

T1315

T.C
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DİABET'İN MERKEZİ SİNİR SİSTEMİ
KOMPLİKASYONLARINA
KÜKÜRTDİOKSİT'İN (SO₂) ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ
VURAL KÜÇÜKATAY

Akdeniz Üniversitesi Merkez Kütüphanesi



T00405

TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr.Aysel AĞAR

Bu araştırma Akdeniz Üniversitesi araştırma fonu tarafından 96.01.0103.01 proje numarası ile desteklenmiştir.
Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir.

ANTALYA, 1997

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
Merkez Kütüphanesi

TEŐEKKÜR

Tezimin gerçekleŐtirilmesinde Antalya BüyükŐehir Belediyesi imkanlarından yararlanmamızı sağlayan sayın evre Sağlığı Őube müdürü Yüksek Ziraat Mühendisi Hatice LEVENT ve Őube müdür yardımcısı Jeofizik Mühendisi Serdar ŐAHİN'e, yine tezimin deneysel aŐamasında değerli tecrübe ve bilgilerinden yararlandığım sayın Hava Kirliliği Kontrol Sorumlusu Meteoroloji Mühendisi İlkey ÖNCEL, sayın Hava Kirliliği Kontrol Sorumlu yardımcısı Gıda Mühendisi Hakan AK ve Antalya BüyükŐehir Belediyesi Hava Kirliliği Kontrol İstasyonunun tüm çalıŐanlarına teŐekkür etmeyi bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1-3
GENEL BİLGİLER	4-38
GEREÇ VE YÖNTEMLER	39-43
BULGULAR	44-59
TARTIŞMA	60-66
ÖZET	67-68
İNGİLİZCE ÖZET	69-70
KAYNAKLAR	71-88

GİRİŞ VE AMAÇ

Hava kirliliği Avrupa ve Amerika'da 50 ve 60'lı yıllarda, Türkiye'de ise 1980 yılından beri büyük şehirlerde sorun olmaya başlamıştır (156, 170.). Tanım olarak hava kirliliği ısınmada, ulaşımda ve fabrikalarda kullanılan yakıtlardan is, duman, toz, gaz, ve buhar halinde çıkan zararlı maddelerin, hava bileşiminde (%78.09 Nitrojen, % 20.95 Oksijen, % 0.01 Karbondioksit ve çok küçük hacimlerde diğer gazlar) bulunan normal maddelere eklenmesidir (56)

Fiziksel ve parçacık halindeki hava kirleticileri, insan sağlığı ve ekolojik dengeden açısından önem taşıyan hava kirliliğine neden olurlar. Fiziksel kirleticiler arasında en önemlileri, kükürtoksitler, azotoksitler, karbonmonoksit ve ozon gibi maddelerdir. Parçacık halindeki kirleticiler ise başlıca asbest, kömür tozu, çeşitli ağır metaller, polenler ve virüslardır.

Araştırmalar, Türkiye'de pek çok şehrimizde gözlenen hava kirliliğinin pek çok nedenlerinden birinin, çeşitli maksatlarla kullanılan fosil yakıtların yanmasıyla açığa çıkan kükürtdioksit (SO_2) olduğunu göstermiştir. Özellikle kış aylarında en yüksek düzeye ulaşan SO_2 solunum yollarından kolaylıkla absorbe olarak dolaşım ile diğer organlara (karaciğer, böbrek, kalp, beyin gibi) ulaşır (2, 61). Proteinlere bağlanarak dolaşımda uzun süre kalabilen bu gazın kan ve doku konsantrasyonu solunum havasındaki miktarı ile pozitif ilişki göstermektedir (9).

SO_2 ile ilgili ilk araştırmalar, özellikle kardiyovasküler ve solunum hastalıkları olan yaşlı kişilerde ölümlere neden olduğunun saptanması ile başlamıştır (73, 56, 128). Şu ana kadar yapılan çalışmalar SO_2 'in ıslak yüzeylerde mukozalarda ($pH=7$), sülfid (SO_3^-) ve (bi) sülfid (HSO_3^-) şeklinde bulunduğunu göstermiştir. SO_3^- mitokondrial bir enzim olan sülfid oksidaz

iki elektron kaybederek sülfata (SO_3) dönüşür ki bu reaksiyon SO_3^- temel detoksifikasyon reaksiyonudur. SO_3^- peroksidazlar ile bir elektron oksidasyonuna uğrarsa sülfürtrioksit anyon radikali (SO_3^-) oluşmaktadır. Bu radikalın diğer radikaller olduğu gibi bilinen oldukça toksik etkileri vardır. Ayrıca aerobik şartlarda, bu radikal moleküler oksijen ile reaksiyona girerek yine güçlü bir okside edici radikal olan peroksil radikalini (O_3SOO) oluşturur. Dolayısı ile SO_2 başta üst solunum yollarında ve diğer organlarda oluşturduğu toksik etkilerinden, bu reaktif serbest radikaller sorumlu tutulmuştur (45, 73, 102, 132, 134).

Diabetes Mellitus, yaşamı tehdit eden bir çok komplikasyonları ile karakterize, endokrin bir hastalıktır. Özellikle diabetin görsel sistem üzerindeki en önemli etkisi retinopati ve katarakttır. Retinopati nedeni olarak, bir taraftan kan-retina bariyer bozukluğu, öte yandan da nörosensorial fonksiyonları etkileyen biokimyasal değişiklikler gösterilmiştir. Genel olarak kabul edilen bir hipoteze göre diabetin erken döneminde kapiller yatakta oluşan, aşırımonenzimatik protein glikolizasyonu (90, 175), fazla polyol (34, 71, 99), hemodinamik değişiklikler (146, 151), pigmentte bağlı epitel değişiklikleri (21), arasıdonik asit metabolizma değişiklikleri gibi faktörlerin sürekli etkisi retinopatinin nedenidir.

Son araştırmalar çeşitli durumlarda miktarı artan serbest radikallerin, oldukça önemli doku hasarına neden olduğunu ortaya koymuştur. Nitekim TBARS tayini yapılarak yürütülen deneysel çalışmalarda, diabetik sıçan retinalarında lipid peroksidasyon düzeyi normal sıçanlara oranla % 40 daha fazla bulunarak, retinopatideki hücre hasarından kısmen bu durumun sorumlu olduğu savunulmuştur. Bu nedenle, hasarın önlenmesinde de serbest radikalleri bağlayıcı ve temizleyici maddeler kullanılmaktadır (135, 187).

Diabetin etiopatogenezinde serbest radikallerin çok önemli role sahip olması, bir serbest radikal üreticisi gibi davranan SO_2 'in diabet komplikasyonlarının seyrini hızlandırıcı etkisi

olabileceğini düşündürmektedir. Hava kirliliğinin, sağlıksız teknolojik gelişmelere sıklıkla eşlik ettiği dikkate alındığında, eğer bu etki söz konusu ise SO₂'e maruz kalan diabetik insanlarda diabet komplikasyonlarının oluşmasının hızlanması ve özellikle görsel vasküler yatağın öncelikli etkilenmesi bir halk sağlığı sorunu olarak karşımıza çıkabilecektir. Ancak SO₂'in solunum sistemi, beyin ve karaciğer fonksiyonlarına etkisi incelenmesine karşın görme üzerine etkisi ve diabet komplikasyonlarına olumsuz katkısı incelenmemiştir. Bu konuya açıklık getirmek amacı ile tertiplediğimiz bu deneysel çalışmada SO₂ ve diabetin ayrı ayrı ve birlikte görsel sistem üzerine etkisi incelenmiştir.

Görsel sistem üzerine olan nörotoksik etkilerin insandakine benzer oluşu (9) nedeni ile sıçanların kullanıldığı çalışmamızda SO₂'in diabetin veya her ikisinin görsel sistem üzerine olan etkilerini incelemek için görsel uyarılma potansiyelleri (VEP) tercih edilmiştir. Zira bu potansiyellerin görsel sistem değişikliklerini gösteren güvenilir bir parametre olması yanında, ayrıca çok duyarlı olduğu da ifade edilmiştir. (81, 142). VEP'ler retinopati öncesi bir takım değişiklikleri göstererek erken teşhise yardımcı olabilen iyi bir araçtır.

GENEL BİLGİLER

DİABETES MELLİTUS

Diabetes Mellitus, pankreasın insülin salgısının mutlak veya nisbi yetersizliği veya insülin etkisinin yetersizliği (insülin rezistansı) ile oluşan, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki bozukluklar ile karakterize endokrin ve metabolik bir hastalıktır. Bazı ülkelerde yapılan çalışmalarda, toplum içerisindeki prevalansının %1-2 olduğu tahmin edilen diabet, akut ve geç komplikasyonlarıyla insan yaşamını tehdit eden önemli bir hastalıktır (181).

Diabetes Mellitus Sınıflandırması:

Dünyada en çok kabul gören diabet sınıflandırması, Dünya Sağlık Örgütü tarafından belirlenen ve aşağıdaki tabloda özetlenmiş olan sınıflandırmadır (136).

Tablo 1: Diabetes Mellitus sınıflandırılması

- | |
|---|
| <p>A.Primer</p> <ol style="list-style-type: none">1. İnsüline bağımlı Diabetes Mellitus (IDDM, tip1)2. İnsüline bağımsız Diabetes Mellitus (NDDM, tip2)a)Şişman olmayan insüline bağımsız Diabetes Mellitus (NDDM, tip2)b)Şişman insüline bağımsız Diabetes Mellitus (NDDM, tip2)c)MODY (Maturity-onset diabetes of the young = Genç hastada gözlenen erişkin tipi diabet) <p>B.Sekonder</p> <ol style="list-style-type: none">1.Pankreas hastalıkları2.Hormonal anormallikler3.ilaç veya kimyasal maddelerin neden olduğu Diabetes Mellitus4.Çeşitli Genetik sendromlar |
|---|

Tablodan da görüldüğü gibi Diabetes Mellitus temel olarak primer ve sekonder olarak ikiye ayrılır. Primer ve Sekonder diabet de kendi arasında altgruplara ayrılmıştır. Diabet olgularının büyük kısmını primer diabetdeki iki ana grup (Tip 1 insüline bağımlı diabet, Tip 2 insülininden bağımsız diabet) oluşturur.

A) Primer Diabetes Mellitus :

1-Tip 1 Diabet: İnsüline bağımlı diabet, gençlikte başlayan diabet, juvenil diabet veya ketoza yatkın diabet diye de adlandırılır. İnsülin salgılayan Beta hücrelerinde (β) harabiyet vardır ve doğal olarak insülin salgılanması hastalığın ilk devreleri hariç yoktur. Glisemiye kontrol altına almak, ketozu önlemek, hastanın yaşamını sürdürmek için dışarıdan insülin verilerek mutlak insülin eksikliğinin giderilmesi gerekir. Tip 1 Diabet, genel popülasyonda % 0.5 oranında bulunurken diabetik popülasyonun % 10-20'sini oluşturur. Genellikle kalıtımla yakın bir ilişki göstermez.

2-Tip 2 Diabet : İnsülininden bağımsız diabet, veya ketoza dirençli diabet olarak da isimlendirilir. Diabetin bu tipinde Beta (β) hücrelerinde insülin yapılması ve depolanması genellikle bozulmamıştır. İnsülin salınımı hafif azalmış, normal veya artmış bulunabilir. Temel bozukluk insülin reseptör sıklığının azalması (receptor down regulation) veya hücre içi reseptör sonrası insülin etkinliğinin azalmasıdır. Tip 2 Diabet, OBEZ (şişman) ve OBEZ olmayan insüline bağımsız diabet olarak iki büyük gruba ayrılır (136, 181).

B) Sekonder Diabetes Mellitus:

1) Pankreas hastalıklarına bağlı diabet : Genelde alkoliklerde görülür. Kronik pankreatit nedeni ile β hücre harabiyeti temel etyolojik sebeptir.

2) Hormonal anormalliklere bağlı diabet : Diabetojenik hormonların aşırı salınması ile görülen diabet türüdür. Örneğin; Cushing Sendromu, feokromasitoma, glukagonoma ve pankreatik somatostatinoma durumlarında bu tür diabet görülür.

3) İlaç veya kimyasal maddelere bağlı diabet : Diabetojenik etkili ilaçlar (tiazid diüretikler, fenitoin, glukokortikoidler, oral kontraseptifler, beta blokörler, kalsiyum antagonistleri gibi) ile tedavi esnasında ortaya çıkan diabetir.

4) Genetik sendromlara bağlı diabet : Diabetik durum yaratan birçok sendrom vardır.

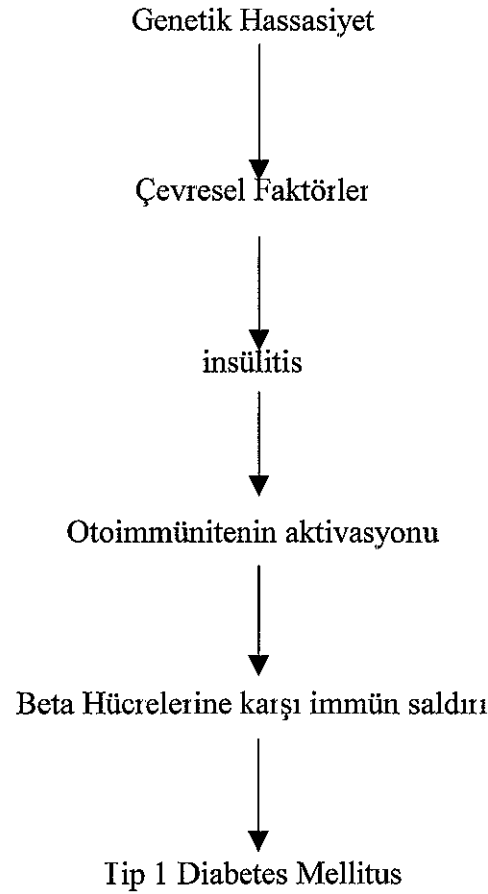
Bu sendromlar kendi karakteristik hastalık özelliklerinin yanında prereseptör, reseptör, postreseptör düzeyde insülin rezistansı nedeniyle hiperglisemiye neden olurlar (136,181).

DIABETES MELLİTUS'UN PATOGENEZİ

Tip 1 Diabetin Patogenezi :

İnsüline bağımlı diabette hastalık belirtileri β hücrelerinin büyük çoğunluğunun harap olmasıyla ortaya çıkar. β hücrelerindeki bu tahribatın detayları henüz büyük ölçüde

anlaşılammıştır. Buna rağmen otoimmün bir hastalık olarak kabul edilen Tip 1 Diabet patogenez basamaklarının şu sırayı izlediği düşünülür:



Tip 1 Diabetin oluşmasında kalıtımın rolü olduğu düşünülüyorsa da bu kalıtımın mekanizması henüz tam olarak ortaya çıkarılamamıştır (180, 181). Son yıllarda diabetin bu tipine yakalanma riskinin genetik olarak 6. kromozomun kısa kolu üzerindeki MHC geni ile ilişkili olduğu yönünde bulgular elde edilmiştir (11, 12, 112, 149, 161, 165, 169, 173). Genetik yatkınlığa çeşitli çevresel faktörlerin de katılımıyla hastalık gelişimi daha kolay tetiklenebilir. Genetik ve çevresel faktörlerin beraberliği tip 1 diabet gelişiminde en önemli olaydır. Tip1 diabetin etyolojisinde çevresel faktörlerin varlığı monozigot ikizlerde görülen uyumsuzluk sonucu ileri sürülmüştür. Bu çevresel faktörlerin β hücrelerini enfekte edebilme yeteneğine sahip virüsler olduğuna inanılır (33, 122, 149, 167, 181).

Ayrıca çeşitli nitroso bileşikleri ve güçlü bir sıçan zehiri olan vacor gibi çeşitli beta sitotoksinlerin, diabet oluşturduğu gözlenmiştir (84, 101). Tip 1 diabetin otoimmün bir hastalık olduğunun bir diğer kanıtı da teşhis konulması ile beraber yüksek yüzdelerde bulunan adacık hücre antikorlarıdır. Saptanabilmiş önemli antikorlar aşağıda sıralanmıştır.

- a) Adacık hücre antikorları (ICA=Islet cell Antibodies), b)İnsülin antikorları,
- c)Glutamik asit dekarboksilaz(GAD) antikorları, d)İnsülin reseptör antikorları,
- e)Karboksipeptidaz antikorları

Ayrıca yeni çalışmalarda proinsülin, 38000 kilo daltonluk insülin sekretuar granül membran proteini, GLUT-2, yüzey proteini P69, ısı şoku proteini 65' in de otoantijen görevi yaptıkları ve bunlara karşı antikor geliştiği tesbit edilmiştir (23, 50, 54, 98, 111, 121, 164, 180)

Tip 2 diabet patogenezi :

Tip 2 diabet hakkında bilinenler henüz çok azdır. Genetiksel bir geçiş özelliği varsada; tip 2 diabetin nadir görülen ve genetik bir bozukluğa bağlı MODY (Maturity-onset diabetes of the young = Genç hastada gözlenen erişkin tipi diabet) tipi gibi bazı özel türleri hariç, bu genetiksel geçişin özellikleri henüz belli değildir (10, 177, 181).

- 1) **Hedef dokuda insüline direnç (insülin direnci) :** Tip 2 diabette genel bir bulgudur. Tip 2 diabette plazma insülin düzeyi genellikle normal bireylerden yüksek düzeylerde olmasına rağmen plazmanın yükselmiş glukoz düzeyini normale indiremez. İnsüline olan rezistans

özellikle iskelet kası, yağ dokusu ve karaciğer'de gözlenir. İnsülin rezistansı temel olarak 3 düzeyde gözlenir.

- a) Reseptör öncesi
- b) Reseptör düzeyde
- c) Reseptör sonrası düzeyindedir (13, 63, 72,106,141).

2) Normal olmayan insülin sekresyonu (87, 158, 176).

DİABETES MELLİTUS KOMPLİKASYONLARI

Diabetes Mellitus komplikasyonlarını akut ve kronik olarak 2 büyük gruba ayırabiliriz.

AKUT KOMPLİKASYONLAR

1) Diabetik ketoasidoz 2) Hiperosmolar hiperglisemik non-ketotik koma 3) Laktik asidoz, 4) Hipoglisemi

KRONİK KOMPLİKASYONLAR

1) Vasküler komplikasyonlar : a) Mikrovasküler komplikasyonlar b) Makrovasküler komplikasyonlar

2) Diabet'in göz komplikasyonları : a) Konjunktiva; b) İridopati c) Katarakt d) Diabet retinopatisi : 1) Basit (Background) Retinopati, 2) Proliferatif retinopati

3) Diabet nöropatisi :a) Mononöropati b) Simetrik periferik nöropati c) Otonom nöropati

4) Diabet nefropatisi : Diabetteki nefropatik lezyonlar 3 tiptir. a) Diffüz Glomeruloskleroz, b) Nodüler glomeruloskleroz c) Eksudatif lezyon

5) Diabetik Ayak

6) Diabet Dermopatisi

7) Diabet Gastroenteropatisi (106,180,181)

KOMPLİKASYONLARIN PATOGENEZİNDEKİ MEKANİZMALAR

Diabetes Mellitus'un çeşitli komplikasyonlarının gelişiminden sorumlu mekanizmalar, birden fazladır. Bazı önemli mekanizmalar şunlardır.

1) Proteinlerin enzimatik olmayan glukolizasyonu : Enzimatik glukolizasyon, proteinlerin translokasyon sonrası geçirdikleri normal fizyolojik bir süreçtir. Eğer bir protein yüksek glukoz konsantrasyonu ile karşılaşır, glukoz bir enzime ihtiyaç göstermeksizin proteine bağlanabilir (176). Yarılanma ömrü kısa olan proteinler (gün veya haftalar gibi), yüksek glukoz yoğunluğunda kimyasal olarak geri dönüşümlü glukolizasyon ürünlerine çevrilirler. Bu olay, glukozun proteindeki NH_2 gruplarıyla reaksiyona girmesi ile başlar. Hızlı olan bu birleşmenin neticesinde, labil Schiff bazları oluşur. Bu bazlar haftalar içerisinde yavaş olarak stabil bir bileşik olan, Amadori (Ketoamin türevi) ürününe döner. Bu reaksiyonlar kan glukozu yüksek olduğu müddetçe devam eder ve kan glukozunun normale indirilmesi bu ürünlerinde azalmasına neden olur (11, 88, 106, 175).

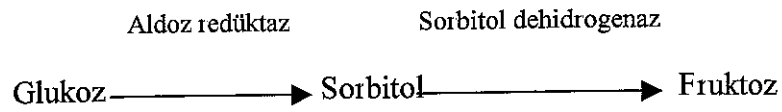
Myelin, tubulin, kollojen gibi uzun ömürlü yapısal proteinler ise daha yavaş olarak, Amadori sonrası glukolizasyona uğrayarak ileri Glukolizasyon Son Ürünleri'ne (Advanced Glycosylation End Product = AGE) dönüşürler (131). AGE'ler hiperglisemi süresince giderek

artarak damar endoteli, ekstraselüler matriks, glomerüler bazal membran gibi, çeşitli yerlerde birikerek patolojik süreçleri başlatırlar (90). AGE'ler her türlü endojen proteazlara karşı dirençlidirler, özellikle de glukolizasyona maruz kalmış glomerüler bazal membran pepsin, tripsin ve çeşitli endojen glomerüler proteazlara direnç gösterir (19, 94, 159).

AGE'ler çeşitli hücrelerde bulunan spesifik reseptörleri ile çeşitli patolojik süreçlerin başlamasında etkilidirler. Bu reseptörlerin bulunduğu en önemli hücreler monosit-makrofaj ve endotel hücreleridir. AGE'lerin makrofajlardaki spesifik reseptörü ile ilişkiye geçmesi makrofajlardan Tümör Nekrozis Faktör-alfa (TNF-alfa), interlökin-1 (IL-1) ve insülin-like Growth Faktör (IGF) gibi çeşitli sitokinlerin sentezi ve salınımını artırır. Bu sitokinlerde tip IV kollajen sentezini, endotel, mezengial ve düz kas hücre proliferasyonunu artırır. AGE'lerin endotel'deki reseptörü ile etkileşmesi ise, endotel hücrelerinde koagülasyon yönünden önemli uyarıların ortaya çıkmasına neden olur. Bu etkileşme sonucu koagülasyon faktörlerinden, IX, X ve VIIa düzeyi artar ve buna paralel olarak trombomodülin aktivitesinde azalma görülür. Trombomodülin, antikoagülan Protein kinaz C aktivasyonunu önleyen önemli bir doku faktörüdür. Böylece damar endotelinde antikoagülan aktivitenin azalması koagülasyon riskinin artmasına neden olur. Ayrıca AGE'lerin endoteldeki reseptörüne bağlanması endotel'den, bilinen en potent vazokonstriktör ajan olan Endotelin salınımına neden olur. Neticede vazokonstriksiyon ve fokal tromboz vasküler tıkanmayı daha da artırır.

AGE'lerin DNA ve diğer nükleer proteinlerde de bağlanma bölgeleri olabilir. Nitekim yapılan çalışmalarda, diabetli hastaların endotel ve lenfosit DNA'larında kırılmalar saptanmış olup, AGE'lerin DNA ile formasyonu neticesinde, mutasyon hızının arttığı ileri sürülmüştür (97, 106).

2) Anormal Polyol-inositol Metabolizması : Hiperglisemiye bağı olarak sorbitol ve myoinositol metabolizmasındaki değişiklikler, diabette gelişen çeşitli komplikasyonlardan sorumlu tutulmaktadır (182). Sorbitol bir alkol-şeker bileşiği olup, periferik sinirler, lens, perisitler, böbrek papillası gibi çeşitli dokularda bulunan Aldoza redüktaz enzimi ile glukozdan sentezlenir. Sorbitol ise Sorbitol dehidrogenaz enzimi tarafından fruktoz'a dönüştürülür (34, 67, 99,106).



Myoinositol ise bir siklik heksahidroksi-heksanol olup sorbitol gibi glukozdan sentezlendiği gibi besinlerle de alınabilir. Hücre içinde dışına göre daha fazla bulunan myoinositol ayrıca hücre içinde glukoz-6-fosfat'tan da sentez edilebilir. Yüksek glukozkonsantrasyonunda aldoz redüktaz aktivitesi artarken, sorbitol dehidrogenaz aktivitesi azalır. Bunun neticesinde hücre içi sorbitol düzeyi artarken myoinositol düzeyi azalır. Çok yüksek su çekici özelliği olan sorbitol, biriktiği dokularda hücre ödemi ve hasarına neden olur (71, 106, 181).

Glukoz ve myoinositol yapısal olarak birbirlerine benzerler, bu yapısal benzerlik nedeni ile glukoz hücrelerdeki myoinositol taşıyıcısı için, myoinositol ile yarışarak myoinositol'ün hücre içine geçmesini önler ve hücre myoinositol düzeyi hiperglisemiye paralel olarak düşer. Hücre içi myoinositol düzeyinin düşmesi, fosfoinositid metabolizmasını bozarak fosfotidilinositol-4-fosfat (PIP4) ve fosfotidilinositol-4,5-düzeylerini azaltır. Hücre içi sinyal transdüksiyonunda önemli olan bu metabolizmanın bozulması protein kinaz C aktivitesinde ve Na^+/K^+ ATPaz aktivitesinde azalmaya neden olur. Na^+/K^+ ATPaz özellikle sinirlerde enerji

ihtiyacının karşılanmasında önemli bir enzimdir. Bu enzimin aktivitesinin azalması hem bu ihtiyacın giderilmesinde bir sorun yaratırken, hemde hücreye, Na^+ bağımlı myoinositol transportunun azalmasına neden olur. Azalmış Na^+/K^+ ATP'az aktivitesi sinir hücresinde Na artışına neden olur ki bu da sinir hücresi uyarılmasının güçleşerek ileti hızının yavaşlaması anlamına gelir. Ayrıca hücre içi düzeyi artan Na bir yandan da lokal ödeme neden olarak aksoglial ayrılmaya (axoglial disjunction) sebebiyet verir. Sinir sistemi dışında retina, glomerül ve aorta'da da sorbitol'ün arttığı, myoinositol azalışına bağlı olarak Na^+/K^+ ATP'az aktivitesinin azaldığı rapor edilmiştir (70,105,106,113,181).

Ayrıca diabette hiperglisemiye bağlı olarak Sinir Büyüme Faktörü-1 (NGF-1), İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1 (IGF-1) gibi çeşitli sitokinlerin sentez, salınım ve bunlara sinir sisteminin verdiği cevaplarda bozulmuştur. Bu büyüme faktörleri Schwann hücrelerinin gelişimi ve yenilenmesi için gerekli olduğu gibi organdan nörona; retrograd aksonal transport içinde gereklidir. Hiperglisemi bu büyüme faktörlerinin işlevlerini bozarak normal nörotrofiyi olumsuz yönde etkilerler (106).

3) Hemodinamik değişiklikler : Diabetik mikroanjyopati komplikasyonlarının gelişmesinde ileri sürülen bir mekanizmada Hemodinami hipotezine dayanır. Tip 1 diabetin ortaya çıkmasından kısa bir süre sonra kan akımı artmaktadır. Bu hastalarda kan basıncı normal olduğundan, kan akımının artması damar direncinin azalmasına bağlı olabilir. Bu şekilde kapiller yatakta artan hidrostatik basınç, proteinlerin, makromoleküllerin ve immün komplekslerin damar dışına filtrasyonunun artmasına neden olur. Bu durum mezengial ve bazal membran elemanlarının sentezlenmesi için uyarı niteliği taşımaktadır, bu da giderek kapiller geçirgenliğin artmasına, kapiller geçirgenliğin artması ise bahsedilen olumsuz gelişmelerin devam etmesi anlamına gelmektedir. Bu hipotez diabette gelişen renal hastalığın bazı

disfonksiyonlarını izah edebilse de, genel anlamda diabet mikroanjiopatisini izah etmekte yetersiz kalmaktadır (95).

4) Otoimmünite : Son yıllarda diabet nöropatisinin gelişiminde, otoimmünitenin ağırlıklı olduğu görüşü önem kazanmıştır. Diabette gelişen nöropati her ne kadar klasik bir otoimmün süreç gibi görünmese de çeşitli bulgular bu patolojik süreçte immünitenin önemli rol oynadığını göstermektedir (12, 23, 27, 50, 54, 98, 106, 164, 178).

DIABETES MELLİTUS VE SERBEST RADİKALLER

Daha öncede belirtildiği gibi, kan glukoz'unun yükselmesi ile karakterize metabolik bir hastalık olan diabette serbest radikaller önemli bir rol oynarlar (145, 157). Diabette oksidatif stresin arttığı yönünde her geçen gün yeni yeni kanıtlar elde edilmektedir. Sadece diabet komplikasyonlarının gelişiminde değil, diabetin ortaya çıkmasında da serbest radikallerin rolü hakkında çeşitli hayvan deneylerinden elde edilen kanıtlar vardır (139). Örneğin non-stabil bir madde olan alloksan deney hayvanlarına verildiğinde, hızlı bir şekilde dialurik aside dönmekte, bu da otookside olarak süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikallerini oluşturmaktadır (110, 145). Tüm vücutta artan serbest radikal düzeyi selektif olarak, antioksidan defans sistemi en zayıf hücreleri, yani pankreas'ın β hücrelerini tahrip etmekte ve neticede deneysel olarak tip 1 diabet geliştirmektedir (7, 24, 66, 148, 153, 189, 190). Bu insanda da sebebi ne olursa olsun artmış serbest radikal düzeyinin tip 1 diabete neden olabileceği sonucunu doğurmaktadır. Nitekim bu hayvanlara çeşitli antioksidan terapinin uygulanması pankreas β hücrelerini alloksanın toksik etkisinden korumakta ve deneysel alloksan diabetini tamamen engellemektedir (43, 57, 191).

Organizmanın varlığının ve bütünlüğünün korunması sağlıklı bir homeostatik düzenlemeye bağlıdır. Hücrel homeostasis'de bunun bir parçasıdır. Aerobik organizmalarda hücrel homeostasis için belkide en önemli tehdit unsuru reaktif oksijen ürünleridir. Normal oksijen metabolizması esnasında oluşan bu ürünler, vital selüler yapılar ve fonksiyonlar üzerinde önemli hasarlar meydana getirebilirler. Fakat aerobik organizmalar oksijenin metabolizması esnasında oluşan bu zararlı ürünlerin etkilerinden kendilerini koruyacak çeşitli defans mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bu koruyucu mekanizmalara antioksidan defans sistemi denir. Bu sistem kompleks bir ağ şeklindedir ve ancak bu ağın bireylerinin birbirleri ile koordineli çalışması ile efektif bir korunma sağlanabilir (145).

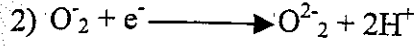
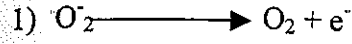
Bu antioksidan defans sistemlerinin mücadele ettiği radikaller, basitçe bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron bulundurabilen herhangi bir molekül (O_2^- , RS^- , CCL_3^-) olarak tanımlanabilir (82). Elektronlar atomların orbital (yörünge) denen bölgelerinde bulunur. Sözü edilen eşleşmemiş elektron ise bir orbitalde tek başına bulunan elektronu simgelemektedir. Serbest radikallerin bu şekilde açık bir bağ içermeleri kendilerini kimyasal olarak oldukça reaktif kılar. Bir serbest radikalın reaktivitesi onun yarı ömründen anlaşılabilir. Aşağıdaki tabloda önemli serbest oksijen radikallerinin yarılanma süreleri verilmiştir (Tablo 3). Bilindiği gibi en potent oksijen radikali olan hidroksil radikali (OH) en kısa yarı ömre sahiptir.

Tablo 2: Çeşitli serbest radikallerin yarı ömürleri.

Süperoksit	O_2^-	1×10^{-10}
Hidroksil	$\cdot OH$	1×10^{-9}
Alkoksil	$\cdot RO$	1×10^{-6}
Peroksil	$\cdot ROO$	1×10^{-2}
Tekil oksijen	O_2	1×10^{-6}
Moleküler oksijen	O	$>10^{-2}$

Oksijenin zararsız olan atmosferik formunun aerobik hücrelerde metabolizması esnasında oluşan en önemli serbest oksijen radikalleri, süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali (OH), hidrojen peroksit molekülü (H_2O_2), hidroperoksit (HO_2) ve tekil (Singlet) oksijen (1O_2)'dir. Ayrıca atmosferik bir bileşen olan Ozon (O_3) nitrik oksit radikali (NO) ve hipoklorik asit (HOCl) gibi çeşitli moleküllerde güçlü oksidan etkilere sahip moleküllerdir. Bu radikallerin kaynağı endojen ve eksojen olabilir (32, 145). Önemli serbest oksijen radikalleri hakkında aşağıda kısaca bilgiler verilecektir.

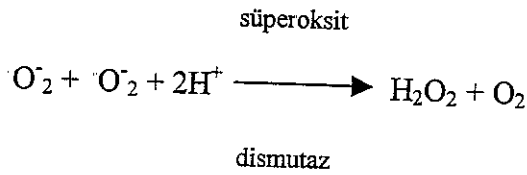
a) Süperoksit radikali (O_2^-) : Moleküler oksijen (O_2) dış orbitallerinde eşleşmemiş 2 elektron içeren ve bu şekli ile zararlı etkisi olmayan bir moleküldür. Bu moleküldeki orbitallerden birinin herhangi bir şekilde elektron alması ile süperoksit O_2^- oluşur. Her iki orbitalde elektron alırsa yine bir serbest radikal olan peroksil anyonu (O_2^{2-}) oluşur. O_2^- anyonu elektron fazlasını bir başka elektron alıcısına vererek tekrar moleküler oksijene (O_2) oksitlenebilir yani bir oksitleyici (redüktör) gibi davranabilir. Ya da önceden bahsedildiği gibi bir elektron daha alarak peroksil anyonunu (O_2^{2-}) oluşturur, bu da ortamdan iki proton (H^+) alarak hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşumuna neden olur (53, 82, 145).



Oksijenin metabolizması esnasında ilk oluşan radikal olan süperoksit anyonundan, hidroksil radikali (OH), hidrojen peroksit (H₂O₂), hidroperoksitler (HO₂) gibi diğer zararlı oksijen metabolizma ürünleri oluşur. Süperoksit anyonu hücre membranlarından, muhtemelen iyon kanallarını kullanarak hücre dışına çok az çıkıyor olsa da, membranları kolayca geçemediği için zararlı etkisi en az olan radikaldir (145). Çoğunlukla redüktif ve hidrojen peroksit (H₂O₂) kaynağı olarak görev yapar. Süperoksit anyonu aşağıdaki şekillerde çeşitli reaksiyonlara girerek ortamdan temizlenir. Bu temizlenme olayına dismutasyon adı verilmektedir. Süperoksit anyonu ortamdan spontan dismutasyon denilen, enzimatik olmayan bir yol ile temizlendiği gibi (31, 83),

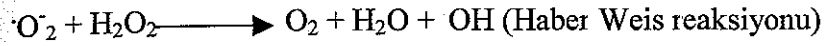


süperoksit dismutaz adlı enzim ile enzimatik olarak da dismutasyona uğratılır.

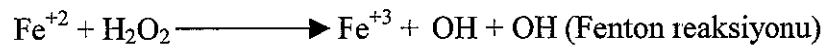


Süperoksit anyonunun enzimatik olarak temizlenmesi, spontan olarak temizlenmesinden yaklaşık 10⁴ kez daha hızlıdır. Süperoksit radikalının her iki şekilde de H₂O₂'e dönmesinin

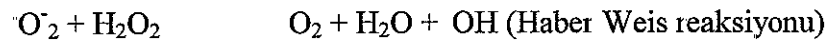
dışında, ayrıca süperoksit radikali ile H₂O₂ Haber Weis reaksiyonu adı verilen bir reaksiyon ile daha potent bir radikal olan hidroksil radikalini (OH) oluşturur (108, 145).



b) Hidroksil radikali (OH) : Bu radikal ilk olarak 1934 yılında Haber ve Weis adlı araştırmacıların kendi adlarıyla anılan gösterdikleri reaksiyonları ile ortaya konmuştur. Biyolojik önemi ise röntgen ışınlarına maruz kalma esnasındaki artan yapımı ile anlaşılmıştır (145). Bu radikal biyolojik sistemlerde rastlanılan en potent oksidan olarak bilinir. Yüksek bir reaktiviteye sahip olan hidroksil radikali, çeşitli moleküller ile kolayca reaksiyona girer. Hidroksil radikali hücrede çeşitli yollarla oluşuyor ise de, yaygın olarak 2 önemli biyolojik kaynağı vardır. Bunlardan ilki H₂O₂'nin, ortamdaki iki değerlikli demir (Fe⁺²) katalizörlüğünde Fenton reaksiyonu ile ayrışmasından oluşur (154).



İkincisi ise daha önce bahsedildiği üzere Haber Weis reaksiyonu iledir.



Ayrıca radikal tepkimesi sonucu oluşmuş organik bir radikal'de, H₂O₂ ile tepkimeye girerek OH radikali oluşumuna neden olabilir (145).



c) Hidrojen peroksit (H_2O_2) : Daha önce bahsedildiği gibi hidrojen peroksit temel olarak 2 süperoksit anyonunun spontan veya enzimatik dismutasyonu sonucu oluşur. Oksijen metabolizması esnasında oluşan bir ara üründür. Genellikle tek başına organik molekülleri okside etmek için yeteri kadar bir reaktivitesi olmasa da biyolojik olarak önemli bir oksidandır. Süperoksit anyonuna nazaran, biyolojik membranlardan, düşük elektriksel yükü ve non iyonize özelliklerinden dolayı daha kolay geçebilmesi (mitokondrial H_2O_2 sızmasında olduğu gibi) ve direkt kendinin sitotoksitesinden ziyade OH radikalleri gibi daha reaktif radikallerin üretimine katkıda bulunmasından dolayı önemli bir oksijen metabolizması ara ürünüdür. (8, 145)

d) Tekil (Singlet) oksijen (1O_2) : Enerji absorpsiyonu ile, oksijenin paylaşılmamış dış elektronları spinlerini değiştirebilirler. Oksijen bu şekilde uyarıldığında dış iki elektron ayrı ayrı veya aynı orbitali işgal edebilir. Oksijenin bu iki formuna tekil (Singlet) oksijen denir ve 1O_2 ile sembolize edilir (76, 145).

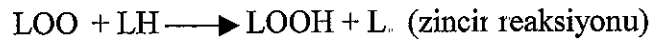
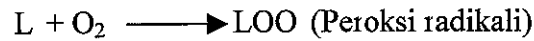
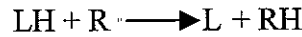
SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİNİN HÜCRELERE ETKİSİ

Serbest radikallerin hücre yapısı ve fonksiyonlarına zararlı etkileri olduğu bilinen bir gerçektir. Lipidler, proteinler, karbonhidratlar, nükleik asitler serbest radikaller için hedef teşkil eden yapılardır.

* Membran lipidlerine etkileri : Biyolojik membranlarda serbest radikaller tarafından başlatılan lipid peroksidasyonu başlama, yayılma ve sonlanma şeklinde 3 evrede incelenir (39, 74, 107).

1) Başlama : Peroksidasyon, serbest radikallerin poliansature yağ asitlerinin yan zincirindeki metilenik karbonlardan hidrojen atomu çıkarmak için yaptıkları atakla başlar. Bu atak sonucu karbon atomu üzerinde eşleşmemiş bir elektron oluştuğundan karbon merkezli bir radikal (L[•]) oluşur. Bu lipid radikalının bir çok akibeti vardır ancak aerobik hücrelerde en sık görülen olay bu radikalın moleküler düzenlenme ile konjuge dien şekline çevildikten sonra moleküler oksijenle reaksiyona girerek peroksi radikalini (LOO[•]) üretmesidir (74, 107).

2) Yayılma : Bu peroksi radikali, diğer bir peroksi radikali ile birleşebilir ya da membran proteinleri ile etkileşebilir. Fakat en önemlisi peroksi radikallerinin membrandaki komşu yan zincirlerden hidrojen atomlarını çıkarabilmeleri ve peroksidatif zincir reaksiyonunu yaymalarıdır. Böylece yan zincirlerden hidrojen atomlarının çıkarılması ile her defasında lipid hidroperoksitleri (LOOH) ve yeni bir peroksi radikali (LOO[•]) oluşmaktadır. Peroksidasyon bir kere başladıktan sonra otokatalitik olarak yayılabilmekte ve yüzlerce yağ asidi zinciri lipid hidroperoksitlerine çevrilebilmektedir (39, 62, 74, 107).



Lipidhidroperoksitlerde (LOOH) yıkılarak LO, LOO[•], gibi radikaller ve aldehitlerin (örn. Malonildialdehit = MDA, 4-hidroksi nonenal gibi) oluşmasına neden olurlar. Lipidhidroperoksitlerin yıkılması sonucu oluşan aldehitlerde oldukça toksik ve biyolojik olarak aktif moleküllerdir. Örneğin 1-6-araşidonik asidin bir yıkım ürünü olan 4-hidroksi nonenal hem sitotoksik hemde mutajenik bir aldehittir (62, 108). Bir diğer lipidhidroperoksit yıkım ürünü aldehit olan malonildialdehit, membran komponentlerinin polimerizasyonuna ve çapraz

bağlanmalarına neden olmakta ve deformabilite, iyon transportu, enzim aktivitesi, hücre yüzey determinantlarının agregasyonu gibi iç membranın bazı özelliklerini değiştirmektedir. Ayrıca diffüze olabildiğinden, DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girmekte ve mutajenik, genotoksik ve karsinojenik etki göstermektedir (60, 62, 65, 183).

3) Sonlanma : Demir ve bakır iyonları yada bu iyonların fosfat esterleriyle oluşturduğu basit şelatları (Fe^{+2} -ADP), hem , hemoglobin ve myoglobinide içeren bazı demir proteinleri, lipid hidroperoksitlerini bozarak peroksidasyonu sonlandırmaktadır. Bu kompleks bozunma reaksiyonlarının ürünleri etan, pentan gibi hidrokarbon gazları, ROOH, RCOOH, ROH ve RCHO gruplarını içeren kısa zincirli yağ asitleridir (62, 74).

Proteinlere olan etkileri : Lipidler kadar olmasa da, proteinlerde oksidatif reaksiyonlardan etkilenirler. Bu oksidatif hasardan temelde etkilenen biomoleküller amino asitlerdir. Amino asitlerin oksidasyonu, proteinlerin önce fragmentasyonuna neden olmakta, sonra agregasyon gözlenmekte ve en sonunda da proteolitik etkiye duyarlı hale getirmektedir (126, 185, 191).

Karbonhidratlara olan etkileri : Çalışmalar, alfa-hidroksialdehit yapıya sahip karbonhidratların metal iyonlarının varlığında radikallerin etkisi ile ketoaldehid'lere dönüştüğünü göstermiştir (145). Yine çalışmalar bir hidroksil radikal temizleyicisi glukozun da dahil olduğu birçok monosakkarit'in hızlı bir şekilde otooksidasyona uğradığını göstermiştir (145,155).

Nükleik asit'lere olan etkiler : Oksidan streten DNA, özellikle de mitekondrial DNA'da zarar görmektedir (8, 103, 104, 145).

ANTIÖKSİDAN DEFANS SİSTEMİ

Antioksidan defans sistemi vücudu serbest radikallerin potansiyel zararlı etkilerinden koruyan sistemdir. Oksidatif strese karşı hücrel antioksidan sistemler en az serbest radikaller kadar çeşitlidir (96, 145). Radikallerin zararlı etkilerinden hücrelerin korunması için farklı radikallere karşı farklı defans sistemi öğelerinin ortaklaşa çalışmaları gerekmektedir. Ayrıca bu defans sisteminin öğeleri hücrelerde tek yerde lokalize değil, radikal hasarına maruz kalabilecek tüm stratejik bölgelerde bulunur. Örneğin süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi antioksidan enzimler sadece sitozolde değil hücre içi serbest radikal üretiminin en yoğun yapıldığı yer olan mitokondride de lokalize olmuştur. Ayrıca hücre içi bu antioksidan enzimler hücre dışı kompartmandaki antioksidan öğelerle de ilişki içerisinde. Böylece hem hücreiçi hem de hücre dışı radikal tehlikesi bu sistem öğelerinin kompleks olarak birbirleriyle koordinasyonu sonucu giderilir (114,115, 117, 145).

Araştırmacılar bu defans sistemini çeşitli şekillerde sınıflandırmışlardır. Aşağıdaki sınıflandırmaya ise en yaygın olarak kullanılmıştır. Buna göre antioksidan defans sistemleri ;

1) Primer defans :

- a) Antioksidan enzimler : SOD, CAT ve Peroksidazlar.
- b) Antioksidan biomoleküller : Vitamin E, vitamin C, vitamin A, glutatyon, ürik asit, bilirubin, glukoz, sistein gibi.

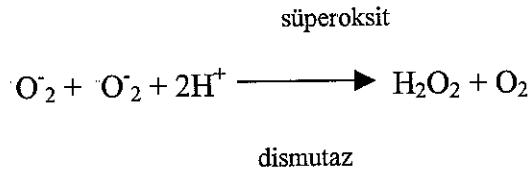
2) Sekonder defans :

a) Lipolitik enzimler (fosfolipazlar), b) Proteolitik enzimler (proteazlar, peptidazlar), c) DNA tamir enzimleri (endo ve egzonükleazlar, ligazlar) olarak sınıflandırılabilir (41, 47, 48, 145).

PRİMER DEFANS

Antioksidan enzimler :

Süperoksit dismutaz (SOD) : Süperoksit anyonunun hidrojen peroksite dismutasyonuna neden olan bir metalloenzimdir. Bu enzim hemen hemen tüm oksijenli solunum yapan canlılarda bulunur ve temel görevi süperoksit anyonunun dismutasyonudur.



Yapısında bulundurduğu metal iyonuna göre 3 tipi saptanmıştır (31).

1) Bakır/çinko süperoksit dismutaz (Cu/Zn-SOD) : Herbiri 16000 dalton olan ve bir polimerinde bir bakır, diğerinde bir çinko iyonu içeren, toplam 32000 dalton ağırlığında dimerik bir yapıya sahip bu enzim tüm ökaryotik hücrelerin sitozolünde ve eritrositlerde bulunur. Mitokondri matrisi dışında hücrenin her organelinde bulunabilir (47, 48).



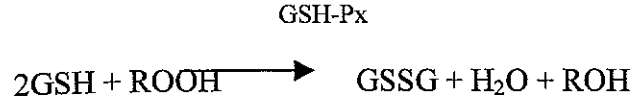
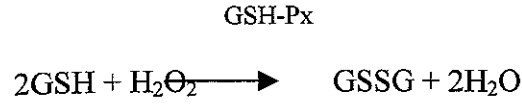
2) Mangan süperoksid dismutaz (Mn-SOD) : Herbiri yaklaşık 20000 dalton molekül ağırlığında ve birer Mn içeren dört alt birimden oluşmuş, tetramerik yapıdaki süperoksid dismutazdır. Toplam molekül ağırlığı 80000 dalton olan bu dismutaz mitokondri matriksinde lokalize olmuştur (41, 83).

3) Demir süperoksid dismutaz (Fe-SOD) : E.coli gibi kimi bakterilerin periplazmik bölgelerinde bulunmuştur. Eksojen süperoksid radikallere karşı korunma sağladığı düşünülmektedir (145).

Katalaz (CAT) : Antioksidan defans sistemin birdiğer enzimi olan katalaz, hidrojen peroksid'in suya ayrışmasını katalizler. Bu diğer bir antioksidan enzim olan glutatyon peroksidaz ile paylaşılan bir fonksiyondur. Her iki enzimde süperoksid anyonundan gerek spontan dismutasyon, gerekse de enzimatik dismutasyon sonucu oluşan hidrojen peroksidi suya çevirirler. Katalaz, 240000 dalton molekül ağırlığına sahip tetramerik, aktif bölgesinde 4 adet ferrihem grubu ihtiva eden bir hemoprotein enzimidir (37, 145, 171).

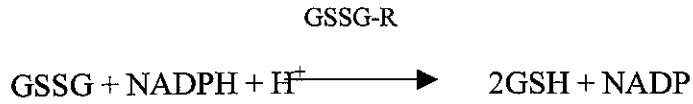


Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) . Birçok canlıda bulunan bu enzim, hücre içinde mitokondrial matriks ve sitozolde bulunur. Organik hidroperoksitlerin ve hidrojen peroksit'in redüksiyonunu katalizler (179).



Selenyuma bağımlı ve bağımsız olan iki tipi vardır (62,100).

Glutasyon redüktaz (GSSG-R) · Glutasyon redüktaz okside glutasyonu (GSSG) NADPH (β -nikotinamid adenin dinükleotid)'a bağımlı olarak redükte glutatyona katalizleyen bir flavoprotein'dir.



Glutasyon redüktaz'ın aktivitesi esnasında okside olan glutasyonu redükte ederek antioksidan defans sistemine yardımcı olur (96,119).

Antioksidan biomoleküller :

Vitamin E : Vitamin E doğada en yaygın olarak bulunan antioksidandır. 8 izomeri vardır. Tüm hücre lipid membranlarında, hücre içi organellerden membran lipid içeriği fazla olan endoplazmik retikulum ve mitokondri membranlarında bol miktarda bulunur (30, 96, 145).

Vitamin C (Askorbik asit) : Askorbik asit yapıca glukoz ve diğer altı karbonlu monosakkaritlere benzeyen kapalı formülü $C_6H_8O_6$ olan bir ketolaktondur. Vitamin E'den farklı olarak hidrofilik bir molekül olan askorbik asit, hücre içi ve dışı sıvılarda yaygın olarak bulunur ve bu özelliğinden dolayı sıvı ortamlarda daha iyi bir antioksidandır. İki türlü antioksidan etkinlik gösterir ;bunlardan ilki, askorbik asit direkt olarak süperoksit anyonu, hidroksil radikali gibi serbest radikallerle reaksiyona girerek onları temizler, ikinci olarak ise Vitamin E redüksiyonuna katkıda bulunarak antioksidan etki gösterir (20, 29, 82, 123).

Vitamin A (Karotenoidler) : Vitamin A'nın metabolik ön maddesi olan β -karoten bitki pigmentlerinden karotenoidlerin bir üyesidir. Uzun zincirli konjuge çift bağlara sahip olan β -karoten bu yapısı nedeni ile serbest radikalleri temizler ve peroksil radikalleri ile direkt olarak etkileşerek onları zararsız formlara çevirir (109).

Glutasyon (GSH) : Glutasyon hemen hemen tüm memeli hücrelerinde bulunan ve yoğun miktarda düşük molekül ağırlıklı tiol grubu içeren bir tripeptid (gama-glutamil, sistein, glisin)'dir. Kimyasal özelliklerinden dolayı efektif bir redüktan olarak çeşitli detoksifikasyon işlemlerinde görev alır. Redükte glutasyon direkt olarak süperoksit anyonu, hidroksil radikali ve çeşitli organik radikaller ile reaksiyona girip okside olabildiği gibi, vitamin A gibi çeşitli antioksidanların okside formdan redükte forma geçmesinde görev alarak antioksidan etkinlik gösterirler (3, 4).

* *Ürik asit* : Pürin metabolizmasının son ürünü olan ürik asit süperoksit anyonu, hidroksil radikali, oksidehemler ve peroksil radikallerini temizlemekte ve çeşitli geçiş metalleri bağlayarak, vitamin C'nin oksidasyonunu engelleyerek antioksidan aktivite göstermektedir (96).

Bilirubin : Hemoprotein katabolizmasının bir ürünüdür. Dolaşımında ve dokularda bulunur. Zincir kırıcı antioksidan olarak ve radikallerle direkt olarak reaksiyona girerek antioksidan etkinlik gösterir (145).

Transferrin ve Ferritin : Bu proteinler Fenton ve Haber Weis reaksiyonlarında katalizör olarak görev yapan metal iyonlarını bağlayarak antioksidan etkinlik gösterirler (145).

Seruloplazmin : Bakır bağlayıcı bir glukoproteindir. Her bir seruloplazmin molekülü 6 veya 7 bakır iyonu bağlama kapasitesine sahiptir (25, 75).

Selenyum : Selenyum'un antioksidan özelliği, temel olarak daha önce anlatılan antioksidan enzimlerden glutatyon peroksidazın aktif bölgesinde bulunuyor olmasından kaynaklanmaktadır. Hücrede en yaygın olarak çekirdekte tesbit edilmiştir (42, 58).

SEKONDER DEFANS

Sekonder defansın temel görevi oksidan stresin yarattığı hasarlı ve fonksiyonu bozulmuş çeşitli hücresel yapıları ortadan kaldırmaktır. Başlıca, Lipolitik ve proteolitik enzimler olarak iki gruba ayrılır (145, 152).

HAVA KİRLİLİĞİ VE KÜKÜRTDİOKSİD (SO₂)

Dünyanın hemen hemen her ülkesinde olduğu gibi, ülkemizde de ciddi bir sorun haline gelen hava kirliliği, özellikle bazı büyük kentlerimizde 1980 yılından beri insan sağlığını tehdit eden bir unsur haline gelmiştir (170). Tanım olarak hava kirliliği havanın bileşiminde bulunan maddelerin yoğunluklarının değişmesi ve normalde bulunmayan maddelerin bu bileşime, eklenmesidir (156). Çeşitli gazların belli oranlarını içeren hava, % 78.09 Nitrojen, % 20.95 Oksijen, % 0.03 karbondioksit ve çok küçük hacimlerdeki diğer gazların bir bileşimidir. İnsan sağlığı ve ekolojik denge açısından çok önemli olan hava kirleticileri fiziksel ve parçacık halindeki kirleticiler olarak ikiye ayrılır.

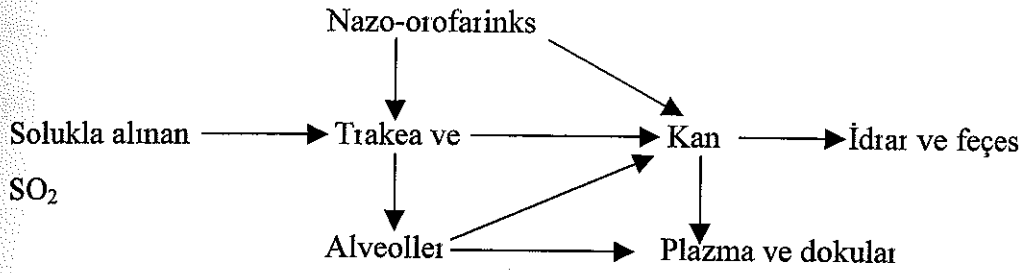
Fiziksel kirleticiler : Kükürt oksitler, azot oksitler, karbonmonoksit, ozon ve kurşun gibi maddelerdir.

Parçacık kirleticiler : Bu gruba başlıca asbest, kömür tozu, çeşitli metaller, polenler ve viruslar girmektedir (56, 128).

Hava kirleticilerinin temel kaynakları arasında ; Endüstri, bireysel ve kollektif ısınma ve motorlu araçların egzozları sayılabilir (56). Bilinen ilk hava kirliliği problemleri Belçika'da, 1954-1955 ve 1962-1963 kışlarında Londra'da yaşanmıştır. Sözü edilen yerlerde hava kirliliğine bağlı olarak çoğu yaşlı kronik akciğer ve kalp hastası olmak üzere 4000 den fazla ölüm bildirilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda hava kirliliğinin tehlike boyutlarına ulaştığı dönemlerde özellikle kalp ve, akciğer hastalıklarının sıklığında anlamlı artışlar saptanmıştır (14, 26, 55, 128). Büyük şehirlerde kentleşme ile birlikte başlayan hava kirliliğinin göstergesi olarak, özellikle kükürtdioksit SO₂ , karbonmonoksit, azotoksitler, ozon ve parçacık

halindeki kirlleticiler önem taşımaktadırlar. Bu maddelerin havadaki oranının ölçülmesi hava kirliliğini klasik göstergeleri olarak kabul edilir (56, 59). Hava kirliliğinden sorumlu ajanlar, organizmaya solunum sistemi, deri ve sindirim kanalı olmak üzere üç ayrı yoldan girmektedir. Lokal etkilerinin yanı sıra sistemik etkileri de yoğun olarak gözlenen bu kirleticilere karşı özellikle büyük ve sanayileşmiş kentlerde gerekli düzenlemeler yapılmadığı takdirde, yine bu sanayileşme ve kentleşme ile orantılı olarak maruz kalınma sonucu oluşturdukları patolojik sonuçlar giderek artacaktır.

Amerikan Çevre Koruma Birimi tarafından hava kirliliği kriterleri arasında değerlendirilen SO_2 vücuda daha çok üst solunum yollarından girer. İşaretli SO_2 ile köpekler, üzerinde yapılan SO_2 absorpsiyonu ile ilgili çalışmanın sonuçları aşağıdaki şekilde özetlenmiştir (61).



Şekil 1:İnspirasyon ile alınan işaretli SO_2 'in dağılımı.

İnspirasyon ile alınan SO_2 'nin büyük kısmı nazo-orofarinks bölgeden, dakikalarla ifade edilen bir sürede kana geçmekte oradan da dokulara dağılmakta ve inspirasyonla alınan SO_2 'nin bir kısmı soluk verme ile yeniden dış ortama verilmektedir. İnspirasyonla SO_2 'nin aynı zamanda trakea, bronşlar ve alveollere kadar inerek buradan da kan yoluyla dokulara dağıldığı ve vücuttan yavaş olarak atıldığı gösterilmiştir. Kan ve dokularda işaretli SO_2 ile yapılan çalışmalarda proteinlerdeki disülfid bağları ile SO_2 'nin reaksiyona girdiği ve S-sulfonat formunu oluşturduğu görülmüştür. S-sulfonat formu hemen hemen tüm canlılarda saptanmış ve

SO₂'e maruz kalmanın biolojik bir göstergesi olarak kullanılabilceği ifade edilmiştir. S-sulfonat ayrıca akciğerler dışında diğer doku ve organlarda da SO₂'in neden olduğu toksisiteyi gösteren iyi bir delildir (18, 26, 61, 116). Ortamdaki SO₂'in yoğunluğu iki ayrı şekilde ifade edilebilir.

- 1) Parts per million (ppm)
- 2) Metreküpde mikrogram cinsinden değer ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)

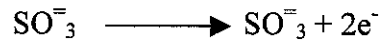
Bazı esansiyel aminoasitlerin yapısında bulunan kükürt (sulfür) bu aminoasitlerden dolayı bütün canlıların kapsamında vardır. Bu nedenle fosilizasyon sürecinde konsantre olduğu yakıtlarda (kömür, fuel-oil) bol miktarda bulunmaktadır. Konsantrasyon oranı yakıttan yakıtta değişebilen kükürt yanma sonucunda oksitlenerek renksiz, koroziv ve iritan bir gaz olan SO₂'e dönüşmektedir. Kentsel yaşamda ısınma amacı ile kullanılan işlenmemiş kömürler, ağır yağlar ve motorlu taşıt yakıtları SO₂ kirliliğinin temel kaynaklarını oluşturmaktadır (26, 56). Yaklaşık pH'deki sıvı ortamlarda SO₂ ;

- 1) Sülfid (SO_3^-)
- 2) (bi)sülfid (HSO_3^-)
- 3) Az miktarda da hidrate SO₂ olarak üç şekilde bulunur.

(bi)sülfid terimi yukarıdaki üç formunda genel isimdir (132). Vücuttaki (bi)sülfid'in tek kaynağı yukarıda anlatıldığı gibi sadece hava kirliliğinin bir komponenti olan SO₂'nin solunması değildir. Sülfid ve (bi)sülfidler yiyecek ve içeceklerin korunmasında yaygın olarak kullanılırlar ve bu yoldan oral olarak da alınabilirler. İnhalasyon ile alınan SO₂'nin sulu ortamlarda örneğin vücuda ilk giriş yeri olan akciğerlerde hızlı bir şekilde güçlü bir iritan olan sülfirik asit formuna döner ve bunu takiben (bi)sülfid formuna dönüşür (160). Vücuttaki (bi)sülfid'in tiol'ler, karbonil bileşikleri, alkenler ve nükleik asitlerle bilinen çeşitli kimyasal

reaksiyonlarının yanı sıra enzimatik reaksiyonlara da girdiği bilinir (45, 73, 160). Bu enzimatik reaksiyonlardan bir tanesi (bi)sülfit'in bir mitokondrial enzim olan sülfit oksidaz'ın kullandığı reaksiyondur.

Sülfit oksidaz



Bu reaksiyonda sülfit oksidaz (bi)sülfit'in iki elektron oksidasyonu ile sülfat'a (SO_3) dönüşmesini sağlamaktadır. Bu invivo (bi)sülfit detoksifikasyonunda temel enzimatik reaksiyondur (40, 45). (bi)sülfit'in bir diğer enzimatik reaksiyonu peroksidazlar ve prostoglandin H sentaz (hidroperoksidaz) tarafından gerçekleştirilir. Her iki enzimde bir elektron oksidasyonuna neden olarak sülfürtrioksit (SO_3^-) radikal anyonun oluşmasına neden olurlar (133, 134).



(bi)sülfit'in geçiş metalleri ile de otooksidasyona uğrayarak sülfürtrioksit (SO_3^-) radikaline dönüştüğü fakat bunun invivo olarak bir önem taşımadığı gösterilmiştir. Sülfürtrioksit (SO_3^-) radikalleri diğer tüm radikaller gibi biyolojik yapı ve fonksiyonlar üzerine zararlı etkileri olan oldukça reaktif ürünlerdir. Ayrıca aerobik durumda sülfürtrioksit (SO_3^-) anyonu moleküler oksijen ile reaksiyona girerek yine potent bir okside edici radikal olan peroksil (O_3SOO) radikalini oluşturur. Bu da aynen sülfürtrioksit (SO_3^-) anyonu gibi oldukça reaktiftir (45, 132). (bi)sülfit'e bağlı radikal üretimini ölçmede genelde iki metod kullanılır (ESR, HPLC) ve bu yöntemlerle (bi)sülfit'in (SO_3^-) hidrojen peroksit (H_2O_2) ile birlikte inkübasyonun hem sülfürtrioksit (SO_3^-) hem de hidroksil radikalini (OH) arttırdığı gösterilmiştir (162).

Özetle gerek inhalasyon ile alınan SO_2 'nin gereksede besin korunması amacı ile besinlerle birlikte alınan kükürtlü bileşiklerin vücutta (bi)sülfit formuna dönüştükten sonra sülfürtrioksit (SO_3^{\cdot}) radikali, peroksil (O_3SOO) radikali veya hidrojen peroksit (H_2O_2) ile girdiği reaksiyon sonucu yapımını arttırdığı hidroksil radikali (OH) ile organizmaya toksik etkileri vardır. Bu radikaller daha öncede bahsedildiği gibi bir çok biomolekülle etileşerek bir dizi patolojik sürecin gelişmesine neden olurlar. SO_2 '' bağlı bu radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonu ve radikal hasarına bağlı karsinogenik etkiler bir çok çalışmada gösterilmiştir (45, 132). SO_2 'nin bu direkt etkilerini yanı sıra nötrofil makrofaj aktivasyonu ve sayılarını arttırması sureti ile de zararlı olabilir. SO_2 solutularak yapılan bir çok hayvan ve insan deneylerinde, bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvısında makrofaj artışı saptanmıştır. Nötrofil ve monosit-makrofajlar, kanda ve dokularda membran hasarı oluşturan reaktif oksijen metabolitleri üretmektedirler. SO_2 'nin toksik etkilerinin bu şekilde indirekt radikal hasar ile olabileceği ileri sürülmüştür.

GÖRSEL SİSTEM

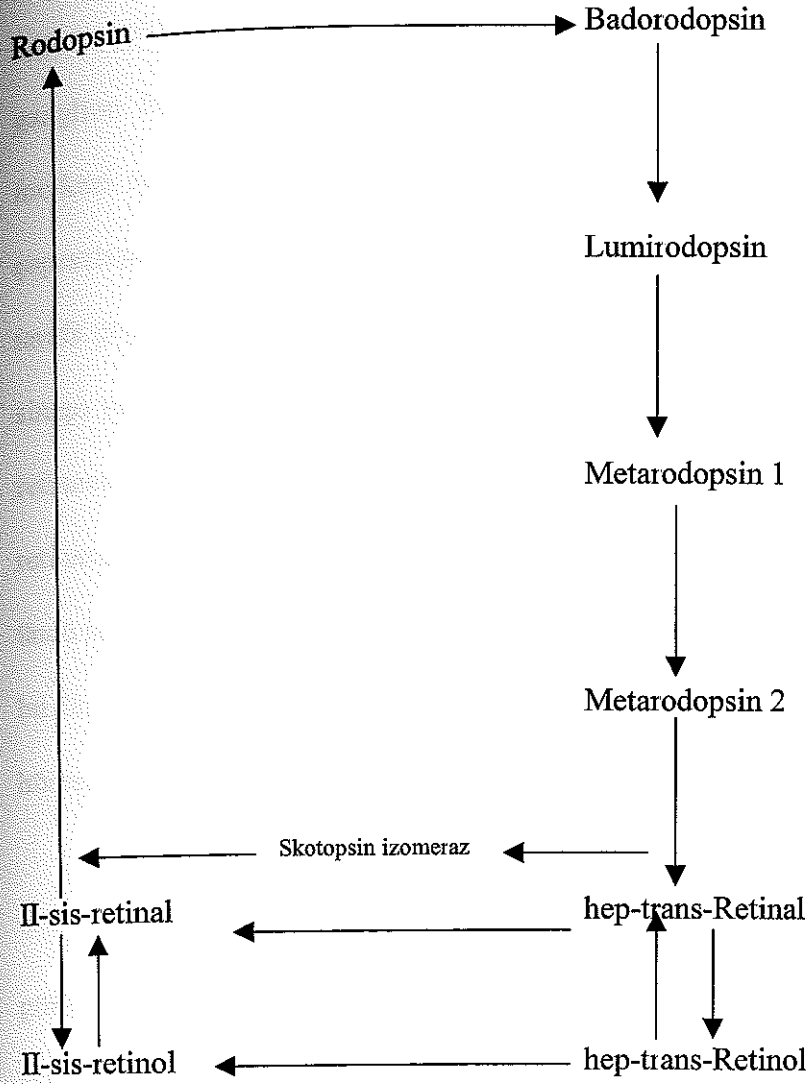
Görsel sistem sensör sistemlerin en kompleks olanıdır. İşitsel sinirin 30000 civarında lif içermesine karşın optik sinir yaklaşık 1 milyon lif içerir. Bu sayı spinal kordon içine giren tüm dorsal kök liflerinden daha fazladır. Vizüel sistemde bilginin işlenmesinde belkide en önemli görevi, göz yuvarlağının en iç tabakasını oluşturan ve Tunica nervosa adı da verilen retina yerine getirir. Retina renkli görmeden sorumlu koni hücrelerini ve temel olarak karanlıkta görmeden sorumlu çubuk hücrelerini (basiller) içeren gözün ışığa duyarlı bölümüdür. Çubuk ve koniler retinanın ışık reseptörleri olarak görev yapan ve ışık ile oluşturdukları sinyalleri retinadaki ardışık nöronlara, oradan da optik sinir liflerine ve nihayetinde ilgili beyin korteksine ileten yapılardır (100).

Retinada koni ve çubuklar gibi görme reseptörlerinin dışında 4 çeşit nöron daha bulunur.

- 1) Bipolar hücreler
- 2) Horizontal hücreler
- 3) Amakrin hücreler
- 4) Ganglion hücreler

Reseptörler, choroidea tabakasına en yakın olan yapılardır ve bipolar hücrelerle sinaps kurmuşlardır. Bipolar hücrelerde ganglion hücrelerle sinaptik birleşme kurarlar. Bipolar hücrelerde ganglion hücrelerle sinaptik birleşme kurarlar. Ganglion hücrelerinin aksonları görme sinirini oluştururlar. Horizontal hücreler çeşitli çeşitli reseptörler ve bipolar hücreler arasında amakrin hücreler ise bipolar hücreler ve ganglion hücreler ile sinaps yaparlar. Retinanın reseptör kısımları olan koni ve basiller ışığa maruz kaldıklarında parçalanmış kimyasal maddeler içerirler ve sonuçta gözden çıkan sinir liflerini uyarırlar. Basillerdeki kimyasal madde rodopsin'dir. Rodopsin, skotopsin proteini ile karotenoid bir pigment olan 11-

sis-retinal'in (retinen) bir kombinasyonudur. Konilerdeki kimyasal madde ise bileşimleri rodopsinden çok az farklı olan koni pigmentleridir (35, 77, 100)



Şekil 2 : Işık etkisinde Rodopsin döngüsü

Basillerde elektriksel değişimleri uyaran ve böylece görüntüyü merkezi sinir sistemine ulaştıran aktive olmuş rodopsinde denen metarodopsin 2'dir. Bu aktive rodopsin, koni ve basillerde karanlıkta sodyum iyonlarının sızmasına neden olan, fosfodiesteraz enzimin aktivasyonu yaparak, cGMP'nin parçalanmasına neden olur ve içeri doğru olan Na akımını azaltır. Böylece aktive reseptörlerdeki reseptör potansiyelinin, depolarize değil hiperpolarize karakterli olmasına neden olur (77). Bu şekilde uyarılma sonucu oluşan sinyaller en son iki tip

olduğu saptanan ganglion hücrelerine ulaşırlar Bunlardan ilki farklı türde konilerden gelen yanıtları toplayan, hareket ve üç boyutlu görme ile ilişkili olan büyük ganglion hücreleri (Magno=M), ikincisi ise tek tip koniden gelen girdiyi diğerinden gelen girdiden çıkaran renk, yapı ve şekille ilgili olan küçük ganglion hücreleri (Parvo=P)'dir (49, 64, 69). Bilindiği gibi bu ganglion hücrelerinin aksonları optik sinir liflerini oluşturur ve retinadan aldığı impulsu merkezi sinir sistemine yollarlar. Retinanın nazal yarımından gelen lifler optik kiazmada çaprazlaşarak, temporal yarımından gelen lifler ise optik kiazmada çaprazlaşma yapmadan karşı tarafa geçerler. Hem nazal hem de temporal lifler dorsal lateral genikülat nükleus'la (dLGN) sinaps yaparlar. Bu nükleus altı nükleer tabakadan oluşmuştur. 2 3 ve 5'inci tabakalar sinyalleri retinanın temporal bölgesinden alırken 1, 4 ve 6'ıncı tabakalar sinyalleri karşı gözün nazal retinasından alırlar (77). Ayrıca LGN da P hücrelerinden sinyalleri alan parvoselüler (3 ve 4 üncü tabakalar), M hücrelerinden sinyalleri alan magnoselüler tabaka (1 ve 2'inci tabakalar) ve bu iki tabaka arasında kalan muhtemelen dendritleri parvoselüler tabakaya uzandığı için, P hücrelerinden sinyalleri alan interlaminar tabaka olarak kabaca üç bölge ayırt edilir (64, 77,118).

dLGN iki temel işlev görür.

1) Optik traktusun görsel ilgisini, optik radyasyon (Genikülokalkarin traktus) yolu ile görme korteksine iletmek.

2) Görsel bilgi sinyallerinin ne kadarının kortekse geçeceğini kontrol etmek. Bu işi yaparken iki temel kaynaktan sinyal alır. İlki primer görme korteksinden lateral genikülat'a uzanan kortikofügal lifler, ikincisi ise mezensefalon'un retiküler alanlarından gelen lifler. Bunların uyarımı ile dLGN görsel bilginin kortekse geçişini kontrol eder.

Dorsal lateral genikülat nükleus'tan çıkan görsel bilgi sinyalleri optik radyasyon yolu ile oksipital lob'un kalkarin bölgesindeki primer görme korteksine ulaşır. Bu bölge altı tabakadan oluşmuştur. dLGN'tan gelen aksonlar genellikle 4 üncü tabakada sonlanır. Bu tabakada a, b, c-alfa, c-beta olmak üzere 4 farklı katmanlar ayırt edilir. dLGN'un Parvoselüler tabakasından

gelen aksonlar katman 4c'nin derin atmanında sonlanırken, magnoselüler tabakadan gelen aksonlar ise genellikle katman 4c'nin daha yüzeyel bölümlerinde sonlanır (64). Yine dLGN'daki interlaminer alanlardan gelen aksonlar ise, bu bölgede mitekondrial bir enzim olan sitokrom oksidaz'ı bol miktarda içeren ve renk damlaları (blob'lar) adı verilen bölgelerde sonlanırlar. Bu bölgenin renkli görme ile ilişkili olduğu tesbit edilmiştir (85, 91). Bunlara ek olarak görme liflerinin beynin farklı bölgelerine gittiği gösterilmiştir. Bunlar;

- 1) Muhtemelen sirkadyen ritmin kontrolünü sağlamak üzere hipotalamusun suprakiazmatik nükleus,
- 2) Gözün odaklanması ve pupillanın ışık refleksi için pretektal çekirdekler,
- 3) İki gözün hızlı doğrusal hareketlerini kontrol etmek için süperior kollikulus,
- 4) Vücudun bazı davranışsal işlevlerini kontrole yardım etmek için talamusun ventral lateral genikülat nükleus'udur (77).

Diğer duysal sistemlerin kortikal temsilinde olduğu gibi görme kortekside primer ve sekonder olmak üzere ikiye ayrılır.

Primer görme korteksi : Primer görme korteksi kalkarin fissür alanında her bir korteksin medial bölümünde oksipital kutba doğru uzanır. Bu bölge Brodmann'ın 17'inci kortikal alanı ile aynı yerdedir ve I. görme alanı (V-1) olarak adlandırılır. Aynı zamanda çizgili görünüşünden dolayı striat korteks de denir.

Sekonder görme korteksi : Bu alana görsel asosiyasyon alanları da denir. Primer görme korteksinin lateral, anterior, süperior ve inferiorunda uzanır. Görsel anlamların analizi için primer görme korteksinden gelen sinyallerin iletiildiği alanlardır. Primer görme korteksini çepeçevre saran Brodmann'ın 18'inci alanı 2.görme alanı (V-2) olarak adlandırılır. Ayrıca V-3, V-4 gibi yarım düzineden fazla uzak sekonder görme alanları vardır (77).

GÖRSEL UYARILMA POTANSİYELLERİ (VİSUAL EVOKED POTENTIALS)

İnsanlarda görsel sistemin fonksiyonel durumunu değerlendirmek için bir çok teknik kullanılmaktadır. Klinik alanda bunlardan en değerlilerinden biri, çeşitli görsel uyarı tipleri ile oluşturulan görsel uyarılma potansiyelleridir (VEP). Bu teknik ilk kez 1934 yılında Adrian ve Matthews tarafından tanımlanmıştır (188). Görsel uyarı olarak kısa süreli ve değişik şiddetlerde ışık (flaş) veya şekilli uyarılar kullanılır. Flaş ışığının kısa aralıklarla tekrarlanması ile kaydedilen potansiyellere Flaş Uyarılma Potansiyelleri (FVEP) denir. Şekli uyarı olarak genellikle TV ekranında oluşturulan siyah beyaz karelerden meydana gelmiş dama tahtası şeklinde uyarılar kullanılır. Siyah beyaz karelerin dönüşümlü olarak yer değiştirmesi ile kaydedilen potansiyellere Patern Değişmeli Görsel Uyarılma Potansiyelleri (PR-VEP) denir. Görsel uyarımı takiben ortaya çıkan dalgalar negatif (N), pozitif (P) olarak gösterilmektedirler. Dalgaların tepe latensleri ve tepeden tepeye genlikleri kullanılan uyarı türüne göre farklılıklar gösterir. Flaş uyarılarla kaydedilen VEP'lerde latensler daha kısa genlikler daha yüksektir. Kullanılan uyarının türünden başka veriliş sıklığı, süresi, şiddeti, elektrotların yerleşimi gibi faktörlerde latens ve genlikleri etkiler.

Klinik çalışmalarda PR-VEP'ler tercih edilmektedir. Zira bu potansiyeller görsel yol lezyonlarını göstermede daha duyarlı olup, ayrıca denekler arasında çok fazla değişkenlik göstermezler. PR-VEP'lerde yaklaşık 100 ms latenste oluşan P100 bileşeninin optik nöropatilerde (80) ve multipl sklerozda daha klinik semptomlar ortaya çıkmadan uzaması, bu hastalıkların erken teşhisi yönünden önemli bir parametre kabul edilmesine yol açmıştır.

Flaş uyarılma potansiyelleri insanlarda nadir kullanılmasına karşın hayvanlarda tercih edilen bir yöntemdir. Özellikle sıçanların görsel sisteminin, insanlarınkine benzemesi nedeniyle sıçanlardan kaydedilen VEP'lerin insan sağlığı üzerine olan olumsuz etkileri yansıtmada iyi bir model olduğu saptanmıştır (26). VEP'lerin nörotoksik çalışmalarda kullanılması, ilk olarak

karbonmonoksit'in (CO) merkezi sinir sistemine etkilerinin incelenmesi amacıyla başlamıştır.
Bugün bilinen 36 adet nörotoksik maddenin VEP'leri etkilediği tesbit edilmiştir (26,143).

GERELER VE YÖNTEM

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji ve Nöroloji Anabilim dalları Laboratuvarlarında gerçekleşen bu çalışmada ağırlıkları 200 ile 250 gr arasında değişen 56 adet erkek albino sıçan kullanıldı. 8 hafta boyunca, kontrol ile deney grubunda bulunan hayvanlar her kafeste tek bir sıçan olacak şekilde muhafaza edildiler. Bu süre boyunca hayvanlar, ticari sıçan yemi ve musluk suyu ile beslendi, günlük yem ve su tüketimi ile vücut ağırlıklarındaki haftalık değişiklikler kaydedildi.

Hayvanlar rastgele olarak;

1. grup, Kontrol (K)
2. grup, Küçükürtdioksit (SO₂)
3. grup, Diabet (D)

4. grup Diabet + SO₂ (DS) olmak üzere 4 gruba ayrıldı. 1. ve 3. gruba, tarafımızdan hazırlanmış ve aşağıda tarif edilmiş özel bir düzenekte 8 hafta boyunca günde 1 saat filtre edilmiş atmosfer havası solutulurken, 2. ve 4. gruba aynı düzenekte, aynı süre ve zamanda 10 ppm dozunda SO₂ içeren hava solutuldu.

Diabetin oluşturulması : Diabet oluşturulacak sıçanlar 24 saatlik açlığı takiben eter anestezisine alındı ve kuyruk venlerinden 5 mg/100 gr dozunda alloksan (Sigma Chemical Company No : A-8128) enjekte edildi. Enjeksiyondan 1 saat sonra hayvanlara 2 ml % 5'lik glukoz oral olarak verildi, 24 saat boyunca kafesteki şişelere normal su yerine, % 10'luk sükröz çözeltisi konuldu. Diabetik protokolün uygulanmasından 48 saat sonra, açlık kan glukozları kuyruk venlerinden alınan kanda Ames (Bayer Diagnostics GmbH No : 5426) marka Glukometer ile ölçülerek, diabetik hale gelenler deneyde kullanıldı. Ayrıca bu diabetik

hayvanlardan açlık kan glukozları 30 mM/L'den yüksek olanlara 0.5-1 ünite insülin enjeksiyonu yapıldı (6).

Filtre edilmiş atmosfer havası ve Kükürtdioksit solutulması : Filtre edilmiş atmosfer havası ve SO₂ solutulması amacı ile 100 x 50 x 50 boyutlarında altı yüzüde saydam, camdan akvaryum şeklinde bir düzenek yapıldı. Düzeneğin bir kenarlarına iki delik açılarak birinden filtre edilmiş atmosfer havası verildi diğerine, ise MRU-35 marka baca gazı ölçüm cihazının probu yerleştirildi. Diğer bir kenarına açılan delik ise düzeneğin içine SO₂ verilmesinde kullanıldı. Düzeneğin delikleri ile tüpler arasındaki bağlantılar plastik hortumlar aracılığı ile sağlandı. Ortama verilen SO₂'in düzeneğin her tarafına eşit konsantrasyonda dağılabilmesi için düzeneğe bir adet vantilatör eklendi. Hayvanlar konmadan önce düzeneğin iç ortamında 10 ppm SO₂ konsantrasyonu sağlanması için önceden gerekli ayarlar yapıldı, hayvanlar konulduktan sonraki düzeneğin iç ortamının 10 ppm'lik SO₂ konsantrasyonu ise manuel olarak ayarlandı ve bir saat boyunca MRU-35 marka baca gazı ölçüm cihazı ile sürekli izlenerek bu dozun sabit kalması sağlandı. Düzenek içine yerleştirilen silika el aracılığı ile soluk havasındaki su buharı, soda-lime aracılığı CO₂ uzaklaştırıldı. 1. ve 3. gruptaki hayvanlara ise aynı düzenekte aynı protokol uygulanarak sadece filtre edilmiş atmosfer havası solutuldu.

Görsel uyarılma potansiyellerinin kayıtlanması : Görsel uyarılma potansiyelleri hafif eter anestezisi altında EEG disk elektrotları (5 mm X Nihon Kohden) ile kaydedilmiştir. Aktif ve referans elektrotlar bregmanın 0.5 cm arkasına ve önüne yerleştirilmiştir (6). Toprak elektrodu ise hayvanların kuyrukları üzerine konulmuştur. Flaş uyarıcısı, Nihon Kohden SLS 2141 uyarıcısı ile hayvanların pupillalarının tümü aydınlatılacak şekilde 15 cm mesafeden uygulanmıştır. Flaş uyarısı saniyede bir kere ve en düşük şiddette (0.63 J) olacak şekilde ayarlanmıştır.

Görsel uyarılma potansiyelleri sağ ve sol göz olmak üzere monooküler uyarılarak kayıtlanmıştır. Deney süresince flaş verilmeyen diğer göz bir pamuk ve karbon kağıdı

yardımıyla kapatılmıştır. Bu esnada hayvanların vücut sıcaklıkları ısıtıcı yardımıyla 37 ile 38.5 °C arasında tutulmuştur (86).

Çalışmada kullanılan cihazın amplifikatörünün frekans limitleri 1-100 Hz, kazancı 20 MV/bölme, analiz zamanı 300 ms olarak ayarlanmıştır. FVEP'ler 128 kez ortalama alınarak kayıtlanmıştır. FVEP'lerin tekrarlanabilirliğini sağlamak amacı ile her kayıt en az iki kez yapılmıştır. izoelektrik çizginin üzerindeki potansiyel tepeleri (pikleri) negatif (N), altındakiler pozitif (P) kabul edilmiştir. Tepe latensleri stimulus artifaktından itibaren milisaniye (ms) birimiyle, birbirini izleyen ters polaritedeki dalgaların genlikleri tepeden-tepeye mikrovolt (μ V) birimiyle hesaplanmıştır.

Biokimyasal Yöntemler : Elektrofizyolojik parametrelerin ölçümünden sonra hayvanlar, 1 g/kg üretan anestezisi ile uyutularak thiobarbitirik asit reaktif ürünlerinin ölçümü için kan ve doku örnekleri alınarak deneye son verildi. Manuel yöntemle tüm grupların lökosit sayıları belirlendi.

Kanın, 3000 g devirde 15 dk santrifüj edilerek ayrılan plazması, açlık glukoz, total kolesterol, trigliserit, HDL, LDL ve VLDL kolesterol ölçümleri yapıldı. dokular ise thiobarbitirik asit reaktif ürünlerinin ölçümleri yapıldı. dek -68 Co'de Heraeusmarka D-7468 Balingen model derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

Kan thiobarbitirik asit reaktif ürünleri ölçümleri : Plazması alınmış paket eritrositler 3 kez fosfat NaCl tamponu (0.5 M KH_2PO_4 , 0.5 M K_2HPO_4 , 0.15 M NaCl) ile yıkandıktan sonra yine aynı tamponla 10 kez sulandırıldı. Sulandırılmış eritrositlerin 3 ml'si ayrı bir tüpe konularak üzerine 2 ml TCA (triklorasetik asit) solüsyonu eklenip 3000 g'de 15 dk santrifüj edildi. Dökelti (süpernatant) alınarak üzerine 1 ml TBA (thiobarbitirik asit) solüsyonu konuldu ve zaman kaybedilmeden 15 dk kaynatıldı. Kaynatma işleminden sonra tüpler musluk suyunda soğutuldu. sonuçlar 532 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu. (166) 10 kez

sulandırılmış paket eritrositlerden Drapkin yöntemine göre hemoglobin ölçülerek kan thiobarbitirik asit reaktif ürünlerinin düzeyi g/Hemoglobin olarak ifade edildi. (172)

Doku Thiobarbitirik asit reaktif ürünlerinin düzeyleri : Bu amaçla alınan beyin, karaciğer, böbrek, siyatik sinir, lens ve retina dokuları 2 ml homojenizasyon sıvısı içinde, Tri-R Stir-R marka K 43 model homojenizatörde 10000 rpm'de 10 dk boyunca homojenize edildi. Homojenize edilen dokuların üzerine 8 ml daha homojenizasyon sıvısı eklenerek bu 10 ml'lik çözeltiden alınarak üzerine 2 ml TCA solüsyonu eklenip 3000 g'de 15 dk santrifüj edildi. Elde edilen dökelti'den (süpernatant) 3 ml alınarak üzerine 1 ml TBA solüsyonu konarak vakit geçirmeden 15 dk kaynatıldı. Bu sürenin sonunda tüpler musluk suyunda soğutulmuş sonuçlar 532 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu (166). Dokular homojenize edildikten sonra hazırlanan 10 ml'lik çözeltiden protein Lowry yöntemine göre bakılarak doku thiobarbitirik asit reaktif ürün düzeyi g/protein olarak ifade edildi (120).

Plazma Glukoz, Total Kolesterol, Trigliserid, HDL, LDL, VLDL-Kolesterol ölçümleri : Bu biokimyasal analizleri yapmak amacıyla deneyin sonunda alınan plazma örnekleri kullanıldı. Bunlardan Technicon Axon marka Tex-0159218 model otoanalizator ile glukoz, total Kolesterol, trigliserid, HDL, LDL, ve VLDL-kolesterol ölçümleri yapıldı.

Eritrosit Antioksidan Enzim Ölçümleri : Deneyin sonunda alınan heparinli kan 300 g'de 15 dk santrifüj edilerek plazması alındı. Yine iki kez serum fizyolojik ile santrifüj edilerek eritrositler yıkandı. Eritrosit distile su ile 1/5 oranında sulandırılarak hemolizat elde edildi ve hemolizatın hemoglobin miktarı ölçüldü (172). Hemolizattan 10 ml alınarak, 5 ml katalaz tamponu (50 mM'lık fosfat tamponu, pH = 7) ilave edilerek vorteksledi. Vortekslenen karışımdan 1 ml alınarak üzerine 0.5 ml H2O2 (30 mM) ilave edildi ve hemen alt üst edilerek 25 C° de; Beckman marka spektrofotometrede 240 nm de katalaz aktivite saniyede bir kez olmak üzere 15 saniye boyunca okundu (1).

Aynı şekilde hazırlanan eritrositten yine 10 MI alınarak, 5 ml SOD tamponu (50 mM'lık bikarbonat pH 10.2) üzerine eklenerek vortekslendi ve hemolizat elde edildi ve hemoglobinin miktarı ölçüldü (172). Kör için 400 MI EDTA (0.075 mM) numune yerine tekrar 750 MI SOD tamponu ve 500 MI adrenalin (3.6 mM) ilave edilip 480 nanometre'de Beckman 26 marka spektrofotometrede makroküvetlerde 3 dakika boyunca okundu. Numune için ise 550 MI bikarbonat tamponu, 400 MI EDTA 750 MI hemolizat ve 500 MI adrenalin eklenip çabucak alt üst edilip yine aynı şekilde 30°C'de okunarak SOD aktivitesi ölçüldü (130).

Glutasyon peroksidaz aktivitesi ise yine aynı şekilde elde edilen eritrositlerde ölçüldü. Elde edilen eritrositin hemoglobini ölçülerek (172) stabilize edici solüsyonla 1 gram'a ayarlandı. GSH (+) için 750 µl Rk (0.3 mM EDTA, 0.1 mM NADPH, 0.5 U glutasyon redüktaz, 0.5 mM NaN₃), 50 µl hemolizat 100 µl GSH 100 µl t-bütül eklenerek karıştırıldı. GSH (-) için ise 750 µl Rk, 50 µl hemolizat, 100 µl distile su ve 100 µl t-bütül eklenerek karıştırıldı. Her ikisinde 37 C° 4010 spektrofotometrede 3 dakika okunarak glutasyon peroksidaz aktivitesi ölçüldü (144).

İstatistiksel işlem : İstatistiksel değerlendirmede SPSS (Statistical Package for Social Sciences) kullanılmıştır. VEP'lerin sağ, sol ve grup farklılıkları için yinelenmiş Varyans analizi (ANOVA-repeated measure) kullanılmıştır. Gruplar arası farklar için tek yönlü (one-way) ANOVA kullanılmıştır. İkili grupların karşılaştırılması ise "iki ortalama arasındaki farkın anlamlılık testi" (t-testi) ile yapılmıştır ve sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

BULGULAR

Genel görünüm : Kontrol (K) ve SO₂ grubunu oluşturan hayvanların görünüm ve davranışlarında önemli bir fark dikkati çekmedi. Diabet (D) ve Diabet + Kükürtdioksit (DS) gruplarında ise bilinen klinik diabet belirtileri ortaya çıktı. Bu hayvanlarda, besin ve su tüketimi sonuçlarında da görüldüğü gibi, hiperosmolalite belirtileri (poliüri), kilo kaybı, güçsüzlük ve yorgunluk belirtileri gözlemlendi. Ayrıca DS grubunda diğer gruplara göre ölüm oranının fazla olduğu dikkati çekti.

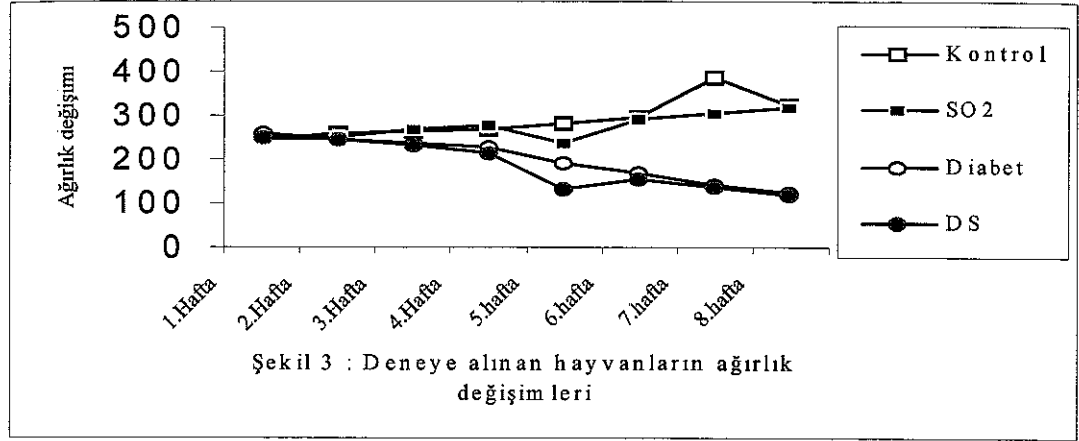
Besin ve su tüketimleri : 8 haftalık deney süresince K ve deney gruplarının haftalık yem ve su tüketimleri izlenmiş, sonuçlar 100 gram vücut ağırlığı esas alınarak g/gün ve ml/gün olarak değerlendirilmiştir.

Deney gruplarındaki hayvanların besin tüketimi sonuçları K grubunun ki ile karşılaştırılmış, SO₂ grubunda 3. haftadan itibaren belirgin artış dikkati çekmiştir. D grubunda ise beklentimize uygun şekilde 3. haftadan itibaren besin tüketiminin hem kontrole hem SO₂ grubuna göre daha fazla olduğu tesbit edilmiştir. DS grubundaki hayvanların ise 2. haftadan itibaren besin tüketiminin arttığı ve SO₂ grubuna göre daha fazla tüketim olduğu gözlemlenmiştir. D grubu ile karşılaştırıldığında da sadece 3. ve 4. haftalardaki besin tüketiminin D grubuna göre daha fazla olduğu, diğer haftalarda farklılık olmadığı belirlenmiştir (Tablo 3).

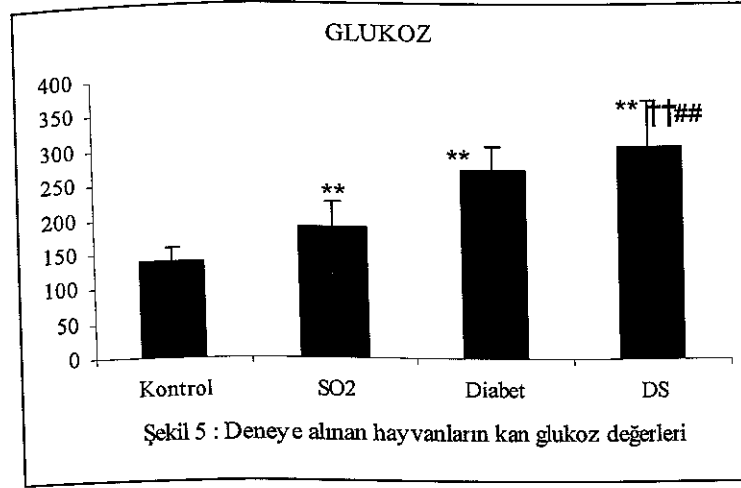
8 hafta süresince K ve deney grubundaki hayvanların su tüketimleri incelendiğinde, SO₂ grubunda 3. haftadan itibaren, D ve DS gruplarında 2. haftadan itibaren K'e göre belirgin artış saptanmıştır. D ve DS gruplarındaki hayvanların su tüketiminin SO₂ grubundakilere göre daha fazla olduğu dikkati çekmiştir (Tablo 4).

Ağırlık değişimi : K ve deney grubundaki hayvanların haftalara göre ağırlık değişimleri incelendiğinde, SO₂ grubundaki hayvanların ağırlık artışının kontrolden farklı olmadığı saptanmış, buna karşın, D ve DS grubundaki hayvanların ağırlık artışının 3. haftadan itibaren

kontrole göre daha az olduğu tesbit edilmiştir. D ve DS grupları arasında ağırlık değişimi yönünden bir farklılık bulunmamıştır (Şekil 3, Tablo 5).

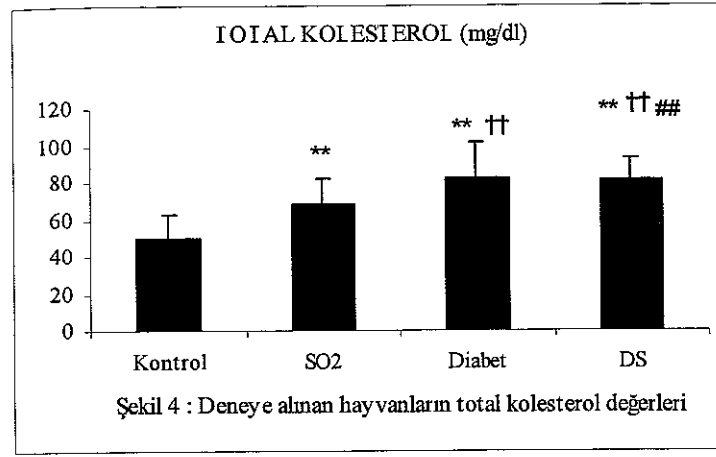


Plazma total kolesterol, trigliserit, lipoprotein fraksiyonları ve glukoz değerlerindeki değişiklikler : Sıçanlara 8 hafta süre ile günde bir saat 10 ppm SO₂ içeren hava solutulması kan glukozunda anlamlı yükselmeye neden oldu. Ortalama kan glukoz değeri kontrol grubunda 137.76 ± 21.15 mg/dl iken ikinci grupta 185.64 ± 39.11 mg/dl'ye yükseldi ($p < 0.01$). SO₂ solutulmasının kan glukozunu arttırıcı etkisi diabetik hale getirilmiş sıçanlarda da gözlemlendi. Ortalama kan glukozu diabetiklerde 270.91 ± 32.89 mg/dl iken SO₂ solutulmuşlarda 304.61 ± 67.70 mg/dl'ye yükselmiş ($p < 0.01$) idi (Şekil 5, Tablo 6).



* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ düzeyinde K ile SO₂, D ve DS gruplarının farkı
† $p < 0.05$, †† $p < 0.01$ düzeyinde SO₂ ile, D ve DS gruplarının farkı
$p < 0.05$, ## $p < 0.01$ düzeyinde D ile DS gruplarının farkı

Aynı deney protokolünde, total kolesterol düzeyinin tüm gruplarda K'e göre anlamlı olarak arttığı gözlenmiştir. Ortalama total kolesterol değeri K grubunda 50.07 ± 12.81 mg/dl iken 2. grupta SO₂ solutulması ortalama total kolesterol düzeyini 68.58 ± 13.51 mg/dl'ye yükseltti ($p < 0.01$). D grubunda bu değer 81.66 ± 20.12 mg/dl ($p < 0.01$), DS grubunda ise 80.71 ± 12.31 mg/dl ($p < 0.01$) olarak belirlendi. SO₂ solutulmasının diabetik hayvanlarda total kolesterol düzeyine ilave bir katkısının olmadığı gözlemlendi (Şekil 4, Tablo 6).



* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ düzeyinde K ile SO₂, D ve DS gruplarının farkı
† $p < 0.05$, †† $p < 0.01$ düzeyinde SO₂ ile, D ve DS gruplarının farkı
$p < 0.05$, ## $p < 0.01$ düzeyinde D ile DS gruplarının farkı

HDL, LDL ve VLDL-kolesterol düzeyleri K grubunda sırası ile 27.83 ± 8.18 , 20.86 ± 12.22 , 18.05 ± 8.16 mg/dl iken SO₂ solutulan grupta, bu değerler sırası ile 30.75 ± 9.00 , 21.49 ± 11.85 , 17.13 ± 10.78 mg/dl idi ve istatistiksel olarak K grubundan farklı değildi. D grubu için 36.36 ± 8.91 , 28.35 ± 7.84 , 27.12 ± 9.45 mg/dl olan HDL, LDL ve VLDL-kolesterol düzeyleri DS grubu için sırası ile 35.76 ± 8.11 , 32.12 ± 8.50 , 24.11 ± 9.9 mg/dl idi ve K (D grubu için sırası ile $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.05$ ve DS grubu için sırası ile $p < 0.01$, $p < 0.01$, $p < 0.05$) ve SO₂ (D grubu için sırası ile $p < 0.05$, $p < 0.05$, $p < 0.01$ ve DS grubu için sırası ile $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.05$) grubuna göre anlamlı olarak yüksekti ve SO₂ grubunda gözleendiği gibi DS grubunda da solutulmasının bu parametreler üzerine bir etkisi yoktu (Tablo 6).

Trigliserid düzeyi K'de 70.07 ± 32.7 mg/dl SO₂ grubunda 77.92 ± 33.49 mg/dl D grubunda 111.9 ± 54.55 mg/dl DS grubunda 101.00 ± 26.11 mg/dl bulundu. Rakamlardan da görüldüğü gibi göre tüm gruplarda bir artış eğilimi göze çarpıyor ise de sadece D ($p < 0.01$) ve DS ($p < 0.01$) gruplarında kontrole göre anlamlı bir artış saptanmıştır (Tablo 6).

• **Paket eritrosit antioksidan enzim aktivitesi ölçümleri :** Eritrosit paketlerinden yapılan katalaz, SOD ve GSH-Px enzim aktivitesi sonuçları Tablo 7'de sunulmuştur. Katalaz enzim aktivitesi K (295.86 ± 13.64 k/g Hb) grubunda, SO₂ (317.93 ± 10.92 k/g Hb) grubunda ve D (296.15 ± 16.39 k/g Hb) grubunda istatistiksel olarak farklılık göstermezken, DS (402.02

± 16.39 k/g Hb) grubunda diğer üç gruba göre $p < 0.01$ düzeyinde anlamlılık göstermiştir (Tablo 7).

SOD'un K grubundaki düzeyi 5437.35 ± 192.19 U/g Hb iken SO_2 tatbiki sonucu 3871.00 ± 98.46 U/g Hb düzeyine anlamlı olarak ($p < 0.01$) düşmüştür. D grubunda ise 5051.61 ± 89.42 U/g Hb değeri bulunarak K'e göre anlamlı olarak az ($p < 0.05$) saptanmıştır. SO_2 ve D gruplarını karşılaştırdığımızda ise SO_2 grubunun D'e göre anlamlı düşük ($p < 0.01$) olduğu göze çarpmıştır. DS grubunda bulunan 4192.43 ± 115.61 U/g Hb değeri ise K ve D grupları ile karşılaştırıldığında anlamlı düşüş ($p < 0.01$) gösterdi (Tablo 7).

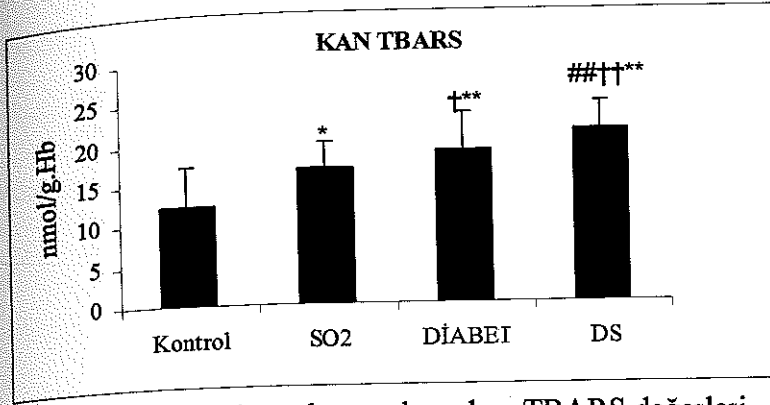
K grubunda 21.23 ± 1.06 U/g Hb olan GSH-Px aktivitesi SO_2 solutulan grupta 27.85 ± 1.69 U/g Hb düzeyine anlamlı olarak ($p < 0.05$) yükselmiştir. D (21.81 ± 0.91 U/g Hb) ve DS (21.23 ± 1.06 U/g Hb) gruplarının GSH-Px aktivite değerleri ise K'den farklı bulunmamıştır. D ve DS gruplarının bu değerleri SO_2 solutulan gruptan anlamlı olarak düşük ($p < 0.05$) bulunmuştur.

Tablo 7 : Eritrosit antioksidan düzeyleri

GRUPLAR	KATALAZ	SOD	GSH-Px
KONTROL	295 ± 13.64	5437.35 ± 192.19	21.23 ± 1.06
SO_2	317.93 ± 10.92	3871.00 ± 98.46 **††	27.85 ± 1.69 *†
DİABET	296.15 ± 9.06	5051.61 ± 89.42 *	21.81 ± 0.91
DİABET + SO_2	402.02 ± 16.39 **††###	4192.43 ± 115.61 **###	22.08 ± 1.78 †

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ düzeyinde K ile SO_2 , D ve DS gruplarının farkı
† $p < 0.05$, †† $p < 0.01$ düzeyinde SO_2 ile, D ve DS gruplarının farkı
$p < 0.05$, ## $p < 0.01$ düzeyinde D ile DS gruplarının farkı

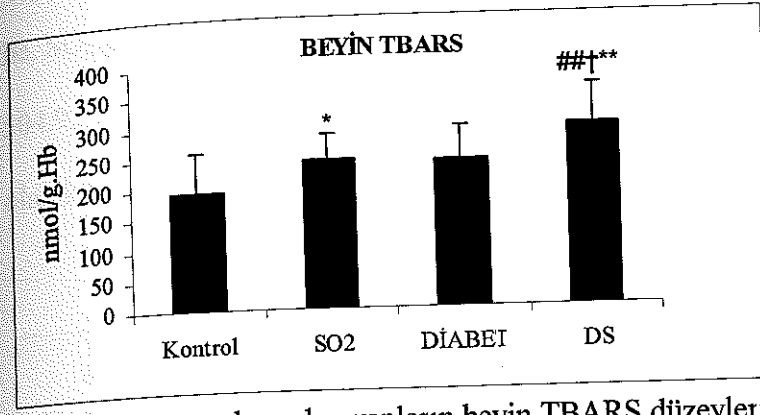
Kan ve doku TBARS değerleri : Kan TBARS düzeyi, Kontrol grubunda 12.22 ± 4.95 nmol/g. Hb iken tüm deney gruplarında K'e göre belirgin olarak arttığı gözlenmiş, SO_2 grubunda 16.82 ± 3.11 nmol/g Hb ($p < 0.05$), D grubunda 18.80 ± 4.62 nmol/g. ($p < 0.01$) DS Hb grubunda 21.26 ± 3.24 nmol/g. Hb olduğu tesbit edilmiştir (Tablo 8, Şekil 6).



Şekil 6 : Deneye alınan hayvanların kan TBARS değerleri

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ düzeyinde K ile SO₂, D ve DS gruplarının farkı
† $p < 0.05$, †† $p < 0.01$ düzeyinde SO₂ ile, D ve DS gruplarının farkı
$p < 0.05$, ## $p < 0.01$ düzeyinde D ile DS gruplarının farkı

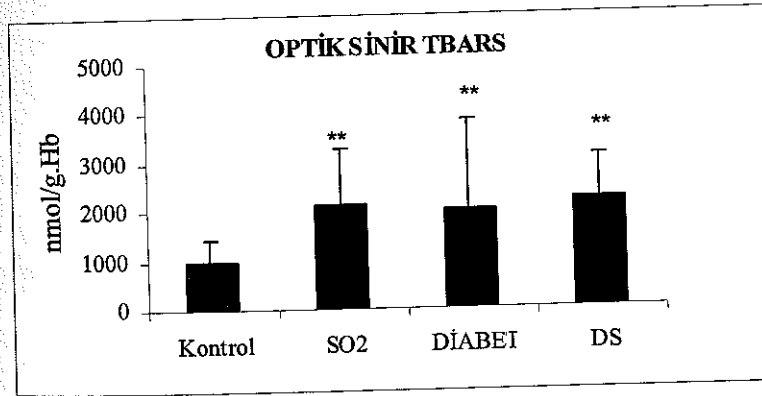
Beyin dokusundaki TBARS miktarı ise K grubunda 193.61 ± 64.96 nmol/protein iken SO₂ grubunda 243.26 ± 41.12 nmol/protein, D grubunda 239.85 ± 54.61 nmol/protein, DS grubunda 296.46 ± 63.93 nmol/protein olarak saptanmış, D grubu dışındaki grupların sonuçları kontrolden istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo 8, Şekil 6).



Şekil 6 : Deneye alınan hayvanların beyin TBARS düzeyleri.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ düzeyinde K ile SO₂, D ve DS gruplarının farkı
† $p < 0.05$, †† $p < 0.01$ düzeyinde SO₂ ile, D ve DS gruplarının farkı
$p < 0.05$, ## $p < 0.01$ düzeyinde D ile DS gruplarının farkı

Optik sinir TBARS düzeyi K grubunda 992.63 ± 426.89 nmol/protein olarak ölçülmüş, tüm deney gruplarında K'e göre belirgin artış tesbit edilmiştir (Tablo 8, Şekil 8). (SO₂ grubunda 2151.27 ± 1127.28 $p < 0.001$, D grubunda 1998.9 ± 1863.25 $p < 0.01$, DS grubunda 2208.14 ± 893.52 , $p < 0.01$ nmol/protein).

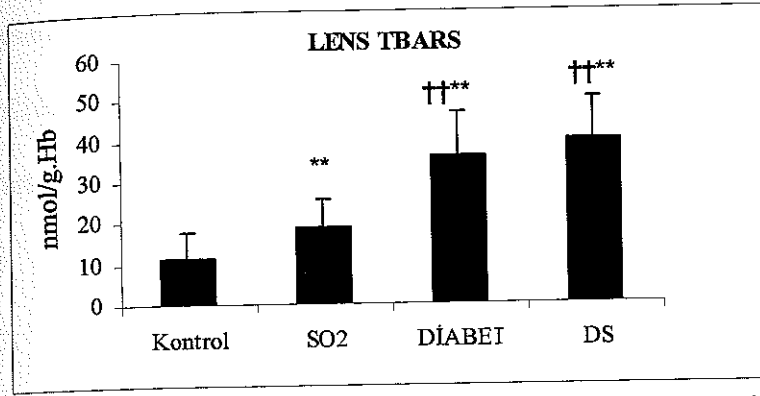


Şekil 8 : Deneye alınan hayvanların optik sinir TBARS düzeyleri.

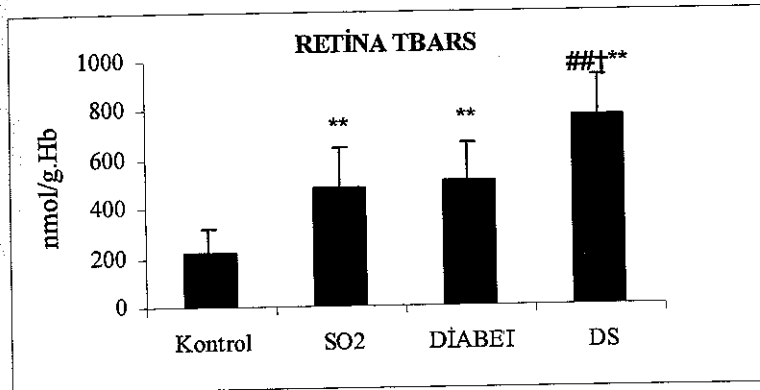
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ düzeyinde K ile SO₂, D ve DS gruplarının farkı
† $p < 0.05$, †† $p < 0.01$ düzeyinde SO₂ ile, D ve DS gruplarının farkı
$p < 0.05$, ## $p < 0.01$ düzeyinde D ile DS gruplarının farkı

Lens ve retina TBARS miktarları, kontrol grubunda sırası ile 11.31 ± 6.58 nmol/protein ve 223.34 ± 100.00 nmol/protein olarak tesbit edilmiş, D ve DS gruplarında daha fazla olmak üzere tüm deney gruplarında artmış olarak bulunmuştur. Lens ve retina TBARS düzeyleri sırası

ile, SO₂ grubunda 18.63 ± 6.75 ve 479.84 ± 168.50 nmol/protein, D grubunda 36.10 ± 10.65 ve 504.93 ± 160.16 nmol/protein, DS grubunda 39.92 ± 10.18 ve 773.12 ± 161.46 nmol/protein olarak belirlenmiştir (Tablo 8, Şekil 9,10).



Şekil 9 : Deneye alınan hayvanların Lens TBARS düzeyleri.



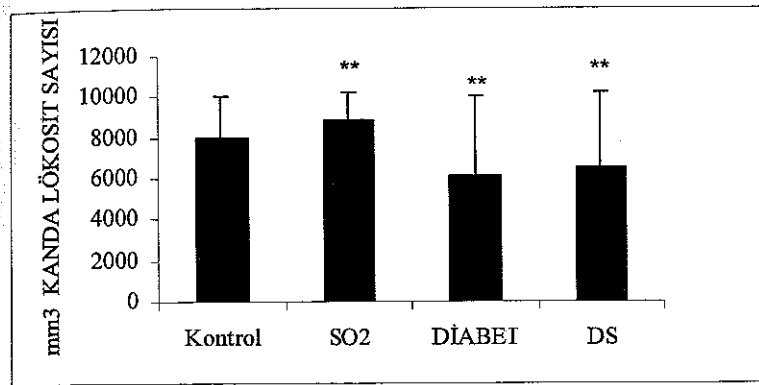
Şekil 10 : Deneye alınan hayvanların Retina TBARS düzeyleri

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ düzeyinde K ile SO₂, D ve DS gruplarının farkı
† $p < 0.05$, †† $p < 0.01$ düzeyinde SO₂ ile, D ve DS gruplarının farkı
$p < 0.05$, ### $p < 0.01$ düzeyinde D ile DS gruplarının farkı

Karaciğer ve böbrek TBARS miktarları incelendiğinde SO₂ grubunun (sırası ile 157.91 ± 41.14 , 123.35 ± 48.71 nmol/protein) K'den (Sırası ile 160.32 ± 36.33 , 137.33 ± 37.64 nmol/protein) farklı olmadığı bulunmuştur. Buna karşın D (Sırası ile 265.8 ± 73.38 , $p < 0.01$, 202.80 ± 37.23 , $p < 0.01$ nmol/protein) ve DS (Sırası ile 396.74 ± 169.10 , $p < 0.01$, $308.17 \pm$

67.75, p 0.01 nmol/protein) grubunda K'e belirgin artış tesbit edilmiştir. DS grubunun karaciğer ve böbrek TBARS miktarlarındaki artışın SO₂ ve D grubundakilere göre daha yüksek oranda olduğu dikkat çekmiştir (Tablo 8).

Lökosit sayısı sonuçları : Lökosit sayısı kontrol grubuna göre SO₂ grubunda anlam olarak artarken, yine K grubuna göre D ve DS grubunda anlamlı olarak azalmıştır. Kükürtdioksit verilen diabet grubunda (DS) lökosit sayısı D grubuna göre artış gösterirken bu artışın anlamlı olduğu saptanmıştır (Şekil 11).



Şekil 11: Deneye alınan hayvanların lökosit sayıları

*p<0.05, ** p<0.01 düzeyinde K ile SO₂, D ve DS gruplarının farkı

†p<0.05, ††p<0.01 düzeyinde SO₂ ile, D ve DS gruplarının farkı

#p<0.05, ##p<0.01 düzeyinde D ile DS gruplarının farkı

VEP sonuçları : VEP'ler flaş uyararı verilip sağ ve sol göz ayrı ayrı uyarılara monoöklüler uyarımla kayıtları yapılmıştır. Dört grup için elde edilen VEP lere ait birer örnek şekilleri Tablo 12, 13, 14, 15'de sunulmuştur.

VEP parametrelerinin sağ-sol ve grup farklılıkları yinelenmiş varyans analizi (ANOVA/repeated measure) ile değerlendirilmiştir. Bu analizin sonuçları Tablo 9'da görülmektedir. VEP'lerin latens ve genlikleri dikkate alındığında sağ ve sol farklılığı gözlenmemiş, ancak gruplar arası farklar olduğu saptanmıştır (Tablo 9). Bu nedenle bu analize dayanarak, sağ ve sol VEP parametrelerinin ortalaması alınarak daha sonraki istatistiksel değerlendirmede bu bulgular kullanılmıştır.

VEP'lerin latens ve genliklerinin ortalama değerleri ve standart sapmaları Tablo 10 ve 11'de görülmektedir. Student-t testi sonuçları da aynı tablolarda belirtilmiştir. Buna göre P₁, N₁, P₂, N₂, P₃ tepe latenslerinin D ve DS gruplarında kontrole göre anlamlı şekilde uzadığı saptanmıştır. SO₂ grubunda sadece P₃ tepe latensinin kontrole göre anlamlı olarak uzadığı görülmüştür. D grubunda P₃ tepe latensi hariç diğer tepe latenslerinin DS grubunda ise bütün tepe latenslerinin SO₂ grubuna göre önemli ölçüde arttığı gözlenmiştir. Diğer yandan DS grubunda P₁, N₂ ve P₃ tepe latenslerinin D grubuyla karşılaştırıldığında uzamış oldukları bulunmuştur.

Tablo 10 : Dört grup için görsel uyarılma potansiyellerinde gözlenen piklerin latens değerlerinin ortalama ve standart sapmaları, student-t testi sonuçları.

GRUPLAR	KONTROL (msn)	SO ₂ (msn)	DİABET (msn)	DS (msn)
P1	25.09 ± 4.38	24.57 ± 3.75	30.41 ± 2.50	33.8 ± 4.33
N1	36.63 ± 5.80	39.45 ± 8.81	50.37 ± 7.34	51.48 ± 7.97
P2	48.37 ± 4.68	50.05 ± 11.70	67.50 ± 12.78	72.21 ± 13.59
N2	63.26 ± 5.16	66.26 ± 10.80	83.38 ± 17.08	94.91 ± 22.80
P3	92.63 ± 12.17	112.52 ± 17.18	119.79 ± 14.97	150.32 ± 18.06

*p<0.05, ** p<0.01 düzeyinde K ile SO₂, D ve DS gruplarının farkı

†p<0.05, ††p<0.01 düzeyinde SO₂ ile, D ve DS gruplarının farkı

#p<0.05, ##p<0.01 düzeyinde D ile DS gruplarının farkı

Gruplar arası genlik farklılıkları dikkate alındığında, SO₂ grubunda P₁N₁, P₂N₂ ve N₂P₃, D ve DS gruplarında P₁N₁ ve N₁P₂ genliklerinin K'e göre anlamlı farklılıklar gösterdiği saptanmıştır. D ve DS gruplarında ise bütün genlik değerlerinin SO₂ grubuna göre önemli ölçüde arttığı gözlenmiştir.

Tablo 11 : Dört grup için pikten pike genlik değerlerinin ortalama ve standart sapma değerleri

GRUPLAR	P ₁ N ₁ (μV)	N ₁ P ₁ (μV)	P ₂ N ₂ (μV)	N ₂ P ₃ (μV)
Kontrol	3.93 ± 2.03	3.45 ± 1.86	5.87 ± 2.28	8.46 ± 3.01
SO ₂	2.80 ± 1.87 *	2.87 ± 2.13	2.95 ± 1.87 **	6.18 ± 2.43 **
D	7.44 ± 4.44 †††**	8.25 ± 4.70 †††**	6.36 ± 3.09 ††	9.84 ± 5.64 ††
DS	8.33 ± 6.53 †††**	6.63 ± 3.75 †††**	7.88 ± 4.71 ††	10.95 ± 6.86 ††

*p<0.05, ** p<0.01 düzeyinde K ile SO₂, D ve DS gruplarının farkı
†p<0.05, ††p<0.01 düzeyinde SO₂ ile, D ve DS gruplarının farkı
#p<0.05, ##p<0.01 düzeyinde D ile DS gruplarının farkı

Tablo 3 : Haftalara göre günlük besin tüketimi (gram/gün/100)

HAFTALAR	KONTROL	SO ₂	D	DS
1.Hafta	5.88 ± 0.43	6.25 ± 0.46	6.06 ± 0.53	5.88 ± 0.37
2.Hafta	6.15 ± 0.45	6.37 ± 0.58	6.78 ± 1.83	7.33 ± 0.71 †††**
3.Hafta	6.31 ± 0.50	7.37 ± 0.83 **	9.42 ± 1.32 †††**	11.84 ± 1.63 ##†††**
4.Hafta	6.42 ± 0.45	8.13 ± 1.11 **	14.63 ± 2.66 †††**	19.52 ± 3.95 ##†††**
5.Hafta	6.49 ± 0.36	8.42 ± 0.88 **	30.08 ± 3.54 †††**	31.84 ± 4.72 †††**
6.Hafta	6.52 ± 0.40	9.87 ± 0.82 **	40.45 ± 5.79 †††**	45.39 ± 7.29 †††**
7.Hafta	6.53 ± 0.34	10.5 ± 0.64 **	51.20 ± 7.56 †††**	53.70 ± 7.06 †††**
8.Hafta	6.64 ± 0.48	10.25 ± 0.54 **	66.24 ± 10.86 †††**	65.98 ± 8.33 †††**

*p<0.05, ** p<0.01 düzeyinde K ile SO₂, D ve DS gruplarının farkı
†p<0.05, ††p<0.01 düzeyinde SO₂ ile, D ve DS gruplarının farkı
#p<0.05, ##p<0.01 düzeyinde D ile DS gruplarının farkı

Tablo 4 : Haftalara göre günlük su tüketimi (ml/gün/100 g)

HAFTALAR	KONTROL	SO ₂	D	DS
1.Hafta	9.64 ± 0.74	9.62 ± 0.73	9.31 ± 0.46	9.41 ± 0.37
2.Hafta	9.72 ± 0.67	9.63 ± 1.38	12.36 ± 1.14 †††	11.33 ± 0.39 †††
3.Hafta	10.09 ± 0.66	10.66 ± 1.82 **	23.96 ± 2.46 †††	23.07 ± 2.07 †††
4.Hafta	10.44 ± 0.62	11.44 ± 1.22 **	33.32 ± 6.73 †††	33.54 ± 4.06 #†††
5.Hafta	10.07 ± 0.77	11.62 ± 1.11 **	46.77 ± 6.60 †††	43.67 ± 7.84 †††
6.Hafta	10.16 ± 0.34	12.61 ± 1.66 **	67.16 ± 3.13 †††	66.09 ± 9.13 #†††
7.Hafta	10.04 ± 0.36	12.73 ± 1.34 **	76.04 ± 9.88 †††	73.06 ± 6.90 †††
8.Hafta	10.26 ± 0.33	13.62 ± 1.41 **	106.52 ± 12.93 †††	103.46 ± 9.69 †††

*p<0.05, ** p<0.01 düzeyinde K ile SO₂, D ve DS gruplarının farkı

†p<0.05, ††p<0.01 düzeyinde SO₂ ile, D ve DS gruplarının farkı

#p<0.05, ##p<0.01 düzeyinde D ile DS gruplarının farkı

Tablo 5 : Kontrol ve deney grubu hayvanların haftalara göre ağırlık değişimi

HAFTALAR	KONTROL	SO ₂	D	DS
1.Hafta	246.33 ± 3.21	243.76 ± 13.34	260.33 ± 15.20	249.16 ± 14.27
2.Hafta	261.03 ± 3.69	249.68 ± 19.38	246.33 ± 15.64	243.91 ± 16.66 †††
3.Hafta	263.91 ± 3.14	269.26 ± 13.37 **	237.03 ± 16.16 †††	232.91 ± 14.37 †††
4.Hafta	267.26 ± 6.43	278.33 ± 16.33 **	227.60 ± 16.16 †††	213.76 ± 20.37 †††
5.Hafta	279.76 ± 12.46	234.16 ± 17.23 **	189.16 ± 16.21 †††	133.33 ± 26.95 †††
6.Hafta	294.91 ± 17.43	292.91 ± 17.66 **	166.66 ± 13.62 †††	154.58 ± 25.33 †††
7.Hafta	387.41 ± 20.42	304.33 ± 13.66 **	142.60 ± 20.72 †††	136.26 ± 13.01 †††
8.Hafta	322.66 ± 21.33	316.60 ± 22.30 **	121.26 ± 17.21 †††	120.00 ± 13.96 †††

*p<0.05, ** p<0.01 düzeyinde K ile SO₂, D ve DS gruplarının farkı

†p<0.05, ††p<0.01 düzeyinde SO₂ ile, D ve DS gruplarının farkı

#p<0.05, ##p<0.01 düzeyinde D ile DS gruplarının farkı

Tablo 6 : Plazma total kolesterol, trigliserit, lipoprotein fraksiyonları ve glukoz değerleri

GRUPLAR	KONTROL	SO ₂	D	DS
Glukoz (mg/dl)	137.76 ± 21.15	185.64 ± 39.11 **	270.91 ± 32.89 †††	304.61 ± 67.70 ##†††
Total Kolesterol (mg/dl)	50.07 ± 12.81	68.58 ± 13.51 **	81.66 ± 20.12 †††	80.71 ± 12.31 †††
HDL-Kolesterol (mg/dl)	27.83 ± 8.18	30.75 ± 9.00	36.36 ± 8.91 †*	35.76 ± 8.11 †††
LDL-Kolesterol (mg/dl)	20.86 ± 12.22	21.49 ± 11.85	28.35 ± 7.84 †††	32.12 ± 8.50 †††
VLDL-Kolesterol (mg/dl)	18.01 ± 8.16	17.13 ± 10.78	27.12 ± 9.45 †††	24.11 ± 9.9 †*
Trigliserit (mg/dl)	70.07 ± 32.7	77.92 ± 33.49	111.9 ± 54.55 *	101.00 ± 26.11 *

*p<0.05, ** p<0.01 düzeyinde K ile SO₂, D ve DS gruplarının farkı
†p<0.05, ††p<0.01 düzeyinde SO₂ ile, D ve DS gruplarının farkı
#p<0.05, ##p<0.01 düzeyinde D ile DS gruplarının farkı

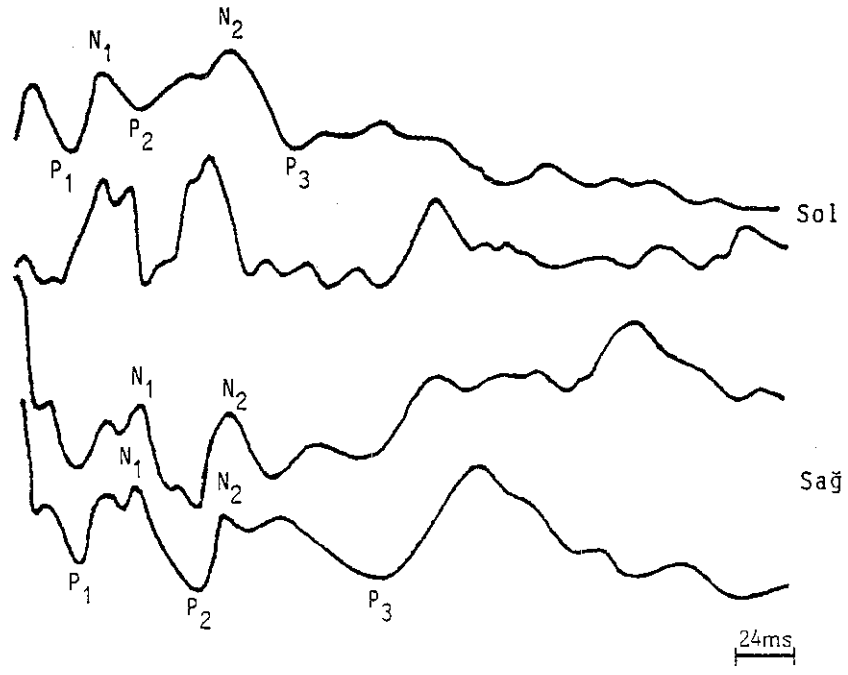
Tablo 8 : Doku ve kan TBARS düzeyleri

GRUPLAR	KONTROL	SO ₂	D	DS
Beyin nmol/g.prt	193.61 ± 64.96	243.26 ± 41.12 *	239.85 ± 54.61	296.46 ± 63.93 ##†††
Optik sinir nmol/g.prt	992.63 ± 426.89	2151.27 ± 1127.28 **	1998.9 ± 1863.25 **	2208.14 ± 893.52 **
Lens nmol/g.prt	11.31 ± 6.58	18.63 ± 6.75 **	36.10 ± 10.65 †††	39.92 ± 10.18 †††
Retina nmol/g.prt	223.34 ± 100.0	479.84 ± 168.50 **	504.93 ± 160.16 **	773.12 ± 161.46 ##†††
Karaciğer nmol/g.prt	160.32 ± 36.33	157.91 ± 41.14	265.8 ± 73.38 †††	396.74 ± 169.10 ##†††
Böbrek nmol/g.prt	137.33 ± 37.64	123.35 ± 48.71	202.80 ± 37.23 **	308.17 ± 67.75 ##†††
Kan nmol/g.Hb	12.22 ± 4.95	16.82 ± 3.11 *	18.80 ± 4.62 †††	21.26 ± 3.24 ##†††

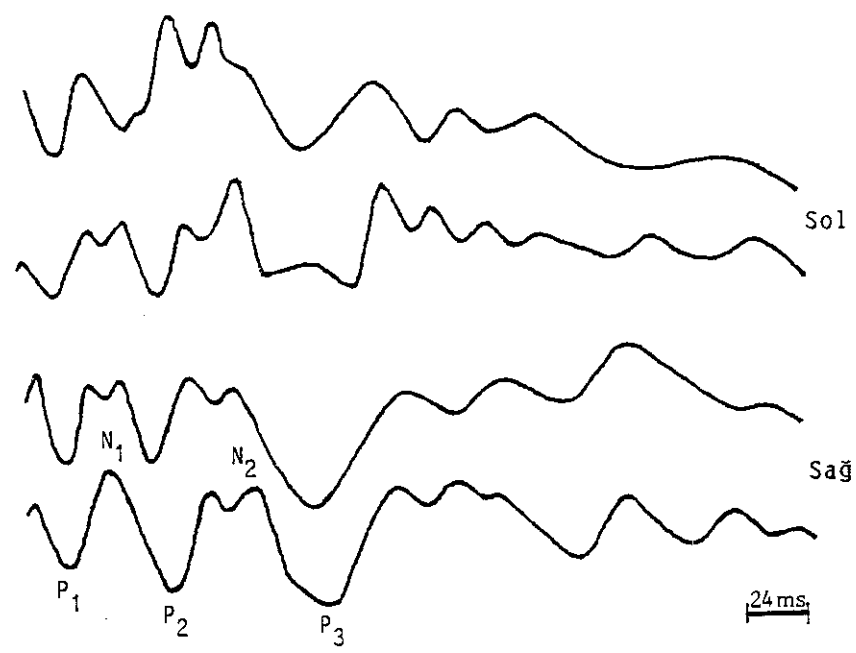
*p<0.05, ** p<0.01 düzeyinde K ile SO₂, D ve DS gruplarının farkı
†p<0.05, ††p<0.01 düzeyinde SO₂ ile, D ve DS gruplarının farkı
#p<0.05, ##p<0.01 düzeyinde D ile DS gruplarının farkı

Tablo 9 : Latens ve genlik değerleri için ANOVA sonuçları
 SS : Sağ-sol, G : Grup, SSG : Sağ-sol grup etkileşimi, Df . Serbestlik dercesi

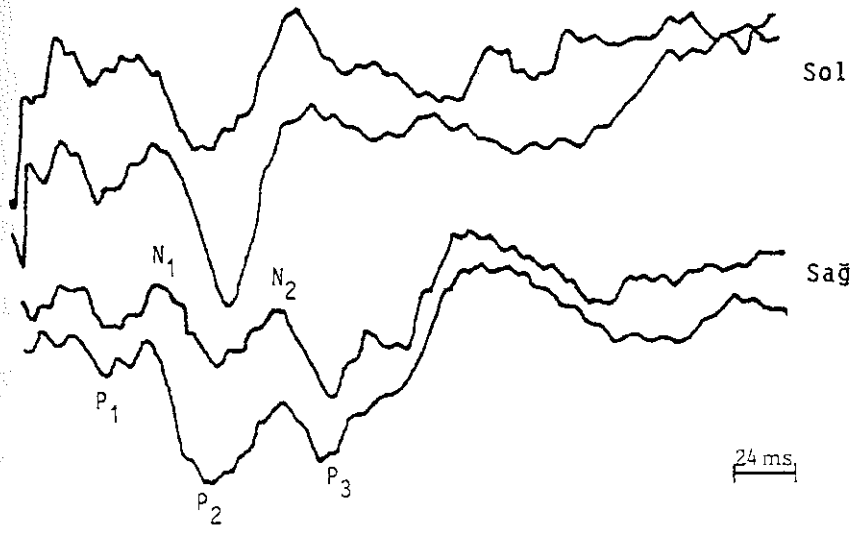
		Df	F	P
P ₁	SS	1	0.037	0.85
	G	3	34.37	0.000
	SSG	3	0.34	0.8
N ₁	SS	1	0.068	0.8
	G	3	24.37	0.000
	SSG	3	0.49	0.69
P ₂	SS	1	0.051	0.82
	G	3	27.55	0.000
	SSG	3	0.15	0.93
N ₂	SS	1	0.000	0.99
	G	3	24.55	0.000
	SSG	3	0.6	0.062
P ₃	SS	1	0.001	0.98
	G	3	48.72	0.000
	SSG	3	0.27	0.84
P ₁ N ₁	SS	1	0.17	0.68
	G	3	9.85	0.000
	SSG	3	0.38	0.77
N ₁ P ₂	SS	1	0.004	0.95
	G	3	11.52	0.000
	SSG	3	1.97	0.13
P ₂ N ₂	SS	1	0.21	0.65
	G	3	12.22	0.000
	SSG	3	2.43	0.07
N ₂ P ₃	SS	1	0.18	0.67
	G	3	5.06	0.003
	SSG	3	0.94	0.42



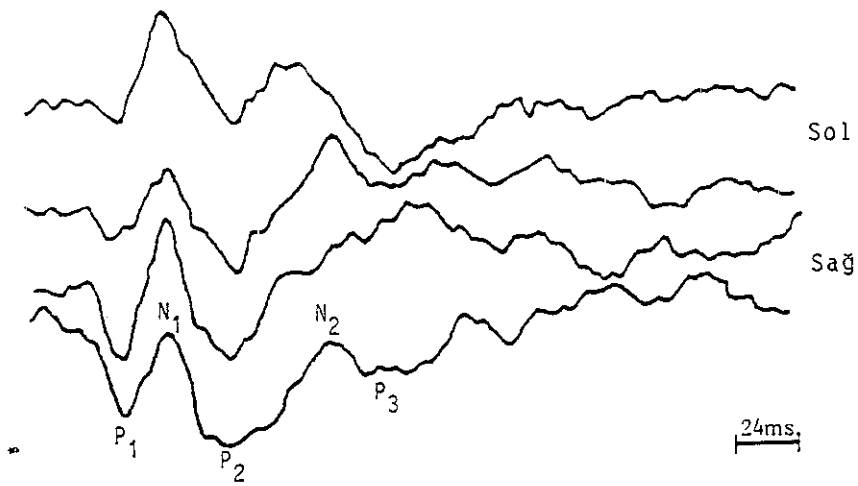
Şekil 12: Kontrol grubundan kayıt edilen görsel uyarılma potansiyelleri ve bileşenleri.



Şekil 13: SO₂ grubundan kayıt edilen görsel uyarılma potansiyelleri ve bileşenleri.



Şekil 14: D grubundan kayıt edilen görsel uyarılma potansiyelleri ve bileşenleri.



Şekil 15: DS grubundan kayıt edilen görsel uyarılma potansiyelleri ve bileşenleri.

TARTIŞMA

Bir çok çalışma oksidan stresin diabetik komplikasyonların gelişiminde önemli rolü olduğunu vurgulamaktadır (43, 57, 67, 145, 191). Sadece diabet komplikasyonlarının gelişiminde değil diabet gelişiminde de serbest radikallerin önemi ortaya konmuştur. Örneğin stabil olmayan bir madde olan alloksan deney hayvanlarına verildiğinde çabucak dialurik aside dönmekte bu madde de otookside olarak H_2O_2 molekülü , O_2 ve OH radikallerini oluşturmaktadır (110,145). Alloksan verilmesi ile tüm organ ve dokularda düzeyi artan serbest radikaller organizmada antioksidan defans sistemi en zayıf olan pankreas β hücrelerini tahrip ederek tip 1 diabet oluşmasına neden olmaktadır (7, 148, 189, 190). Bu sebebi ne olursa olsun artmış serbest radikal düzeyinin, insanda da tip 1 diabet gelişimine neden olabileceğini gösterir.

Nitekim alloksan ile yapılan bu deneylerde metal şelatörleri, antioksidan enzim ve çeşitli antioksidan maddeler ile, bu maddenin diabet oluşturucu etkisi engellenebilmiştir (57,137).

Biz de çalışmamızda bu yöntemi kullandık. Diabet grubundaki ratlara daha önce gereç ve yöntemlerde bahsettiğimiz gibi caudal venlerinden 5 mg/100 g dozunda alloksan vererek diabetin tüm belirtileri ile (hiperosmolalite, kilo kaybı, güçsüzlük, yorgunluk, polifaji, polidipsi) ortaya çıktığını gözledik.

Yapılan çalışmalarda SO_2 'in 0.1-250 ppm arasında farklı dozları kullanılmıştır (2). SO_2 'in 1 ppm altındaki dozlarının ancak % 5'i absorbe olmaktadır. Bu dozun üzerinde alınan SO_2 'in çoğu (% 90) üst solunum yolları tarafından absorbe edildikten sonra beyin dahil tüm dokulara ulaşmaktadır (2, 16, 76). Dolayısı ile çalışmaların çoğunda 1 ppm'in üzerindeki dozlar tercih edilmiştir.

Amerika'da kırsal kesim SO₂ üst sınır miktarı 5 ppm olarak tesbit edilmiştir. Daha önce yapılan bazı çalışmalarda SO₂'in üst sınırı bu doza eşdeğer olarak seçilmiştir. Nitekim bu görüşe uygun olarak Alaria ve arkadaşları (2) 0.1 ve 5 ppm SO₂'i iki ayı grup maymuna 18 ay süre ile uygulamışlardır. Bu sürenin sonunda akciğerlerin çeşitli fonksiyonel ve histolojik parametreleri üzerine 0.1 ppm lik dozun anlamlı olarak patolojik değişiklikler yapmadığı, oysa 5 ppm'lik dozun bahsedilen parametrelerde çeşitli patolojik değişiklikler oluşturduğu gösterilmiştir. Bazı araştırmacılar ise SO₂'in miktarının şehirlerde daha yüksek olduğunu göz önüne alarak 10 ppm (16, 46, 78), 70 ppm, 100-300 ppm (46) gibi değişik dozlar kullanmışlardır. Diğer yandan SO₂'in dozu gibi uygulama süreleride 4 hafta ile 72 hafta arasında olmak üzere çalışmalara göre değişmektedir (2, 61, 78).

Biz çalışmamızda SO₂'in dozu olarak 10 ppm'i seçtik. Bunun nedeni 10 ppm'lik dozun çevre kirliliği ile ilgili yapılan deneysel çalışmalarda kirliliğin organizmaya etkisinin taklit edilebilmesi açısından en uygun doz olmasıdır. SO₂'in bu dozu insanlar için kabul edilen maksimum dozun oldukça üzerindedir, ancak deneysel çalışmalarda çevre kirliliği etkilerinin kısa sürede taklit edilebilmesi açısından kabul edilen maksimum dozdur. Deney süresi ise, bu dozun uygulandığı çalışmalarda genelde kullanılan süre olan 8 hafta olarak belirlenmiştir (2, 46). Diabette ölüm riski olduğu için SO₂'in ölüm oranını daha da arttıracığı dikkate alınarak çok yüksek doz ve uzun süre seçilememiştir.

Kontrol grubu ile SO₂ verilen grup arasında, görünüm davranış ve vücut ağırlığı yönünden herhangi bir farklılık saptanmamıştır (Tablo 5). Bu bulgumuz daha önceki çalışmalar ile uygunluk içerisindedir. Diabet grupları gözönüne alındığında ise 3 haftadan sonra belirgin bir ağırlık azalışı belirlendi. Ancak D ile DS gruplarındaki ağırlık azalışları birbirinden farklı değildir. Dolayısı ile diabet gruplarında gözlenen bu azalma (% 50) diabetin etkisidir (34, 99). Sonuç olarak SO₂'in vücut ağırlığı üzerine herhangi bir etkisini olmadığını söyleyebiliriz.

D ve DS gruplarında kan glukoz değeri kontrol değerinin yaklaşık 2.5 katına yükselmiştir (Tablo 6, şekil 5). Bu bulgumuz ve hayvanlarda ortaya çıkan belirtiler (Polifaji, poliuri, polidipsi) etkin bir diabet oluşturulduğunun kanıtıdır (Tablo 3, 4). KS grubunda da polidipsi görülmüştür. Bunun sebebi kan glukoz değerinin kontrole göre yükselmesi olarak açıklanabilir. SO₂ verilen grupta gözlenen bu bulgu, SO₂'in karaciğer veya insülin salınımı üzerine olan etkisi nedeniyle olabilir (102), ancak bu konu yine de daha detaylı olarak araştırılmalıdır.

Tedavi edilmeyen diabetlilerde VLDL ve Trigliserit düzeylerinin arttığı bilinmektedir (28, 52). Bizim diabet gruplarında da benzer sonuçlar bulunmuştur. Bu komplikasyonlar iki hipotez ile açıklanmaktadır. Birincisi tip 1 diabette lipoprotein sentezindeki azalma nedeniyle, trigliseritten zengin lipoproteinlerin lipolizinde bozukluk olması (28, 52) ikincisi ise, karaciğerde VLDL ve trigliserit sentezinin artması şeklindedir (52, 168). Ayrıca diabetik gruplarda LDL kolesterol miktarında artmıştır. Bunun sebebi LDL kolesterol sentezinin artması (67) veya LDL reseptör aktivitesinin azalmasıdır. Bunun sonucu olarak LDL kolesterol'ün kandan alınması bozulmuştur. Özellikle obez diabetlerde kolesterol ve doymuş yağ asitlerinin aşırı harcanması LDL reseptör aktivitesini baskılayarak LDL sentezini yükseltir(92).

SO₂'in kontrol grubunda plazma total kolesterol düzeyini yükselttiği gözlenmiştir. SO₂'in lipoprotein lipaz aktivitesini azaltarak bu etkiyi yaptığı daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (79). Plazma lipit profiline SO₂'in bahsedilen etkisi bu nedene bağlı olabilir.

Son yıllarda yapılan yayınların bir çoğu diabette serbest radikallerin arttığını, dolayısı ile bu hastalıkta gözlenen komplikasyonlarda oksidan stresin yol açtığı hasarın önemli rol oynadığını öne sürülmektedir. Diabette gözlenen lipid peroksidasyon artışı ve oksidatif stres artan plazma glukoz seviyesi nedeni ile 3 yola bağlı olarak ortaya çıkar.

Glukoz veya analogları proteinlerle etkileşime girer. Proteinler ve şekerler arasında nonenzimatik olarak katalize olan reaksiyonlar glikolizasyon (glycation) olarak bilinmektedir.

Özellikle karaciğer ve böbrek membranlarında olmakla birlikte bütün doku ve organlarda glikolizasyonun diabetik koşullarda yaygın olarak oluştuğu ve oksidan strese neden olduğu saptanmıştır. Oksidan stres daha sonra glikolizasyon son ürünlerinin oluşumunu hızlandırarak daha fazla serbest radikal ortaya çıkarır (Oksidatif glikolizasyon) (17, 67).

Hipergliseminin oksidan stres oluşturma yollarından diğeride glukoz oksidasyonu ile süperoksit, hidroksil ve hidrojen peroksit gibi ürünleri arttırmasıdır. Ortaya çıkan serbest radikaller oksidatif glikolizasyona neden olarak daha da fazla serbest radikal oluşmasına yol açarlar (67,138).

Hipergliseminin diğer önemli etkilerinden biride, antioksidan sistem üzerinedir. Diabetik koşullarda antioksidan enzimlerin inhibe olarak, oksidatif stresin oluştuğu ileri sürülmektedir. Diabetin antioksidan sisteme olan etkileri bir çok araştırmacı tarafından incelenmiş, çelişkili bulgular ortaya konmuştur. SOD, GSH-Px ve CAT enzimlerinin arttığını, azaldığını veya değişmediğini bildiren yayınlar mevcuttur (44, 67, 127, 140, 147 184) Diabetik grupta sadece SOD aktivitesinin azaldığı saptanmıştır. Daha önceki bazı yayınlarla uygunluk içerisindeki (127, 137) bu sonucumuz, diabette oksidan stresin oluşmasında, antioksidan koruyucu sistemin inhibe olmasının önemli rolü olduğunu ileri süren araştırmacıları desteklemektedir.

SO₂ alan kontrol grubunda SOD miktarının azaldığı gözlenmiştir. Bu bulgumuz Başkurt'un çalışması ile uyum içerisinde olmakla birlikte Medeiros ve arkadaşlarının sonuçları ile çelişki göstermiştir. Zira bu araştırmacılar SO₂, karbonmonoksit ve nitrat oksitlerin yüksek olduğu endüstri bölgelerinde SOD'un iki kat kadar yükseldiğini bulmuşlardır(125). Bunun nedeni, oksidatif strese karşı savunmayı kuvvetlendirmek veya metod farklılığına bağlı olabilir. SO₂'in GSH-Px üzerine olan etkisi de SOD gibidir. Bu bulgumuzu destekleyen Medeiros ve arkadaşlarının, kirli havada yaşayan bireylerde eritrositlerin hemoglobin ve enzim yapısının değiştiğini saptamışlardır. Ayrıca GSH-PxZ'in organik hidroperoksit ve hidrojen peroksitin

zararlı etkilerini azaltmak amacıyla arttığını ifade etmişlerdir. Katalaz seviyesi SO_2 alan grupta değişmemiştir. Medeiros ve arkadaşlarının bulguları ile aynı olan bu verimiz, katalazın hidrojen peroksitin aşırı artışında veya acil durumlarda devreye giren bir enzim olması nedeniyle beklenen bir sonuçtur.

SO_2 alan diabet grubunda SOD miktarı kontrol ve diabet grubuna göre azalmıştır. Ancak KS grubuna göre önemli bir farklılık olmadığından, SO_2 'in diabetik koşullarda bu enzim üzerine fazla bir etkisi olmadığı söylenebilir. Diğer yandan GSH-Px enzimi ise kontrol değerine yakın bulunmuştur. SO_2 'in kontrollerde GSH-Px enzimini artırıcı rolü varken, diabetik koşullarda bu etkisini gösterememiştir. SO_2 diabetik koşullarda sadece katalazı arttırmıştır. Zira artan hidrojen peroksiti karşılamak için katalazı arttırdığından, GSH-Px üzerine herhangi bir etkisinin olmaması beklenebilir. Bu konuda yapılmış herhangi bir çalışma mevcut bulunmadığından bu yorumumuzun geçerliliği tartışılmamıştır.

Serbest radikallerin in-vivo şartlarda ölçülmesi yarı ömürlerinin kısa konsantrasyonlarının düşük ve reaktif olmaları nedeniyle zordur. Dolayısıyla oksidatif stresin oluşturduğu ikincil ürünlerin ölçüldüğü indirekt yöntemler geliştirilmiştir. Lipid peroksidasyon indeksi olarak thiobarbitürik asit reaktif ürünleri (TBARS) kabul edilmektedir. Ancak bu yöntemin biyolojik örneklerle uygulanması bazı problemler doğurmaktadır. Zira thiobarbitürik asit, lipid peroksidasyon son ürünü olan malondialdehit (MDA) dışında diğer başka maddelerle de (aminoasit, şekerler, lipid oksidasyon ürünleri) etkileşime girer. Dolayısıyla peroksidasyon indeksi olarak MDA yerine TBARS'in kullanılması bir çok araştırmacı tarafından önerilmektedir (22, 76). TBARS yöntemi, ölçülen TBARS'in çoğunluğunu MDA teşkil ettiği için ayrıca bu yöntemin çok basit ve hızlı olması nedeniyle bir çok araştırmacı tarafından halen kullanılan popüler bir yöntemdir (53, 89).

TBARS değerlerine bakıldığında SO_2 'in beyin, optik sinir, lens ve retina üzerinde lipid peroksidasyonunu artırıcı rolü olduğu saptanmıştır. SO_2 'in beyinde lipid peroksidasyonunu

arttırdığı daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (78, 79). Diğer dokularla ilgili herhangi bir bilgi olmamakla birlikte, SO₂'in kornea ile yakın teması lipid peroksidasyonu artırıcı rolünün olabileceğini vurgular. Çünkü Haider 1985 yılında yaptığı bir çalışmada karaciğer ve böbrek dokularında lipid peroksidasyonun azaldığını gösterirken SO₂ ile direk temas eden akciğerde lipid peroksidasyonunun arttığını bulmuştur. Karaciğer ve böbrek TBARS değerlerimiz bu çalışma ile uyumludur. Diabetik grupta elde edilen TBARS değerleri, diabette lipid peroksidasyonunun arttığını söyleyen çok sayıda yayını teyit etmektedir (17, 62, 67,137,138). SO₂'in diabetik koşullarda lipid peroksidasyonunu kuvvetlendirici bir rolü olmuştur. Bunun nedeni, hem diabetin hem de SO₂'in etki mekanizmalarında lipid peroksidasyonunun önemli yerinin olmasıdır.

Diğer yandan SO₂'in mm³ kandaki lökosit sayısını arttırdığı tesbit edilmiştir. Bu Başkurt ve Gorriz'in (15, 68) çalışmaları ile uyumlu bir bulgudur. Lökosit sayısındaki bu artış SO₂'in uzak, dokularda oluşturduğu lipid peroksidasyonunun izah edilmesinde önemli bir bulgudur.

Diabetes mellitus'un birçok komplikasyonları olmakla birlikte, görsel sistem üzerine olan en önemli etkilerinden biri de retinopati oluşturmasıdır. Retinopatinin klinik bulgularının ortaya çıkmasından önce VEP'leri etkilediği bir çok çalışmada gösterilmiştir (80, 81). Nitekim diabetik grupta bütün VEP bileşenlerinin latenslerinin uzadığı, bazı genliklerin değiştiği izlenmiştir. Daha önceki çalışmaları uyum içerisindeki bu bulgumuz, VEP'lerin retinopati oluşmadan önce diabetik komplikasyonları erken işaret eden bir parametre olduğunu desteklemektedir (5, 6, 124, 163). Diğer yandan ANOVA sonuçları diabetin her iki optik yoluda aynı şiddette etkilediğini ortaya koymuştur.

Görsel sistemin nörotoksik maddelere karşı olan duyarlılığını inceleyen bir çok çalışma, çeşitli toksik ajanlar kullanarak görsel sistem değişikliklerini ortaya koymuşlardır. Bu çalışmalara göz atıldığında toksik ajanlar içerisinde SO₂'in olmadığı görülmüştür (51, 142, 143,

150, 174, 186). Oysa ki çevresel kirliliğin hızla arttığı günümüzde insan sağlığını ciddi biçimde tehdit eden en önemli maddelerden biri olan SO₂'in görsel sistem üzerine olan etkilerinin bilinmesi önemlidir. Bu nedenle planlanan çalışmamızda, SO₂'in görsel sistem üzerine olan etkilerinin saptanması için VEP'ler tercih edilmiştir. Zira VEP'lerin toksik ajanların görsel sistem üzerinde oluşturdukları değişiklikleri gösteren çok duyarlı parametre olduğunu ifade eden çok sayıda yayın mevcuttur (93, 142, 143). Ayrıca sıçanların görsel sisteminin, insanlara çok benzer olması nedeniyle, sıçanlarda yapılan böyle bir çalışmanın insan görsel sisteminin incelenmesi yönünden iyi bir model olduğu belirtilmiştir (93). SO₂'in sadece P₃ bileşeninin latensini uzattığı, bazı VEP bileşenlerinin genliklerini azalttığı gözlenmiştir. P₃ bileşeninin optik yoldaki patolojileri erken gösteren bir parametre olduğu ifade edildiğinden (36, 38, 81) ve VEP üzerine deprese edici etkisi dikkate alındığında SO₂'in görsel sistemi önemli ölçüde etkilediği söylenebilir. Diğer yandan SO₂'in diabete etkisine bakıldığında P₁, N₂ ve P₃ latenslerini önemli ölçüde uzattığı saptanmıştır. Bu sonucumuz SO₂'in diabetin görsel sistem üzerine olan etkisini daha da arttırabileceğini düşündürdüğünden, kirli havada yaşayan diabetik kişilerde görsel sistem komplikasyonlarının artabileceğini işaret eden önemli bir bulgudur.

Çalışmamızın sonuçları şöyle özetlenebilir:

- 1-Diabetik komplikasyonlarda oksidan stresin önemli rolü olduğunu gösteren çalışmaları teyid etmiştir.
- 2-SO₂'in lipid peroksidasyonunu arttırdığını ortaya koymuştur.
- 3-Diabetik koşullarda etkilenen en önemli enzim SOD'dur. SO₂'in etkilediği en önemli enzim normal koşullarda SOD iken diabetik koşullarda Katalaz olmuştur.
- 4-Görsel sistemi diabetin ve SO₂'in etkilediği gözlenmiştir. SO₂'in, diabetin VEP üzerindeki etkilerini kuvvetlendirmiştir.

ÖZET

Hava kirliliği kriterlerinden birisi olarak kabul edilen SO₂'in serbest oksijen radikali oluşumunu attırdığını gösteren çalışmalar sözkonusudur. Bu radikallerin ise iskemik kalp hastalıkları, bronşiyal astım, diabet, kanser ve yaşlanma gibi pekçok hastalıkta rol oynadığı bildirilmektedir. SO₂'in diabete etkilerinin incelendiği bu çalışmada, 56 adet sıçan kullanılmıştır.

Bu hayvanlar rastgele olarak ;

1. grup, Kontrol (K)
2. grup, Kükürtdioksit (SO₂)
3. grup, Diabet (D)
4. grup, Diabet + SO₂'in (DS), olmak üzere 4 gruba ayrıldı.

1. ve 3. gruba, özel bir düzenekte 8 hafta boyunca günde bir saat filtre edilmiş atmosfer havası solutulurken, 2. ve 4. Gruba aynı düzenekte aynı süre ve zamanda 10 ppm dozunda SO₂ solutuldu.

3. ve 4. gruptaki hayvanlar caudal venlerinden alloksan (5 mg/100 gr) verilerek diabetik hale getirildi. 8 haftalık deney süresi boyunca yem su tüketimleri ve vücut ağırlıkları belirlendi.

Deneyin sonunda hayvanlardan görsel uyarılma potansiyelleri kayıt edildi. VEP kayıtlarından sonra, biokimyasal parametrelerin ölçümü için hayvanların kanları ve çeşitli dokuları alındı.

D ve DS gruplarında su ve yem tüketimi üçüncü haftadan itibaren artarak, deney sonunda on katı kadar yükselmiştir. K ve SO₂ gruplarında, ağırlık artışında herhangi bir fark bulunmazken, diğer gruplarda deney sonunda %50'ye varan ağırlık azalması olmuştur.

Total kolesterol, LDL, HDL ve VLDL kolesterol değerleri bütün deney gruplarında kontrole göre anlamlı olarak artmıştır. Trigliserit düzeyi ise D ve DS gruplarında kontrole göre önemli ölçüde yükselmemiştir. Kan glukoz değeri diabetik gruplarda 2.5 katı kadar artmıştır. Katalaz enzim aktivitesinin DS grubunda diğer gruplara göre anlamlı olarak arttığı saptanmıştır. SOD aktivitesi ise bütün deney gruplarında kontrole göre önemli olarak azalmıştır. GSH-Px sadece SO₂ grubunda artmıştır. Kan, retina, lens ve optik sinir TBARS değerleri bütün deney gruplarında kontrole göre artmıştır.

D ve DS gruplarında VEP komponentlerinden P₁, N₁, P₂, N₂ ve P₃ latenslerinin kontrole göre uzadığı tesbit edilmiştir. Ancak SO₂ grubunda sadece P₃ latensinin uzadığı görlmştir. VEP genliklerine göz atıldığında bazı genliklerin değiştiği gözlenmiştir. Sonuç olarak, SO₂'in görsel sistem üzerine önemli ölçüde etkisi olmuştur, ayrıca diabetin etkisini kuvvetlendirdiği söylenebilir.

SUMMARY

There are many studies implicating that sulfur dioxide (SO₂) increases the formation of free oxygen radicals. However these radicals are reported to have part in many diseases such as ischemic heart disease, bronchial asthma, diabetes mellitus, cancer and aging. 56 rats have been used in this study in which the effects of SO₂ on diabetes are investigated.

The animals are randomizedly separated to four groups as :1-) Control (K), 2-) Sulfur dioxide (SO₂), 3-) Diabetes Mellitus (D), 4-) Diabetes Mellitus + Sulfur dioxide (DS).

The first and the third group animals are respired with filtered atmosphere air in a private chamber one hour daily for eight weeks, while the other groups are exposed to 10 ppm sulfur dioxide in the same conditions and periods.

The diabetic condition was induced in third and fourth groups by administration of alloxane; intravenous injection (caudal vein) of 5 mg alloxane for a 100 g rat. Daily food and water consumption of every cage weekly weight of individual rats were recorded during experimental period. The mean daily food and water consumption were estimated from the recorded values.

The visual evoked potentials of animals were recorded at the end of this period. After VEP is recorded, blood samples were taken and the various tissues were quickly dissected out for biochemical measurements.

The water and food consumption increased ten fold of initial values from third week to end of the diabetic condition. While the weight of animals of two groups (K, SO₂) did not differ significantly at the time of the termination of experiment. There were significant decrease in body weight in D and DS groups (% 50).

Total cholesterol, LDL, HDL and VLDL cholesterol values significantly increased in experimental groups compared to control, Whereas TG level did not significantly increased in

D and DS groups compared to control. Blood glucose value increased 2.5 fold in diabetic groups. The catalase enzyme activity was determined significantly increased in DS compared to other groups, While the SOD activity reduced in all experimental groups according to control. However, GSH-Px increased in only SO₂ group. TBARS values of blood, retina, lens and optic nerve increased in all experimental groups compared to control.

The mean latencies of P₁, N₁, P₂, N₂ and P₃ components were significantly prolonged in D and DS groups compared to control and SO₂ groups, Whereas P₃ in SO₂ group was longer than control group. Some of amplitudes of VEP in experimental groups were significantly changed compared to control group.

Consequently, SO₂ have been found important effects on visual system. In addition to, it can be suggested that it has added the effects of diabetes.

KAYNAKLAR

1. Aebi, HE : Catalase. In: Methods of enzymatic analysis. Ed. By Bergmeyer HV., Bergmeyer J. GraB1 M Third edition Vol3 VCH Verlagsgesellschaft mbH Germany pp 273-288, 1983
2. Alarie, Y, Ulrich, CE, Busey, W.M : Longterm continuous exposure to sulfurdioxide in cynomolgus monkeys. *Arc. Env. Health.* 24: 115-27, 1972
3. AI, Turk, W.A, Stohs, S.J, El-Rashidy, F.H, Othman,S, Shaheen, O : Changes in glutathione reductase and glutathione-S-Transferase as a function of cell concentration and age. *Pharmacology.* 34(1) : 1-8, 1987
4. AI, Turk, W.A, Stohs,S.J : Hepatic glutathione content and aryl hydrocarbon hydroxylase activity of acetaminophen-treated mice as and function of age. *Drug. Chem. Toxicol.* 4(1) : 37-48, 1981
5. Anastasi, M, Lauricella, M, Giardano, C, Galluzzo, A : Visual potentials in insulin dependent diabetes. *Acta Diabetol. Lat.* 22 : 343-8, 1985
6. Apaydin, C, Oğuz, Y, Ağar, A, Yargıçoğlu, P, Demir, N, Aksu, G : Visual evoked potentials and optic nerve histopathology in normal and diabetic rats and effect of ginkgo biloba extract. *Acta. Ophta.* 71: 623-28, 1993
7. Asayama, K, Kooy, N.W, Burr, I.M : Effect of vitamin E deficiency and selenium deficiency on insulin sectory reserve and free radical scavenging systems in islets Decrease of islet manganosuperoxide dismutase. *J. Lab. Clin. Med.* 107:459-64, 1986
8. Auroma, O.L, Halliwell, B, Gajewski, E, Dizdaroğlu, M : Copper-ion- dependent damage to the bases in DNA in the presence of hydrogen peroxide. *Biochem. J.* 273(Pt 3): 601-4, 1991
9. Balchum, J, Oskar, J, Dybicki, J, Meneely, R, George,R : Measurement of pulmonary compliance with concurrent tissue radioactive sulfur distributions. *Fed.Proc.*,18: 6-20, 1959

10. Barbosa, J, King, R, Goetz, F.C, Noreen, H, Yuriis, E.J : HLA in maturity-onset type of hyperglycemia in the young. *Arch. Intern. Med.* 138(1) : 90-3, 1978
11. Barbosa, J, King, R, Noreen, H, Yunis, E.J : The histocompatibility system in juvenile, insulin-dependent diabetic multiplex kindreds. *J. Clin. Invest.* 60(5) : 989-98, 1977
12. Barnett, A.H, Eff, C, Leslie, R.D, Pyke, D.A : Diabetes in identical twins. A Study of 200 pairs. *Diabetologia.* 20(2): 87-93, 1981
13. Bar, R.S, Gorden, P, Roth, J, Kahn, C.R, De, Meyts, P : Fluctuations in the affinity and concentration of insulin receptors on circulating monocytes of obese patients : effects of starvation, refeeding, and dieting. *J. Clin. Invest.* 58(5):1123-35, 1976
14. Bartlett, D, CarroII, R : Air quality parameters or epidemiologic studies. *Arch. Environ Health.* 16:182-187, 1968
15. Başkurt, O.K, Balkancı, D : Deneysel kükürtdioksit inhalasyonunun akut etkilerinin incelenmesi. *Doğa* 12 (3): 203-211, 1988
16. Başkurt, O.K, Levi, E, Çağlayan, S, Dikmenoğlu, N, Kutman, M.N : Hematologic and hemorheologic effects of air pollution. *Arch. Environ. Health.* 45: 224-28, 1990
17. Baynes, J.W: Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes.* 40: 405-12, 1991
18. Bechtold, V.E, Waide, J.J, Santdstrom, T, Stjernberg, N, McBride, D, Koenig, J, Chang, I.Y, Henderson, R.F: Biological markers of exposure to SO₂ : S-sulfonates in nasal lavage. *J. Expo. Anal. Environ. Epidemiol.* 3(4) : 371-82, 1993
19. Beisswenger, P.G, Spiro, R.G : Human glomerular basement membrane : chemical alteration in diabetes mellitus. *Science.* 168(931) : 596-8, 1970
20. Bendich, A, D Apolito, P, Gabriel, E, Machlin, L.J : Interaction of dietary vitamin C and vitamin E on guinea pig immune responses to mitogens. *J. Nutr.* 114(9) :1588-93, 1984

21. Blair, N.P, Tso, M.O, Dodge, J.T : Pathologic studies of the blood retinal barrier in the spontaneously diabetic BB rat. *Invest.Ophthalmol.and Visual Science.* 25: 302-311, 1984
22. Bonnefont, D, Legrand, A, Peynet, J, Emerit, J, Delattre, J, Galli, A : Distribution of thiobarbutiric acid-reactive substances in lipoproteins and proteins in serum. *Clin.Chem.* 35: 2054-2058, 1984
23. Bottazzo, G.F, Lendrum, R : Separate autoantibodies to human pancreatic glucagon and somatostatin cells. *Lancet.* 23; 2(7991) : 873-6, 1976
24. Bottazzo, G.F : Beta cell damage in diabetic insulitis : are we approaching a solution? *Diabetologia.* 26(4): 241-9, 1984
25. Boyer, R.F, Schori, B.E : The incorporation of iron into apoferritin as mediated by ceruloplasmin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 116(1) : 244-50, 1983
26. Boyes W : Testing visual system toxicity using visual evoked potentials. In *vulnerable brain. Vol : 1 (Malnutrition and Toxins).* R. Isaasson and K. Jensen EDS. Pleauin. New York. 1991
27. Briggs, B.R, Jackson,W.P.U, Dutoit, E.D, Botha, M.C : The histocompatibility (HLA) antigen distribution in diabetes in Southern African blacks (Xhosa). *Diabetes.* 29: 68-71, 1980
28. Brunzell, J.D, Hazzard, W.R, Motulsky, A.G : Evidence for diabetes mellitus and genetic forms of hypertriglyceridemia as independent entities. *Metabolism.* 24:1115-21, 1975
29. Buettner, G.R : Ascorbate autoxidation in the presence of iron and copper chelates. *Free. Radic. Res. Commun.* 1 (6): 349-53, 1986
30. Burton, G.W, Joyce, A, Ingold, K.U : First proof that vitamin E insulitis major lipid-soluble, chain-breaking antioxidant in human blood plasma [letter]. *Lancet.* 2(8293): 327, 1982
31. Butler, J, Koppenol, W.H, Margoliash, E : Kinetics and mechanism of the reduction of ferricytochrome c by the superoxide anion. *J. Biol. Chem.* 257(18) :10747-50, 1982
32. Cadenas, E : Biochemistry of oxygen toxicity. *Annu. Rev. Biochem.* 58: 79-110, 1989

33. Cahill, G.F Jr, McDevitt, H.O : Insulin-dependent diabetes mellitus : the initial lesion. *New. Engl. J. Med.* 304(24):1454-65, 1981
34. Cameron, N.E, Cotter, N.A, Robertson, S : The effect of aldose reductase inhibition on the pattern of nerve conduction deficits in diabetic rats. *Quarter. J.Exp.Phys.* 74: 917-26, 1989
35. Carbe, C, Arnaud, F, Bolzinger, C.J: Effect of a dopaminergic agonist, piribedil (Trivastal 50 mg LP) on visual and spatial integration in elderly subjects. *J.Neurol.* 239(Suppl 1): 22-27, 1992
36. Celesia, GG : Evoked potentials techniques in the evaluation of visual functions. *J.Clin.Neurophysiol.*,1:55-76, 1984
37. Cheng, L, Kellogg, E.W 3d, Packer, L : Photoinactivation of catalase. *Photochem. Photobiol.* 34(1):125-9, 1981
38. Chiappa, K.H : Evoked potentials in clinical medicine. Raven.Press, New York,1983
39. Clemens, M.R, Waller, H D : Lipid peroxidation in erythrocytes. *Chem. Phys. Lipids.* 45(2-4): 251-68, 1987
40. Ohen, H.J, Fridovich, L, Rajagopalan, K.V : Hepatic sulfite oxidase. A functional role for molybdenum. *J. Biol. Chem.* 246(2): 374-82, 1971
41. Collins, A.R, Dusinska, M, Gedik, C.M, Stetina, R : Oxidative damage to DNA : Do we have a reliable biomarker ? *Environ.Health.Perspec.*104(3) : 464- 469, 1996
42. Combs, G.F Jr, Noguchi, T, Scott, M.L : Mechanisms of action on selenium and vitamin E in protection of biological membranes. *Fed-Proc.* 34(11) : 2090- 5, 1975
43. Cowden, W.B, Lewis, Hughes, P.H, Clark,L.A : Protection against alloxan- induced diabetes in mice by the free radical scavenger butylated hydroxyanisole. *Biochem. Pharmacol.* 34(19): 3601-3, 1985
44. Crouch, R, Kimsey, G, Priest, D.G, Sarda, A, Buse, M.G : Effect of streptozotocin on erythrocyte and retina superoxide dismutase. *Diabetologia.* 15: 53-57, 1978

45. Curtis, J.F, Hughes, M.F, Mason, R.P, Eling, T.E : Peroxidase-; catalyzed oxidation of (bi)sulfite : reaction of free radical metabolites of (bi)sulfite with (\pm)-7,8 dihydroxy-7,8-dihydrobenzopyrene. *Carcinogenesis*. 9(11) : 2015-21, 1988
46. Dalhamn, T : Studies on the effect of sulfur dioxide on ciliary activity in rabbit trachea in vivo and on the reabsorptive capacity of the nasal cavity. *Am. Rev. Resp. Dis.* 83: 566-67. 1971
47. Davies, K.J, Godberg, A.L : Proteins damaged by oxygen radicals are rapidly degraded in extracts of red blood cells. *J. Biol. Chem.* 262(17): 8227-34, 1987
48. Davies, K.J, Goldberg, A.L : Oxygen radicals stimulate intracellular procoagulation and lipid peroxidation by independent mechanisms in erythrocytes. *J. Biol. Chem.* 262(17): 8220-6, 1987
49. Demonasterio, F.M, Schein, S.J, McCrane, E.P : Staining of blue-sensitive cones of the macaque retina by a fluorescent dye. *Science*. 213(4513):1278-81, 1981
50. Di Mario, U, Dotta, F, Crisa, L, Anastasi, E, Andreani, D, Dib, S.A, Eisenbarth, G S : Circulating anti-immunoglobulin antibodies in recent-onset type I diabetic patients. *Diabetes*. 37(4): 462-6, 1988
51. Dyer, R.S : The use of sensory evoked potentials in toxicology. *Fundam. Appl. Toxicol.* 5: 24-40, 1985
52. Eckel, R.H : Lipoprotein lipase. A multifunctional enzyme relevant to common metabolic diseases. *N. Eng. J. Med.* 320: 1060-68, 1989
53. Esterbauer, H, Cheeseman, K : Determination of aldehydic lipid- peroxidation products malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods. Enzymol.* 186: 407-421, 1990
54. Fernandez, F.S, Faveeuw, C, Bulant, C.B, Tappaz, M, Throsby, M, Pelletier, G, Vaudry, H, Dardenne, M, Homo, Delarche, F : Localization of γ -aminobutyric acid and glutamic acid decarboxylase in the pancreas of the nonobese diabetic mouse. *Endocrinology*. 137: 3497-3506, 1996

55. Ferris, B.G : Tests to assess effects of low levels of air pollutants on human health. *Arch. Environ Health*. 21 (4): 553-8, 1970
56. Festy, B, Petit, Coviaux, F, LeMoullec, Y : Current data on atmospheric pollutions. *Ann. Pharm. Fr.* 49(1):1-17, 1991
57. Fischer, L.J, Hamburger, C.A : Inhibition of alloxan action in isolated pancreatic islets by superoxide dismutase, catalase, and a metal chelator. *Diabetes*. 29: 213-16, 1980
58. Flone, L, Gunzler, W.A Schock, H.H: Glutathione peroxidase: a selenoenzyme. *FEBS-Lett.* 32(1):132-4, 1973
59. Forsberg, B, Stjernberg, N, Falk, M, Lundback, B, Wall, S: Air pollution levels, meteorological conditions and asthma symptoms. *Eur. Respir. J.* 6(8):1109-15, 1993
60. Frank, L, Massaro, D : Oxygen Toxicity. *Am.J.Med.* 69 : 117- 126, 1980
61. Frank, NR, Yoder, RE, Brain, SD, Yokoyama, E: SO₂ (35S Labeled) Absorption by the nose and mouth under conditions of varying concentration and flow. 18: 315-322, 1969
62. Freeman, B.A, Crapo, J.D : Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab. Invest* 47(5): 412-26, 1982
63. Fridtitta, L, Grasso, G, Munguira, ME, Vigneri, R, Trischitta, V: Insulin receptor tyrosin kinase activity is reduced in monocytes from non-obese normoglycaemic insulin-resistant subjects. *Diabetologia*. 36:1163-67, 1993
64. Anong, W.F : Section 3, Vision, pp Review of Medical Physiology, 1996
65. Garner, M Spector, A : Selective oxidation of cysteine and methionine in normal and senile cataract lenses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 77(3):1274-7
66. Gepts, W, In't-Veld-P.A : Isomorphologic changes. *Diabetes Metab. Rev.* 3(4): 859-72, 1987
67. Giugliano, D, Ceriello, A, Paolisso, G : Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care.* 19(3) : 257-67, 1996

68. Gorriz, A, Llacuna, S, Riera, M, Nadal, J : Effects of air pollution on hematological and plasma parameters in *Apodemus sylvaticus* and *Mus musculus*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 31 (1) : 153- 158, 1996
69. Gouras, P : Identification of cone mechanism in monkey ganglion cells. J. Physiol. Lond. 199(3): 533-47, 1968
70. Greene, D.A, Lattimer, S.A : Action of sorbinil in diabetic peripheral nerve. Relationship of polyol (sorbitol) pathway inhibition to a myo-inositol-mediated defect in sodium-potassium ATPase activity. Diabetes. 33(8): 712-6 1990
71. Greene, D.A, Lewis, R.A, Lattimer, S.A, Brown, M.J : Selective effects of myo-inositol administration on sciatic and tibial motor nerve conduction parameters in the streptozocin-diabetic rat. Diabetes. 31 (7): 573-8, 1982
72. Groop, L.C, Widen, E, Ferrannini, E : Insulin resistance and insulin deficiency in the pathogenesis of type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus : Errors of metabolism or methods? Diabetologia. 36:1326-31, 1993
73. Gunnison, A.F, Benton, A.V : Sulfur dioxide : sulfite. interaction with mammalian serum and plasma. Arch-Environ-Health. 22(3): 381-8, 1971
74. Gutteridge J.M, Halliwell B : The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. Trends. Biochem. Sci. 15(4):129-135, 1990
75. Gutteridge, J.M, Stocks, J : Ceruloplasmin : Physiological and Pathological Perspectives. Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. 14(4): 257-329, 1981
76. Gutteridge, J.M : Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Chem. 41112, 1819-28, 1995
77. Guyton, A.C : Section 9, The Nervous system, pp Textbook of Medical Physiology, 19

78. Haider, S.S, Hasan, M, Hasan, S.N, Khan, S.R, Ali, S.F : Regional effects of sulfur dioxide exposure on the guinea pig brain lipids, lipid peroxidation and lipase activity. *Neurotoxicol.* 2(3): 443-50, 1981
79. Haider, S.S, Hasan, M, Khan, N.H : Air pollutant sulfurdioxide-induced alterations on the levels of lipids, lipid peroxidation and lipase activity in various regions of the rat brain. *Acta. Pharmacol. Toxicol. Copenh.* 51 (1): 45-50, 1982
80. Halliday, A.M, McDonald, W.L, Mushin, J : Delayed visual evoked response in optic neuritis. *Lancet.* 1: 982-985, 1972
81. Halliday, AM : Visually evoked responses in optic nerve disease. *Transactions of the opthalmological society of United Kingdom.* 96 (3): 372-376, 1976
82. Halliwell, B, Gutteridge, J.M.C, Cross, C.E : Free radicals, antioxidants, and human disease: Where are we now? *J. Lab. Clin. Med.* 19 (6): 598-620, 1992
83. Hassan, H.M. Fridovich, L : Chemistry and biochemistry of superoxide dismutases. *Eur. J. Rheumatol. Inflamm.* 4(2): 160-72, 1981
84. Nelgason, T, Jonasson, M.R : Evidence for a food additive as a cause of ketosis-prone diabetes. *Lancet.* 2(8249): 716-20, 1981
85. Hendrickson, A.E, Hunt, S.P, Wu, J.Y : Immunocytochemical localization of glutamic acid decarboxylase in monkey striate cortex. *Nature.* 292(5824) : 605-7, 1981
86. Hetzler, B.E, Boyes, W.C, Creason, J, Dyer, R.S : Temperature dependent changes in visual evoked potentials of rats. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 70:137-54, 1988
87. Hidaka, H, Nagulesparan, M, Klimes, L, Clark, R, Sasaki, H, Aronoff, S.L, Vasquez, B, Rubenstein, A.N, Unger, R.H : Improvement of insulin secretion but not insulin resistance after short term control of plasma glucose in obese type II diabetics. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 54(2): 217-22, 1982

88. Higgins, P.J, Garlick, R.L, Bunn, H.F : Glycosylated hemoglobin in human and animal red cells. Role of glucose permeability. *Diabetes*. 31 (9): 743-8, 1982
89. Holley, A.E, Cheeseman, K.H : Measuring free radical reactions in vivo. *British Med. Bull.* 49(3) : 494-505 1990
90. Horiuchi, S, Shiga, M, Araki, N, Takata, K, Saitoh, M, Morino, Y : Evidence against in vivo presence of 2-(2-furoyl) -4(5)-(2-furanyl)-1 H-imidazole, a major fluorescent advanced end product generated by nonenzymatic glycosylation. *J. Biol. Chem.* 263(35) : 18821-6, 1988
91. Horton, J.C, HubeI, D.H : Regular patchy distribution of cytochrome oxidase staining in primary visual cortex of macaque monkey. *Nature*. 292 (5825): 762-4, 1981
92. Howard,BV, Abbott, W.G.H, BeItz, W.F : Integrad study of low density lipoprotein metabolism and very low density lipoprotein metabolism in non-insulin dependent diabetes. *Metabolism*. 36 : 870-97, 1987
93. Hudnell, H.K, Boyes, W.K, Otto, D.A : Rat and human visual evoked potentials recorded under comparable conditions; a preliminary analysis to address the issue of perdicting human neurotoxic effects from rat data. *Neurotoxicol and Teratol.*12: 391-98, 1990
94. Hunt, J.V, WoIff, S.P : The role of histidine residues in the nonenzymic covalent attachment of glucose and ascorbic acid to protein. *Free. Radic. Res. Commun.*14(4): 279-87, 1991
95. Jaap, A.J, Shore, A.C, Gartside, J.B, Gamble, J, Tooke, J.E : Increased microvascular fluid permeability in young Typel (insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia*. 36: 648-52, 1990
96. Ji, L.L, Stratman, F.W, Lardy, H.A : Antioxidant enzyme systems in rat liver and skeletal muscle. Influences of selenium defienciency, chronic training, and acute exercise. *Arch Biochem. Biophys.* 263(1):150-60, 1988

97. Johnson, P.C, Doll, S, Crome, D.W : Pathogenesis of diabetic neuropathy. *Ann. Neurol.* 19: 450-57, 1986
98. Jones, D.B, Hunter, N.R, Duff, G.W : Heat-shock protein 65 as a β cell antigen of insulin-dependent diabetes. *Lancet.* 336: 583-85, 1990
99. Kamijo, M, Cherian, P.V, Sima, A.A.F : The preventive effect of aldose reductase inhibition on diabetic optic neuropathy in the BB/W-rat. *Diabetologia.* 36 : 893-98, 1993
100. Kandel, E.R, Schwartz, J.H, Jessell, T.M : Part 5, Central visual pathway. *Principles of Neural Science.* 1991
101. Karam, J.H, Lewitt, P.A, Young, C.W, Nowlain, R.E, Frankel, B.J, Fujiya, H, Freedman, Z.R, Grodsky, G.M : Insulinopenic diabetes after rodenticide (vacor) ingestion : a unique model of acquired diabetes in man. *Diabetes.* 29(12): 971-8, 1980
102. Karaöz, E, Dalçık, H, Etlik, Ö, Irmak, M.K, Kıbrıslı, E : Sülfürdioksit bağı karaciğer toksisitesine C ve E vitamini kombinasyonunun etkisi. *Doğa.* 13(2): 96-100, 1996
103. Kasai, H, Crain, P.F, Kuchino, Y, Nishimura, S, Dotsuyama, A, Tanooka, H : Formation of 8-hydroxyguanine moiety in cellular DNA by agents producing oxygen radicals and evidence for its repair. *Carcinogenesis.* 7(11) : 1849-51, 1986
104. Kasai, H, Nishimura, S, Kurokawa, Y, Hayashi, Y : Oral administration of the renal carcinogen, potassium bromate, specifically produces 8- hydroxydeoxyguanosine in rat target organ DNA. *Carcinogenesis.* 8(12):1959-61, 1987
105. Kinoshita, J.H : Mechanisms initiating cataract formation. Proctor lecture. *Invest. Ophthalmol.* 13(10): 713-24, 1974
106. Koloğlu, S : Bölüm 6, Diabetes mellitus pp 359-499, *Endokrinoloji ve Temel Klinik, Medical Network,* 1996
107. Koster, J.F, Biemond, P, Stam, H : Lipid peroxidation and myocardial ischaemic damage: cause or consequence? *Basic. Res. Cardiol.* 82 Suppl 1: 253-60, 1987

108. Köse, K, Doğan, P : Lipid peroksidasyonu. Erciyes Tıp Dergisi. 340-350, 1992
109. Krinsky, NL, Deneke, S.M : Interaction of oxygen and oxy-radicals with carotenoids. J.Natl.Cancer.Inst. 69(1): 205-10, 1982
110. Kristal, B.S, Yu, B.P : An emerging hypothesis : synergistic induction of aging by free radicals and Maillard reactions. J.Gerontol. 47(4): B107-14, 1992
111. Kuglin, B, Gries, F.A, Kolb, H : Evidence of IgG autoantibodies against human proinsulin in patients with IDDM before insulin treatment. Diabetes. 37(1):130-2, 1988
112. Kwok, W.W, Lotshaw, C, Milner, E.C, Knitter, Jack, N, Nepom, G.T : Mutational analysis of the HLA-DQ3.2 insulin-dependent diabetes mellitus susceptibility gene. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 86(3): 1027-30, 1989
113. Lattimer, S.A, Sima, A.A.F, Greene, D.A : In vitro correction of impaired $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase in diabetic nerve by protein kinase C agonists. Am.J.Physiol. 256(19): E264-69, 1989
114. Lawrence, R.A, Parkhill, L.K, Burk, R.F : Hepatic cytosolic non selenium-dependent glutathione peroxidase activity : its nature and the effect of selenium deficiency. J.Nutr. 108(6): 981-7, 1978
115. Leung, H.W, Morrow, P.E : Interaction of glutathione and ascorbic acid in guinea pig lungs exposed to nitrogen dioxide. Res. Commun.Chem.Pathol. Pharmacol. 31 (1):111-8, 1981
116. Leung, K.H, Post, G.B, Menzel, D.B : Glutathione S-sulfonate a sulfur dioxide metabolite, as a competitive inhibitor of glutathione S-transferase, and its reduction by glutathione reductase. Toxicol. Appl. Pharmacol. 77(3): 388- 94, 1985
117. Leung, H.W, Vang, M.J, Mavis, R.D : The cooperative interaction between vitamin E and vitamin C in suppression of peroxidation of membrane phospholipids. Biochim. Biophys. Acta. 664(2): 266,72, 1981
118. Livingstone, M, Hubel, D : Segregation of form, color, movement, and depth : anatomy physiology, and perception. Science. 240(4853): 740-9, 1988

119. Lopez, Torres, M, Perez, Campo, R, Fernandez, A, Barba, C, Barja, de, Quiroga, G : Brain glutathione reductase induction increases early survival and decreases lipofuscin accumulation in aging frogs. *J. Neurosci. Res.* 34(2): 233-42, 1993
120. Lowry, O.H, Rosenbrough, N.J, Far, A.L, Randel, R.J : Protein measurement with Folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275, 1951
121. Ludwig, S.M, Faiman, C, Dean, H.J : Insulin and insulin-receptor autoantibodies in children with newly diagnosed IDDM before insulin therapy. *Diabetes.* 36(4): 420-5, 1987
122. MacDonald, M.J, Gottschall, J, Hunter, J.B, Winter, K.L : HLA-DR4 in insulin-dependent diabetic parents and their diabetic offspring : a clue to dominant inheritance. *Proc Natl. Acad. Sci. USA.* 83(18) : 7049-53, 1986
123. Machlin, L.J, Bendich, A : Free radical tissue damage : protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J.* 1 (6): 441-5, 1987
124. Mariani, E, Moroe, G, Golucci, G.B : Study of visual evoked potentials in diabetics without retinopathy : correlations with clinical findings and polyneuropathy. *Acta Neurol. Scand.* 81: 337-40, 1990
125. Marisa, H.G, Medeiros, M.S, Etelvino, J.N, Bechara, E.J.H : Oxygen toxicity and hemoglobinemia in subjects from a highly polluted town. *Arch. Environ. Health.* 38(1):11-15, 1983
126. Marx, G, Chevion, M : Site-specific modification of albumin by free radicals. Reaction with copper (II) and ascorbate. *Biochem. J.* 236(2): 397-400, 1986
127. Matkovics, B, Varga, S, I, Szabo, L, Witas, H : The effect of diabetes on the activities of the peroxide metabolism enzymes. *Horm. Metab. Res.* 14: 77-79, 1982
128. Mazumdar, S, Sussman, N : Relationships of air pollution to health : Results from the Pittsburgh study. *Arch. Environ. Health.* 38(1) :17-24, 1983

129. McDonald, M.J : Hypothesis : The frequencies of juvenile diabetes in American Blacks and caucasians are consistent with dominant inheritance. *Diabetes*. 29:110-114, 1980
130. Misra, H.P, Fridovich, L : The role of superoxide anion in the autooxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.* 247: 3170-75, 1972
131. Monnier, V.M, Vishwanath, V, Frank, K.E, Elmets, C.A, Dauchot, P, Kohn-R.R : Relation between complications of type I diabetes mellitus and collagen-linked fluorescence. *New. Eng. J. Med.* 314(7): 403-8, 1986
132. Mottley, C, Harman, L, Mason, R.P : Microsomal reduction of bisulfite (aqueous sulfur dioxide) sulfur dioxide anion free radical formation by cytochrome P-450. *Biochem. Pharma.* 34(16): 3005-8, 1985
133. Mottley, C, Mason, R.P, Chignell, C.F, Sivarajah, K, Eling, T.E : The formation of sulfur trioxide radical anion during the prostaglandin hydroperoxidase-catalyzed oxidation of bisulfite (hydrated sulfur dioxide). *J. Biol. Chem.* 257(9): 5050-5, 1982
134. Mottley, C, Trice, B, Mason, R.P : Direct detection of the sulfur trioxide radical anion during the horseradish peroxidase-hydrogen peroxide oxidation of sulfite (aqueous sulfur dioxide). *Mol. Pharmacol.* 22(3): 732-7, 1982
135. Murata, T, Nishida, T, Eto, S, Mukai, N : Lipid peroxidation in diabetic rat retina. *Met. Pediatr. Ophthalmol.* 5: 83-87, 1981
136. National Diabetes Data Group : Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *Diabetes*. 28(12):1039-57, 1979
137. Nishigaki, L, Hagihara, M, Tsunekawa, H, Moseki, M, Yoyi, K : Lipid peroxide levels of serum lipoprotein fractions of diabetic patients. *Biochem. Med.* 25: 373-78, 1981
138. Noverasco, M, Odetti, P, Baeri, D, Molello, M, Adezat, L : Malondialdehyde (MDA) level in diabetic subjects. Relationship with blood glucose and glycosylated hemoglobin. *Biomed. Pharmacother.* 45:193-96, 1991

139. Oberley, L.W : Free radicals and diabetes. *Free.Radic.Biol.Med.* 5(2):113-24, 1988
140. Oda, A, Bannai, C, Yamaoka T Katori, T, Matsushima, T, Yamashita,K : Inactivation of Cu, Zn-superoxide dismutase by in vitro glycosylation and in erythrocytes of diabetic subjects. *Horm.Metab.Res.* 26:1-4, 1994
141. Olefsky, J.M, Kolterman, O.G, Scarlett, J.A : Insulin action and resistance in obesity and noninsulin-dependent type II diabetes mellitus. *Am.J.Physiol.* 243(1): E15-30, 1982
142. Otto, D.A, Hudnell, H.K, Boyes, W.K, Janssen, R, Dyer, R : Electrophysiological measures of visual and auditory function as indices of neurotoxicity. *Toxicology.* 49: 205-18, 1988
143. Otto, D.A, Hudnell, H.K : The use of visual and chemosensory evoked potentials in environmental and occupational health. *Environ. Res.* 62:159-171, 1993
144. Paglia, D.E, Valentine, W.N : Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J.Lab.Clin. Med.* 70:158-69, 1967
145. Pal Y.B : Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol.Rev.* 74 (1):139-162, 1994
146. Parving, H.H, Viberti, G.C, Koen, H, Christiansen, J.S, Lassen, N.A : Hemodynamic factors in the genesis of diabetic microangiopathy. *Metabolism.* 32: 943-949, 1989
147. Pieper, G.M, Jordan, M, Dondlinger, L.A, Adams, M.B, Roza, A.M : Peroxidative stress in diabetic blood vessels. *Diabetes.* 44: 884-889, 1995
148. Pociot, E, Reimers, J.L, Andersen, H.U : Nicotinamide-biological actions and therapeutic potential in diabetes prevention. *Diabetologia.* 36: 574-76, 1993
149. Pyke, D.A : Diabetes : the genetic connections. *Diabetologia.* 17(6): 333-43, 1979
150. Rebert, C.S : Multisensory evoked potentials in experimental neurotoxicology. *Neurobehav. Toxicol. Teratol.* 5: 659-671, 1983

163. Sima, A.A.F, Zhang, W.X, Cherian, P.V, Chakrabarti, S : Impaired visual evoked potential and primary axonopathy of the optic nerve in the diabetic BB/V1/-rat. *Diabetologia* 35: 602-607, 1992
164. Srikanta, S, Ricker, A.T, McCulloch, D.K, Soeldner, J.S, Eisenbarth- G.S, Palmer, J.P : Autoimmunity to insulin, beta cell dysfunction, and development of insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes*. 35(2):139-42, 1986
165. Stewart, L.L, Field, LL, Ross, S, McArthur, R.G : Genetic risk factors in diabetic retinopathy. *Diabetologia*. 36:1293-98, 1993
166. Stocks, J, Offerman, E.L, Modell, C.B, Dormandy, T.L : The susceptibility to autooxidation of human red cell lipids in health and disease. *Br.J.Hematol.* 23: 713-724, 1972
167. Szopa, T.M, Titchener, P.A, Porthwood, N.D, Taylor, K.W : Diabetes mellitus due to viruses-some recent developments. *Diabetologia*. 36: 687-95, 1993
168. Taskinen, M.R, Nikkila, E.A : Lipoprotein lipase activity of adipose tissue and skeletal muscle in insulin deficient human diabetes relation to high density and very-low-density lipoproteins and response to treatment. *Diabetologia*.17: 391-56, 1979
169. Tattersall, R.B, Pyke, D.A : Diabetes in identical twins. *Lancet*. 25 : 2(787):1120-5, 1972
170. TC Başbakanlık DİE Haber Bülteni. Tarih: 28.2.1995 Sayı B.02.1 D.İ.E 0.19.00.01 /906-23.
171. Thomas, C.E, Aust, S.D : Rat liver microsomal NADPH-dependent release of iron from ferritin and lipid peroxidation. *J.Free Radic, Biol. Med.*1 (4): 293-300, 1985
172. Tietz, N.W : Chapter 15, Biochemical aspects of hematology. Pp,1532-1534, *Textbook of Clinical Chemistry*, 1986
173. Todd, J.A, BeII, J.L, McDevitt, H.O : HLA,DQ beta gene contributes to susceptibility and resistance to insulin-dependent diabetes mellitus. *Nature*.15-21; 329(6140): 599-604, 1987

151. Rimmer, T, Fleming, J, Kohner, E.M : Hypoxic viscosity and diabetic retinopathy. *Br.J.Ophthalmol.* 74: 400-404, 1990
152. Rivett, A.J : High molecular mass intracellular proteases. *Biochem-J.* 263(3): 625-33, 1989
153. Rossini, A.A, Like, A.A, Chick, W.L, Appel, M.C, Cahill, G.F Jr : Studies of streptozotocin-induced insulinitis and diabetes. *Proc.Natl.Acat.Sci. USA.* 74(6): 2485-9, 1977
154. Sadrzadeh, S.M, Graf, E, Panter, S.S, Hallaway, P.E, Eaton, J.W : Hemoglobin and biologic fenton reagent. *J. Biol. Chem.* 259(23): 14354-6, 1984
155. Sagone, A.L, Greenwald, J, Kraut, E.H, Bianchine, J, Sing, D : Glucose : a role as a free radical scavenger in biological systems. *J.Lab.Clin.Med.* 101:97 97-104, 1983
156. Sargent, F : Air pollution. A problem for human ecology. *Arch.Environ.Health.* 14(1) : 35-40, 1967
157. Sato,Y, Hotta, N, Sakamoto, N, Matsuoka, S, Ohishi, N, Yagi, K : Lipid peroxide level in plasma of diabetic patients. *Biochem.Med.* 21 (1):104-7, 1979
158. Savage, P.J, Bennion, L.J, Bennett, P.H : Normalization of insulin and glucagon secretion in ketosis-resistant diabetes mellitus with prolonged diet therapy. *J.Clin.Endocrinol. Metab.* 49(6): 830-3, 1979
159. Schnider, S.L, Kohn, R.R : Glucosylation of human collagen in aging and diabetes mellitus. *J.Clin.Invest.* 66(5):1179-81, 1980
160. Shapiro, R : Genetic effects of bisulfite (sulfur dioxide). *Mutat.Res.* 39(2):149-75, 1977
161. Sheehy, M.J, Scharf, S.J, Rowe, J.R, Neme-de-Gimenez, M.H, Meske, L.M, Erlich, H.A, Nepom, B.S : A diabet-susceptible HLA haplotype is best defined by a combination of HLA-DR and DQ alleles. *J.Clin.Invest.* 83(3): 830-5, 1989
162. Shi, X : Generation of SO_3^- and OH radicals in $\text{SO}_3(2^-)$ reactions with inorganic environmental pollutants and its implications to $\text{SO}_3(2^-)$ toxicity. *J.Inorg-Biochem.* 56(3) : 155-65, 1994

174. Urban, P, Lukas, P : Visual evoked potentials in rotogravure printers exposed to toluene. Br.J.Ind. Med. 47: 819-23, 1990
175. Uy, R, Wold, F : Posttranslational covalent modification of proteins. Science.198(4320): 890-6, 1977
176. Vague, P, Moulm, J.P : The defective glucose sensitivity of the B cell in non insulin dependent diabetes. Improvement after twenty hours of normoglycaemia. Metabolism. 31 (2):139-42, 1982
177. Velho, G, Vaxillair, M, Boccio, V, Ciharpentier, G, Froguel, P : Diabetes complications in NIDDM kindreds linked to the MODY3 Locus on chromosome 12q. Diabetes Care.19(9): 915-19, 1996
178. Walker, R, Bone, A.J, Cooke, A, Baird, J.D : Distinct macrophage subpopulations in pancreas of prediabetic BB/E rats. Possible role for macrophages in pathogenesis of IDDM. Diabetes. 37(9) : 1301-4, 1988
179. Wendel, A, Cikryt, P : The level and half-life of glutathione in human plasma. FEBS-Lett.120(2): 209-11, 1980
180. Wilson, J.D, Braunwald, E, Isselbacher, K.J, Petersdorf, R.G, Martin, J.B, Fauci, A.S, Root, R.K : Chapter 319, Diabetes mellitus. pp 1739-1758, Harrison's Principles of Internal Medicine, 1991
181. Wilson, J.D, Foster, D.F : Chapter 24, Diabetes mellitus. pp,1255-1333 Williams Textbook of Endocrinology, 1992
182. Winegrad, A.L : Banting lecture 1986. Does and common mechanism induce the diverse complications on diabetes. Diabetes. 36(3): 396-406, 1987
183. Winyard, P, Lunec, J, Brailsford, S, Blake, D : Action of free radical generating systems upon the biological and immunological properties of caeruloplasmin. Int. J. Biochem. 16(12) : 1273-8, 1984

184. Wohaieb, S.A, Godin, D.V : Alterations in tissue antioxidant systems in the spontaneously diabetic (BB Wistar) rat. *Can.J.Physiol.Pharmacol.* 65: 2191-2195, 1987
185. Wolff, S.P, Dean, R.T : Fragmentation of proteins by free radicals and its effect on their susceptibility to enzymic hydrolysis, *Biochem.J.* 234(2) : 399-403, 1986
186. Xintaras, C, Johnson, B.L, Ulrich, C.E, Terril, R.E, Sobecki, M.F : Application of evoked response technique in air pollution toxicology. *Toxicology and App.Pharma.* 8: 77-87, 1966
187. Yalman, A : Oksijen radikalleri. *Sendrom,* 2(5): 83-85, 1990
188. Yaltkaya, K, Balkan, S, Baysal, AL : Visual evoked potentials in diabetes mellitus. *Acta Neurol. Scand.* 77: 239-41, 1988
189. Yamada, K, Nonaka, K, Hanafusa, I, Miyazaki, A, Toyoshima, H, Tarui, S : Preventive and therapeutic effects of large-dose nicotinamide injections on diabetes associated with insulinitis. An observation in nonobese diabetic (NOD) mice. *Diabetes.* 31 (9): 749-53, 1982
190. Yonemura, Y, Takashima, I, Matsuda, Y, Miwa, K, Sugiyama, K, Miyazaki, L, Yamamoto, H, Okamoto, H : Induction of islet B-cell regeneration in partially pancreatectomized rats by poly (ADP-ribose) syntnetase inhibitors. *Int. J. Pancreatol.* 3(1) : 73-82, 1988
191. Zoppini, G, Targher, G, Monaune, T, Faccini, G, Pasqualini, E, Martinelli, C, Zenari, M, Muggeo, M : Increase in circulating products of lipid peroxidation in smokers with IDDM. *Diabetes Care.* 19 (11) : 1233-36, 1996