir özelliğe sahiptir. Kimyasal olarak, siklik ve dietil eter grubunda sınıflandırılabilir [4]. Moleküler formülü C_4H_4O olup 68,07 g/mol molekül ağırlığına sahiptir.

Furan kelimesi, latince kepek anlamına gelen “furfur” kelimesinden köken almıştır [5]. Isı muamelesi gören pek çok besinde -özellikle konserveleme ve kavanozlama gibi işlemlere maruz kalmış besinlerde- furanın var olduğu tespit edilmiştir [1]. Endüstri alanında çeşitli kullanımlara sahiptir: herbisitler, plastikler ve ilaçlar gibi bazı organik bileşiklerin üretiminde [6], lake, rezin ve stabilizatörler gibi organik temelli bileşiklerin sentezinde ve üretiminde ara madde olarak furan kullanılmaktadır [7]. Sprankle ve arkadaşları sigara dumanı ve sisin bileşiminde furanın bulunduğunu tespit etmiştir [8].

1.1.1. Furan İçeren Besinler

Besinlerde bulunan akrilamid gibi furanın da birçok üründe yaygın olarak bulunması ciddi bir tehlike potansiyeli oluşturmaktadır [1]. Furan halkası içeren bileşikler çok yaygın olarak bulunmaktadır. Birçok terpenoid ve diğer bitki ürünlerinin yapısında furan halkası tanımlanmıştır [4]. Bunun yanı sıra furan türevleri besinlere lezzet veren bileşiklerle ilişkilendirilmektedirler. Besinlerde bu maddelerin varlığı uzun yıllardan beri bilinmektedir [9].

Furan oluşumunun tespit edildiği besinler çok geniş bir liste oluşturmaktadır. Kahve, konserve etler, süt tozu, fındık, hidrolize soya proteini, kolza tohumu proteini, balık protein konsantresi ve karameli de kapsayan daha pek çok besin bu listede yer almaktadır [9]. Avrupa Gıda Güvenliği Kurumu (EFSA) ve Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından yapılan çalışmalar sonucunda, malt (16-195 µg/kg), et suyu (13-174 µg/kg), karamel (220-400 µg/kg) ve soya sosu (17-90 µg/kg) gibi besinlerde yüksek miktarlarda furan tespit edilmiştir. Malt, et suyu ve karamel çok düşük miktarlarda tüketilmekle birlikte, soya sosu özellikle Asya ülkelerinde çok fazla miktarda tüketilmektedir [10].

Bebek mamaları, genellikle kavanozlanmış şekilde veya konserve kutularda satılmaktadır. Aynı zamanda bebekler tek besin türü olarak bebek mamalarını tüketmektedirler. Konserve ve kavanozlanmış besinlerde yüksek miktarlarda furan tespit edilmesinden dolayı bebek mamaları ilgi kaynağı olmuştur. Cam kavanozdaki bebek mamalarının tüketilmesiyle furanın tahmini günlük alınımının <0,2 ile 26 µg arasında, 7,5 kg ağırlığındaki 6 aylık bir bebeğin tahmini günlük furan alınımının ise <0,03 ile 3,5 µg arasında olduğu belirtilmiştir [11]. Erginler için kutu konserve ya da kavanozlanmış sebzelerin (35 örnek) tüketilmesi yoluyla alınan furanın tahmini günlük alınımı 1,1 ile 23 µg arasında, bira (12 örnek) tüketilmesiyle tahmini günlük alınımının ise 1,3 ile 50 µg arasında olduğu belirtilmiştir. İlk olarak varlığı kahvede tespit edilen furanın [12] kahve tüketimi yoluyla tahmini günlük alınımının ise 2,4 ile 116 µg arasında olduğu belirtilmiştir [9]. Çiğ kahve çekirdeği (4 µg/kg), domates ve portakal suyunda 40 °C 30 dk sonunda furan oluştuğu gösterilmiştir [13].

Türkiye’de bulunan fındık türlerinin furan oluşturma potansiyelini araştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada; beş farklı fındık türünün farklı sıcaklıklarda ve zamanlarda ısıtılmasıyla, içerdikleri çoklu doymamış yağ asidi, amino asit ve şeker miktarlarına ve çeşitlerine göre farklı seviyelerde furan oluşturdıkları tespit edilmiştir [14].

FDA diyetle alınan furan seviyesinin insanlar üzerinde zararlı etkilere neden olabilecek seviyenin oldukça altında olduğunu varsaymaktadır. FDA kapsamında yapılan çalışmalar sonucunda furan hakkında daha fazla bilgi edilene kadar, furana maruz kalmamak için tüketicilerin yeni doğan ve çocukların diyetini ve beslenme alışkanlıklarını değiştirmelerine bu aşamada gerek olmadığını bildirmiştir. Fakat FDA tüketicilere dengeli bir beslenme izlemelerini, düşük trans yağ ve doymuş yağ tüketmelerini ve liflerce zengin tahıllar, sebze ve meyve yenmesini tavsiye etmektedir [1].

Kavrulmuş, öğütülmüş kahve ve bebek mamaları üzerinde devam eden stabilite çalışmalarının sonucunda, besinlerin hazırlanmasından ya da ticari ürünlerin açılmasından sonra besinlerdeki furanın kalıcı olmadığı ve bu kaybın ürün sıcaklığına ve atmosferle temas ettiği zamana bağlı olduğu açıkça gösterilmiştir [15].

Meyve suları karbonhidrat ve organik asit bakımından zengindir. Meyve sularında bulunan en yaygın karbonhidratlar fruktoz, sükröz ve glukozdur. Elma ve portakal sularında bulunan en baskın organik asitler ise sırayla malik asit ve sitrik asittir. Bunun yanı sıra meyve suları iyi birer askorbik asit kaynağıdır. Bütün bu bileşikler de furan öncülleridir. Pek çok doğal besin 0,5 mg/ml'den daha az miktarda askorbik asit içerir. Örneğin; çok yüksek miktarda askorbik içeren bir besin olan portakal suyu % 0,05 (~0,5 mg/ml) askorbik asit içermektedir. Bu nedenle, meyve sularında oluşan furan miktarı askorbik asit ile sınırlandırılabilir [16].

1.1.2. Furan Toksisitesi

Furanın toksisite risk değerlendirmesi EFSA tarafından yayınlanmıştır. Sıçanlar ve fareler üzerinde doz artışına bağlı olarak ve büyük olasılıkla genotoksik mekanizmayı etkileyerek karsinojenik olduğu belirtilmiştir [11].

Furan, sıçanlarda ve farelerde karsinojeniktir. Uluslararası Kanser Araştırma Merkezi (IARC) tarafından insanlar için karsinojen olma olasılığı yüksek olarak sınıflandırılmıştır [17].

Furan vücut tarafından çok çabuk absorbe edilmekle birlikte vücuttan çok hızlı atılma özelliğine sahiptir [18]. İşaretli madde ile yapılan deneyler, tek doz uygulanan furanın % 84'ünün sıçan vücudunda 24 saat içinde metabolize olduğunu ve geri kalanın solunumla dışarı verildiğini göstermiştir. Ayrıca radyoaktivitenin % 20'sini kapsayan 10'un üzerinde bileşiğin idrarla ve radyoaktivitenin kalan % 22'sinin ise dışkı ile dışarı atıldığını göstermiştir [10].

İnsanlarda furan katabolizmasının sıçanlardan çok daha hızlı olduğu, furan bozulma ürünü olan cis-2-büten-1,4-dial'in insanlarda sıçan ve farelere göre 3 ile 10 kat kadar daha düşük olduğu gösterilmiştir [19].

Hepatik lezyonlar için NOAEL (Gözlenebilen Hiçbir Yan Etki Göstermeyen Doz), model organizma olarak kullanılan sıçanlarda 2 mg/kg/gün, LOAEL (En Düşük Gözlenen Yan Etki Düzeyi) değeri ise 4 mg/kg/gün olarak tespit edilmiştir. Furanın kabul edilebilir günlük düzeyi 1 µg/kg/gündür, 70 kg bir kişi için bu değer 0,1 mg/gün olarak önerilmektedir [20].

Ulusal Toksikoloji Programı (NTP) tarafından yapılan toksisite çalışmaları sonucunda furanın çok sayıda organı etkileyen bir karsinojen olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalarda sıçan ve farelere gavaj yoluyla 20 ile 160 mg/kg arasında değişen dozlar uygulanmıştır [4]. 13 haftalık uygulama sonucu hayvanlarda kilo kaybı, karaciğer ve böbrek ağırlıklarında artış, timus ağırlığında ve dozla bağlantılı olarak karaciğer ve böbrek lezyonlarında artış gözlenmiştir.

50 fareye 3 hafta ve 2 yıl boyunca 1.0, 2.0, 4.0 ve 8.0 mg/kg furan uygulamasında 4.0 ve 8.0 mg/kg doz uygulanan gruptaki hayvanlarda önemli derecede hepatoselüler adenoma ve karsinoma ile mikroskobik tümörlerin arttığı, 1.0 ve 2.0 mg/kg dozlarda tümör oluşumunun gözlenmediği belirtilmiştir [21].

İntraperitoneal enjeksiyon yoluyla furan uygulanan fareler üzerinde yapılan bir çalışmada hepatik ve renal nekroz olduğu gözlenmiştir [22].

İnsanlarda yapılan ilk çalışmada, normal diyetle beslenen bireylerin idrarlarındaki furan miktarının karaciğer hasarının bir göstergesi olan plazmadaki γ -glutamiltranspeptidaz (γ -GT) miktarıyla ilişkili olarak artış gösterdiği bildirilmiştir [19].

Furanın hepatoselüler enerji metabolizması ile ilgili *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar yapılmıştır. Furan, hepatik eşleşmemiş mitokondrial oksidatif fosforilasyonun metabolitlerinin biyoaktivasyonu sonucu geri dönüşümsüz olarak ATP kaybına neden olmaktadır. Bu durum hücre ölümünden önce DNA çift zincir kırıklarını oluşturan endonükleazları da kapsayan sitotoksik enzimleri aktive etmektedir [23].

NTP tarafından belirlenmiş dozlarla yapılan 3 haftalık 4, 8 ve 15 mg/kg furan uygulaması sonucu doza bağımlı olarak hepatotoksisitede artış görülmüş ve kısa süreli çalışmalardaki hepatokarsinojenik dozlarda apoptozun hücre ölümünde önemli bir yer teşkil ettiği tespit edilmiştir. Furanla yapılmış çalışmaların çoğunda furanın karaciğer üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir [24].

Furan, fare lenfoma hücrelerinde mutajenite göstermiştir [10]. İntraperitoneal enjeksiyon yoluyla 250 mg/kg yüksek doz furan uygulamalarıyla fare kemik iliği

hücrelerinde yapısal kromozom sapmalarını indüklediği, fakat kardeş kromatidlerde değişikliğe neden olmadığı gösterilmiştir [4].

1.1.3. Furan Miktarının Azaltılması

Furanın karsinojenik etkisi olduğundan dolayı besinlerde seviyesi olabildiğince düşük tutulmalıdır. Bu da ısıyla indüklenen besin toksikantlarının azaltılması, ısıtma sistemlerinin değiştirilmesi ya da öncül içeriklerinin azaltılması yönünde olabilir. Besinlerde bulunan furanın azaltılması, diğer proses kontaminantlarından daha çok çözülmesi gereken bir sorundur ve furanın azaltılması üç şekilde olabilmektedir. Bunlardan birincisi; furanın, ısıtma zamanı ve sıcaklığı düşürmek için hareket alanı küçük olabilir, çünkü pastörizasyon ve sterilizasyon, besinlerin mikrobiyal güvenliği için yapılmaktadır. İkincisi; furan çok geniş kapsamlı öncül bileşiklere sahiptir ve askorbik asit en yüksek furan oluşturma potansiyeline sahiptir, bunu doymamış yağ asitleri ve şekerler takip eder ki bunlardan ilk ikisi önemli besin bileşenlerindedir. Üçüncüsü; furanın uçuculuğu kullanılabilir, fakat bu sınırlı bir uygulamadır. Çünkü mikrobiyal nedenlerle kutulu ve kavanozlanmış besinler hava geçirmez şekilde kapatılmaktadır. Kahve; bütün lezzetini ve tüketicilerin istediği aroma bileşiklerini elinde bulundururken kahveyi furandan arındırmak teknik olarak zor olmaktadır. Şimdiye kadar var olan en iyi yaklaşım reaksiyon mekanizmasına müdahale etmeyi gerektirmektedir. Örneğin; portakal suyu modelindeki askorbik asitten furfural oluşumu etanol ve mannitolün serbest radikal tutucu özelliği ile önlenir. Atmosferik oksijenin azalması doymamış yağ asitlerinin ootooksidasyonunu ve ayrıca askorbik asit başta olmak üzere bazı öncüllerden furan oluşumunu azaltır; aynı şekilde sülfite eklenmesi de furan oluşumunu azaltır [25]. Bu nedenle, ısıtma sistemlerindeki atmosfer değişiklikleri besinlerdeki furanın azaltılmasında etkili olabilir [10]. Bunun yanı sıra furan alımının azaltılmasına katkıda bulunmak için besinlerin (bebek mamaları da dahil) tüketilmeden önce karıştırılmaları önerilebilir [26].

Askorbik asit ve karbonhidratlar hazır et ürünlerinde de yaygın olarak kullanılan katkı maddeleridir. Yapılan bir çalışmada sıcaklık ya da ışınlama sonucu meydana gelebilecek furan oluşumunu en aza indirmek için farklı yöntemler kullanılacağı tespit edilmiştir. Örneğin; formül içerisinde karbonhidratlar var ise, ışınlama sonucu

oluşacak furan birikimini azaltmak için glukoz, fruktoz ve sukrozdan daha iyi bir seçim olabilir. Isı uygulamasının aksine, ışınlama ile linoleik asit gibi doymamış yağ asitlerinden furan meydana gelmez [27].

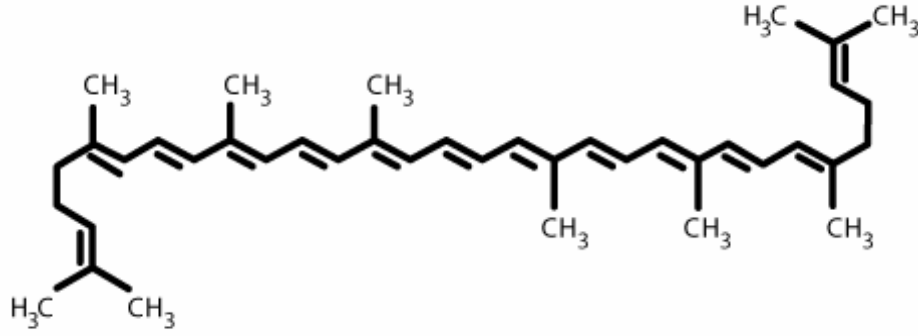
Ticari olarak satılan antioksidanların (E vitamini olarak da bilinen tokoferol asetat gibi) eklenmesiyle furan oluşumunun % 70'den daha fazla azaltılabileceği gösterilmiştir [27, 28].

1.2. Likopen

Önemli bir karotenoid olan likopen en fazla domates (*Lycopersicon esculentum*)'de olmak üzere karpuz (*Citrillus lanatus*), pembe greyfurt (*Citrus paradisi*), gibi meyvelerde bulunur ve onlara kırmızı rengini verir. Karotenoidlerin en önemli kaynağı bitkilerdir. Genellikle kırmızı, sarı ve turuncu renklidirler. Parlak renkleri, yeşil meyve ve yapraklarda olduğu gibi klorofilik pigmentlerce maskelenmiştir. Olgun bitkilerde klorofil içeriğinin azalması sonucu domates, portakal, karpuz gibi çoğu meyvenin farklı güzel renkleri ortaya çıkar. Karotenoidler, bitkilerde fotosentez için ışık toplama, özellikle de yıkıcı fotooksidasyona karşı koruyucu olarak gereklidir. Karotenoidler, çoğu ticari gıda maddesine renklendirici olarak ilave edilir [29].

1.2.1. Yapısı

Likopen; simetrik bir düzleme sahip olup, alifatik, yani düz zincirli, bir hidrokarbondur (Şekil 1). Diğer karotenoidler gibi likopen de tetraterpen ($C_{40}H_{64}$) yapıda olup, 8 tane izopren (C_5H_8) ünitesinin birleşmesinden meydana gelmektedir. Likopen, yapısında 11 tane konjuge ve 2 tane konjuge olmayan toplam 13 tane çift bağ içermekte ve β -iyonon halkası içermemektedir. Buna karşın, β -karoten yapısında 9 tane konjuge ve 2 tane konjuge olmayan toplam 11 tane çift bağ ve 2 tane de β -iyonon halkası içermektedir [30].



Şekil 1. Likopenin kimyasal yapısı

İnsanlar tarafından bitkisel besinlerle alınan karotenoidler, A-Vitamini öncüsü olarak görev yaparlar, bunların başlıcaları α -karoten, β -karoten ve β -kriptoksantindir. En fazla bulunan ve en etkili olanı ise β -karotendir. β -karoten A vitamini öncüsü olma özelliği yanında biyolojik önemi lipit antioksidanı olması ve özellikle singlet oksijen olmak üzere serbest radikalleri nötralize etmesidir [31]. Karotenoidler insan sağlığı için önemli bileşiklerdir. Karotenoidlerin özellikleri ve fonksiyonları onların kimyasal yapısına bağlıdır. Fotosentezde olduğu gibi enerji transformasyonlarında en önemli faktörün, özellikle, tekli ve konjuge çift bağlı bir sistemle 40 C ünيتينin (C=C) kuyruk kuyruğa bağlanması ile şekillenen tetraterpen yapısında uzamalarının bir sonucu olduğu düşünülmektedir. Molekülün bu özelliği singlet oksijen (1O_2) toplamalarına izin verir. Böyle radikal toplama özellikleri sayesinde çoğu epidemiyolojik olan çalışmalarla kanser, kalp rahatsızlıkları, dejeneratif göz hastalıkları gibi ciddi rahatsızlıklara karşı koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir [32-34]

Likopen, insan plazmasında yüksek düzeylerde bulunan karotenoidlerdendir. Kuvvetli bir antioksidan olan likopen, aynı zamanda yangı giderici ve antikanserojen özelliklere de sahiptir [35].

Hücreleri serbest radikal hasarından korumasının yanı sıra, hücreler arasındaki bağları güçlendirmekte ve hücre metabolizmasını geliştirmektedir. Yağda çözünen, yağ miktarı fazla doku ve organlarda etkinliği artan likopenin, yağ içeriği oldukça fazla bir organ olan ciltte de antioksidan koruyucu etki gösterdiği saptanmıştır.

Likopen, cilt hücreleri arasındaki bağları kuvvetlendirmektedir. Diğer bir yararlı etkisi, ultraviyole ışınlarına karşı koruma sağlamasıdır. Likopen aynı zamanda kolesterol düşürücü özelliğe de sahiptir. Göğüs, rahim, karaciğer, prostat kanserlerinden koruyan, kalp damar hastalıkları, kemik ve cilt sağlığı açısından koruyucu etkisi bulunan likopen, antioksidan özelliğiyle yaşlanma sürecini yavaşlatmaktadır [36-38]

Yarılanma ömrü 2-3 gündür. Likopen doğal lipofilik karakterde olduğu için düşük dansiteli lipoprotein (LDL) ve çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) yapılarında yer alırken yüksek dansiteli lipoproteinlerde (HDL) bulunmaz [39].

Yüksek miktarda domates ürünleri tüketimi, değişik kanser türlerinin oluşma riskini azaltmaktadır. Fazla miktarlarda domates ürünleri tüketen kişilerde prostat kanseri riskinin azalmasına neden olan bileşenlerden birisi karotenoidler grubundan olan likopendir [40]. Likopen absorpsiyonunu; dolayısıyla biyoyararlılığını, işleme sırasında gıda matriksi içerisinde likopenin salınması, gıda ile alınan lipitlerin varlığı, ısı etkisiyle *trans* formundan *cis* formuna izomerizasyonu gibi birçok faktör etkilemektedir [41].

Domates; domates suyu, sos, salça veya ketçap şeklinde işlendiği zaman, likopenin, kimyasal yapısı ısıya bağlı olarak değişmekte bu da vücut tarafından daha kolay absorbe edilmesini sağlamaktadır. Buna göre işlenmiş ya da pişirilmiş domates ürünlerindeki likopenin biyoyararlılığı, ham domates ürünlerinkinden daha fazla olduğu görülmüştür [42].

Likopen, taze domatesten protein ve liften oluşan bir matriks içinde bulunur. Domates ürünlerinde ise domatesin ısı işlem görmesi durumunda hücre duvarları ısı etkisiyle parçalanmakta ve likopen serbest kalmaktadır. Dolayısıyla domates ürünlerinde likopen konsantrasyonu, taze domatese oranla daha yüksektir [43].

Genel olarak, gıdaların işlenmesi sırasında besin kalitesinde bir azalma meydana geldiği düşünülür [44]. Ancak işleme sırasında likopenin, biyoyararlılığı ve besin

kalitesi artmaktadır [41]. Likopenin biyoyararlılığı besin yoluyla alınan diğer karotenoidler, vitaminler ve minerallerden de etkilenir [41]. Gıdaların fiziksel olarak küçülmesine neden olan, doğrama ve püre haline getirme gibi işlemler de likopenin biyoyararlılığını arttırmaları [45].

Karotenoid ailesinin bir üyesi olan likopen, uzun zincir şeklindeki asiklik, hidrofobik yapısı ve içerdiği konjuşe çift bağ sebebiyle, yüksek kapasitede antioksidan etkiye sahiptir. Likopen oksijen radikallerini yok ederek antioksidan özellik gösterir [46]. Likopen *in vitro* ortamlarda güçlü bir antioksidan özellik gösterirken *in vivo* DNA, protein ve lipitlerin oksidasyonuna karşı koruyucudur [47].

1.2.2. Likopenin Antioksidatif Etkisi

Stres faktörleri etkisi ile açığa çıkan reaktif oksijen türleri ve nitrojen türleri proteinler, lipidler ve DNA gibi hücrel biyomoleküllere etki ederek kardiyovasküler, osteoporoz ve kanser gibi kronik hastalıklara yatkınlığı artırmaktadır. Bu nedenle antioksidanların diyetle alınması, biyomoleküllerin korunması ve oksidatif zarardan korunmada önemli derecede rol oynamaktadır [48-50].

Karotenoidlerin insan lenfositlerini $O_2^{\cdot-}$ 'nin zararından koruduğu, kardiyovasküler hastalıklar ve bazı kanser çeşitlerini içeren bazı dejeneratif bozukluk risklerini azalttığı bildirilmiştir. Likopen, yapısında yer alan siklik halkanın açılmış olması nedeniyle daha yüksek kapasitede antioksidan etkiye sahiptir [51, 52].

Likopenin sigara kullananlarda meydana gelen azot dioksit (NO_2) ve H_2O_2 'e karşı hücrel korumada karotenden daha etkili olduğu bildirilmiştir [53]. Karotenoidler diğer serbest radikallerin oluşumuna sebep olan $O_2^{\cdot-}$ 'i ortadan kaldırmada etkilidir [54].

Singlet oksijenin giderildiği süreçte enerji likopen molekülüne transfer edilir. Değişim sırasında enerji bakımından zengin bir bileşik oluşur. Bileşikteki likopen fiziksel sönme veya ısı şeklindeki enerji dağılması ile eski haline döner ve başka serbest radikalleri ortadan kaldırmak için hazır bir şekilde bileşikten ayrılır.

Likopenin ratlarda *in vivo* şartlarda ve hücre kültüründe oksidatif DNA hasarını azalttığı saptanmıştır [55]. Likopenin antioksidan özelliğinin yanı sıra antikanserojen, gelişim faktörleri, bazı hormonlar ve sitokinlerin sinyal iletimi, hücreler arası haberleşme ve hücre ölümüne regüle etme gibi önemli biyolojik süreçler de etkileri bulunmaktadır [56].

1.2.3. Diyabette Likopen

Tip 2 diyabet hastalarında domates suyunun kullanılmasıyla plazmadaki likopen seviyesinde gözlenen belirgin artışa bağlı olarak kötü huylu kolesterolün oksitlenerek damarlar için zararlı ürünlere dönüşümünün belirgin bir biçimde azaltılabildiği görülmüştür. Serum karotenoidleri (ki içlerinde likopen de var) tip 2 diyabet ile yakından ilgilidir ve glukoz metabolizmasının zayıflaması ile serum karotenoid düzeylerinin glukoz tolerans anormalliklerine bağlı olarak lineer azaldığı tespit edilmiştir [57].

Plazma likopen düzeyleri ve tip 2 diyabet riski arasında orta yaşlı kadınlarda nasıl ilişkinin olabileceği ve bu durumun daha ileri çalışmalarda kanıtlanması gerektiğine dair çalışma mevcuttur [58].

Diyabetin ilerlemesi ile birlikte artan retinopati'nin, karotenoid durumu ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Karotenoidlerin dolaşımdaki düzeyleri diyetle alınan miktarına büyük ölçüde bağlıdır ve prooksidasyon/antioksidan dengesi üzerine etkilidir. Ancak, karotenoidler ve diyabetik komplikasyonlar arasındaki ilişkiye dair bilgiler sınırlıdır. Karotenoid eksikliğinin, diyabetik retinopatiden sorumlu olduğu söylenebilir. Daha da önemlisi yapılan çalışmalarda, diyete bağlı modülasyonu artan, lutein ve likopen açısından zengin gıdaların alımı ile birlikte retinopati riskinin azaltılması mümkün görülmüştür. Likopenin, total antioksidan düzeyini artırarak, MDA-LDL yapımını inhibe edip T hücre-bağımlı adaptif (pro-aterojenik) immün cevabını hafifletmiş olması muhtemeldir. Bu arada likopen, makrofaj ve köpük hücre oluşumu, ox-LDL alımını, doğal bağışıklığın artırılması ve dolayısıyla önlenmesi ile özellikle kardiyovasküler hastalıklar başta olmak üzere uzun vadeli diyabetik komplikasyonların önlenmesinde etkili olabileceği düşünülmektedir [59, 60].

1.3. Diyabetes Mellitus

Çok eski zamanlardan beri diyabet insanoğlunun önemli metabolik hastalıklarından biri olmuştur. Bu hastalık bugün dünya genelinde 230 milyondan fazla insanı etkilemiş durumda ve bu sayının 2025 yılında 350 milyona ulaşacağına inanılmaktadır [61]. Diyabetes mellitus (DM), insülinin yetersiz salgılanması veya etki mekanizmasında meydana gelen bozukluk neticesinde, oluşan kronik bir metabolizma hastalığıdır [62].

Diyabetteki kronik hiperglisemi özellikle gözler, böbrekler, sinirler, kalp ve kan damarları gibi bazı organlarda uzun dönemde hasar, işlev bozukluğu ve yetmezliğe neden olur. Belirgin hipergliseminin semptomları arasında aşırı tuvalete çıkma, fazla su içme, kilo kaybı, bazen de aşırı yemek yeme ve görme bozuklukları bulunur [63].

DM uzun dönemde çeşitli organlarda (gözler, böbrekler, kalp, beyin, kan hücreleri) hasarlar, fonksiyon bozuklukları ve yetersizlikler ile seyredebilir [64].

DM, akut metabolik komplikasyonların yanı sıra, uzun dönemde vasküler, böbrek, retinal ya da nöropatik bozukluklara yol açan, morbitide ve erken mortalite riski yüksek bir hastalıktır [65].

Glisemi bozuklukları etiyolojilerine göre, 1999 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) diyabet sınıflamasındaki ayrılıkları önlemek amacıyla geçerli bir sınıflamayı kabul etmiştir. WHO'ya göre DM'un klinik sınıflaması aşağıda açıklanmıştır [66].

1.3.1. Diyabetes Mellitus Tipleri

1.3.1.1. Tip I Diyabet (İnsüline Bağımlı Diyabet-IDDm): Beta hücre yıkımı (T lenfositlerin aktivasyonu ile), insülin sekresyonunun yokluğu ya da çok düşük oluşu, glukagon gibi uyarılara C-peptid yanıtının alınamayışı genellikle tam insülin yetmezliğine yol açar. “Jüvenil diyabet”, “genç tipi şeker hastalığı” veya “ketoza elverişli şekerli diyabet“ adları ile anılan bu hastalık, “insüline bağımlı” ya da “tip 1 diyabet” olarak isimlendirilmektedir. Erken yaşlarda başlar (11-13 yaş) ve hastalar kısa sürede hızla kilo verirler. Tip I DM’in toplumdaki sıklığı % 10-15 dir.

1.3.1.2. Tip II Diyabet (İnsüline Bağımlı Olmayan Diyabet-NIDDM): İnsülinin periferik etkisinde bozukluklarla seyreden ve toplumda sık rastlanan DM tipidir. Tip II diyabete orta ve ileri yaş erişkinlerde daha sık rastlanır ve genellikle bireyler şişmandır. Tüm diyabet vakalarının % 80’ini oluşturan Tip II diyabet’in toplumdaki sıklığı % 2-5 arasındadır.

1.3.1.3. Malnutrisyon Diyabeti: Beslenme ile ilgili ve pankreasda kalsifikasyon ve organik bozukluklara bağlı olarak gelişen, diyet dışında bir tedavi gerektirmeyen, insülin sekresyonunun varolduğu bir DM tipidir.

1.3.1.4. Gebelik Diyabeti (Gestasyonel Diyabet): Gebelik esnasında başlayan ve ilk defa gebelik esnasında tanınan değişik derecelerdeki karbohidrat intoleransı için kullanılan bir tanıdır. Artmış insülin direnci, insülin yapımının yetersizliği ve bu iki defektin birleşimi sonucu gestasyonel diyabet oluşur.

1.3.1.5. Diğer Tip Diyabetler: Pankreatit, Cushing sendromu veya akromegali seyirinde ortaya çıkan veya atrojenik nedenlere bağlı, genetik bazı sendromlarla veya insülin reseptör anomalileri ile ortaya çıkan diyabet tipleridir. Bunlar arasında; β hücre fonksiyonunda genetik kusurlar, insülin etkisi ile ilgili genetik kusurlar, endokrin pankreas hastalıkları, endokrinopatiler, ilaç ve kimyasallara bağlı diyabet, enfeksiyonlar, immünite aracılı diyabetin nadir formları, diyabetle ilişkili diğer genetik sendromlar sayılabilir.

1.4. Oksidatif Stres

Serbest radikaller; radikal olmayan bir atom veya molekülden bir elektron azalması veya eklenmesi sonucu elektron çiftinin dengesinin bozulmasıyla oluşan, dış yörüngesinde eşleşmemiş elektron taşıyan, organik ve inorganik moleküller ile reaksiyona girebilme yeteneğine sahip, yüksek oranda reaktif kısa ömürlü bileşiklerdir [67]. Özellikleri; dengesiz ve tek olan elektronu çiftlemek için diğer moleküller ile tepkimeye girmeye yatkın olmalarıdır [48]. Oksidatif stres, diyabet etiolojisinde önemli bir mekanizma olarak kabul edilmektedir. Serbest radikaller normal metabolik süreçte vücutta üretilmekte ve çevresel faktörlerle etkileşim içinde bulunmaktadır. Antioksidanların çoğu fizyolojik olarak vücutta serbest radikallerin yol açtığı olumsuz sonuçlara karşı vücudu savunmaktadır [68].

Oksidatif stresin diyabetin etiolojisinde rol oynadığı ve diyabetin ilerlemesine yol açtığı, deneysel diyabet oluşturulan sıçanlarda ve diyabeti bulunan olgularda serbest oksijen radikalleri ile lipid peroksidasyonunun arttığı tespit edilmiştir [69].

1.5. Malondialdehit (MDA)

Serbest radikallerin biyolojik dokulardaki doymamış yağ asitlerine etkileri lipid peroksidasyonu olarak bilinir. Biyolojik zarların yapısı lipid ve proteinden oluşmaktadır, lipid peroksidasyonu lipitlere olduğu kadar zar proteinlerine de zarar verir [48, 70]. Lipid peroksidasyonun en önemli ürünü MDA'dır. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda MDA meydana gelir [71-73]. MDA, membranda bulunan bileşiklerin, çapraz bağlanmasına ve polimerizasyonuna neden olmaktadır. Bu durum membranın yapısında, iyon geçişlerinde ve enzim aktivitelerinde değişikliklere neden olmaktadır [74]. MDA'nın tüm bu özellikleri sebebiyle mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğu belirtilmektedir [75]. Ayrıca bir aldehid türevidir olan MDA, proteinlerin amino grubu, fosfolipidler ve nükleik asitler ile reaksiyona girerek bu moleküllerin yapısının bozulmasına da sebebiyet vermektedir [76].

1.6. Antioksidanlar

Antioksidanlar, genel olarak serbest radikal oluşumunu engelleyen veya azaltan maddeler olarak tanımlanmışlardır [77]. Antioksidan savunma sistemi enzimatik ve enzimatik olmayan olarak ikiye ayrılır.

Enzimatik savunma sistemine örnekler; SOD, CAT, GST ve GPx'tir. Enzimatik olmayan savunma sistemin örnekler; likopen, glutatyon, membrana bağlanabilen α tokoferol ve β karoten, askorbat, transferin, seruloplazmin ve bilirubindir [78-81].

1.6.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Antioksidan enzimlerden olan SOD, hepatositlerin, eritrositlerin ve beyin hücrelerinin mitokondri matriksinde bulunur. Kararlı bir yapıya sahiptir. $O_2^{\cdot-}$ 'i H_2O_2 'ye dönüştüren reaksiyonu katalizler [82, 83].

1.6.2. Katalaz (CAT)

Her biri bir prostetik grup olan ve yapısında Fe^{3+} bulunduran 4 hem grubundan oluşan bir hemoproteindir. CAT aktivitesi karaciğer, eritrosit ve böbrekte yoğundur [83-86]. CAT enzimi hepatositlerin mitokondrisinde ve eritrositlerin sitoplazmasında bulunurken, diğer hücrelerin peroksizomlarında yer alır [87]. Tip 2 diyabetli hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada diyabetli hastaların artmış serum CAT aktivitesine sahip oldukları vurgulanmaktadır [82]. Ancak bu artışın organizmanın kendisini lipid peroksidasyonundan korumak için kompensatuvar bir mekanizma olabileceği vurgulanırken, başka çalışmalarda da azalmış olduğu vurgulanmaktadır [88, 89].

1.6.3. Glutatyon Peroksidaz (GPx)

Her birinde selenosistein içeren 4 alt birimden oluşur. Redükte glutatyonu yükseltirken H_2O_2 'i de suya çevirir ve böylece membran lipidlerini ve hemoglobini oksidatif strese karşı korur [90].

E vitamini yetersiz olursa membranı peroksidasyona karşı korur. Eritrositlerde en kuvvetli antioksidandır. GPx yetersizliği selenyum eksikliği sonucu olabilir. Çünkü selenyum bu enzimin bir integral parçasıdır [84, 91, 92]. Yapılan çalışmalarda diyabetli hastalarda serum GPx aktivitesinin azalmış olduğu rapor edilmektedir [87, 89].

1.6.4. Glutasyon S-Transferaz (GST)

Toksik metabolitlerle glutasyonun konjugasyonunu katalizleyen GST enzimi de toksik metabolitlerin detoksifikasyonuna yol açan başka bir antioksidan enzimdir [65]. Yapılan çalışmalarda diyabette antioksidan enzimlerin arttığı veya azaldığı şeklinde raporlar vardır. Ancak diyabette kesin olarak antioksidan sistemlerde bozukluk vardır [87, 89].

1.7. Böbrek

Böbrekler, vücudun homeostasisini düzenleyen yaşamsal organlardan biridir. Vücutta oluşan metabolizma artıklarının büyük bir kısmını dışarı atma ve vücut sıvılarında bulunan maddelerin çoğunun konsantrasyonunun kontrolü gibi temel fonksiyonlara sahiptirler. Kan basıncı ve vücudun sıvı hacminin ayarlanmasından, idrar oluşumundan ayrıca asit-baz dengesinin kontrolünden sorumludurlar. Renin ve eritropoietin olmak üzere iki önemli hormon üretiminde görevlidir. Renin hormonu, kan basıncını ayarlarken eritropoietin hormonu, kemik iliğinde kırmızı kan hücrelerinin yapımı üzerinde etkilidir [93].

Böbrekler, yüksek kan akışı hacmi ve tübüllerde yoğunlaşan çok sayıda maddeyi filtre etmelerinden dolayı toksik maddelere karşı oldukça hassas organlardır [94]. Kimyasal maddeler, böbreklerde hücre ölümüne ve nekroza neden olabilirler. Bu toksisite, böbreğin görevinde küçük aksaklıklara neden olabileceği gibi böbrek yetmezliği gibi daha ciddi sonuçlara da yol açabilir. Toksik maddenin yapısına, dozuna ve maruz kalma şekline ve süresine göre bu değişiklikler, reversibl veya irreversibl olabilir [95].

Nefronların üstlendiği fonksiyonlar nefrotoksinler olarak adlandırılan maddelerden etkilenebilirler [96]. Nefrotoksisite oluşan atıkların atılmasında azalmaya, vücut sıvı miktarı ve elektrolit dengesinin bozulmasına ve eritropoietin gibi maddelerin sentezlerinde aksamaya neden olarak sistemik toksisiteye yol açabilir [94]. Nefronlardaki glomeruluslar plazmadaki maddelerin süzülmesini sağlar. Plazmada bulunan küçük ve serbest moleküller, filtrata geçerler. Nefronların tübülüs kısmı, filtratın önemli miktarını reabsorbe eder [95]. Böbreklerde özellikle tübülüs hücrelere glomeruluslar çeşitli yabancı bileşikler için asıl hedef kısımlardır [96]. Glomerülün

esas fonksiyonu; kandan bazı atık maddeleri temizlemek, sodyum ve üre gibi molekülleri ve ayrıca suyu süzmektir.

Üre, amonyağın detoksifikasyonunu sağlayan üre döngüsü esnasında karaciğerde meydana gelir. Üre, glomeruluslardan süzülür ve tübüllerden pasif bir şekilde tübül sıvısının akış hızına bağlı olarak tübül dışına difüze olur [97].

Ürik asit, pürin nükleotitlerinden adenin ve guaninden oluşan en önemli metabolik üründür. Ürik asitin artması, oksijen radikallerindeki artışı yansıtmaktadır. [98]. Böbrek fonksiyonları normal olduğunda ürik asitin çoğu idrar vasıtasıyla dışarı atılır [99]. Ancak renal yetmezlikte plazma ürik asit seviyesinde bir artış görülmektedir [100]. Normal plazma konsantrasyonunda hidroksil, süperoksit, peroksi radikallerini ve singlet oksijeni temizler [101]. Hemogloblin ve eritrositleri peroksidatif hasara karşı koruma özelliği taşır [74].

Kreatinin, normal kas metabolizmasının enzimatik olmayan bir üründür. Kreatinin bütün vücut sıvılarına yayılır fakat tekrar kullanılmaz. Böbreklerden glomerular filtrasyon yoluyla uzaklaştırılır [102]. Kreatinin böbrek ve kas hasarının önemli bir klinik belirteçidir. Bu günlerde klinik laboratuvarlarının en çok istenen analizlerden biridir [103]. Kreatin aminoasit metabolizması bir yan ürünü ve kas dokuları için enerji kaynağıdır. Kanda dehidrojenize formu olan kreatinin şeklinde taşınır. Kandaki normal değeri 44-106 μM arasındadır [104]. 1000 μM geçtiğinde kesin patolojik bir durumu tanımlar [105]. Kreatinin seviyesi 140 μM aştığında klinik araştırmayı gerektirir ve 530 μM geçtiğinde ağır böbrek harabiyetini belirtir [106].

Bu çalışmada, toksik bir madde olan furanın diyabetik ratlar üzerinde böbrek dokusuna olan etkisi ile antioksidan özelliği olan likopenin, diyabetin ve furanın etkilerine karşı koruyucu rolünün ortaya konulması amaçlanmıştır. Çalışmada sadece LPO düzeyi ve antioksidan enzim aktiviteleri değil aynı zamanda böbrekte meydana gelen histolojik değişiklikler ile üre, ürik asit ve kreatinin miktarları da incelenmiştir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Hayvanlar

Çalışma için Çukurova Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır. Bu çalışmada madde uygulaması yapılan 35 adet erkek Wistar rat (300-320 gr) Çukurova Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden temin edilmiştir. Ratlar özel kafeslere her kafeste 7 rat olacak şekilde rastgele konulmuştur. Toplamda 5 grup oluşturulmuştur. Standart laboratuvar diyeti ve su ile beslenen hayvanlara 18-22 °C oda sıcaklığında, aydınlık/karanlık (12 saat/12 saat) fotoperiyodu uygulanmıştır. Ratlar uygulama yapılmadan 10 gün önce karantina altına alınmışlardır.

2.2. Kimyasallar

Deneyde ratlara 3 madde uygulanmıştır. Bunlar;

- Streptozotosin (STZ)
- Furan
- Likopen

Uygulanan bu kimyasal maddeler ile deney esnasında kullanılan bütün diğer kimyasallar Sigma'dan temin edilmiştir. Furan [107] ve likopen [108] mısır yağında çözüldükten sonra hayvanlara uygulanmıştır.

2.3. Hayvanlara Uygulama Planı

Kimyasallar sabah saatlerinde (09.00–11.00 arasında) aç olmayan ratlara uygulanmıştır. Furan uygulaması likopen uygulamasından 1 saat sonra yapılmıştır. Deney 28 gün sürmüştür ve maddeler ratlara her gün bir defa gavaj yoluyla verilmiştir. Deneyde oluşturulan gruplar ve de gruplardaki hayvanlara uygulanan madde miktarları Tablo 1'de verilmiştir. Deneyde oluşturulan 5 grup;

1. Grup: Kontrol grubu
2. Grup: Diyabetik Kontrol grubu
3. Grup: Diyabetik Furan uygulanan grup
4. Grup: Diyabetik Likopen uygulanan grup
5. Grup: Diyabetik Furan + Likopen uygulanan grup

Tablo 1. Deneyde oluşturulan gruplar ve uygulanan madde miktarları

Grup No	Gruplar	Hayvan sayısı	Uygulanan madde miktarı	Uygulama süresi
1	Kontrol	7	Mısır yağı (1 ml/kg)	(28 gün boyunca günde bir kez)
2	Diyabetik Kontrol	7	55 mg/kg v.a. STZ Mısır yağı (1 ml/kg)	
3	Diyabetik Furan	7	55 mg/kg v.a. STZ 40 mg/kg v.a. Furan	
4	Diyabetik Likopen	7	55 mg/kg v.a. STZ 4 mg/kg v.a. Likopen	
5	Diyabetik Furan + Likopen	7	55 mg/kg v.a. STZ 40 mg/kg v.a. Furan 4 mg/kg v.a. Likopen	

2.3.1. Kontrol Grupları

Kontrol gruplarında her bir rata günlük 1 ml/kg mısır yağında oral gavaj yoluyla verilmiştir.

2.3.2. Furan Uygulanan Grup

Her bir rata günlük 40 mg/kg v.a (vücut ağırlığı) furan, mısır yağında içinde çözülerek oral gavaj yoluyla verilmiştir.

2.3.3. Likopen Uygulanan Grup

Her bir rata günlük 4 mg/kg v.a likopen, mısır yağında içerisinde çözülerek oral gavaj yoluyla verilmiştir.

2.3.4. Furan + Likopen Uygulanan Grup

Her bir rata günlük olarak 4 mg/kg v.a likopen ve uygulamasından 1 saat sonra ratlara 40 mg/kg v.a furan hazırlanarak oral gavaj yoluyla verilmiştir.

2.4. Diyabet Oluşturulması

Her bir rata tek doz halinde 55 mg/kg v.a. STZ, 0.1M sodyum sitrat tamponunda (pH 4.5) dilüe edilerek intraperitoneal (i.p) enjeksiyonla verilmiştir. Enjeksiyondan 2 g¼n sonra STZ uygulanmış hayvanların kuyruklarından kan alınarak glikometre ile glukoz d¼zeyleri ölç¼lm¼řt¼r. Alınan kanda kan glukoz d¼zeyi 300 mg/dl üzerinde olan ratlar diyabetik olarak kabul edilmiştir [109].

28 g¼n sonunda ratlar, ketamin (45 mg/kg) + ksilazin (5 mg/kg) kombinasyonu ile intramuskular (i.m) olarak bayıltılarak disekte edilmiştir, ardından öncelikle serum biyokimyasal parametrelerin incelenmesi için kalplerinden jelli steril tüplere kanları alınmıştır. Daha sonra her bir ratdan histopatolojik incelemeler ve MDA seviyesi ile antioksidan enzim (SOD, CAT, GPx, GST) aktivitelerini araştırmak için böbrek dokusu örnekleri alınmıştır. Işık mikroskobu için alınan doku örnekleri tamponda yıkanmış sonrasında formaldehit fiksatifine içine alınmıştır. Enzim aktiviteleri ve MDA d¼zeyinin belirlenmesi için ayrılan böbrek dokuları daha sonra çalışılmak üzere -80°C’de saklamaya alınmıştır.

MDA seviyesini ve SOD, CAT, GPx, GST aktivitelerini araştırmak için alınan ve de -80°C’de saklanan doku örnekleri IKA T18 marka homojenizatör ile homojenizasyon tamponunda (pH 7.4) 3 dakika süreyle homojenize edilmiştir. Miktar ve aktivite tespiti, Shimadzu UV-1800 (Shimadzu 1800, UV/VIS Spektrofotometre, Kyoto, Japan) marka spektrofotometre ile örneklerin absorbansı ölç¼lerek yapılmıştır. Lowry ve ark. [110]’nın geliştirdiği metot ile protein içeriği belirlenmiştir. B¼t¼n bu işlemler 4°C’de yapılmıştır. MDA seviyesi ve enzim aktivite tayini sırasında yapılan santrif¼j işlemleri 4°C’de soğutmalı santrif¼j ile yapılmıştır (NF 800R, N¼VE).

2.5. Malondialdehit Miktarının Belirlenmesi

S¼pernatantlar MDA miktarının tayini için 10 dakika 4.000 g’de santrif¼j edilmiştir. Ohkawa ve ark. [111]’nin metodu kullanılarak tiyobarbit¼rik asit (TBA) ile reaksiyona giren LPO’nun son ür¼n¼ olan MDA miktarı ölç¼lm¼řt¼r. TBA ilave edilmiş olan karışımın spektrofotometrede 532 nm’de absorbansı okunmuştur. MDA miktarı nmol/mg protein olarak verilmiştir.

2.6. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

2.6.1. Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Süpernatantlar SOD enzim aktivitesinin tayini için 4 °C'de 10 dakika 1000 g'de santrifüj edilmiştir. Aktivite tayini için Marklund ve Marklund'un [112] metodu kullanılmıştır. Öncelikle küvetlere Tris-EDTA tamponu ve farklı hacimlerde süpernatant eklenerek üzerlerine enzim kaynağı ilave edilmiştir. Ardından bu karışımlara pyrogallol konulmuş ve spektrofotometrede 440 nm'de absorbans ölçümü yapılmıştır. Hesaplamalar yapıldıktan sonra aktivite nmol/mg protein olarak verilmiştir.

2.6.2. Katalaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Süpernatantlar CAT enzim aktivitesinin tayini için 4 °C'de 10 dakika 1000 g'de santrifüj edilmiştir. Aktivite, Aebi [113] tarafından ortaya konulan metot ile tayin edilmiştir. İlk etapta süpernatanta peroksizomlardaki CAT'ı açığa çıkarmak amacı ile Triton X-100 ilave edilmiştir, daha sonra H₂O₂ eklenmiş ve absorbans 240 nm'de ölçülmüştür. Hesaplamaların ardından enzim aktivitesi µmol/mg protein birimiyle verilmiştir.

2.6.3. Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Süpernatantlar GPx enzim aktivitesinin tayini için 4 °C'de 20 dakika 16.000 g'de santrifüj edilmiştir. GPx aktivitesinin belirlenmesi için Paglia ve Valentine [114]'in metodu uygulanmıştır. Bu yöntem, GR'nin 340 nm'de nikotinamid-adenin-dinükleotid hidrojen fosfat'ı (NADPH) okside etmesi ile oluşan absorbansın ölçülmesi prensibine dayanmaktadır. NADPH'in Nikotinamid-adenin-dinükleotid fosfat (NADP)'a yükseltgenmesi 340 nm'de absorbansın azalmasına sebep olur, böylece dolaylı olarak GPx'in aktivitesinin tespitinde kullanılmaktadır. Bu karışımın üzerine H₂O₂ eklenerek enzimatik reaksiyon başlatılmış ve 3 dakika boyunca 340 nm'de absorbanslar okunmuştur. Enziminin spesifik aktivitesi nmol/mg protein olarak verilmiştir.

2.6.4. Glutasyon-S-Transferaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Süpernatantlar GST enzim aktivitesinin tayini için 4 °C'de 20 dakika 16.000 g'de santrifüj edilmiştir. GST aktivitesinin belirlenmesinde Habig ve ark. [115]'nin

metodu kullanılmıştır. Enzim aktivitesi tayini 340 nm'de, GST enzimi tarafından 1-chloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB), indirgenmiş glutatyon (GSH) ile konjuge edilerek GSH'nin oksidasyonuna bağlı olarak yapılmıştır. Gerekli hesaplamaların sonrasında aktivite nmol/mg protein olarak verilmiştir.

2.7. Serum Böbrek Fonksiyon Testlerinin Belirlenmesi

Disekte edilen ratların kalplerinden steril tüplere kan alınarak 20 dakika 3500 rpm'de santrifüj edilmiş ve serum kısmı ayrılmıştır. Serum üre, ürik asit ve kreatinin miktarlarının belirlenmesi ticari kitler (Thermo Trace-BECGMAN, Germany) kullanılarak yapılmıştır (Bayer ope-RA).

2.8. Işık Mikroskobu İncelemeleri

Disekte edilen hayvanlardan alınan böbrek dokuları ışık mikroskobu incelemeleri için formaldehit fiksatifine konularak tespit edilmiştir. Fiksasyon aşamasının ardından yıkama ve dehidrasyon işlemleri yapılmıştır. Daha sonra dokular parafin bloklar haline getirilmiştir. Hazırlanmış olan bloklardan mikrotom (Leica RM2255) ile 6-7 µ kalınlığında kesitler alınmıştır. Bu kesitler hematoksilin-eozin ile boyanmış, fotoğraf makinesi ataçmanlı Olympus BX 51 (Olympus Corp. Tokyo, Japan) marka mikroskop ile incelenmiş ve fotoğrafları çekilmiştir.

2.9. Verilerin Değerlendirilmesi

Tezde verilen istatistiksel analizlerin tamamı Windows SPSS 11.5 bilgisayar programında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey testi ile yapılmıştır. P<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Biyokimyasal Bulgular

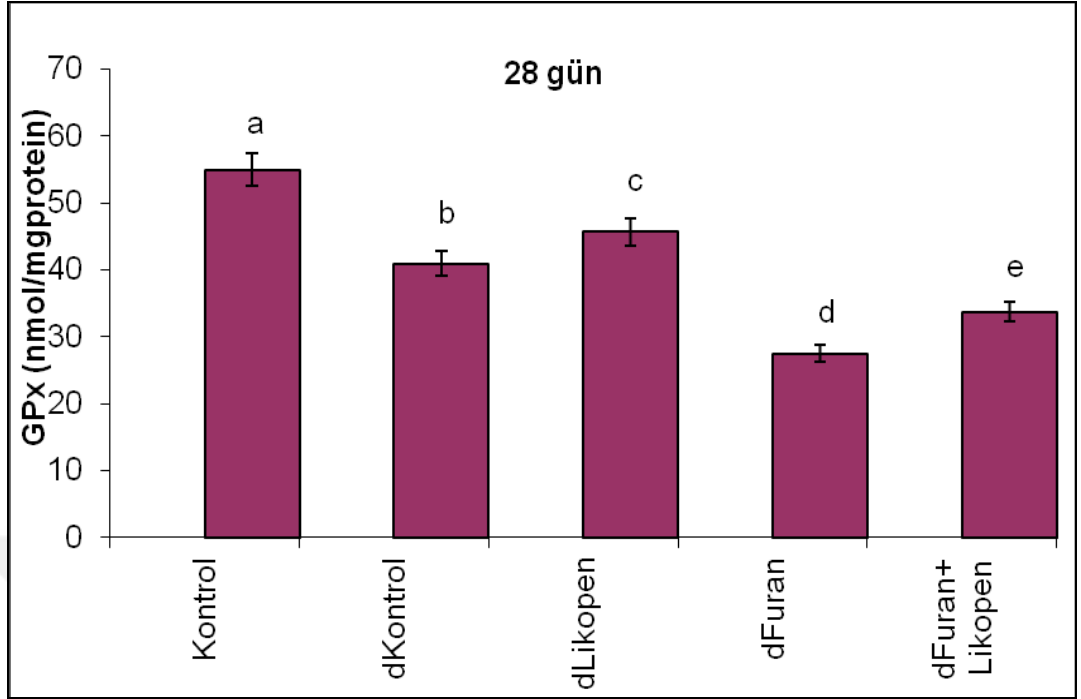
Kontrol ve deney gruplarına ait kan üre, ürik asit ve kreatinin düzeylerinin aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. Kontrol ve uygulama gruplarının kan üre, ürik asit ve kreatinin düzeyleri

Gruplar	ÜRE (mg/dL)	ÜRİK ASİT (mg/dL)	KREATİNİN (mg/dL)
Kontrol	26,27±1,1 ^a	1,57±0,08 ^a	0,26±0,01 ^a
Diyabetik kontrol	36,9± 1,5 ^b	1,99±0,05 ^b	0,32±0,016 ^b
Diyabetik likopen	33,74±1,3 ^c	1,77±0,06 ^c	0,29±0,013 ^c
Diyabetik furan	42,88±1,3 ^d	2,37±0,07 ^d	0,42±0,021 ^d
Diyabetik furan+likopen	39,12±1,2 ^e	2,18±0,06 ^e	0,37±0,018 ^e

Her grupta 7 rat yer almaktadır ve değerler bunların ortalaması standart sapmadır (P<0,05), çizelgede kullanılan harfler gruplar arasındaki farklılığı ifade etmektedir, aynı harfteki gruplar arasında farklılık bulunmamaktadır.

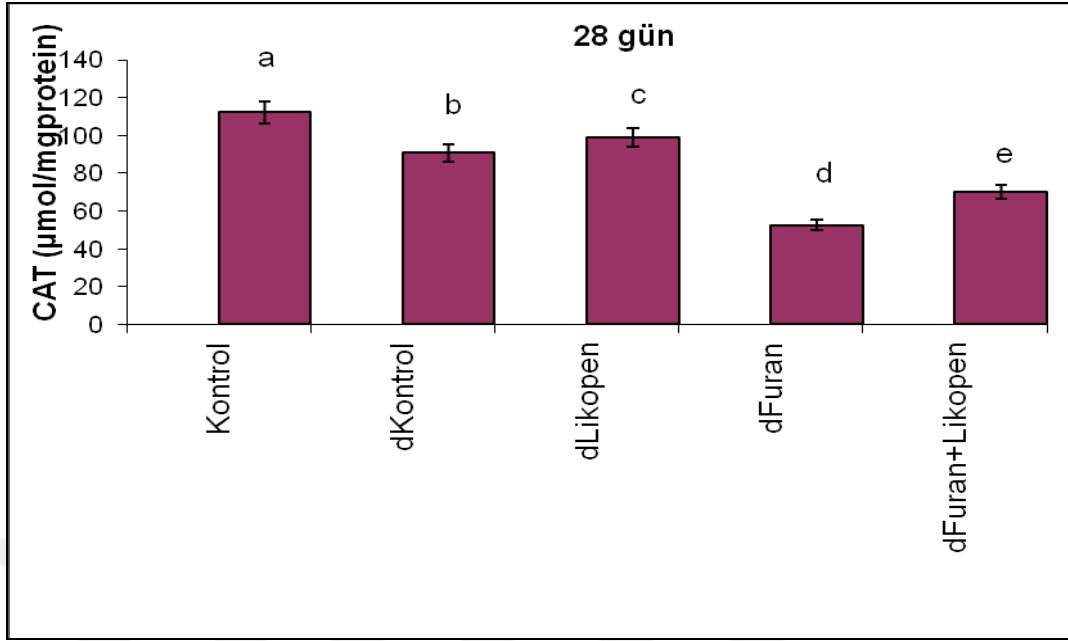
Tablo 2’de de görüldüğü üzere üre, ürik asit ve kreatinin düzeyleri diyabete ve furana bağlı olarak artmış ve likopen uygulanan gruplarda üre, ürik asit ve kreatinin parametrelerinde azalma meydana gelmiştir.



Şekil 2. Kontrol ve uygulama grupları arasında GPx aktivitelerinin karşılaştırılması

Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki farklılığı ifade etmektedir, aynı harfteki gruplar arasında farklılık bulunmamaktadır.

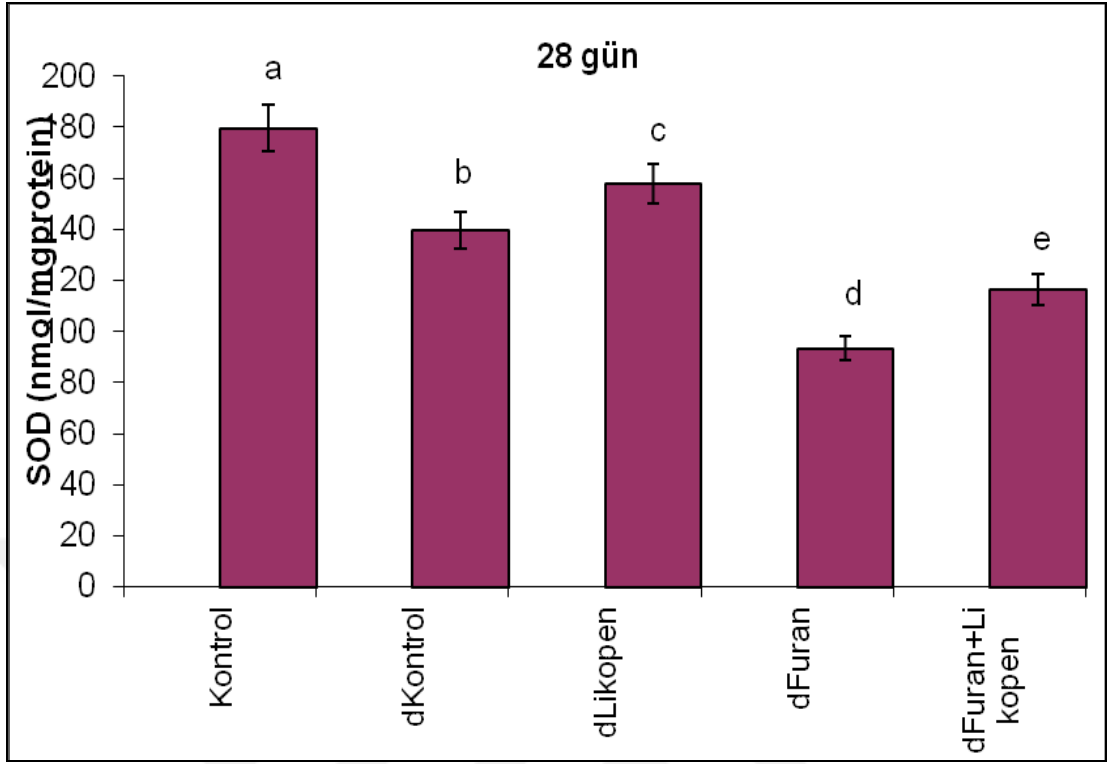
Şekil 2’de diyabetik kontrol grubunda kontrol grubuna göre GPx aktivitesinde anlamlı bir azalma meydana gelmiştir. Diyabetik likopen grubunda diyabetik kontrol grubuna göre GPx aktivitesinde anlamlı bir artış görülürken diyabetik furan grubunda azalma meydana gelmiştir. Diyabetik furan+likopen grubunda ise diyabetik furan grubuna göre artış gözlenmektedir.



Şekil 3. Kontrol ve uygulama grupları arasında CAT aktivitelerinin karşılaştırılması

Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki farklılığı ifade etmektedir, aynı harfteki gruplar arasında farklılık bulunmamaktadır.

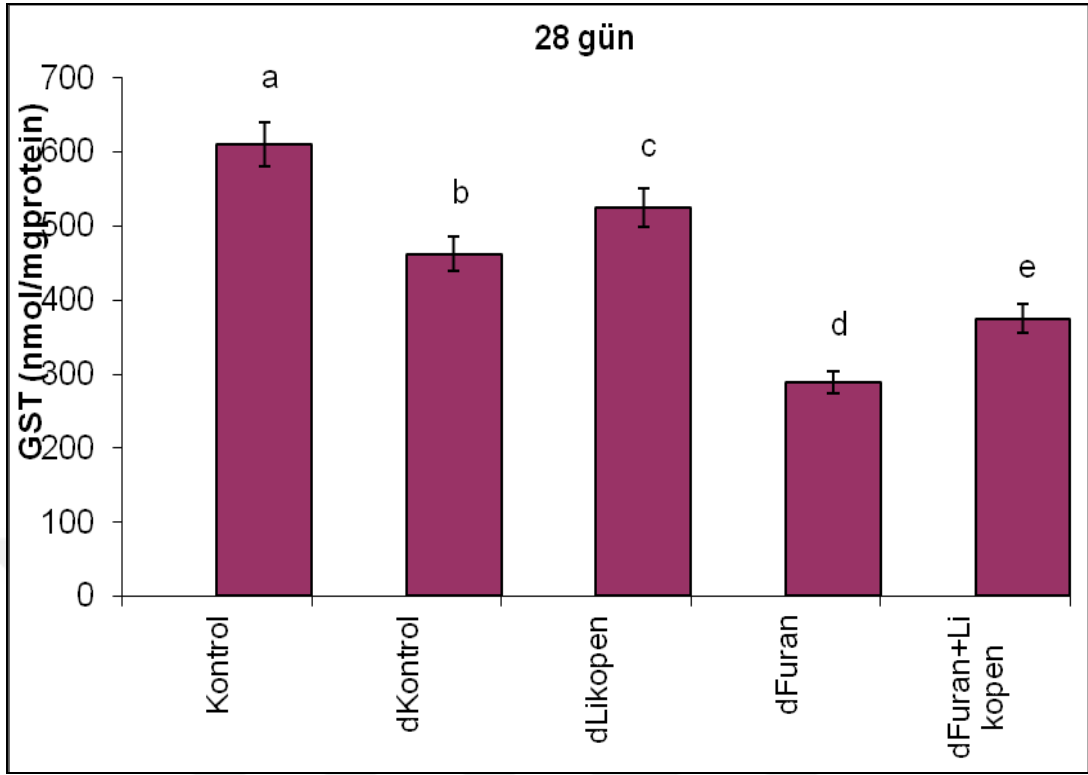
Şekil 3'te diyabetik kontrol grubunda kontrol grubuna göre CAT enzim aktivitesinde düşüş gözlenmiştir. Diyabetik likopen grubunda diyabetik kontrol grubuna göre CAT aktivitesinde artma, diyabetik furan grubunda anlamlı bir azalma belirlenmiştir. Diyabetik furan grubuna göre diyabetik furan+likopen grubunda önemli bir artış gözlenmiştir.



Şekil 4. Kontrol ve uygulama grupları arasında SOD aktivitelerinin karşılaştırılması

Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki farklılığı ifade etmektedir, aynı harfteki gruplar arasında farklılık bulunmamaktadır.

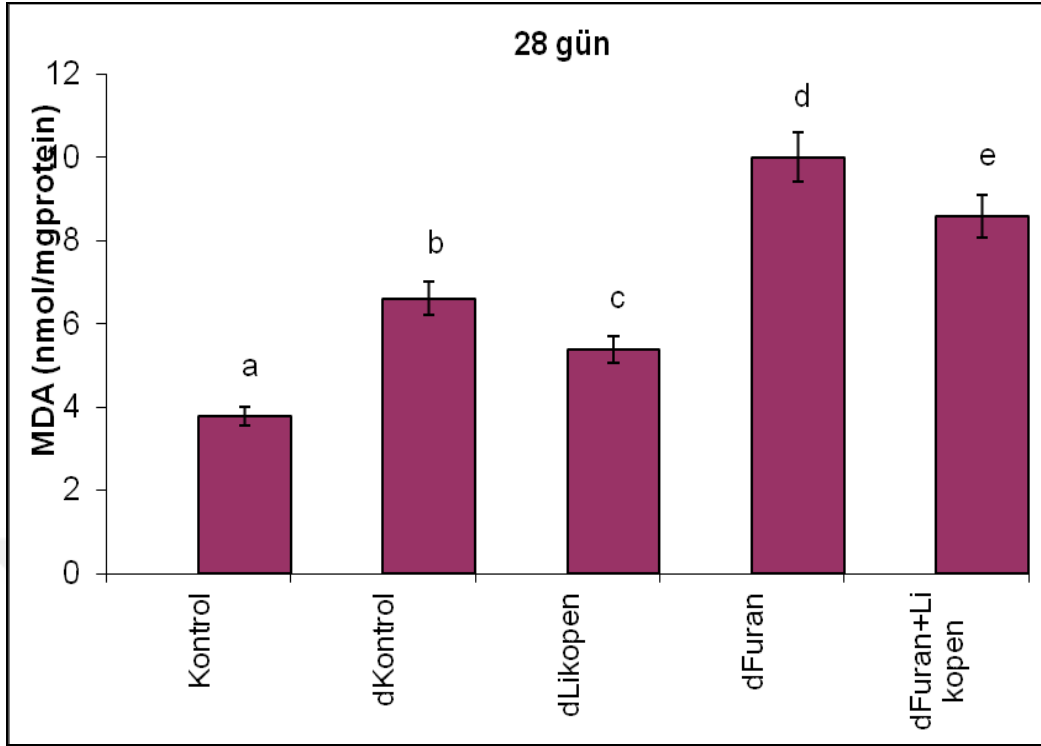
Şekil 4’te SOD enzim aktivitesi diyabetik kontrol grubunda kontrol grubuna göre azalma göstermiştir. Diyabetik likopen grubunda SOD aktivitesinde diyabetik kontrol grubuna göre önemli bir artış gözlenmiştir. Diyabetik furan grubunda diyabetik kontrol grubuna göre önemli azalma meydana gelmiştir. Diyabetik furan+likopen grubunda ise diyabetik furan grubuna göre SOD aktivitesinde önemli artış gözlenmiştir.



Şekil 5. Kontrol ve uygulama grupları arasında GST aktivitelerinin karşılaştırılması

Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki farklılığı ifade etmektedir, aynı harfteki gruplar arasında farklılık bulunmamaktadır.

Şekil 5'te GST enzim aktivitesi diyabetik kontrol grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma göstermiştir. Diyabetik likopen grubunda diyabetik kontrol grubuna göre artış gözlenirken diyabetik furan grubunda diyabetik kontrol grubuna göre azalma meydana geldiği görülmektedir. Diyabetik furan+likopen grubunda diyabetik furan grubuna göre artış gözlenmiştir.



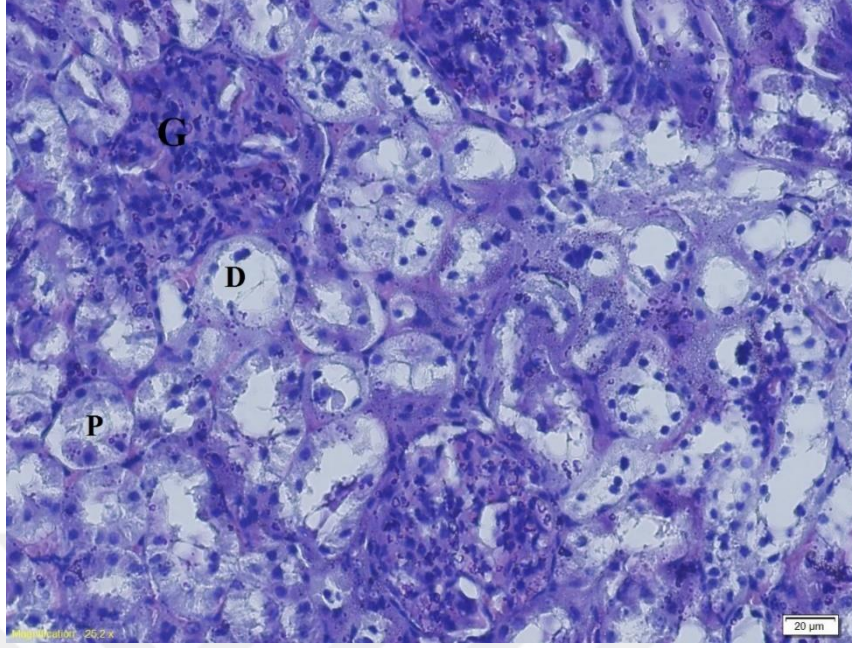
Şekil 6. Kontrol ve uygulama grupları arasında MDA seviyelerinin karşılaştırılması

Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki farklılığı ifade etmektedir, aynı harfteki gruplar arasında farklılık bulunmamaktadır.

Şekil 6'da MDA seviyesi diyabetik kontrol grubunda kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Diyabetik likopen grubu, diyabetik kontrol grubuna göre MDA seviyesinde azalma gösterirken, diyabetik furan grubu diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı derecede MDA seviyesinde artış göstermiştir. Diyabetik furan+likopen grubunda diyabetik furana göre MDA seviyesi azalmıştır.

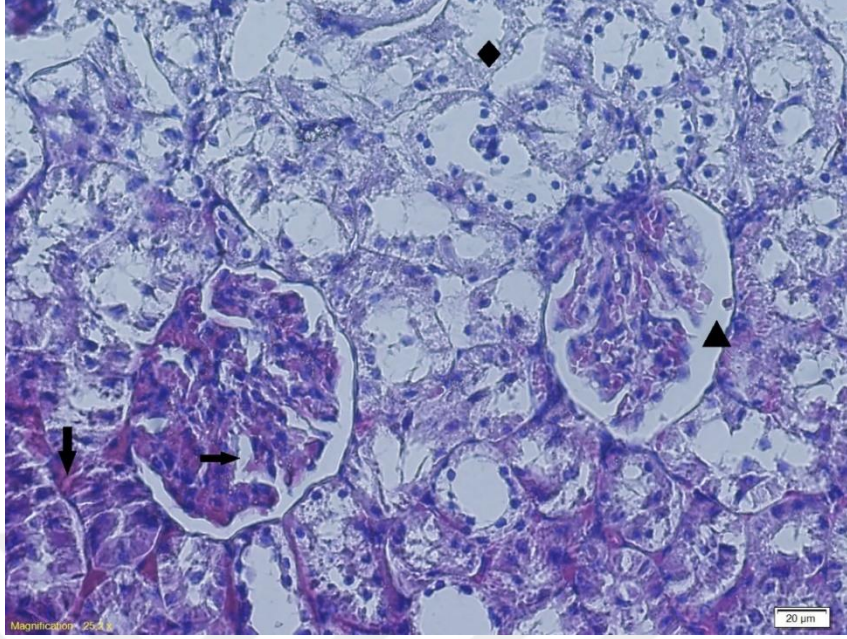
3.2. Histolojik Bulgular

Kontrol grubuna ait bireylerin Hematoksilen & Eozin boyası ile boyanan böbreklerinde, korteksdeki proksimal tübül, distal tübül ve glomerular yumağı düzenli yapılanma gösterirken (Şekil 7), deneysel diyabet oluşturulan bireylerin böbreklerinde oldukça belirgin değişiklikler meydana geldiği tespit edildi. Diyabetik hayvanlara ait böbrek kesitinde glomerular lobulasyon, tübüler dejenerasyon, hemoraji ve bowman kapsülünde genişlemeler izlendi (Şekil 8, 9). Diyabetli ratlara likopen uygulanan grupta sadece tübüllerde dejenerasyon ve bowman kapsülünde genişleme meydana gelmiştir (Şekil 10, 11). Furan uygulanan diyabetik gruptaki ratların böbrek histolojik yapısında inflamatuvar hücre infiltrasyonu, glomerul lobulasyon, glomerular atrofi ile tübüler dejenerasyon görülmüştür (Şekil 12-15). Yine bu grupta hemoraji ile bowman kapsülünde genişleme oranları kontrol grubu bireyleriyle karşılaştırıldığında, aralarında oldukça büyük bir fark olduğu görülmüştür. Diyabetik ratlarda furan ve likopenin birlikte uygulandığı grupta kapillerde hemoraji, tübüllerde dejenerasyon ve glomerular lobulasyon izlenmiştir (Şekil 16-19). Bu grupta furan uygulanan gruba göre daha az patolojik olay meydana gelmiştir.



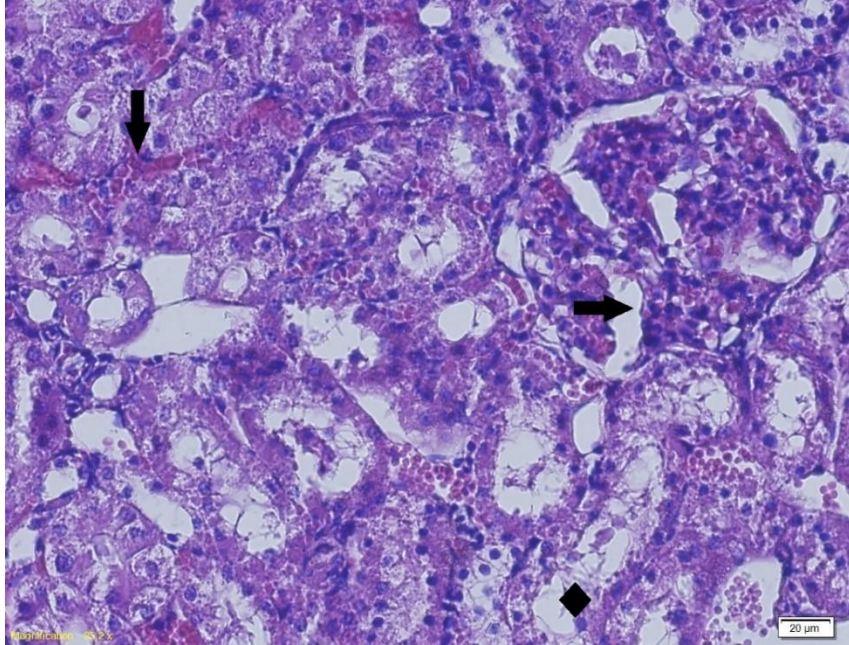
Şekil 7. Kontrol grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı.

Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde glomerulus (G), proksimal tübül (P) ve distal tübül (D). Hematoksilen & Eozin boyası ,X200.



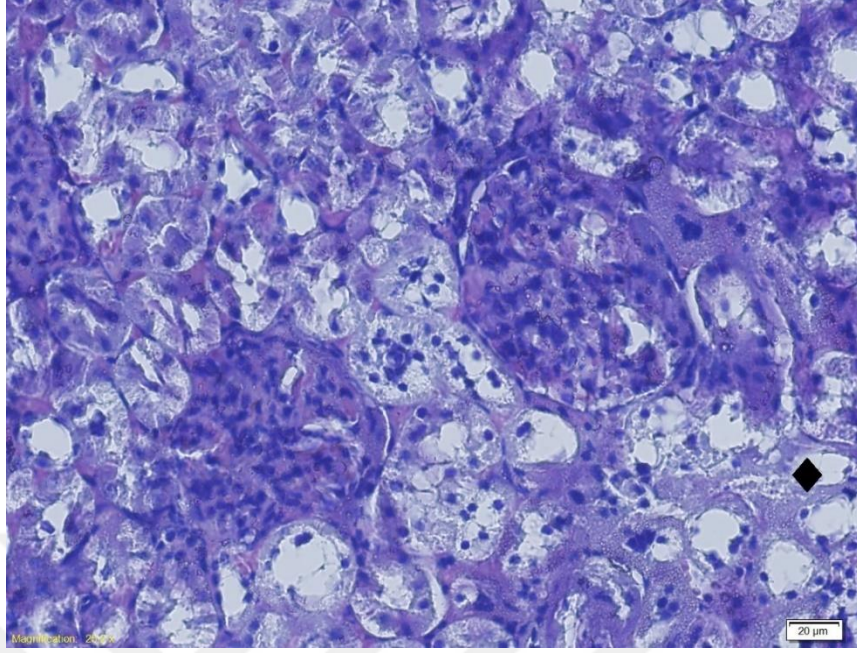
Şekil 8. Diyabetik kontrol grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı

Diyabetik kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde glomerular lobulasyon (→), hemoraji (↓), bowman kapsülünde genişleme (▲) ile tübüler dejenerasyon (◆). Hematoksilen & Eozin boyası, X200.

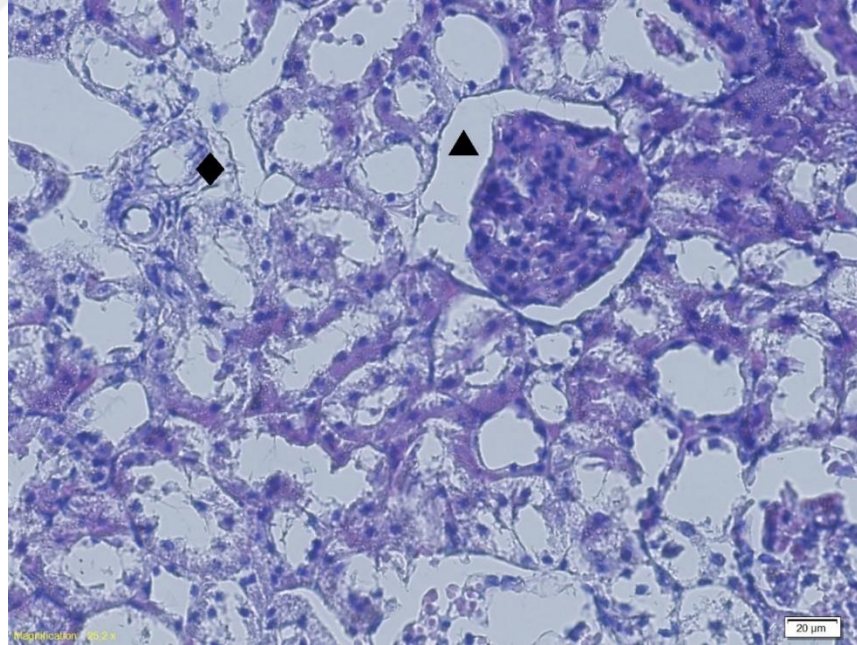


Şekil 9. Diyabetik kontrol grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı

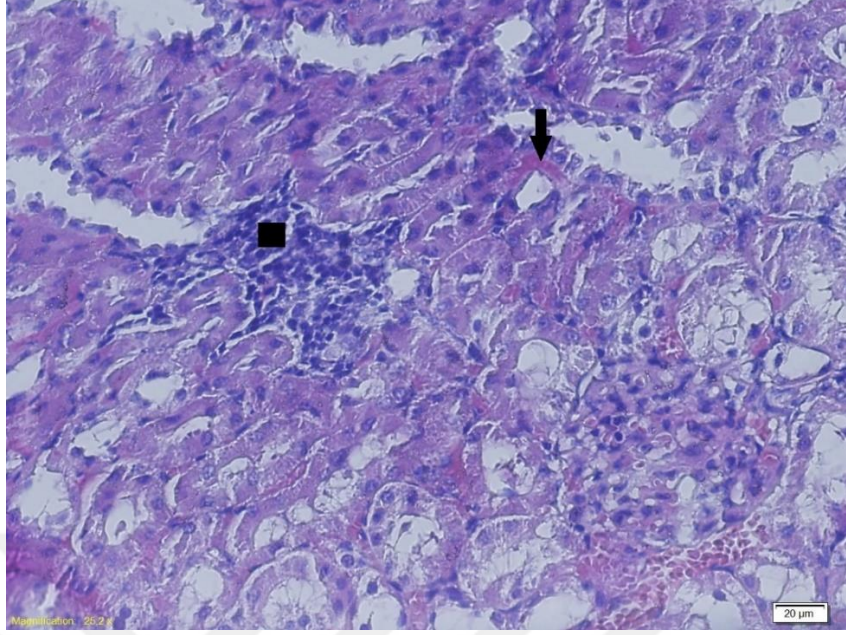
Diyabetik kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde glomerular lobulasyon (→), hemoraji (↓), ile tübüler dejenerasyon (◆). Hematoksilen & Eozin boyası, X200.



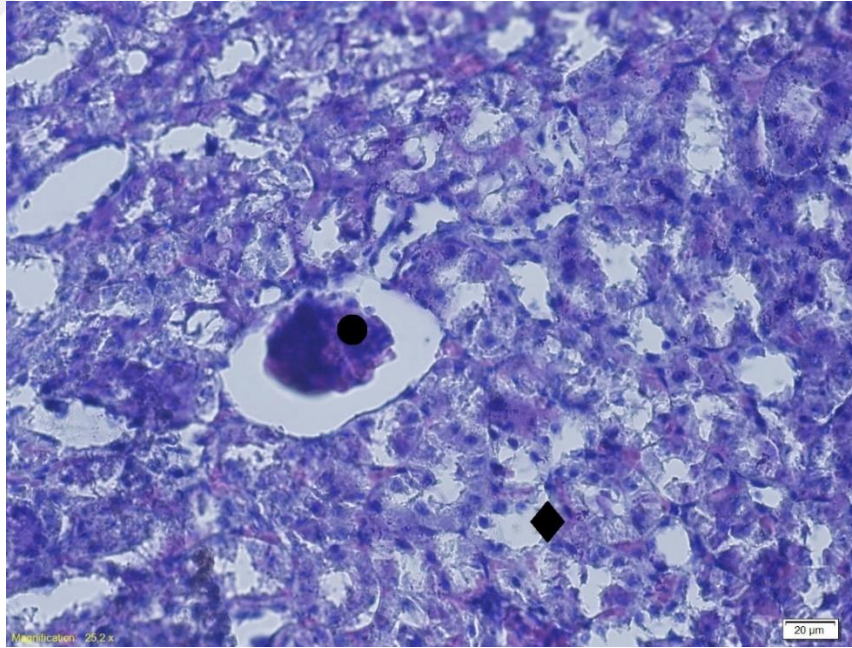
Şekil 10. Likopen uygulanan gruptaki diyabetik ratların böbrek histolojik yapısı
Diyabetik likopen grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde tübüler dejenerasyon (◆). Hematoksilen & Eozin boyası, X200.



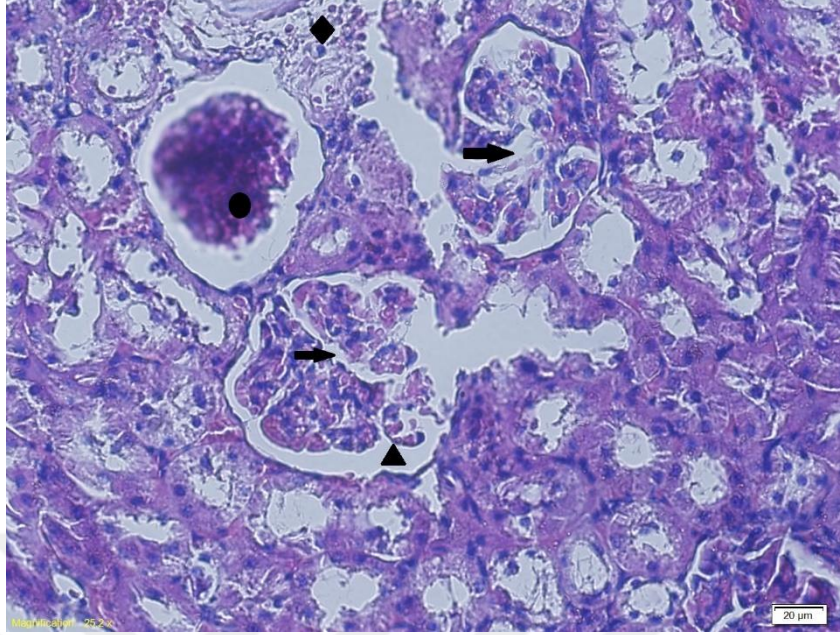
Şekil 11. Likopen uygulanan gruptaki diyabetik ratların böbrek histolojik yapısı
Diyabetik likopen grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde bowman kapsülünde genişleme (▲) ile tübüler dejenerasyon (◆). Hematoksilen & Eozin boyası, X200.



Şekil 12. Furan uygulanan gruptaki diyabetik ratların böbrek histolojik yapısı
Diyabetik furan grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde hemoraji (↓) ile inflamatuvar hücre infiltrasyonu (■). Hematoksilen & Eozin boyası, X200.

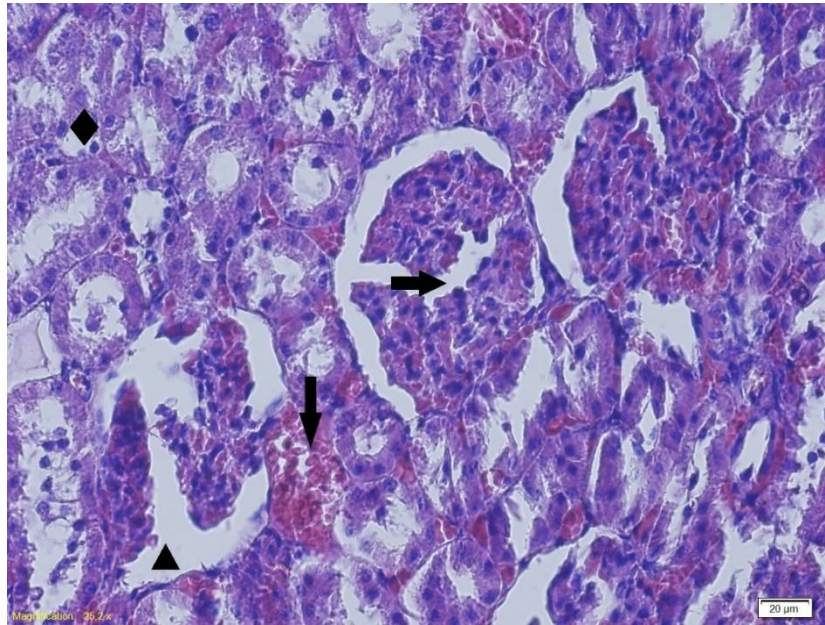


Şekil 13. Furan uygulanan gruptaki diyabetik ratların böbrek histolojik yapısı
Diyabetik furan grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde tübüler dejenerasyon (◆) ve glomerular atrofi (●). Hematoksilen & Eozin boyası, X200.



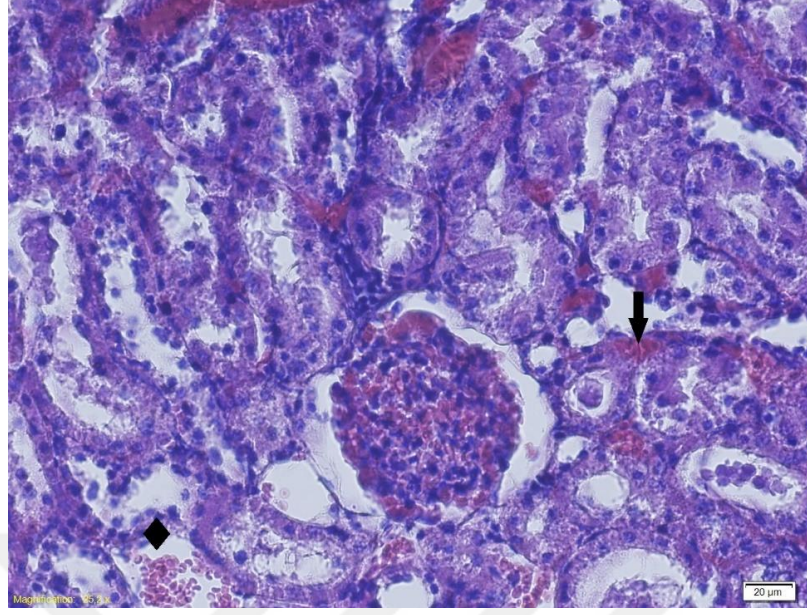
Şekil 14. Furan uygulanan gruptaki diyabetik ratların böbrek histolojik yapısı

Diyabetik furan grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde tübüler dejenerasyon (◆), glomerular atrofi (●), glomerular lobulasyon (→) ve bowman kapsülünde genişleme (▲). Hematoksilen & Eozin boyası, X200.



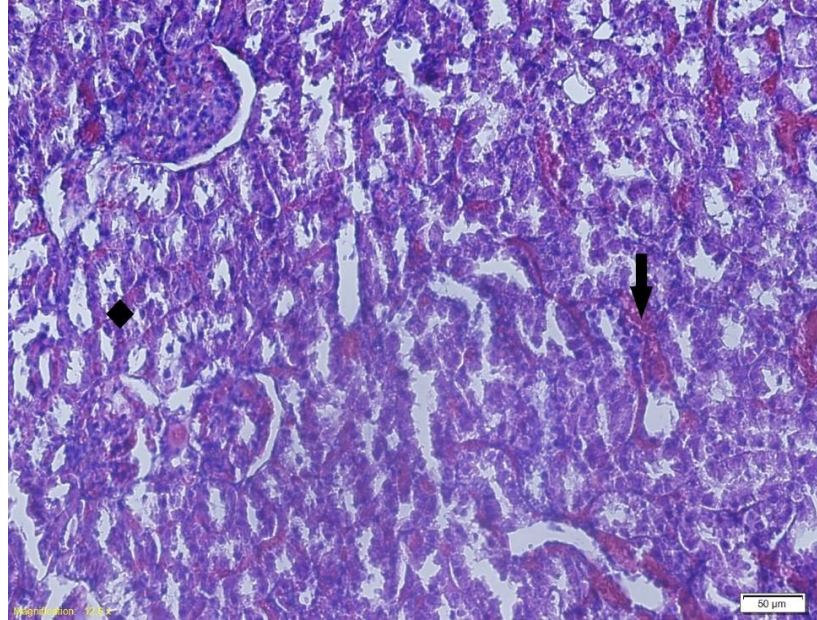
Şekil 15. Furan uygulanan gruptaki diyabetik ratların böbrek histolojik yapısı

Diyabetik furan grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde tübüler dejenerasyon (◆), glomerular lobulasyon (→), hemoraji (↓) ve bowman kapsülünde genişleme (▲). Hematoksilen & Eozin boyası, X200.



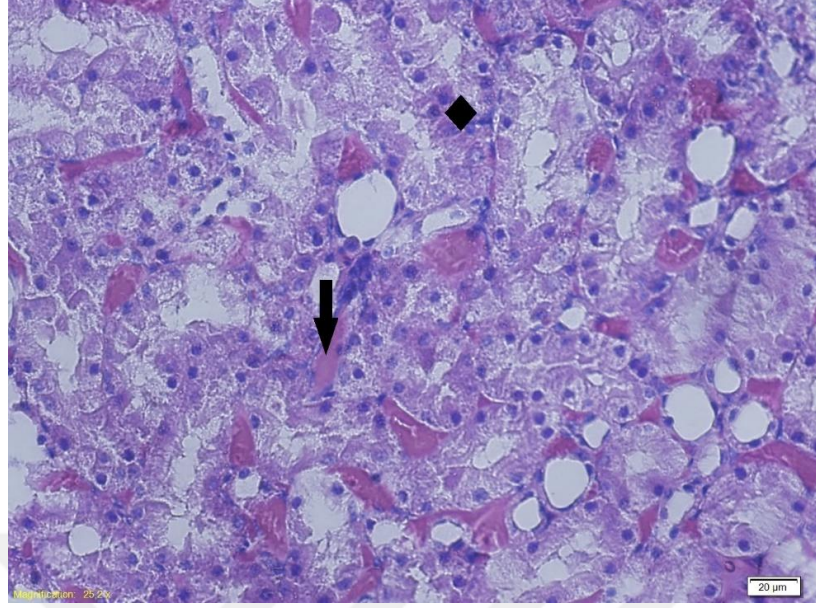
Şekil 16. Furan+likopen uygulanan gruptaki diyabetik ratların böbrek histolojik yapısı

Diyabetik furan+likopen grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde tübüler dejenerasyon (◆) ve hemoraji (↓). Hematoksilen & Eozin boyası, X200



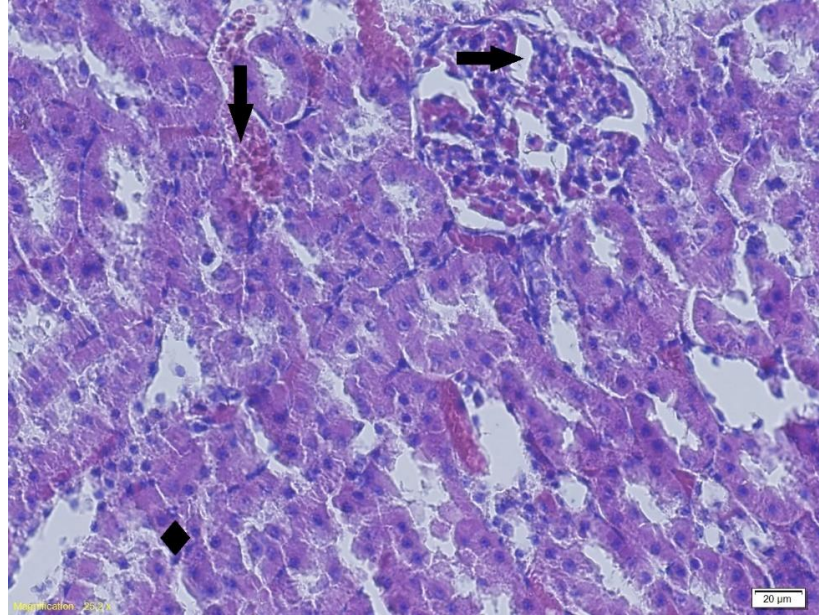
Şekil 17. Furan+likopen uygulanan gruptaki diyabetik ratların böbrek histolojik yapısı

Diyabetik furan+likopen grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde tübüler dejenerasyon (◆) ve hemoraji (↓). Hematoksilen & Eozin boyası, X500



Şekil 18. Furan+likopen uygulanan gruptaki diyabetik ratların böbrek histolojik yapısı

Diyabetik furan+likopen grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde tübüler dejenerasyon (◆) ve hemoraji (↓). Hematoksilen & Eozin boyası, X200



Şekil 19. Furan+likopen uygulanan gruptaki diyabetik ratların böbrek histolojik yapısı

Diyabetik furan+likopen grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde tübüler dejenerasyon (◆), glomerular lobulasyon (→) ve hemoraji (↓). Hematoksilen & Eozin boyası, X200

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

DM, dünyada hızla yayılmakta olan ve yüksek mortalite ve morbidite riski taşıyan bir hastalıktır. Yapılan birçok çalışmada deneysel olarak diyabet oluşturulan ratlarda ve diyabetik hastalarda serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun önemli derecede arttığı ve oksidatif stresin diyabet gelişiminde rolü olduğu kanıtlanmıştır [116].

Diyabetik nefropatinin tedavisi için yüksek meblağlarda harcamalar yapılmakta ekonomik anlamda da bu hastalığın dünyada ve ülkemizde neden olduğu sorunun büyüklüğü gözle görülmektedir. Bu nedenle diyabetin tedavisi için sayısız araştırmalar yapılmıştır. Bu araştırmalarda bazen çeşitli ameliyat teknikleri geliştirilmiş bazen de çeşitli ilaçlar ve farklı tedavi yöntemleri ortaya konmaya çalışılmıştır. Gerek kimyasal, gerek bitkisel tedavi yöntemleri hızlı bir şekilde diyabet ve komplikasyonları için alternatif çalışmalar olarak literatürde yer almıştır [117, 118]. Dönmez (2008) [119], renal kesitlerin incelenmesinde, sağlıklı gruba göre diyabetik grupların böbreklerinde belirgin şekilde glomerulus ile tübüllerde dejenerasyon ve bazal membranlarda kalınlaşma ve düzensizlik ile mezengial hücrelerde çoğalma ve matriks proteinlerinde artış gözlemiştir. Bu çalışmada diyabetin rat böbreklerinde meydana getirdiği hasar glomerular lobulasyon, tübüler dejenerasyon, hemoraji ve bowman kapsülünde genişlemeler şeklinde tespit edilmiştir.

STZ, geniş spektrumlu bir antibiyotik olduğundan, pankreasın β -hücrelerinde harabiyet yaparak deney hayvanlarında diyabet meydana getirmektedir [120, 121]. Bu diyabet modeli deney hayvanlarında hiperglisemi, glikozüri, plazma insülin düzeylerinde azalma ile kendini göstermektedir. Hipergliseminin ağırlığı ve hiperglisemik sürecin uzunluğuna bağlı olarak tüm dokular bu duruma maruz kaldığında, karaciğer, kalp, böbrek, beyin ve testis gibi dokularda yapısal ve fonksiyonel bozukluklar oluşmaktadır [122, 123]. Yapılan bu çalışmada da STZ uygulanan ratların böbrek histolojik yapısında glomerular lobulasyon, hemoraji,

Bowman kapsülünde genişleme ve tübüler dejenerasyon gibi değişikliklerin meydana geldiği gözlenmiştir.

Karotenoidler arasında en güçlü antioksidan olarak likopen bulunur. Fazlaca tüketilen domates sonucunda, yüksek antioksidan düzeye ulaşmakta ve böylece yağ, DNA ve proteinlerin oksidasyonunda azalmaya neden olmaktadır [124]. Karotenoidler içinde likopenin serbest oksijen radikallerinin etkilerini önleme açısından yüksek antioksidan özelliğe sahip olduğu, bu güçlü antioksidan aktivite ile hücre yapılarının, lipidlerin, proteinlerin ve DNA'nın iç oksidasyonuna karşı koruyucu etkiye sahip olduğu ve bazı hastalıkların önlenmesine katkıda bulunduğu bildirilmektedir [125]. Düzgüner ve ark. (2008) [126], STZ ile diyabet oluşturulan ratlarda, likopen ilavesinin, hiperglisemiyi düzelttiği, lipid peroksidasyonu ve serbest radikallerden kaynaklanan diyabetik komplikasyonları engellediğini belirtmişlerdir. Ayrıca karotenoid bakımından eksik diyetlerin tüketiminin MDA düzeylerinde belirgin bir artışa neden olduğu bildirilmiştir [127]. Likopen ilavesinin antioksidan enzim aktivitelerini anlamlı biçimde arttırdığını bildiren çalışmalar [128-130] yanında; Briviba ve ark [131]'nin sağlıklı insanlarda likopenin ve diğer karotenoidlerin oksidatif strese ve LDL oksidasyonuna karşı koruyucu etkilerinin olmadığını ve antioksidan enzimlerde değişiklik gözlenmediğini bildirmişlerdir. Düzgüner ve Kaya [132]'nin yaptıkları deneysel diyabet çalışmasında antioksidan enzimler ve GSH (Glutasyon) düzeyindeki anlamlı azalışın, diyabette görülen hipergliseminin neden olduğu glikolizasyon sonucunda oluşan serbest radikaller ve lipid peroksidlerin, antioksidan enzimleri inaktif hale getirmesinden kaynaklandığını ifade etmektedir. Gupta ve ark. [133], likopen ile kataraktın önlenmesi üzerine yaptıkları bir çalışmada, azalan GSH düzeylerinin likopen uygulamasıyla normale geldiğini göstermişlerdir. Atessahin ve ark. [134] tarafından yapılan başka bir çalışmada, sisplatin ve gentamisin tarafından oluşturulan nefrotoksitite ve oksidatif strese bağlı olarak böbreklerde azalmış olan GSH seviyelerinin likopen uygulanmasıyla normal seviyelere yükseldiği bildirilmiştir. Serbest radikal kaynaklı doku hasarı, pankreatik β - hücre disfonksiyonuna neden olmakta ve insülin sekresyonunu azaltarak çevresel dokularda glukoz kullanımını engellediği bilinmektedir [135, 136]. Likopen, antioksidan özelliği ile serbest radikalleri

yakalayarak oksidatif stres ve lipid, proteinler ve DNA gibi hücresel bileşenlerin hasarını azaltmaktadır [137].

Lipidlerin oksidasyonu sırasında son ürün olarak oluşan MDA, lipid peroksidasyonunun belirteci olarak incelenmektedir [138]. Furan uygulanan ratlarda lipid peroksidasyonu sonucu MDA seviyesinin arttığı gözlemlenmiştir. Bu durum, hücrelerde oksidatif stresin indüksiyonunu göstermektedir. Selmanoğlu ve ark. artan MDA seviyesine furanın neden olduğunu bildirmişlerdir [139]. Diyabet grubunda yapılan çalışmada SOD aktivitesinin kalp ve beyin dokusu homojenatlarında değişmediğini fakat böbrek dokusu homojenatlarında düştüğü, CAT enzim aktivitesinin, kalp ve beyinde artarken böbrekte azaldığı, GPx aktivitesinin diyabet grubunda kontrol grubuna göre arttığı bildirilmiştir [140]. Bu çalışmada diyabetik furan uygulanan ratların böbrek dokusunda SOD, CAT, GPx ve GST enzim aktiviteleri kontrol grubuna göre normal değerlerin altında tespit edilmiştir. MDA seviyesinde artış tespit edilmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada furan uygulamasının testis dokusu üzerindeki olası etkileri histolojik olarak incelenmiş, bunun sonucunda sertoli hücre vakuolizasyonu, ayrıca tübül içindeki spermatojenik hücrelerin düzensiz dağılımı, tübül dejenerasyonu şiddetli olmayan tübüler atrofi, çok çekirdekli dev hücre ve ödem tespit edilmiştir [141]. Üreme sistemi dokularından bir diğeri olan prostat, seröz ve renksiz bir salgı üreten bir bezdir ve testosteron bağımlı olarak çalışmaktadır. Furan uygulaması sonucunda prostat dokusunda histolojik olarak bazı değişiklikler görülmüştür. Furan uygulaması yapılan her grupta mononükleer hücre infiltrasyonunun yanı sıra tübüler atrofi görülmüştür. Subkronik bir çalışmada 4, 8, 15, 30, 60 mg/kg/gün furan uygulanan sıçanların prostat bezlerinde herhangi bir histolojik değişiklik görülmediği belirtilmiştir [4]. Bu çalışmada furan uygulanan diyabetik ratların böbrek histolojik yapısında inflamatuvar hücre infiltrasyonu, glomerul lobulasyon, glomerular atrofi ile tübüler dejenerasyon varlığı tespit edilmiştir.

Böbreklerin sağlık durumu hakkında, atık bileşiklerin miktarlarının belirlenmesi ile bilgi edinilebilir [142]. Üre, ürik asit ve kreatinin parametreleri böbrek fonksiyonlarının belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır [143]. Bu çalışmada serum üre, ürik asit ve kreatinin düzeylerinin diyabet ve furan uygulamasıyla arttığı tespit edildi. Bu artışlar, furan ve diyabetin neden olduğu böbrekteki biyokimyasal zararın göstergeleridir [142]. Bu çalışma sonuçları önceki çalışmalardan elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermiş olup [144, 145], kimyasallar ve diyabetin neden olduğu anormal üre, ürik asit ve kreatinin düzeylerinin renal fonksiyon bozukluklarına neden olduğunu doğrulamıştır.

Bu tez çalışmasında DM ve furanın böbrek üzerinde neden olduğu biyokimyasal ve histolojik hasar üzerine likopenin koruyucu etkisi araştırıldı. Bu çalışma sonucunda diyabetik ratlar üzerine uygulanan toksik madde olan furanın, böbrek dokusunda MDA seviyesi ile CAT, GPx, GST ve SOD enzim aktivitelerinde düzensizliğe, böbrek histolojik yapısında hasara yol açtığı görülmüştür. Koruyucu özelliği olduğu bilinen antioksidan likopen, diyabetik ratlara ve diyabetik furan grubuna verildiğinde MDA seviyesi ile CAT, GPx, GST ve SOD enzim aktivitelerinde anlamlı derecede düzelme ve böbrek patolojisinde önemli bir gerileme olduğu görülmüştür.

KAYNAKLAR

1. FDA (US Food and Drug Administration), Exploratory data on furan in food. (Available at: <http://www.cfsan.fda.gov/about~dms/furandat.html>), 2004.
2. Jägerstad, M. and Skog, K., Genotoxicity of heat-processed foods, *Mutation Research*, 574, 156
3. Durling, L., The effect on chromosomal stability of some dietary constituents, *Digital Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Technology*, 446, 2008.
4. NTP, Toxicology and carcinogenesis studies of furan (CAS No. 110-00-9) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). NTP Technical Report No. 402, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health, Research Triangle Park, NC, 1993.
5. Senning, A., *Elsevier's Dictionary of Chemoetymology*. Elsevier, ISBN 0444522395, 2006.
6. Lynne, W., Elmore, Alphonse, E., Sirica, Phenotypic characterization of metaplastic intestinal glands and ductular hepatocytes in cholangiofibrotic lesions rapidly induced in the caudate liver lobe of rats treated with furan, *Cancer Research*, 51, 5752-5759, 1991.
7. Hamadeh, H.K., Jayadev, S., Gaillard, E.T., Huang, Q., Stoll, R., Blanchard, K., Chou, J., Tucker, C.J., Collins, J., Maronpot, R., Bushel, P., Afshari, C.A., Integration of clinical and gene expression endpoints to explore furan-mediated hepatotoxicity, *Mutation Research*, 549; 169-183, 2004.
8. Sprankle, C.S., Goldsworthy, T.L, Wilson, D.M., Butterworth, B.E., Expression of the hepatocyte growth factor and c-MET genes during furan-induced regenerative cell proliferation in the livers of B6C3F mice and F-344 rats, *Cell Proliferation*, 27, 529-539, 1994.
9. Maga, J.A., Furans in foods, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 355-399, 1979.
10. Crew, C., Castle, L.A., Review of the occurrence, formation and analysis of furan in heat-processed foods, *Trends in Food Science & Technology*, 18, 344-345, 2007.
11. EFSA, Report of the CONTAM Panel on provisional findings on furan in food, Annexe corrigendum. Available at: http://www.efsa.europa.eu/etc/medialib/efsa/science/contam/contam_documents/760.Par.0002.File.dat/furan_annex1.pdf 2004.
12. Blank, I., Bioactive Compound in Foods, Furan in Processed Foods, Gilbert J., Şenyuva H., Blackwell Publishing, 291-322, 2008.

13. Senyuva , H.Z., Gokmen, V., Analysis of furan in foods. Is headspace sampling a fit-for-purpose technique, *Food Additives and Contaminants*, 22(12), 1198-1202, 2005.
14. Senyuva, H.Z., Gokmen, V., Potential of furan formation in hazelnuts during heat treatment, *Food Additives and Contaminants*, Supplement 1, 24(S1), 136-142, 2007.
15. Goldmann, T., Périsset, A., Scanlan, F., Stadler, R.H., Rapid determination of furan in heated foodstuffs by isotope dilution solid phase micro-extraction-gas chromatography-mass spectrometry (SPME-GC-MS), *The Analyst*, 130, 878-883, 2005.
16. Fan X., Formation of furan from carbohydrates and ascorbic acid following exposure to ionizing radiation and thermal processing, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, b, 53, 7826-7831, 2005.
17. IARC (International Agency for Research on Cancer), Summaries & Evaluations, (Available at <http://www.inchem.org/documents/iarc/vol63/furan.html> 1995).
18. Burka, L.T., Washburn, K.D., Irwin, R.D., Disposition of [¹⁴C] furan in the male F344 rat, *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 34(2), 245-257, 1991.
19. Jun, H., Lee, K., Lee, Y., Woo, G., Park, Y.S., Lee, S., Correlation of urinary furan with plasma γ -glutamyltranspeptidase levels in healthy men and women, *Food and Chemical Toxicology*, 46, 1753-1759, 2008.
20. EPA, Integrated Risk Information System, Furan (CASRN 110-00-9), Available at: <http://www.epa.gov/iris/subst/0056.html> 1989.
21. Moser, G.J., Foley, J., Burnett, M., Goldsworthy, T.L., Maronpot, R., Furan-induced dose-response relationship for liver cytotoxicity, cell proliferation, and tumorigenicity (furan-induced liver tumorigenicity), *Experimental and Toxicologic Pathology*, 61, 101-111, 2009.
22. Kedderis, G.L., Ploch, S.A., The biochemical toxicology of furan, *Chemical Industry Institute of Toxicology*, 19 (12), 1-8, 1999.
23. Mugford, C.A., Carfagna, M.A., Kedderis, G.L., Furan-mediated uncoupling of hepatic phosphorylation in Fisher-344 rats: an early event in cell death, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 144, 1-11, 1997.
24. Fransson-Steen, R., Goldsworthy, T.L., Kedderis, G.L., Maronpot, R.R., Furan induced liver cell proliferation and apoptosis in female B6C3F1 mice, *Toxicology*, 118, 195-204, 1997.
25. Märk, J., Pollien, P., Lindinger, C., Blank, I., Mark, T., Quantification of furan and methylfuran formed in different systems by proton transfer reaction mass spectrometry, *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 54, 2786-2793, 2006.

26. Roberts, D., Crews, C., Grundy, H., Mills, C., Matthews, W., Effect of consumer cooking on furan in convenience foods, *Food Additives and Contaminants*, 25(1), 25-31, 2008.
27. Becalski, A., Forsyth, D., Casey, V., Lau, B.P.Y., Pepper, K., Seaman, S., Development and validation of a headspace method for determination of furan on food, *Food Additives and Contaminants*, 22, 535-540, 2005.
28. Hasnip, S., Crews, C., Castle, L., Some factors affecting the formation of furan in heated foods, *Food Additives and Contaminants*, 23(3), 219-227, 2006.
29. Cadenas, E., Packer, L., *Handbook of Antioksidants*. Marcel Dekker. Inc. New York, 1996.
30. Sevindik, H., Pembe Greyfurt Suyu ve Domates Pulpunda Likopen ve β -Karotenin Isıl Stabiliteleri, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara, 2007.
31. Handelman, G.J., The Evolving Role of Carotenoids in Human Biochemistry. *Nutrition*, 17,818-822, 2001.
32. Kozuki, Y., Miura, Y., Yagasaki, K., Inhibitory Effects of Carotenoids on the Invasion of Rat Ascites Hepatoma Cells in Culture. *Canser Letters*, 151,111-115, 2000.
33. Stahl, W., Sies, H., Perspectives in Biochemistry and Biophysics Lycopene; A Biological Important Carotenoid for Humans. *Arch Biochem Biophys*. Dec 1, Vol:36(1), 1-9, 1996.
34. Young, A.J., Lowe, G.M., Antioxidant Properties of Carotenoids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 385, 20-27, 2001.
35. Rao, A.V., Agarwal, S., Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review. *Nutr res*, 19, 199-203, 1999.
36. Rousseau, E.J., Davison, A.J., Dunn, B., Protection by beta-carotene and related compounds against oxygen-mediated cytotoxicity and genotoxicity: implications for carcinogenesis and anticarcinogenesis. *Free radic biol med*, 13(4), 407-433, 1992.
37. Boileau, T., Clinton, S.K., Zaripheh, S., Monaco, M.H., Donovan, S.M., Erdman, J.W., Testosterone and Food Restriction Modulate Hepatic Lycopene Isomer Concentrations in Male F344 rats. *J Nutr*, 131(6), 1746-1752, 2001.
38. Mashima, R., Witting, P.K., Stocker, R., Oxidants and antioxidants in atherosclerosis. *Curr opin lipidol*, 12(4), 411-418,2001.
39. Stahl, W., Sies, H., Lycopene: a biologically important carotenoid for humans *Arch biochem biophys*, 336, 1-9, 1996.

40. Djuric, Z. and Powell, L.C., Antioxidant capacity of lycopene-containing foods. *Int. J. Food Sci.s Nutr.*, 52, 143-149, 2001.
41. Tawfik, E.M., Lycopene content in raw tomato varieties and tomato products. Food and Nutrition Division, California State University, Amerika, 2002.
42. Stahl, W., Sies, H., Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans. *J Nutr* 122: 2161-6, 1992.
43. Hakala, S.H. and Heinonen, I.M., Chromatographic purification of natural lycopene. *J. Agric. Food Chem.*, 42, 1314-1316, 1994.
44. Hadley, C.W., Miller, E.C., Schwartz, S. and Clinton, S.K., Tomatoes, lycopene, and prostate cancer: progress and promise. *Exp. Biol. and Med.*, <http://www.lycored.com/pdf/clinton.pdf> 2002.
45. Anonymous, Sample Prep CR&D Davis, Lycopene by Spectrophotometry, james_brooks@campellsoup.com 2000.
46. Şahin, K., Önderci, M., Sahin, N., Gürsu, M.F., Khachik, F., Küçük, O., Effects of lycopene supplementation on antioxidant status, oxidative stress, performance and carcass characteristics in heat-stressed Japanese quail. *J. Thermal Biology*, 31, 307-312, 2006.
47. Matos, H.R., Di Mascio, P., Medeiros, M.H., Protective effect of lycopene on lipid peroxidation and oxidative DNA damage in cell culture. *Arch Biochem Biophys*, 1, 56-59, 2000.
48. Halliwell, B., Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence? *Lancet*, 344, 721-724, 1994.
49. Ames, B.N., Gold, L.S., Willett, W.C., Causes and prevention of cancer. *Proc natl acad sci*, 92, 5258-5265, 1995.
50. Pincemail, J., Free radicals and antioxidants in human disease. Favier AE., Cadet J., Kalyanaraman B., Fontecave M., Pierre J-L., *Analysis of Free Radicals in Biological systems*. Basel, birkhäuser verlag, Switzerland, 83-98, 1995.
51. Mayne, S.T., Beta-carotene, carotenoids and disease prevention in humans. *FASEB J*, 10, 690-701, 1996.
52. Miller, N.J., Sampson. J., Candeias, L.P., Bramley, P.M., Rice-Evans, C.A., Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Lett.*, 384, 240-246, 1996.
53. Böhm, F., Edge, R., Burke, M., Truscott, T.G., Dietary uptake of lycopene protects human cells from singlet oxygen and nitrogen dioxide-ROS components from cigarette smoke. *J Photochem photobiol*, 64, 176-178, 2001.

54. Conn, P.F., Schalch, W., Truscott, T.G., Photochem, J., The singlet oxygen and carotenoid interaction. *Photobiol.*, 11(B), 41-47, 1991.
55. Matos, H.R., Di Mascio, P., Medeiros, M.H., Protective effect of lycopene on lipid peroxidation and oxidative damage in cell culture. *Arch biochem biophys*, 383, 56-59, 2000.
56. Wertz, K., Siler, U., Goralczyk, R., Lycopene: modes of action to promote prostate health. *Arch biochem biophys*, 430: 127-134, 2004.
57. Coyne, T., Ibiebele, T.I., Baade, P.D., Dobson, A., Mc Clintock. C., Dunn, S., Leonard, D., Shaw, J., Diabetes mellitus and serum carotenoids: findings of a population-based study in Queensland, Australia. *Am J Clin Nutr*, 82(3), 685-693, 2005.
58. Wang, L., Liu, S., Pradhan, A.D., Manson, J.E., Buring, J.E., Gaziano, J.M., Sesso, H.D., Plasma lycopene, other carotenoids, and the risk of type 2 diabetes in women. *Am J Epidemiol*, 164(6), 576-585, 2006.
59. Neyestani, T.R., Shariatzadeh, N., Gharavi, A., Kalayi, A., Khalaji, N., Physiological dose of lycopene suppressed oxidative stress and enhanced serum levels of immunoglobulin M in patients with Type 2 diabetes mellitus: a possible role in the prevention of long-term complications. *J Endocrinol Invest*, 30(10), 833-838, 2007.
60. Brazionis, L., Rowley, K., Itsiopoulos, C., O'Dea, K., Plasma carotenoids and diabetic retinopathy. *Br J Nutr*, 101(2), 270-207, 2009.
61. Kowluru, R.A., Chan, P.S., Oxidative stress and diabetic retinopathy. *Experiment. Diabet. Res.*, Volume 2007, Article ID 43603, doi:10.1155/2007/4360, 2007.
62. Baydas, G., Canatan, H., Turkoglu, A., Comparative analysis of the protective effects of melatonin and vitamin E on streptozotocin-induced diabetes mellitus. *J Pineal Res*, 32(4), 225-230, 2002.
63. Arslan, M., İliçin, G., Biberoglu, K., Süleymanlar, G., Ünal, S., (editors), *Diabetes Mellitusta Tanı ve Sınıflandırma*, 2. Baskı, s:2279-2282, 2003.
64. Vincent, A.M., Russell, J.W., Low, P. and Feldman, E.L., 1975. Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocrine Reviews*, 25, 612-628, 2004.
65. İlokova, H., editör. *Diabetes Mellitus*. İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi komisyonu Yayın No:4, İstanbul, 1997.
66. Kuzuya, T., Nakagawa, S., Satoh, J., Kanazawa, Y., Iwamoto, Y., Kobayashi, M., ve ark. Report of the committee on the classification and diagnostic criteria of diabetes mellitus. *Diabetes and Its Complications*, 15:203-210, 2001.

67. Baykal, Y., Gök, F., Erikçi, S., Demir, serbest radikaller ve oksidatif hasar. Sendrom, 14(1):94-100,2002.
68. Birrel, A.M., Heffeman, S.J., Anselin, A.D., McLennan, S., Church, D.K., Gillin, A.G., Yue, D.K., Functional and structural abnormalities in the nerves of type 1 diabetic baboons: aminoguanidine treatment does not improve nerve function. Diabetologia; 43: 110-116, 2000.
69. Pitkanen, O.M., Martin, J.M., Hallman, M., Akerblom, H.K., Sariola, H., Andersson, S.M., Free radical activity during development of insulin-dependent diabetes mellitus in the rat. Life Sci; 50: 335-339, 1992.
70. Gutteridge, J.M.C., Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. ClinChemistry, 41:1819-1828, 1995.
71. Niki, E., Antioxidant in relation to lipid peroxidation. Chem. Phy. Lipids. 44:227-253, 1987.
72. Placer, C.A., Cushman, L.L., Johnson, B.C., Estimation of product of lipid peroxidation (Malondyaldehyde) in biochemical systems. Anal. Biochem. 16:259-264, 1990.
73. Porter, N.A., Chemistry of lipid peroxidation. Meth. Enzymol. 105: 273-283, 1984.
74. Akkuş, İ., Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza Yayınevi, s:1-3, 32-37, 46-48, Konya, 1995.
75. Mercan, U., Toksikolojide serbest radikallerin önemi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, s:15: 91-96, Van, 2004.
76. Krishnan, N., Kodrik, D., Antioxidant enzymes in Spodoptera littoralis (Boisduval):Are they enhanced to protect gut tissues during oxidative stres, Journal of Insect Physiology, 52: 11-20, 2006.
77. Powell, S.R., The Antioxidant Properties of Zinc. Journal of Nutrition 130, 1447S-1454S, 2000.
78. Woods, J.R., Canavaugh, J.L., Narkus, E.P., Plessinger, M.A., ve Miller, R.K., The Effect of Labor on Maternal and Fetal Vitamins C and E. American Journal of Obstetrics Gynecology, 185, 5-10, 2002.
79. Brezezinska, Slobodzinska, E., Erythrocyte Osmotic Fragility Test as the Measure of Defence Against free Radicals in Rabbits of different age. Acta Veterinaria Hungarica, 49(4), 413-419, 2001.
80. Koçyigit, A., Erel, Ö. ve Gür, S., Effects of Tobacco Smoking on Plasma, Selenium, Zinc, Copper and Iron concentrations and related Antioxidative Enzyme Activities. Clinical Biochemistry, 34, 629-633, 2002.

81. Kleczkowski, M., Klucinski, W., Sikora, J., Zdanowicz, M. ve Dziekan, P., Role of the antioxidants in the protection against oxidative stress in cattle-nonenzymatic mechanisms (Part 2). *Polish Journal of Veterinary Science*, 6(4), 301-308, 2003.
82. Armstrong, D.A., *Methods in Molecular Biology*. Volume 108, Toronto, Humana Press, 1998.
83. Cherubini, A., Ruggiero, C., Polidori, M.C., Mecocci, C., Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radical Biology & Medicine*. 39: 841-852, 2005.
84. Young, I.S., Woodside, J.V., *Antioxidants in health and disease*. *J Clin Pathol* 54:176-186, 2001.
85. Taysi, S., Polat, F., Gul, M., Sari, R.A., Bakan, E., Lipid peroxidation, some extracellular antioxidants and antioxidant enzymes in serum of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology International*. 21 (5): 200-204, 2002.
86. Taysi, S., Gul, M., Sari, R.A., Akcay, F., Bakan, N., Oxidant/antioxidant status in serum of 34 patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Chem Lab Med*. 40:684-688, 2002.
87. Memisogullari, R., Taysi, S., Bakan, E., Capoglu, I., Antioxidant status and lipid peroxidation in type II Diabetes Mellitus. *Cell Biochem. Func*. 21: 291-296, 2003.
88. Abou-Seif, M.A., Youssf, A., Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients. *Clinica Chimica Acta* 346, 161-170, 2004.
89. Aydın, A., Orhan, H., Sayal, A., Ozata, M., Sahin, G., Isimer, A., Oxidative stress and nitric oxide related parameters in type II diabetes mellitus: effects of glycemic control. *Clinical Biochemistry* 34, 65-70, 2001.
90. Akkus, I., Kalak, S., Vural, H., Caglayan, O., Menekse, E., Can, G., Durmus, B., Leukocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and serum and leukocyte vitamin C levels of patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Chim Acta*. 244:221-227, 1996.
91. Chao, J.C., Huang, C.H., Wu, S.J., Yang, S.C., Chang, N.C., Shieh, M.J., Lo PN., Effects of betacarotene, vitamin C and E on antioxidant status in hyperlipidemic smokers. *J Nutr Biochem*. 13: 427-434, 2002.
92. Jialal, I., Grundy, S.M, Effects of combined supplementation with alpha-tocopherol, ascorbate, and beta carotene on low-density lipoprotein oxidation. *Circulation*. 88:2780- 2786, 1993.
93. Demir, R., editör. *di Fiore Histoloji Atlası Fonksiyonel İlişkiler*. Palme yayınları, s: 251-259, Ankara 2001.

94. Afshar, S., Farshid, A.A., Heidari, R., Ikhanipour, M., Histopathological changes in the liver and kidney tissues of Wistar albino rat exposed to fenitrothion, *Toxicology and Industrial Health*, 24: 581-586,2008.
95. Vural, N., Toksikoloji, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, s:504-512, 541-552, 555-560, Ankara, 2005.
96. Fetoui, H., Makni, M., Garoui, E.M., Zeghal, N., Toxic effects of lambdacyhalothrin, a synthetic pyrethroid pesticide, on the rat kidney: involvement of oxidative stress and protective role of ascorbic acid, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62: 593-599, 2010.
97. Russel, K., Roussel, A.J., Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*;23: 403-426, 2007.
98. Renugadevi, J., Prabu, S.M., Naringenin protects against cadmium-induced oxidative renal dysfunction in rats, *Toxicology*, 256: 128-134, 2009.
99. Rafey, M.A., Lipkowitz, M.S., Leal-Pinto, E., And Abramson, R.G., Uric acid transport, *Current Opinion in Nephrology Hypertension*, 12(5): 511-516, 2003.
100. Onat, T., Emerk, K., Sözmen, E.Y., İnsan Biyokimyası, Palme Yayıncılık, s:40, 2002.
101. Henson, D.E., Block, G., Levine, M., Ascorbic acid Biologic functions and relation to cancer. *J Natl Cancer Inst*; 83:547, 1991.
102. Braun, J.P., Lefebvre, H.P., Kidney function and damage. In: Kaneko, J.J., Harvey, J.W, Bruss, M.L. (Editors). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6th Edition, San Diego, Elsevier; 485-528, 2008.
103. Bakker, E., Ion sensors: current limits and new trends. *Anal. Chim. Acta* 393, 11–18, 1999.
104. Tietz, N.W., In *Textbook of Clinical Chemistry* (1st edn), p. 1810, 1986.
105. Sena, F.S., Effect of high creatinine content on the Kodak singleslide method for creatinine. *Clin. Chem.* 34, 594–595, 1988.
106. Madaras, M.B. and Buck, R.P, Miniaturized biosensors employing electropolymerized permselective films and their use for creatinine assays in human serum. *Anal. Chem.* 68, 3832–3839, 1996.
107. Hamadeh, H.K., Jayadev, S., Gaillard, E.T., Huang, Q., Stoll, R., Blanchard, K., Chou, J., Tucker, C.J., Collins, J., Maronpot, R., Bushel, P., Afshari, C.A., “Integration of clinical and gene expression endpoints to explore furan-mediated hepatotoxicity”, *Mutation Research*, 549: 169-183, 2004.
108. Ateşşahin, A., Karahan, İ., Türk, G., Gür, S., Yılmaz, S., Çeribaşı, A.O., Protective role of lycopene on cisplatin-induced changes in sperm

characteristics, testicular damage and oxidative stress in rats, *Reproductive Toxicology*, 21: 42-47, 2006.

109. Schmatz, R., Mazzanti, C.M., Spanevello, R., Stefanello, N., Gutierrez, J., Corrêa, M., da Rosa, M.M., Rubin, M.A., Schetinger, M.R.C., Morsch, V.M., Resveratrol prevents memory deficits and the increase in acetylcholinesterase activity in streptozotocin-induced diabetic rats, *European Journal of Pharmacology*, 610: 42-48, 2009.
110. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., Protein measurement with the folin reagent”, *Journal of Biological Chemistry*, 19: 265-275, 1951.
111. Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, *Analytical Biochemistry*, 95: 351-358, 1979.
112. Marklund, S., Marklund, G., Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase, *European Journal of Biochemistry*, 47: 469-474, 1974.
113. Aebi, H., Catalase in vitro, *Methods in Enzymology*, 105: 121-126, 1984.
114. Paglia, D.E., Valentine, W.N., Studies on the quantitative and qualitative characterization of glutathione peroxidase, *Journal Laboratory Medicine*, 70: 158-165, 1987.
115. Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B., Glutathione-S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation, *The Journal of Biological Chemistry*, 249: 7130-7139, 1974.
116. Nilhan, N.A., Streptozotosin ile Diyabet Oluşturulan Rat Karaciğer Dokusunda Oksidatif Stres, Paraoksonaz-1 Aktivitesi ve Stobadin’in Koruyucu Etkisinin Araştırılması, *Uzmanlık Tezi*, Gazi Üniversitesi, Ankara, 2007.
117. Farzami, B., Ahmadvand, D., Vardasbi, S., Induction of insulin secretion by component of urtica dioica leave extract in perfused islets of langerhans and its in vivo effects in normal and streptozotocin diabetic rats. *J Ethnopharm*, 89, 47-53, 2003.
118. Eddouks, M., Lemhadri, A., Michel, J.B., Caraway and caper: potential antihyperglycaemic plants in diabetic rats. *J Ethnopharm*, 94, 143-148, 2004.
119. Dönmez, S., Deneysel Diyabetik Nefropatide İrbesartan ve Antioksidan Tedavilerin Karşılaştırılması, *Uzmanlık Tezi*, Trakya Üniversitesi, Edirne, 2008.
120. Altan, N., Dinçel, A.S, Koca, C., Diabetes Mellitus ve Oksidatif stres. *T Biyo Derg*, 31, 51-56, 2006.

121. Van Dam, P.S., Van Asbeck, B.S., Erkelens, D.W., Marx, J.J., Gispen, W.H., Bravenboer, B., The role of oxidative stress in neuropathy and other diabetic complications. *Diabetes Metab Rev*, 11(3), 181-192, 1995.
122. Seçkin, Ş., Alptekin, N., Koçak-Toker, N., Uysal, M., Lipid peroxide and glutathione levels in the liver and its subcellular fractions of alloxan diabetic rats. *Horm Metab Res*, 25, 444-445, 1993.
123. Simmons, R.A., Development origins of diabetes: The role of oxidative stress. *Free Radic Biol Med*, 40, 917-922, 2006.
124. Bramley, P.M. Is lycopene beneficial to human health. *Phyt Rev*, 54(3), 233-236, 2000.
125. Suat, T., Oleik Asit ile Oluşturulan Akut Akciğer Hasarı Modelinde Likopenin Etkileri, Uzmanlık Tezi, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Elazığ, 2008.
126. Düzgüner, V., Küçükgül, A., Erdoğan, S., Çelik, S., Şahin, K., Effect of lycopene administration on plasma glucose, oxidative stress and body weight in streptozotocin diabetic rats. *J App An Res*, 33, 17-20, 2008.
127. Dixon, Z.R., Shie, F.S., Warden, B.A., Burri, B.J., Neidlinger, T.R., The effect of a low carotenoid diet on malondialdehyde-thiobarbituric acid (MDA-TBA) concentrations in women: a placebo-controlled double-blind study. *Am J Coll Nutr*, 17, 54-58, 1998.
128. Rao, A.V., Agarwal, S., Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review. *Nutr res*, 19, 199-203, 1999.
129. Breinholt, V., Lauridsen, S.T., Daneshvar, B., Jakobsen, J., Dose-response effects of lycopene on selected drug-metabolizing and antioxidant enzymes in the rat. *Cancer letters*, 154(2), 201-210, 2000.
130. Chandra Mohan, K.V.P., Nagini, S., Dose-response effects of tomato lycopene on lipid peroxidation and enzymic antioxidants in the hamster buccal pouch carcinogenesis model. *Nutrition research*, October, 23(10), 1403-1416, 2003.
131. Briviba, K., Schna, K., Rechkemmer, G., Bub, A., Supplementation of a diet low in carotenoids with tomato or carrot juice does not affect lipid peroxidation in plasma and feces of healthy men. *J. Nutr.*, 134, 1081-1083, 2004.
132. Duzguner, V., Kaya, S., Effect of zinc on the lipid peroxidation and the antioxidant defense systems of the alloxan-induced diabetic rabbits. *Free radical and biology medicine*, 42(10), 1481-1486, 2007.
133. Gupta, S.K., Trivedi, D., Srivastava, S., Joshi, S., Halder, N., Verma, S.D., Lycopene attenuates oxidative stress induced experimental cataract development: An in vitro and in vivo study. *Nutrition*, 19: 794-799, 2003.

134. Atessahin, A., Yılmaz, S., Karahan, Çeribası, A.O., Karaoglu, A., Effects of lycopene against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. *Toxicology* 212: 116-123, 2005.
135. Evans, J.L., Goldfine, I.D., Maddux, B.A. ve Grodsky, G.M., Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and β -cell dysfunction. *Diabetes*, 52, 1-8, 2003.
136. Ceriello, A., Motz, E., Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease the common soil hypothesis revisited. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 24, 816-823, 2004.
137. Agarwal, S., Rao, A.V., Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. *CMAJ*, 163, 739-744, 2000.
138. Qasim, N., Mahmood, R., Diminution of oxidative damage to human erythrocytes and lymphocytes by creatine: possible role of creatine in blood. *PLoS One*.10: 1–21, 2015.
139. Selmanoğlu, G., Karacaoğlu, E., Kılıç, A., Koçkaya, E.A., Akay, M.T., Toxicity of food contaminant furan on liver and kidney of growing male rats. *Environ Toxicol.* 27: 613–622, 2012.
140. Ulusu, N.N., Sahilli, M., Avcı, A., Canbolat, O., Ozansoy, G., Ari, N., Bali, M., Stefek, M., Stolc, S., Gajdosik, A., Karasu, Ç., Pentose phosphate pathway, glutathione dependent enzymes and antioxidant defense during oxidative stress in diabetic rodent brain and peripheral organs: effects of stobadine and vitamin E. *Neurochem Res*, 28, 815-823, 2003.
141. Cho, N.H., Park, C., Effects of dimethyl methylphosphonate (DMMP) and trimethylphosphate (TMP) on spermatogenesis of rat testis, *Yonsei Medical Journal*. 35 (2), 198-208, 1994.
142. Tootian, Z., Monfared, A.L., Fazelpour, S., Shybani, M.T., Biochemical and structural changes of the kidney in mice exposed to phenol. *Turk J Med Sci.*;42: 695–703, 2012.
143. Li, F., He, X., Niu, W., Feng, Y., Bian, J., Xiao, H., Acute and sub-chronic toxicity study of the ethanol extract from leaves of *aralia elata* in rats. *J Ethnopharmacol*; 175: 499–508, 2015.
144. Palabiyik, S.S., Erkekoglu, P., Zeybek, N.D., Kizilgun, M., Baydar, D.E., Sahin, G., Giray, B.K., Protective effect of lycopene against ochratoxin A induced renal oxidative stress and apoptosis in rats. *Exp Toxicol Pathol.* 65: 853–861, 2013.
145. Ramesh, B., Viswanathan, P., Pugalendi, K.V., Protective effect of Umbelliferone on membranous fatty acid composition in streptozotocin induced diabetic rats. *Eur J Pharmacol.*566: 231–239, 2007.

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Yozgat'da doğan Betül ÜNAL, orta ve lise öğrenimini sırasıyla Atatürk İlköğretim Okulu ve Sürmeli Lisesi'nde tamamlamıştır. 2007 yılında kazandığı Bozok Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü 2011 yılında başarıyla bitirmiştir.

2013 yılında yüksek lisans eğitimine Bozok Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Doç. Dr. Dilek PANDIR danışmanlığında başlamıştır.

2015 Ocak ayı itibariyle Yüksek Öğrenim Kredi ve Yurtlar Kurumu Yozgat Öğrenci Yurt Müdürlüğüne atanmıştır.

İletişim Bilgileri:

Adres : Çağanoğlu Mah. Cemil Çiçek Cad. No:292 66100 YOZGAT

Telefon : (354) 242 10 48

Faks : (354) 242 10 59

E-posta : betulunal66@gmail.com