

ISSN 1015 • 3918



**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
ECZACILIK FAKÜLTESİ
DERGİSİ**

**JOURNAL OF FACULTY OF PHARMACY
OF
ANKARA UNIVERSITY**

**Cilt / Vol : 31
Sayı/No : 1
Yıl/Year: 2002**



**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
ECZACILIK FAKÜLTESİ
DERGİSİ**

**JOURNAL OF FACULTY OF PHARMACY
OF
ANKARA UNIVERSITY**

**Cilt/Vol : 31
Sayı/No : 1
Yıl/Year: 2002**

Ankara - 2002

ANKARA ÜNİVERSİTESİ ECZACILIK FAKÜLTESİ DERGİSİ
(Ankara Ecz.Fak.Derg.)

Sahibi: Prof. Dr. Seçkin ÖZDEN

Editör : Prof. Dr. Feyyaz ONUR

Danışma Kurulu:

Nazire ÖZKAL	(Ankara Üniversitesi, Ankara, Türkiye)
Nuray ARI	(Ankara Üniversitesi, Ankara, Türkiye)
John S.DAVIES	(University of Wales, Swansea, İngiltere)
Diana ANDERSON	(University of Bradford, Bradford, İngiltere)
Peter Christian SCHMIDT	(Eberhard-Karls Universitaet, Tübingen, Almanya)
Muzaffer TUNCEL	(Anadolu Üniversitesi, Eskişehir, Türkiye)
Yusuf ÖZTÜRK	(Anadolu Üniversitesi, Eskişehir, Türkiye)
Ayşegül DEMİRHAN ERDEMİR	(Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye)
İhsan ÇALIŞ	(Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye)
Toru OKUYAMA	(Meiji Pharmaceutical University, Tokyo, Japonya)
Muhammad Iqbal CHOUDARY	(University of Karachi, Karachi, Pakistan)
Thomas J.SCHMIDT	(Universitaet Dusseldorf, Dusseldorf, Almanya)
Jack WOOLLEY	(Leicester University, Leicester, İngiltere)
Henk TIMMERMANN	(Vrije Universiteit, Amsterdam, Hollanda)
Sevil AŞICI	(Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye)

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi farmasötik bilimler alanındaki önemli gelişmeleri içeren orijinal araştırmalar, derlemeler ve kısa bildirimler için uluslararası bir yayın ortamıdır. Bu dergi yılda 4 sayı yayınlanır. Yayımlanan yazıların sorumluluğu yazar(lar)ına aittir. Dergiye gönderilen makalelerin daha önce tamamen veya kısmen başka bir yerde yayınlanmamış veya yayını için başka bir yere başvuruda bulunulmamış olması gereklidir. Makaleler derginin arka sayfalarında yer alan yazım kurallarına uymalıdır.

Bu dergi, Chemical Abstracts (CA), Excerpta Medica Database (EMBASE), Medicinal Aromatic Plants Abstracts (MAPA) ve Türk Tıp Dizini 'nde indekslenmektedir.

Web adresi: www.pharmacy.ankara.edu.tr/journal

Yazışma adresi:

Prof. Dr. Feyyaz ONUR

Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı,

06100 Tandoğan - Ankara, *e-mail:* onur@pharmacy.ankara.edu.tr

Tel: (0312) 212 68 05, *Fax:* (0312) 213 10 81

Editör Yardımcıları:

- Doç. Dr. Gülbin ÖZÇELİKAY *e-mail:* gozcelik@pharmacy.ankara.edu.tr

- Yard. Doç. Dr. Canan KUŞ *e-mail:* kus@pharmacy.ankara.edu.tr

Ankara Üniversitesi Basımevi

2002

JOURNAL OF FACULTY OF PHARMACY OF ANKARA UNIVERSITY
(*J. Fac. Pharm. Ankara*)

Published by : Prof. Dr. Seçkin ÖZDEN
Editor : Prof. Dr. Feyyaz ONUR

Editorial Board:

Nazire ÖZKAL	(Ankara University, Ankara, Turkey)
Nuray ARI	(Ankara University, Ankara, Turkey)
John S.DAVIES	(University of Wales, Swansea, U.K.)
Diana ANDERSON	(University of Bradford, Bradford, U.K.)
Peter Christian SCHMIDT	(Eberhard-Karls Universitaet, Tubingen, Germany)
Muzaffer TUNCEL	(Anadolu University, Eskişehir, Turkey)
Yusuf ÖZTÜRK	(Anadolu University, Eskişehir, Turkey)
Ayşegül DEMİRHAN ERDEMİR	(Uludağ University, Bursa, Turkey)
İhsan ÇALIŞ	(Hacettepe University, Ankara, Turkey)
Toru OKUYAMA	(Meiji Pharmaceutical University, Tokyo, Japan)
Muhammad Iqbal CHOUDARY	(University of Karachi, Karachi, Pakistan)
Thomas J.SCHMIDT	(Universitaet Dusseldorf, Dusseldorf, Germany)
Jack WOOLLEY	(Leicester University, Leicester, U.K.)
Henk TIMMERMANN	(Vrije Universiteit, Amsterdam, The Netherlands)
Sevil AŞICI	(Ege University, İzmir, Turkey)

Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University is an international medium for the publication of original research reports, reviews and short communications on relevant developments in pharmaceutical sciences. This journal is published quarterly. All the articles appeared in this journal are published on the responsibility of the author(s). The manuscript submitted to the journal should not be published previously as a whole or in part and not be submitted elsewhere. The manuscripts should be prepared in accordance with the requirements specified at the end of the issue.

This journal is indexed in Chemical Abstracts (CA), Excerpta Medica Database (EMBASE), Medicinal Aromatic Plants Abstracts (MAPA) and Turkish Medical Index

Web address : www.pharmacy.ankara.edu.tr/journal

Editorial correspondence:

Prof. Dr. Feyyaz ONUR
Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Analytical Chemistry,
06100 Tandoğan-Ankara, TURKEY, *e-mail:* onur@pharmacy.ankara.edu.tr
Tel: +90 312 212 68 05, *Fax:* + 90 312 213 10 81

Editorial assistants:

- Doç. Dr. Gülbin ÖZÇELİKAY *e-mail:* goz.celik@pharmacy.ankara.edu.tr
- Yard. Doç. Dr. Canan KUŞ *e-mail:* kus@pharmacy.ankara.edu.tr

İÇİNDEKİLER/CONTENTS

Sayfa

Orjinal Makaleler/ Original Articles

- Özlem YILDIRIM, Zeliha BÜYÜKBİNGÖL • **Kobalt kullanımının STZ-deneysel diyabetik sıçanların böbrek dokularında CAT, GSH-PX, SOD aktiviteleri ve lipid peroksidasyonu düzeylerine etkisi** • The effect of cobalt supplementation on CAT, GSH-PX, SOD activities and lipid peroxide levels in STZ-induced experimental diabetic rat kidney 1
- İlkay ORHAN, Şenay KÜSMENOĞLU, Bilge ŞENER • **Fatty acid profile of fresh and dried banana (*Musa sapientum* L. var. *cavendishii* Lamb.) peel oils** • Taze ve kurutulmuş muz (*Musa sapientum* L. var. *cavendishii* Lamb.) kabuk yağlarının yağ asidi profili 13
- İlkay ÖREN, Özlem TEMİZ ARPACI, İsmail YALÇIN, Esin AKI ŞENER • **QSARs of some novel bezoxazole, benzimidazole and oxazolo(4,5-b)pyridine derivatives against C a f a s ' a** • Bazı benzoksazoi, benzimidazol ve oksazolo(4,5-b)piridin türevlerinin C a f a s ' a karşı kantitatif yapı-etki ilişkileri 21
- Derlemeler/Reviews
- Aysel BEDİZ ÖLÇER, Nurşin GÖNÜL • **Perkütan absorpsiyon ve perkütan absorpsiyonu etkileyen faktörler-** Percutaneous absorption and factors influencing percutaneous absorption 33

**KOBALT KULLANIMININ STZ-DENEYSEL DİYABETİK SIÇANLARIN
BÖBREK DOKULARINDA CAT, GSH-PX, SOD AKTİVİTELERİ VE LİPİD
PEROKSİDASYONU DÜZEYLERİNE ETKİSİ**

THE EFFECT OF COBALT SUPPLEMENTATION ON CAT, GSH-PX, SOD
ACTIVITIES AND LIPID PEROXIDE LEVELS IN STZ-INDUCED
EXPERIMENTAL DIABETIC RAT KIDNEY

Özlem YILDIRIM* **Zeliha BÜYÜKBİNGÖL****

Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Anabilim Dalı,
06100 Tandoğan, ANKARA

**Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, 06100 Tandoğan,
ANKARA

ÖZET

Serbest radikallerin diyabette çeşitli komplikasyonlara neden olduğu bildirilmektedir. Günümüze kadar yapılmış olan pekçok çalışma ile, serbest radikallerin oluşumunda geçiş metallerinin önemli rol oynadıkları gösterilmiştir. Öte yandan kobaltın kan şekerini düşürücü etkisi olduğu da öne sürülmektedir. Bu noktadan hareketle çalışmamızda streptozotozin (STZ) ile deneysel diyabet oluşturulan sıçanlara, kobalt (II) klorür uygulanmış (0,5 mM) ve 2, 4 ve 6. haftalarda böbrek doku örnekleri alınarak bu örneklerde katalaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz aktiviteleri ile TBARS düzeyleri ölçülmüştür. Diyabetik sıçanların böbrek dokularında, 2, 4 ve 6. haftalarda katalaz, glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz. aktivitelerinde kobalt uygulaması ile birlikte azalma görülmektedir. Bunun yanında kobalt, diyabette artan TBARS düzeylerinde de düşüşe neden olmaktadır. Sonuç olarak, kobalt kullanımının diyabette böbrek dokularında, artan oksidan stresin azalmasında ve/veya önlenmesinde önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Diyabet kobalt, antioksidan enzimler, lipid peroksidasyonu.

ABSTRACT

It has been stated that free radicals cause several complications in diabetics. Several researches until now showed that, trace elements play an important role in formation of free radicals. On the other hand, it is claimed that cobalt has a blood glucose lowering effect. From this point of view, in streptozotocin (STZ) induced diabetic rats were given cobalt (II) chloride (0,5 mM), kidney samples were taken from each group at the 2nd, 4th and 6th weeks and the activities of catalase, glutathione

peroxidase, superoxide dismutase and levels of TBARS were analysed. In STZ-induced diabetic rat kidney, it has been indicated that there was a decrease in the catalase, glutathione peroxidase and superoxide dismutase activities of the tissues upon administration. Moreover, cobalt also reduced TBARS levels which are increased in diabetes. As a result, we believe that at the early stage of diabetes, the cobalt dose which was used in this study can be considered as appropriate as regards regulation of oxidative and antioxidative systems.

Key words: Diabetes mellitus, cobalt, antioxidative enzymes, lipid peroxide.

GİRİŞ

Aerobik canlıların yaşamlarını sürdürebilmeleri için gerekli olan oksijenin indirgenme ürünleri olarak oluşan reaktif oksijen türlerinin (ROS), organizma için toksik etkiler yarattığı bildirilmektedir (1-3). Bilindiği gibi biyolojik sistemde, ROS'nin toksik etkilerinin ortadan kaldırılmasında antioksidan savunma sistemleri görev almaktadır. Organizmada, serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma sistemlerinin birbirleriyle etkileşimlerinin gerek normal hücre fonksiyonlarının devamında, gerekse patolojik olayların gelişmesinde ve/veya önlenmesinde ya da oluşan patolojinin mekanizmasının anlaşılmasında önemli olduğu gösterilmiştir (4-6).

Antioksidan savunma sistemlerindeki değişikliklerin saptandığı çok sayıdaki hastalıkların en önemlilerinden birisi de diabetes mellitustur. Kısaca diyabet olarak tanımlanan, çeşitli popülasyonlarda oldukça sık rastlanan, pekçok ölümcül komplikasyonu beraberinde getiren bir hastalıktır. Hiperglisemi, hiperlipidemi, glukozüri, polifaji, polidipsi ve ketoasidoz ile belirlenen bu hastalığın komplikasyonları arasında başta kardiyovasküler bozukluklar olmak üzere diyabetin ilerleyen dönemlerinde mikro ve makroanjyopatiler, otonomik nöropati, retinopati ve nefropatiler yer almaktadır. Diyabetin yol açtığı bu komplikasyonların gelişiminde oksidan stresin önemli rolü olduğuna ilişkin pek çok araştırma yapılmıştır (7-14).

Vanadat, kobalt, nikel, çinko, molibdat, selenyum, lityum, magnezyum gibi eser elementlerin insulin benzeri etki göstermeleri nedeniyle diyabette kullanılışı günümüzde giderek önem kazanmaktadır (15-21). Yapılan araştırmalarda, kobalt (II) klorür uygulanan tavşanların pankreatik hücrelerinden insülin salgılanmasının (22), sıçanlarda ise glukoz transportunun arttığı ve kobaltın insülin benzeri etkisinin olduğu saptanmıştır (23). Sıçan karaciğer hücre kültürleri ile yapılan bir başka çalışmada oksidatif fosforilasyonun engellenmesi ile glukoz transportunun uyarıldığı ve GLUT-1 gen ekspresyonunun kobalt klorürle indüklendiği gösterilmiştir (24). Yine aynı çalışmada diyabetik sıçanların içme sularına eklenen 2mM CoCl₂'ün serum insülin konsantrasyonundan bağımsız olarak kan glukoz düzeylerinde düşüşe

neden olduğu bildirilmiştir. Kobalt klorürün kan glukozunu düşürücü etkisi ile ilgili olarak yapılan bir başka çalışmada, hücrelere glukoz girişinin arttırılmasının yanında glukoz üretiminin azaltılmasındaki rolü araştırılmış ve CoCl_2 'ün insülin benzeri etkisinin glukoz salımındaki ve glukoneogenezdeki azalmayla ilişkili olduğu saptanmıştır (21). Ancak yapılan bu araştırmalarda, hiperglisemiye engellediği bildirilen bu metalin diyabette gelişen oksidan stres üzerine etkileri henüz açıklık kazanmamıştır.

Bu bilgilerin ışığında çalışmamız, deneysel diyabetik sıçanlarda kobalt kullanımının, dokularda antioksidan savunma sisteminde yer alan bazı enzimlerle, lipid peroksidasyonunun göstergesi olan TBARS düzeylerine etkilerini araştırmak amacı ile planlanmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Çalışmada, bakımları çelik kafeslerde, gece ve gündüz periyodunda, oda sıcaklığında yapılmış ve standart sıçan yemi ile beslenmiş, 180-220 g ağırlığında Sprague-Dawley cinsi erkek sıçanlar kullanılmıştır. Toplam 72 adet sıçan, kontrol (n=18), diyabetik (n=18), kobalt uygulanan kontrol (n=18) ve kobalt uygulanan diyabetik (n=18) grup olmak üzere 4 gruba ayrılmış ve her gruptan 2, 4 ve 6. hafta sonunda 6'şar örnek alınarak çalışmalar yapılmıştır. Diyabetik gruplara sitrat tamponu (0,1M, pH 4,5) içinde hazırlanmış streptozotolin (40 mg/kg) kuyruk veninden i.v. olarak verilmiş ve 72 saat sonraki açlık kan şekeri düzeyleri 250 mg/dL ve üzerinde olanlar diyabetik grup olarak ayrılmıştır. Diğer gruplara kuyruk veninden sadece sitrat tamponu (0,1M, pH 4,5) uygulanmıştır. Kobalt uygulanan kontrol ve diyabetik gruplar, 0,5 mM kobalt II klorür içeren çeşme suyu ve standart sıçan yemi ile beslenmişlerdir. Bu şekilde beslenen sıçanlardan 2, 4 ve 6. haftalar sonunda doku örnekleri alınmıştır. Bahsedilen sürelerin sonunda sıçanlar 12 saat aç bırakıldıktan sonra kuyruk venlerinden alınan kanda glukoz düzeyleri ölçülmüş ve 750 mg/kg dozda i.p. olarak verilen uretan anestezisi altında boyunları kesilerek öldürülmüştür. Alınan böbrek dokuları soğuk serum fizyolojik ile yıkanarak kandan arındırıldıktan sonra analizler yapılncaya kadar -80°C 'lik derin dondurucuda saklanmıştır.

Sıçanların kan glukoz düzeyleri, Bayer glucometer 3 ames diagnostic model 5499 kan şekeri analizörü kullanılarak ölçülmüştür.

Dokular % 1,15 lik KCl içinde homojenize edilmiş ve 1,000 g ve 10,000 g doku homojenatlarından süpernatantlar hazırlanmıştır.

Doku homojenatlarında protein miktarları Lowry ve arkadaşlarının önerdiği yöntemle tayin edilmiş (25), standart olarak sığır serum albümini kullanılmıştır.

Böbrek dokularının katalaz aktivitelerinin tayini Aebi'nin geliştirdiği spektrofotometrik yöntemle yapılmıştır (26). Reaksiyon ortamı (1 ml), fosfat tamponu (50mM, pH 7) içinde hazırlanmış homojenat ve hidrojen peroksit (30 mM) içermekte ve yöntem, hidrojen peroksinin katalaz tarafından parçalanması ile orantılı olarak 240 nm'de absorpsiyon azalmasının ölçümü esasına dayanmaktadır. Sonuçlar, mg protein/sn başına düşen 1. dereceden hız sabiti olarak verilmiştir.

Selenyuma bağımlı glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi, NADPH oksidasyonunun azalmasının 340 nm'de spektrofotometrik olarak izlenmesi esasına dayanan yöntemle belirlenmiştir (27). Fosfat tamponu (76 mM), NADPH (0,1 mM), GSH (4 mM), glutatyon redüktaz (1,5 Ü), hidrojen peroksit (3 mM) ve 10,000 g süpernatant proteini (0,2 mg) içeren 1 ml'lik reaksiyon ortamından elde edilen sonuçlar, mg protein/dk başına okside olan NADPH (μ mol) olarak verilmiştir.

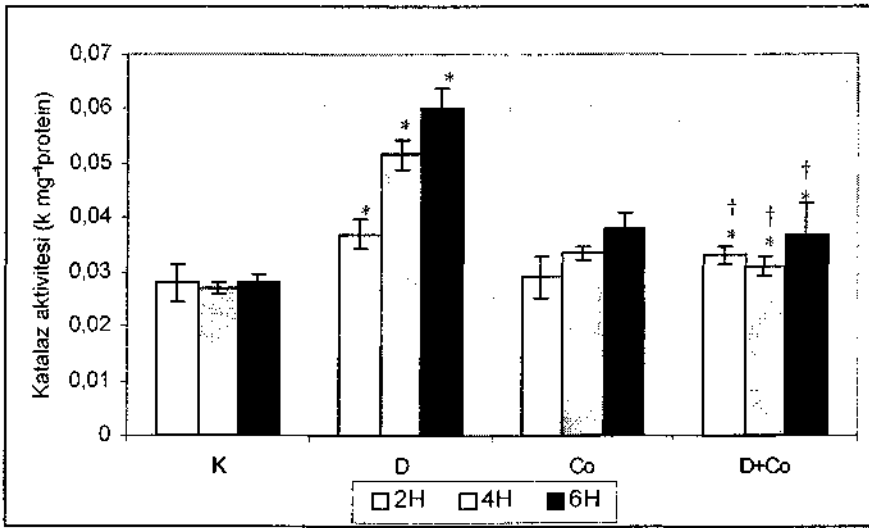
Böbrek dokularının, süperoksit dismutaz aktivitesinin tayini Kostyuk ve Potapovich'in önerdiği yöntemle gerçekleştirilmiştir (28). Quercetin'in otooksidasyonuna dayanan bu yöntemde sonuçlar Ü/mg protein olarak değerlendirilmiştir.

Doku homojenatlarında lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA ölçümü ise, Uchiyama ve Mihara'nın (29) yöntemi uygulanarak yapılmıştır. MDA'nın asidik ortamda tiobarbitürik asitle oluşturduğu rengin 535 nm'de absorpsiyonunun ölçülmesi esasına dayanan çalışmada sonuçlar nmol MDA / mg protein olarak verilmiştir.

Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmeleri "SPSS for Windows Version 5.1" paket programı ile yapılmıştır. Değerlendirmelerde tek yönlü varyans analizi, Kruskal-Wallis varyans analizi ve Wilcoxon testi kullanılmıştır.

SONUÇ ve TARTIŞMA

Diyabetik komplikasyonların gelişiminde, oksijen serbest radikallerinin oluşumu ile birlikte antioksidan sistem değişikliklerinin oldukça önemli bir yer tuttuğu daha önce yapılan araştırmalarda bildirilmektedir (30-32). Bu nedenle, diyabetin erken safhasında oluşan oksidatif stres üzerine kobaltın etkilerini araştırdığımız çalışmamızda böbrek dokularındaki katalaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve TBARS düzeylerine ait 2, 4, 6 haftalık çalışmanın sonunda elde ettiğimiz veriler sırasıyla, Şekil 1-4'de gösterilmiştir.

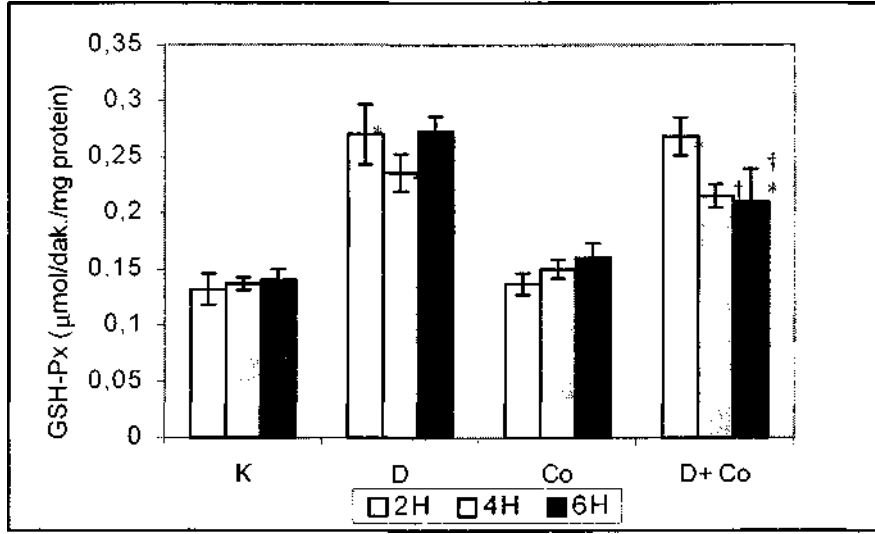


Şekil 1. Böbrek katalaz aktiviteleri (K; kontrol, D; diyabetik, Co; kobalt (II) klorür uygulanan kontrol, D+Co; kobalt (II) klorür uygulanan diyabetik sıçanlar; 2H; 2 haftalık, 4H; 4 haftalık, 6H; 6 haftalık çalışmanın sonundaki veriler)

* K ve Co gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$)

† D gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$)

2, 4 ve 6 haftalık çalışmaların sonucunda sıçanların böbrek katalaz aktivitelerinde saptanan en yüksek değer, diyabetik sıçanlarda görülmüştür ($p < 0,001$, Şekil 1). Diyabetle birlikte böbrek katalaz aktivitesinin arttığı yapılan çalışmalarda da gösterilmiş (33) ve katalaz mRNA düzeylerindeki artışın diyabet sonucu oluşan serbest radikal konsantrasyonundaki artıştan kaynaklandığı bildirilmiştir (34). Çalışmamızda, 2, 4 ve 6 haftanın sonunda sıçanların böbrek katalaz aktivitelerinde diyabetle beraber artan enzim aktivitesinin, kobalt (II) klorür kullanımıyla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı saptanmıştır ($p < 0,001$). Daha önce yapılan bir çalışmada kobaltın, hem sentezini inhibe ederek ve/veya yıkımını artırarak katalaz miktarında azalmaya neden olabileceği bildirilmiştir (35). Yapılan bir başka çalışmada, kontrol hayvanlarda kobalt kullanımının karaciğer katalaz aktivitesinde azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (36).



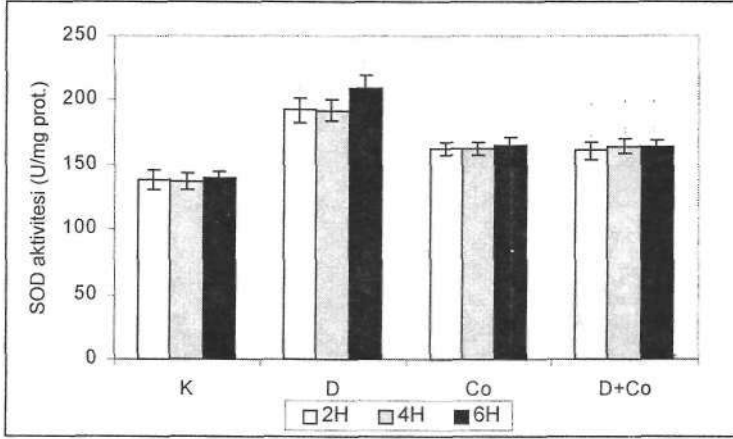
Şekil 2. Böbrek dokusundaki Glutasyon Peroksidaz enzim aktiviteleri

* K ve Co gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$)

† D gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$)

Böbrek glutasyon peroksidaz aktivitelerinde, Co uygulanan kontrol grupları hariç diğer grupların tümünde kontrole göre anlamlı bir artış söz konusudur ($p < 0,001$, Şekil 2). Çalışılan bütün haftalarda, diyabetik grupların GSH-Px aktivitelerinde saptanan artış, Kakkar ve ark., 1997 yılında yaptığı bir çalışma ile paralellik göstermektedir. Çalışmamızda, kontrol ile kobalt uygulanan kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamasına ($p > 0,05$) karşın, kobaltın böbrek dokularındaki GSH-Px aktivitelerini 4. haftadan başlayarak azalttığı görülmüştür ($p < 0,001$).

Şekil 3 de böbrek SOD aktivite sonuçları sunulmuştur. Buna göre bütün hafta ve gruplarda, SOD aktiviteleri kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde artmıştır ($p < 0,001$). Diyabetik sıçanların böbrek SOD aktiviteleri diğer gruplardan yüksek bulunmuştur ($p < 0,001$). Bu sonuç, diyabetik sıçanların böbrek dokularında yapılan diğer çalışmalarla da paralellik göstermektedir (34,35). Çalışmamızda, 2, 4 ve 6 hafta süresince kobalt (II) klorür uygulanan diyabetik sıçanların süperoksit dismutaz aktivitelerinin diyabetik gruba oranla azaldığı saptanmıştır ($p < 0,001$). Elde ettiğimiz sonuçlardan da anlaşılacağı gibi kobaltın, diyabetle beraber artan SOD aktivitesinin düşmesine neden olduğu görülmüştür.



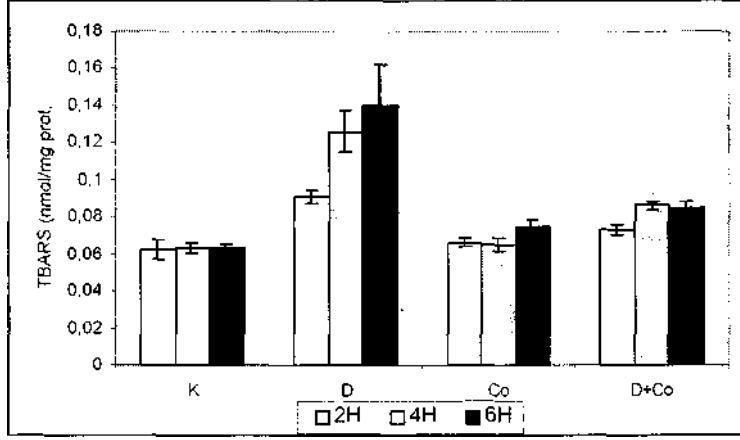
Şekil 3. Süperoksit dismutaz aktiviteleri

* Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$)

† D gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$)

TBARS sonuçlarına göre, tüm grupların TBARS düzeyleri kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmıştır ($p < 0,001$, Şekil 4). Gruplar arasındaki en fazla artış diyabetik sıçanların TBARS düzeylerinde görülmüştür ($p < 0,001$). Yapılan araştırmalarda, oksidan stresin en önemli göstergelerinden biri olan lipid peroksidasyonunun, diyabette çeşitli dokularda arttığı, bildirilmiştir (37-40). Bir başka çalışmada, diyabette oluşan böbrek TBARS düzeylerindeki artışın nefropatiye neden olduğu gösterilmiştir (41). Çalışmamızda, kobalt kullanımının diyabetle arttan TBARS düzeylerinde azalmaya neden olduğu saptanmıştır ($p < 0,001$). Yapılan bir araştırmada, kobaltın hem kalsiyum antagonisti olması, hem de karışık fonksiyonlu oksidazın inhibisyonuna neden olması sebebiyle lipid peroksidasyonunu engellediği bildirilmiştir (42).

Daha önce yapılan çalışmalarla da uyumlu olarak çalışmamızda, diyabetin antioksidan enzim düzeylerini arttırdığı saptanmıştır. Bununla birlikte, kobaltın diyabette antioksidan enzim aktiviteleri üzerine olan etkilerinin incelendiği bu çalışmamızda, diyabetle bozulan katalaz, glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz aktivitelerini düzenleme yönünde azalttığı görülmektedir. Ayrıca, hücredeki oksidan stresin ve lipid peroksidasyonunun göstergesi olan



Şekil 4. Böbrek dokularında TBARS düzeyleri

* K ve Co gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$)

† D gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$)

TBARS düzeylerinin diyabetle arttığı ve bu artışın kobalt (II) klorür ile baskılandığı saptanmıştır. Sonuç olarak, kobalt kullanımının diyabetik sıçanların böbrek dokularında, diyabette artan reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engellenmesinde önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir. Ancak kobalt uygulaması ile kan şekeri düzeyinin azalması ve kobaltın diyabette artan antioksidan enzimlerin düzenlenmesindeki rolünün aydınlatılması yönünde daha ayrıntılı araştırmaların yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. **Armstrong, D. and Browne, R.** "The analysis of free radicals, lipid peroxides, antioxidant enzymes and compounds related to oxidative stress as applied to the clinical chemistry laboratory". Ed. D. Armstrong, Plenum Press. *Free Radic. Diagnos. Med.*, 43-58 (1994).
2. **Aruoma, O. I.** "Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants" *Food Chem. Toxicol.*, 32 (7), 671-683 (1994).
3. **Halliwell, B.** "Antioxidant and human disease: a general introduction" *Nutr. Rev.*, 55 (1), S44-S52(1997).

4. **Kanner, J., German, J. B. and Kinsella, J. E.** "Initiation of lipid peroxidation in biological systems" *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 25 (4), 317-364 (1987).
5. **Esterbauer, H., Wag, G. and Puhl, H.** "Lipid peroxidation and its role in atherosclerosis" *Br. Med. Bullet.*, 49 (3), 566-576 (1993).
6. **Halliwell, B. and Chirico, S.** "Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance" *Am. J. Clin. Nutr.*, 57: 715S-725S (1993).
7. **Bell, R. H. and Hye, R. J.** "Animal models of diabetes mellitus: physiology and pathology" *J. Surgical Res.*, 35, 433-460 (1983).
8. **White, C. R., Brock, T. A., Chang, L.-Y., Crapo, J., Briscoe, P., Ku, D., Bradley, W. A., Gianturco, S. H., Gore, J., Freeman, B. A. and Tarpey, M. M.** "Superoxide and peroxynitrite in atherosclerosis" *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 91, 1044-1048 (1994).
9. **Tesfamariam, B.** "Free radicals in diabetic endothelial cell dysfunction" *Free Radic. Biol. Med.*, 16 (3), 383-391 (1994).
10. **Kedziora-Kornatowska, K. Z., Luciak, M., Blaszyk, J. and Pawlak, W.** "Lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes in erythrocytes of patients with non-insulin dependent diabetes with or without diabetic nephropathy" *Nephrol. Dial. Transplant.*, 13: 2829-2832 (1998).
11. **Ceriello, A., Russo, P., Amstad, P. and Cerutti, P.** "High glucose induces antioxidant enzymes in human endothelial cells in culture". *Diabetes*, 45: 471-477 (1996).
12. **Kashiwagi, A., Asahina, T., Ikebuchi, M., Yanaka, Y., Takagi, Y., Nishio, Y., Kikkawa, K. and Shigeta, Y.** "Abnormal glutathione metabolism and increased cytotoxicity caused by H₂O₂ in human umbilical vein endothelial cells cultured in high glucose medium" *Diabetologia*, 37: 264-269 (1994).
13. **Vlassara, H.** "Recent progress in advanced glycation end products and diabetic complications" *Diabetes*, 46 (suppl. 2): S19-S25 (1997).
14. **Giugliano, D., Ceriello, A. and Paolisso, G.** "Oxidative stress and diabetic vascular complications" *Diabetes Care*, 19 (3): 257-267 (1996).
15. **Novelli, E. L. B. and Rodrigues, N. L.** "Effect of nickel chloride on streptozotocin-induced diabetes in rats" *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 66, 663-665 (1988).

16. **Brichard, S. M., Lederer, J. and Henquin, J. C.** "The insulin-like properties of vanadium. A curiosity or a perspective for the treatment of diabetes?" *Diabetes & Metabolism*, 17, 435-440(1991).
17. **Shisheva, A., Gefel, D. and Shechter, Y.** "Insulinlike effects of zinc in vitro and in vivo" *Diabetes*, 41, 982-988 (1992).
18. **Abrams, M. J. and Murrer, B. A.** "Metal compounds in therapy and diagnosis" *Science* 261,725-730(1993).
19. **Özçelikay, T. A., Becker, D. J., Ongemba, L. N., Pottier, A-M, Henquin, J-C. and Brichard, S. M.** "Improvement of glucose and lipid metabolism in diabetic rats treated with molybdate" *Am. J. Physiol.*, 270, E344-E352 (1996).
20. **Sundaram, R. K., Bhaskar, A., Vijayalingam, S., Viswanathan, M., Mohan, R. and Shanmugasundaram, R.** "Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus with and without complications" *Clin. Sci.*, 90, 255-260 (1996).
21. **Saker, F., Ybarra, J., Leahy, P., Hanson, R. W., Kalhan, S. C. and Ismail-Beigi, F.** "Glycemia-lowering effect of cobalt chloride in the diabetic rat: role of decreased gluconeogenesis" *Mm. J. Physiol.* 274, E984-E991 (1998).
22. **Telib, M. and Pfeiffer, E. F.** "Enhancement of reactive insulin secretion in vitro by cobalt-chloride (CoCl₂)" *Horm. Metab. Res.*, 1, 44 (1969).
23. **Eaton, R. P.** "Cobalt chloride-induced hyperlipemia in the rat: effects on intermediary metabolism" *Am. J. Physiol.*, 222 (6),1550-1557 (1972).
24. **Ybarra, J., Behrooz, A., Gabriel, A., Köseoğlu, M. H. and Ismail-Beigi, F.** "Glycemia-lowering effect of cobalt chloride in the diabetic rat: increased GLUT1 mRNA expression" *Mol. Cell. Endocrinol.*, 133, 151-160 (1997).
25. **Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L. and Randal, R. F.** "Protein measurement with the folin-phenol reagent" *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275 (1951).
26. **Aebi, H. E.** "Catalase. Methods of Enzymatic Analysis" Ed. BERGMEYER, H. U., 3: 273-286(1983).
27. **Lawrence, R. A. and Burk, R. F.** "Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver" *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 71 (4), 952-958 (1976).

28. **Kostyuk, V. A. and Potapovich, A. I.** "Superoxide-driven oxidation of quercetin and a simple sensitive assay for determination of superoxide dismutase" *Biochem. Int.*, 19 (5): 1117-1124(1989).
29. **Uchiyama, M. and Mihara, M.** "Determination of malondialdehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test" *Anal. Biochem.*, 86, 271-278 (1978).
30. **Gillery, P., Monboisse, J.-C, Maquart, F.-X. and Borel,Ç J.-P.** "Does oxygen free radical increased formation explain long term complications of diabetes mellitus?" *Med. Hypothes.*, 29, 47-50 (1989).
31. **Baynes, J. W.** "Role of oxidative stress in development of complications in diabetes" *Diabetes*, 40, 405-412 (1991).
32. **Baynes, J. W. and Thorne, S.** "Role of oxidative stress diabetic complications: a new perspective on an old paradigm" *Diabetes*, 48: 1-9 (1999).
33. **Kakkar, R., Mantha, S. V., Radhi, J., Prasad, K. and Kalra, J.** "Antioxidant defense system in diabetic kidney: a time course study" *Life Sci.*, 60 (9): 667-679 (1997).
34. **Llesuy, S. F. and Tomaro, M. L.** "Heme oxygenase and oxidative stress. Evidence of involvement of bilirubin as physiological protector against oxidative damage" *Biochim. Biophys. Acta*, 1223, 9-14 (1994).
35. **Sechi, L. A., Ceriello, A., Griffin, C. A., Catena, C, Amstad, P., Schambelan, M. and Bartoli, E.** "Renal antioxidant enzyme mRNA levels are increased in rats with experimental diabetes mellitus" *Diabetologia*, 40, 23-29 (1997).
36. **Yasukochi, Y., Nakamura, M. and Minakami, S.** "Effect of cobalt on the synthesis and degradation of hepatic catalase in vivo" *Biochem. J.*, 144, 455-464 (1974).
37. **Rungby, J., Flyvbjerg, A., Anderson, H. B. and Nyborg, K.** "Lipid peroxidation in early experimental diabetes in rats: effects of diabetes and insulin" *Acta Endocrinol.*, 126, 378-380(1992).
38. **Mukherjee, B., Mukherjee, J. R. and Chatterjee, M.** "Lipid peroxidation, glutathione levels and changes in glutathione-related enzyme activities in streptozotocin-induced diabetic rats" *Immun. Cell Biol.*, 72, 109-114 (1994).
39. **Garg, M. C, Ojha, S. and Bansal, D. D.** "Antioxidant status of streptozotocin diabetic rats" *Ind. J. Exp. Biol.*, 34, 264-266 (1996).

40. **Tatsuki, R., Satoh, K., Yamamoto, A., Hoshi, K. and Ichihara, K.** "Lipid peroxidation in the pancreas and other organs in streptozotocin diabetic rats" *Jpn. J. Pharmacol.*, 75, 267-273(1997).
41. **Asayama, K., Hayashibe, H., Dobashi, K., Niitsu, T., Miyao, A. and Kato, K.** "Antioxidant enzyme status and lipid peroxidation in various tissues of diabetic and starved rats" *Diabetes Res.*, 12, 85-91 (1989).
42. **Murthy, P.R., Dimattia, G.E. and Friesen, H.G.** "Role of calcium in prolactin-stimulated c-myc gene expression and mitogenesis in NB2 lymphoma cells" *Endocrinology* 122, 2476-2485 (1988).

Başvuru Tarihi: 11.10.2001
Kabul Tarihi: 07.01.2002