



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***RIBES RUBRUM* L. MEYVESİNİN ANTİDİYABETİK VE
ANTİTROMBOSİT ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

GİZEM GÜLMEZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. AZİZE ŞENER

İKİNCİ DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi ALİ ŞEN

2020-İSTANBUL



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***RIBES RUBRUM* L. MEYVESİNİN ANTİDİYABETİK VE
ANTİTROMBOSİT ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

GİZEM GÜLMEZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. AZİZE ŞENER

İKİNCİ DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi ALİ ŞEN

2020-İSTANBUL

TEZ ONAY FORMU

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program türü : Yüksek Lisans
Anabilim Dalı : Biyokimya
Tez Sahibi : Gizem GÜLMEZ
Sınav Tarihi ve Saati : 03.01.2019, 13:00
Tez Başlığı : *Ribes Rubrum* L. Meyvesinin Antidiyabetik ve Antitrombosit Etkisinin incelenmesi

Bu çalışma, içerik ve kalite bakımından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Ünvan, Adı-Soyadı (Kurum adı)	İmza
Danışman	Prof. Dr. Azize ŞENER (Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi)	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Halil AKSOY (Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi)	
Üye	Doç. Dr. Tuğba YILMAZ ÖZDEN (İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi)	

ONAY

Bu tez, yukarıda isimleri bulunan jüri üyeleri tarafından "Marmara Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliği" nin ilgili maddeleri uyarınca kabul edilmiş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun08.01.2020.....tarih ve39.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması ile elde edilmemiş bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Gizem Gülmez

İmza



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca hiç bir desteğini ve samimiyetini esirgemeyen, her zaman yanımda olup bana yol gösteren, beni teşvik ve motive eden, tecrübelerini benimle paylaşan ve fikirlerimi önemseyen, akademik anlamda profesyonelliğini ve sosyal hayatımda kişiliğini kendime her zaman örnek alacağım ve kendisiyle çalışma fırsatı bulabildiğim için kendimi şanslı hissettiğim çok kıymetli hocam Prof. Dr. Azize ŞENER' e çok teşekkür ederim.

Tüm yoğunluğuna rağmen büyük bir sabırla bana zaman ayıran, deneyimlerini ve akademik bilgilerini içtenlikle benimle paylaşan, çalışma disiplinine sonsuz saygı duyduğum, güler yüzü ve samimiyetini esirgemeyen, ikinci danışmanım olan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Ali ŞEN 'e çok teşekkür ederim.

Yükseklisans eğitimim boyunca yer, zaman farketmeksizin her daim tüm içtenliği ile yanımda olan ve olacaklarına inandığım, başım sıkıştıkça çekinmeksizin her konuda kendilerine danıştığım, pozitif enerjileri ile bizi motive eden, laboratuvar çalışmalarım boyunca bana yol gösteren ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Ar. Gör. Turgut ŞEKERLER ve Ar. Gör. Duygu MISIRLI'ya teşekkür ederim.

Biyokimya Anabilim Dalı'nın değerli hocalarına tek tek teşekkür ederim.

Gülyüzü ile bana enerji veren, yardımlarını bizden esirgemeyen değerli bölüm sekreterimiz Müzeyyen BAYKAL'a teşekkür ederim.

Hayvan çalışmalarım sırasında desteğini esirgemeyen, pozitif enerjisini hissettiren Vet. Hek. Deniz Türet'e teşekkür ederim.

Bugünlere ulaşabilmemde büyük emekleri olan, hayatımın her döneminde saygı ve sevgiyle anacağım ilk öğretmenim değerli Arzum TONGUÇ'a teşekkür ederim.

Bana her zaman inanan ve destekleyen, sonsuz sabır ve şefkatle hep yanımda olan ve olacaklarına emin olduğum, bu günlere gelmemde büyük özverileri olan canım ailem; annem Saadet GÜLMEZ'e, babam Hüseyin GÜLMEZ'e, kardeşlerim Başak GÜLMEZ ile Oylum GÜLMEZ DİNÇ'e ve eşi Murat DİNÇ'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından SAG-C-YLP-120619-0212 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

No

BEYAN	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR VE SİMGELER.....	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
RESİM LİSTESİ	x
TABLO LİSTESİ.....	xi
1. ÖZET.....	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ ve AMAÇ.....	3
4. GENEL BİLGİLER.....	6
4.1. Diyabetes Mellitus	6
4.2. Diyabetes Mellitus'un Epidemiyolojisi	7
4.3. Diyabetes Mellitus'un Sınıflandırılması ve Patofizyolojisi.....	8
4.3.1. Tip 1 DM.....	9
4.3.2. Tip 2 DM.....	10
4.3.3. Diğer spesifik DM tipleri.....	11
4.3.4. Gestasyonel DM.....	13
4.4. Diyabetes Mellitus'un Tanı Kriterleri	14
4.5. Diyabetes Mellitus'un Komplikasyonları	16
4.5.1 Akut komplikasyonlar.....	16
4.5.2. Kronik komplikasyonlar.....	17
4.6. Diyabetes Mellitus'un Kardiyovasküler Komplikasyonları.....	19
4.7. Trombositler.....	22
4.7.1. Trombosit üretimi	23
4.7.2. Trombosit yapısı	24
4.7.3. Trombosit fonksiyonları	29
4.7.4. Diyabetes Mellitus ve trombositler	32
4.8. Diyabetes Mellitus'un Tedavisi.....	34
4.8.1. İnsulin tedavisi	34

4.8.2. Oral antidiyabetik ilaçlar.....	35
4.9. <i>Ribes rubrum</i> L.	38
4.10. Deneysel Diyabet Modelleri.....	40
4.10.1. Streptozotosin	41
5. GEREÇ ve YÖNTEM	43
5.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	43
5.2. Kullanılan Cihazlar ve Aletler.....	44
5.3. <i>Ribes rubrum</i> Bitki Ekstresinin Hazırlanması.....	45
5.4. <i>Ribes rubrum</i> Bitki Ekstresi ile Yapılan <i>In Vitro</i> Çalışmalar.....	46
5.4.1. DPPH• radikalini süpürücü aktivite tayini.....	46
5.4.2. ABTS ^{•+} radikalini süpürücü aktivite tayini.....	47
5.4.3. Anti-inflamatuar etkinin belirlenmesi.....	48
5.4.4. Antidiyabetik etkinin belirlenmesi.....	49
5.4.4.1. Alfa-amilaz inhibisyonunun belirlenmesi.....	49
5.4.4.2. Alfa-glukozidaz inhibisyonunun belirlenmesi.....	50
5.4.5. Toplam fenolik madde miktarının (TFM) belirlenmesi.....	51
5.4.6. Toplam flavonoid madde miktarının (TFLM) belirlenmesi.....	52
5.5. Çalışma Grupları ve Deney Protokolü	53
5.6. Kan Glukoz Değerleri ve Vücut Ağırlıkları Ölçümü.....	54
5.7. Doku ve Plazma Eldesi.....	55
5.8. Trombosit P-selektin Düzeyleri Ölçümü.....	55
5.9. Trombosit Mitokondriyal Membran Polarizasyonu.....	56
5.10. Protein Tayini.....	57
5.11. Nitrit Düzeylerinin Ölçümü.....	57
5.12. Trigliserit Düzeylerinin Ölçümü.....	59
5.13. Kolesterol Düzeylerinin Ölçümü.....	60
5.14. Üre Düzeylerinin Ölçümü.....	61
5.15. Alanin Aminotransferaz (ALT) Düzeylerinin Ölçümü.....	62
5.16. Aspartat Aminotransferaz (AST) Düzeylerinin Ölçümü.....	62
5.17. Gama Glutamil Transferaz (GGT) Aktivitesinin Ölçümü.....	63
5.18. Tümör Nekroz Faktör (TNF)- α Düzeylerinin Ölçülmesi.....	64
5.19. İstatistiksel Analiz.....	66

6. BULGULAR.....	68
6.1. <i>In Vitro</i> Antioksidan Aktivite Sonuçları.....	68
6.1.1. DPPH [•] radikalini süpürücü aktivite tayini.....	68
6.1.2. ABTS ^{•+} radikalini süpürücü aktivite tayini.....	68
6.2. <i>In Vitro</i> Anti-inflamatuar Etki Sonuçları.....	69
6.3. <i>In Vitro</i> Antidiyabetik Etki Sonuçları.....	70
6.3.1. Alfa-amilaz inhibitör aktivite.....	70
6.3.2. Alfa-glukozidaz inhibitör aktivitesi.....	71
6. 4. Toplam Fenolik ve Flavonoid Madde Miktar Tayini Sonuçları.....	72
6.5. <i>In Vivo</i> Bulgular.....	72
6.5.1. Vücut ağırlıkları ve kan glukoz değerleri.....	73
6.5.2. Trombosit P-selektin düzeyleri.....	75
6.5.3. Trombosit mitokondriyal membran polarizasyonu.....	76
6.5.4. Trombosit ve plazma nitrit düzeyleri.....	77
6.5.5. Plazma üre, trigliserit ve kolesterol düzeyleri.....	78
6.5.6. Plazma enzim düzeyleri.....	79
6.5.7. Tümör nekroz faktör (TNF)- α düzeyleri.....	80
7. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	82
8 .KAYNAKLAR.....	92
9. EKLER.....	113
EK-1. Uluslararası Kongre Kabul Yazısı ve Bildiri Özeti.....	113
EK-2. Etik Kurul Onayı	115
10. ÖZGEÇMİŞ.....	116

KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ

%100 RRE	: <i>Ribes rubrum</i> meyvesinin %100 etanol ekstresi
%50 RRE	: <i>Ribes rubrum</i> meyvesinin %50 etanol ekstresi
%100 RRS	: <i>Ribes rubrum</i> meyvesinin sulu ekstresi
α	: Alfa
ABTS	: 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit
ADA	: Amerikan Diyabet Derneği
ADP	: Adenin di fosfat
A kontrol	: Kontrol absorbansı
AlCl ₃ .6H ₂ O	: Alüminyum klorür heksahidrat
ALT	: Alanin aminotranzferaz
A örnek	: Örnek absorbansı
ATP	: Adenin tri fosfat
AGE	: İleri glikozilasyon metabolizması ürünü
β	: Beta
BHA	: Bütilhidroksi anisol
BHT	: Bütilhidroksitoluen
BKİ	: Beden kitle indeksi
CD 62	: Cluster Differentiation 62- P selektin
CE	: Kolesterol esterase
CO	: Kolesterol oksidaz
DK	: Diyabetik kontrol
DM	: Diyabetes Mellitus
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DNSA	: Dinitrosalisilik asit
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DPPH	: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
ELISA	: Enzim bağlı immünosorbent deneyi
G	: Glibenklamid
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
GGT	: Gama glutamil transferaz

GIP	: Gastrik inhibitör peptid
GLP-1	: Glukagon benzeri peptid-1
GLUT	: Glukoz transportörü
GP	: Glikoprotein
GPO	: Gliserol 3 fosfat oksidaz
HDL	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein
IDF	: Uluslararası Diyabet Federasyonu
IFG	: Bozulmuş açlık glukozu
İK ₅₀	: %50 inhibisyonu sağlayan konsantrasyonun değeri
IGF-1	: İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
IGT	: Bozulmuş glukoz tolereansı
IL	: İnterlökin
i.p.	: İntraperitoneal
K	: Kontrol
KE	: Kersetin eşdeğeri
KCL	: Potasyum klorür
KVH	: Kardiyovasküler hastalık
LDH	: Laktat dehidrogenaz
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
MDH	: Malat dehidrogenaz
MMP	: Mitokondriyal membran polarizasyonu
NA	: Nikotinamid
NaCl	: Sodyum klorür
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotit
NADH	: Nikotinamid adenin dinükleotit- hidrojen
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat hidrojen
NaNO ₂	: Sodyum nitrit
NaOH	: Sodyum hidroksit
Na ₂ SO ₄	: Sodyum sülfat
NDDG	: Ulusal Diyabet Veri Grubu
nm	: nanometre
NO	: Nitrik oksit

P2Y _x	: Purinerjik reseptör
PAP	: 4-Amino-antifirin
PCOS	: Polikistik Over Sendromu
pNPG	: p-nitrofenil- α -D-glukopiranozit
POD	: Peroksidaz
PRP	: Platelet Rich Plasma) Trombositten zengin plazma
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asitleri
R100	: <i>Ribes rubrum</i> - 100 mg/kg
R500	: <i>Ribes rubrum</i> - 500 mg/kg
ROT	: Reaktif oksijen türleri
STZ	: Streptozotosin
t0	: STZ uygulaması öncesi 12 saat açlığı takiben ölçülen vücut ağırlığı
t1	: STZ sonrası
t5	: Deney süresince gavaj uygulamasını takiben ölçülen 5. gün
t9	: Deney süresince gavaj uygulamasını takiben ölçülen 9. gün
t14	: Deney süresince gavaj uygulamasını takiben ölçülen 14. gün
TCA	: Trikloroasetik asittir
TF	: Doku faktörü
TFM	: Toplam fenolik madde miktarı
TFLM	: Toplam flavonoid madde miktarı
TG	: Trigliserit
TXA ₂	: Trombokson A ₂
TNF-a	: Tümör nekroz faktör-a
VLDL	: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein
vWF	: von Willebrand Faktörü
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil 1.** Diyabetes Mellitus'ta kardiyovasküler komplikasyon gelişim patolojisi
- Şekil 2.** AGE öncüllerinin artmış üretimi ve patolojik sonuçları
- Şekil 3.** Hipergliseminin poliol yolu üzerine etkisi
- Şekil 4.** Hiperglisemiye bağlı gelişen hasarların mekanizması
- Şekil 5:** Megakaryositlerden trombosit oluşumu
- Şekil 6.** Trombosit yapısı
- Şekil 7.** Aktif olmayan ve aktif haldeki trombosit
- Şekil 8.** DM'de trombosit fonksiyon bozukluğu ile ilgili mekanizmalar
- Şekil 9.** JC-1 boya ile MMP
- Şekil 10.** *Ribes rubrum* meyve ekstraktları ve standart antioksidanların antioksidan aktivite sonuçları
- Şekil 11.** *Ribes rubrum* meyve ekstraktları ve standart indometasin anti-inflamatuar etki sonuçları
- Şekil 12.** *Ribes rubrum* meyve ekstraktları ve akarbozun antidiyabetik aktivite sonuçları
- Şekil 13.** Çalışma dizaynı
- Şekil 14.** Grupların çalışma sürecindeki vücut ağırlıkları (g) değişimi
- Şekil 15.** Grupların çalışma sürecindeki kan glukoz değerlerindeki (mg/dl) değişim
- Şekil 16.** Trombosit P selektin düzeyleri
- Şekil 17.** Trombosit mitokondriyal membran polarizasyonu
- Şekil 18.** Trombosit ve plazma nitrit düzeyleri
- Şekil 19.** Plazma üre, trigliserit ve kolesterol düzeyleri
- Şekil 20.** Plazma enzim düzeyleri
- Şekil 21.** Plazma, karaciğer ve pankreas TNF- α düzeyleri

RESİM LİSTESİ

Resim 1. *Ribes rubrum* bitkisi

Resim 2. *Ribes rubrum* meyvelerinin sırasıyla; sulu, %100 etanol, %50 etanol ekstralarının eldesi

Resim 3. DPPH• deneyi

Resim 4. ABTS^{•+} deneyi

Resim 5. α -amilaz inhibitör aktivite tayini deneyi

Resim 6. α -glukozidaz inhibitör aktivite tayini deneyi

Resim 7. Toplam fenolik madde miktar tayini deneyi

Resim 8. Toplam flavonoid k madde miktar tayini deneyi

Resim 9. Nitrit düzeylerinin ölçümü

Resim 10. Sırasıyla DK,DK, G,G, R100, R100, R500, R500, K gruplarının su tüketim düzeyleri

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. DM'nin sınıflandırılması

Tablo 2. GDM tarama ve teşhisi

Tablo 3. DM tanı kriterleri; glukoz testleri ve yorumu

Tablo 4. DM'nin komplikasyonları

Tablo 5. Alfa granül içeriği

Tablo 6. Yoğun granül içeriği

Tablo 7. Lizozomal içerik

Tablo 8. Yüzey membran glikoprotein reseptörleri

Tablo 9. İnsulin çeşitleri ve etki profilleri

Tablo 10. Antidiyabetik ilaçlar

Tablo 11. *Ribes rubrum* meyve ekstreleri ve standart antioksidanların DPPH[•] radikalini ortadan kaldıran İK₅₀ değerleri

Tablo 12. *Ribes rubrum* meyve ekstreleri ve standart antioksidanların ABTS^{•+} radikalini ortadan kaldıran İK₅₀ değerleri

Tablo 13. *Ribes rubrum* meyve ekstreleri ve standart indometasinin anti-inflamatuar etki açısından İK₅₀ değerleri

Tablo 14. *Ribes rubrum* meyve ekstreleri ve standart akarbozun α -amilaz inhibitör aktivite etki açısından İK₅₀ değerleri

Tablo 15. *Ribes rubrum* meyve ekstreleri ve standart akarbozun α -glukozidaz inhibitör aktivite etki açısından İK₅₀ değerleri

Tablo 16. *Ribes rubrum* meyve ekstrelerinin total fenolik ve flavonoid miktarları

Tablo 17. *Ribes rubrum* meyve ekstrelerinin *in vitro* aktivite sonuçları

Tablo 18. Grupların vücut ağırlıkları

Tablo 19. Grupların kan glukoz değerleri

Tablo 20. Trombosit P selektin düzeyleri

Tablo 21. Trombosit mitokondriyal membran polarizasyonu

Tablo 22. Trombosit nitrit düzeyleri

Tablo 23. Plazma nitrit düzeyleri

Tablo 24. Plazma üre, trigliserit ve kolesterol düzeyleri

Tablo 25. Plazma enzim düzeyleri

Tablo 26. Grupların plazma, karaciğer ve pankreas TNF- α düzeyleri



1. ÖZET

***Ribes rubrum* L. meyvesinin antidiyabetik ve antitrombosit etkisinin incelenmesi**

Öğrencinin Adı: Gizem GÜLMEZ

Danışmanın Adı: Prof. Dr. Azize ŞENER

İkinci Danışmanın Adı: Dr. Öğr. Üyesi Ali ŞEN

Amaç: Protrombotik ve inflamatuvar durum, Tip 2 Diabetes Mellitus'un (T2DM) kardiyovasküler komplikasyonlarının gelişiminde önemli bir rol oynar ve biyolojik olarak aktif bileşenler içeren bitkiler, söz konusu komplikasyonların önlenmesi ve tedavisi için yararlı olabilir. Bu çalışmanın amacı *Ribes rubrum* meyvelerinden elde edilen ekstraktların antidiyabetik ve antitrombosit potansiyelini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: *Ribes rubrum* ektrelerinin (%100 etanol,% 50 etanol ve su) *in vitro* anti-diyabetik ve anti-inflamatuvar aktivitelerini değerlendirmek için α -amilaz, α -glukozidaz, lipooksijenaz enzimlerini inhibisyonu, ayrıca antioksidan aktiviteleri, toplam fenolik ve flavonoid içerikleri incelendi. *In vivo* çalışma için, sıçanlarda streptozotosin ile deneysel diyabet modeli oluşturuldu. Hiperglisemi geliştirildikten sonra, tedavi gruplarına 14 gün boyunca *R. rubrum* %100 etanol ekstresi (100 mg/ kg /gün ve 500 mg/kg/gün) verildi. Plazma glukoz seviyeleri, tümör nekroz faktörü- α (TNF- α), trombosit P-selektin, nitrit düzeyleri ve mitokondriyal membran polarizasyonu (MMP) incelendi.

Bulgular: Antidiyabetik aktivite analizinde ve anti-inflamatuvar etkide, α -amilaz, α -glukozidaz ve lipooksijenaz için test edilen üç ekstrenin $İK_{50}$ değerleri sırasıyla 130 μ g/ml, 170 μ g/ml, 182 μ g/ml; 190 μ g/ml, 227 μ g/ml, 354 μ g/ml; 21 μ g/ml, 18 μ g/ml, 30 μ g/ml olarak bulundu. *In vivo* çalışmada plazma TNF- α (p <0,05) ve trombosit P-selektin düzeyleri (p <0,05) önemli ölçüde azalırken, plazma glukoz düzeyi 100 mg/ kg tedavi grubunda orta derecede azaldı. Trombosit MMP (p<0.05) ve nitrit düzeyi *R. rubrum* gruplarında anlamlı olarak arttı.

Sonuç: Sonuçlar *R. rubrum* meyvelerinin antitrombotik, anti-inflamatuvar potansiyeli olduğunu ve T2DM komplikasyonlarının önlenmesine/tedavisine destek sağlayabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: *Ribes rubrum*, anti-inflamatuvar etki, antiplatelet aktivite, diabetes mellitus, streptozotosin

2. SUMMARY

Investigation of antidiabetic and antiplatelet effects of *Ribes rubrum* L.

Student Name: Gizem GULMEZ

Name of Supervisor: Prof. Dr. Azize SENER

Name of II. Supervisor: Dr. Öğr. Üyesi Ali SEN

Objective: Prothrombotic and inflammatory status plays an important role in the development of cardiovascular complications of Type-2 Diabetes Mellitus (T2DM) and plants containing biologically active ingredients may be useful for the prevention and management of said complications. The purpose of this study was to investigate the antidiabetic and antiplatelet potential of extracts obtained from fruits of *Ribes rubrum*.

Materials and Methods: To evaluate the *in vitro* anti-diabetic and the anti-inflammatory activities of the *R. rubrum* extracts (ethanol, 50% ethanol and water), inhibition of α -amylase, α -glucosidase and lipoxygenase were investigated. *In vitro* antioxidant activities and levels of total phenolic and flavonoids were also examined. For *in vivo* study, a streptozotocin-induced experimental diabetes model was created in rats. After hyperglycemia developed, the treatment groups received ethanol extract of *R. rubrum* (100 mg/kg/day, 500 mg/kg/day) for 14 days. Additionally, plasma glucose levels, tumor necrosis factor- α (TNF- α), platelet P-selectin, nitrite levels, and mitochondrial membrane polarization (MMP) were examined.

Results: In the antidiabetic activity and anti-inflammatory effect assays, the IC₅₀ values of the three extracts for α -amylase, α -glucosidase and lipoxygenase were found to be 130 μ g/ml, 170 μ g/ml, 182 μ g/ml; 190 μ g/ml, 227 μ g/ml, 354 μ g/ml; 21 μ g/ml, 18 μ g/ml, 30 μ g/ml respectively. *In vivo* study, plasma TNF- α ($p < 0,05$) and platelet P-selectin levels ($p < 0,05$) significantly decreased, while plasma glucose was level moderately decreased in the 100 mg/kg treatment group. Platelet MMP ($p < 0,05$) and nitrite level significantly increased in the *R. rubrum* groups.

Conclusion: The results show that fruits of *R. rubrum* may provide support for the prevention/treatment of complications of T2DM by demonstrating it's the antiplatelet, anti-inflammatory potential.

Key words: *Ribes rubrum*, anti-inflammatory effect, antiplatelet activity, diabetes mellitus, streptozotocin

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Diyabetes Mellitus (DM), insülin yetersizliği sonucunda veya vücudun ürettiği insülini etkin bir şekilde kullanamadığında ortaya çıkan, hiperglisemi ile karakterize karbonhidrat, lipit ve protein metabolizmasının bozulduğu kronik bir hastalıktır (World Health Organization, 2016; Bozkurt, 2013). Beslenme, yaşam tarzı gibi çevresel faktörler ile kontrol altına alınabilen DM'nin, kontrol altına alınmadığı durumda yaygın bir etkisi olan hiperglisemi zamanla kalp, kan damarları, göz, böbrek ve sinir sistemini de içeren disfonksiyonlara yol açar (Harvey ve ark., 2007). Günümüzde 400 000 000'dan fazla insan DM ile yaşamaktadır (World Health Organization, 2016).

Diyabetes Mellitus'ta ketoasidoz, laktik asidoz, nonketotik koma, hipoglisemi gibi akut komplikasyonlar; retinopati, nefropati, nöropati gibi mikrovasküler kronik komplikasyonlar; koroner arter hastalığı, serebrovasküler hastalık, periferik vasküler hastalık gibi makrovasküler kronik komplikasyonlar görülebilmektedir ve hiperglisemiden korunmak ve normoglisemiyi sağlamak, bu komplikasyonlarının sebep olabileceği morbidite ve mortaliteyi önlemek açısından önemlidir (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2018; Fowler, 2008; Mario ve Pugliese, 2003).

Kardiyovasküler hastalıklar (KVH), dünya genelinde hastalığa bağlı sakatlık ve ölümlerin en sık nedenidir. Her yıl yaklaşık 17 000 000 insan yaşamını KVH'den yitirir ve KVH tüm dünyadaki ölümlerin %31'ini oluşturur. DM, kardiyovasküler sistemi çeşitli yollardan etkileyebilmektedir ve aterosklerotik sürecin hızlanmasına sebep olmaktadır (Pereira ve ark., 2018; Khartoum ve ark., 2015). İnsülin direnci sendromları ve hiperglisemi, kardiyovasküler hastalıklar ve trombotik komplikasyonlar için artmış risk ile ilişkilidir (Altındış, 2014; Stolla ve ark., 2013).

Trombositler, 2-5 µm çapında, oval ya da bikonveks disk biçiminde, hemoostazın yapı taşı olup vasküler fonksiyonlar, inflamasyon ve ateroskleroz gibi olaylarda önemli görevlere sahip kan hücreleridir. Hiperglisemi, trombositlerin aktivasyonunu arttırmaktadır ve trombosit mitokondrilerinin işleyişinde de değişikliklere yol açabilmektedir (Siewiera ve ark., 2016; Vara ve ark., 2013; Michelson, 1996). Trombositler aktive olduğu zaman yapılarında yer alan α-granülleri membrana doğru

hareket eder ve depoladıkları mediatörler ve sitokinler plazmaya salınır veya membran yapısına dahil olur. Bu moleküllerin plazma düzeyi artış gösterir. Diyabetik kişilerde P selektin düzeyleri yüksek bulunmuştur (Santilli ve ark., 2015; Altındış, 2014; Aoui ve ark., 2014).

Diyabetes Mellitus'ta vasküler inflamasyona sebep olan mekanizmada, artmış oksidatif stres de rol oynayabilmektedir. Hiperglisemi, reaktif oksijen türler (ROT) üretimini doğrudan glukoz metabolizması ve oto-oksidasyon yoluyla indükleyebilir (Santilli ve ark., 2015). DM ve komplikasyonlarının ROT ile olan ilişkisini gösteren çalışmalarda, nonenzimatik glikasyon, enerji metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan metabolik stres, sorbitol yol aktivitesi, hipoksi ve iskemi-reperfüzyon sonucu oluşan doku hasarının serbest radikal üretimini arttırdığı ve antioksidan savunma sistemini değiştirdiği vurgulanmaktadır (Robertson ve ark., 2004). Glukozun trombositler üzerindeki etkisinin, süperoksit veya hidrojen peroksit gibi ROT'ların ortamda bulunmasıyla daha güçlü olarak meydana geldiği gözlenmiştir (Altındış, 2014).

Diyabetes Mellitus ve komplikasyonlarının medikal tedavisinde kullanılan insülinin, oral hipoglisemik ilaçların, aspirin ve klopidogrel gibi antitrombotik tedaviler olarak kullanılan geleneksel antitrombosit ilaçların bazen uzun süreli kullanımdan sonra etkinlik kaybından bazen de hastaların göstermiş olduğu dirençten dolayı etkinliği azalabilmektedir. Kardiyovasküler komplikasyonları önleyici tedavi arayışları önemli bir araştırma alanıdır (Jamiu ve ark., 2016). Bitkiler, iyi bilinen biyolojik aktiviteleri nedeniyle hastalıkların tedavisinde dünya çapında ilgi çekmektedir (Feng ve ark., 2016). Özellikle antioksidan kapasiteleri, fenolik ve flavonoid içeriklerinden dolayı koyu renkli meyvelerin kronik hastalıkların gelişimini önleyebildiği veya geciktirdiği; örneğin kardioprotektif, antikanser, anti-inflamatuar, gastrointestinal sistemi koruyucu ve antimikrobiyal aktivitelere sahip olduğu gösterilmiştir (Feng ve ark., 2016; Xıanlı, 2004).

Ribes rubrum L. Grossulariaceae familyasının *Ribes* cinsine girmektedir (Kendir, 2012). *R. rubrum*'un antioksidan etkinliği ve biyolojik içeriği çalışmalarda ortaya konulmuştur. Meyveleri yüksek oranda antosiyanidin, antosiyanin, gallik asit, rutin, kateşin, sirinjik asit, klorojenik asit içerir. Antosiyanidinlerin anti-inflamatuar özelliğe sahip olduğu *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda gösterilmiştir (Garbacki, 2005). *In vitro*

bir çalışmada yapısındaki major fenolik bileşik klorojenik asit içeriği ile potansiyel DM ve KVH'ı önlemek ve/veya tedavi etmek için iyi bir bitkisel diyet kaynağı olabileceği ileri sürülmektedir (Behçet, 2001). Geleneksel olarak *R. rubrum* antiskorbüt, laktasif, diüretik, detoksifiye edici etkilerinden dolayı kullanılmaktadır. Yapraklarının karışımı romatizmal semptomları gidermek için haricen tercih etilmektedir. Ateş düşürücü, terletici, menstruasyonu tetikleyici, müshil etkili, iştah arttırıcı, idrar söktürücü, yara iyileştirici özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir. Meyveleri kozmetikte yorgun ve cansız cildi sıkılaştırmak için kullanılmaktadır (Tim, 2012). İskandinav ülkelerinde yapılan çalışmalarda bağırsak kurtlarına karşı kullanıldığı belirtilmiştir (Waller ve ark., 2001).

Biyolojik olarak aktif bileşenleri içeren bitkiler (protrombotik ve inflamatuvar durumun kardiyovasküler komplikasyonlarının gelişiminde önemli rol aldığı) DM'nin ve komplikasyonlarının önlenmesi/ tedavisi için faydalı olabilir. Bu bilgiler doğrultusunda çalışmada *R. rubrum* L meyvelerinden elde edilen ekstraların antidiyabetik, antitrombosit potansiyeleri araştırılmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Diyabetes Mellitus

Diyabetes Mellitus (DM), pankreasta insülin sekresyonunun yetersizliği ve/ veya dokuda insülin aktivitesinde oluşan defektler sonucunda ortaya çıkan, hiperglisemi ile karakterize karbonhidrat, lipit ve protein metabolizmasının bozulduğu kronik, metabolik bir hastalıktır (Bozkurt ve Yıldız, 2013; Bishop ve ark., 2016).

Diyabetes Mellitus terimi, ilk olarak milattan sonra (M.S.) 81-133 yıllarında Kapadokyalı Aretaeus'un sık idrara çıkmanın gözlendiği bir hastalığı isimlendirmede kullandığı, Yunanca 'sifon' anlamına gelen diabetes ve bu kelimeye 1675 yılında Londra'da doktor olan Thomas Wills'in hastalarının idrarının tadına bakıp tatlı olduğunu tespit etmesinin ardından Latince 'bal kadar tatlı' anlamına gelen mellitus kelimesini eklemesi ile ortaya çıkmıştır. (Awad, 2002). DM'ye benzer klinik özellikler, milattan önce (M.Ö.) 3000 yıllarında eski Mısırlılar tarafından tanımlanmıştır. 1862'de Mısır'da bulunan M.Ö. 1550 yılından kalma Ebers papirüsleri, aralarında DM'nin de olduğu düşünülen poliüremik sendromu olan çeşitli hastalıkların tanımını içermektedir. 10. ve 11. yüzyıllarda (y.y.) İbn-i Sina, DM'nin klinik özelliklerini ve bazı komplikasyonlarını tanımlamış ve idrarın tadının tatlı olması fikrini vurgulamıştır. Modern tıbbin deneysel temellerinin kurulması DM'nin patogenezi anlamının yolunu açmıştır. 17. y.y.'da Will'in idrarda şeker tayinini yapmasının ardından Claude Bernard kan şekeri ölçmüştür. Fehling tarafından 1800'lü yıllarda idrarda glukozun kantitatif tayini metodu geliştirilmiştir. Mering ve Minkowski 1889'da, pankreasın çıkarılmasının diyabete yol açtığını bulmuştur. Mayer ve Schaefer 1909 ve 1910 yıllarında kan şekeri seviyesini düşüren salgıyı insülin olarak isimlendirmiştir. Banting, Best ve Collip 1921'de insülin eksikliğinin DM'ye neden olduğunu kesin olarak belirlemişlerdir. 20. y.y.'da hastalığın patogenezi ile ilgili ve tedavisine yönelik pek çok bilgi edinilmiştir ve hala çalışmalar devam etmektedir (Lakhtakia, 2013; Şenel, 2005).

4.2. Diyabetes Mellitus'un Epidemiyolojisi

Diyabetes Mellitus, ülkemizde ve tüm dünyada sıklığı giderek artan, morbidite ve mortaliteyi yükselten bir halk sağlığı sorunudur. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre 1980 yılında 108 000 000 insanın, 2000 yılında 171 000 000 insanın DM'li olduğu ve bu rakamların 2030 yılında 366 000 000 olacağı belirtilmiş; ancak henüz 2011 yılındaki veriler dünyada 346 000 000 DM'li insanın olduğunu göstermiştir (Alphan ve ark., 2013). Uluslararası Diyabet Federasyonu'nun (IDF) verilerine göre de; 2017 yılında, dünya genelinde 18-99 yaş aralığında 451 000 000 DM'li insan olduğu tahmin edilmektedir. Bu rakamların 2045 yılına kadar 693 000 000'a çıkması beklenmektedir. DM ile yaşayan insanların % 49,7'sinin teşhis edilmediği belirlenmiştir ve bozulmuş glukoz toleransı (IGT) olan yaklaşık 374 000 000 insan olduğu düşünülmektedir. 2017 yılında, dünya çapında 20-99 yaş arasındaki ölümlerin yaklaşık 5 000 000'unun DM'ye bağlı olduğu saptanmıştır. Küresel sağlık harcamalarının 2017 yılında DM'li hastalara yapılanının 850 milyar ABD doları olduğu tahmin edilmektedir (Cho ve ark., 2018).

Türkiye'de de DM'li insan sayısı her gün artmaktadır. 1997 yılında ve 2010 yılında yapılan Türkiye Diyabet Epidemiyolojisi (TURDEP-II) çalışmasına göre 12 yılda ülkemizde DM görülme sıklığı %7,2' den %13,7'ye yükselerek %90 oranında artmıştır. IGT ise %6,7'den %7,1'e yükselmiştir. Türkiye'de bilinen DM'li kişi sayısı 10,3 milyon, IGT'li sayısı ise 5,3 milyon olarak hesaplanmıştır. TURDEP-II çalışmalarına göre DM prevalansının kadınlarda (%14,6) erkeklerden (%12,4) daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Uluslararası Diyabet Federasyonu verilerine göre de; Türkiye'de 2017'de 20-79 yaş arası DM prevalansı %12,8, IGT oranı %7,4'tür ve bu oranların 2045'te sırasıyla %16,5 ve %8'e çıkması tahmin edilmektedir. Altmış yaş altındaki kişilerde DM nedeniyle ölüm oranı 2017'de %30 olarak belirlenmiştir (Alphan ve ark., 2013; Satman ve ark., 2013; <https://diabetesatlas.s>, Erişim tarihi: 9 Ekim 2019).

4.3. Diyabetes Mellitus'un Sınıflandırılması ve Patofizyolojisi

Farklı etiyolojik faktörler içermesi ve patogenezinin giderek daha iyi anlaşılması ile DM zaman içinde farklı şekillerde sınıflandırılmıştır. 1936'da, Tip 1 ve Tip 2 DM arasındaki ayırım açıkça yapılmıştır (Baynest, 2015). 1979 yılında Ulusal Diyabet Veri Grubu (NDDG), bu hastalık için Tip 1 insülin bağımlı DM ve Tip 2 insülin bağımsız DM olmak üzere 2 geniş kategoriye ayırdıkları sınıflandırma ve tanı planı oluşturmuştur. 1980 yılında WHO bu sınıflandırmayı onaylamıştır. 1995 yılında Amerikan Diyabet Derneği (ADA) sponsorluğunda kurulan Uluslararası Uzman Komitesi, DM'nin sınıflandırılması ve teşhisinde değişiklik yapılmasının gerekip gerekmediğine karar vermek için toplanmış ve 1979 yılında başlatılan sınıflandırmayı güncelleştirmiştir. ADA ve WHO'nun güncel kılavuzlarına göre, DM 4 temel etyolojik sınıfa ayrılmıştır (Tablo 1) (ADA, 2018; The Expert Committee, 2003; Gavin, 1998; Albert ve Zimmet, 1998).

Tablo 1. DM'nin sınıflandırılması (ADA, 2010, değiştirilerek kullanılmıştır)

1. Tip 1 DM: Genellikle mutlak insülin eksikliğine sebep olan β hücre disfonksiyonu vardır. A. Otoimmün aracılı B. İdiopatik
2. Tip 2 DM: İnsülin direnci ile karakterize, nispi insülin eksikliği gözlenebilen, insülin sekresyon defekti vardır.
3. Diğer spesifik DM tipleri A. Beta hücre fonksiyonunu bozan genetik defektler B. İnsülin etki mekanizmasındaki genetik defektler C. Pankreasın ekzokrin (salgısal) hastalıkları D. Endokrinopatiler E. İlaç veya kimyasal ajanlar F. Enfeksiyonlar G. İmmün aracılı diyabetin nadir formları H. Diyabetle ilişkili olabilen diğer genetik sendromlar
4. Gestasyonel DM (GDM): Daha önce herhangi bir glukoz tolerans bozukluğu tespit edilmemiş, gebelik esnasında ortaya çıkar ve genellikle doğumla birlikte düzelir.

Diyabetes Mellitus'un tüm sınıflarında hiperglisemi gözlenmekle birlikte, bu duruma sebep olan patolojik mekanizmalar farklılık göstermektedir. Bir birey için bir diyabet türünü belirlemek, çoğu zaman tanı sırasındaki mevcut koşullara bağlı olduğundan birçok DM'li birey tek bir sınıfa dahil edilemeyebilir. GDM'li bir birey doğumdan sonra da hiperglisemik olmaya devam edebilir ve aslında Tip 2 DM olduğu tespit

edilebilir. Bu nedenle öncelikli olarak hipergliseminin patofizyolojisinin anlaşılması etkin bir tedavi için önemlidir (ADA, 2010).

4.3.1. Tip 1 DM

Pankreastaki beta (β) hücre disfonksiyonu nedeniyle mutlak insülin eksikliğinin ortaya çıktığı ve egzogen insülin tedavisinin şart olduğu, ketoasidoz ve hiperglisemiye yatkınlık ile karakterize bir DM türüdür. Herhangi bir yaşta ortaya çıkabilmesine karşın çocukluk ve ergenlik döneminde belirtiler hızla gelişir ve genellikle 25 yaşın altında görülmeye başlanır. Tip 1 DM'li bireyler genellikle normal veya düşük kilolu olmakla beraber obezite de gelişebilir (Zubin ve ark., 2018).

Tip 1 DM'nin immun sistem aracılı ve idiopatik olmak üzere 2 formu vardır. Tüm DM'li bireylerin %5-10'unu oluşturan immun formunda pankreasın β hücrelerinde otoimmün bir hasar söz konusudur. Bireylerin doğduklarında pankreas hücreleri yeterlidir. Pankreasın Langerhans adacık hücrelerine aktive T lenfositler ve makrofajlar sızarak insülitis olarak adlandırılan pankreas adacıklarının iltihabına yol açar. Yıllarca süren bu otoimmün saldırılar çevresel faktörlerin de etkisiyle β hücre popülasyonunun kademeli olarak yok olmasına yol açar. Hücrenin immun tahribatının işaretleri arasında adacık hücre otoantikörleri, insülin otoantikörleri, glutamik asit dekarboksilaz otoantikörleri (GAD), tirozin fosfotaz otoantikörleri (IA-2, IA-2 β) sayılabilir. Bu otoantikörlerin bir veya daha fazlası açlık hiperglisemisi olan hastalarda %85-90 oranında bulunmaktadır. Ancak bu otoantikörlerin seviyeleri zamanla azalabileceğinden tanı amaçlı rutin olarak kullanılması uygun değildir. β hücrelerinin çoğu tahrip oluncaya dek hastalığın belirtileri ortaya çıkmazken, % 80-90'ı tahrip olduğunda semptomlar aniden ortaya çıkmaya başlar. Poliüri, polidipsi, kilo kaybı yakınmaları, halsizlik gözlenir. Bu aşamada, pankreas glukoz alımına yeterli şekilde cevap verememeye başlar. Organizmada insülin yokken glukagon miktarı artmaktadır. Bu iki hormonun derişimlerdeki farklılık, glukoneogenezin ve lipolizin olmasına sebep olmakta ve lipitlerin β oksidasyonunu arttırarak keton üretiminden sorumlu olmaktadır. Metabolik kontrolü yeniden sağlamak ve hayatı tehdit eden ketoasidozu önlemek için insülin tedavisi gerekli olmaktadır (Ammon, 2019; Bishop ve ark., 2016; Harvey ve Ferrier, 2011; ADA, 2010).

Tip 1 DM'nin nadir olarak görülen idiyopatik formu ise kalıtımsaldır. Otoimmüniteye dair bir kanıt olmayıp, β hücre disfonksiyonunun sebebi tam olarak bilinmemektedir. İdiyopatik formundaki bireyler çoğunlukla Afrika ve Asya bölgesindeki insanlardır. Ketoasidoz atakları ve ataklar arasında çeşitli derecelerde insülin eksikliği görülür. Egzojen insülin tedavisi ihtiyacı değişkenlik gösterir (ADA, 2010).

Tip 1 DM'li bireyler Hashimoto Tiroiditi, Vitiligo, Grave's, Addison, Çölyak, Otoimmün Hepatit, Myastenia Gravis, Pernisiyoz Anemi gibi otoimmün bozukluklara da eğilimlidirler (Chiang ve ark., 2014).

4.3.2. Tip 2 DM

İnsülin sekresyon bozukluğu ve insülin direnci sonucunda ortaya çıkan hiperglisemi ile karakterizedir ve tüm DM'lilerin yaklaşık %90'ını bu grup oluşturmaktadır. β hücre disfonksiyonuna giden yollar Tip 2 DM için daha az aydınlatılmış olsa da Tip 2 DM'li bireylerde de β hücre disfonksiyonu ve insülin direnci bir arada bulunur. Bazı bireylerde hiperglisemi kontrolü için insülin gerekse de, yaşamın devamı için egzojen insülin elzem değildir (ADA, 2018; Harvey ve Ferrier, 2011).

Öncelikle genetik faktörler olmak üzere, obezite, abdominal yağlanma, ileri yaş, fiziksel olarak inaktif yaşam, insülin sekresyon defekti ile ilişkili inflamasyon ve metabolik stres Tip 2 DM'nin ortaya çıkışında rol oynayan faktörlerdir (ADA, 2018; Bishop ve ark., 2016).

İnsülin direnci; normal konsantrasyondaki insülinin karaciğer, kas, adipoz doku gibi hedef dokularda normalden daha az biyolojik yanıt oluşturması ya da glukoz kullanımını uyarma etkisinin azalmasıdır. İnsülin direnci kontrol edilemeyen hepatik glukoz üretimi, kas ve adipoz doku tarafından azalmış glukoz alımı ile karakterizedir. Pankreasın β hücreleri, ilk dönemlerde bu direnci kırabilmek için insülin sekresyonunu arttırmaya çalışır ve hiperinsülinemi gözlenir. Bu süreçte β hücrelerinde herhangi bir bozukluk yoktur. Fakat β hücre disfonksiyonunun başlamasıyla insülin sekresyonu da azalmaya başlar ve ortaya Tip 2 DM çıkar. İnsülin direnci gelişiminin prelinik döneminde preprandiyal ve postprandiyal kan glukoz düzeyleri normal iken insülin düzeyleri yüksek bulunur. Postprandiyal kan glukoz düzeyinin yüksekliği, hücresel düzeyde insülin direncinin sebep olduğu hipergliseminin ilk göstergesidir ve bunu

preprandiyal glukoz konsantrasyonunun yükselmesi izler. Preprandiyal glukoz düzeyi 80 mg/dl'den 140 mg/dl'ye yükseldiğinde insülin düzeyi normal bireylere göre artar. 140 mg/dl'yi geçtiğinde ise β hücreleri insülin sekresyonunu daha fazla arttıramaz ve preprandiyal hiperglisemi düzeyi yükseldikçe insülin sekresyonu da kademeli olarak azalmaya başlar. Bu azalmaya karşılık hepatik glukoz üretimi artmaya başlayarak preprandiyal hiperglisemiye katkıda bulunur (Alphan ve ark., 2013; Harvey ve Ferrier, 2011; Özdemir ve Hocaoğlu, 2009).

İnsülin direnci prereseptör düzeyinde insülin genindeki mutasyonlar, dolaşımdaki insülin etkisini antogonize eden faktörler; reseptör düzeyinde reseptör afinitesini bozan mutasyonlar, reseptör sayısının azalması, insülin reseptör antikorlarının var olması; postreseptör düzeyinde insülin reseptör sinyal iletimindeki anormallikler, tirozinkinaz aktivitesinin azalması, glukoz fosforilasyonunda ve transportunda azalma gibi sebeplere bağlı olarak gelişebilir (Ulu ve Yüksel, 2015).

Tip 2 DM'nin oluşum sürecinin yavaş olması, hipergliseminin aşamalı olarak gelişmesi ve başlangıçta klasik semptomların çok fark edilebilir olmaması nedeniyle hastalık uzun yıllar teşhis konulmadan ilerleyebilir. Poliüri, polidipsi, polifaji, yorgunluk, yaraların geç iyileşmesi, tekrarlayan enfeksiyonlar, el ve ayaklarda uyuşma ve karıncalanma gibi semptomlar gözlenebilir. Tip 2 DM'de ketoasidoz nadir görülür ve genelde enfeksiyon gibi başka bir hastalığa bağlı stres sebebiyle oluşur. Bu bireylerde glukozun fazla miktarda üretilmesinden dolayı nonketotik hiperozmolar durum söz konusudur. Tip 2 DM'li hastalarda, mikro ve makrovasküler komplikasyonların gelişme riski artmıştır ve tanı öncesi dönemin uzun olması sebebiyle yeni tanı konulan hastaların % 20'sinde retinopati, %80'inde nefropati gibi kronik komplikasyonlar saptanmaktadır. Kardiyovasküler hastalıklar (KVH) Tip 2 DM'de en sık rastlanan ölüm nedenidir (Bishop ve ark., 2016; Baz, 2014; The Expert Committee, 2003).

4.3.3. Diğer spesifik DM tipleri

Beta hücre fonksiyonunu bozan genetik defektlerden kaynaklı diyabet formu; erken yaşlarda, genellikle 25 yaşından önce, hipergliseminin başlaması ile karakterize edilir. İnsulin sekresyonunda defekt çok azdır veya yoktur. Farklı kromozomlardaki 6 farklı

genetik lokasyonda anormallik tespit edilmiş olmakla birlikte en yaygın biçimi hepatosit nükleer faktörü 1 α olarak adlandırılan hepatik bir transkripsiyon faktöründeki mutasyon ile ilişkilidir (ADA, 2010).

Genetik olarak belirlenmiş insülin etki anormalliklerinden kaynaklanan olağandışı diyabet türünde, insülin reseptöründeki mutasyonlar ile bağlantılı hiperinsülinemiden hiperglisemiye kadar değişebilen metabolik anormalliklerin görüldüğü bir tablo vardır. İnsüline dirençli lipoatrofik diyabeti olan hastalarda insülin reseptör yapısında ve işlevinde değişiklikler görülemediğinden bu tip diyabeti olan hastalarda lezyonların, reseptör sonrası sinyal iletim yollarında bulunduğu düşünülmektedir. İnsulin etki mekanizmasındaki bozuklulara yol açan mutasyonlarla koyu renk tonuna sahip ırklarda daha sık karşılaşılabılır. Kadınlarda büyümüş kistik yumurtalıklar olabilir. Leprikonizm ve Rabson-Mendenhall Sendromu insülin reseptör fonksiyon bozukluğu ve insülin direncinin ortaya çıktığı insülin reseptörü genindeki mutasyonun sebep olduğu 2 pediatrik hastalıktır. Leprikonizm’de karakteristik yüz özellikleri gözlenir ve genellikle bebeklik döneminde ölümcüldür. Rabson-Mendenhall Sendromu ise diş ve tırnak anormallikleri ve epifiz bezi hiperplazisi ile ilişkilidir (ADA, 2010).

Pankreatit, travma, enfeksiyon, pankreatektomi, pankreas karsinomu gibi pankreasın yaygın şekilde zedelenmesine neden olan herhangi bir durum pankreasın ekzokrin hastalıklarından kaynaklı diyabet türünün ortaya çıkmasına sebep olabilir (ADA, 2010).

İnsulin ile antagonist büyüme hormonu, kortizol, glukagon, epinefrin gibi hormonların fazlalığından kaynaklı endokrinopatiler de diyabete neden olabilirler. Bu durum genellikle insülin sekresyonunda önceden mevcut defektleri olan kişilerde ortaya çıkar ve hiperglisemi, hormon sekresyonları normale döndüğünde düzelir (ADA, 2010).

İnsulin etkisini azaltabilecek birçok ilaç ve hormon bulunmaktadır. Bu ilaçlar tek başlarına diyabete neden olmayabilir; ancak insülin direncine sahip kişilerde tabloyu şiddetlendirebilir (ADA, 2010).

Beta hücre tahribatına yol açtığı düşünülen bazı virüsler, enfeksiyondan kaynaklı diyabetik bir tablonun görülmesine sebep olabilirler. Konjenital kızamıkçık hastalarında diyabet görülebilmektedir ancak bu bireylerin çoğunda Tip 1 DM’nin karakteristik immün belirteçleri vardır. Coxsackievirus B, sitomegalovirüs, adenovirüs

ve kabakulak bazı hastalık vakalarının indüklenmesinde rol oynamaktadır (ADA, 2010).

İmmün aracılı diyabet türü anti-insülin reseptörü antikorlarının, insülin reseptörüne bağlanarak insülinin hedef dokulardaki reseptörüne bağlanmasını bloke etmesi veya bazı durumlarda antikorların, reseptöre bağlandıktan sonra insülin agonisti olarak görev yaparak hipoglisemiye neden olması sonucu gözlenebilir. Anti-insülin reseptör antikorları otoimmün hastalıkları olan kişilerde bulunabilir (ADA, 2010).

Tüm bu faktörler dışında Down Sendromu, Klinefelter Sendromu, Turner Sendromu gibi kromozomal anormallikleri içeren birçok genetik sendrom da diyabet insidansının artmasına eşlik eder (ADA, 2010).

4.3.4. Gestasyonel DM

Hipergliseminin gebelikte başlaması veya ilk olarak gebelik döneminde saptanması durumudur. GDM risk faktörleri arasında ileri yaş, obezite, gebelikte fazla kilo artışı, ailede DM varlığı, önceden yapılmış düşük doğum, yüksek doğum ağırlıklı bebek veya doğumsal abnormaliteli bebek gibi durumlar yer almaktadır. GDM hastalarının çoğu doğumdan sonra normale dönebilmektedir; ancak perinatal komplikasyonlar, sonraki gebeliklerinde tekrar GDM, gebelikten 5-10 yıl sonra Tip 2 DM ile karşılaşma riskleri yüksektir (International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups, 2010; Hong ve ark., 2008)

Gestasyonel DM'nin nedeni gebelik döneminden kaynaklanan metabolik ve hormonal değişimlerdir. Gebelik sürecinde pankreasın endokrin fonksiyonları değişir. Kortizol, östrojen, progesteron gibi hormonların yükselmesi sonucu hiperinsulinizm gelişir ve artan plazma insülin ihtiyacını karşılamaya β hücre fonksiyonunun yetmemeye başlaması sonucu glukoz intoleransı ortaya çıkar (Bishop ve ark., 2016; Alphan ve ark., 2013)

Gestasyonel DM, gebeliğin herhangi bir döneminde görülebileceği gibi glukoz intoleransı genelde gebeliğin 2. ve 3. trimesterinde ortaya çıkar. Tanı için oral glukoz tolerans testi (OGTT) uygulanmaktadır. Gebelere 24-28. haftaları arasında GDM yönünden OGTT ile tarama yapılması önerilmektedir. ADA 2019'da yayınlamış

olduğu kılavuzda OGTT'nin 2 farklı stratejiden birisi ile gerçekleştirilebileceğini belirtmiştir (Tablo 2) (ADA, 2019).

Tablo 2. GDM tarama ve teşhisi (ADA, 2019, değiştirilerek kullanılmıştır)

<p>Tek aşamalı strateji</p> <p>Daha önce diyabet tanısı konmamış gebelerin 24-28. gebelik haftalarında; en az 8 saatlik gece açlığı sonrası 75 g OGTT ile açlıkta, 1. ve 2. saatlerde plazma glukoz ölçümü yapılır.</p> <p>GDM tanısı aşağıdaki plazma glukoz değerlerinden herhangi biri veya daha yüksek değerleri ile karşılaşıldığında konur;</p> <ul style="list-style-type: none">• Açlık ≥ 92 mg/dl (5,1 mmol/l)• 1. saat ≥ 180 mg/dl (10,0 mmol/l)• 2. saat ≥ 153 mg/dl (8,5 mmol/l)															
<p>İki aşamalı strateji:</p> <p>➤ 1. aşama: Daha önce diyabet tanısı konmamış gebelerin 24-28. gebelik haftalarında; 50 g OGTT sonrası 1. saatte (açlık gerekmez) plazma glukoz ölçümü yapılır. Yüklemeden 1 saat sonra ölçülen plazma glukoz seviyesi; ≥ 130 mg / dl, 135mg / dl veya 140 mg /dl (7.2mmol /l, 7.5mmol /l veya 7.8mmol /l) ise, 100 g OGTT uygulanır.</p> <p>➤ 2. aşama: 100 g OGTT hasta açken yapılır.</p> <p>GDM tanısı aşağıdaki 4 plazma glukoz seviyesinden en az 2 tanesi (OGTT sırasında açlık ve 1. saat, 2. saat, 3. saat ölçülen) ile karşılaşıldığında konur;</p> <table><thead><tr><th></th><th>Carpenter-Coustan (Carpenter ve Coustan, 1982)</th><th>National Diabetes Data Group (NDDG) (National Diabetes Data Group, 1979)</th></tr></thead><tbody><tr><td>• Açlık</td><td>95 mg/dl (5,3 mmol/L)</td><td>105 mg/dl (5,8 mmol/L)</td></tr><tr><td>• 1. saat</td><td>180 mg/dl (10,0 mmol/L)</td><td>190 mg/dl (10,6 mmol/L)</td></tr><tr><td>• 2. saat</td><td>155 mg/dl (8,6 mmol/L)</td><td>165 mg/dl (9,2 mmol/L)</td></tr><tr><td>• 3. saat</td><td>140 mg/dl (7,8 mmol/L)</td><td>45 mg/dl (8,0 mmol/L)</td></tr></tbody></table>		Carpenter-Coustan (Carpenter ve Coustan, 1982)	National Diabetes Data Group (NDDG) (National Diabetes Data Group, 1979)	• Açlık	95 mg/dl (5,3 mmol/L)	105 mg/dl (5,8 mmol/L)	• 1. saat	180 mg/dl (10,0 mmol/L)	190 mg/dl (10,6 mmol/L)	• 2. saat	155 mg/dl (8,6 mmol/L)	165 mg/dl (9,2 mmol/L)	• 3. saat	140 mg/dl (7,8 mmol/L)	45 mg/dl (8,0 mmol/L)
	Carpenter-Coustan (Carpenter ve Coustan, 1982)	National Diabetes Data Group (NDDG) (National Diabetes Data Group, 1979)													
• Açlık	95 mg/dl (5,3 mmol/L)	105 mg/dl (5,8 mmol/L)													
• 1. saat	180 mg/dl (10,0 mmol/L)	190 mg/dl (10,6 mmol/L)													
• 2. saat	155 mg/dl (8,6 mmol/L)	165 mg/dl (9,2 mmol/L)													
• 3. saat	140 mg/dl (7,8 mmol/L)	45 mg/dl (8,0 mmol/L)													

Gebelikte maternal glukoz düzeylerinin normal seviyelerde sürdürülmesi maternal, fetal ve neonatal riskleri azaltır. Kontrol altına alınamayan GDM'de bebeklerde makrozomi, ölü doğum riski, doğum travması, yenidoğan sarılığı, hipoglisemi ve ileri yaşlarda obezite ve Tip 2 DM görülme riski; annelerde preeklampsi, kan yağlarının yükselmesi, infeksiyon hastalıklarına yakalanma riskinin artması ve benzeri gebelik komplikasyonları gibi durumlar ortaya çıkabilir (Hartling ve ark., 2013).

4.4. Diyabetes Mellitus'un Tanı Kriterleri

Diyabetes Mellitus için tanı testleri, ADA'nın 2010 yılında revize ettiği ve 2019 yılında da aynı şekilde yayınladığı kılavuzuna göre; beden kitle indeksi (BKİ) ≥ 25 kg/m² olan ve aşağıda belirtilen risk faktörlerinden 1 ya da 2 tanesine sahip olan yetişkinlere uygulanmalıdır.

- Birinci dereceden akrabalarında diyabet olması
- Yüksek riskli etnik gruba ait olma (Afrika- Asya, Latin kökenli Amerikalılar, Pasifik Adalılar)
- Kardiyovasküler hastalık hikayesi
- Hipertansiyon ($\geq 140/90$ mmHg ya da hipertansiyon tedavisi alanlar)
- HDL-kolesterol < 35 mg/dl ve/veya trigliserit > 250 mg/dl
- Polikistik Over Sendromu (PCOS) olan kadınlar
- Fiziksel inaktivite
- İnsülin direncinin klinik bulguları

Prediyaabetli hastalar ($A1C \geq 5,7$, IGT, bozulmuş açlık glukozu (IFG) olanlar) tanı testlerini her yıl tekrarlamalıdır. Test sonuçları normale bu testler 3 yılda 1 defa tekrarlanmalı, risk faktörünü taşımayan kişilerde de 45 yaşından sonra yapılmalıdır. GDM tanısı almış kadınlar yaşamları boyunca testleri her 3 yılda 1 defa tekrarlamalıdır (ADA, 2019).

Diyabet için açlık plazma glukozu, 75 g OGTT ile glukoz yüklemesinden 2 saat sonra plazma glukozu, HbA1C ve diyabet semptomları varlığında rastgele plazma glukozu ölçümü olmak üzere 4 tanisal test önerilmektedir (Tablo 3) (World Health Organization, 2019; ADA, 2019).

Tablo 3. DM tanı kriterleri; glukoz testleri ve yorumu (ADA, 2019; Handelsman ve ark., 2015; Alphan ve ark., 2013, değiştirilerek kullanılmıştır)

Test	Sonuç	Tanı
Açlık plazma glukozu	< 100 mg/dl	Normal
	100-125 mg/dl	Bozulmuş açlık glukozu (IFG)
	≥ 126 mg/dl	Diyabet
2. saat, 75 g- OGTT sonrası plazma glukozu	< 139 mg/dl	Normal
	140-199 mg/dl	Bozulmuş glukoz toleransı (IGT)
	≥ 200 mg/dl	Diyabet
Hemoglobin A1C (%)	$< 5,7$	Normal
	5,7- 6,4	Yüksek risk
	$\geq 6,5$	Diyabet
Rastlantsal plazma glukozu	≥ 200 mg/dl	Diyabet

4.5. Diyabetes Mellitus'un Komplikasyonları

Diyabetin tüm gruplarında, hiperglisemiden korunmak ve normoglisemiyi sağlamak, DM komplikasyonlarının sebep olabileceği morbidite ve mortaliteyi önlemek açısından önemlidir (Fowler, 2008).

Tablo 4. DM'nin komplikasyonları

Akut Komplikasyonlar	Kronik Komplikasyonlar	
	A.Mikrovasküler	B.Makrovasküler
Non ketotik hiperozmolar koma	Nefropati	Koroner arter hastalığı
Ketoasidoz	Retinopati	Serebrovasküler hastalık
Laktik asidoz	Nöropati	Periferik vasküler hastalığı
Hipoglisemi		

4.5.1 Akut komplikasyonlar

Nonketotik hiperozmolar koma, DM'nin ketoasidoz olmaksızın ileri derecede hiperglisemi, plazma hiperosmolaritesi, dehidratasyon ile karakterize mortalite oranı yüksek bir komplikasyonudur. Artmış hepatik glukoz yapımının yanında periferik glukoz kullanımının azalması temellidir. Glukoz üretimi ile idrar yoluyla atımı arasında dengesizlik vardır ve bu durum kalp hastalıkları, pankreatit ve felce sebep olmaktadır (Bishop ve ark., 2016; Bozkurt, 2013).

Ketoasidoz, insülin ve insülin antagonisti büyüme hormonu, kortizol, glukagon gibi hormonlar arasındaki dengenin insülin aleyhine bozulması sonucu enerji için glukoz yerine yağların kullanılması ve üretilen keton miktarının artmasıdır. Ketoasidoz karaciğer tarafından üretilen ketoasitlerin artışına bağlıdır. Kanda glukoz ve keton cisimlerinin artması sonucu artan hücre dışı basınç etkisiyle, hücre içinden dışına su çekilmesi, dehidratasyona sebep olmaktadır (Franz ve Evert, 2017; Bozkurt, 2013).

Laktik asidoz, nadir rastlanılan ve genel olarak Tip 2 DM'de görülen bir komplikasyondur. Hücrelerin, enerji için glukoz dışı yakıt kaynaklarını kullanımının artması sonucu üretilen laktik asit miktarı da artmaktadır ve vücutta laktik asitin birikmesi sonucu denge bozulmaktadır. Metforminin aşırı alımı sonucunda görülebilmektedir (Akçay ve ark., 2018; <https://www.turkdiab.org>, Erişim tarihi: 27 Ekim 2019).

Hipoglisemi, DM'nin en sık karşılaşılan ve akut etkilenmeler içinde tedavi edilmezse en tehlikeli olabilen komplikasyonudur. Plazma glukoz seviyesinin 70 mg/dl ve altında olması hipoglisemi olarak tanımlanır. Plazma glukoz seviyesi 50- 55 mg/dl arasındayken titreme, baş dönmesi, terleme, anksiyete, açlık, kalp çarpıntısı, yorgunluk, öfke, baş ağrısı, bilinç kaybı gibi semptomlar gözlenir. Hipogliseminin sebepleri arasında yüksek dozdaki insülin ve oral sekretagog ilaç kullanımı, öğün atlanması ve yanlış öğün planı, uzun süren yüksek yoğunlukluktaki fiziksel aktivite yer almaktadır (Franz ve Evert, 2017; Bishop ve ark., 2016).

4.5.2. Kronik komplikasyonlar

Diyabetin vasküler ağa olan doğrudan ve dolaylı etkilerinden dolayı vücudu hiperglisemiden korumanın önemi göz ardı edilemez. Kronik hiperglisemi uzun sürede organlarda hasara ve fonksiyon bozukluklarına sebep olabilir. İnce damarlardaki hasara bağlı mikrovasküler komplikasyonlar, büyük damarlardaki hasara bağlı makrovasküler komplikasyonlar ortaya çıkar (Salci ve ark., 2017).

A. Mikrovasküler

Nefropati, DM'nin glomerüllerdeki hasar sonucu böbrekte ilerleyici yapısal ve fonksiyonel anormalliklerin oluşması ile ortaya çıkan, proteinüri ve hipertansiyon ile karakterize bir komplikasyonudur ve gelişmiş ülkelerdeki son dönem böbrek yetmezliğinin en sık karşılaşılan sebebidir. Fonksiyonel olarak öncelikle glomerüler filtrasyon hızı artmaktadır. Hiperglisemi hiperfiltrasyonu indüklemektedir. İntraglomerüler hipertansiyon ortaya çıkmakta ve sonuçta proteinüri, sistemik hipertansiyon ve fonksiyonel kayıp oluşmaktadır. En erken klinik bulgusu mikroalbuminüridir. DM, hipertansiyon ve böbrek yetmezliği birbiriyle bağlantılı olduğundan, nefropatide hiperglisemi ve hipertansiyon kontrolü önemlidir (Türkiye Diyabet Vakfı, 2019; ADA, 2002; Hostetter ve ark., 1981).

Retinopati, uzun süreli hiperglisemiye bağlı olarak retina kapillerlerinde meydana gelen fonksiyonel ve yapısal değişikliklerdir. Görme kaybı ve körlükle sonuçlanabilmektedir. Hiperglisemi sebebi ile glukozun normalden daha fazla oranda

fosforilasyona gerek kalmadan fruktoza dönüşmek suretiyle metabolize edilmesi sonucu, göz lenslerinde artan sorbitol hücre içine su çekerek ödeme ve hücre fonksiyonlarının bozulmasına sebep olur. DM’de göz hastalıkları başlangıçta belirgin semptomlar göstermediğinden, retinopati açısından takibin düzenli olarak yapılması gerekmektedir (Fowler, 2008; Bozkurt, 2013).

Nöropati, hipergliseminin periferik, somatik veya otonomik sinirlerde sebep olduğu hasar sonucu otonomik, motor ve duyuşal fonksiyonları olumsuz etkileyen bir komplikasyondur. En sık karşılaşılan türü periferik nöropatidir ve hastaların yaklaşık yarısında asemptomatiktir. Diyabetik nöropatiye bağılı çeşitli problemler olmasına karşın en yaygın belirtileri ayak ülserleri, ayaklarda karıncalanma, uyuşukluk, ağrı, bacak ve ellerde zayıflıktır. Konstipasyon, diyare gibi gastrointestinal sistem motor bozuklukları görülebilir (Türkiye Diyabet Vakfı, 2019; Alphan ve ark., 2013; Bozkurt, 2013).

B. Makrovasküler

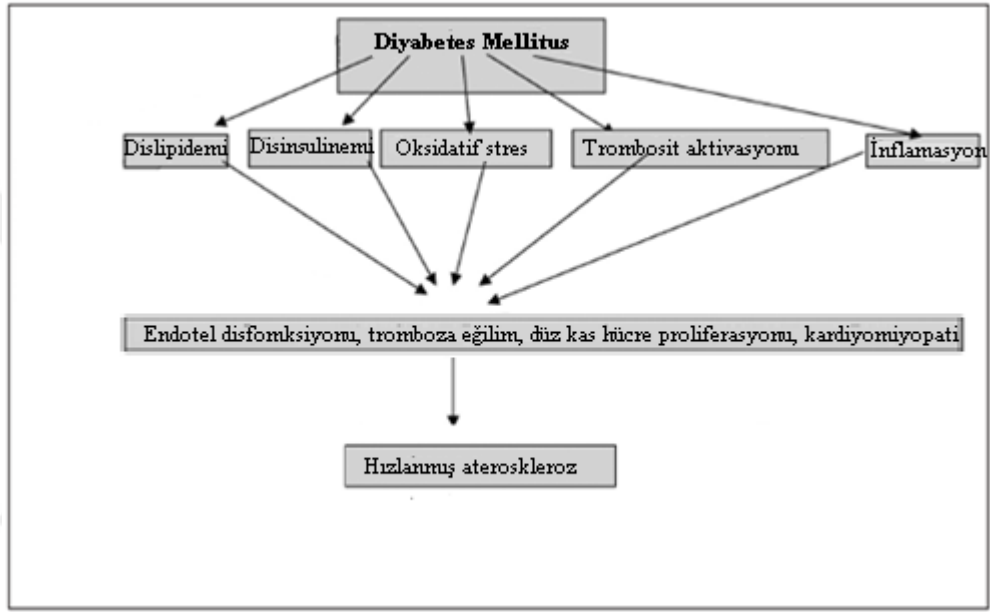
Makrovasküler komplikasyonlarda merkezi patolojik mekanizma, arter duvarlarının daralmasına neden ateroskleroz sürecidir. Aterosklerozun, hipergliseminin kronik iltihaplanma ve periferik veya koroner vasküler sistemdeki arter duvara vermiş olduğu hasardan kaynaklandığı düşünölmektedir. DM ve ilişkili mikrovasküler komplikasyonları olan hastalar serebrovasküler ve kardiyovasküler hastalıklara yol açan ateroskleroz açısından daha yüksek riski altında görünmektedir (Chawla ve ark., 2016; Fowler, 2008).

Periferik arter hastalığına bağılı bacak ve ayak ampütasyonları DM’li bireylerde daha fazla görölmektedir. Mikrovasküler komplikasyonlarla birlikte diz altındaki küçük ve orta çaplı damarlarda lezyon oluşumları kolaylaşır (Hacıoğlu, 2012).

Ateroskleroz nedeniyle beyin kan akımını sağlayan büyük damarlarda meydana gelen değişiklikler serebrovasküler hastalıklara sebep olur ve DM’li bireylerde bu damarlarda trombüs oluşumu sık görölr. Trombotik inme riski DM’de 2-6 kat artmıştır ve inmeler daha ölümcül olmaktadır (Hacıoğlu, 2012).

4.6. Diyabetes Mellitus'un Kardiyovasküler Komplikasyonları

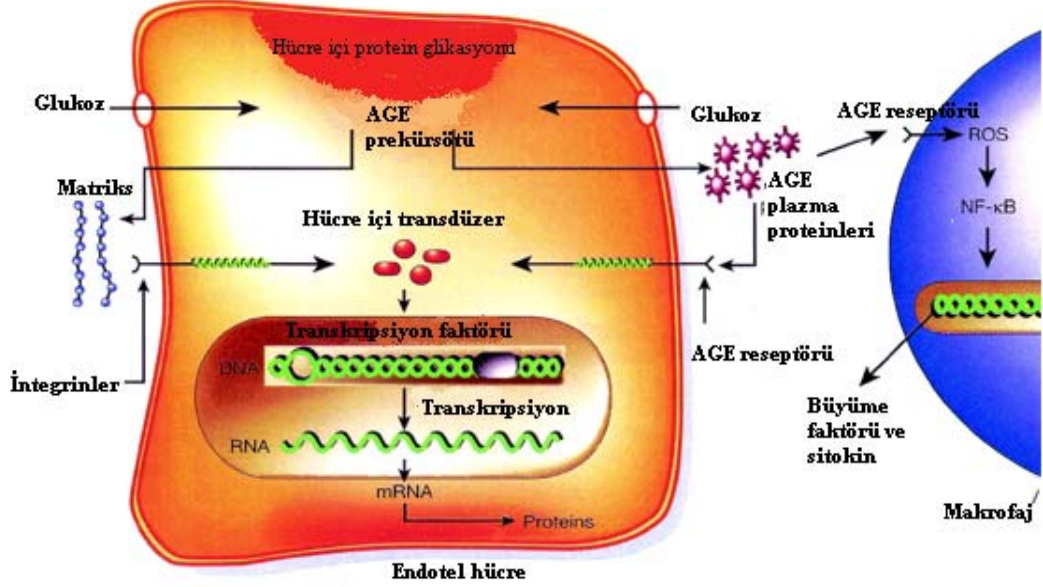
Kardiyovasküler hastalıklar, dünya genelinde hastalığa bağlı sakatlık ve ölümlerin en sık nedeni olup DM'nin makrovasküler komplikasyonlarının önemli bir kısmını oluşturur ve diyabetli hastalarda mortalitenin en önde gelen sebebidir. DM, kardiyovasküler sistemi çeşitli yollardan etkileyebilmektedir ve aterosklerotik sürecin hızlanmasına sebep olmaktadır (Keskin ve Balcı, 2011; ADA, 1998) (Şekil 1).



Şekil 1. Diyabetes Mellitus'ta kardiyovasküler komplikasyon gelişim patolojisi (Keskin ve Balcı, 2011, değiştirilerek kullanılmıştır)

Hiperglisemi, glukoz oksidasyonu, lipit oksidasyonu ile serbest yağ asitlerinin artması ve ileri glikozilasyon metabolizması ürünü (AGE) ile sonuçlanır (Şekil 2) ve endotel hücreleri ile monositlerin aktivasyonunu artırarak endotel fonksiyonunun bozulmasına ve inflamasyonuna, nitrik oksit (NO) salınımının azalmasına katkıda bulunur. Buna bağlı olarak trombosit fonksiyonunda bozukluklar ve aktivasyonunda artış ortaya çıkmaktadır. Aktivasyonu artan monositler tümör nekroz faktör-a (TNF-a) ve interlekinler (IL) dahil olmak üzere proteinazları ve inflamatuvar mediatörleri üreten köpük hücreler olan makrofajlara dönüşerek inflamasyonu tetikler. Vücutta inflamatuvar yanıtın artması lökosit sayısının artmasına sebep olur. Artan lökosit sayısı da oksidatif stresin artışına katkı sağlar. Sonuçta hiperglisemi ve artmış inflamatuvar

yanıt, endotel disfonksiyonuna neden olarak kardiovasküler komplikasyonların gelişimine katkı sağlar (Wang ve ark., 2016; Keskin ve Balcı, 2011; Hunt 1990).



Şekil 2. AGE öncüllerinin artmış üretimi ve patolojik sonuçları (Brownlee, 2005, değiştirilerek kullanılmıştır)

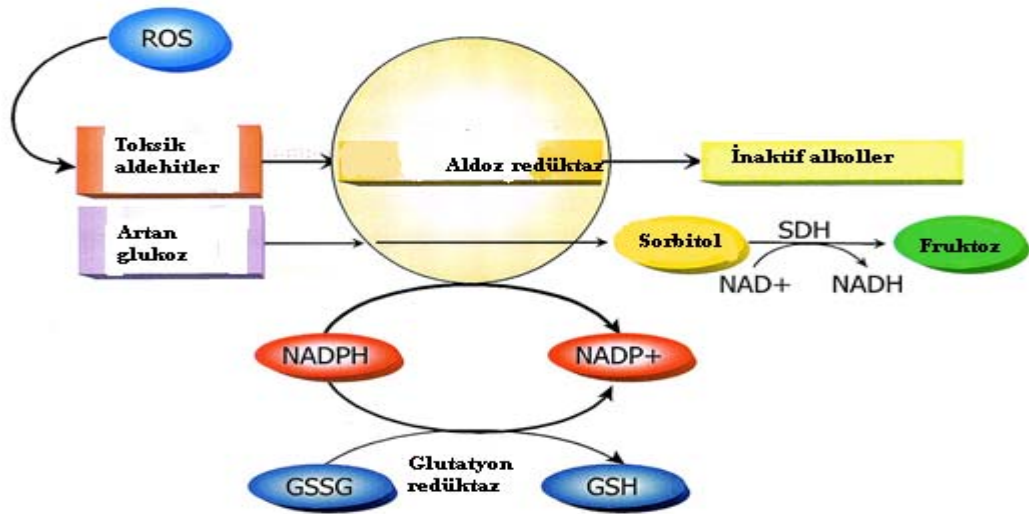
Dislipidemi DM’de yaygın olarak görülür. Artmış trigliserit (TG), çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL), apoprotein B ve azalmış yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) seviyeleri ile karakterizedir. Düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) seviyeleri çok yükselmiş olmasa da daha aterojenik modifikasyonları artmıştır. Bu LDL partikülleri arter duvarlarına daha fazla penetre olarak okside lipitlerin birikimini ve monosit salınımını arttırarak aterosklerotik hasarı hızlandırmaktadır (Wang ve ark., 2016).

Diyabetes Mellitus’ta vasküler inflamasyona sebep olan mekanizmada, artmış oksidatif stres de rol oynayabilmektedir. Serbest radikaller, son yörüngelerinde paylaşılmamış elektron içeren molekül ya da atomlardır. Elektronların bu dizilimi kararsız olduğundan radikaller hızlı bir şekilde diğer moleküllerle veya radikallerle reaksiyona girerek kararlı bir konfigürasyon oluşturmaya çalışırlar. Bu bileşikler hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliği göstermektedir ve yararlı biyomoleküllerin fonksiyonlarını yitirmesine neden olmaktadır (Woods ve ark., 2002). Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge

içerisindedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur ve bu durum oksidatif stres olarak adlandırılır (Robertson ve ark., 2004; Serafani ve Del Rio, 2004).

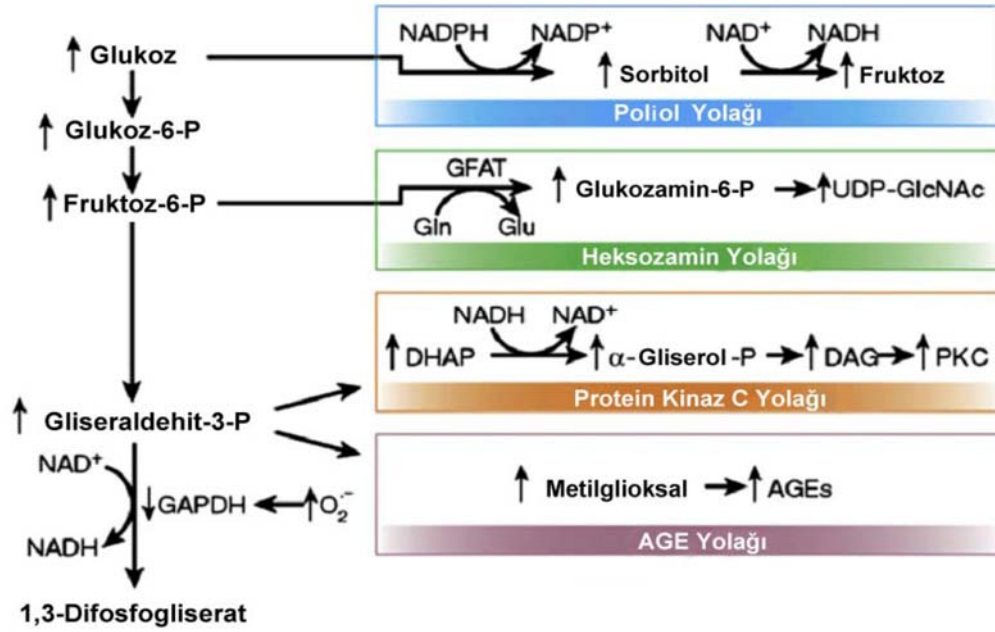
Diyabetes Mellitus'ta enzimatik, nonenzimatik, enerji metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan metabolik stres, sorbitol yol aktivitesi, hipoksi ve iskemi-reperfüzyon sonucu oluşan doku hasarının serbest radikal üretimini arttırdığı ve antioksidan savunma sistemini değiştirdiği vurgulanmaktadır (Robertson ve ark., 2004). Mitokondriyal solunum zinciri non enzimatik yoldur. Mitokondriyal elektron transport sisteminde, oksidatif fosforilasyon sürecinde elektronlar oksijene taşınır ve O_2^- radikali açığa çıkar. Hiperglisemi nedeniyle artmış radikal üretimi artmış glukoz metabolizmasıyla ilgilidir ve DM'de oksidatif stresin en önemli sebeplerindendir (Macit ve Akbulut, 2015; Brownlee, 2005) (Şekil 3, 4).

Diyabette oksidatif strese yol açan sebeplerden birisi de polioli yolu ile sorbitol üretiminde rol alan aldoz redüktaz enzim metabolizmasında meydana gelen değişikliklerdir. Aldo redüktaz toksik aldehitleri inaktif alkollere çeviren bir enzimdir. Glukoz normalde aldoz redüktaz için afinitesi düşük bir substrat iken yüksek düzeylerinde aldoz redüktaz, glukozu fruktoza çevirerek sorbitol oluşumuna sebep olur ve bu enzimin aktivitesi için bu yolda, önemli bir serbest radikal temizleyicisi olan glutatyonun etkinliğini gösterdiği redükte forma dönüşümü ve NO sentezi için de gerekli olan nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) tüketilmiş olur (Brownlee, 2005; Memişoğulları, 2005).



Şekil 3. Hipergliseminin polioli yolu üzerine etkisi (Brownlee, 2005, değiştirilerek kullanılmıştır)

Diyabetes Mellitus'ta oksidatif strese bağlı olarak artan glikozilasyon tepkimeleri sonucunda, makrofajlardan IL1 ve 6, TNF- α ve insulin benzeri b \ddot{u} y \ddot{u} me fakt \ddot{u} ri sekresyonunu aktive eden, endotel inflamasyonuna ve ayrıca resept \ddot{u} r aracılı mekanizma ile reaktif oksijen t \ddot{u} rlerinin oluşumuna neden olan AGE \ddot{u} retimi artar (Ott ve ark., 2014; Chuah ve ark, 2013). Hiperglisemide artan nikotinamid adenin din \ddot{u} kleotit-hidrojen/nikotinamid adenin din \ddot{u} kleotit (NADH/NAD) oranına bağlı olarak protein kinaz C aktivasyonu da artar ve protein kinaz C aktivasyonundaki artış DM'deki vask \ddot{u} ler patolojilere sebep olur. Endotel h \ddot{u} crelerde reaktif oksijen t \ddot{u} rlerinin oluşumuna neden olarak endotel fonksiyonundaki bozulmada rol alır (Macit ve Akbulut, 2015; Brownlee, 2005).



şekil 4. Hiperglisemiye bağlı gelişen hasarların mekanizması (Yılmaz, 2011, değiştirilerek kullanılmıştır)

4.7. Trombositler

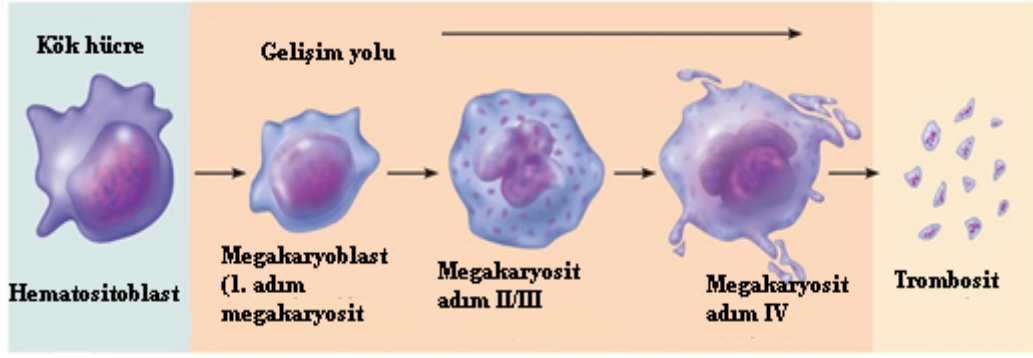
Trombositler, 2-5 μ m \mathring{c} apında, oval ya da bikonveks disk bi \mathring{c} iminde, hemoostazın yapı taşı olup vask \ddot{u} ler fonksiyonlar, inflamasyon ve ateroskleroz gibi olaylarda \ddot{u} nemli g \ddot{u} vrelere sahip kan h \ddot{u} creleridir. Trombositler, ilk kez 1842 yılında eritrosit ve l \ddot{u} kositlerin yanında kanda bulunan yuvarlak partik \ddot{u} ller olarak tanımlanmıştır. Osler

trombositleri 1874 yılındaki çalışmalarında, kanda dolaşan ve kan damarlarından çıkarıldıklarında hızlı bir şekilde agrege olan disk benzeri yapılar olarak tarif etmiştir. 1882 yılında Bizzozero trombositleri anatomik olarak tanımlamakla kalmamış hemoastazdaki görevlerini bildirmiştir. Bizzozero, trombosit ile ilgili yayınlarından 12 yıl önce de megakaryositleri tanımlayan ilk kişi olmuş; ancak trombositlerin prekürsörünün megakaryositler olduğunu keşfedememiştir. Wright, 1906 yılında trombositlerin kemik iliğinde bulunan hücreler olan megakaryositlerden parçalanarak oluştuğunu bildirmiştir (Barutçuoğlu, 2016; Altındış 2014; Coller, 2013).

4.7.1 Trombosit üretimi

Trombositler, büyük ve çekirdekli hücreler olan megakaryositlerin fragmantasyonu ile oluşan, nükleus içermeyen, içinde bulunan aminoasitleri kullanarak protein sentezleyebilen hücrelerdir. Protein sentezininin mitokondriyal nükleik asitler aracılığıyla gerçekleştiği düşünülmektedir. Sağlıklı bir bireyin kanındaki normal trombosit konsantrasyonları 150 000- 400 000/ mm³'tür. Bir megakaryositten ortalama 1 500-2 000 (500-4 000) trombosit oluşabilmektedir. Megakaryositlerden oluşmalarının ardından 5-7 gün kadar dolaşımda bulunurlar. Bu sürenin sonunda dolaşımdan retikuloendotelial sistem tarafından uzaklaştırılır. Trombositlerin, dolaşımda buldukları normal döngüleri sürecinde yapıları değişir; boyutları küçülür ve dansiteleri azalır (Holinstat,2017; Celkan, 2003).

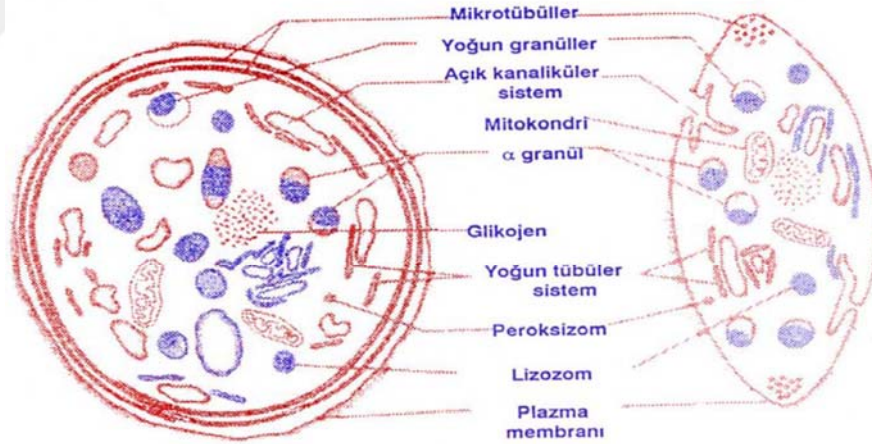
Megakaryositler kemik iliğinde sinüzoidal membrana yakın alana yerleşmişlerdir. Olgunlaşmaları sırasında, oluşturmuş oldukları ve protrombosit olarak adlandırılan ince, uzun sitoplazmik uzantılarını, sinuzoid membranındaki endotel hücrelerindeki venöz sinüslerin içine uzatırlar. Sitoplazmadaki granüler segmentlerde ayrılır ve bu uzantıların parçalanmasıyla trombositler oluşur. Geride kalan nükleus içeren yapı da fagosite edilir (Thon ve Italiano, 2012; Debili ve ark., 1990) (Şekil 5).



Şekil 5: Megakaryositlerden trombosit oluşumu (<https://medium.com/the-surg/lung-makes-blood-8c2090a629af>, Eşirim tarihi 30 Kasım 2019, değiştirilerek kullanılmıştır)

4.7.2 Trombosit yapısı

Fizyolojik fonksiyonları açısından trombosit yapısı periferik bölge, sol jel bölgesi, organel bölgesi ve membran sistemi olmak üzere 4 bölgeye ayrılarak incelenebilir (Gremmel ve ark., 2016)(Şekil 6).



Şekil 6. Trombosit yapısı (Şenel, 2005, değiştirilerek kullanılmıştır)

Periferik bölge: Bu bölge glikokaliks, submembran ve ünit membran bölümlerinden oluşur. Trombosit membranı nispeten pürüzsüzdür ve diğer kan hücrelerine göre daha kalın bir glikokaliks sahiptir. Yüksek çözünürlüklü elektron mikroskopunda, birçok küçük kıvrım ve açık kanal sistemin rastgele dağılmış açıklıkları ile buruşuk bir

görünüm sergiler. Trombosit dış cephesi olan glikokaliks dinamik bir yapıdır ve çevre ile ilk temas yeridir. Buradaki yüzey glikoproteinleri (GP), trombositlerin hasar görmüş damar duvarının subendotel yapılarıyla, adezyon ve agregasyon için etkileşmesini sağlayan reseptör görevi görür. Özellikle, mobil reseptör kompleksleri olan GPIIb-IX-V ve integrin α IIb β 3 aktif halde olmayan trombositlerin yüzeyinden bol miktarda eksprese edilir ve hemostazda büyük önem taşır (Gremmel ve ark., 2016; Altındış, 2014).

Çift katlı membran tabakasında glikokaliks tabakanın altında, trombosit iç ortamının korunması, trombosit adezyonu ve kontraksiyonda görev alan lipit bir yapı bulunur. Lipit tabaka, diğer hücre tiplerinin membranlarına morfolojik olarak benzer olmakla birlikte kan pıhtılaşmasında önemli bir rol oynar. Bu yapı trombosit aktivasyonunu takiben negatif yüklenen fosfatidilserin ile doku faktörünü (TF) içerir. Trombositler aktive edildiğinde, koagülasyon faktörleri Va, VIIa ve Xa'yı yüzey fosfatidilserinine bağlayabilen TF-taşıyan mikro partikülleri serbest bırakır. TF ile etkileşimi sayesinde koagülasyon intekrasyonu aktif trombositlerin yüzeyinde gerçekleşir (Gremmel ve ark., 2016; White, 2013).

Submembran bölge doğrudan lipit çift tabakasının altında bulunur ve trombosit işlevi için büyük öneme sahiptir. Bu bölgede bulunan kalmodulin, miyozin ve aktin içeren mikroflamanlar ve mikrotübüller, trombosit şeklinin korunması için önemlidir ve tüm transmembran reseptörlerinin sitoplazmik alanları miyozin ve aktin filamentleri ile ilişkili proteinlerle etkileşime girdiğinden trombosit aktivasyonu için gerekli olan sinyalizasyon işlemlerinde görevlidir (Gremmel ve ark., 2016; Hartwing ve DeSisto, 1991).

Sol jel bölgesi: Trombositin daha merkezi bir kısmında bulunan saydam ve viskoz bir maktris olan bu bölge sitoplazma ve mikrotübül ile mikroflamanlardan oluşur. Fibröz bir yapısı vardır. Submembran bölgenin hemen altında bulunan mikrotübüller aktifleşmemiş trombositlerin şeklinin korunmasını sağlar. Bu tübüler sistemin, içerdiği enzimler nedeniyle prostaglandin metabolizmasında rolü olduğu düşünülmektedir. Sol jel bölgesindeki 2 kanal sisteminin diğeri olan açık kanal sistemi ise depo organeller ve membran ile olan ilişkisi sebebiyle trombosit sekresyonunda rol almaktadır (Becker, 2008; Celkan, 2003).

Organel bölgesi: Organel bölgesi belirgin bir alan değildir fakat sitoplazma boyunca dağılmış olan ve trombositlerin 3 ana salgı organı olan α -granüller, yoğun granüller ve lizozomlar ile trombositlerin enerji metabolizması için önemli organel olan mitokondri, glikozomları ve tübülleri içerir. Trombositlerin nükleusu ve nükleer deoksiribonükleik asiti (DNA) olmamasına karşın yapısında bulunan bol miktardaki mitokondri, apoptozun çeşitli basamaklarının gerçekleştirildiğinin işaretidir. Organel bölgesi metabolik işlemlerin gerçekleştiği merkezi bölgedir; ayrıca enzimler, adenin nükleotitleri, serotonin, kalsiyum ve çok çeşitli proteinler için bir depolama alanı olarak da işlev görür (Gremmel ve ark., 2016; Becker,2008).

Alfa granüller; her trombositin 60-80 α -granülü içerdiği bildirilmiştir. Alfa granülü, granülün salgılanmasının ardından trombosit yüzeyine veya sirkülasyona salınan bazı proteinleri içerir. Alfa granülünden salınan trombosit aktivasyonunun en önemli belirteçlerinden biri, α -granül salgılanmasını takiben trombositin plazma zarının dışına bağlanıp selülozik trombositler ile damardaki diğer hücreler arasında bağ gibi işlev gören P selektindir (Holinstat, 2017). Bunun yanında α - granülün submembran bölgesi tüp benzeri yapılarında Willebrand faktörü içerirken, periferal bölgede megakaryositik proteinleri, koagülasyon faktörü V, trombospondin ve trombositler tarafından dışarıdan alınmış olan proteinleri içerir. Alfa granülün merkezi bölgesi, potansiyel olarak ağır metaller için bağlanma bölgelerine sahip proteinlerin bulunduğunu gösteren çevresel bölgeden daha yoğun görünür (Gremmel ve ark., 2016; White, 2013; White, 2004).

Yoğun granüller; her trombosit içinde paketlenmiş yaklaşık 4-6 yoğun granül olduğu düşünülmektedir. Alfa granüllerden daha küçüktürler. Megakaryopoezi sırasında yoğun granüller, a-granülleri ile birlikte ortaya çıkar ve a-granülleri gibi, erken yoğun granüller de multiveziküler gövdelerde sıralanır. Muhtemelen membran pompası aktivitesinin artması nedeniyle içerikleri olgunlaştıkça yoğunlaşır. En belirgin özellikleri boş bir alan ile çevrili elektron opak küresel yapılarının olmasıdır. Bununla birlikte, bazı yoğun granüllerde bu boşluk, filamentler tarafından veya granül benzeri bir madde ile doldurulur. Bu granüller yüksek oranda kalsiyum, adenin tri fosfat (ATP), adenin di fosfat (ADP), urasil ve guanin nükleotitleri ve potasyum olmak üzere 200'den fazla küçük molekül içerir. Ayrıca, polifosfatlar ve serotonin ve histamin gibi biyoaktif aminler de trombositin yoğun granüllerinde bulunur. Trombosit

aktivasyonunun ilk aşamalarını takiben, yoğun granül, trombositin plazma zarı ile birleşir ve içeriğini hücre dışı vasküler alana bırakır ve salınan bileşenler trombosit agregasyonunu sağlar. Aynı zamanda içeriğindeki bazı serotonin gibi bileşenler de lokal vazokonstriksiyona katkıda bulunur. Bu küçük moleküllerin birçoğu trombosit yüzey reseptörleri üzerinden işaret edebilir. Yoğun granül hareketine cevap verdiği bilinen trombosit üzerinde en çok çalışılan reseptör sınıflarından biri purinerjik reseptördür (P2Yx). Trombositler, her ikisinin de trombosit aktivasyonunda önemli rol oynadığı düşünülen antitrombosit tedavinin hedefi olan, P2Y1 ve P2Y12 adlı 2 purinerjik reseptörü eksprese ederler (Holinstat, 2017; Gremmel ve ark., 2016; Flaumenhaft, 2013).

Tablo 5. Alfa granül içeriği (Gremmel ve ark., 2016; Celkan, 2003, değiştirilerek kullanılmıştır)

Enzimler	α 1 antitripsin α 2 makroglobulin α 2 antiplasmin C1-esteraz inhibitörü
Adezyon proteinleri	Fibrinojen Fibronektin VWF Trombospondin Vitronektin GP IIb/IIIa P-Selektin
Büyüme faktörleri	Epidermal büyüme faktörü Hepatosit büyüme faktörü Trombosit kaynaklı büyüme faktörü Endotelial büyüme faktörü Transformer büyüme faktörü β
Sitokin benzeri proteinler	IL 1 CD 40 Ligand Trombosit faktör β -Tromboglobulin
Koagülanlar, antikoagülanlar ve fibrinolitik proteinler	Plazminojen Faktör V Faktör IX Faktör XIII Fibrinojen Antitrombin, Protein S, doku α 2-makroglobulin
İmmün mediatörler	Prekürsör C3 ve C4, IgG

Tablo 6. Yoğun granül içeriği (Gremmel ve ark., 2016, değiştirilerek kullanılmıştır)

Kasyonlar	Kalsiyum Magnezyum Potasyum
Fosfatlar	Polifosfat Pirofosfat
Biyoaktif aminler	Serotonin Histamin Epinefrin
Nükleotidler	ADP* ATP** UTP*** GTP****

*ADP, adenozin difosfat; **ATP, adenozin trifosfat; ***UTP, idrar trifosfat; ****GTP, guanozin trifosfat

Lizozomal granül; proteinin parçalanmasında önemli görevleri vardır. Granülün salınımının büyük bir kısmı trombosit aktivasyon sürecinde ve muhtemelen yeni trombositlerin büyüyen bir trombusa dönüştürülmesinde pozitif feedbackte önemli bir rol oynarken, bir kısım salınımın da çevredeki kan hücrelerine ve endotele işaret ettiği düşünülmektedir (Holinstat, 2017). Bu durumun damarda yaralanma sonrası oluşan bir durum olduğu ve ilk trombosit aktivasyonu ile pıhtı oluşumunu takiben yara iyileşmesinde rol oynayan bir mekanizma olduğu düşünülmektedir. Trombosit lizozomları protein parçalayan elastaz, katapsin, kollestat gibi enzimleri; karbonhidratları parçalayan glukozidaz ve galaktozidaz gibi enzimleri içerir (Flaumenhaft, 2013).

Tablo 7. Lizozomal içerik (Gremmel ve ark., 2016, değiştirilerek kullanılmıştır)

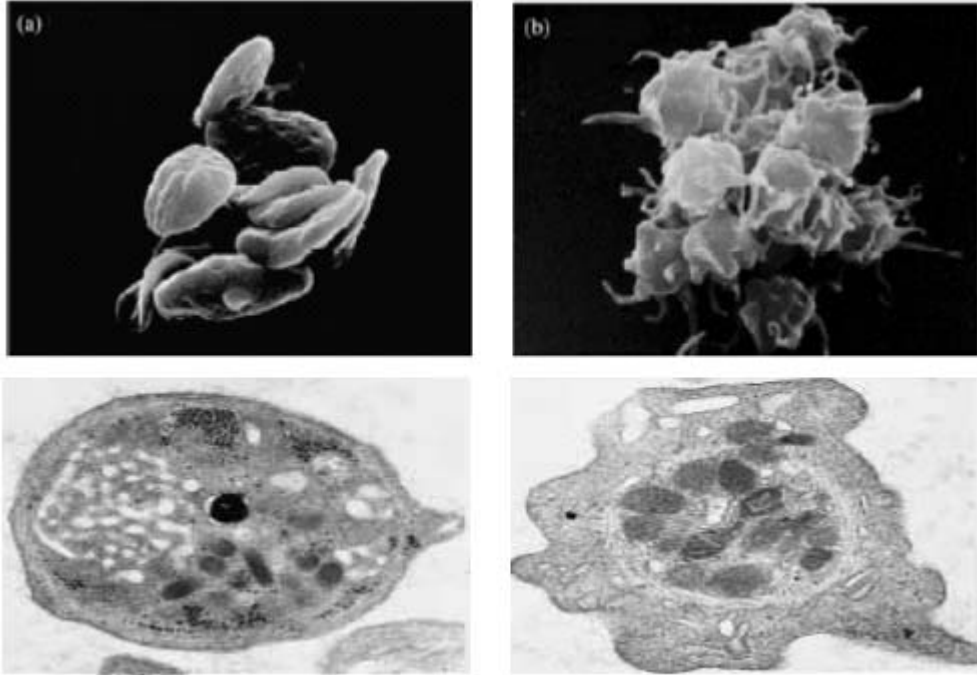
Protein parçalayıcı enzimler	Katapsinler Elastaz Kolajenaz
Karbonhidrat parçalayıcı enzimler	Glukozidaz Galaktozidaz Mannozidaz
Fosfat esterlerini parçalayıcı enzimler	Asit fosfataz

Membran sistemi: Dış plazma membranının yanı sıra, bu bölge trombositlerdeki membran sistemleri golgi komplekslerini, yüzeye bağlı açık kanal sistemi, yoğun tübüler sistemi ve kaba endoplazmik retikulumdan oluşur. Açık kanal sistemleri, trombositin iç kısımlarına doğru ilerleyen trombosit yüzey membran yapısıdır ve bu kanallar hücrel aktarımda geniş bir yüzey alanı sağlayarak trombosit aktivasyonu boyunca şekil değişikliği ve granül içeriğinin salgılanmasında görev alır. Yoğun

tübüler sistem, prekürsörü olan megakaryositin düz endoplazmik retikulumunun bir kalıntısıdır ve trombosit hücrenin içinde bulunan 2. bir membran sistemini temsil eder. Prostaglandin sentezinde yer alan enzimlerin yanı sıra kalsiyum için bir depolama alanı görevi görür. İki membran sistemi birbiriyle doğrudan iletişim halindedir ve içerik değişimini sağlar (Gremmel ve ark., 2016; Becker, 2008).

4.7.3. Trombosit fonksiyonları

Normal koşullarda, trombositler diğer trombositlerle veya vasküler endotel ile etkileşime girmeden kan damarlarında dolaşır. Endotel hasarı varlığında aterosklerotik plakların yırtılmasından, trombositten zengin pıhtı oluşumuna yol açan bir takım olaylar başlar. Başlangıç olayına bağlı olarak, bu normal hemostaz veya patolojik vasküler tromboz olabilir. Trombositler aktive olduklarında saniyeler ve dakikalar içinde fonksiyonlarını yerine getirmeye başlarlar (Şekil 7). Normal koşulların bozulmasıyla trombositlerde bir süreç halinde adezyon, aktivasyon, sekresyon ve agregasyon fonksiyonları gerçekleşir (Fritsma, 2015;Becker, 2008).



Şekil 7. Aktif olmayan ve aktif haldeki trombosit a) aktif olmayan, b) aktif (Willoughby ve ark., 2002; George, 2000, değiştirilerek kullanılmıştır)

Adezyon: Aktif olmayan trombositler normalde diskoid yapıda olup düzgün bir yüzeye sahiptir. Hasara bağlı uyarıya ilk yanıt, trombositlerin adezyonu ve şekil değişikliğidir. Vasküler tabaka aralıklarının ortaya çıkmasına sebep olan patofizyolojik damar hasarı subendotelyal dokunun açığa çıkmasına neden olur. Trombositlerin subendotelyal matrikse adezyonu, plazma von Willebrand Faktörü' (vWF) nün etkileşmesi ve yüzeyindeki reseptör görevi gören glikoproteinlerin kollajen, fibronektin, laminin, fibrinojen gibi subendotelyal yapılara bağlanması ile gerçekleşir. İlk olarak trombosit gövdesi sertleşir ve psödopodlar oluşur ve bu psödopodlar yoluyla trombosit damara tutunur. Ardından trombosit yayılma fazına geçerek daha sıkı bir şekilde subendotelyal dokuya bağlanır. Psödopod formasyonu oluşmadığında granüllerin merkezde toplanması ile trombosit küreselleşmesi gerçekleşir. Kan akımının yavaş olduğu bölgelerde GP Ia/IIa, GP IV reseptörü ile kollajen ile adezyona uğrar. Kan akımının hızlı olduğu bölgelerde ise vWF'nin, trombosit glikoproteinlerindeki özgül reseptörü olan GP-Ib/IX kompleksine bağlanması ile gerçekleşir (Becker, 2008; Gachet ve Cazenave, 1991; Siess 1989).

Tablo 8. Yüzey membran glikoprotein reseptörleri (Becker, 2008, değiştirilerek kullanılmıştır)

Reseptör	Ligand	İntegrin komponenti	Biyolojik Aktivite
GP Ia/IIa	Kollajen	$\alpha 2\beta 1$	Adezyon
GP Ib/IX	von Willebrand Faktörü	-	Adezyon
GP Ic/IIa	Fibronektin	$\alpha 5\beta 1$	Adezyon
GPIIb/IIIa	Kollajen Fibrinonektin Vitronektin Fibrinojen von Willebrand Faktörü	$\alpha IIb\beta 3$	Agregasyon (ikinci rol adezyon)
GP IV	Trombospondin	-	Adezyon
GPVI Vitronektin reseptör	Kollajen Vitronektin Thrombospondin	$A\alpha\beta 3$	Adezyon
VLA-6	Laminin	$A6\beta 1$	Adezyon

Aktivasyon: Adezyonu takiben bu bölgeye toplanan trombositler, aktivasyonu tetikleyen ADP, epinefrin, trombin, kollajen, araşidonik asit, fibrinojen, trombokson A2 (TXA2), serotonin, plazmin gibi agonistlerin salgılanıp trombosit yüzeyindeki reseptöre bağlanmasıyla aktivasyona başlar. Agonistlerin bir kısmı çevredeki doku ya

da plazmada oluşurken, bir kısmı da trombositlerin kendilerinden salınır. Trombosit aktivasyonunu başlatan bu agonistler, agregasyonun engellendiği durumlarda bile granül sekresyonunu uyaran güçlü agonistler (kollajen, trombin, prostaglandin, endoperoksitler, TXA2, trombosit aktive edici faktör) ve tek başına granül sekresyonunu uyaramayıp yalnızca agregasyonu uyaraabilen zayıf agonistler (ADP, epinefrin, vazopressin, serotonin) olarak sınıflandırılırlar. Aktivasyon için trombositlerin bu agonistlerle uyarılması ve beraberinde de kalsiyum ve magnezyum iyonlarının, fibrinojen, vWF gibi plazma proteinlerinin ve trombosit yüzey reseptörlerinin olması gerekir. Agonistlerin trombosit yüzey reseptörlerine bağlanmasıyla hücre içindeki sinyal iletim mekanizmasındaki inositol 1,4, 5 trifosfat (IP3), diaçilgliserol (DG) ve araşidonik asiti içeren ikincil mesajcı sistemi devreye girer. İnositol 1,4, 5 trifosfat, trombositlerin yoğun tübüler sisteminden kalsiyum açığa çıkararak sitozolik kalsiyum düzeyini yükseltir. Artan sitozolik kalsiyum düzeyleri araşidonik asit salınımını kolaylaştırır. Diaçilgliserol de, Ca⁺² bağımlı proteinkinaz C'yi uyarak granül sekresyonuna ve membran glikoprotein kompleksi üzerindeki fibrinojen reseptörlerinin açığa çıkmasına neden olur. Bu işlem plazma membranında ve yoğun tübüler sistemde gerçekleşir. Araşidonik asit, TXA2'ye dönüştükten sonra hücreden uzaklaşıp trombositlerdeki özgül reseptörleriyle etkileşerek daha ileri trombosit aktivasyonuna neden olur. Her agonist, trombositlerdeki kendi özgül reseptörlerine bağlanarak sinyal mekanizmaları aracılığıyla bu olayların farklı bölümlerini etkiler. İkincil mesajcı uyarılarının iletilmesine trombositler şekil değiştirip, kümeler oluşturarak ve granül sekresyonunu gerçekleştirerek cevap verirler. Bu cevaplardan birisi de trombosit aktivasyonunun önemli göstergelerinden olan α -granüllerden salınımla eş zamanlı olarak trombosit yüzeyinde P selektin (Glikoprotein 140= PADGEM proteini= CD 62 (Cluster Differentiation 62)) ekspresyonunun başlamasıdır (Altındış, 2014; Ateş, 2010; Becker, 2008; Michelson, 1996; Shattil ve ark., 1987; Berridge, 1987; Ring ve Sage, 1990).

Agregasyon: Aktive olan trombositlerin hemostatik bir tıkaç oluşturmak için kümeleşip şekil değişikliğine uğrayarak fibrin bağları ile birleşmeleridir. Aktivasyon sonucunda trombositlerin glikoprotein membran yüzeyinde protein bağlanma kısımları ortaya çıkar. Agregasyonda özellikle GP IIb/IIIa önemli göreve sahiptir. GP IIb/IIIa kompleksi üzerindeki fibrinojen bağlanma bölgelerinin aktif hale geçmesiyle

2 trombosit arasında fibrin bağları ile fibrinojen köprüleri kurulur ve mikroagregatlar oluşur. Bağlanma, ortamda bulunan kalsiyum konsantrasyonu ile de yakından ilişkilidir (Egemen, 2010; Becker, 2008).

Sekresyon: Trombosit aktivasyonu ile granüllerin içeriğinin eş zamanlı salındığı bilinmektedir ve bu olaya sekresyon denir. Bu olay 2 şekilde gerçekleşir; birincisi trombosit granülleri içinde depolanmış maddelerin, adezyonun başlaması ile birlikte membranın kanal sistemleri aracılığıyla ortama salınmasıdır. İlk olarak yoğun granüller, daha sonra α -granül içerikleri salınır. İkincisi ise plazma membranından ekzositoz ile salınmasıdır. Bu esnada trombositlerin çapı artar ama bütünlüğü bozulmaz ve fonksiyonlarına devam edebilirler. Granül sekresyonları enerji molekülünün varlığına ve intraselüler kalsiyum konsantrasyonuna bağlıdır. Bu sekresyonun devam edişi aktivasyonu zorlayarak yeni agregasyonları başlatır. Trombositlerin de yapısı değişerek çapları artmaya başlar. Trombin ve kollajen gibi maddeler sekresyonu başlatabilir. Oluşan trombosit agregatları arasında fibrinlerin meydana gelmesi ve ilerleyen aşamalarda fibroblastların da bu mekanizmaya dahil olması ile pıhtı sabitleşir (Holt, 1985; George ve Shattil, 1991).

4.7.4. Diyabetes Mellitus ve trombositler

Diyabetes Mellitus, trombosit fonksiyonlarının değişmesi ile de karakterize edilir ve trombositler DM'nin makrovasküler komplikasyonlarının temel patolojisi olan aterosklerozda merkezi bir rol oynar. Diyabet hastalarının %65'i kalp krizi ve felç gibi trombotik olaylardan yaşamlarını kaybetmektedirler. Hiperglisemi, insülin eksikliği ve direnci, DM ile ilişkili metabolik durumlar ve diğer hücrel anormalliklerin artmış trombosit aktivitesinde rol oynadığı düşünülmektedir. Hiperaktivasyon sonucu meydana gelen hiperagregasyonun neden olduğu tromboz, ana damarları tıkararak doku ölümüne kadar gidebilen harabiyete sebep olur (Ferreiro ve ark., 2010 ; Ferreiro ve Angiolillo, 2011).

Tip 1 veya Tip 2 DM hastalarının trombositleri hiperreaktiftir ve artmış agregasyon ile trombüs oluşumunun yanı sıra artmış adezyon gösterirler. Artan ortalama trombosit hacmi ve trombosit turnoveri, düzensiz kalsiyum homeostazı, artan ROT, TXA2

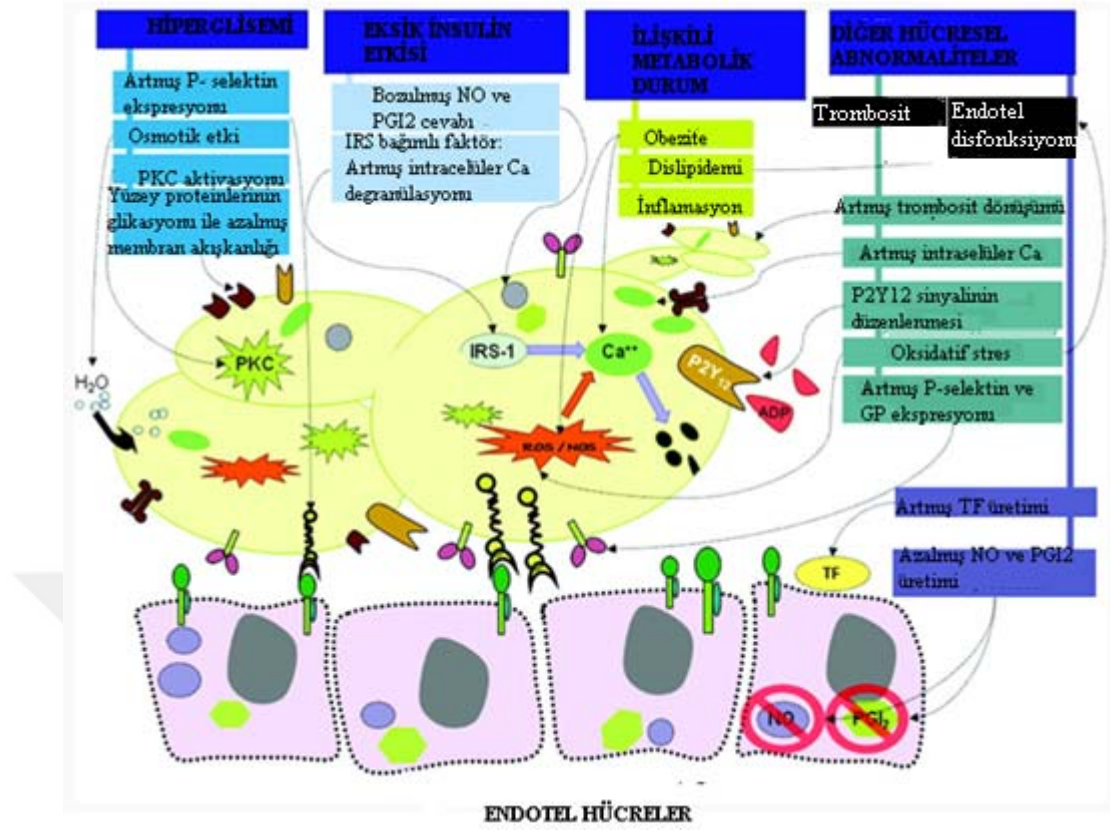
üretimi ve benzeri biyokimyasal değişikliklerin diyabet hastalarının trombositlerin hiperaktivitesine aracılık ettiği rapor edilmiştir (Santilli ve ark., 2015).

Hiperglisemi, trombositlerin aktivasyonunu artırıp protein yapı ve dizilimi, membran lipid dinamikleri ve membran akışkanlığı ile mitokondri işleyişinde değişikliklere yol açmaktadır (Şekil 8). Hiperglisemi;

- Trombosit membran proteinlerinin enzimatik olmayan glikasyonu ile trombosit adezyonunu artırabilen zar akışkanlığını azaltabilir.
- Glukozun ozmotik etkisi ile trombosit GP IIB/IIIa kompleksinin aktivasyonunu ve P selektin ekspresyonu arttırabilir.
- Trombosit aktivasyonunun bir mediatörü olan protein kinaz C'nin aktivasyonu arttırabilir.
- Hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu artıran LDL glikasyonuna sebep olur (Stolla ve ark., 2013; Vara ve ark., 2013; Ferreiro ve ark., 2010).

İnsülin eksikliği, DM gelişimi için temel faktördür ve trombosit fonksiyon bozukluğuna katkıda bulunur. İnsülin reseptörlerinin ve insülin benzeri büyüme faktörü-1(IGF-1) reseptörlerinin trombositlerde eksprese edildiği bilinmektedir. Yapılan *in vitro* çalışmalarda insülinin reseptöre bağlanmasının, magnezyumun trombosit içine translokasyonuna neden olduğu ve trombin ile indüklenmiş trombosit agregasyonunun azalmasında rol oynadığı gösterilmiştir. İnsülinin genellikle ADP, kollajen, trombin, araşidonik asit ve trombosit aktivasyon faktörü gibi agonistlere verdiği trombosit tepkilerini azalttığı ve bu yüzden insülin yetersizliği durumunda da trombosit hiperaktivitesinin arttığı düşünülmektedir (Kakouros ve ark., 2011; Ferreiro ve ark., 2010; Vinik ve ark., 2001).

Trombositler, trombozun önlenmesi ve tedavisi için DM hastalarının % 10-40'ında en sık kullanılan ilaç olan aspirine biyokimyasal olarak duyarsızdır. Artmış trombosit turnoveri, inflamasyon ve artmış trombosit oksidatif stresi diyabetik hastaların trombositlerinin aspirine duyarsızlığından sorumlu tutulmaktadır (Santilli ve ark., 2015; Ferreiro ve Angiolillo, 2011).



Şekil 8. DM'de trombosit fonksiyon bozukluğu ile ilgili mekanizmalar (Ferreiro ve Angiolillo, 2011, değiştirilerek kullanılmıştır)

4.8. Diyabetes Mellitus'un Tedavisi

Tip 1 DM'de primer tedavi insülin tedavisi, prediyabet ve Tip 2 DM tanısı alan hastalarda ise ilk tedavi seçeneği kilo kaybı olmalıdır. DM'nin yönetiminde insülin tedavisi ve antidiyabetik ilaçların yanında tıbbi beslenme tedavisi, egzersiz gibi yaşam tarzı değişiklikleri tedavinin temel yapı taşlarını oluşturur (ADA, 2019).

4.8.1. İnsülin tedavisi

Tip 1 DM'li bireylere, hiperglisemik acil durumda olanlara, kontrol altına alınamayan Tip 2 DM'de, diyet ile kontrol altına alınamayan GDM'li bireylere uygulanır. Ekzojen insülin glukozun hücre içine girişini sağlayarak karbonhidrat, protein, yağ metabolizmasını düzenler. İnsülin etki profiline göre kısa, hızlı, orta hızlı etkili, uzun etkili olarak sınıflandırılır (Tablo 9) (ADA 2018).

Tablo 9. İnsülin çeşitleri ve etki profilleri (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2019, değiştirilerek kullanılmıştır)

İnsülin tipi	Etki başlangıcı	Pik etki	Etki süresi
Kısa/ hızlı etkili			
Regüler U100	30 - 60 dk	2 - 4 st	5 - 8 st
Lispro U100 & U200	<15 dk	30 - 90 dk	3 - 5 st
Lispro U200(**)	<15 dk	30 - 90 dk	3 - 5 st
Biyobenzer İnsülin Lispro U100(**)	<15 dk	30 - 90 dk	3 - 5 st
Aspart	<15 dk	1 - 3 st	3 - 5 st
Glulisin	15 - 30 dk	30 - 60 dk	4 st
Regüler İnhaler(**)	<5 dk	20 - 40 dk	3 st
Çok Hızlı Etkili Aspart(**)	4 dk	30 - 90 dk	3 - 5 st
Orta etkili			
Regüler U500(**)	30 dk	2 - 4 st	<24 st
NPH	1 - 2 st	4 - 10 st	>14 st
Uzun etkili			
Detemir	3 - 4 st	6 - 8 st (Piksiz)	20 - 24 st
Glargin U100	90 dk	Piksiz	24 st
Biyobenzer İnsülin Glargin U100	90 dk	Piksiz	24 st
Glargin U300	90 dk	Piksiz	26 st
Degludec U100 & U200	30 - 60 dk	Piksiz	>30 st
NPH/Reg 70/30	30 dk	2 - 4 st	14 - 24 st
NPA/Asp 70/30	6 - 12 dk	1 - 4 st	18 - 24 st
NPL/Lis 75/25	15 - 30 dk	30 - 150 dk	14 - 24 st
NPL/Lis 50/50, NPA/Asp 50/50	15 - 30 dk	30 - 180 dk	14 - 24 st
NPA/Asp 30/70	10 - 20 dk	1.6 - 3.2 st	14 - 24 st
Deg/Asp 70/30	14 - 72 dk	2 - 3 st	>24 st

(*)Etki başlangıcı, pik etki ve etki süresi hastaya özgü nedenlerle değişim gösterebilir. Pik etki ve etki süresi doza bağlıdır. Yüksek dozlarda etki süresi uzar.

(**)Ülkemizde ruhsatlı değildir.

NPH: Nötral protamin Hagedorn, Reg: Regüler, NPA: Nötral protamin aspart, Asp: Aspart, NPL: Nötral protamin lispro, Lis: Lispro, Deg: Degludec

4.8.2. Oral antidiyabetik ilaçlar

Tip 2 DM'de yaşam tarzı önerilerine ilave olarak kullanılan farmakolojik ajanlar ile diyabet insidansının düşürüldüğü gösterilmiştir. Kullanılmakta olan başlıca ilaç grupları; insülin salgılatıcılar, insülin duyarlılaştırıcılar, α -glukozidaz inhibitörleri, insulinomimetrikler ve sodyum glukoz transporter inhibitörleridir. Diyabetin doğal süreci olarak oral ilaçlardan başlangıçta alınan iyi yanıtların azalması sonucu kombine

ilaç tedavileri de uygulanabilmektedir (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2019; Turan ve Kulaksızoğlu, 2015).

İnsülin salgılatıcılar, pankreasın β hücrelerindeki reseptöre bağlanarak insülin sekresyonunu uyarırlar. Hepatik glukoz çıkışını baskılayan ve periferik dokuda glukoz kullanımını arttıran Gibenklamid gibi sulfonilüreler ve etki süresi kısa fakat hızlı bir insülin uyarısına neden olan glinid grubu ilaçlar insülin salgılatıcılardır (Mizuni ve ark, 2008; Turan ve Kulaksızoğlu, 2015).

İnsülin duyarlılaştırıcılar, uzun yıllardır Tip 2 DM tedavisinde kullanılan metformin formu olan biguanidler ile tiazolidinedion grubu ilaçlardır. Biguanidler hepatik glukoz üretimini baskılayıp, periferik dokuların insülin duyarlılığını arttırlar. Tiazolidinedionlar, kas dokuda glukoz transporterları olan GLUT (Glukoz transportörü tip)-1 ve GLUT-4 ekspresyonunun artmasını sağlayarak insülin duyarlılığını arttırlar. Serbest yağ asidi seviyelerini düşürüp hepatik glukoz yapımını azaltırlar (Turan ve Kulaksızoğlu, 2015; Gurnel, 2005).

Alfa glukozidaz, ince bağırsağın fırçamsı kenar hücrelerinde bulunup oligosakkarit ve disakkaritleri parçalayan enzimdir. Alfa glukozidaz inhibitörleri bağırsaktan glukoz absorpsiyonunu geciktirmesiyle özellikle postprandiyal hiperglisemi tedavisinde kullanılır (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2019).

İnsulinomimetikler, amilin agonistleri ve inkretin mimetik ilaçlardır. Amilin, β hücrelerinden insülin ve c-peptid ile birlikte salgılanan, özellikle postprandiyal glukagon sekresyonunu baskılayarak ve gastrik boşalmayı geciktirerek öğün sonrası dolaşıma glukoz girişini azaltan bir hormondur. İnkretin mimetikler ise inkretin hormonları (glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1)) gastrik inhibitör peptid (GIP)) taklit ederek veya yıkımını engelleyerek, glukagon sekresyonunun inibe edilmesini sağlamak üzere geliştirilmişlerdir (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2019; Weyer ve ark, 2001).

Sodyum glukoz transporter inhibitörleri, renal proksimal tubulusta glukozun emilimini azaltarak idrar ile atılımını arttıran ilaçlardır. Gliflozinler ve glukoretikler bu gruptadırlar (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2019).

Tablo 10. Antidiyabetik ilaçlar (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2018; ADA, 2018, değiştirilerek kullanılmıştır)

Jenerik adı	Günlük doz	Alınma zamanı
İnsülin salgılatıcılar		
Glipizid (Sulfonilüre)	2.5-10 mg	Günde 2 kez, kahvaltıda ve akşam yemeğinde
Glipizid kontrollü salımlı form (Sulfonilüre)	5-10 mg	Günde 1 kez, kahvaltıda önce veya kahvaltıda
Gliklazid (Sulfonilüre)	80-240 mg	Günde 1-2 kez, kahvaltıda, gerekirse akşam yemeğinde
Gliklazid modifiye salımlı form (Sulfonilüre)	30-120 mg	Günde 1 kez, kahvaltıda önce veya kahvaltıda
Glibenklamid(Sulfonilüre)	2.5-10 mg	Günde 1-2 kez, kahvaltıda, gerekirse akşam yemeğinde
Glimepirid (Sulfonilüre)	1-8 mg	Günde 1-2 kez, kahvaltıda, gerekirse akşam yemeğinde
Glibornurid (Sulfonilüre)	12.5-75 mg	Günde 1-2 kez, kahvaltıda, gerekirse akşam yemeğinde
Glikuidon (Sulfonilüre)	15-120 mg	Günde 1-2 kez, kahvaltıda, gerekirse akşam yemeğinde
Repaglinid (Glinid)	1.5-6 mg	Günde 3 kez, yemeklerden hemen önce
Nateglinid (Glinid)	180-360 mg	Günde 3 kez, yemeklerden hemen önce
İnsülin duyarlaştırıcılar		
Metformin (Biguanid)	500-2500 mg	Günde 1-3 kez, aç karnına, yemekte veya tok karnına (günde bir kez 500 mg'dan başlanıp doz kontrollü artırılır)
Metformin uzun salımlı form(Biguanid)	500-2000 mg	Günde 1 kez, aç karnına, yemekte veya tok, tercihen akşam
Pioglitazon (Tiazolidindion)	15-45 mg	Günde 1 kez, yemekten bağımsız
Alfa Glukozidaz inhibitörleri		
Akarboz	150-300 mg	Günde 3 kez, yemeklerde ilk lokma ile birlikte
Miglitol	150-300 mg	Günde 3 kez, yemeğin başlangıcında
İnsülinomimetikler		
Eksenatid (GLP-1A)	Başlangıç dozu:10µg İdame: 20 µg	Günde 2 kez, sabah ve akşam yemekten 0-60 dakika önce, subkutan. injeksiyon

Tablo 10. Antidiyabetik ilaçlar (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2018; ADA, 2018, değiştirilerek kullanılmıştır) (devam)

Liraglutid (GLP-1A)	Başlangıç dozu: 0.6 mg İdame: 1.2-1.8 mg	Günde 1 kez, yemekten bağımsız, subkutan. injeksiyon
Liksisenatid (GLP-1A)	10-20 µg	Günde 1 kez, sabah veya akşam yemekten 1 saat önce subkutan injeksiyon
Dulaglutid (GLP-1A)	0.75-1.5 mg	Haftada 1 kez subkutan. injeksiyon
Sitagliptin (DPP4-İ)	100 mg	Günde 1 kez, yemekten bağımsız
Vildagliptin (DPP4-İ)	100 mg	Günde 1-2 kez, yemekten bağımsız
Saksagliptin, Linagliptin(DPP4-İ)	5 mg	Günde 1 kez, yemekten bağımsız
Sodyum glukoz transporter inhibitörleri		
Dapagliflozin	5-10 mg	Günün herhangi bir saatinde 1 kez, yemekten bağımsız
Empagliflozin	10-25 mg	Günde 1 kez sabah, yemekten bağımsız

GLP-1A: Glukagon benzeri peptid-1 analogları, DPP-4İ: dipeptidil peptidaz 4 inhibitörleri, SGLT-2İ: Sodyum glukoz kotransporter 2 inhibitörleri

4.9. *Ribes rubrum* L.

Ribes rubrum, diğer isimleriyle red currant, kırmızı frenk üzümü, genellikle kuzey ılıman kuşakta yayılış gösteren Grossulariaceae (Ribesiaceae) familyasının *Ribes* cinsine ait bir bitkidir. Bu familya yaklaşık 150 tür *Ribes* cinsi içermektedir. *R. rubrum* türü özellikle Belçika, Fransa, Almanya, Hollanda, Kuzey İtalya, Kuzey İspanya ve Portekiz olmak üzere Batı Avrupa'nın bazı bölgelerinde yaygın olarak yetiştirilmektedir (Sasaki ve ark., 2013; Kendir, 2012; Tim, 2012). Türkiye'de genellikle Kuzeydoğu Anadolu'da olmak üzere *Ribes*'in 8 türü doğal olarak yetişmektedir. *R. rubrum*, *R. nigrum* ve *R. uva-crispa*'nın meyvelerinden dolayı kültürü yapılmaktadır. Ancak ülkemizde yetiştirilen frenk üzümünün çoğu yabancı kökenlidir. *R. rubrum* bitkisi de meyvelerinden dolayı ülkemizde kültürü yapılan frenk üzümü çeşitlerinden biridir. Ziraat fakülteleri ve araştırma enstitülerinin katılımıyla 16 farklı bölgede frenk üzümü denemelerinin kurulmasına aracılık eden, 1995 yılında başlatılan "Frenk üzümü, Ahududu ve Böğürtlen Çeşit Islahı" adlı proje gibi çalışmalar bu bitki çeşidinin ülkemiz kültürüne de alınmasına katkıda bulunmaktadır (Başpınar, 2016).

Frenk üzümü meyvesi soğuk iklimi seven bir bitkidir ve kuzey bölgelerine adaptasyonu iyidir. Yaz sıcaklığına toleranssızdır ve kısa vadeli. Bitkiler meyveyi olgunlaştırmak ve vejetatif dönemlerini tamamlamak için 120-140 donsuz güne ihtiyaç duyar ve meyveleri 90 günde olgunlaşır (Tim, 2012).

Ribes rubrum, normalde 1–1,5 m boyunda, bazen de gri gövdeli 2 m boylarında, küçük, yaprak döken bir çalıdır. Yaprakları 3 loblu, yeşil renk, genelde 6x7 cm'dir. Meyveleri küresel, tüysüz, asidik, yaklaşık 8–12 mm çapında, yarı saydam, parlak ve kırmızıdır (Tim, 2012).



Resim 1. *Ribes rubrum* bitkisi (<http://kwyg.stonepocket.com/> Erişim Tarihi: 17 Kasım 2019, değiştirilerek kullanılmıştır)

Ribes rubrum, siyah frenk üzümüne göre biraz daha asidik olması nedeniyle çiğ tüketimi yerine çoğunlukla dondurulmuş, kurutulmuş konserve, reçel veya şurup haline getirilerek kullanılır. Doğal olarak yetiştiği mevsiminde salatalarda, garnitürlerde ve içeceklerde taze olarak kullanılabilir. İskandinavya'da sık sık meyve çorbalarında ve yaz pudinglerinde kullanılır. Almanya'da krema veya beze ile birlikte tartlarda kullanılır. Birleşik Krallık'ta jöle olarak, pazar rostolarında kuzu eti ile geleneksel bir baharat olarak kullanılır (Šumic ve ark., 2016; Tim, 2012).

Ribes rubrum'un 100 gramında; 56 kilokalori enerji, 1,40 g protein, 1,4 g total yağ, 13,8 g krabonhidrat, 4,3 g diyet lifi, 7,37 g şeker, 33 mg kalsiyum, 1 mg demir, 13 mg magnezyum, 44 mg fosfor, 275 mg potasyum, 1 mg sodyum, 41 mg C vitamini, 8 mg folat, 7,6 mg kolin, 2 µg retinol eş değeri vitamin A, 25 µg β karoten, 0,1 mg vitamin E içerir. Ayrıca antosiyanin ve polifenol bileşikler bakımından da zengindir. Bu

bileşenler ve vitamin C içeriği ile insan beslenmesinde önemli bir etkiye sahip olup zararlı bileşikler olan serbest radikal türleri üzerinde büyük bir etkiye sahiptirler. Yapılan çalışmalar tüm ham özlerin, süperoksit radikallerine karşı oldukça aktif olduğunu göstermektedir. Antidiyabetik, antihipertansif ve antioksidan aktivite açısından etkinliği çalışmalarla ortaya konmuştur (Šumic ve ark., 2016; Tim, 2012, Duke ve ark., 2002). Çalışmaların çoğu meyvelerin yumuşak kısımlarında bulunan polifenolik bileşiklere odaklansada ayrıca bazı sonuçlar tohum yağ içeriği nedeniyle hamilelik sırasında kullanımının yeni doğmuşlarda atopik dermatit riskini azaltabileceğini göstermektedir (Vuorinen ve ark., 2016).

Geleneksel olarak *R. rubrum* antiskorbüt, laktasif, diüretik, detoksifiye edici etkilerinden dolayı kullanılmaktadır. Yapraklarının karışımı romatizmal semptomları gidermek için haricen tercih etilmektedir. Ateş düşürücü, terletici, menstruasyonu tetikleyici, müshil etkili, iştah arttırıcı, idrar söktürücü özelliklere sahip olduğu düşünülür. Kurutulmuş yapraklarının ağız enfeksiyonları için gargara solüsyonu olarak kullanımının faydalı olduğu söylenir. Meyveleri kozmetikte yorgun ve cansız cildi sıkılaştırmak için kullanılır (Tim, 2012). İskandinav ülkelerinde yapılan çalışmalarda bağırsak kurtlarına karşı kullanıldığı belirtilmiştir (Waller ve ark., 2001). Meyve suyunun haricen öksürük ve astım tedavisi için kullanıldığı belirtilmiştir (Šarić-Kundalić ve ark., 2010).

4.10. Deneysel Diyabet Modelleri

Günümüzde çeşitli hastalıkların patogenezinin anlaşılması, hastalıktan korunma ve tedavi seçenekleri oluşturulabilmesi için deneysel hayvan modellerinin kullanımı yaygındır. DM kronik ve yaygın bir yaygın hastalıktır ve hayvan modellerinde deneysel olarak DM indüksiyonu, DM'nin patogenezinin çeşitli yönlerinin anlaşılması ve nihayetinde yeni tedaviler bulunması için esastır (Abu-Abeleh ve ark., 2009).

Sıklıklı fare ve sıçan olmak üzere kobay, hamster, tavşan, domuz, maymun, köpek ve kedi gibi deney hayvanları deneysel diyabet modeli oluşturmak amacıyla kullanılabilir (Öntürk ve Özbek, 2007). Hayvanlarda DM'yi indüklemek için çeşitli modeller kullanılabilir. Bunlardan bir tanesi pankreasın cerrahi olarak çıkarılmasıdır; ancak diyabeti tetiklemek için pankreasın en az %90-95'inin

çıkarılması gerekmektedir. Transgenik modeller, virüsle oluşturulan modeller, spontan hiperglisemili modeller, eksperimental modeller (insulin antagonisti hormonların yüksek dozları, yüksek yağlı ve şekerli diyetle besleme) ve daha sıklıkla tercih edilen streptozotosin (STZ), alloksan kullanılan kimyasal ajanlarla indükleme deneysel DM modeli oluşturmak için kullanılan yöntemlerdir (Akbarzadeh ve ark., 2007; İrer ve Alper, 2004).

4.10.1. Streptozotosin

Deneysel olarak insanlardakine benzer DM'yi indüklemek için kullanılan STZ, 2-deoxy-2-(3-(methyl-3-nitrosoureido)-Dglukopiranoz olarak adlandırılan bir kimyasaldır. STZ, *Streptomyces achromogens* bakterisi tarafından üretilir. Katı halde stabil değildir. Işıktan korunması ve -20°C'de dondurulmuş olarak saklanması gerekir. Nötral pH'da hızla dekompanze olduğundan kullanılacağı zaman taze olarak hazırlanmalı ve pH'sı 4-4,5 olacak şekilde sitrat tamponunda çözündürülerek, 4°C'de, ışıktan korunarak hemen kullanılmalıdır (Wu ve Yan, 2015; Öntürk ve Özbek, 2007; İrer ve Alper, 2004; Szkudelski, 2001).

Streptozotosin, yapısında bulunan glukoz molekülü aracılığıyla plazma membranındaki glukoz taşıyıcısına bağlanarak glukoz ile uyarılan insulin salınımını baskılar. Pankreasın β hücrelerine olan direk etkisiyle toksiktir. Glukoz molekülüne bağlı olan reaktif metilnitrosoüre ile STZ'nin sitotoksik etkilerini gösterdiği düşünülmektedir. β hücrelerinin plazma membranlarında bulunan GLUT2 reseptörleri ile glukoz tanınır ve sitotoksik kısmı pankreas β hücrelerine yönlendirerek β hücrelerinin harabiyetine sebep olur. Bu nedenle pankreas β hücresi, STZ'nin spesifik bir hedefidir. STZ'nin temel etki yerlerinden birisi DNA'dır. STZ'nin hücre içine GLUT2 ile alındıktan sonra direk DNA bazlarında alkilasyona sebep olup hücreyi öldürdüğü öngörülmektedir. GLUT2 karaciğer ve böbreklerde de az miktarda bulunduğundan, yüksek STZ dozları karaciğer ve böbrek fonksiyonlarını da bozabilir ancak STZ'nin çok kısa bir ömre sahip olması nedeniyle karaciğer ve böbreklerde akut toksisite kalıcı hiperglisemi elde edildikten sonra ihmal edilebilmektedir. STZ'nin vücuttan atılmasından sonra karaciğer ve böbreğin herhangi bir işlevsel bozukluğu, diyabetik hipergliseminin etkilerine bağlanabilir. Bu nedenle STZ bu

organlar ile beyin, kalp ve kas gibi diğerk organlardaki diyabetik komplikasyon mekanizmalarının çalışılmasının temel modelini oluşturmaktadır (Wu ve Yan, 2015; Deeds ve ark., 2011; İrer ve Alper, 2004).

Streptozotosinin pankreas β hücrelerini hasarlaması ile hem Tip 1 DM hem de Tip 2 DM oluşturulabilir. STZ, β hücrelerinin geri dönüşümsüz kaybına ve insüline bağımlı diyabet modelinin oluşmasına neden olabilirken, nikotinamid (NA) β hücrelerinin ölümünü önler. Bu nedenle deneysel diyabet modeli oluşturulmasında STZ uygulaması öncesi kullanılan ekzojen nikotinamid, β hücrelerinin ölümünü önleyerek Tip 2 DM modelinin indüklenmesinde rol oynar (Gülsün ve şahin, 2017).

Streptozotosin uygulamasından sonra ilk 2 saatte karaciğerde glikojenin ani yıkımına bağılı olarak kan glukozu yükselir ve geçici hiperglisemi görülür. Bu durum uygulama öncesi deney hayvanının 12- 18 saat aç bırakılması ile engellenebilir. Uygulamadan 6 saat kadar sonrasında şiddetli hipoglisemi fazı başlar. Bu nedenle STZ uygulamasından sonraki ilk 24 saat hayvana %5-10'luk dekstroz solüsyonu verilmesi hipoglisemiden kaynaklanabilecek ölümleri engelleyebilir. Uygulamadan 10-12 saat sonrasında plazma insülin düzeylerinin düşmesiyle kalıcı hiperglisemi fazı başlar (İrer ve Alper, 2004; Szkudelski, 2001).

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Etanol (C ₂ H ₅ OH)	MERCK
Dimetil sülfoksit (DMSO)	MERCK
DPPH çözeltisi	MERCK
Askorbik asit	MERCK
Troloks	MERCK
Bütilhidroksi anisol (BHA)	MERCK
Bütilhidroksitoluen (BHT)	MERCK
2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) diammonyum tuzu	MERCK
Potasyum persülfat (K ₂ S ₂ O ₈)	MERCK
Borat tamponu	MERCK
Tip V soya lipoksijenaz çözeltisi	MERCK
Linoleik asit çözeltisi	MERCK
İndometasin	MERCK
Sodyum fosfat tamponu (pH 6,9)	MERCK
Nişasta	MERCK
Dinitrosalisilik asit (DNSA)	MERCK
Akarboz	MERCK
Alfa glukozidaz enzimi	MERCK
p-nitrofenil- α -D-glukopiranozit (pNPG)	MERCK
Folin-Ciocalteu solüsyonu	MERCK
Sodyum sülfat (Na ₂ SO ₄)	MERCK
Kersetin	MERCK
Gallik asit	MERCK
Sodyum nitrit (NaNO ₂)	Sigma-Aldrich
Aluminyum klorid heksahidrat (AlCl ₃ .6H ₂ O)	MERCK
Sodyum hidroksit (NaOH)	MERCK
Potasyum klorür (KCL)	MERCK
Glibenklamid	Nobel (Gliben 5 mg)
Streptozotosin	Santa Cruz

Serum fizyolojik	Polifarma
Nikotin amid (NA)	Santa Cruz
Kolesterol ölçüm kiti	Biolabo (Cat No:80106)
Trigliserit ölçüm kiti	Biolabo (Cat No:80019)
Trisodyum sitrat ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$)	MERCK
Eter	MERCK
Formaldehit	MERCK
JC-1	Abcam ab113850
Anti-CD62P antikor (FITC)	Abcam ab73972
Fosforik asit (H_3PO_4)	MERCK
Sulfanilamid	Sigma-Aldrich
Naftiletendiamin	Sigma-Aldrich
Üre ölçüm kiti	Biolabo (Cat No:92032)
ALT ölçüm kiti	Biolabo (Cat No:80027)
AST ölçüm kiti	Biolabo (Cat No: :80025)
Gama-glutamil p-nitroanilid	SIGMA (ABD)
Glisilglisin	SIGMA (ABD)
Tris	MERCK
Hidroklorik asit (HCL)	MERCK
Trikloro asetik asit (TCA)	Sigma-Aldrich
TNF-alfa ölçüm kiti	Abcam, ab46070 Rat ELISA Kit

5.2. Kullanılan Cihazlar ve Aletler

Rotary evaporatör	R- 300 Buchi
Buzdolabı	Vestel
Derin dondurucu -20° C	Bosch(Almanya)
Derin dondurucu -80° C	Metler Toledo MP 220 (İtalya)
Elektronik terazi	Scaltec(Almanya)
Mikro plaka okuyucu	EPOCH,BİOTEK
Sıcak su banyosu	Memert (Almanya)
Glukometre	Accu Check Performa Nano
ELISA Yıkayıcısı	RT-2600C
Etüv	Binder (Almanya)

Homojenizatör	IKA –WERK RW 14H
Florometre	Promega modulus II microplate
Otomatik ve yarı otomatik pipetler	Rainin (1-10µl, 10-100µl, 100- 1000µl, 50-200µl)
Nanodrop	Epoch(BİOTEK)
Sonikatör	Bandelin
PH metre	Metler Toledo
Santrifüj	Hettich Universal

5.3. *Ribes rubrum* Bitki Ekstresinin Hazırlanması

Ribes rubrum bitkisinin meyveleri yerel ticari marketten satın alındı. Meyve Dr. Öğr. üyesi İsmail Şenkardeş tarafından teşhis edildi. Meyvenin birkaç örneği, Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'nda (MARE) 22298 numara ile kayıtlıdır. *In vitro* yapılacak çalışmalar için meyveler taze olarak tartılıp havanda biraz ezilip 500 ml'lik erlenmayerde her defasında 24 saat olmak üzere 3 defa %96 etanol, su ve %50 etanol ile maserasyona bırakıldı. Bekletme süresinin sonunda çözeltiler süzgeç kağıdından süzüldü. Süzüntülerin çözücüleri rotary evaporatör cihazı kullanılarak 40°C'yi geçmeyen sıcaklıkta uçuruldu. Elde edilen ekstratlar analiz süresine kadar +4 °C'de saklandı.

Elde edilen ekstratların her biri 5 mg/ml konsantrasyonda olacak şekilde DMSO ile çözümlenerek stok çözelti hazırlandı. Stok çözeltilerden, her seferinde 1:8 oranında olmak üzere DMSO ile dilüe edilerek 0,63 mg/ml, 0,08 mg/ml ve 0,01 mg/ml konsantrasyonlarında çözeltiler hazırlandı.



Resim 2. *Ribes rubrum* meyvelerinin sırasıyla; sulu, %100 etanol, %50 etanol ekstratları.

Çalışma gruplarına verilmek üzere ekstre hazırlanan *R. rubrum* bitkisinin meyveleri, yerel ticari marketten mevsiminde taze olarak alınıp -20°C’de saklandı. Yaklaşık 180 g meyve çalışma öncesinde oda ısısında çözdürülerek, havanda biraz ezilip 500 ml’lik altı düz balonda her defasında 24 saat olmak üzere 3 defa %100 etanol ile maserasyona bırakıldı ve bekletme süresinin sonunda süzgeç kağıdından süzüldü. Süzüntünün çözücüsü, rotary evaporatör cihazı kullanılarak 40°C’yi geçmeyen sıcaklıkta uçuruldu. Elde edilen ekstre, sıçan başına 100 mg/kg ve 500 mg/kg dozunda uygulanacak şekilde serum fizyolojik içinde çözülerek çalışma süresince +4°C’de saklandı.

5.4. *Ribes rubrum* Bitki Ekstresi ile Yapılan *In Vitro* Çalışmalar

5.4.1. DPPH• radikalini süpürücü aktivite tayini

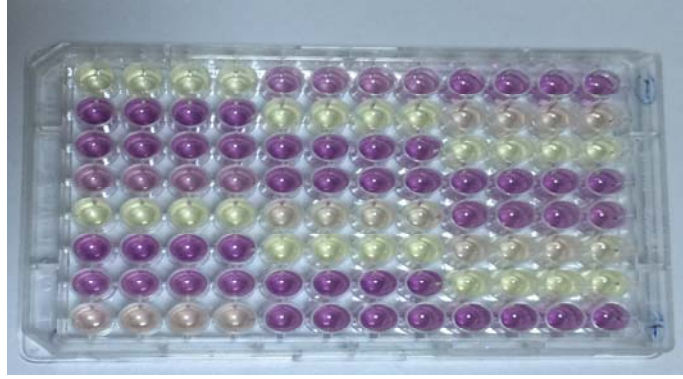
Ekstrelerin antioksidan aktiviteleri, Zou ve arkadaşlarının metoduna göre tayin edildi (Zou ve ark., 2011). *R. rubrum* meyvesinin %100 etanol ekstresinin (%100 RRE), %50 etanol ekstresinin (%50 RRE) ve sulu ekstresinin (%100 RRS) 5 mg/ml konsantrasyonda DMSO’da hazırlanan stok çözeltisi ve stok çözeltiden 1:8 oranında dilüe edilerek hazırlanan 3 farklı konsantrasyondaki ekstrelerden (n:4) 10 µl, mikrolpaka kuyucuklarına aktarılıp üzerlerine 190 µl 0,1 mM’lık DPPH• çözeltisi ilave edildi. Karışımlar 30 dakika karanlık ortamda inkübasyona bırakıldıktan sonra absorbansları 517 nm’de mikro plaka okuyucuda kör olarak kullanılan DMSO’ya karşı ölçüldü. Standart olarak askorbik asit çözeltisi, troloks, BHA ve BHT kullanıldı. Ekstrelerin, ortamdan DPPH• radikali süpürme yüzdesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı;

DPPH• radikali süpürme yüzdesi (%): $[(A \text{ kontrol (kontrolün absorbansı)} - A \text{ örnek (örneklerin absorbansı)}) / A \text{ kontrol}] \times 100$

A kontrol: DPPH• çözeltisi ve DMSO içerir.

A örnek: DPPH• çözeltisi ve örnek solüsyonlarını içerir.

Sonuçlar, DPPH• radikalinin % 50’sini ortadan kaldıran ekstrelerin inhibisyon konsantrasyonları (İK₅₀) değeri ile ifade edildi.



Resim 3. DPPH' deneyi mikro plaka görüntüsü.

5.4.2. ABTS⁺ radikalini süpürücü aktivite tayini

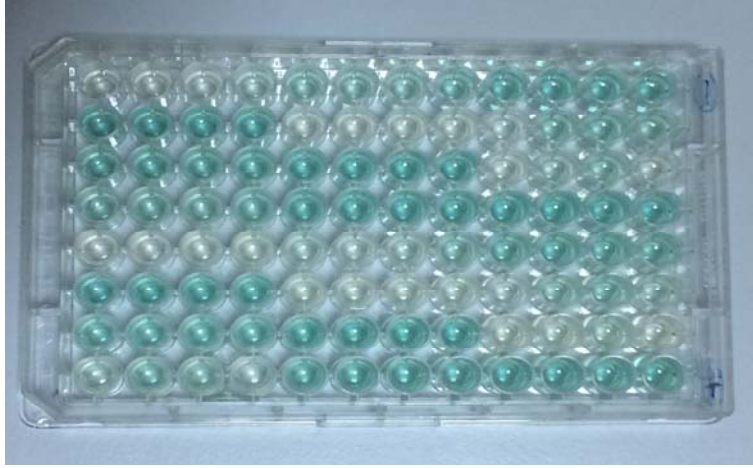
Ekstrelerin antioksidan aktiviteleri, Zou ve arkadaşlarının metoduna göre tayin edildi (Zou ve ark., 2011). Total antioksidan kapasite tayininde kullanılan ABTS⁺ radikalinin üretimi için, 7 mM ABTS, 2,45 mM K₂S₂O₈ ile karıştırılıp reaksiyon karanlıkta, oda sıcaklığında (23 °C), 16 saat inkubasyona bırakıldı. ABTS⁺ çözeltisi analitik saflıkta % 96'lık etanol ile 734 nm'de 0,700 ± 0,050 absorbans değerine göre dilüe edildi. %100 RRE, %50 RRE ve %100 RRS'nin 5 mg/ml konsantrasyonda DMSO'da hazırlanan stok çözeltisi ve stok çözelten 1:8 oranında dilüe edilerek hazırlanan 3 farklı konsantrasyondaki ekstrelerden (n:4) 10 µl, mikropilaka kuyucuklarına aktarılıp üzerlerine 190 µl ABTS⁺ solüsyonu eklendi. Çözelti, 30 dakika oda sıcaklığında inkube edildikten hemen sonra 734 nm'de mikro plaka okuyucuda ölçüldü. Kontrol olarak 10 µl DMSO, standart olarak askorbik asit çözeltisi, troloks, BHA ve BHT kullanıldı. Ortamdan ABTS⁺ radikali süpürme yüzdesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı;

ABTS⁺ radikali süpürme yüzdesi (%): [(A kontrol - A örnek) / A kontrol] x 100

A kontrol: ABTS⁺ çözeltisi ve DMSO içerir.

A örnek: ABTS⁺ çözeltisi ve örnek solüsyonlarını içerir.

Sonuçlar İK₅₀ değeri olarak ifade edildi.



Resim 4. ABTS⁺ deneyi mikro plaka görüntüsü.

5.4.3. Anti-inflamatuar etkinin belirlenmesi

Phosrithong ve arkadaşları tarafından tarif edilen anti-inflamatuar aktivite metodu, biraz değişiklikle gerçekleştirildi. Yöntem 96 kuyucuklu mikroplaka formatına uyarlandı (Phosrithong ve ark., 2016; Yıldırım ve ark., 2019). Test için kuvars 96 kuyucuklu mikroplaka kullanıldı. 4'er örnek olacak şekilde, 10 µl %100 RRE, %50 RRE ve %100 RRS'nin DMSO'da çözülerek hazırlanan 5 mg/mL konsantrasyondaki stok çözeltisi ve stok çözeltinin 2 kez 1:8 oranında dilüe edilerek hazırlanan farklı konsantrasyondaki ekstraler üzerine, 20 µl su, 20 µl etanol ve 25 µl borat tamponu eklenip ardından tampon içerisinde 25 µl tip V soya lipoksijenaz çözeltisi (20.000 U/ml) ilave edildi. Karışım 5 dakika 25°C'de inkübe edildikten sonra 100 µl 0.6 mM linoleik asit çözeltisi ilave edilip iyice karıştırıldı ve 234 nm'de absorbanstaki değişim 6 dakika süreyle kaydedildi. İndometasin referans standart olarak kullanıldı. Anti-inflamatuar etki açısından yüzde inhibisyon aşağıdaki formüle göre hesaplandı; Yüzde inhibisyon: $[(A \text{ kontrol} - A \text{ örnek}) / A \text{ kontrol}] \times 100$
A kontrol: kontrolün absorbansı, A örnek: örneklerin absorbansı olarak alındı. Sonuçlar İK₅₀ değeri olarak ifade edildi.

5.4.4. Antidiyabetik etkinin belirlenmesi

Ramakrishna ve arkadaşları (2017) tarafından tarif edilen antidiyabetik aktivite yöntemi, küçük değişikliklerle uygulandı. Yöntem 96 kuyucuklu mikroparka formatına uyarlandı.

5.4.4.1. Alfa-amilaz inhibisyonunun belirlenmesi

Dörder örnek olacak şekilde, 10 µl %100 RRE, %50 RRE ve %100 RRS DMSO'da çözülerek hazırlanan 5 mg/ml konsantrasyondaki stok çözeltilerden dilüsyonlar ile hazırlanan farklı konsantrasyondaki ekstratlar üzerine 15 µl 0.02 M sodyum fosfat tamponu (pH 6.9, 0.006 M sodyum klorür (NaCl) ile) ve 25 µl tamponda hazırlanan α-amilaz (0.5 mg/ml-15 ünite) enzimi karıştırıldı. Karışım 10 dakika, 25°C'de inkübe edildi. Ardından, her kuyucuğa tamponda hazırlanan %1'lik nişasta çözeltisinden 25 µl ilave edildi ve tekrar 10 dakika, 25 °C'de inkübe edildi. Reaksiyon, 50 µl DNSA ile durduruldu ve 10 dakika, 90°C'lik kaynar su banyosunda inkübe edildi. İnkübasyondan sonra çözeltiler oda sıcaklığına kadar soğutulup üzerlerine eklenen 225 µl distile su ile seyreltilerek 540 nm'de ölçüldü. Ölçümler 3 defa tekrarlandı. Standart olarak akarboz kullanıldı. Ekstrelerin, enzim aktivitesini inhibe etme yüzdeleri aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

Alfa-amilaz enzimini inhibe etme yüzdesi (%): $(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}} / A_{\text{kontrol}}) \times 100$

A kontrol: Ekstre hariç (onun yerine DMSO) tüm bileşenleri içerir.

A örnek: Ekstre dahil tüm bileşenleri içerir.

Sonuçlar İK₅₀ değeri olarak ifade edildi



Resim 5. Alfa-amilaz inhibitör aktivite tayini deneyi

5.4.4.2. Alfa-glukozidaz inhibisyonunun belirlenmesi

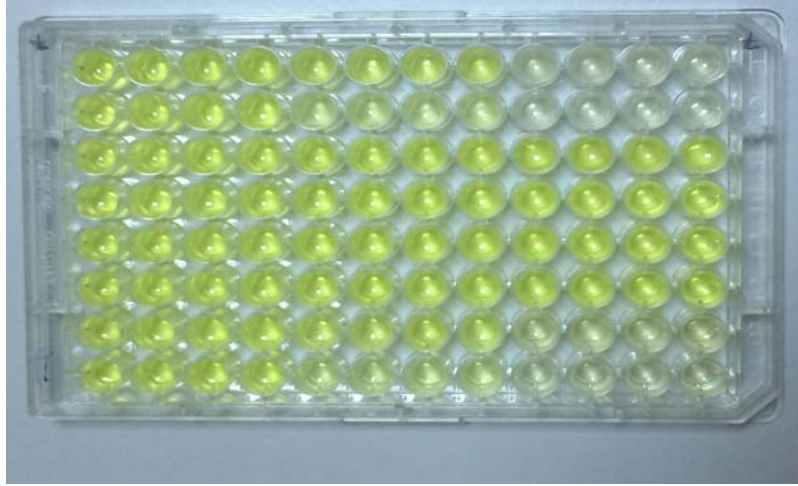
Dörder örnek olacak şekilde, 10 µl %100 RRE, %50 RRE ve %100 RRS DMSO'da çözülerek hazırlanan 5 mg/ml konsantrasyondaki stok çözülden dilüsyonlar ile hazırlanan farklı konsantrasyondaki ekstrere üzerine 40 µl 0.1 M sodyum fosfat tamponu (pH 6.9) ve 100 µl tamponda hazırlanan α-glukozidaz (*Saccharomyces cerevisiae*'den elde edilmiş) enzimi eklendi. Karışımlar 10 dakika, 25 °C'de inkübe edildi. Ardından çözümlerin üzerine tamponda hazırlanan 50 µl 5 mM pNPG eklendi. Karışımlar 5 dakika boyunca 25°C'de tekrar inkübe edilerek, absorbansları 405 nm'de inkübasyondan önce ve sonra mikropilaya okuyucuda ölçüldü. Ölçümler 3 defa tekrarlandı. Standart olarak akarboz kullanıldı. Ekstrelerin, enzim aktivitesini inhibe etme yüzdeleri aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

Alfa-glukozidaz enzimini inhibe etme yüzdesi (%): $(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}} / A_{\text{kontrol}}) \times 100$

A kontrol : Ekstre hariç (onun yerine DMSO) tüm bileşenleri içerir.

A örnek : Ekstre dahil tüm bileşenleri içerir.

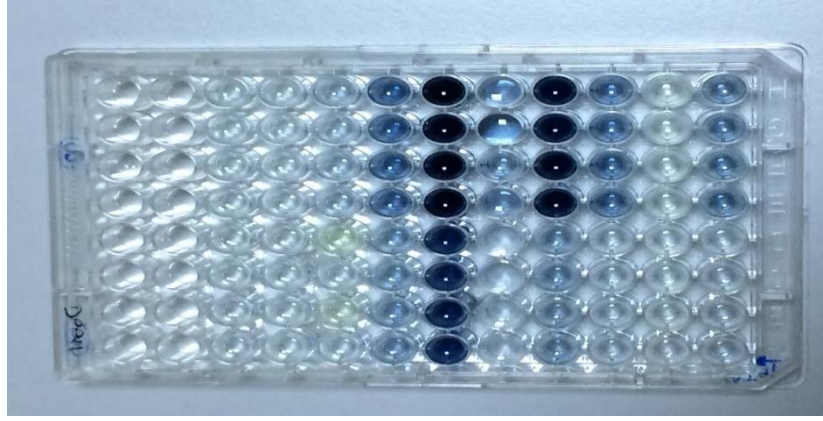
Sonuçlar İK₅₀ değeri olarak ifade edildi.



Resim 6. Alfa- glukozidaz inhibitör aktivite tayini deneyi.

5.4.7. Toplam fenolik madde miktarının (TFM) belirlenmesi

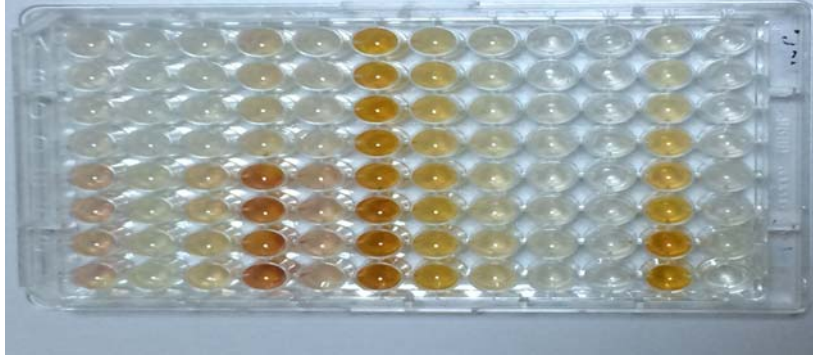
Ekstrelerin toplam fenolik içeriği, Folin-Ciocalteu solüsyonu kullanılarak Gao ve arkadaşları tarafından önerilen metoda göre 96 kuyucuklu mikropılaka formatına uyarlanarak yapıldı (Gao ve ark., 2000; Yıldırım ve ark., 2019). %100 RRE, %50 RRE ve %100 RRS'den DMSO'da çözülerek hazırlanan 5 mg/ml konsantrasyondaki stok çözültiden dilüsyonlar ile hazırlanan farklı konsantrasyondaki ekstrelerden 10 µl örnek (n:4) mikropılakalara alındı. Ardından sırasıyla; 20 µl Folin-Ciocalteu solüsyonu, 200 µl distile su ve 100 µl % 15'lik Na₂SO₄ ilave edildi. Çözültüler 765 nm'de mikro plaka okuyucuda kör olarak kullanılan DMSO'ya karşı ölçüldü. Ölçümler 3 defa tekrarlandı. Standart eğri grafiği için, gallik asit kullanılarak (500 - 0,977 µg/ml) her bir konsantrasyona karşılık gelen absorbanlar ölçüldü. Ekstrelerin toplam fenolik içerikleri, bu grafikten hesaplanarak, sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g bitki ekstresi olarak ifade edildi.



Resim 7. Toplam fenolik madde miktar tayini deneyi.

5.4.8. Toplam flavonoid miktarının (TFLM) belirlenmesi

Ekstrelerin toplam flavonoid içeriği Zhang ve arkadaşları tarafından önerilen metoda göre 96 kuyucuklu mikrolaka formatına uyarlanarak yapıldı (Zhang ve ark., 2013; Yıldırım ve ark., 2019). %100 RRE, %50 RRE ve %100 RRS'den DMSO'da çözülerek hazırlanan 5 mg/mL konsantrasyondaki stok çözeltilerden dilüsyonlar ile hazırlanan farklı konsantrasyondaki ekstralar 25 µl mikrolakalara alındıktan sonra üzerine 125 µl distile su ve 7,5 µl % 5 NaNO₂ ilave edildi. 6 dakika 25°C'de inkube edildikten sonra çözeltinin üzerine 15 µl % 10 AlCl₃.6H₂O eklendi. 5 dakika 25°C'de inkubasyondan sonra 50 µl 1M NaOH eklenip üzeri distile su ile 250 µl'ye tamamlandı. Çözeltiler hemen 510 nm'de mikro plaka okuyucuda kör olarak kullanılan DMSO'ya karşı ölçüldü. Standart eğri grafiği için, kersetin kullanılarak (500- 0,977 µg/ml) her bir konsantrasyona karşılık gelen absorbanslar ölçüldü. Ekstrelerin toplam flavonoid içerikleri, bu grafikten hesaplanarak, sonuçlar mg kersetin eşdeğeri (KE)/g bitki ekstresi olarak ifade edildi.



Resim 8. Toplam flavonoid madde miktar tayini deneyi.

5.5. Çalışma Grupları ve Deney Protokolü

Çalışma için Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun "99.2018.mar" protokol kodu ile etik kurul onayı (Ek-1) alınmıştır.

Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (DEHAMER) yetiştirilen dişi, 200-300 g ağırlığında Sprague-Dawley sıçanlar randomize bir şekilde kontrol, diyabetik kontrol, glibenklamid, *R. rubrum*-100 mg/kg, *R. rubrum*-500 mg/kg olmak üzere her grupta n:6 olacak şekilde ayrıldı. Sıçanların çalışma öncesinde 1 hafta ortama adaptasyonu sağlandı. Sıçanlar 21°C±2, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık süresince nem %45-50 olacak şekilde otomatik ayarlanan odalarda, şeffaf kafeslerde, standart sıçan yemi ile beslenecek şekilde tutuldu. Su ve standart yem ad libitum sunuldu.

Kontrol (K) grubu: 14 gün süreyle her gün 0,2 ml/100 g serum fizyolojik gavaj yolu ile oral olarak verildi.

Diyabetik kontrol (DK) grubu: 65 mg/kg STZ uygulamasını takiben 72 saat sonra kan glukoz düzeyi >250 mg/dl olan hayvanlara 14 gün süreyle her gün, 0,2 ml/100 g serum fizyolojik gavaj yolu ile oral olarak verildi.

Glibenklamid (G) grubu: 65 mg/kg STZ uygulamasını takiben 72 saat sonra kan glukoz düzeyi >250 mg/dl olan hayvanlara 14 gün süreyle her gün, 0,2 ml/100 g serum fizyolojik içinde çözülen 5 mg/kg glibenklamid gavaj yolu ile oral olarak verildi.

Ribes rubrum- 100 mg/kg (R100) grubu: 65 mg/kg STZ uygulamasını takiben 72 saat sonra kan glukoz düzeyi >250 mg/dl olan hayvanlara 14 gün süreyle her gün, 0,2

ml/100 g serum fizyolojik içinde çözülen 100 mg/kg %100 etanollü *R. rubrum* meyve ekstresi gavaj yolu ile oral olarak verildi.

Ribes rubrum- 500 mg/kg (R500) grubu: 65 mg/kg STZ uygulamasını takiben 72 saat sonra kan glukoz düzeyi >250 mg/dl olan hayvanlara 14 gün süreyle her gün, 0,2 ml/100 g serum fizyolojik içinde çözülen 500 mg/kg %100 etanollü *R. rubrum* meyve ekstresi gavaj yolu ile oral olarak verildi.

Deney öncesi tüm gruplarda, gece açlığı sonrası kan glukoz değerleri ve vücut ağırlıkları ölçüldü ve ardından diyabet modeli oluşturulan gruplara, 100 mg/kg NA, 0,2 ml/100 g serum fizyolojik içinde çözülerek intraperitoneal (i.p) enjeksiyon ile verildi. NA uygulandıktan 15 dakika sonra, 65 mg/kg STZ, uygulama anında 0,1 ml/100 g, 0,1 M sitrat tamponunda (pH:4,5) çözülerek i.p enjeksiyon ile verildi. STZ uygulaması sonrası 24 saat boyunca %10'luk dekstroz çözeltisi içeren su verildi. STZ uygulamasını takiben 72. saatte kuyruk veninden alınan kan örneğinde kan glukoz değerleri ölçüldü ve kan glukoz değeri 250 mg/dl'nin üstünde olanlar diyabetik olarak değerlendirilerek tüm gruplarda deney süreci başlatıldı. Tüm gruplar çalışma süresince poliüri, polidipsi ve polifaji açısından izlendi.

5. 6. Kan Glukoz Değerleri ve Vücut Ağırlıkları Ölçümü

Sıçanların, vücut ağırlıkları deney başlangıcında 12 saat açlığı takiben STZ öncesinde ölçüldü ve deney süresince gavaj uygulamasını takiben 5. gün, 9. gün ve 14. günlerde ölçümler tekrarlandı.

Kan glukoz değerleri, glukometre kullanılarak deney başlangıcında gece açlığını takiben STZ öncesinde kuyruk veninden alınan 1 damla kan ile ölçüldü. STZ uygulamasını takiben 72. saatte ve gavaj uygulamasını takiben 5. gün, 9. gün ve 14. günlerde kan glukoz değerleri, kuyruk veninden alınan kanda glukometre kullanılarak ölçüldü. 15.günde inhalasyon ile eter anestezisi altına alınan sıçanlardan kapiller (hemotakrit) tüp, orbital pleksusa 45° C'lik açı ile batırılarak kan örnekleri alındı.

5.7. Doku ve Plazma Eldesi

Diyabet gelişimini takiben 14.gününü tamamladığında, tüm gruplardaki hayvanlar idame dozdaki eter ile anestezi edildi. Kan örnekleri 1:9 oranında % 3,8'lik sodyum sitrat içeren tüplere alındı ve alınan kan örnekleri 15 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 1 500 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonunda tüplerin üst kısmındaki trombosit zengin plazma (PRP), pipet yardımıyla alınarak ependorf tüplere aktarılıp trombosit P selektin düzeyi ölçümü, mitokondriyal membran polarizasyonu, protein ve nitrit düzeyleri ölçümü için kullanıldı. Kalan kan 3 000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek ayrılan plazma ependorf tüplere aktarılıp nitrit, trigliserit, kolesterol, üre, ALT, AST, GGT, TNF- α düzeylerinin ölçülmesi için -20° C derin dondurucuda saklandı

Sıçanlardan kan örnekleri alındıktan sonra tüm gruplardan pankreas ve karaciğer doku örnekleri alındı. Dokular serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra filtre kağıdında kurutuldu ve TNF- α düzeylerinin ölçülmesi için derin dondurucuda saklandı. Analizler öncesinde derin dondurucuda saklanan dokular oda ısısında çözülerek 1:10 oranında 0,15 M KCL içinde milli homojenizatör ile homojenize edildi. Daha sonra homojenatlar soğuk şartlarda ultrasonikatörde tekrar homojenize edildi. Santrifüj edildi ve üst fazda TNF- α düzeyleri ölçüldü.

5.8. Trombosit P-selektin Düzeyleri Ölçümü

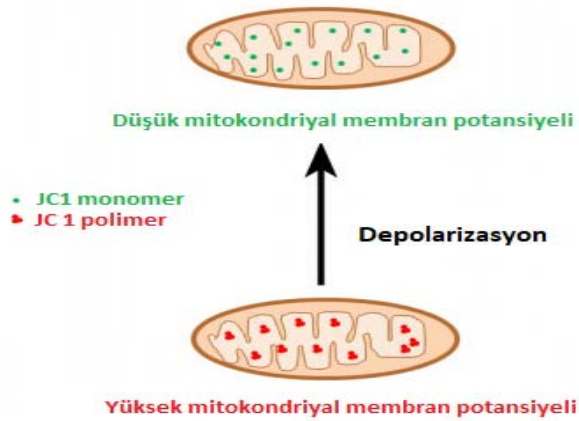
P selektin (CD62P), C tipi lektin ailesinin bir üyesi, stimülasyon üzerine trombositlerin a-granüllerinden hücre yüzeyine hızlı bir şekilde translokasyona uğrar. Bu glikoprotein hücre yüzeyine translokasyonu ve düzeylerinin ölçümü trombosit aktivasyonunun iyi bir göstergesi olarak değerlendirilir (Hsu- Lit ve ark, 1984). P selektin düzeyleri florometrik olarak floresan izotiyosiyanat (FITC) işaretli CD62P kullanılarak ölçüldü ve akım sitometrisi yöntemi mikropilaya okuyucuna adapte edildi. PRP örnekleri CD62P-FITC ile inkübe edildikten sonra floresan yoğunluğu ölçülerek saptandı. Kısaca deneyin yapılışı;

1. Ependorf tüplere 200 μ l PRP örnekleri koyuldu ve üzerlerine 2,5 μ l CD62P-FITC eklenerek 10 dakika oda ısısında inkübe edildi.

2. İnkubasyon sonrası 3 000 rpm’de 5 dakika santrifüj edildi.
3. Santrifügasyon sonrası ependorflardaki üst faz dökülerek tüplerin kenarları iyice kurulandı ve dipte çöken hücreler 200 µl serum fizyolojik ile süspande edildi.
4. Örnekler siyah mikro plaka kuyucuklarına alınarak florometrede (Ekzitasyon: 488 nm/Emisyon: 515-545 nm) ölçüm yapıldı. Sonuçlar RFU olarak ifade edildi.

5.9. Trombosit Mitokondriyal Membran Polarizasyonu (MMP)

Mitokondri membran polarizasyonu değişikliği mitokondriyal apoptozun göstergesidir. Membran polarizasyonu katyonik boya 5,5,6,6'-tetrakloro-1,1',3,3' tetraetilbenzimidazoloilkarbosiyanin iodyd (JC-1) ile florometrede ölçüldü. Ölçüm yönteminde biraz değişiklik yapıldı. Sağlıklı mitokondriler normal membran potansiyele sahiptir. JC-1 boya negatif yüklü mitokondriye girer, birikir ve kendiliğinden kırmızı floresan J-agregatları oluşturur. Buna karşılık, sağlıklı veya apoptotik hücrelerde JC-1 boyası, mitokondriye girer. Mitokondrinin içi artan membran geçirgenliği ve bunun sonucunda elektrokimyasal potansiyel kaybı nedeniyle daha az negatiftir. Bu şart altında, JC-1, J agregatlarının oluşumunu tetiklemek için yeterli bir konsantrasyona ulaşamaz, böylece orjinal yeşil floresansını korur (Sivandzade ve ark., 2019).



Şekil 9. JC-1 boya ile MMP

(https://www.gbiosciences.com/Bioassays/Cell_Health_Assay/Apoptosis-Assays-Accessories/JC-1, Erişim tarihi: 7 Aralık 2019, değiştirilerek kullanılmıştır)

Deneyin yapılışı;

200 µl PRP+ 2,5 µl (final konsantrasyon:2 µmol/L) JC-1



10 dakika oda ısısında inkübasyon

3 000 rpm'de 5 dakika santrifüj



Üst faz dökülüp, 200 µl serum fizyolojik ile süspansiyon



Florometrede ölçüm

Örnekler siyah mikro plaka kuyucuklarına alınarak florometrede iki filtrede (yeşil ekzitasyon: 488 nm/emisyon: 500-550 nm, kırmızı ekzitasyon: 561 nm/Emisyon: 560-610 nm) ölçüm yapıldı. Sonuçlar kırmızı /yeşil floresans oranı olarak ifade edildi.

5.10. Protein Tayini

Trombosit örneklerinin protein içeriği tayini Warburg ve Christian (280/260 nm absorpsiyonu) yöntemine göre nanodrop kullanılarak ölçüldü (Warburg ve Christian, 1941).

5.11. Nitrit Düzeylerinin Ölçümü

Biyolojik sıvılarda NO, hızla nitrit (NO₂⁻) ve nitrata (NO₃⁻) dönüştüğünden NO düzeyleri, dayanıklı son ürünleri olan nitrit ve nitrata ölçülmesi prensibine dayanarak saptanabilir.

Çalışmamızda nitrit düzeyleri ölçülmüştür. Nitrit düzeylerinin ölçümü; asidik ortamda nitritin aromatik bir amin olan sülfanilamid ile diazotizasyonu sonucu oluşan tuzun naftiletilendiamin ile pembe renkli bir kompleks oluşturması prensibine dayanır.

Kullanılan çözeltiler

- % 2,5 fosforik asit çözeltisi
- % 1 sülfanilamid çözeltisi (%2,5 fosforik asitte hazırlandı)
- % 0,5 naftiletilendiamin çözeltisi (%2,5 fosforik asitte hazırlandı)
- Standardın hazırlanması: 10 mM sodyum nitrit (NaNO_2) stok çözeltisi hazırlandı ve bu çözeltilerden dilüsyonlarla 0-30 μM standart çözeltiler hazırlandı.

Deneyin yapılışı

Yöntem 96 kuyucuklu mikropılaka formatına uyarlanarak aşağıda yer alan protokole göre çalışıldı ve oluşan rengin absorbansı 540 nm’de spektrofotometrede ölçüldü.

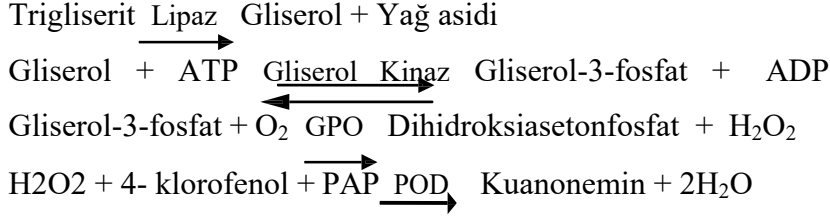
	Kör	Örnek	Standart
Distile su	25 μl	-	-
Örnek	-	25 μl	-
Standart	-	-	25 μl
Sülfonilamid çözeltisi	50 μl	50 μl	50 μl
Naftiletilendiamin çözeltisi	50 μl	50 μl	50 μl



Resim 9. Nitrit düzeylerinin ölçümü

5.12. Trigliserit Düzeylerinin Ölçümü

Trigliserit düzeylerinin ölçümü ticari kit kullanılarak yapıldı. Trigliserit ölçümü gliserolü açığa çıkarmak için enzimatik ve alkali hidrolizi içeren bir prensibe dayanmaktadır. Bu reaksiyonlar:



Kit içeriği

- Tampon (R1) :
 - Magnezyum klorit 9,8 mmol/l
 - Kloro-4-fenol 3,5 mmol/l
 - Koruyucu
- Enzim (R2) :
 - Lipaz ≥ 1000 IU/l
 - Peroksidaz (POD) ≥ 1700 IU/l
 - Gliserol 3 fosfat oksidaz (GPO) ≥ 3200 IU/l
 - 4-Amino-antifirin (PAP) 0,5 mmol/l
 - Adenozin trifosfat Na (ATP) 1,3 mmol/l
- Standart :
 - Trigliserit 200 mg/dl (2,28 mmol/l)

Deneyin yapılışı

Kit prosedürüne göre yöntem 96 kuyucuklu mikroyapıya formatına uyarlanarak aşağıdaki protokole göre çalışıldı.

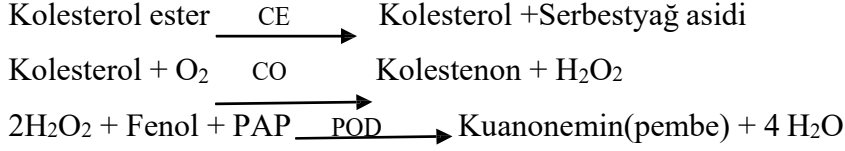
	Kör	Standart	Örnek
Distile Su	10 µl	-	-
Standart	-	10 µl	-
Örnek	-	-	10 µl
Reaksiyon Çözeltisi	200 µl	200 µl	200 µl

Oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilip absorbansı 500 nm'de spektrofotometrede ölçüldü. Sonuçlar aşağıdaki formüle göre hesaplandı;

$$\text{Sonuç} = (\text{Örnek absorbansı}) / (\text{Standart absorbansı}) \times \text{Standart konsantrasyonu}$$

5.13. Kolesterol Düzeylerinin Ölçümü

Kolesterol düzeylerinin ölçümü ticari kit kullanılarak yapıldı. Prensibi:



Kit içeriği

- Tampon (R1):
 - Fosfat tamponu 100 mmol/l
 - Kloro-4-fenol 5 mmol/l
 - Sodyum kolat 2,3 mmol/l
 - Triton x 100 1,5 mmol/l
 - Koruyucu
- Enzim (R2):
 - Kolesterol oksidaz (CO) \geq 100 IU/l
 - Kolesterol esteraz (CE) \geq 170 IU/l
 - Peroksidaz (POD) \geq 1200 IU/l
 - 4-Amino-antifirin (PAP) 0,25 mmol/l
 - PEG 6000 167 μ mol/l
- Standart :
 - Kolesterol 200 mg/dl (5,17 mmol/l)

Deneyin yapılışı

Kit prosedürüne göre yöntem 96 kuyucuklu mikroplaka formatına uyarlanarak aşağıdaki protokole göre çalışıldı.

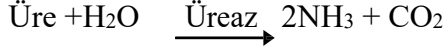
	Kör	Standart	Örnek
Distile Su	10 μ l	-	-
Standart	-	10 μ l	-
Örnek	-	-	10 μ l
Reaksiyon Çözeltisi	200 μ l	200 μ l	200 μ l

Oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilip absorbansı 500 nm'de spektrofotometrede ölçüldü. Sonuçlar aşağıdaki formüle göre hesaplandı;

$$\text{Sonuç} = (\text{Örnek absorbansı}) / \text{Standart absorbansı} \times \text{Standart konsantrasyonu}$$

5.14. Üre Düzeylerinin Ölçümü

Üre düzeylerinin ölçümü ticari kit kullanılarak yapıldı. Prensibi:



Kit içeriği

- Tris Tampon (R1):
Tris pH 7.9 ± 0,1, 30°C 80 mmol/l
Oksoglutarat 5 mmol/l
Koruyucu
- Enzim koenzim (R2):
NADH (CO) ≥ 0,2 IU/l
Üreaz 20 000 IU/l
GLDH ≥ 1200 IU/l
- Standart:
Üre 400 mg/dl (6,6 mmol/l)

Deneyin Yapılışı

Kit prosedürüne göre yöntem 96 kuyucuklu mikropılaka formatına uyarlanarak aşağıdaki protokole göre çalışıldı.

	Kör	Standart	Örnek
Distile Su	5 µl	-	-
Standart	-	5 µl	-
Örnek	-	-	5 µl
Reaksiyon Çözeltilisi	200 µl	200 µl	200 µl

Oda sıcaklığında 30 saniye inkübe edilip 340 nm’de spektrofotometrede 1. absorbans,

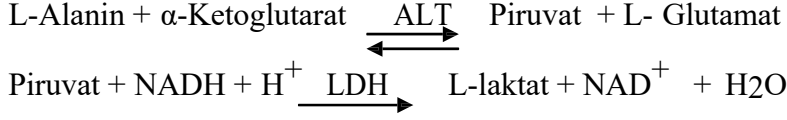
90 saniye sonra 2. absorbans ölçüldü. Sonuçlar aşağıdaki formüle göre hesaplandı;

Sonuç= (Örnek absorbansı (1.absorbans - 2.absorbans) / Standart absorbansı

(1.absorbans - 2.absorbans)) x Standart konsantrasyonu

5.15. Alanin Aminotransferaz (ALT) Düzeylerinin Ölçümü

ALT düzeylerinin ölçümü ticari kit kullanılarak yapıldı. Prensibi:



Kit içeriği

- Reaktif (R1):
 - 2-oksoglutarat 15 mmol/l
 - L- alanin 500 mmol/l
 - Laktat dehidrogenaz (LDH) \geq 1600 IU/l
 - NADH \leq 0,18 mmol/l
 - Tris tampon 100 mmol/l
 - pH 30°C de 7,5 \pm 0,1

Deneyin Yapılışı

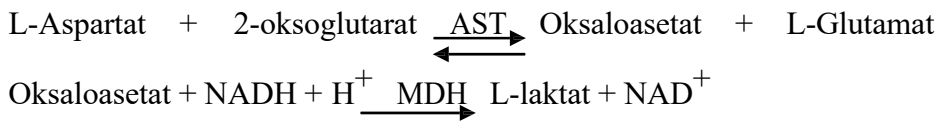
Reaktif 1,30 ml distile suda çözülerek hazırlandı ve kit prosedürüne göre yöntem 96 kuyucuklu mikropılaka formatına uyarlanarak aşağıdaki protokole göre çalışıldı.

	Kör	Örnek
Distile Su	20 μ l	-
Örnek	-	20 μ l
Reaksiyon Çözültisi	200 μ l	200 μ l

Oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edilip spektrofotometrede 340 nm'de 1. 2. ve 3.dakikalardaki absorbansları okundu. Sonuçlar aşağıdaki formüle göre hesaplandı;
 $\text{ALT (IU/l)} = (\Delta \text{ Absorbans} / \Delta \text{ dakika}) \times 1746$

5.16. Aspartat Aminotransferaz (AST) Düzeylerinin Ölçümü

AST düzeylerinin ölçümü ticari kit kullanılarak yapıldı. Prensibi:



Kit içeriği

- Reaktif (R1):
 - EDTA 5 mmol/l
 - 2-oksoglutarat 12 mmol/l
 - L- aspartat 200 mmol/l
 - Malat dehidrogenaz (MDH) 495 IU/l
 - LDH 820 IU/l
 - NADH $\leq 0,18$ mmol/l
 - Tris tampon 80 mmol/l
 - pH 30°C de 7,8 \pm 0,1

Deneyin Yapılışı

Reaktif 1,30 ml distile suda çözülerek hazırlandı ve kit prosedürüne göre yöntem 96 kuyucuklu mikroplaka formatına uyarlanarak aşığıdaki protokole göre çalışıldı.

	Kör	Örnek
Distile Su	20 μ l	-
Örnek	-	20 μ l
Reaksiyon Çözeltisi	200 μ l	200 μ l

Oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edilip spektrofotometrede 340 nm'de 1. 2. ve 3.dakikalardaki absorbansları okundu. Sonuçlar aşığıdaki formüle göre hesaplandı;
 $AST (IU/L) = (\Delta \text{Absorbans} / \Delta \text{ dakika}) \times 1746$

5.17. Gama Glutamil Transferaz (GGT) Aktivitesinin Ölçümü

GGT aktivitesi tayini Szasz'ın metoduna göre biraz değişiklikle yapıldı (Szasz, 1968).

Kullanılan çözeltiler

- 57 mM HCL
- 4 mmol/l gama-glutamil p-nitroanilid 57 mM HCL içinde hazırlandı.
- 40 mmol/l glisilglisin 185 mmol/L Tris HCl tamponu içinde hazırlandı.
- 185 mmol/l Tris
- % 25'lik TCA

Deneyin yapılışı

Aynı hacimdeki gama-glutamil p-nitroanilid, glisilglisin çözeltileri karıştırıldı. Karışımın son pH 8,2 olmalıdır. GGT tayini için 20 µl örnek üzerine 200 µl hazırlanan çözeltiden ilave edildi. Hazırlanan karışım üzeri kapatılarak 37°C’ de 10 dakika inkübe edildikten sonra 25 µl TCA eklenerek reaksiyon durduruldu ve 405 nm’de 1., 2., ve 3. dakikalarda absorbansları ölçüldü. GGT aktivitesi aşağıdaki formülle göre hesaplandı. $GGT (IU/l) = (\Delta \text{ Absorbans} / \Delta \text{ dakika}) \times 1111$

5.17. Tümör Nekroz Faktör (TNF)-α Düzeylerinin Ölçülmesi

TNF-α düzeyleri, ticari kit kullanılarak enzim bağlı immünosorbent deneyi (ELISA) yöntemi ile ölçüldü.

Kit içeriği

- TNF-α spesifik antikor kaplı mikrolaka
- TNF-α standardı
- 10X standart dilüsyon tampon
- Biotinlenmiş anti-TNF-α
- Biotinlenmiş antikor dilüsyon çözeltisi
- Streptavidin-HRP
- HRP dilüsyon çözeltisi
- 200X yıkama tamponu
- Kromojen TMB substrat çözeltisi
- Standart
- Durdurma çözeltisi

Çözeltilerin Hazırlanması

- 1X standart dilüsyon tamponu: 10X Standart dilüsyon tamponu, distile su ile 10 kat dilüe edilerek hazırlandı.
- 1X yıkama tamponu: 200X yıkama tamponunun distile su ile 200 kat dilüe edilerek hazırlandı.

Kullanılan mikrolaka şerit sayısı	200X yıkama tamponu hacmi (ml)	Distile su hacmi (ml)
1-6	5	995
1-12	10	1 990

- 1X biyotinlenmiş anti-TNF- α : Aşağıdaki tabloya göre biyotinlenmiş anti-TNF- α , biyotinlenmiş antikor dilüsyon çözeltisi ile dilüe edilerek hazırlandı.

Kullanılan mikropılaka şerit sayısı	Biyotinlenmiş anti-TNF- α hacmi (μ l)	Biyotinlenmiş antikor dilüsyon çözeltisi hacmi (μ l)
2	40	1,060
3	60	1,590
4	80	2,120
6	120	3,180
12	240	6,360

- 1X Streptavidin-HRP çözeltisi: Streptavidin-HRP'ye 500 μ l HRP dilüsyon çözeltisi ilave edilerek Streptavidin-HRP konsantrasyonu hazırlandı. Bu karışıma 1X; aşağıdaki tabloya göre HRP dilüsyon çözeltisi ilave edilerek 1X Streptavidin-HRP çözeltisi hazırlandı.

Kullanılan mikropılaka şerit sayısı	Streptavidin HRP hacmi (μ l)	HRP dilüsyon çözeltisi hacmi (μ l)
2	30	2
3	45	3
4	60	4
6	75	5
12	150	10

- TNF-alfa standart: Kitin içinde yer alan TNF- α standardı, 1X standart dilüsyon tamponu ile sulandırılarak hazırlandı. Hazırlanan bu standardın dilüe edilmesiyle farklı konsantrasyondaki diğer standartlar hazırlandı.

Deneyin yapılışı

TNF- α spesifik antikor kaplı mikrolakaya; tüm örnek, standartlar ve kontrolden 100 μ l eklendi.



50 μ l 1X biyotinlenmiş anti-TNF- α eklenip mikrolakanın üzeri kapatılarak oda sıcaklığında, karanlıkta 3 saat inkübe edildi.



Her kuyucuğa 300 μ l 1X yıkama tamponu ilave edilerek 3 defa yıkama yapıldı.



100 μ l 1X streptavidin-HRP çözeltisi her kuyucuğa eklenerek üzeri kapanan mikrolaka oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi



Her kuyucuğa 300 μ l 1X yıkama tamponu ilave edilerek 3 defa yıkama yapıldı.



100 μ l kromojen TMB substrat solüsyonundan her kuyucuğa ilave edilerek üzeri kapanan mikrolaka oda sıcaklığında 10-20 dk karanlıkta inkübe edildi.



Her bir kuyucuğa 100 μ l durdurma reaktifi eklenerek 450 nm spektrometrede absorbansları ölçüldü.

Sonuçlar standart absorbansı kullanılarak hesaplandı. Plazma için pg/ml, dokular için ng/g doku ve pg/ g doku olarak ifade edildi.

5.19. İstatistiksel Analiz

İstatistik analizler için Graphpad Prism 5 (Graphpad Yazılım, San Diego, ABD) programı kullanıldı. *In vitro* çalışmalarda “nonlinear regression” grafiği ile İK₅₀

değerleri hesaplandı. *In vivo* çalışmada ikili grupların değerlendirilmesinde t testi, çoklu gruplar arasındaki farklılıkların değerlendirilmesi tek yönlü varyans analizi (ANOVA), ileri analiz olarak Tukey's ile yapıldı. $P < 0,05$ 'ten küçük olan değerler anlamlı olarak kabul edildi.



6. BULGULAR

6.1. *In Vitro* Antioksidan Aktivite Sonuçları

6.1.1. DPPH[•] radikalini süpürücü aktivite tayini

Ribes rubrum meyvesinden elde edilen ekstrelerin farklı konsantrasyonlarında DPPH[•] radikalini süpürücü aktivitesi ölçüldü ve İK₅₀ değeri hesaplanarak Tablo 11’de verildi. Ekstreler içinde en düşük İK₅₀ değerini, dolayısıyla en yüksek süpürücü aktiviteyi %50 RRE gösterdi. %100 RRE, %50 RRE ve %100 RRS’nin standart olarak kullanılan askorbik asit, troloks, BHA ve BHT’ye göre İK₅₀ değerlerinin daha yüksek olduğu saptandı. Genel olarak değerlendirildiğinde her 3 ekstrenin de kontrollere göre çok güçlü DPPH[•] süpürme yeteneğine sahip olmadığı belirlendi.

Tablo 11. *Ribes rubrum* meyve ekstreleri ve standart antioksidanların DPPH[•] radikalini süpürücü etki için İK₅₀ değerleri

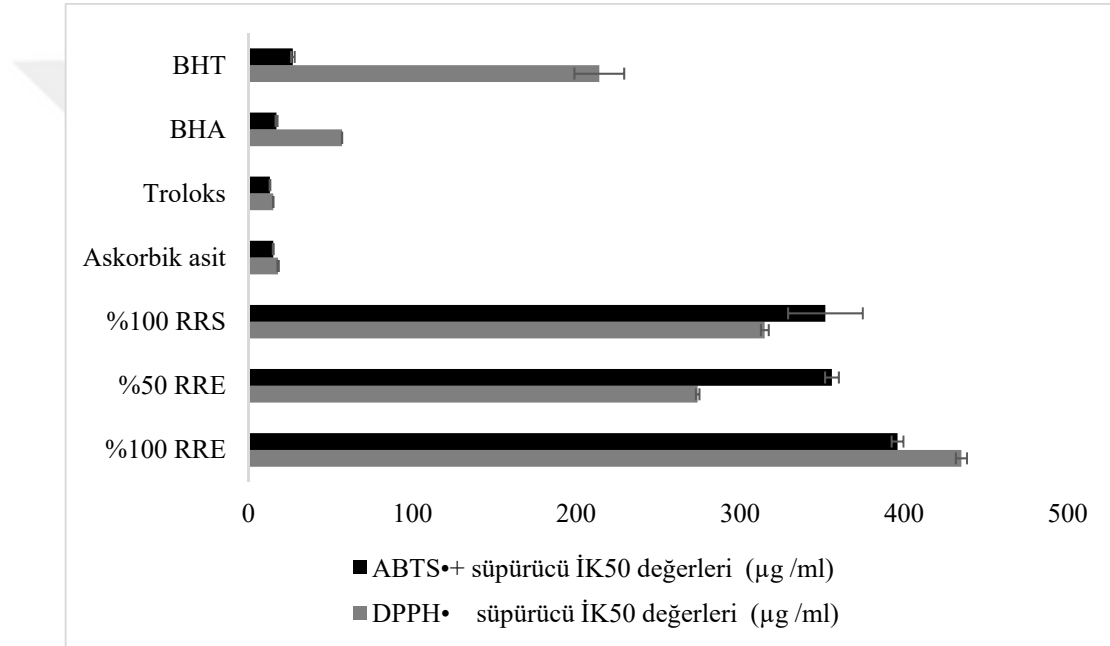
Ekstreler/ Pozitif kontrol	İK ₅₀ değerleri (µg /ml)
%100 RRE	434,8 ± 3,40
%50 RRE	273,6 ± 1,13
%100 RRS	315,3 ± 2,40
Askorbik asit	17,6 ± 0,37
Troloks	14,54 ± 0,18
BHA	57,15 ± 0,09
BHT	213,6 ± 15,20

6.1.2. ABTS^{•+} radikalini süpürücü aktivite tayini

Ribes rubrum meyvesinden elde edilen ekstrelerin ABTS^{•+} süpürücü aktivitesi farklı konsantrasyonlarda ölçüldü ve İK₅₀ değeri hesaplanara Tablo 12’de verildi. Ekstrelerin pozitif kontrol olarak antioksidanlara göre daha yüksek İK₅₀ değerine ve dolayısıyla daha düşük ABTS^{•+} radikali süpürücü aktivitesine sahip olduğu gözlemlendi.

Tablo 12. *Ribes rubrum* meyve ekstreleri ve standart antioksidanların ABTS⁺ radikalini süpürücü etki için İK₅₀ değerleri.

Ekstreler/ Pozitif kontrol	İK ₅₀ değerleri (µg/ml)
%100 RRE	395,8 ± 3,61
%50 RRE	356,1 ± 4,17
%100 RRS	352,2 ± 22,77
Askorbik asit	14,5 ± 0,32
Troloks	13,00 ± 0,21
BHA	17,06 ± 0,58
BHT	26,82 ± 1,12



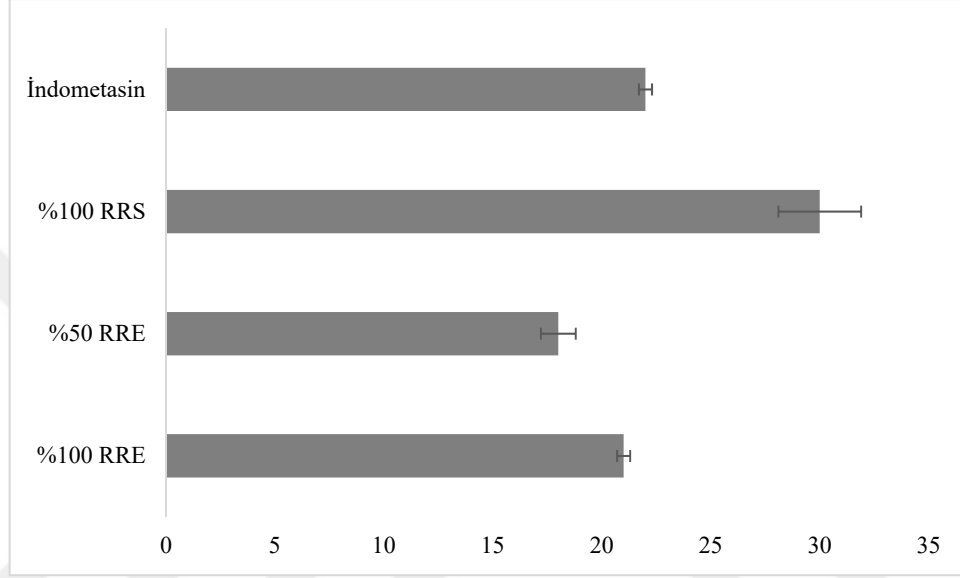
Şekil 10. *Ribes rubrum* meyve ekstreleri ve standart antioksidanların antioksidan aktivite sonuçları

6.2. *In Vitro* Anti- inflamatuvar Etki Sonuçları

Ribes rubrum meyve ekstrelerinin farklı konsantrasyonlarına karşı anti-inflmatuar etkisi lipoksijenaz enzimi inhibisyon oranları ölçülerek belirlendi ve İK₅₀ değerleri hesaplanarak Tablo 13’de verildi. Ekstrelerin pozitif kontrol olarak kullanılan indometasine yakın İK₅₀ değerine sahip olduğu gözlemlendi. %50 RRE ve % 100 RRE’nin İK₅₀ değerleri indometasin ve %100 RRS’e göre biraz daha düşük bulundu.

Tablo 13. *Ribes rubrum* meyve ekstreleri ve pozitif kontrol indometasinin anti-inflamatuar etki açısından İK₅₀ değerleri

Ekstreler/Pozitif kontrol	İK ₅₀ değerleri (µg /ml)
%100 RRE	20,67 ± 0,28
%50 RRE	17,87 ± 0,82
%100 RRS	29,91 ± 1,87
İndometasin	22,39 ± 0,26



Şekil 11. *Ribes rubrum* meyve ekstreleri ve standart indometasin anti-inflamatuar etki sonuçları

6.3. In Vitro Antidiyabetik Etki Sonuçları

6.3.1. Alfa-amilaz inhibisyonu

Ribes rubrum meyve ekstrelerinin α -amilazı inhibisyonu farklı konsantrasyonlarda ölçüldü ve İK₅₀ değerleri hesaplandı (Tablo 14). %50 RRE ve %100 RRS'nin yaklaşık olarak aynı aktiviteyi gösterdiği ve %100 RRE ektresinden daha az aktif oldukları gözlemlendi. Ekstrelerin α -amilaz inhibisyonu için İK₅₀ değerleri pozitif kontrol olarak kullanılan akorbaz ile kıyaslandığında daha yüksek olduğu dolayısıyla α -amilaz enzimi inhibisyon güçlerinin daha düşük olduğu saptandı.

Tablo 14. *Ribes rubrum* meyve ekstreleri ve akarbozun α -amilaz inhibisyonu için $\dot{I}K_{50}$ değerleri

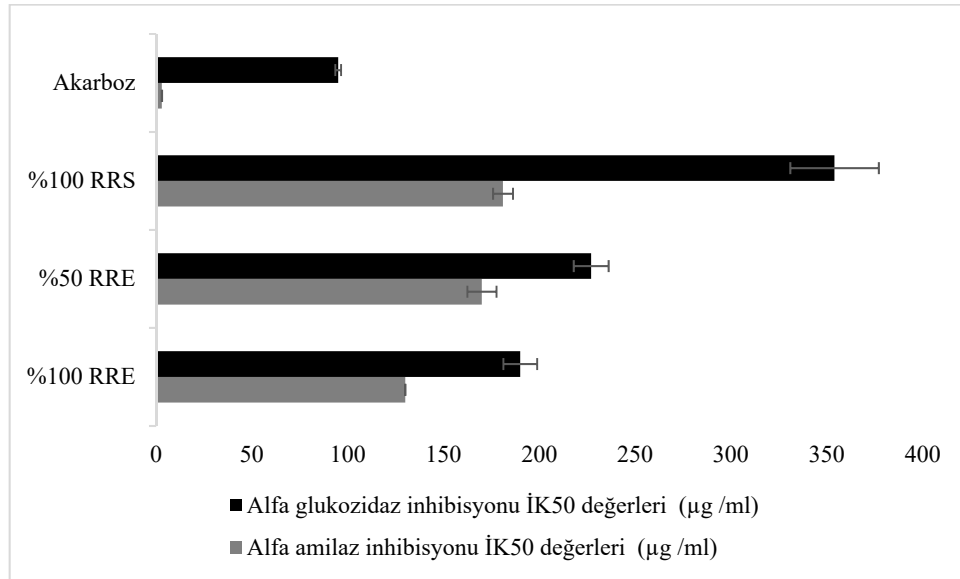
Ekstreler/ Pozitif kontrol	$\dot{I}K_{50}$ değerleri ($\mu\text{g/ml}$)
%100 RRE	130,2 \pm 0,01
%50 RRE	170,4 \pm 7,58
%100 RRS	181,8 \pm 5,18
Akarboz	2,51 \pm 0,12

6.3.2. Alfa-glukozidaz inhibisyonu

Ribes rubrum meyve ekstrelerinin farklı konsantrasyonlarında α -glukozidaz inhibiyon oranları ölçülerek $\dot{I}K_{50}$ değerleri hesaplandı (Tablo 15). %100 RRE'nin diğer ekstrelere göre daha yüksek α -glukozidaz enzimini inhibe edici etkiye sahip olduğu belirlendi. Ekstrelerin pozitif kontrole göre düşük α -glukozidaz inhibitör etkisine sahip olduğu saptandı.

Tablo 15. *Ribes rubrum* meyve ekstreleri ve akarbozun α -glukozidaz inhibisyonu için $\dot{I}K_{50}$ değerleri

Ekstreler/Pozitif kontrol	$\dot{I}K_{50}$ değerleri ($\mu\text{g/ml}$)
%100 RRE	189,7 \pm 8,84
%50 RRE	227,0 \pm 9,19
%100 RRS	353,8 \pm 23,12
Akarboz	95,41 \pm 1,48



Şekil 12. *Ribes rubrum* meyve ekstreleri ve akarbozun antidiyabetik aktivite sonuçları

6. 4. Toplam Fenolik ve Flavonoid Madde Miktar Tayini Sonuçları

Ribes rubrum meyve ekstralarının total fenolik ve total flavonoid madde miktarları belirlendi (Tablo 16, Tablo 17). Sonuçlar total fenol madde miktarı için gallik asit (GAE), total flavonoid madde miktarı için kersetin eşdeğeri (KE) olarak ifade edildi. Ekstrelerin total fenolik ve flavonoid içeriği birbirine oldukça yakın bulundu.

Tablo 16. *Ribes rubrum* meyve ekstralarının total fenolik ve flavonoid miktarları

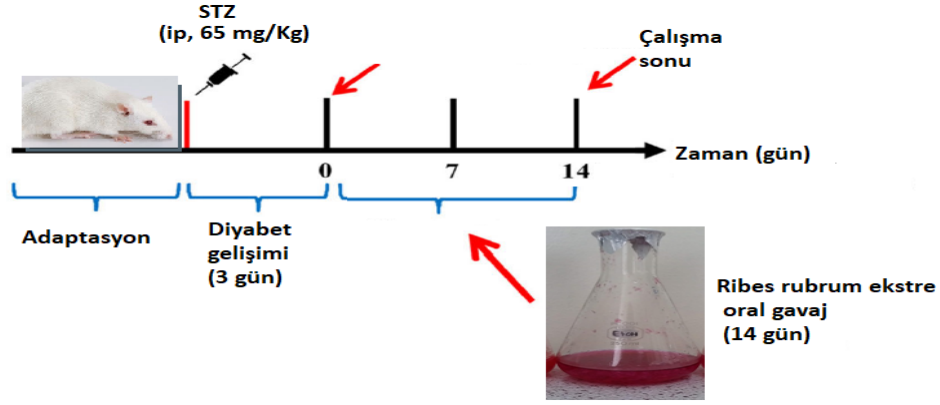
Ekstreler	Total Fenol (mg GAE/g ekstre)	Total Flavonoid (mg KE/g ekstre)
%100 RRE	44,27 ± 0,00	4,58 ± 0,06
%50 RRE	41,76 ± 2,36	4,18 ± 0,25
%100 RRS	40,09 ± 1,77	4,28 ± 0,13

6.5. In Vivo Bulgular

In vitro bulgular doğrultusunda, çalışmanın amacına uygun olarak en yüksek antidiyabetik ve anti-inflamatuar etki gösteren ve $İK_{50}$ değerlerinde istatistiksel olarak en düşük standart sapmaya sahip olan %100 RRE'nin *in vivo* çalışmalarda kullanılmasına karar verildi. Tüm *in vitro* çalışma sonuçları birlikte Tablo 17'de verilmiştir.

Table 17. *Ribes rubrum* meyve ekstralarının *in vitro* çalışmalar sonucunda bulunan $İK_{50}$ ($\mu\text{g/mL}$) değerleri

Ekstreler	Antioksidan aktivite		Anti- inflamatuvar aktivite	Antidiyabetik aktivite	
	DPPH* aktivite	ABTS** aktivite	Lipoksijenaz inhibisyonu	Alfa- glukozidaz inhibisyonu	Alfa-amilaz inhibisyonu
%100 RRE	434,8±3,40	395,8±3,61	20,67±0,28	189,7±8,8	130,2±0,0
%50 RRE	273,6±1,13	356,1±4,17	17,87±0,82	227,0±9,19	170,4±7,58
%100 RRS	315,3±2,40	352,2±22,77	29,91±1,87	353,8±23,12	181,8± 5,18



Şekil 13. Çalışma dizaynı.

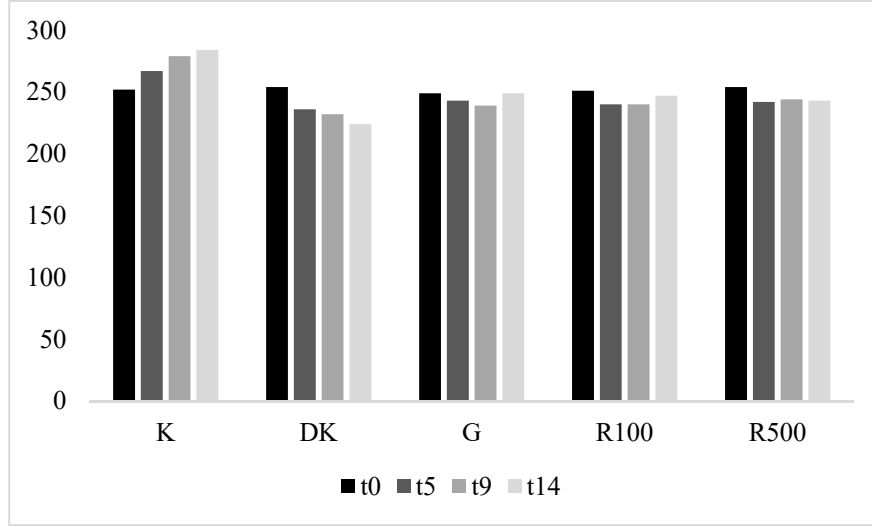
6.5.1. Vücut ağırlıkları ve kan glukoz değerleri

Grupların, deney başlangıcında STZ uygulaması öncesi 12 saat açlığı takiben ölçülen vücut ağırlığı (t_0), STZ sonrası (diyabet geliştikten sonra, t_1) deney süresince gavaj uygulamasını takiben ölçülen 5. gün (t_5), 9. gün (t_9) ve 14.gündeki (t_{14}) vücut ağırlıkları Tablo 18’ de gösterildi. Kontrol grubunun t_{14} ’de vücut ağırlığı kendi başlangıcına göre $\sim\%12$ artarken ($p<0,05$), DK grubunda kendi başlangıcına göre $\sim\%11$ azalma ($p>0,05$) tespit edildi. Diğer gruplarda t_{14} ’de kendi gruplarının başlangıç vücut ağırlıklarına göre değişim azdı. Vücut ağırlıklarındaki değişim gruplar arasında değerlendirildiğinde, vücut ağırlıklarının t_9 ’da K grubuna göre DK ($p<0,01$), G ($p<0,05$), R100 ($p<0,05$) ve R500 ($p<0,05$) gruplarında anlamlı olarak azaldığı, t_{14} ’te de K grubuna göre DK ($p<0,001$), G ($p<0,05$), R100 ($p<0,05$) ve R500 ($p<0,01$) gruplarında anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır. Tüm grupların suları her gün aynı zamanda değiştirilip, suluklar tamamen dolu olacak şekilde tekrar verildi. Suluklardaki su miktarı bir sonraki gün su değişimi öncesinde polifaji açısından nitel olarak değerlendirildiğinde, genel olarak en fazla tüketimin R500 grubunda, daha sonra DK grubunda olduğu gözlemlendi (Resim 10).

Tablo 18. Grupların vücut ağırlıkları

Gruplar	t_0	t_5	t_9	t_{14}
K	252± 16	267± 29	279±36	284±24
DK	254± 15	236±17	232±17**	224±19***
G	249±15	243 ±07	239±15*	249±14*
R100	251±19	240±14	240±12*	247±14*
R500	254±09	242±19	244±16*	243±17**

* $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$ K grubuna göre



Şekil 14. Grupların çalışma sürecindeki vücut ağırlıkları (g) değişimi



Resim 10. Sırasıyla DK,DK, G,G, R100, R100, R500, R500, K gruplarının su tüketim düzeyleri

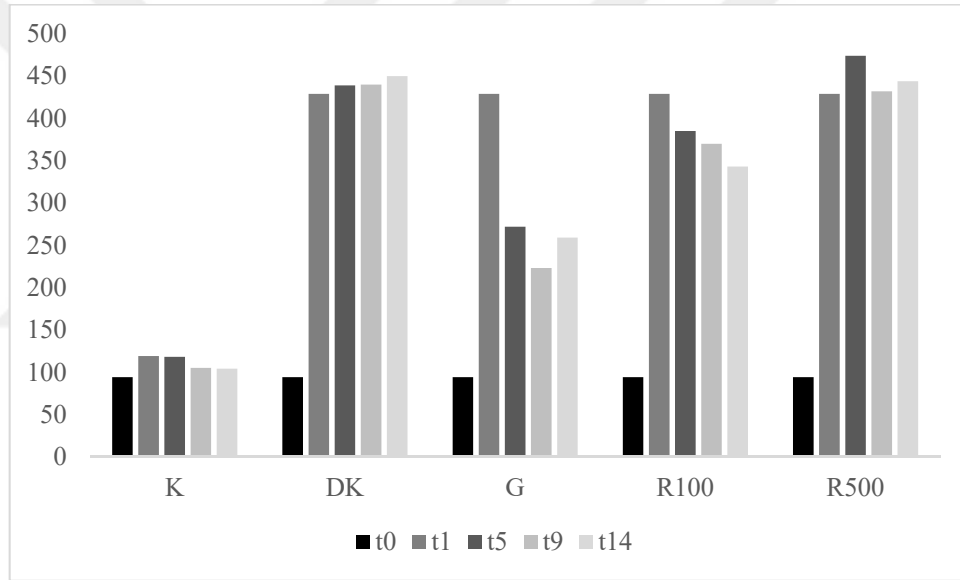
Tüm sıçanların kan glukoz düzeylerini değerlendirmek üzere kuyruk veninden t₀, STZ uygulamasını takiben 72. saat (t₁), t₅, t₉ ve t₁₄'de alınan birer damla kan, glukometre ile ölçüldü (Tablo 19). STZ uygulanması sonrası 72. saatte alınan kan örneklerinde glukoz düzeyleri ölçüldü ve değerlendirildiğinde hipergliseminin gerçekleştiği görüldü. Diyabet grubunda kan glukoz düzeyleri K grubuna göre anlamlı olarak yüksekti (p<0,001). Diyabet gelişimi sonrası diyabetik ratlar gruplar arasında randomize olarak dağıtıldı ve oral gavaj uygulamalarına başlandı. DK grubunda t₅, t₉, t₁₄ 'de de kan glukoz düzeyleri de K grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. DK grubuna göre G grubunun t₉ ve t₁₄ kan glukoz düzeylerinin anlamlı olarak daha düşük (sırasıyla p<0,01, p<0,05); G grubuna göre R500 grubunun t₅ ve t₉ kan glukoz

değerlerinin anlamlı olarak daha yüksek (sırasıyla $p<0,05$, $p<0,01$) olduğu saptandı. R100 grubunun açlık kan glukoz düzeylerinde t_{14} 'te DK grubuna göre %24 kendi grubunun t_1 glukoz düzeylerine göre %20 azalmaya neden olduğu gözlemlendi. Ancak R500 grubunda bu etki gözlenmedi.

Tablo 19. Grupların kan glukoz değerleri.

Gruplar	t_0	t_1	t_5	t_9	t_{14}
K	94± 07	119±10	118±08	105± 06	104± 04
DK		429±90***	439±73***	440 98***	450±154***
G			272±122	223±106 ⁺⁺	259± 107 ⁺
R100			385±126**	370±70**	343± 60**
R500			474±150***, #	432±130***, #	444±150***

** $p<0,01$, *** $p<0,001$ K grubuna göre; ⁺ $p<0,05$, ⁺⁺ $p<0,01$ DK grubuna göre; [#] $p<0,05$, [#] $p<0,01$ G grubuna göre.



Şekil 15. Grupların çalışma sürecindeki kan glukoz değerlerindeki (mg / dl) değişim

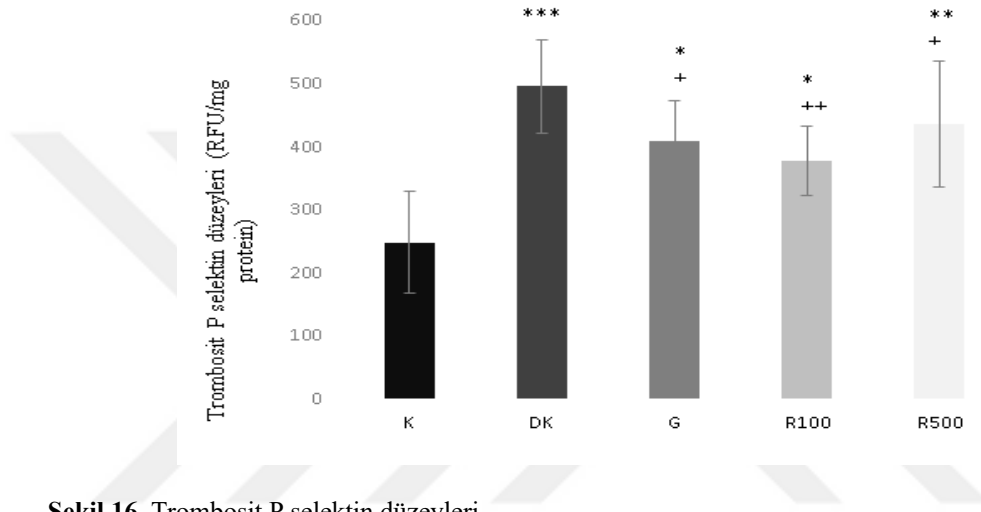
6.5.2. Trombosit P-selektin düzeyleri

Trombosit P selektin düzeyleri, K grubuna göre DK ($p<0,001$), G ($p<0,05$), R100 ($p<0,05$) ve R500 ($p<0,01$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı yüksek; DK grubuna göre G ($p<0,05$), R100 ($p<0,05$) ve R500 ($p<0,01$) gruplarında anlamlı olarak daha düşük olduğu belirlendi. Diyabetik gruplar içinde R100 grubunun P-selektin düzeylerinin daha düşük olduğu bulundu (Tablo 20).

Tablo 20. Trombosit P seletin düzeyleri

Gruplar	Trombosit P seletin düzeyleri (RFU/mg protein)
K	247± 80
DK	494 ±74***
G	407±64*,+
R100	376±55*,,+
R500	435± 100**,,+

***p< 0,001, **p< 0,01, * p< 0,05 K grubuna göre; ++p< 0,01, +p< 0,05 DK grubuna göre



Şekil 16. Trombosit P seletin düzeyleri.

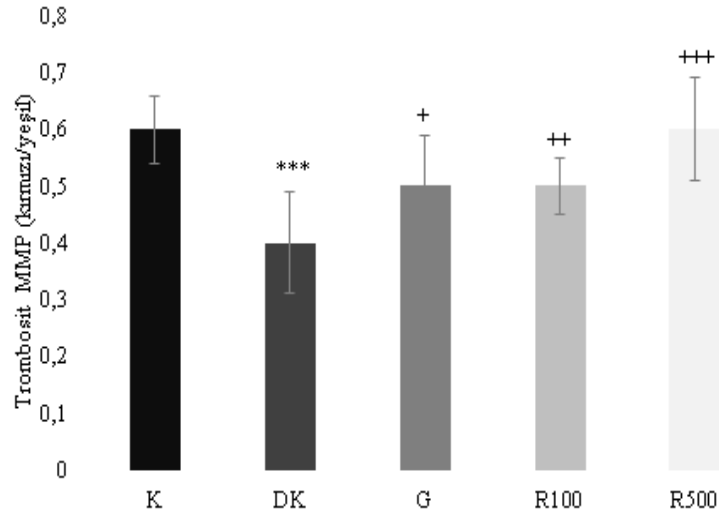
6.5.3. Trombosit mitokondriyal membran polarizasyonu

Grupların trombosit MMP sonuçları Tablo 21’ de gösterildi. K grubuna göre DK grubunda anlamlı olarak MMP’de azalma olduğu görülmektedir. DK grubuna göre G (p< 0,05), R100 (p< 0,01) ve R500 (p< 0,001) ile tedavi gruplarında MMP’de anlamlı olarak artış gözlemlendi.

Tablo 21. Trombosit mitokondriyal membran polarizasyonu.

Gruplar	Trombosit MMP (kırmızı/yeşil oranı)
K	0,60± 0,06
DK	0,36± 0,09***
G	0,51± 0,09+
R100	0,54± 0,05++
R500	0,62± 0,09+++

***p< 0,001 K grubuna göre; +++p< 0,001, ++p< 0,01, +p< 0,05 DK grubuna göre.



Şekil 17. Trombosit mitokondriyal membran polarizasyonu

6.5.4. Trombosit ve plazma nitrit düzeyleri

Trombosit nitrit düzeyleri K grubuna göre DK ($p < 0,05$), R100 ($p < 0,001$) ve R500 ($p < 0,05$) gruplarında anlamlı olarak yüksek yüksek bulundu. G grubunda anlamlı bir farklılık görülmedi. R100 grubunun trombosit nitrit düzeylerinin. tüm grupların nitrit düzeylerine göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptandı ($p < 0,001$) (Tablo 22).

Tablo 22. Trombosit nitrit düzeyleri

Gruplar	Trombosit Nitrit (nmol/mg protein)
K	0,46± 0,13
DK	0,76± 0,12*
G	0,58± 0,21
R100	1,31± 0,10***,+++, aaa, ###
R500	0,84± 0,20*

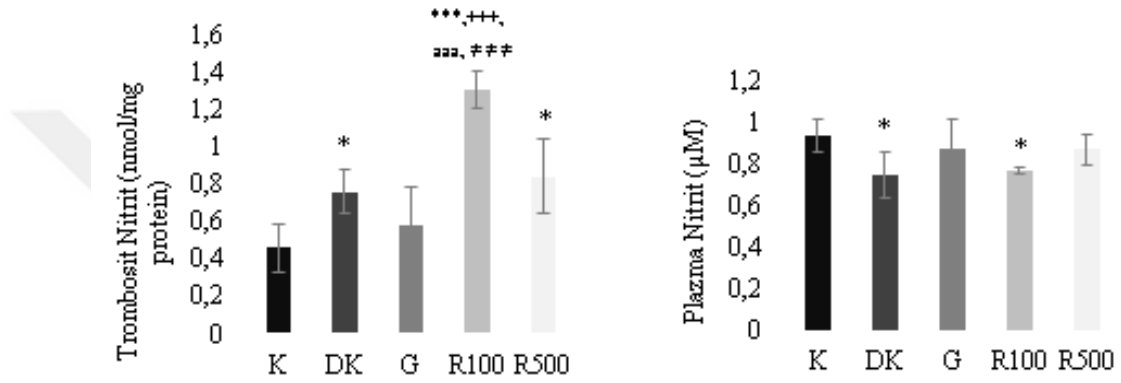
*** $p < 0,001$, * $p < 0,05$ K grubuna göre; +++ $p < 0,001$ DK grubuna göre, ## $p < 0,001$ G grubuna göre; aaa $p < 0,001$ R500 grubuna göre

Plazma nitrit düzeylerinde K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik saptanmadı. DK ($p < 0,05$) ve R100 ($p < 0,05$) gruplarında K grubuna göre nitrit düzeyleri anlamlı olarak düşük bulundu (Tablo 23).

Tablo 23. Plazma nitrit düzeyleri

Gruplar	Plazma Nitrit (μM)
K	0,94 \pm 0,08
DK	0,75 \pm 0,11*
G	0,88 \pm 0,14
R100	0,77 \pm 0,02*
R500	0,87 \pm 0,07

*p< 0,05 kontrol grubuna göre.



Şekil 18. Trombosit ve plazma nitrit düzeyleri

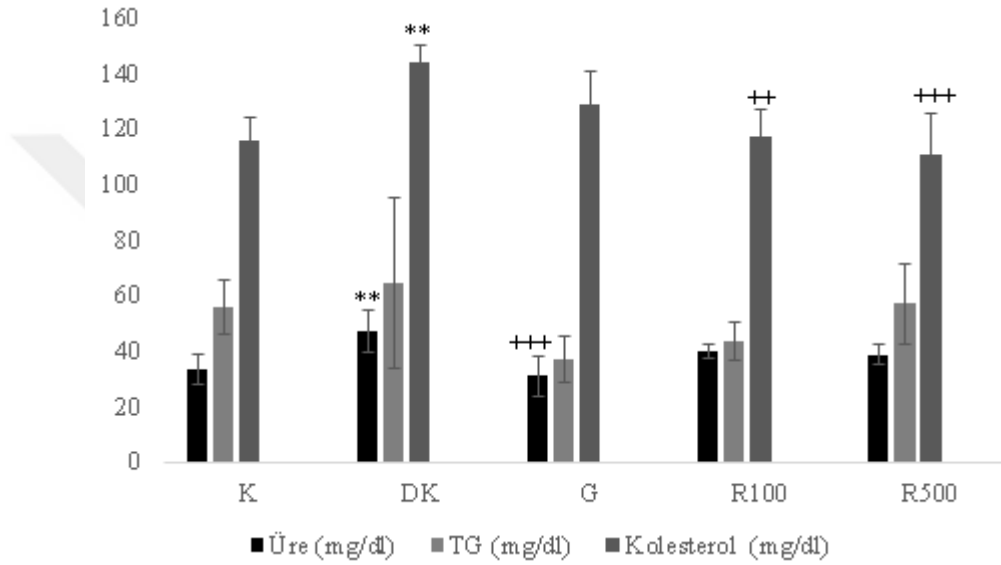
6.5.5. Plazma üre, trigliserit ve kolesterol düzeyleri

DK grubunun üre ve kolesterol düzeyleri K grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p < 0,01$) ancak TG düzeylerinde anlamlı bir farklılık görülmedi (Tablo 24). G grubunun üre düzeyleri DK grubuna göre anlamlı bir düşüklük gösterdi ($p < 0,001$) ancak TG ve kolesterol düzeylerinde anlamlı bir düşüklük saptanmadı. G grubunun üre, TG ve kolesterol düzeylerinde K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilmedi. *R. rubrum* 100 mg/kg ve R500 gruplarının üre ve TG düzeyleri DK grubuna göre daha düşük bulunmasına karşın istatistiksel olarak K, DK ve diğer tedavi grubu olan G grubuna göre anlamlı bir düşüklük saptanmadı. R100 ve R500 gruplarının kolesterol düzeyleri DK grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulundu (sırasıyla; $p < 0,01$, $p < 0,001$).

Tablo 24. Plazma üre, trigliserit ve kolesterol düzeyleri

Gruplar	Üre (mg/dl)	TG (mg/dl)	Kolesterol (mg/dl)
K	33,33±5,33	55,69± 9,90	115,65±8,18
DK	47,33±7,61**	64,28±30,54	144,00±6,12**
G	31,01±7,26+++	37,05± 8,04	128,71±12,00
R100	40,10±2,46	43,33± 7,06	116,88±9,92++
R500	38,75± 3,72	57,01±14,47	110,42±15,18+++

**p< 0,01 kontrol grubuna göre; ++p< 0,01, +++p< 0,001 DK grubuna göre.



Şekil 19. Plazma üre, trigliserit ve kolesterol düzeyleri

6.5.6. Plazma enzim düzeyleri

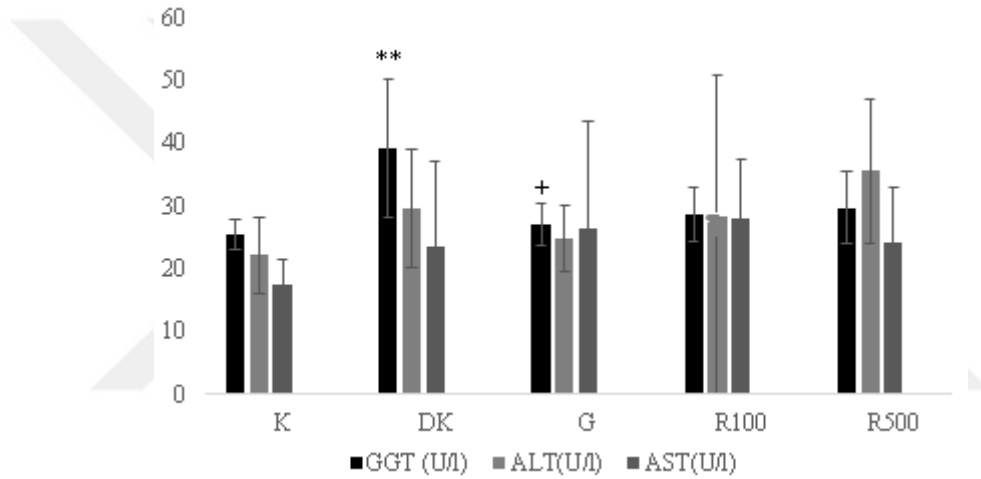
DK grubunun GGT aktivitesi K grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,01$) (Tablo 25). Plazma GGT enzim aktivitesi, R100 ve R500 gruplarında DK grubuna göre daha düşük bulunmasına karşın, bu değişiklik istatistiksel olarak anlamlı değildi. GGT aktivitesi G grubunda DK grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulundu ($p< 0,05$). Plazma ALT düzeyi, DK grubunda K grubuna göre biraz yükselmesine karşın istatistiksel olarak bu fark anlamlı değildi. Diğer gruplarda da ALT düzeylerinde anlamlı farklılık gözlenmedi. G grubunun ALT düzeyinin K grubuna göre daha yüksek; DK, R100 ve R500 gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 25).

Gruplar arasında plazma AST düzeylerinde istatistiksel olarak bir anlamlı farklılık gözlenmedi (Tablo 25).

Tablo 25. Plazma enzim düzeyleri

Gruplar	GGT (U/l)	ALT(U/l)	AST(U/l)
K	25,49±2,47	22,11±6,17	17,31±4,03
DK	39,05± 10,97**	29,53±9,5	23,57±13,56
G	27,03± 3,25 ⁺	24,73±5,22	26,34±17,0
R100	28,62± 4,36	29,25±17,15	27,93±9,33
R500	29,62±5,78	35,5±11,5	24,15±8,86

**p< 0,01 kontrole göre; ⁺p< 0,05 DK grubuna göre



Şekil 20. Plazma enzim düzeyleri

6.5.7. TNF- α düzeyleri

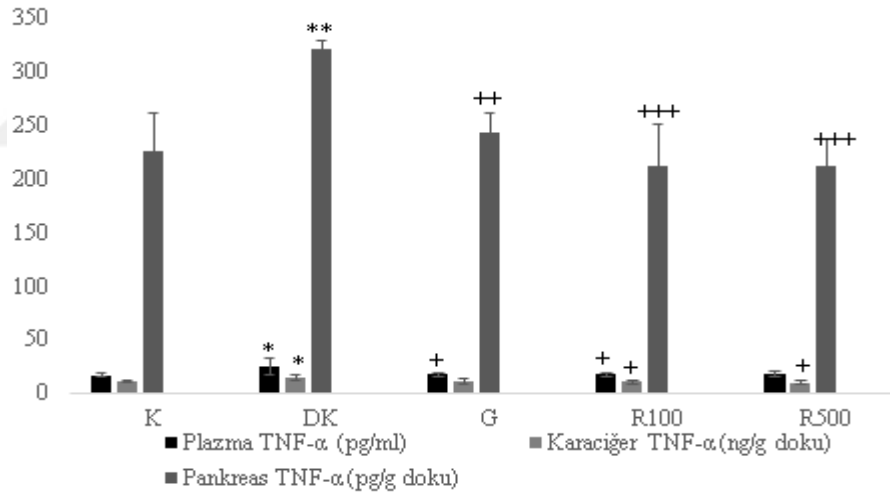
DK grubunun plazma TNF- α düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0,05$) (Tablo 26). R100 ve G gruplarının plazma TNF- α düzeyleri DK grubuna göre anlamlı olarak düşüktü ($p < 0,05$). R100 ve R500 grubunun plazma TNF- α düzeyleri K grubuna yakındır ve istatistiksel olarak farklılık göstermemiştir. DK grubunun karaciğer TNF- α düzeyleri K grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0,05$). G grubunun sonuçları DK grubuna göre düşük bulunmasına karşın bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 26). Karaciğer dokusunun TNF- α düzeyleri R100 ve R500 gruplarında DK grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p < 0,05$) ancak K ve G grubuna göre istatistiksel bir anlamlılık göstermedi. Pankreas

TNF- α düzeyleri R100, R500 ve G tedavi gruplarında DK grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulundu (sırasıyla: $p<0,001$, $p<0,001$, $p<0,01$) ancak R100 ve R500 gruplarında K grubuna göre anlamlı bir düşüklük saptanmadı. R100 ve R500 gruplarının sonuçları G grubuna göre daha düşük bulundu ancak istatistiksel bir anlamlılık saptanmadı. DK grubunun pankreas TNF- α düzeyleri K grubuna göre anlamlı bir yükseklik gösterdi ($p<0,01$) (Tablo 26).

Tablo 26. Grupların plazma, karaciğer ve pankreas TNF- α düzeyleri

Gruplar	Plazma TNF- α (pg/ml)	Karaciğer TNF- α (ng/g doku)	Pankreas TNF- α (pg/g doku)
K	16,77 \pm 1,80	10,30 \pm 1,01	225,89 \pm 35,64
DK	24,61 \pm 8,02*	13,91 \pm 2,38*	320,38 \pm 7,28**
G	17,48 \pm 1,93 ⁺	10,78 \pm 2,39	242,85 \pm 17,46 ⁺⁺
R100	17,21 \pm 2,11 ⁺	10,12 \pm 1,73 ⁺	211,62 \pm 38,40 ⁺⁺⁺
R500	18,20 \pm 2,44	9,91 \pm 1,95 ⁺	212,17 \pm 24,70 ⁺⁺⁺

* $p<0,05$,** $p<0,01$ K grubuna göre; ⁺ $p<0,05$, ⁺⁺ $p<0,01$, ⁺⁺⁺ $p<0,001$ DK grubuna göre



ekil 21. Plazma, karaciğer ve pankreas TNF- α düzeyleri

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Diyabetes Mellitus hiperglisemi ile karakterize, karbonhidrat, lipit ve protein metabolizmasının bozulması sonucu ortaya çıkan akut ve kronik komplikasyonları sebebiyle yaşam süresi ve yaşam kalitesini düşürebilen kronik bir hastalıktır. DM’de, artan trombosit aktivasyonunun patogeneğinde önemli rol oynadığı bilinen aterosklerotik süreç, dünyada hastalığa bağlı ölümlerin en sık nedenini oluşturan KVH’ın ortaya çıkmasında önemli bir risk oluşturur (<https://www.who.int/health-topics/cardiovascular-diseases/#tab=tab1>, Erişim tarihi: 06 Kasım 2019). Bu nedenle DM ve kardiyovasküler komplikasyonlarının önlenmesi/ tedavisinde yeni arayışlar devam etmektedir. Biyolojik aktiviteleri ve güçlü antioksidan etkinlikleri nedeniyle koyu renkli meyveler ile hastalıklardan korunma ve hastalıkların tedavisi üzerine çok fazla çalışma mevcuttur (Feng ve ark., 2016).

Ribes rubrum bitkisinin antioksidan etkinliğine, flavonoid ve fenolik içeriğine yönelik çalışmalar literatürde mevcuttur. Flavonoid ve fenolik bileşiklerin antidiyabetik ve anti-inflamatuar özelliğe sahip olabileceği *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla gösterilmiştir. (Garbacki, 2005; Pinto ve ark., 2010). Çalışmamızda, biyolojik olarak aktif bileşenler içeren ve ülkemizde kültürü yapılan *R. rubrum*’un meyvesinin, antidiyabetik ve DM’nin kardiyovasküler komplikasyonların gelişiminde önemli rol oynayan trombosit hiperaktivasyonunu önleyici etkileri incelendi.

Siyah ve kırmızı meyvelerin antioksidan kapasitesinin araştırıldığı bir çalışmada *R. rubrum* meyvesinin DPPH• radikalini süpürücü etkisi düşük bulunmuştur (Feng ve ark.,2016). Buna karşın *R. rubrum*, *Rubus idaeus* *Fragaria ananassa*, *Prunus avium*, *Prunus cerasus* meyvelerinin DPPH• ve ABTS^{•+} antiradikal etkisine bakılan bir çalışmada *R. rubrum*, antioksidan kapasitesi yüksek bulunan meyve grubuna alınmıştır (Piljac ve a Šamec, 2011). *R. rubrum* meyvesinin sulu ekstresinin DPPH• radikalini süpürücü etkisinin incelendiği bir başka çalışmada *R. rubrum*’un yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Pinto ve ark., 2010). *R. rubrum* meyvesinin %100 metanol, %50 metanol ve sulu ekstreleri ile yapılan bir diğer çalışmada ise DPPH• ve ABTS^{•+} radikallerini süpürücü aktivite için İK₅₀ değeri en düşük %50 metanol ekstresinde bulunmuş ve diğer meyvelerle karşılaştırıldığında *R. rubrum* meyve ekstrelerinin antioksidan aktivitesi daha düşük gözlenmiştir (Zöld ve ark., 2018). Çalışmamızda da *R. rubrum*’un %100 etanol, %50 etanol ve sulu ekstrelerinin

pozitif kontrol olarak kullanılan antioksidanlara göre düşük antioksidan etkisi gözlenirken, ekstreler içinde en yüksek etki %50 RRE'de saptandı. Pinto ve arkadaşları (2008) *Ribes nigrum*, *R. rubrum* ve *Ribes uva-crispa* sulu ekstresi (5g yaş meyve/100ml) ile yaptıkları çalışmalarında en yüksek aktiviteyi %70 DPPH* inhibisyonu ile *R. rubrum* sulu ekstresinde gözlemişlerdir. Araştırmacılar çalışmalarında farklı dönemlerde hasat edilen *R. rubrum*'un fenolik içerik ve antioksidan aktivite ile ilgili olarak önemli farklılıklar gösterdiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda ekstre konsantrasyonları *in vivo* çalışmalarda da rasyonel olabilmesi en yüksek konsantrasyon 5 mg yaş ekstre/ml olacak şekilde çalışılmıştır. Sulu ekstrenin %50 DPPH* süpürücü etkisi 315 µg/ml konsantrasyonda gözlenmiştir. *R. rubrum*'un antioksidan aktivitesi ile ilgili farklı bulgular ekstrelerin eldesinde kullanılan çözücü farklılığı, konsantrasyon farklılıkları ve meyvenin farklı dönemlerde hasadına bağlı olabilir.

Flavonoidler ve fenolik bileşikler bitkilerin yapısında yer alan anti-inflamatuar ve diyabet karşıtı faydalar sağlayabilen doğal pigmentlerdir (Mejia ve Johnson, 2015). Aynı zamanda çoklu doymamış yağ asitlerinden olan (PUFA) omega-3 yağ asiti çeşitlerinden α -linolenik asit de anti-inflamatuar eikosanoidlerin öncüllerindedir (Vuorinen ve ark., 2016). *R. rubrum*'un tohum ve yapraklarında büyük miktarda PUFA'nın varlığı doğrulanmıştır (Hirano ve ark., 1997). Literatürde *R. rubrum*'un anti-inflamatuar etkisi ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Ancak diğer *Ribes* türlerde yapılmış çalışmalar vardır. *Ribes nigrum* yaprak ekstresinin lökositlerde güçlü anti-inflamatuar etkiye sahip olduğu ve bu etkilerinin fenol içerikleri ile ilişkili olduğu (Tabart ve ark., 2012), *Ribes magellanicum* and *Ribes punctatum*'un meyvelerinin gastrointestinal dijestiyon sonrası insan Caco-2 hücrelerinde IL-8, IL-6 TNF- α düzeyleri ile COX-2 ve iNOS gen ekspresyonlarını azalttığı gösterilmiştir (Edwards ve ark., 2019). Çalışmamızda *in vivo* çalışmalar öncesinde *R. rubrum* meyve ekstrelerinin *in vitro* olarak anti-inflamatuar etkisi ortaya konmuştur. %100 RRE ile %50 RRE'nin lipoksijenaz enzim aktivitesi inhibisyonu için İK₅₀ değerleri birbirine çok yakın bulunmuş ve standart olarak kullanılan indometasin kadar etkili oldukları gözlenmiştir.

Tip 2 DM'de mevcut terapötik yaklaşımlardan birisi de pankreas α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerinin inhibisyonu ile glukoz Emilimini geciktirerek hiperglisemi

kontrol altına almaktır. Meyve ve sebzelerde bulunan doğal α -amilaz ve α -glukozidaz inhibitörleri, hipergliseminin kontrolü adına iyi bir strateji sunabilmektedir. Yapılan bir *in vitro* çalışmada *R. rubrum* meyvesinin sulu ekstresinin *Ribes nigrum*, *Ribes uva crisper*'ya göre en yüksek α -amilaz ve α -glukozidaz inhibitör aktivitesi gösterdiği saptanmıştır. Bu inhibitör etkideki muhtemel rolün klorojenik asit ve protokatejik asit içeriği ile α -amilaz ve α -glukozidaz inhibitör aktivite arasında bulunan anlamlı ilişkiye bağlı olabileceği belirtilmiştir (Pinto ve ark., 2010). Yapmış olduğumuz çalışmada %100 RRE'nin %100 RRS, % 50 RRE'ye göre en yüksek α -amilaz ve α -glukozidaz inhibitör aktiviteye sahip olduğu saptanmış ancak ekstrelerin standart olarak kullanılan akarboz ile kıyaslandığında inhibitör aktiviteleri düşük bulunmuştur. Flanovoid ve fenolik bileşikler kronik kompleks hastalıkların ve komplikasyonlarının önlenmesi, ilerleyişinin yavaşlatılmasında yarar sağlayabilmektedir. Ekstrelerin total fenol ve fenolik içerikleri ekstraksiyon için kullanılan çözücüye ve meyvelerin toplanma zamanına bağlı olarak değişkenlik gösterir. Çalışmamızda *in vitro* olarak, ekstrelerin TFM ve TFLM düzeyleri incelenmiştir. *R. rubrum* meyvesinin %100 etanol, %50 etanol ve sulu ekstresinin TFM (40-44 mg GAE/g yaş ekstre arasında) ve TFLM (4,1-4,7 KE/g yaş ekstre arasında) düzeyleri birbirine yakın bulundu. Çalışmamızda ekstrelerin TFM diğer diğer koyu renkli meyvelerle literatürde yapılan çalışmalarla kıyaslandığında çok düşük bulunmamıştır. Çilek suyu ile yapılan bir çalışmada taze çilek suyunun total fenol içeriği 1197 ve 1441 mg GAE/100 g yaş ağırlık (Panico ve ark., 2009) mersin meyvesi (*Myrtus communis*) metanol, etanol ve su ekstresinde yapılan bir çalışmada TFM 9-15,7 mg GAE /g arasında bulunmuştur (Amensour ve ark., 2009). Üç farklı nar çeşidi tohumlarında yapılan bir çalışmada TFM düzeyinin 3.98-4.96 GAE/g, TFLM düzeyinin 0,51-0,68 KE/g arasında değiştiği gösterilmiştir (Peng, 2019). Literatürde *R. rubrum* meyvesinin diğer meyvelerle birlikte incelendiği çalışmalarda farklı bulgular bildirilmiştir. Meyvenin sulu, %100 metanollü ve %50 metanollü ekstreleri ile yapılan bir çalışmada TFM 73-193 GAE mg/100 g, TFLM 38-40 mg KE/100 g olarak saptanmış ve bu değerler çalışmada karşılaştırılan diğer meyvelere göre düşük bulunmuştur (Zöld ve ark., 2018). Doksan iki farklı bitki materyali ile yapılmış bir çalışmada *R. rubrum* meyvesinin %100 metanol ekstresinin TFM değeri 12,6 GAE mg/g olarak saptanmış ve çalışmada bakılan 18 meyve içinde düşük TFM değerine sahip meyvelerden biri olmuştur

(Kahkonen ve ark., 1999). Taze prese edilmiş meyve sularında yapılan bir çalışmada *R. rubrum* meyvesinin TFM değeri *Rubus idaeus*, *Rubus occidentalis*, *Ribes nigrum* ve *Vaccinium myrtillus*'a göre en düşük bulunmuş, 133 GAE mg/100 g olarak belirlenmiştir (Konic'-Ristic' ve ark., 2011). Feng ve arkadaşları (2016) tarafından koyu siyah ve kırmızı renkli meyveler ile yapılan bir çalışmada, *R. rubrum* meyvesinin TFM değeri 251 mg GAE/g diğer meyvelere göre düşük bulunmuştur.

Ribes rubrum meyvelerinin α -amilaz ve α -glukozidaz aktiviteleri üzerinde güçlü inhibitör etki gözlenmemesine karşın literatürde antidiyabetik etkinliği bildirildiği için başka mekanizmalar üzerinden antidiyabetik etki potansiyeli olasılığı ve güçlü anti-inflamatuvar etki göstermesi nedeniyle DM ilişkili sistemik inflamasyon ve trombosit hiperaktivitesi üzerine etkinliğinin değerlendirilmesinin yararlı olacağı düşünülmüş ve %100 RRE ile *in vivo* deney planlanmıştır.

Diyabetes Mellitus'un patogenezinin anlaşılması ve koruyucu/tedavi edici stratejilerin oluşturulabilmesi için diyabetin çeşitli yollarla indüklendiği deneysel hayvan modelleri kullanılmaktadır. STZ, pankreatik β hücrelerine hasar vermesi ile hayvan çalışmalarında diyabet geliştirmek için yaygın olarak kullanılan kimyasallardandır. Literatürde STZ dozu ile ilgili farklı bilgiler yer almaktadır. Yetişkin sıçanlarda tek doz 40-60 mg/kg intravenöz STZ uygulamasının Tip 1 DM'ye, yeni doğan sıçanlarda tek doz intraperitoneal veya intravenöz 100 mg/kg STZ uygulamasının ise Tip 2 DM'ye neden olduğu bildirilmiştir (Öntürk ve Özbek, 2007). Ancak STZ dozunun etkisine bakmak için sıçanlarda yapılan bir çalışmada; 30 mg/kg STZ dozunun ılımlı değişikliklere yol açtığı, 7. günde açlık kan glukozunun normal seviyelere döndüğü ve pankreas adacıklarının normal olduğu; 50 mg/kg STZ dozunun ölümcül olabileceği, hayatta kalan hayvanlarda da toksik etkilere yol açtığı; 40 mg/kg STZ dozunun diyabet modeli oluşturmak için optimal doz olduğu bildirilmiştir (Nagarchi ve ark.,2015). İntravenöz veya intraperitoneal olarak tek seferde, 40-100 mg/kg STZ ile 48-72. saatler sonunda kan glukoz düzeyinin kontrolü yapılarak diyabet oluşturulabileceği bildirilmiştir (İrer ve Alper, 2004; Öntürk ve Özbek, 2007; Benwahhoud ve ark., 2001; Pushparaj ve ark., 2000; Cetto ve ark., 2000). STZ ile birlikte NA uygulanmasının sıçanlarda da deneysel diyabeti indüklenmesi için önerilmiştir. NA insülin salgılayan hücreleri STZ'ye karşı kısmen korumak için sıçanlara uygulanmaktadır (Gülsün ve Şahin, 2017). NA'nın koruyucu etkisi, PARP-1 aktivitesinin inhibisyonundan

kaynaklanmaktadır. STZ'ye maruz kalan hücrelerde NAD⁺ ve ATP'nin tükenmesini önleyerek bu enzimi inhibe eder. Deneysel sıçanlarda diyabetin ciddiyeti, STZ ve NA dozlarına güçlü bir şekilde bağlıdır. Kan glukozunun hafif hiperglisemiden önemli hiperglisemiye kadar geniş bir aralıkta değişebildiği bildirilmiştir (Szkudelski, 2012). Çalışmamızda dişi, 200-300 g ağırlığında Sprague-Dawley sıçanlarda diyabet modeli 65 mg/kg STZ ve 100 mg/kg NA uygulanarak oluşturulmuş, uygulamanın ardından 72. saatte kan glukoz düzeyi >250 mg/dl olan sıçanlar diyabetik kabul edilmiştir. Kontrol grubuna göre diğer diyabetik gruplarda 72. saatte kan glukoz düzeylerinin anlamlı olarak daha yüksek bulunmuş olması ile STZ ile diyabet modeli oluşturmada başarılı olduğunu göstermiştir. Oluşturulan hipergliseminin diyabet grubunda 14. gün sonuna kadar devam ettiği gözlenmiştir.

Literatürde STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlarda vücut ağırlığında azalma olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Pauzi ve ark., 2013; Lee ve ark., 2003). Çalışmamızda STZ uygulanmamış K grubunun vücut ağırlıklarının, çalışma sonuna kadar artış gösterdiği, STZ uygulanan DK, G, R100 ve R500 gruplarının K grubuna göre t₉ ve t₁₄'te anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır.

Çalışmamızda pozitif kontrol olarak glibenklamid kullanılmıştır. Glibenklamid pankreas β hücre reseptörlerine bağlanarak insülin sekresyonunu uyarıcı etki göstererek kan glukoz düzeyinin kontrol altında tutulmasında rol oynar (Mizuni ve ark, 2008). Sıçanlarla yaptığımız çalışmada 100 mg/kg ve 500 mg/kg olmak üzere iki farklı dozda %100 RRE verilen sıçanlarda, *R. rubrum* meyvesinin kan glukoz düzeylerine etkisi, kontrol grupları ile beraber insülinojenik bir ajan gibi etki gösteren glibenklamid verilen grup ile de karşılaştırılmıştır. Bulgularımız doğrultusunda belirli aralıklarla yapılan glukoz ölçümlerinde R100 grubunda DK grubuna göre kan glukoz düzeylerinde anlamlı olmamakla birlikte azalma (%24) olduğu görülmüştür. Bu değişiklik G grubundaki kadar belirgin değildir. Diyabetik ratlarda *Ribes* türlerinin antidiyabetik aktivitesinin incelendiği çok az sayıda in vivo çalışmalardan birinde alloksan ile ılımlı hiperglisemi indüklenen sıçanlarda 500 mg/kg dozda *Ribes nigrum* meyvesinin sulu ekstresi akut verildiğinde 3. saatte güçlü antidiyabetik aktivite gösterirken, 100 mg/kg dozdaki ekstrenin önemli bir antidiyabetik aktivite göstermediği; subakut antidiyabetik denemede ise 500 mg/kg dozdaki ekstrenin ilk günden 7. güne kadar önemli bir aktivite gösterirken, 100 mg/kg dozunun kan glukoz

düzeyinde 5. günden 7. güne kadar anlamlı bir düşüş gösterdiği kaydedilmiştir (Sivalingam ve Sriram, 2013). *Ribes biebersteinii* Berland ile STZ indüklü diyabet modelinde yapılan çalışmada meyvenin sulu ektresinin (80 mg/100g) diyabetik ratlarda anlamlı olarak kan glukoz düzeyini düşürdüğü, lipid profili üzerine etkisinin olmadığı gösterilmiştir (Sm ve ark., 2018). Çalışmamızda STZ ile indüklenen diyabet modelinde ciddi hiperglisemi oluşturulmuştur. Glibenklamid diyabetik ratlarda kan glukoz düzeyini DK grubuna göre % 57 azatırken, 100 mg/ kg konsantrasyonda ekstre kan glukoz düzeyini anlamlı olmamakla beraber DK grubuna göre %24 azalmasını sağladı. Ancak 500mg/kg konsantrasyonda ekstre kan glukoz düzeyi üzerinde etkili bulunmadı. Yüksek konsantrasyonda *R. rubrum*'un kan glukozu üzerinde etkili olmamasını artan konsantrasyonla birlikte ekstrenin şeker içeriğinin de artışı kaynaklı olabileceğini düşünmekteyiz.

Diyabetes Mellitus'ta dislipidemi yaygın olarak görülmektedir ve diyabetin kardiyovasküler komplikasyonlarına sebep olan aterosjenik mekanizmada rol aldığı literatürdeki çalışmalarla ortaya konmuştur. DM'de artmış TG ve VLDL, azalmış HDL düzeyleri gözlenmektedir (Wang ve ark., 2016). *Ribes* cinsi meyvelerin tohum yağı, kan lipid profilinin ve trombosit agregasyonunun kontrol altına alınmasında rol oynayan α -linolenik, γ -linolenik yağ asitlerinden zengindir (Vuorinen ve ark.,2016; Tim, 2012; Hirano ve ark., 1997). Omega-3 yağ asiti çeşitlerinden olan esansiyel α -linolenik asitin, kanda LDL ve kolesterol düzeylerini düşürüp HDL'yi arttırarak aterosklerotik süreçteki oksidasyonun artmasını engellediği, trombosit agregasyonunu önleyen prostoglandin E3'ün öncü maddelerinden olduğu bilinmektedir (Aksoy, 2016). Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda *R. rubrum* meyvesinin kan lipit profiline ve üre düzeyine etkisine bakılmıştır. Diyabet grubunda kontrol grubuna göre üre ve kolesterol düzeyi anlamlı olarak artarken *R. rubrum* her iki grupta da üre, TG düzeylerinde değişikliğe neden olmadı ve kolesterol düzeylerini DK grubuna göre anlamlı olarak düşmesini sağladı. *R. rubrum* verilen R500 grubunda kan glukoz düzeyine etkisi gözlenmediğinden her iki konsantrasyonda görülen kolesterol düzeyinin azalması *R. rubrum* ekstresinin α -linolenik, γ -linolenik yağ asidi içeriği kaynaklı olabilir.

Literatürde bulunan çalışmalar DM'nin karaciğer fonksiyonlarında ve yapısında bozulmaya yol açabileceğini göstermektedir (Acharya ve ark., 2016). Fareler üzerinde

obezite ilişkili karaciğer yağlanması incelendiği bir çalışmada *Ribes nigrum*'un 16. haftada dolaşımdaki ALT'yi önemli ölçüde azalttığı görülmüştür (Lee ve ark., 2019). Çalışmamızda karaciğer fonksiyon testi olarak ALT, AST ve GGT düzeyleri incelenmiştir. Diyabetik kontrol grubunda ALT ve AST düzeylerinde K grubuna göre anlamlı farklılık gözlenmedi. Bu durum çalışma süremizin 14 gün ile sınırlı tutulmasından kaynaklanmış olabilir. *R. rubrum*'un her iki konsantrasyonunda da plazma ALT ve AST düzeylerine anlamlı farklılık bulunmadı. Serum GGT aktivitesi aşırı alkol tüketimi veya karaciğer hastalıkları için bir belirteç olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda GGT'nin referans aralık dahilinde artışının oksidatif stresle ilgili erken ve hassas bir belirteç olabileceği bildirilmiştir (Lee ve ark., 2004). Diyabetik kişilerde serum GGT aktivitesi yüksek bulunmuştur ve bu durum oksidatif stres artışı ile ilişkilendirilmektedir. Çalışmamızda literatür bilgilerine paralel olarak DK grubunda GGT aktivitesi K grubuna göre anlamlı olarak arttı. *R. rubrum* ekstresi her iki konsantrasyonda DK grubuna göre anlamlı olmamakla birlikte GGT düzeylerinde azalmaya neden oldu. Plazma GGT aktivitesinin *R. rubrum* ekstresi ile azalması ekstrenin diyabete bağlı oksidatif stresi baskıladığının göstergesi olabilir. Diyabetes Mellitus ve inflamasyon arasındaki ilişki çalışmalarla ortaya konmuştur. (Yalçın ve Rakıcıoğlu, 2018). TNF- α bir proinflamatuvar sitokin olup, pek çok hastalığın inflamasyon patogenezinde rol almaktadır (Kalfa ve Aksu, 2011). Literatürde *R. rubrum*'un geleneksel olarak romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıklarda kullanıldığına ve anti-inflamatuvar aktivite gösterdiğine dair bilgiler bulunmaktadır (Tim, 2012; Duke ve ark., 2002). Literatüre uygun olarak çalışmamızda diyabetik sıçanlarda çok yüksek olmamakla birlikte K grubuna göre plazma, karaciğer ve pankreas TNF- α düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdi. *R. rubrum* 100 mg / kg konsantrasyonda plazma TNF- α düzeyinin azalmasını sağlarken karaciğer ve pankreas TNF- α üretimini her iki konsantrasyonda da baskıladı. Diyabetes Mellitus, trombosit fonksiyonlarının değişmesi ile de karakterize edilir ve trombositler DM'nin makrovasküler komplikasyonlarının temel patolojisinde merkezi bir rol oynar (Ferreiro ve ark., 2010; Ferreiro ve Angiolillo, 2011). Tip 1 veya Tip 2 DM hastalarının trombositleri hiperreaktifdir ve artmış agregasyonu ile trombüs oluşumunun yanı sıra artmış adezyon gösterirler. Artan ortalama trombosit hacmi ve trombosit turnoveri, düzensiz kalsiyum homeostazı, artan ROT, TXA2 üretimi ve

benzeri biyokimyasal değişikliklerin diyabet hastalarının trombositlerin hiperreaktivitesine aracılık ettiği rapor edilmiştir (Santilli ve ark., 2015). Trombosit aktivasyonunun önemli göstergelerinden birisi de α -granüllerinden salınan P selektinin hücre yüzeyine lokasyonudur (Wasiluk, 2004; Hsu- Lit ve ark, 1984). *Rubus idaeus* ve *Rubus caesiu* yaprak ekstreleri, çilek gibi meyvelerde yapılan çalışmalarda kırmızı renkli meyvelerin P selektin ekspresyonunu baskıladığı ortaya konmuştur (Dudzinska ve ark., 2016; Alarcon ve ark., 2014). *Ribes nigrum* yapraklarının %70 sulu aseton ekstresi ile ön işleme tabi tutulan insan umbilikal ven endotel hücrelerinde yapılan bir çalışmada trombositlerde P selektin analizi yapılarak ADP'nin neden olduğu trombosit reaktivitesine bakılmış ve belirgin bir azalma görüldüğü ifade edilmiştir. Ancak bu çalışmada kontrole göre *Ribes nigrum* yaprak ekstresi ile inkübe edilmiş hücrelerde bir değişiklik saptanmamıştır (Luzak ve ark., 2014). Literatürde *R. rubrum*'un trombosit aktivitesi üzerine etkisinin incelendiği bir çalışma bulunmamaktadır. Daha önce *ex vivo* olarak yaptığımız ön çalışmada *R. rubrum* meyve suyunun trombosit aggregasyonu, P selektin ekspresyonunu anlamlı olarak baskıladığını göstermiştik (Gülmez ve ark., 2018). Bu çalışmamızda *R. rubrum*'un %100 etanol ekstresinin diyabet ilişkili artan trombosit aktivitesini baskılayabildiğini trombosit P selektin düzeyleri üzerinden gösterdik. Çalışmamız bu yönüyle literatüre katkı sağlayabilir.

Mitokondri membran polarizasyonunun değişikliği mitokondriyal disfonksiyonun ve apoptozun bir göstergesidir. Sağlıksız ve apoptotik hücrelerde mitokondrinin artan membran geçirgenliği sonucunda ortaya çıkan elektrokimyasal potansiyel kaybı nedeniyle mitokondrinin içi daha az negatif hale gelmektedir. Katyonik bir boya olan JC-1 ile florometrik olarak mitokondride meydana gelen bu değişikliği ortaya koyan çalışmalar literatürde mevcuttur (Sivandzade ve ark., 2019; Elefantova ve ark., 2018; Perelman ve ark., 2012). Trombositler nükleus içermedikleri için trombosit sağlığı büyük ölçüde mitokondrilerinin sağlığı tarafından belirlenir. Bazı hastalıklar trombositlerde erken apoptoza yol açabilir. Trombositlerin sağlıklı kalması (bir trombosit ömrü 7-10 gün) için mitokondrinin enerji üretimi gerekliliği ve nükleer olarak kodlanmış mitokondri (mtDNA) göz önüne alındığında mitokondrilerinin trombosit ömrünü belirlemesi muhtemeldir (Melchinger ve ark., 2019).

Nitrik oksit, nitrik oksit sentazın (NOS) 3 izoformu (nöranol (nNOS), endotelial (eNOS), indüklenebilir (iNOS)) tarafından üretilir. Endotelial hücrelerde ve

trombositlerde eNOS ve iNOS bulunur (Gkaliagkousi ve ark., 2007). Endotel hücreleri tarafından üretilen NO ve prostasiklin sağlıklı endotele trombositlerin yapışmasını engeller (Goubareva ve ark., 2007). Çok sayıda epidemiyolojik çalışma polifenol içeriği ile sebze ve meyvelerin endotel üzerindeki koruyucu etkisini göstermektedir (Schini ve ark., 2010). Trombosit kaynaklı NO trombositlerin endotele adezyonunu ve trombosit kümeleşmesi sırasında kümelere yeni trombositlerin katılımını ve tromboz oluşumunu önler. Trombositler aktive olduğunda veya hiperglisemik şartlarda iNOS kaynaklı NO düzeylerinde artış olabileceği bildirilmiştir (Gkaliagkousi ve ark., 2007). Çalışmamızda NOS düzeyleri incelenmemiş, NO düzeyleri, metabolitlerinden biri olan nitrit düzeyleri üzerinden değerlendirilmiştir. Diyabet grubunun nitrit düzeylerinin K grubuna göre artış gösterdiği saptanmıştır. *Ribes* cinsi meyvelerden *Ribes nigrum* yapraklarının %70 sulu aseton ekstresi ile ön işleme tabi tutulan insan umbilikal ven endotel hücrelerinde yapılan bir çalışmada, *Ribes nigrum* yaprak ekstresinin endotel nitrik oksit sentaz aktivasyonuna arttırdığı belirtilmiştir (Luzak ve ark., 2014). Plazmada nitrit düzeylerinde DK grubunda K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. Tip 1 DM veya Tip 2 DM hastalarında serum NO düzeylerinin değiştiği bildirilmiştir. Ancak, sonuçlar tartışmalıdır. Bazı çalışmalar diyabetik hastalarda artmış NO düzeyleri bildirirken (Adela ve ark., 2015) bazıları azaldığını (Krause ve ark., 2012) bildirmektedir. R100 ve R500 gruplarının plazma NO düzeyleri DK grubuna göre anlamlı farklılık göstermemiştir. Buna karşın R100 grubunun trombosit nitrit düzeylerinin tüm gruplara göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. R100 grubunda trombosit aktivasyon göstergesi olan P selektin düzeyleri de azaldığı için bu artışın iNOS ve aktivasyon kaynaklı değil eNOS üzerinden NO sentezinin artışı kaynaklı olabileceğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak; *R. rubrum* %100 etanol ekstresi kan glukoz düzeyinde ılımlı değişikliğe neden olmaktadır ve bu etkisi doz bağımlı değildir. Anti-inflamatuar etkiye sahiptir. Diyabet indüklü trombosit aktivasyonu artışını ve mitokondriyal disfonksiyonu önleyebilmektedir. Literatürde *Ribes* cinsi meyvelerin antioksidan kapasitesi, farmakolojik özellikleri, antidiyabetik, anti-inflamatuar ve antitrombosit etkilerine yönelik *in vitro* çalışmalar bulunmasına karşın *in vivo* çalışmalar sınırlıdır. *R. rubrum*

meyvesi anti-inflamatuar ve antitrombotik etkileri ile DM'nin komplikasyonlarının önlenmesi/tedavisinde yarar sağlayabilir.



8. KAYNAKLAR

Abu-Abeeleh M, Ismail Z, Alzaben K, Abu- Halaweh S, Aloweidi A, Al-Ammouri I, Al-Essa M, Jabaiti S, Abu- Abeeleh J, Alsmady M, Alshobaki O. A preliminary study of the use of human adipose tissue-derived stem cells for the treatment of streptozotocin-induced diabetes mellitus in a rat model. *Comp Clin Pathol.* 2010;19:1-4.

Adela R, Nethi SK, Bagul PK, Barui AK, Mattapally S, Kuncha M, Patra CR, Reddy PN, Banerjee SK. Hyperglycaemia enhances nitric oxide production in diabetes: a study from South Indian patients. *PLoS One.* 2015;10(4):1-17.

Adina F, Cecilia G, Gligor F, Dobrea C, Ovidiu T. Identification and quantification of phenolic compounds from red currant (*Ribes rubrum* L.) and raspberries (*Rubus idaeus* L.). *Int J Pharmacol Phytochem Ethnomed.* 2017;6:30-37.

Akbarzadeh A, Norouzian D, Mehrabi M, Jamshidi S, Farhangi A, Verdi A, Mofidian S, Rad B. Induction of diabetes by streptozotocin in rats. *Ind J Clin Biochem.* 2007;22(2):60-64.

Akçay N, Kılıtır H, Petmezci M, Barlas Ü, Şevketoğlu E. Metformin zehirlenmesine bağlı ağır laktik asidozda hemodiyafiltrasyon etkinliği: olgu sunumu. *J Pediatr Emerg Intensive Care Med.* 2018;5:47-48.

Altındış N. Yüksek Glukozun Trombositlerde Oksidatif/Nitrozatif Strese ve Apoptoza Etkisi. M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans Tezi, 2014, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. A Şener).

Albert K, Zimmet P. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a who consultation. *Diabet Med.* 1998;15:539–553.

Alphan E. Diabetes Mellitus ve Beslenme Tedavisi. Editör: Alphan E. Hastalıklarda Beslenme Tedavisi. 1. Baskı. Ankara: Hatipoğlu Yayınları; 2013, s:415-509.

ADA. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes-2018. Diabetes Care 2018;41 (Suppl 1):13-27.

ADA. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes-2019. Diabetes Care 2019;42 (Suppl 1):13-28.

ADA. Consensus development conference on the diagnosis of coronary heart disease in people with diabetes: 10-11 February 1998, Miami, Florida. Diabetes Care 1998;21 (Suppl 1):553-559.

ADA. Diabetic nephropathy. Diabetes Care 2002;25 (Suppl 1):85-89.

ADA. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 2010;33 (Suppl 1):62-69.

ADA. Pharmacologic approaches to glycemic treatment: standards of medical care in diabetes-2018. Diabetes Care. 2018;41 (Suppl 1):73-85.

ADA. Standards of medical care in diabetes-2019 abridged for primary care providers. Clin Diabetes. 2019;37 (Suppl 1):11-34.

Amensour M, Sendra E, Abrini J, Bouhdid S, Pérez-Alvarez JA, Fernández-López J. Total phenolic content and antioxidant activity of myrtle (*Myrtus communis*) extracts. Nat Prod Commun. 2009;4:819-24.

Ammon H. Boswellic extracts and 11-keto- β -boswellic acids prevent type 1 and type 2 diabetes mellitus by suppressing the expression of proinflammatory cytokines. Phytomedicine 2019;63:1-7.

Ateş N. Akut Yoğun Sigara Dumanı Solutulan Ratlarda Tesbit Edilen Trombosit Agregasyon ve Sekresyon Değişiklikleri, A.Ü. Tıp Fakültesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, 2010, Ankara (Danışman Doç. Dr. S Yardımcı).

Aoui C, Prigent A, Sut C, Tariket S, Cognasse H, Pozzetto B, Richard Y, Cognasse F, Laradi S, Garraud O. The signaling role of cd40 ligand in platelet biology and in platelet component transfusion. *Int J Mol Sci.* 2014;15(12):22342-22364.

Apikoglu S, Izzettin F, Turan P, Ercan F. Effect of topical insulin on cutaneous wound healing in rats with or without acute diabetes. *Clin Exp Dermatol.* 2010;35(2):180-185.

Ayman H, Khalda M. Prothrombin time (pt) and activated partial thromblastin time (APTT) in sudanese diabetic patients. *JNMS.* 2015;16(1):17-24.

Awad MA. History of diabetes mellitus. *Saudi Med J.* 2002;23(4):373-378.

Barutçuoğlu B. Antitrombotik tedavi izleminde trombosit fonksiyon testleri. *Türk Klinik Biyokimya Derg.* 2016;14(2):144-156.

Başpınar E. Frenk Üzüümü (*Ribes multiflorum* Kit. Ex Roem. & Schult) Ekstraktlarının Antioksidan ve Antimikrobiyal Özelliklerinin Araştırılması ve Sucuk Üretiminde Kullanılması. A.K.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2016, Afyonkarahisar (Danışman: Doç. Dr. V Gök).

Baynest H. Classification, pathophysiology, diagnosis and management of diabetes mellitus. *J Diabetes Metab.* 2015;6(5):541-541.

Becker R. Chapter 1: Platelet biology: the role of platelets in hemostasis, thrombosis and inflammation. Editör:Bhatt D. *Platelets in Cardiovascular Disease.* USA: International College Press; 2008, p:1- 3.

Behçet L. A new species of *Ribes* L. (Grossulariaceae) from East Anatolia, Turkey. Tr. J. Botany. 2001;25:103-105.

Benwahhoud M, Jouad H, Eddouks M, Lyoussi B. Hypoglycemic effect of *suaeda fruticosa* in streptozotocin induced diabetic rats. J Ethnopharmacol. 2001;76:35-38.

Berridge MJ. Inositol trisphosphate and diacylglycerol: two interacting second messengers. Ann Rev Biochem. 1987;56:159-193.

Bozkurt N. Diabetes Mellitus ve Beslenme Tedavisi, Editör: Baysal A. Diyet El Kitabı. 7. Baskı. Ankara: Hatiboğlu Yayınları; 2013, s: 257- 297.

Baz H. Streptozotocinle İndüklenen Diyabetli Ratlar Üzerinde *Myrtus Communis* L. Yaprığı Su Ekstresi Etkilerinin Araştırılması, Ata.Üni. Sağlık Bilileri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2014, Erzurum (Danışman: Doç. Dr. M Gülaboğlu).

Bishop M, Fody E, Schoeff L. Clinical Chemistry Çeviren: Akbıyık F. Klinik Biyokimya. 7. Baskı, Akademisyen Tıp Kitabevi Ltd. Şti., Ankara; 2016, s: 296-307.

Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications a unifying mechanism. Diabetes 2005;54(6):1615-1625.

Carpenter M, Coustan D. Criteria for screening tests for gestational diabetes. Am J Obstet Gynecol. 1982;144(7):68–773.

Celkan T. Trombosit Fonksiyon Bozuklukları ve Vasküler Nedenli Kanamalar, İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Kanama ve Tromboza Eğilim Sempozyum Dizisi, 2003;3;37-60.

Cetto A, Wiedenfeld H, Revilla C, Sergio A. Hypolycemic effect of *equisetum myriochaetumaerial* parts on streptozotocin diabetic rats. J Ethnopharmacol. 2000;72:129-133.

Chawla A, Chawla R, Jaggi S. Microvascular and macrovascular complications in diabetes mellitus: distinct or continuum? *Ind J Endocrinol and Metabol.* 2016;20(4):546-551.

Chiang JL, Kirkman MS, Laffel LM, Peters AL. Type 1 diabetes through the life span: a position statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2014;37:2034-2054.

Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, Huang Y, Fernandes JD, Ohlrogge AW, Malanda B. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract.* 2018;318:271–281.

Chuah Y, Basir R, Talib H, Tie T, Nordin N. Receptor for advanced glycation end products and its involvement in inflammatory diseases. *Int J Inflam.* 2013;45:1-15.

Coller B. A Brief History of Ideas About Platelets in Health and Disease, Editor: Michelson A. *Platelets.* 3. Baskı, Elsevier. USA: 2013, p:19-20.

Debili N, Kieffer N, Nakazawa M, Guichard J, Titeux M, Cramer E, Breton J, Vainchenker W. Expression of platelet glycoprotein Ib by cultured human megakaryocytes: ultrastructural localization and biosynthesis. *Blood* 1990;76:368-376.

Deeds C, Anderson M, Armstrong S, Gastineau DA, Hiddinga HJ, Jahangir A, Eberhardt N, Kudva C. Single dose streptozotocin induced diabetes: considerations for study design in islet transplantation models. *Lab Anim.* 2011;45(3):131-140.

Duke J, Bogenschutz-Godwin M, duCellier J, Duke P. Red Currant (*Ribes rubrum* L.) *Handbook of Medicinal Herbs*, 2nd ed. U.S.: CRC Press; 2002, p:615-615.

Edwards AB, Martin-Pérez L, Jimenez-Aspee F, Theoduloz C, Schmeda-Hirschmann G, Larrosa M. Anti-inflammatory effect of polyphenols from Chilean currants (*Ribes magellanicum* and *R. punctatum*) after in vitro gastrointestinal digestion on Caco-2 cells: Anti-inflammatory activity of in vitro digested Chilean currants. *J Funct Foods*. 2019;59:329-336.

Egemen G. Eksojen ve Endojen Kaynaklı Nitrik Oksitin Trombositlerde Oksidatif Strese ve Apoptoza Etkisi, M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2010, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. A Şener).

Elefantova K, Lakatos B, Kubickova J, Sulova Z, Breier A. Detection of the mitochondrial membrane potential by the cationic dye jc-1 in H1210 cells with massive overexpression of the plasma membrane abcb1 drug transporter. *Int J Mol Sci*. 2018; 7(7):19.

Feng C, Su S, Wang L, Wu J, Tang Z, Xu Y, Shu Q, Wang L. Antioxidant capacities and anthocyanin characteristics of the black-red wild berries obtained in Northeast China. *Food Chem*. 2016;204:150-158.

Ferreiro J, Angiolillo D. Diabetes and antiplatelet therapy in acute coronary syndrome. *Circulation* 2011;123:798-813.

Ferreiro J, Gomez-Hospital J, Angiolillo D. Platelet abnormalities in diabetes mellitus. *Diab Vasc Dis Res*. 2010;7(4):251-259.

Flaumenhaft R. Platelet secretion. Editör: Michelson A. *Platelets*. 3rd ed. San Diego: Elsevier/Academic Press; 2013, p:343-366.

Franz M, Evert A. Medical Nutrition Therapy for Diabetes Mellitus and Hypoglycemia of Nondiabetic Origin, Krause's Food and the Nutrition Care Process, Editör: Mahan K, Raymond L. 14rd ed. Canada: Elsevier; 2017, p:586-617.

Fritsma G. Platelet structure and function. Clin Lab Sci. 2015;28(2):125-131.

Fowler M. Microvascular and macrovascular complications of diabetes. Clinical Diabetes 2008;26:77-82.

Gachet C, Cazenave JP. ADP induced blood platelet activation: a review. J Exp Clin Hematol. 1991;33:347-358.

Gao, X. Ohlander M, Jeppsson N, Björk L, Trajkovski V. Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea buckthorn (*hippophae rhamnoides l.*) during maturation. J Agric Food Chem. 2000;48:1485-1490.

Garbacki N, Kinet M, Nusgens B, Desmecht D, Damas J. Proanthocyanidins from *Ribes nigrum* leaves, reduce endothelial adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1. J Inflamm. 2005;2:1-12.

Gavin L. New classification and diagnostic criteria for diabetes mellitus. Clin Cornerstone. 1998;1(3):1-12.

George J. Platelets. Lancet 2000;355:1531-1539.

George N, Shattil J. The clinical importance of acquired abnormalities of platelet function. N Engl J Med. 1991;324:27-38.

Gkaliagkousi E1, Ritter J, Ferro A. Platelet-derived nitric oxide signaling and regulation. Circ Res. 2007;101(7):654-62.

Goubareva I, Gkaliagkousi E, Shah A, Queen L, Ritter J, Ferro A. Age decreases nitric oxide synthesis and responsiveness in human platelets and increases formation of monocyteplatelet aggregates. Cardiovasc Res. 2007;75:793–802.

Gupta A, Raghubir R. Energy metabolism in the granulation tissue of diabetic rats during cutaneous wound healing. *Mol Cell Biochem.* 2005;270:71-7.

Gurnell M. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma and Hyperglycemic Agents in Type 2 Diabetes. Editör: Khan CR, Weir GC, King GL, Jacobson AM, Moses AC, Smith RJ. *Joslin's Diabetes Mellitus.* 14rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2005, p: 687-710.

Gülmez G, Algül KF, Şekerler T, Şen A, Şener A. Antitrombosit etkisi ile *Ribes rubrum* L. 2. Ulusal Marmara Eczacılık Kongresi, İstanbul, 2018, P75

Gülsün T, Şahin S. Development of type 1 and type 2 diabetes in rats using streptozotocin and nicotinamide/streptozotocin. *Hacettepe University J Faculty Pharmacy.* 2017;37(1):9-17.

Hacıoğlu B. Fibrinojen ve Ortalama Trombosit Hacminin Aterosklerozdaki Yerinin Diyabetik ve Diyabetik Olmayan Koroner Arter Hastalarında İrdelenmesi, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi İç Hastalıkları Kliniği, Tıpta Uzmanlık Tezi, 2012, İstanbul (Danışman: Uzm. Dr. E Altunoğlu).

Handelsman Y, Bloomgarden ZT, Grunberger G, Umpierrez G, Zimmerman RS, Bailey TS, Blonde L, Bray GA, Cohen AJ, Dagogo-Jack S, Davidson JA, Einhorn D, Ganda OP, Garber AJ, Garvey WT, Henry RR, Hirsch IB, Horton ES, Hurley DL, Jellinger PS, Jovanović L, Lebovitz HE, LeRoith D, Levy P, McGill JB, Mechanick JI, Mestman JH, Moghissi ES, Orzeck EA, Pessah-Pollack R, Rosenblit PD, Vinik AI, Wyne K, Zangeneh F. American association of clinical endocrinologists and American college of endocrinology –clinical practice guidelines for developing a diabetes mellitus comprehensive care plan–2015. *Endocr Pract.* 2015;21:1- 87.

Hartwig H, DeSisto M. The cytoskeleton of the resting human blood platelet: structure of the membrane skeleton and its attachment to actin filaments. *The J Cell Biol.* 1991; 112 (3):407–425.

Hartling L, Dryden D, Guthrie A, Muise M, Vandermeer B, Donovan L. Benefits and harms of treating gestational diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis for the U.S. preventive services task force and the National Institutes of Health Office of Medical Applications of Research. *Ann Internal Med.* 2013;159(2):123-124.

Harvey A, Champe C, Ferrer R. Çeviri Editörü: Ulukaya E. Lippincott's Biyokimya, 3. Baskı, Nobel Kitabevleri Ltd. Şti., İstanbul; 2007, s: 337-349.

Harvey A. Ferrer D. Biochemistry, Editör: Harvey A. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2011, s: 337-349.

Hirano M, Suoh N, Katsuya A, Terao R. Polyunsaturated fatty acid production by *Ribes rubrum* Calli. *J Ferment Bioeng.* 1997;83(6):608-611.

Holinstat M. Normal platelet function. *Cancer Metastasis Rev.* 2017;36(2):195–198.

Holt C. Niewiarowski S. Biochemistry of α -granule proteins. *Semin Hematol.* 1985;22:151.

Hong J, Rumbold A, Willson K, Crowther C. Borderline gestational diabetes mellitus and pregnancy outcomes. *BMC Pregnancy and Childbirth.* 2008;8:31.

Hostetter TH, Troy JL, Brenner BM. Glomerular hemodynamics in experimental diabetes mellitus. *Kidney Int.* 1981;19:410–415.

Hsu-Lint S, Berman L, Furrie BC, August D, Furrie B. A platelet membrane protein expressed during platelet activation and secretion: studies using a monoclonal antibody specific for thrombin-activated platelets. *J Biol Chem.* 1984;259:9121–9126.

Hunt JV, Smith CC, Wolff SP. Autoxidative glycosylation and possible involvement of peroxides and free radicals in ldl modification by glucose. Diabetes 1990;39:1420-1424.

International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups, Consensus Panel, International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. Diabetes Care 2010;33 (Suppl 3):676-682.

İrer S, Alper G. Deneysel diyabet modelleri. Türk Klinik Biyokimya Derg. 2004;2(3):127-136.

Kahkönen M, Hopia A, Vuorela H, Rauha J, Pihlaja K, Kujala T, Heinonen M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. J Agric Food Chem. 1999;47:3954-3962.

Kakouros N, Rade J, Kourliouros A, Resar J. Platelet function in patients with diabetes mellitus: from a theoretical to a practical perspective. Int J Endocrinol. 2011;2011:1-14.

Kalfa M, Aksu K. Anti-tümör nekrozis faktör- α tedavisi ve enfeksiyon. RAED Dergisi. 2011;3(3-4):49-56.

Kendir G. Türkiye’de Doğal Olarak Yetişen *Ribes L.* Türleri Üzerinde Farmasötik Botanik Yönünden Araştırmalar, A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2012, Ankara (Danışman: Prof. Dr. A Güvenç).

Keskin Ö, Balcı B. Diabetes mellitus ve kardiyovasküler komplikasyonlar. Kafkas J Med Sci. 2011;1(2):81-85.

Konic' A, Šavikin K, Zdunic' G, Jankovic T, Juranic Z, Menkovic' N., Stankovic' I. Biological activity and chemical composition of different berry juices. Food Chem. 2011;125(4):1412–1417.

Krause M, Rodrigues-Krause J, O'Hagan C, De Vito G, Boreham C, Susta D, Newsholme P, Murphy C. Differential nitric oxide levels in the blood and skeletal muscle of type 2 diabetic subjects may be consequence of adiposity: a preliminary study. Metab Clin Exp. 2012; 61(11):1528-1537.

Lakhtakia R. The history of diabetes mellitus. Sultan Qaboos University Med J. 2013;13:368-370.

Lee DH, Blomhoff R, Jacobs DR Jr. Is serum gamma glutamyltransferase a marker of oxidative stress? Free Radic Res. 2004;38(6):535-539.

Lee J, Yi H, Yang J, Shin J, Kwon J, Kim C. Characterization of diabetic rats and pharmacodynamics of insulin formulations. Biosci Biotechnol Biochem. 2003;67(11):2396-401.

Lee Y, Pham T, Bae M, Hu S, Neill E, Chun O, Han M, Koo S, Park Y, Lee J. Blackcurrant (*Ribes nigrum*) prevents obesity-induced nonalcoholic steatohepatitis in mice. Obesity 2019;27:112-120.

Luzak B, Boncler M, Rywaniak J, Dudzinska D, Rozalski M, Krajewska U, Balcerczak E, Podsedek A, Redzyna M, Watala C. Extract from *Ribes nigrum* leaves *in vitro* activates nitric oxide synthase (enos) and increases CD39 expression in human endothelial cells. J Physiol Biochem. 2014;70:1007–1019.

Macit S, Akbulut G. Diabetes mellitus ve oksidatif stres. Bes Diy Derg. 2015;43:1:59-65.

Mario UD, Pugliese G. Pathogenetic mechanisms of diabetic microangiopathy. *International Congress Series* 2003;1253:171-182.

Mejia E, Johnson M. Anthocyanins from berries: chemistry and roles in inflammation and diabetes, nutraceuticals and fundamental foods. *Encyclopedia of Life Support Systems*. United Kingdom: 2015, s:226- 241.

Melchinger H, Jain K, Tyagi T, Hwa J. Role of platelet mitochondria: life in a nucleus-free zone. *Front Cardiovasc Med*. 2019;6(153):1-11.

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

Michelson AD. Flow cytometry: a clinical test of platelet function. *Blood* 1996;87:4925- 4936.

Mizuno C, Chittiboyina G, Kurtz W, Pershadsingh A, Avery A. Type 2 diabetes and oral antihyperglycemic drugs. *Curr Med Chem*. 2008;15:61-74.

Nagarchi K, Ahmed S, Sabus A, Saheb H. Effect of streptozotocin on glucose levels in albino wister rats. *J Pharm Sci Res*. 2015;7(2):67-69.

National Diabetes Data Group. Classification and diagnosis of diabetes and other categories of glucose intolerance. *Diabetes* 1979;28:1039-1057.

NCD Risk Factor Collaboration. Worldwide trends in diabetes since 1980: a pooled analysis of 751 populationbased studies with 4.4 million participants. *The Lancet* 2016;387:1513-1530.

Ott C, Jacobs K, Haucke E, Santos A, Grune T, Simm A. Role of advanced glycation end products in cellular signaling. *Redox Biol*. 2014;2:411–429.

Öntürk H, Özbek H. Deneysel diyabet oluşturulması ve kan şeker seviyesinin ölçülmesi. Genel Tıp Derg. 2007;17(4):231-236.

Özata M, Yöntem A. Endokrinoloji Metabolizma ve Diabet, 1.Baskı. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık; 2006, s:275-427.

Özdemir İ, Hocaoğlu Ç. Tip 2 diabetes mellitus ve yaşam kalitesi: bir gözden geçirme. Goztepe Tıp Dergisi 2009;24(2):73-78.

Panico AM, Garufi F, Nitto S, Di Mauro R, Longhitano LC, Magri G, Catalfo A, Serrentino ME, De Guidi G. Antioxidant activity and phenolic content of strawberry genotypes from *Fragaria x ananassa*. Pharm Biol. 2009;47:203-208.

Pauzi N, AA M, Fakurazi S, Arulselvan P, Ahmad Z. Preliminary study of the optimization of protocol for development of type 2 diabetic model in rats. Indian J SciTechnol. 2013;6(7):4960- 4965.

Peng Y. Comparative analysis of the biological components of pomegranate seed from different cultivars. Int J Food Properties. 2019;22(1):784-794.

Pereira A, Oliveira L, Lopes T, Baldissarelli J, Palma T, Soares M, Spohr L, Morsch V, Andrade C, Schetinger M, Spanevello R. Effect of gallic acid on purinergic signaling in lymphocytes, platelets, and serum of diabetic rats. Biomed Pharmacother. 2018;101: 30–36.

Perelman A, Wachtel C, Cohen M, Haupt S, Shapiro H, A Tzur A. JC-1: alternative excitation wavelengths facilitate mitochondrial membrane potential cytometry. Cell Death Dis. 2012;3:1-7.

Phosrithong N, Nuchtavorn N. Antioxidant and anti-inflammatory activities of clerodendrum leaf extracts collected in Thailand. EuJIM. 2016;8(3):281-285.

Pinto M, Kwon Y, Apostolidis E, LAjolo F, Genovese M, Shetty K. Evaluation of red currants (*Ribes rubrum* L.), black currants (*Ribes nigrum* L.), red and green gooseberries (*Ribes uva-crispa*) for potential management of type 2 diabetes and hypertension using *in vitro* models. J Food Biochem. 2010;34:639-660.

Piljac-Žegarac J, Šamec D. Antioxidant stability of small fruits in postharvest storage at room and refrigerator temperatures. Food Res Int. 2011;44(1):345–350.

Pushparaj P, Tan C, Tan B. Effects of *Averrhoa bilimbi* leaf extract on blood glucose and lipids in streptozotocin-diabetic rats. J Ethnopharmacol. 2000;72:69–76.

Ramakrishna R, Sarkar D, Schwarz P, Shetty K. Phenolic linked anti-hyperglycemic bioactives of barley (*hordeum vulgare* l.) cultivars as nutraceuticals targeting type 2 diabetes. Ind Crop Prod. 2017;107:509-517.

Rink T, Sage S. Calcium signaling in human platelets. Annu Rev Physiol. 1990; 52:431-449.

Robertson P, Harmon J, Tran O, Poitout V. B-Cell Glucose toxicity, lipotoxicity, and chronic oxidative stress in type 2 diabetes. Diabetes 2004;53:119-119.

Salci M, Meirelles B, Silva D. Prevention of chronic complications of diabetes mellitus according to complexity. Rev Bras Enferm. 2017; 70(5):996-1003.

Saleem F, Sarkar D, Ankolekar C, Shetty K. Phenolic bioactives and associated antioxidant and anti-hyperglycemic functions of select species of apiaceae family targeting for type 2 diabetes relevant nutraceuticals. Ind Crop Prod. 2017;107:518–525.

Saliu J, Oboh G, Omojokun O, Rocha J, Schetinger M, Guterries J, Stefanello N, Carvalho F, Schmatz R, Morsch V, Boligon A. Effect of dietary supplementation of

padauk (*pterocarpus soyauxii*) leaf on high fat diet/streptozotocin induced diabetes in rats' brain and platelets. *Biomed Pharmacother.* 2016;84:1194–120.

Santilli F, Simeone P, Liani R, Davi G. Platelets and diabetes mellitus. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2015;120:28–39.

Šarić-Kundalić B, Dobeš C, Klatte-Asselmeyer V, Saukel J. Ethnobotanical study on medicinal use of wild and cultivated plants in middle, south and west Bosnia and Herzegovina. *J Ethnopharmacol.* 2010;131(1):33-55.

Sasaki T, Lia W, Zaïke S, Asadab Y, Lic Q, Ma F, Zhang Q, Koike K. Antioxidant lignoids from leaves of *Ribes nigrum*. *Phytochemistry* 2013;95333–340.

Satman I, Omer B, Tutuncu Y, Kalaca S, Gedik S, Dincçag N, Karsidag K, Genc S, Telci A, Canbaz B, Turker F, Yilmaz T, Cakir B, Tuomilehto J, TURDEP-II Study Group. Twelve-Year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *Eur J Epidemiol.* 2013;28(2):169-180.

Schini VB, Auger C, Kim JH, Etienne-Selloum N, Chataigneau T. Nutritional improvement of the endothelial control of vascular tone by polyphenols: role of NO and EDHF. *Pflugers Arch.* 2010;459:853–862.

Shattil J, Michael C, James A.H. Detection of activated platelets in whole blood using activation dependent monoclonal antibodies and flow cytometry. *Blood* 1987;70:307-315.

Siess W. Molecular mechanisms of platelet activation. *Physiol Rev.*1989;69:58-178.

Siewiera K, Kassassir H, Talar M, Wieteska L, Watala C. Higher mitochondrial potential and elevated mitochondrial respiration are associated with excessive activation of blood platelets in diabetic rats. *Life Sci.*2016;148:293–304.

Sivandzade F, Bhalerao A, Cucullo L. Analysis of the mitochondrial membrane potential using the cationic jc-1 dye as a sensitive fluorescent prob. Bio Protoc. 2019;9(1):1-13.

Sivalingam G, Sriram N. Anti-diabetic activity of *Ribes nigrum* fruit extract in alloxan induced diabetic rats. Int J Pharm Sci Res. 2013;4(3):1196-1201.

Sm A, Azadbakht M, Ahangar N. Antidiabetic activity of aqueous fruit extract of *Ribes biebersteinii* in streptozotocin induced diabetic rats. J Med Plants. 2018;17: 77-80.

Stolla M, Li D, Woulfe S. enhanced platelet activity and thrombosis in a murine model of type 1 diabetes are partially insulin-like growth factor 1-dependent and phosphoinositide 3-kinase-dependent. J Thromb Haemost. 2013;11:919–929.

Šumic Z, Vakula A, Tepic A, Cakarevic J, Vitas J, Pavlic B. Modeling and optimization of red currants vacuum drying process by response surface methodology (RSM). Food Chem. 2016;203:465–475.

Szasz G. A kinetic photometric method for serum -glutamyl transpeptidase. Clin Chem. 1968;15:124-135.

Szkudelski T. The Mechanism of alloxan and streptozotocin action in b cells of the rat pancreas. Physiol. Res. 2001;50:536-546.

Szkudelski T. Streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. Exp Biol Med. 2012;237(5):481-90.

Şenel S. Tip 2 Diyabetes Mellituslu Hastalarda Bazal Trombosit Aktivasyonunun Glisemik Kontrol ile İlişkisi, İnönü Ü. Tıp Fakültesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, 2005, Malatya (Danışman: Y.Doç.Dr. İ Şahin).

Şener A, Egemen G, Çevik O, Demirel G, Rabus S, Özsavcı D. *In Vitro* effects of nitric oxide donors on apoptosis and oxidative/nitrative protein modifications in a dp-activated platelets. *Hum Exp Toxicol*. 2013;32(3):223-225.

Şener A, Yardımcı T. Activity determination, kinetic analyses and isoenzyme 1-identification of gamma glutamyltransferase in human neutrophils. *J Biochem Mol Biol*. 2005;38(3):343-349.

Tabart J, Franck T, Kevers C, Pincemail J, Serteyn D, Defraigne JO, Dommes J. Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Ribes nigrum* extracts. *Food Chem*. 2012;131: 1116-1122.

The Expert Committee on The Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003;26 (Suppl 1):5-20.

Thon J, Italiano J. Platelets: production, morphology and ultrastructure, antiplatelet agents. *Handbook Exp Pharmacol*. 2012;210:3-22.

Tim K. *Ribes rubrum*, Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants. Fruits. Springer. Dordrecht; 2012,4, p: 43-50.

Türkiye Diyabet Vakfı. TURKDİAB Diyabet tanı ve tedavi rehberi 2019, Editör: Balcı K., 9. Baskı. İstanbul: Armoni Nüans Baskı; 2019, s: 96-10.

Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. Diabetes Mellitus ve komplikasyonlarının tanı, tedavi ve izlem kılavuzu 2019. 12. Baskı. Ankara: TEMD Yayınları; 2019, s: 87- 94.

Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. Diabetes Mellitus ve komplikasyonları tanı, tedavi ve izlem kılavuzu. 10. Baskı. Ankara: BAYT Bilimsel Araştırmalar Basın Yayın; 2018, s: 77-88.

Ulu M., Yüksel Ş. İnsulin direnci. *Kocatepe Tıp Derg.* 2015;16:238- 243.

Vara D, Campanella M, Pula G. The novel NOX inhibitor 2-acetylphenothiazine impairs collagen-dependent thrombus formation in a gpv1-dependent manner. *Br J Pharmacol.* 2013;168(1):212-224.

Vinik A, Erbas T, Park T, Nolan R, Pittenger G. Platelet dysfunction in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2001;24:1476–1485.

Vuorinen A, Kalpio M, Linderborg K, Hoppula K, Karhu S, Yang B, Kallio H. Triacylglycerol biosynthesis in developing *Ribes nigrum* and *Ribes rubrum* seeds from gene expression to oil composition. *Food Chem.* 2016;196:976–987.

Waller P, Bernes, G, Thamsborg M, Sukura A, Richter H, Ingebrigtsen K, Höglund J. Plants as de-worming agents of livestock in the nordic countries: historical perspective, popular beliefs and prospects for the future. *Acta Vet. Scand.* 2001;42(1):31-44.

Wang C, Hess C, Hiatt W, Goldfine A. Clinical update: cardiovascular disease in diabetes mellitus atherosclerotic cardiovascular disease and heart failure in type 2 diabetes mellitus– mechanisms, management, and clinical considerations. *Circulation* 2016;133:2459–2502.

Warburg O, Christian W. Isolierung und kristallisation des gärungsferments enolase. *Biochem Z.* 1942;310:384-421.

Wasiluk A. Markers of platelets activation, Cd 62p and soluble p-selectin in healthy term neonates. *J Perinat Med.* 2004;32(6):514-515.

Weyer C, Maggs DG. Amylin replacement with pramlintide in type 1 and type 2 diabetes: a physiological approach to overcome barriers with insulin therapy. *Curr Pharm Des.* 2001;7:1353-1373.

White G. Medich giant platelet disorder: a unique alpha granule deficiency structural abnormalities. *Platelets* 2004;15(6):345–353.

White G. Platelet Structure. Editor: Michelson A. *Platelets*. 3rd ed. USA: Elsevier; 2013, p:117–144.

Willoughby S, Holmes A, Loscalzo J. Platelets and cardiovascular disease. *Eur J Cardiovasc Nurs*. 2002;1:273–288.

Woods JR, Canavaugh JL, Narkus EP, Plessinger MA, Miller RK. The effect of labor on maternal and fetal vitamins C and E. *Am J Obstet Gynecol*. 2002;185: 5-10.

World Health Organization. Global reports on diabetes. WHO Library Cataloguing in Publication Data. 2016.

Wu J, Yan L. Streptozotocin-induced type 1 diabetes in rodents as a model for studying mitochondrial mechanisms of diabetic β cell glucotoxicity. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2015;8:181-188.

World Health Organization. Classification of diabetes mellitus 2019. WHO Library Cataloguing. 2019, p:1-36.

Vuorinen A, Kalpio M, Linderborg K, Hoppula K, Karhu S, Yang B, Kallio H. Triacylglycerol biosynthesis in developing *Ribes nigrum* and *Ribes rubrum* seeds from gene expression to oil composition. *Food Chem*. 2016;196: 976–987.

Xianli Wu J. Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of ribes, aronia, and sambucus and their antioxidant capacity. *J Agric Food Chem*. 2004;52(26):7846-7856.

Yalçın T, Rakıcıoğlu N. Diyetset etmenler, tip 2 diyabet ve inflamasyon. Sakarya Tıp Derg. 2018;8(4):686-694.

Yardımcı T, Yaman A, Ulutin ON. Characterization of platelet gamma glutamyl transferase and its alteration in cases of atherosclerosis. Clin App Thromb Hemostas. 1995;1:103-113.

Yıldırım A, Şen A, Doğan A, Bitis L. Antioxidant and anti-inflammatory activity of capitula, leaf and stem extracts of tanacetum ciliatum (boiss) grierson IJSM. 2019;6 (2):211-222.

Yılmaz E. Diyabet Ve Yüksek Yağlı Diyetin Sıçanlarda Aldo-Keto Redüktaz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi, A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2011, Ankara (Danışman Doç. Dr. N Evcimen).

Yun S, Sim E-H, Goh R-Y, Park J-I, Han J-Y. Platelet activation: the mechanisms and potential biomarkers. Biomed Res Int. 2016;2016:s:1-5.

Zhang R, Zeng Q, Deng Y, Zhang M, Wei Z, Zhang Y, Tang X. Phenolic profiles and antioxidant activity of litchipulp of different cultivars cultivated in Southern China. Food Chem. 2013;136:1169-1176.

Zou Y, Chang C, Gu Y, Qian Y. Antioxidant activity and phenolic compositions of lentil (lens culinaris var. morton) extract and its fractions. J Agric Food Chem. 2011; 59:2268-2276.

Zubin P, Ronald G, Pamela K. Definition, classification and diagnosis of diabetes, prediabetes and metabolic syndrome. Can J Diabetes. 2018;42:10-15.

Zöld E, Komlósi A, Ülkei T, Fogarasi E, Croitoru M, Fülöp I, Domokos E, Ștefănescu R, Varga E. Extractability of polyphenols from black currant, red currant and gooseberry and their antioxidant activity. *Acta Biol Hung.* 2018;69 (Suppl 2):156-169.



EKLER

EK-1. Uluslararası Kongre Kabul Yazısı ve Bildiri Özeti



2. ULUSLARARASI BESLENME OBEZİTE VE TOPLUM SAĞLIĞI KONGRESİ

26-27 Aralık 2019 Hilton Hotel Zeytinburnu / İSTANBUL

Sayın Katılımcı(lar),

Yukarıda bilgileri bulunan kongremize göndermiş olduğunuz "*Gizem Gülmez, Ali Şen, Turgut Şekerler, Azize Şener*" - *INVESTIGATION OF ANTIDIABETIC, ANTI-INFLAMMATORY AND ANTIPLATELET POTENTIAL OF RIBES RUBRUM L.*" yazar ve konu başlıklı bildirileriniz POSTER sunum olarak kongremizde sunulmak üzere kabul edilmiştir. İlginize teşekkür ederiz. Saygılarımızla...

Prof. Dr. Çetin YAMAN

Kongre Başkanı

POSTER SUNUM BİLDİRİLER

INVESTIGATION OF ANTIDIABETIC, ANTI-INFLAMMATORY AND ANTIPLATELET POTENTIAL OF RIBES RUBRUM L

Gizem GÜLMEZ, Ali ŞEN, Turgut ŞEKERLER, Ajşe ŞENER

Turkey

Abstract: **Objective:** Prothrombotic and inflammatory status plays an important role in the development of cardiovascular complications of type-2 diabetes mellitus (T2DM) and plants containing biologically active ingredients may be useful for the prevention and management of said complications. The purpose was to investigate the anti-inflammatory, antidiabetic and antiplatelet potential of extracts obtained from fruits of *Ribes rubrum* L. **Materials and Methods:** To evaluate the in vitro anti-diabetic and the anti-inflammatory effects of the extracts (ethanol, 50% ethanol and water), their effects on inhibition of α -amylase, α -glucosidase and lipoxygenase enzymes were investigated. In addition, in vitro antioxidant activities and amounts of total phenolic and flavonoid of extracts were examined. For in vivo study, a streptozotocin-induced experimental diabetes model was created in rats. After developed hyperglycemia, the treatment group received ethanol extract of *Ribes rubrum* (100 mg/kg/day) for 15 days. Plasma glucose levels, tumor necrosis factor- α (TNF- α), platelet P-selectin levels were examined. **Results:** In the antidiabetic and anti-inflammatory activities assays, the IC50 values of the tested three extracts for α -amylase, α -glucosidase and lipoxygenase were found to be 130 μ g/ml, 170 μ g/ml, 181 μ g/ml; 189 μ g/ml, 227 μ g/ml, 354 μ g/ml; 21 μ g/ml, 18 μ g/ml, 30 μ g/ml respectively. Plasma TNF- α ($p<0.05$) and platelet P-selectin levels ($p<0.05$) significantly decreased, while plasma glucose level moderately decreased in the treatment group. **Conclusion:** The results show that fruits of *Ribes rubrum* may provide support for the prevention/treatment of complications of T2DM by demonstrating its the antithrombotic, anti-inflammatory potential.

Keywords: Anti-inflammatory Activity, Antiplatelet Activity, Diabetes Mellitus, *Ribes Rubrum*

EK-2. Etik Kurul Onayı



MARMARA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

PROJE ONAY FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	99.2018.mar	ÇALIŞMA: TEZ		
	PROJE ADI	Ribes Rubrum L. Meyvesinin Antidiyabetik ve Antitrombosit Etkisinin İncelenmesi			
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ ADI	Prof. Dr. Azize ŞENER			
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	DEHAMER			
	DESTEKLEYİCİ				
KARAR BİLGİLERİ	TARİH: 05. 11. 2018 Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekece, amac, yaklaşıp ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığı için kurulumuzca onaylanmasına oy birliği ile karar verilmiştir. Onay sonrasında yapılacak her türlü proje değişiklikleri (katılımcılar, başlık vb.) veya protokol değişikliklerinin Etik Kurula bildirilerek proje onayının yenilenmesi gerekmektedir.				
ETİK KURUL BİLGİLERİ					
ÇALIŞMA ESASI	Deney hayvanları ile yapılacak olan bilimsel araştırma, test, sağlık hizmetleri uygulamaları ve eğitim-öğretim gibi temel etkinliklerde kullanılan yöntem ve materyaller ile ilgili etik standartları gözetmek, etik ilkeler doğrultusunda görüş bildirmek, araştırma önerilerini incelemek ve sertifikası olmayanların deney hayvanı kullanmalarını engellemektir.				
ÜYELER					
Ünvanı/ Adı/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu/ Ek Üyeliği	Onaylanan Proje ile İlişkisi	Toplantıya Katılım	İmza
Prof.Dr. Göksel ŞENER	Farmakoloji	M.Ü. Eczacılık Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Başkanı	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Levent KABASAKAL	Farmakoloji	M.Ü. Eczacılık Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Ayşen YARAT	Biyokimya	M.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Serap ŞİRVANCI	Histoloji Embriyoloji ABD	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Rezzan GÜLHAN	Farmakoloji	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Doç.Dr. Gürkan SERT	Tıp Tarihi ve Etik	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Vet. Dr. Dilek ÖZBEYLİ	Veteriner Hekim	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Bio. Arif GÜMÜŞ	Biyoloji	Sivil Toplum Kuruluşu Üyesi ve Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var Yok	Evet Hayır	
Cihanşah MURATOĞLU	Serbest Danışmanlık	Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var Yok	Evet Hayır	

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Gizem	Soyadı	GÜLMEZ
Doğum Yeri	İstanbul	Doğum Tarihi	27.02.1994
Uyruğu	Türk	Tel	+90 545 920 72 69
E-mail	ggizemgulmez@gmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık		
Yüksek Lisans		
Lisans	Marmara Üniversitesi	2016
Lise	Şehremini Anadolu Lisesi	2012

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
Diyetisyen	Gentest	2018-2019
Diyetisyen	Özel Bahat Hospital	2017-2018

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İyi	İyi	İyi	İyi

Yabancı Dil Sınav Notu #									
YDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE	YÖKDİL
									71,25

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	80,28		
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	Iyi
Adobe Photoshop Cs6	Zayıf

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendiriniz

