



**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ (TIP) ANABİLİM DALI
TAN-YL-2015-0001**

**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA
MELATONİN UYGULAMASININ DUODENUM
ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN MORFOLOJİK OLARAK
İNCELENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Eda Duygu İPEK

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Hulki BAŞALOĞLU**

AYDIN-2015

**T.C
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ (TIP) ANABİLİM DALI
TAN-YL-2015-0001**

**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA
MELATONİN UYGULAMASININ DUODENUM
ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN MORFOLOJİK OLARAK
İNCELENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Eda Duygu İPEK

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Hulki BAŞALOĞLU**

AYDIN-2015

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Eda Duygu İPEK tarafından hazırlanan ‘Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda Melatonin Uygulamasının Duodenum Üzerindeki Etkisinin Morfolojik Olarak İncelenmesi’ başlıklı tez, 29.09.2015 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Unvanı, Adı ve Soyadı :

Üniversitesi :

İmzası:

(Başkan)

Prof. Dr. Hulki BAŞALOĞLU

Adnan Menderes Üniversitesi

Prof. Dr. Sacide KARAKAŞ

Adnan Menderes Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Gökşin Nilüfer YONGUÇ

Dokuz Eylül Üniversitesi



Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun Sayılı kararıyla..... tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ahmet Ceylan

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Diabetes Mellitus, insülin eksikliği ya da insülin etkisindeki defektler nedeniyle organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamadığı, sürekli tıbbi bakım gerektiren, kronik ve komplike, hiperglisemi ile karakterize bir metabolizma hastalığıdır. Diyabet komplikasyonları, temel olarak glikoz toksikasyonu nedeniyle metabolizma sonucu oluşan reaktifler ve antioksidan bileşikler arasındaki dengenin bozulması sonucunda meydana gelmektedir. Sağlıklı bireylerde antioksidanlar ve serbest radikaller arasında hassas bir denge vardır. Hiperglisemide glikoz ototoksikasyonu ve protein glikolizasyonu ile serbest radikallerin oluşum hızının artması bu dengeyi bozar ve bütün biyolojik moleküllerde dolayısıyla tüm doku ve organlarda oksidatif strese neden olur. Kan glikoz konsantrasyonunun kontrolü halen tam olarak aydınlatılmamış olmakla birlikte, birçok doku ve organın nöroendokrin etkileşimleri sonucu gerçekleşmektedir. Bu etkileşimler içerisinde beyin-bağırsak aksisi önem kazanmaktadır. Sindirim sistemi organları içerisinde özellikle ince bağırsaklar, sindirime uğrayan besin maddelerinin lumenlerinden geçişi sırasında salgıladıkları bir takım hormonlarla pankreastan insülin salgılanmasını uyarırlar. Bu hormonların varlığının bilinmesi ile, cerrahi olarak ‘Duodenal Switch’ operasyonu geliştirilmiştir. Bu operasyonla sindirim sisteminde gıda geçiş yolu değiştirilerek diyabetli hastalarda insülin salınımının, gıda alımından sonra daha erken uyarılması sağlanır. Bu iletişime dayanarak, farklı bir bakış açısı ile Tip 1 diyabet hastalığında pankreasın insülin salgılayabilme işlevini yerine getirebilmesinin önemi kadar, ince bağırsaklardan insülin salgılanma uyarımını alması da aynı derecede gereklidir diyebiliriz. Bu bağlamda Tip 1 diyabet hastalığında gastrointestinal sistem sağlığı, diyabetin gastrointestinal sistemi nasıl ve ne derece etkilediği önem kazanmaktadır. Nitekim pek çok Tip 1 diyabet hastası gastrointestinal sistem şikayetlerinden yakınmaktadır.

Pineal bezin temel hormonu olan ve aynı zamanda çok daha fazla miktarlarda bağırsaklardan da sentezlenen melatonin antioksidan özellikte olmasının yanı sıra endojen antioksidan sistemi aktive etme özelliğine de sahiptir. Bunun yanı sıra immun sistem üzerine de olumlu etkileri gösterilmiştir. Melatonin molekül yapısının küçük olması ve yüksek lipofilikliğinden dolayı tüm biyolojik membranlardan kolayca geçebilir, böylece hücrenin bütün yapılarına ulaşarak, hücreyi oksidatif strese karşı hasardan koruyabilir. Melatonin’in diyabet hastalığında pankreas ve karaciğer üzerine olan olumlu etkisi birçok

çalışma ile gösterilmiştir. Ayrıca bağırsaklarda sentezlenen melatoninin yerel etkileri henüz tam olarak aydınlatılamamış olmasına rağmen, duodenum'un lumenine melatonin uygulanmasının pankreas'ın bazı salgılarını arttırıcı etkisi olduğu ve duodenum mukozasında sinirsel yolla bikarbonat salgısını arttırarak, mide asidine karşı duodenum mukozasının korunmasını desteklediği gösterilmiştir. Ciddi bir metabolik hastalık olan diyabetin patofizyolojisi yapılan pek çok araştırmaya rağmen henüz tam anlamı ile aydınlatılabilmemiş değildir. Melatonin ile de ilgili yapılmış birçok çalışma olmasına rağmen, bu biyolojik molekülün etki ettiği organ sayısının fazla olması, bu molekülün çeşitli etkilerinin aydınlatılmasında bu organ ve dokular arasındaki ilişkileri önemli kılmıştır. Vücudun tüm organ ve sistemlerini etkileyen, komplikasyonlarının temel sebebi glikoz toksikasyonu nedeniyle gelişen oksidatif strese dayalı olan diyabet hastalığında, bilinen en güçlü antioksidan melatoninin olumlu etkileri olabileceği düşüncesi, diyabetin patofizyolojisi üzerine melatoninin etkilerinin araştırılmasını önemli kılmıştır. Aynı zamanda bağırsaklardan da sentezlenebiliyor olması ve insülin salınımında gastrointestinal sistemin önemi de birlikte düşünüldüğünde, melatoninin diyabet hastalığında gastrointestinal sistem üzerine etkisinin araştırılması hem diyabet hastalığının hem de melatoninin etkilerini daha ileri düzeyde anlamaya ışık tutabilir.

Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı kapsamında yapılan 12019 no'lu bu projenin amacı ratlarda oluşturulan deneysel Tip 1 diyabet modelinde, melatoninin duodenum üzerine olan morfolojik etkilerini incelemektir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KABUL VE ONAY	i
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xv
RESİMLER DİZİNİ.....	xvi
1. GİRİŞ	1
1.1. Diabetes Mellitus Hakkında Genel Bilgiler.....	1
1.2. Diabetes Mellitus'ta Sınıflandırma.....	4
1.2.1 Tip 1 Diabetes Mellitus.....	6
1.2.2. Tip 2 Diabetes Mellitus.....	8
1.2.3. Spesifik Nedenlere Bağlı Diabetes Mellitus.....	9
1.2.4. Gestasyonel Diabetes Mellitus (Gebelik Diyabeti).....	11
1.2.5. Prediyabet (Bozulmuş Glikoz Toleransı, Impaired Glucose Tolerance; IGT).....	13
1.3. Diabetes Mellitus'un Patofizyolojisi.....	13
1.3.1. Pankreasın Endokrin ve Ekzokrin İşlevleri.....	13
1.3.2. İnsülin Hormonu, Metabolik Önemi ve İşlevleri.....	15
1.3.3. İnsülin Salgılanmasında ve/veya Etkisinde Görülen Defektler Nedeni ile Değişen Enerji Metabolizması ve Diyabet Gelişimi.....	17
1.3.4. Diyabet Gelişiminde Genetik Faktörlerin Rolü.....	21
1.3.5. Diyabet Gelişiminde Çevresel Faktörlerin Rolü.....	22
1.4. Diyabette Tanı Yöntemleri.....	23
1.4.1. Diyabet Tanısında Plazma Glikoz Seviyesinin Ölçümü.....	24
1.4.2. Diyabet Tanısında Hemogloblin A _{1c} Değerlendirmesi.....	24
1.5. Diyabetin Komplikasyonları.....	25
1.5.1. Diyabetin akut komplikasyonları.....	25
1.5.1.1. Diyabetik Ketoasidoz (DKA).....	25
1.5.1.2. Hiperglisemik hiperozmolar durum (HHD).....	27
1.5.1.3. Diyabetik Laktik Asidoz.....	28
1.5.1.4. Hipoglisemi.....	29

1.5.2. Diyabetin kronik komplikasyonları.....	29
1.5.2.1. Makrovasküler komplikasyonlar.....	29
1.5.2.2. Mikrovasküler komplikasyonlar.....	32
1.5.2.2.1. Diyabetik Retinopati.....	32
1.5.2.2.2. Diyabetik Nefropati.....	32
1.5.2.2.3. Diyabetik Nöropati.....	33
1.5.2.3. Diyabette Gastrointestinal Sistem Tutulumu.....	34
1.5.2.3.1. İnce Bağırsaklar Hakkında Genel Bilgiler.....	36
1.5.2.3.1.1. Duodenum.....	37
1.5.2.3.1.1.1. Duodenum'un Makroskopik Anatomisi.....	37
1.5.2.3.1.1.2. Duodenum Histolojisi (Mikroskopik Anatomi).....	39
1.5.2.3.1.1.2.1. Tunica Mucosa.....	39
1.5.2.3.1.1.2.2. Tunica Submucosa.....	41
1.5.2.3.1.1.2.2.1. Brunner Bezleri.....	41
1.5.2.3.1.1.2.3. Tunica Muscularis.....	44
1.5.2.3.1.1.2.4. Tunica Adventitia (Serosa).....	44
1.5.2.4. Diyabette Oksidatif Strese Karşı Antioksidan Kullanımı.....	45
1.5.2.4.1. Melatonin.....	47
1.5.2.4.1.1. Melatoninin Keşfi ve Melatonin Hakkında Genel Bilgiler.....	47
1.5.2.4.1.2. Melatoninin Kimyasal Yapısı ve Sentez Mekanizması.....	48
1.5.2.4.1.3. Biyolojik Sistemlerde Melatoninin Fonksiyonel Önemi.....	50
1.5.2.4.1.4. Melatoninin Diyabet ile İlişkilendirilen İşlevleri.....	52
1.5.2.5. Deneysel Diyabet.....	54
1.5.2.5.1. Alloksan.....	55
1.5.2.5.2. Streptozotosin.....	56
2. GEREÇ ve YÖNTEM.....	57
2.1. Deney Hayvanlarının Temin Edilmesi ve Bakımı.....	57
2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması.....	57
2.3. Deney Hayvanlarında Deneysel Diyabetin Oluşturulması.....	57
2.4. Melatonin Uygulama Prosedürü.....	58
2.5. Deneyin Sonlandırılması ve Doku Örneklerinin Alınması.....	59
2.5.1. Duodenum Doku Örneklerinin İşlenmesi.....	60
2.5.1.1. Hematoksilen Eozin Boyama Metodu.....	60
2.5.1.2. Periodic Acid Schiff (PAS) Boyama Metodu.....	61

2.5.1.3. Alcian Blue pH 2,5 (AB pH 2,5) Boyama Metodu.....	62
2.5.1.4. Alcian Blue pH 2,5 - Periodic Acid Schiff Boyama Metodu (AB pH 2,5 – PAS).....	63
2.5.2. Histometrik Analiz.....	64
2.5.2.1. Villus Uzunluğu Ölçümü.....	65
2.5.2.2. Villus Genişliği Ölçümü.....	65
2.5.2.3. Kripta Derinliği Ölçümü.....	65
2.5.2.4. Kripta Çapının Hesaplanması.....	66
2.5.2.5. Bağırsak Dış Çapının Hesaplanması.....	67
2.5.2.6. Goblet Hücre Sayısının Belirlenmesi.....	67
2.5.2.7. Tunica Muscularis Kalınlığı Ölçümü.....	67
2.5.2.8. Arter ve Ven Çaplarının Hesaplanması.....	68
2.5.2.9. Brunner Bezlerinin Çaplarının Hesaplanması.....	68
2.5.3. Histokimyasal Değerlendirme.....	70
2.5.4. Hemogloblin A _{1c} Analizi.....	71
3. BULGULAR.....	72
3.1. Uygulama Süresince ve Deneyin Sonlandırılma Aşamasında Hayvanlar Üzerinde Yapılan Gözlemler.....	72
3.2. İstatiksel Analiz.....	75
3.2.1. Kan Glikoz Değeri, Vücut Ağırlığı Yüzdde Değişimi ve Hemogloblin A _{1c} Bulgularının İstatiksel Analiz Bulguları.....	76
3.2.2. Histometrik Ölçümlerin İstatiksel Analiz Bulguları.....	80
3.2.2.1. Villus Uzunluğu Ölçümlerinin İstatiksel Analiz Bulguları.....	80
3.2.2.2. Villus Genişliği Ölçümlerinin İstatiksel Analiz Bulguları.....	80
3.2.2.3. Kripta Derinliği Ölçümlerinin İstatiksel Analiz Bulguları.....	80
3.2.2.4. Hesaplanan Kripta Çapı Değerlerinin İstatiksel Analiz Bulguları.....	81
3.2.2.5. Tunica Muscularis Kalınlığı Ölçümlerinin İstatiksel Analiz Bulguları.....	81
3.2.2.6. Arter Çapı Ölçümlerinin İstatiksel Analiz Bulguları.....	82
3.2.2.7. Ven Çapı Ölçümlerinin İstatiksel Analiz Bulguları.....	83
3.2.2.8. Goblet Hücre Sayısı Değerlerinin Ölçümlerinin İstatiksel Analiz Bulguları.....	83
3.2.2.9. Brunner Bezlerinin Çap Hesaplamalarının İstatiksel Analiz Bulguları.....	84
3.2.2.10. Bağırsak Dış Çapı Hesaplamalarının İstatiksel Analiz Bulguları.....	85

3.2.3. Histokimyasal Bulguların İstatiksel Analiz Bulguları.....	86
3.2.3.1. Villuslarda ve Kriptalarda Periodic Acid Schiff Reaksiyon Şiddeti.....	86
3.2.3.2. Goblet Hücrelerinin Salgı Karakteristikleri.....	89
3.2.3.3. Lümende Asidik Mukus Miktarı.....	91
4. TARTIŞMA.....	93
5. SONUÇ.....	108
ÖZET	109
SUMMARY	111
KAYNAKLAR.....	113
ÖZGEÇMİŞ.....	129
TEŞEKKÜR.....	130

SİMGELER VE KISALTMALAR

AA	Asetoasetat
AB	Alsiyan Mavisi Boyası (Alcian Blue Stain)
AÇ	Arter Çapı
AÇd	Diyabetli deney hayvanlarında arter çapı
AÇdm	Melatonin uygulanan diyabetli deney hayvanlarında arter çapı
AÇk	Kontrol grubu deney hayvanlarında arter çapı
AÇm	Melatonin uygulanan deney hayvanlarında arter çapı
ADA	Amerikan Diyabet Derneği (American Diabetes Association)
ASM	Lümende asidik mukus miktarı
ATP	Adenozin tri fosfat
BÇ	Bağırsak kesit çapı
BÇd	Diyabetli deney hayvanlarında bağırsak kesit çapı
BÇdm	Melatonin uygulanan diyabetli deney hayvanlarında bağırsak kesit çapı
BÇk	Kontrol grubu deney hayvanlarında bağırsak kesit çapı
BÇm	Melatonin uygulanan deney hayvanlarında bağırsak kesit çapı
BRÇ	Brunner bez çapı
BRÇd	Diyabetli deney hayvanlarında brunner bez çapı
BRÇdm	Melatonin uygulanan diyabetli deney hayvanlarında brunner bez çapı
BRÇk	Kontrol grubu deney hayvanlarında brunner bez çapı
BRÇm	Melatonin uygulanan deney hayvanlarında brunner bez çapı
c AMP	Siklik adenozin monofosfat
CCK	Kolesistokinin

CRP	C reaktif protein
D grubu	Diyabet hastası deney hayvanları
DIDMOAD	Wolfram Sendromu
DKA	Diyabetik Ketoasidoz
DM grubu	Diyabet hastası ve melatonin uygulaması yapılan deney hayvanları
DNA	Deoksiribonükleik asit
GDM	Gestasyonel diabetes mellitus
GHS	Goblet hücrelerinin salgı karakteristikleri
GIP	Glikoz bağımlı insülinotropik peptid
GLP-1	Glukagon benzeri peptid
GLUT 1-2-4	Glikoz transport molekülleri
GS	Goblet hücre sayısı
GSd	Diyabetli deney hayvanları goblet hücre sayısı
GSdm	Melatonin uygulanan diyabetli deney hayvanları goblet hücre sayısı
GSk	Kontrol grubu deney hayvanları goblet hücre sayısı
GSm	Melatonin uygulanan deney hayvanları goblet hücre sayısı
3HB	3 β Hidroksibütirat
5HTP	5-Hidroksi-L-triptofan
Hb A _{1c}	Hemoglobin A _{1c}
HB-EGF	Heparine bağlanan epidermal büyüme faktörü
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HE	Hematoksilen-Eozin boyama
HHD	Hiperglisemik Hiperozmolar Durum

HIOMT	0-metil transferaz enzimi
HNF 1 α	Hepatosit nükleer faktör 1 α
HNF 4 α	Hepatosit nükleer faktör 4 α
HNF 1 β	Hepatosit nükleer faktör 1 β
HOMA-IR	İnsülin direncinin değerlendirildiği indeks veri
IDF	Uluslararası Diyabet Federasyonu
IFG	Bozulmuş açlık glisemisi
IGT	Bozulmuş glikoz toleransı (Impaired Glucose Tolerance)
IL-1 β	İnterlökin 1 β
IL-6	İnterlökin 6
INF- γ	İnterferon gama
INSR	Tüm insülin reseptörleri
IPF-1	İnsülin protein faktör
IRS1 – 4	İnsülin membran reseptörleri
KÇ	Kripta çapı
KÇd	Diyabetli deney hayvanları kripta çapı
KÇdm	Melatonin uygulanan diyabetli deney hayvanları kripta çapı
KÇk	Kontrol grubu deney hayvanları kripta çapı
KÇm	Melatonin uygulanan deney hayvanları kripta çapı
KD	Kripta derinliği
KDd	Diyabetli deney hayvanları kripta derinliği
KDdm	Melatonin uygulanan diyabetli deney hayvanları kripta derinliği
KDk	Kontrol grubu deney hayvanları kripta derinliği

KDm	Melatonin uygulanan deney hayvanları kripta derinliği
KGL	Kan glikoz seviyesi
K grubu	Kontrol grubu deney hayvanları
LADA	Erişkinlerde latent otoimmün diyabet
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
M grubu	Yalnızca melatonin uygulaması yapılan deney hayvanları
MODY	Gençlerin erişkin başlangıçlı diyabeti
MT1, MT2	Melatonin reseptörleri
MTNR1B	Melatonin reseptörlerinin tümü
NAT	N-asetiltransferaz enzimi
OGTT	Oral Glikoz Tolerans Testi
PAS	Periodic Acid Schiff
PASK	Kriptalarda PAS reaksiyon şiddeti
PASV	Villuslarda PAS reaksiyon şiddeti
PKA	Protein kinaz A
PTPN22	Protein tirozin fosfataz
ROS	Reaktif oksijen molekülleri
STZ	Streptozotosin
TCA	Trikarboksilik asit siklusu
TGF-β	Transforme edici büyüme faktörü
TM	Tunica muscularis kalınlığı
TMd	Diyabetli deney hayvanları tunica muscularis kalınlığı
TMdm	Melatonin grubu deney hayvanları tunica muscularis kalınlığı

TMk	Kontrol grubu deney hayvanları tunica muscularis kalınlığı
TMm	Melatonin uygulanan deney hayvanları tunica muscularis kalınlığı
TNF- α	Tümör nekroz faktörü α
TURDEP	Türkiye Diyabet Epidemiyolojisi
VAYD	Vücut Ağırlığı Yüzde Değişimi
VÇ	Ven çapı
VÇd	Diyabetli deney hayvanları ven çapı
VÇdm	Melatonin uygulanan diyabetli deney hayvanları ven çapı
VÇk	Kontrol grubu deney hayvanları ven çapı
VÇm	Melatonin uygulanan deney hayvanları ven çapı
VEGF	Vasküler endoteliyal büyüme faktörü
VG	Villus Genişliği
VGd	Diyabetli deney hayvanları villus genişliği
VGdm	Melatonin uygulanan diyabetli deney hayvanları villus genişliği
VGk	Kontrol grubu deney hayvanları villus genişliği
VGm	Melatonin uygulanan deney hayvanları villus genişliği
VU	Villus uzunluğu
VUd	Diyabetli deney hayvanları villus uzunluğu
VUdm	Melatonin uygulanan diyabetli deney hayvanları villus uzunluğu
VUk	Kontrol grubu deney hayvanları villus uzunluğu
VUm	Melatonin uygulanan deney hayvanları villus uzunluğu
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Diabetes mellitus etiyolojik sınıflandırma.....	5
Çizelge 1.2. Dört ana grupta incelenen diyabet tiplerinin görüldüğü durumlar.....	6
Çizelge 2.1. Hematoksilen Eozin boyama yöntemi.....	61
Çizelge 2.2. Periyodik acid schiff boyama yöntemi.....	62
Çizelge 2.3. Alcian Blue pH 2,5 boyama yöntemi.....	63
Çizelge 2.4. Alcian Blue pH 2.5 – Periodic Acid Schiff boyama yöntemi.....	64
Çizelge 2.5. Uygulanan boyama yöntemleri ve amaçları.....	71
Çizelge 2.6. Histokimyasal incelemeler için belirlenen parametrelere verilen histoskor değerleri.....	71
Çizelge 3.1. Kan glikoz değerleri (mg/dl).....	77
Çizelge 3.2. Grupların hemoglobin A _{1c} yüzde değerleri.....	78
Çizelge 3.3. VAYD (gr) değerlerinin ortalama ve standart sapmaları.....	79
Çizelge 3.4. Villus uzunluğu ve vilus genişliği değerleri (µm).....	80
Çizelge 3.5. Kripta derinliği ve kripta çapı değerleri (µm).....	81
Çizelge 3.6. Tunica muscularis kalınlığı değerleri (µm).....	82
Çizelge 3.7. Arter çapı ve ven çapı değerleri (µm).....	82
Çizelge 3.8. Goblet hücre sayısı değerleri (adet).....	83
Çizelge 3.9. Gruplara göre Brunner bezlerinin çaplarının ölçümlerinin ortalama değerleri (µm).....	84
Çizelge 3.10. Gruplara göre bağırsak dış çap ölçümlerinin persantil değerleri (µm).....	86
Çizelge 3.11. PASV ve PASK median ve persantil değerleri.....	87

Çizelge 3.12. GHS histoskorlarının median ve persantil değerleri.....	89
Çizelge 3.13. ASM histoskorlarının median ve persantil değerleri.....	91

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Hücrelere insülin ve glikoz alınımı.....	16
Şekil 1.2. Glikoz transport moleküllerinin hücre membranına translokasyonu.....	17
Şekil 1.3. İnsanlarda (A) ve ratlarda (B) gastrointestinal sistem organlarının şematik görünümü.....	38
Şekil 1.4. Melatonin sentezinin retina yolu ile sinirsel uyarım aşaması.....	49
Şekil 1.5. Melatonin sentezinin kimyasal basamakları.....	50
Şekil 3.1. Deney gruplarında çalışma süresince ölçülen kan glikoz değerlerinin grafiği...77	77
Şekil 3.2. Deneyin sonlandırılması aşamasında alınan kan örneklerinden analiz edilen hemoglobin A _{1c} değerlerinin grafik görünümü.....	78
Şekil 3.3. Deney gruplarında çalışma süresince saptanan vücut ağırlığı değerleri.....	79

RESİMLER

Resim 1.1. Brunner bezlerinin ışık mikroskop görüntüsü (AB – PAS 40X).....	44
Resim 2.1. Ratlarda intraperitoneal enjeksiyon uygulaması.....	59
Resim 2.2. Villus uzunluğu (b), villus genişliği (b), kripta derinliği (c), kripta genişliği (d) ölçümünde dikkate alınan referans noktaları (H+E, X10).....	65
Şekil 2.3. Bağırsak dış çapının hesaplanmasında dikkate alınan referans noktalar, $a+b/2$: dış çap.....	66
Resim 2.4. K grubu deney hayvanı villuslar ve goblet hücreleri (PAS 100X).....	67
Resim 2.5. Arter ve ven çaplarının hesaplanması için dikkate alınan referans noktaları $a+b/2$; arter çapı, $c+d/2$; ven çapı (H+E 40X).....	68
Resim 2.6. DM grubu bir hayvanda, duodenumun proksimalinde yer alan, musculus sphincter pyloricus'un bitiminden hemen sonra başlayan Brunner bezleri (Br). musculus sphincter pyloricus (pilorik sfinkter, ps), pilor bölgesi epiteli (pe), duodenum villus yapısı (v) (Longitudinal kesit, PAS 10X).....	69
Resim 2.7. Pilor bölgesi epiteli (pe) altında lokalizasyon gösteren Brunner bezleri (Br) (Transvers kesit, AB - PAS 10x).....	69
Resim 2.8. Brunner bezlerinin çaplarının hesaplanması için dikkate alınan referans noktaları, $a+b/2$: brunner bez çapı (PAS 100x).....	70
Resim 3.1. 750 ml hacimde tam olarak doldurulan, deney hayvanlarının suluklarının 24 saat sonraki durumları. Deney hayvanlarının günlük su tüketimi.....	72
Resim 3.2. Deney hayvanlarının bir gün öncesinde temizlenmiş kafes altlıkları.....	73
Resim 3.3. Abdominal kavitenin açılması, ilk bakıda D grubu bir hayvanda yaygın hiperemi ve okun ucunda zayıflamış kolon duvarı, sağda DM grubu bir hayvanda karın boşluğu organ ve dokularında nispeten daha az şiddetli hiperemi.....	74
Resim 3.4. D grubunda yer alan bir hayvanda oldukça zayıflamış kolon bağırsak duvarı (Bd) ve buna bağlı gelişen obstrüksiyon (Ob).....	74

Resim 3.5. K grubu ve M grubu deney hayvanlarında abdominal kavite ve organların görünümü.....	75
Resim 3.6. Deney gruplarında kriptalarda goblet hücreleri (AB pH 2,5 D, DM, M 100X, K 40X).....	84
Resim 3.7. Deney gruplarında Brunner bezlerinin histolojik görünümü (D, DM, M PAS 40X, M PAS 10X, K AB pH 2,5/PAS 40X).....	85
Resim 3.8. Deney gruplarında villuslarda PAS reaksiyon şiddeti.....	87
Resim 3.9. Deney gruplarında kriptalarda PAS reaksiyon şiddeti (PAS D, DM, K 40X, M 100X).....	88
Resim 3.10. D ve DM grubunda homojen boyanma gösteren doku kesitleri (AB pH 2,5/PAS D 40X, DM 100X).....	89
Resim 3.11. K ve M grubunda homojen olarak mor renkli boyanma gösteren goblet hücreleri (AB pH 2,5/PAS 100X).....	90
Resim 3.12. Doku kesitlerinde heterojen boyanma gösteren goblet hücreleri (AB pH 2,5/PAS D, DM, K 100X, M 40X).....	90
Resim 3.13. Deney gruplarında lümende asidik mukus miktarı (AB pH 2,5 D ve DM grubu 10X, M ve K grubu 20X).....	91

1. GİRİŞ

1.1. Diabetes Mellitus Hakkında Genel Bilgiler

Pankreas insülin salgısının salt veya göreceli yetersizliği nedeniyle, ve/veya insülin hormonunun hücre düzeyinde işlev kaybı ya da insülin hormonu molekülündeki yapısal bozukluklar sonucu gelişen diabetes mellitus, kan glikoz düzeyi kontrolünün yapılamaması sebebi ile hiperglisemi ile seyreden, hayati önem arz eden akut metabolik ve kronik dejeneratif komplikasyonlara neden olan bir sendromdur (Holt 2004, ADA 2004, Dinççağ 2001, Ozougwu ve ark 2013, Dhuria ve ark 2015, Inzucchi ve Shermin 2015, Kharroubi ve ark 2015). Diabetes mellitus'ta insülin eksikliği nedeni ile hücre ve dokular tarafından glikoz kullanılamaz, enerji ihtiyacını karşılamak için sırası ile yağ doku ve proteinler yıkımlanır. Karbonhidrat, protein ve yağ dokuda meydana gelen bu değişiklikler diyabetin komplikasyonlarının oluşmasında rol oynamaktadır (Yüzüak ve Aybak 2014, Inzucchi ve Sherwin 2015, Skrha ve ark 2015).

Diyabet, diyabetik ketoasidoz (DKA), hiperglisemik hiperozmalar durum (HHD) gibi akut komplikasyonların yanında kronik makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlar nedeniyle de ciddi sağlık sorunlarına ve ölümlere neden olabilmektedir (Kharroubi ve ark 2015). Çeşitli düz kas yapılarının fonksiyonlarının bozulması diyabetin kronik komplikasyonları arasındadır. Diyabet hastaları mikro ve makro anjiyopati, ateroskleroz, konjestif kalp yetersizliği ve hipertansiyon dahil olmak üzere kardiyovasküler sistem hastalıklarına genellikle daha yatkındırlar (Öntürk ve ark 2007). Diyabet hastalığında klinik olarak polidipsi (çok su içme), poliüri (çok idrar yapma), polifaji (fazla yeme), pruritis (kaşıntı), kilo kaybı gibi belirtiler görülmektedir. Kronik hiperglisemi çeşitli organlarda, özellikle gözler, böbrekler, sinirler, kalp ve kan damarlarında uzun süreli hasar, işlev bozuklukları, görevini yapamama ile ilişkilendirilmektedir (ADA 2004).

Diabetes mellitus insidansının gelişmekte olan ülkelerde %5, gelişmiş ülkelerde ise %10 oranında olduğu bildirilmektedir (Durna 2015). Tip 1 diyabet prevalansının Avrupa ülkeleri arasında Finlandiya, İskandinavya ve Birleşik Krallık'ta oldukça yüksek iken, güney Avrupa ve Orta Doğu'da düşük olduğu belirtilmektedir (Inzucchi ve Sherwin 2015). Sosyoekonomik yönden gelişmiş ülkelerde daha fazla diyabetli hasta olmasının nedeni, yaşam standartlarını iyileştirmeye yönelik uygulamaların gelişmiş olmasının beraberinde

getirdiği hareketsiz yaşam ve obezite artışı sayılmaktadır. İnsanların genetik yapısının 10 bin yıl boyunca değişmediği ancak atalarımızdan bu yana yaşam standartlarımızın oldukça değiştiği açık bir gerçektir. Yirmi birinci yüzyılın insanları olmamıza rağmen, genetik yapımızın on bin yıl önce yaşayan atalarımız ile aynı olduğu belirtilmektedir. Yaşam şeklindeki bu değişikliklerin diyabet ve obezite gibi çeşitli metabolik hastalıkların çıkmasında rolü olduğu bilinmektedir (Espino ve ark 2011).

Yaşam boyu süren, yaşam şeklinde değişikliklere neden olan ve yaşam kalitesini önemli ölçüde azaltan diyabet hastalığının insidansı gün geçtikçe artmaktadır. Diyabet insidansının artmasına paralel olarak diyabete bağlı komplikasyonlar ve ölümler de artmaktadır. Öyle ki diyabet Amerika Birleşik Devletleri'nde ölüm nedenleri arasında üçüncü sırada yer almaktadır (ADA 2004). Tüm dünyada ise ölüm nedenleri arasında sekizinci sırada yer aldığı bildirilmektedir (WHO 2015). Sosyoekonomik yönden az gelişmiş bölgelerde diyabet nedeni ile ölüm oranının çok daha yüksek olduğu belirtilirken, 2013 yılında dünya genelinde 5 milyon 100 bin insanın diyabet ve diyabete bağlı komplikasyonlar nedeniyle hayatını kaybettiği belirtilmiştir (IDF 2015). Kişinin 40-50 yaşları arasında diyabet ile tanıştığında yaşam süresinin 7-10 yıl, 60-70 yaşları arasında diyabet ile tanıştığında ise 3-5 yıl kısaldığı bildirilmektedir (Kharroubi ve ark 2015).

Ülkemizde Türkiye Diyabet Epidemiyolojisi (TURDEP) tarafından 2000'de yapılan TURDEP-I ve 2012 yılında yapılan TURDEP-II saha çalışmaları karşılaştırıldığında, iki çalışmanın yapıldığı tarihler arasında geçen 12 yıl içerisinde tip 1 diyabet hastası oranı %6,5 artış gösterirken, toplumda obez insanların oranının da %44 artış gösterdiği bildirilmiştir. Türkiye'de TURDEP-II verilerine göre bozulmuş glikoz toleransı (Impaired glucose tolerance, IGT) oranı ise %6.7 olarak belirtilmektedir. Bu rakamlar Uluslararası Diyabet Federasyonu'nun (IDF) ve TURDEP uzmanlarının, Türkiye'ye yönelik yaptıkları çalışmalar neticesinde öngörülen tahminlerin çok üzerinde olması nedeni ile ürkütücü bir tablo oluşturmaktadır (Durna 2015).

Diyabet prevalansındaki hızlı artış ve hastalığın komplikasyonlarının yarattığı sorunlar, diyabetin gittikçe önem kazanan bir sağlık sorunu olmasının nedenleri olarak sayılmaktadır. 2011 yılında yaklaşık 250 milyon olarak tahmin edilen diyabetli hasta sayısı, 2013 yılında kadınların %9.2'si erkeklerin %9.8'i olmak üzere toplam 347 milyon, olarak bildirilmiştir. Bu sayının 2035 yılında %55 oranında artarak 592 milyona ulaşacağı öngörülmektedir (Sacks ve ark 2011, King 2012). Huri ve ark (2015) ise, 2015 yılı için

dünya genelinde diyabetli hasta sayısının 366 milyon olduğunu, 2030 yılında 552 milyon yetişkin diyabet hastası olacağını tahmin ettiklerini belirtmişlerdir.

Birleşik Devletler’de 1999 – 2002 yılları arasında yapılan bir çalışmada, oral glikoz yüklemesinin ardından (OGTT) yükselen plazma glikoz seviyelerine bakılarak, diyabet hastalarının %30’unun daha önce tanı almadığı bildirilmiştir. 2006 yılında Birleşik Devletler’de tanı koyulmamış diyabet hastalarının oranı %40 olarak bildirilmiş, ve bu oranın hemen hemen 16 milyon kişiye denk geldiği belirtilmiştir (Sacks ve ark 2011). Türkiye’de ise TURDEP-II 2012 verilerine göre diyabetli hastaların %45,5’i diyabet hastası olduklarını bilmemektedirler (Durna 2015).

Diyabetin bireyin hayatını tehdit eden kronik bir sendrom olmasının yanı sıra, hem bireye hem de ülke ekonomisine maliyeti oldukça yüksektir. Tüm dünyada diyabet ve ilişkili hastalıklar için harcanan para 2007 yılında 232 milyar dolar, 2013 yılında 548 milyar dolar olarak belirtilmiştir (Kharroubi ve ark 2015).

Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization, WHO), Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) ve ülkelerde diyabet ile ilgili faaliyet gösteren kuruluşlar birlikte, diyabet ile ilgili yapılan araştırmaların önderliğinde çeşitli politikalar belirleyerek, bireylerde diyabet oluşumunun önlenmesi veya geciktirilmesi, genç ölümlerin indirgenmesi, hastalığın komplikasyonları nedeniyle gelişen semptomların bulgularının hafifletilmesi dolayısıyla diyabet hastası bireylerin yaşam kalitelerinin yükseltilmesi için yoğun çaba harcamaktadırlar. Bu amaçla, insanların bilinçlendirilmesine yönelik ‘Diabetes Action Now’ programı, 2004 yılında WHO ve IDF tarafından, öncelikli olarak düşük ve orta gelirli, henüz gelişmekte olan toplamda 191 ülkede başlatılan bir programdır. Bu program diyabet gelişiminin önlenmesi ve diyabetli hastaların kontrolü amacı ile dünya genelinde farkındalığın artmasını amaçlamaktadır. Programın öncelikli hedefinin tip 2 diyabet gelişim prevalansını azaltmak olduğu belirtilmiştir. Nitekim gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde tip 2 diyabet prevalansının gittikçe yükseldiği belirtilmektedir (King 2012). İnsanların bilinçlenmesi ve bu program sayesinde diyabet hastalığı hakkında farkındalıklarının artmasının, gelecekte diyabetle mücadelede daha etkili ulusal programların doğmasını sağlayacağı belirtilmektedir (Unwin ve Marlin 2004).

İnsidansının hızla artması nedeni ile günümüzde bir epidemi olarak nitelendirilen diabetes mellitus birey sağlığını olumsuz etkilemesinin yanı sıra, ekonomik olarak önemli

kayıplara neden olmaktadır. Bu nedenle diyabet gelişiminin, komplikasyonlarının önlenmesi ve etkin tedavi metodlarının geliştirilmesi her ülkenin sağlık politikaları hedefleri arasında olmalıdır (Boyle ve ark 2010). Bu alanda yapılan araştırmalarda bu hedeflerin etkinliğini arttırmada önem taşımaktadır (Ramaiya 2004).

1.2. Diabetes Mellitus'ta Sınıflandırma

Diyabetli hastalarda görülen semptomların çok çeşitli ve kompleks olması nedeniyle uygun bir sınıflandırılmanın yapılabilmesi için hem klinik tanımlayıcı bulguların, hem de etiyolojik gruplamanın göz önüne alınması gerektiği belirtilmektedir. Buna dayanarak 1997'de Amerikan Diyabet Topluluğu (American Diabetes Association; ADA) uzman grubu tarafından diyabet hastalığının sınıflandırılmasında yapılan değişiklikler WHO tarafından incelenmiştir. Sene 1999'da WHO tarafından tanımlanan yeni sınıflandırmada "insüline bağımlı diyabet" ve "insüline bağımlı olmayan diyabet" tanımlamalarında tedaviye yönelik bir sınıflama belirtildiği ve hastalığın klinik formları arasında karışıklığa neden olduğu için kullanılmamaktadır. Günümüzde insüline bağımlı diyabet yerine tip 1 diyabet, insüline bağımlı olmayan diyabet yerine de tip 2 diyabet tanımları kullanılmaktadır (Alberti ve Zimmet 1998, ADA 2004, Dinççağ 2011, Kharroubi ve ark 2015).

Amerikan Diyabet Topluluğu 2003 yılında diyabetin sınıflandırılmasına bozulmuş açlık glisemisi (IFG) tanımını ekleyerek diyabet tanımında revizyona gitmiştir. Bir sene sonra (2004) yine ADA tarafından yayımlanan bir makalede aynı sınıflandırmadan bahsedilmiştir. İlaveten diyabet hastalarını sınıflandırmanın zorluğuna ve bu durumun klinik pratikte tanı ve uygulanacak tedavi yönteminin seçilmesinde de zorluklar yarattığına dikkat çekilmiştir (ADA 2004, Kharroubi ve Darwish 2015). Diyabetin kompleks patofizyolojisi, hastalığın klinik formunda değişiklikler görülmesine neden olmaktadır. Klinisyen hekimlerin kendilerinden emin olarak herhangi bir tipte diyabet tanısı koydukları hastaların rutin kontrollerinde, tanı yöntemlerini tekrar ederek, diyabetin hangi aşamada olduğunu göz önünde bulundurmaları gerektiği bildirilmektedir (Alberti ve Zimmet 1998).

Çizelge 1.1. Diabetes mellitus etiyolojik sınıflandırma

Tip \ Aşama	Normoglisemi	Hiperglisemi			
		IGT veya IFG (Prediyabet)	Diabetes Mellitus		
			İnsülin gerektirmeyen	Kontrollü insülin kullanımı	Yaşam boyu insülin
Tip 1 Diyabet	←				→
Tip 2 Diyabet	←			→	
Spesifik Nedenlere Bağlı Diyabet	←			→	
Gestasyonel Diyabet	←			→	

Çizelge 1.1.'den de anlaşılacağı üzere çoğu diyabet hastası tek bir tip diyabet sınıflandırmasının içerisine girmez. Örneğin gebelik döneminde gestasyonel diabetes mellitus (GDM) tanısı almış olan bir kişinin, doğum sonrasında da kan glikoz seviyesinin yüksek seyretmeye devam etmesi ile, gebelik öncesinde de tip 2 diyabet hastası olduğu anlaşılabilir (Alberti ve Zimmet 1998). Ya da yüksek dozlarda ekzojen steroid kullanan bir kişide diyabet gelişmiş olabilir. Steroid kullanımı durdurulduğunda kan glikoz seviyesi normale döner, ancak yıllar sonra tekrarlayan pankreatitis atakları nedeniyle tekrar diyabet gelişebilir. Başka bir örnek olarak tiyazid grubu ilaçlar kullanan insanlar verilebilir. Tiyazidler nadir de olsa tek başlarına hiperglisemiye neden olurlar. Tiyazid kullanırken hiperglisemi gelişen bir hasta tip 2 diyabet hastası olabilir ve hiperglisemi durumu ilaç kullanımı nedeni ile ortaya çıkmış veya kötüleşmiş olabilir. Bu kişiler yıllar sonra tip 1 diyabet hastası olabilirler (ADA 2004).

Çizelge 1.2.'de de görüldüğü gibi, sonuç olarak diyabet; tip 1 diyabet, tip 2 diyabet, spesifik nedenlere bağlı diyabet ve gebelik diyabeti, olmak üzere başlıca dört ana gruba ayrılmaktadır. Diyabetli hastaların çoğunluğunu tip 1 ve tip 2 diyabetli hastalar oluşturmaktadır (Alberti ve Zimmet 1998, ADA 2004, King 2012).

Çizelge 1.2. Dört ana grupta incelenen diyabet tiplerinin görüldüğü durumlar

Tip 1 diyabet	Otoimmün İdiyopatik
Tip 2 diyabet	İnsülin direnci ve insülin eksikliğinin göreceli olarak değiştiği geniş bir aralığı kapsamaktadır.
Spesifik nedenlere bağlı diyabet	Pankreas β hücrelerinde fonksiyon kaybına neden olan genetik defektler İnsülin etkisinde bozulmalara neden olan genetik defektler Pankreasın ekzokrin hastalıkları Endokrinopatiler İlaç veya kimyasal ajan tarafından indüklenmiş diyabet Enfeksiyonlar Yaygın görülmeyen immun sistem aracılı gelişen diyabet formları Bazı durumlarda diyabet ile ilişkilendirilen diğer genetik sendromlar
Gestasyonel diyabet	Gebelik durumunda diyabete yatkınlığın artması ile meydana gelmektedir.

1.2.1. Tip 1 Diabetes Mellitus

İdiyopatik ya da çoğunlukla otoimmün kaynaklı T ve B lenfosit hücreleri aracılı gelişen inflamasyon nedeniyle oluşan, pankreas β hücre hasarı sonucu gelişen diyabet olgularını kapsamaktadır (Ozougwu ve ark 2013, King 2012, Inzuchi ve Shermin 2015). Tip 1 diyabet genetik, çevresel ve otoimmün etmenler nedeni ile T lenfosit hücrelerinin seçici olarak pankreas β hücrelerinde yıkıma sebep olmalarıyla ortaya çıkan metabolik bir hastalıktır. Sitotoksik T lenfosit hücrelerinin salgıladıkları interferon- γ (INF- γ), tümör nekroz faktörü (TNF- α) gibi sitokinler pankreas β hücrelerinde hasara neden olmaktadır. Pankreas β hücre hasarı, çoğu olguda diyabet ile ilişkili klinik semptomların başlamasından 3-5 yıl öncesinde başlamaktadır (Kevan ve ark 2002).

Pankreas adacıklarında yer alan hücrelere karşı gelişen otoantikorlar tip 1 diyabetin özelliği olmasına rağmen diyabetin patogenezindeki rolleri henüz tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir. İmmün yıkımın belirteçleri olan, pankreas β hücrelerine karşı oluşan otoantikorlar, insüline karşı oluşan otoantikorlar, glutamik asit dekarboksilaza (GAD65) ve tirozin fosfataza (IA-2 ve IA-2 otoantikorları) karşı oluşan otoantikorlar da, açlık kan glikoz düzeyinin (IFG, Impaired fasting glucose) normal değer aralığının üzerinde saptandığı olgularda %85 – 90 oranında tespit edilmektedir (ADA 2004).

İdiyopatik tip 1 diyabet etiyolojisi bilinmeyen tip 1 diyabet olgularını kapsamaktadır ve tip 1 diyabetten daha az şiddetli seyrettiği belirtilmektedir (Alberti ve Zimmet 1998, Pinero-Pilona ve Raskin 2001). İdiyopatik tip 1 diyabetin tanı aşamasında tip 1 diyabetin belirtilerini gösterdiği ancak hastalığın daha sonraki seyrinin tip 2 diyabete benzediği belirtilmektedir (Pinero-Pilona ve Raskin 2001). İdiyopatik tip 1 diyabette, tip 1 diyabetten az şiddetli seyretmesi nedeni ile genelde akut metabolik komplikasyonların görülmediği ancak nadir durumlarda hastalarda ketoasidozis gibi akut komplikasyonların görülebildiği belirtilmiştir. ADA uzmanlar grubu idiyopatik tip 1 diyabeti; kuvvetle muhtemel kalıtsal olan, pankreas β hücrelerinin otoimmün hasarına yönelik belirteçlerin bulunmadığı, tip 1 diyabetin patofizyolojisi ile ilişkilendiren genlerin sorumlu olmadığı, hastaların insülin sağaltımına ihtiyaç duydukları diyabet formu olarak tanımlamaktadırlar (Bennett ve ark 2001, Pinero-Pilona ve ark 2001). Pinero-Pilona ve Raskin (2001) idiyopatik tip 1 diyabetin genellikle Afrika kökenli insanlarda görüldüğünü, benzer şekilde Alberti ve Zimmet (1998), ADA (2004) ve Kharroubi ve Darwish (2015) Afrikalılarda ve Asyalılarda görüldüğünü bildirmişlerdir. Ssongwi ve ark'da (2002) Afrikalı diyabet hastalarının 'tropikal' ve 'ketozis eğimli' olarak tanımladıkları atipik diyabet formları gösterdiklerini bildirmişlerdir. Ketozise eğilimli olarak tanı koydukları hastaların, ADA tarafından tanımlanan idiyopatik tip 1 diyabet tanımına uygun olduklarını belirtmişlerdir.

Tip 1 diyabet önceki dönemlerde, 'insüline bağımlı diyabet', 'juvenil diyabet', ve 'çocukluk çağında başlayan diyabet' olarak adlandırılmıştır (Alberti ve Zimmet 1998). Tip 1 diyabette pankreas β hücrelerinin genellikle otoimmün hasarına bağlı olarak mutlak insülin eksikliği bulunmaktadır (Sacks ve ark 2011). Tip 1 diyabet gelişiminde genetik yatkınlığın rolünün yanında, henüz net olarak ortaya konmamış birçok çevresel faktörün rol oynadığı düşünülmektedir. Tek yumurta ikizlerinin her birinde tip 1 diyabet gelişme oranı %27 olarak bildirilmiştir. Diyabet hastalarının %5-10'u tip 1 diyabetlidir ve tip 1 diyabetli hasta sayısı gittikçe artmaktadır (ADA 2004, Kharroubi ve ark 2015). Tip 1 diyabette beta hücre hasarı oldukça değişken olduğundan hastalar erken çocukluk döneminde diyabetin akut ve hayatı tehdit eden komplikasyonlarından biri olan diyabetik ketoasidoz (DKA) ile ilk tanısını alabilir veya orta derecede bir hiperglisemi ile erken dönemde tanı almadan ileri yaşlarda tanı konabilir. Diyabetin bu tipi genellikle çocuklarda ve gençlerde görülmekle birlikte son yıllarda yetişkin yaşlarda saptanan tip 1 diyabet olguları da artmaktadır (King 2012). IDF'nin 2013 yılı verilerine göre dünya genelinde 0 – 14 yaş arasında, 497 100 çocuğa tip 1 diyabet tanısı koyulduğu, her sene 78 900 olgunun

yeni tanı aldığı bildirilmektedir (Kharroubi ve ark 2015). Dünya genelinde erişkinlerde prevalansı bilinmeyen tip 1 diyabetin Birleşik Devletler’de yetişkinlerde 2010 yılında 3 milyon kişi, gençlerde 2009 yılında 166 984 kişi (binde 1,93) olarak bildirilmiştir (Kharroubi ve ark 2015).

Yirmi beş yaşından sonra görülen tip 1 diyabet formu, ‘erişkinlerde görülen latent otoimmün diyabet’ (latent autoimmune diabetes in adult; LADA) olarak adlandırılmaktadır. Tanı sırasında hastada pankreas β hücrelerine karşı oluşan, otoimmün sürecin belirteçleri olan antikorların bulunmadığı, pankreas β hücre yetmezliğinin oldukça yavaş geliştiği bildirilmektedir. Metabolik olarak tip 1 diyabet ve tip 2 diyabetin özelliklerini gösteren LADA formunun, diyabet hastaları içerisinde %2-12 oranında görüldüğü bildirilmektedir. Tip 1 diyabetin akut komplikasyonlarının LADA formunun başlangıç sürecinde genellikle görülmediği belirtilmiştir (Nadhem ve ark 2015).

1.2.2. Tip 2 Diabetes Mellitus

Daha yaygın olan, insülin salgılanma azlığı ile insülin direncinin çeşitli derecelerde bir arada etkili olduğu formları içeren diyabet grubudur. Geçmişte insüline bağımlı olmayan diyabet, erişkin diyabet olarak da isimlendirilen tip 2 diabetes mellitus tüm diyabet olgularının %90 – 95’ini oluşturmaktadır ve en yaygın görülen diyabet formudur (Alberti ve Zimmet 1998, ADA 2004, Sacks ve ark 2011, King 2012). Tip 2 diyabet hastalarında hiperglisemi kademeli olarak arttığından, diyabetin semptomları hasta tarafından başlangıçta fark edilmez ve bu hastalar yıllarca tanı almadan yaşayabilmektedirler (ADA 2004). Tip 2 diyabetin, pandemik olarak obezitenin ve fiziksel inaktivitenin yaygınlaşmasına paralel dünya genelinde önemli bir sağlık problemi haline geldiği, yetişkinlerin %50’sinin, çocuk ve gençlerin ise %15’inin aşırı kilolu veya obez olduğu bildirilmektedir. Uluslararası Diyabet Federasyonu tarafından 2013 yılında yayımlanan raporda 20 – 79 yaşları arasında, 198 milyonu erkek, 184 milyonu kadın, dünya nüfusunun %8.3’ünü oluşturan toplam 382 milyon kişinin tip 2 diyabet hastası olduğu bildirilmektedir (Kharroubi ve ark 2015). Hastalığın temelinde genetik olarak yatkın kişilerde yaşam tarzı ile tetiklenen ve giderek artan insülin direnci ve zamanla azalan insülin salınımı söz konusudur. Tip 2 diyabet hastası olan kişilerin çoğunluğunun obez olduğu, özellikle abdominal bölgelerinde aşırı yağlanma bulunduğu bildirilmektedir. Nadirinde olsa tip 1 diyabetin akut komplikasyonu olan ketoasidozisin, genellikle,

tetikleyici faktörler artan stres veya enfeksiyon bulunması halinde tip 2 diyabette de görülebildiği belirtilmektedir. (ADA 2004).

Günümüden otuz yıl öncesine kadar tip 2 diyabetin genellikle 40 yaşından sonra ortaya çıktığı ve yaşlanma ile sıklığının arttığı düşünülmekteydi. Ancak araştırmacılar, son yıllarda yaşam ve günlük aktivitelerdeki değişiklikler ve artan obezite sıklığı nedeniyle çocuk ve gençlerde de tip 2 diyabet sıklığının obezite ile paralel arttığını bildirmektedirler (Weiss ve ark 2003, Reinehr 2013). Tip 2 diyabet tanısı koyulan gençlerin çoğunun puberte döneminde ve obez olduğu, ailelerinde tip 2 diyabet hastası kişilerin bulunduğu, Afrikalı, Amerikalı, Latin, Asyalı gibi belli bir etnik gruba mensup oldukları ve gelişmiş ülkelerde yaşadıkları belirtilmektedir (Weiss ve ark 2003, Reinher 2013). Tip 2 diyabetli insan sayısının 2030 yılında dünya genelinde ikiye katlanacağı öngörülmektedir. (Agil ve ark 2012).

1.2.3. Spesifik Nedenlere Bağlı Diabetes Mellitus

Tip 1 diyabet, tip 2 diyabet ve GDM dışında, bazı durumlar da diyabet görülebileceği, bir takım sık rastlanılmayan nadir hastalıkların da diyabet ile seyredebileceği bildirilmektedir. Bunlar pankreas β hücre fonksiyonlarının genetik defekt nedeni ile bozulmasına bağlı 'gençlerin erişkin başlangıçlı diyabeti' (maturity onset diabetes of youngs, MODY), insülin etkisinde bozulmaya yol açan tip A insülin direnci sendromu, Rabson-Mendenhall sendromu veya lipoatrofik diyabet gibi genetik defektler nedenleri ile gelişen diyabet formları, ekzokrin pankreas hastalıkları; pankreatit, travma, neoplaziler, kistik fibrosis vb, endokrinopatiler; akromegali, Cushing sendromu, glukagonoma, feokromositoma, hipertiroidizm, somatostatinoma, aldosteronoma gibi nedenler ile gelişen diyabet formları, ilaç; kortikosteroidler, tiyazid grubu diüretikler, atipik antipsikotikler gibi etken maddelerin kullanımına bağlı gelişen diyabet formları, konjenital rubella sendromu, sitomegalovirus hastalıkları gibi enfeksiyonlar sırasında gelişen diyabet formları, immun kaynaklı gelişen nadir diyabet formları; Stiff-man sendromu, anti-insülin reseptör antikorlarına bağlı diyabet ve diyabetle ilişkili bazı genetik sendromlardır. Bu sendromlar başlıca Down sendromu, Klinefelter sendromu, Turner sendromu, Wolfram (DIDMOAD; diabetes insipidus, diabetes mellitus, optik atrofi, deafness) sendromu, Friedreich ataksisi, Huntington koresi, Laurence Moon-Biedl sendromu, miyotonik distrofi, porfiria, Prader - willi sendromu olarak sayılmaktadır (Alberti ve Zimmet 1998, ADA 2004).

Gençlerin erişkin başlangıçlı diyabeti genellikle 25 yaşından önce, genellikle çocukluk çağında, ergenlik döneminde ve gençlik döneminde gelişen, baskın olarak kalıtsal özellik gösteren, nonketotik bir diyabet formu olarak tanımlanmaktadır (Fajans ve ark 2001). İnsülinin etkisinde defekt görülmez iken insülin salınımının bozulduğu bildirilmektedir (Alberti ve Zimmet 1998). Genetik olarak 6 farklı kromozomda yer alan genlerin tekli mutasyonları nedeni ile geliştiği, klinik olarak da her formun farklı bulgular gösterdiği monogenik diyabet olarak belirtilmektedir. Bu nedenle gençlerin erişkin başlangıçlı diyabeti MODY1, MODY2, MODY3, MODY4, MODY5, MODY6 olarak alt kategorilere ayrılmıştır. En yaygın görülen formlar glikokinaz enzim geninde görülen mutasyon ile gelişen MODY2 ve hepatosit nükleer faktör 1 alfa (HNF -1 α) geninde görülen mutasyon ile gelişen MODY3 olarak bildirilmektedir (Timsit ve ark 2005, Naylor ve Philipson 2011). Yüksek konsantrasyonlarda pankreas β hücrelerinden ve karaciğer hücrelerinden eksprese edilen glikokinaz enziminin gen mutasyonu nedeniyle kusurlu glikokinaz üretiminin gerçekleştiği belirtilmektedir. Glikokinaz enzimi glikozu, adenosin tri fosfattan (ATP) fosfat aktarımını sağlayarak, glikoz-6-fosfata dönüştürmektedir. Glikoz-6- fosfat pankreas β hücrelerinden insülin salınımının uyarılmasını sağlamaktadır. Bu nedenle glikokinaz enziminin pankreas β hücreleri için glikoz sensörü görevi gördüğü belirtilmektedir (Alberti ve Zimmet 1998, Fajans ve ark 2001, Naylor ve Philipson 2011). Ayrıca glikolitik yolağa girecek glikoz miktarı, glikokinaz enzimi tarafından ayarlanmaktadır, dolayısı ile reaksiyonun bu aşaması hız sınırlayıcı aşama olarak tanımlanmaktadır (Fajans ve ark 2001). Diğer monogenik formların ise hepatosit nükleer faktör-4 α (HNF-4 α), hepatosit nükleer faktör-1 β (HNF-1 β), insülin protein faktör 1 (IPF1) gibi diğer transkripsiyon faktörlerinde görülen mutasyonlar nedeniyle geliştiği ve MODY2 ve MODY3 formundan daha az görülen defektler oldukları belirtilmektedir. (Hattersley 1998, Fajans ve ark 2001, ADA 2004).

İnsülin etkisinde genetik defektler nedeni ile gelişen Tip A insülin direnci sendromunda hastalarda akantozis nigrikans, bayanlarda maskülenleşme, kistik over sendromu görülebilmektedir. Rabson-Mendenhall sendromu da insülin reseptör genlerinde (INSR) defekt nedeni ile meydana gelen, otozomal resesif genler ile taşınan kalıtsal ve pediatrik bir durumdur ve bebeklik döneminde ölümcül olduğu bildirilmektedir (ADA 2004, Parveen ve Sindhuja 2008, Gupta ve ark 2012).

Lipoatrofik diyabette insülin etkisinde defekt görülmektedir. Ancak insülin reseptörlerinin yapı ve işlevlerinde bozulmalar tespit edilememiştir. Bu nedenle bu tip

diyabette lezyonun postreseptör sinyal iletim yollarında bulunduğu varsayılmaktadır (ADA 2004). Hastalarda subkutan yağ dokusunda azalma görülmektedir. Bu nedenle lipoatrofik diyabet hastalarının açlık durumunu ve tedavide kullanılan insülinin kesilmesini, tip 1 diyabet hastalarına nazaran daha iyi tolere ettikleri belirtilmektedir (Robbin ve Sims 1984).

Pankreatitis, travma, enfeksiyon, pankreatektomi, pankreas tümörleri gibi pankreasın ekzokrin hastalıkları olarak sayılabilecek durumlar da insülin salınımını bozarak diyabete neden olmaktadır (ADA 2004). Pankreasın ekzokrin ve endokrin salgı yapan doku kısımlarının birbirleri ile sıkı ilişkili olduğu, ekzokrin salgı yapan pankreas dokusunun patolojik kondisyonlarında, endokrin salgı yapan pankreas dokusunda da bozulmalar görüldüğü belirtilmektedir (Hardt ve ark 2000).

İnsülin hormonuna antagonist çalışan büyüme hormonu, kortizol, glukagon ve epinefrin gibi hormonların aşırı salınımının olduğu akromegali, Cushing sendromu gibi endokrinopatik hastalıklarda diyabete neden olmaktadır.

Somatostatinoma ve aldosteronoma hastalıklarının hipokalemiye neden olarak insülin etkisinde defektlere neden oldukları, dolayısı ile hiperglisemi oluşumunu sağladıkları bildirilmektedir (Jaleel ve Baig 2015).

İlaçlarla veya kimyasal maddelere maruz kalma nedeni ile insülin sekresyonu bozulmakta ve diyabet gelişmektedir. Sıçan zehri olarak kullanılan Vacor isimli etken maddenin, pentamidin, dilantin içeren ve tiyazid grubu ilaç kullanımının kalıcı olarak pankreas β hücrelerini yıkımladığı bildirilmektedir. Nikotik asit, tiroid hormonları, interferon α terapisi ve glikokortikoidler gibi insülin etkisinde de bozulmaya neden olan pek çok etken madde ve hormon bulunmaktadır (Alberti ve Zimmet 1998, ADA 2004).

1.2.4. Gestasyonel Diabetes Mellitus (Gebelik Diyabeti)

Gestasyonel diyabet (GDM), gebeliğin en yaygın komplikasyonları arasında sayılmaktadır ve ilk kez gebelik sırasında ortaya çıkan glikoz tolerans bozukluğu olarak tanımlanmıştır (Jovanovic ve Pettitt 2001, Buchanan 2012). Gebelik insülin direncinin geliştiği dolayısıyla buna paralel hiperinsülineminin görüldüğü diabetojenik bir kondisyon olarak tanımlanmaktadır. Gebelik döneminde plasentadan sentezlenen progesteron, kortizol, plasental laktojen, prolaktin ve büyüme hormonlarının GDM'de insülin direncinin gelişmesinde önemli etkileri bulunmaktadır. Gestasyonel diyabet sıklıkla gebeliğin ikinci

trimesteri olarak adlandırılan, ikinci üç aylık döneminde ortaya çıkmaktadır. (Setji ve ark 2005). Bununla beraber bu tanım, gebelikten önce diyabeti olduğu halde gebelikte tanı alan vakalar ile, diyabetin gebelikle ilişkili nedenlerle ortaya çıktığı GDM vakalarını ayırt etmekte yetersiz kalmaktadır. GDM risk faktörleri arasında obezite, önceki gebeliklerde gestasyonel diyabet geçirilmiş olması, ailede diyabetli olması, anne yaşı, polikistik over sendromu, hareketsiz yaşam, toksik faktörlere maruz kalma olarak sayılmaktadır (Gilmartin ve ark 2008, Kharroubi ve ark 2015).

Obezite ve diyabetin artması ile tanı konmamış tip 2 diyabetli gebe sayısı da artmıştır. Ayrıca GDM yalnızca anne de değil, yenidoğanda da ileri yaşlarda obezite ve glikoz intoleransı gelişmesinde önemli bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle, ilk prenatal vizitte standart kriterlere göre diyabet tanısını karşılayan gebelerin GDM yerine aşikar diyabet olarak tanımlanmaları önerilmektedir. Bunun yanında yeni doğanlarda GDM sebebi ile makrozomi (doğum ağırlığının 4000 gr ve üzerinde olması), neonatal hipoglisemi, konjenital malformasyonlar, hipokalemi ve solunum sıkıntıları görülebilmektedir (Setji ve ark 2005). İlk olarak Danimarka'lı dahiliyeci Joseph Pedersen 1954 yılında, GDM'de annede görülen maternal hipergliseminin fetüste de hiperglisemiye ve hiperinsülinemiye neden olduğunu, bunlara bağlı gelişen fötal makrozomi olgusu neticesinde GDM'nin bebek ölümleri ile komplike olduğunu bildirmiştir (Gabbe 1986).

Gestasyonel diyabet tanısında diagnostik kriterlerin coğrafyalara göre farklılık göstermesi nedeni ile insidansının belirlenmesinin güçleştiği bildirilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde 1991 ve 2002'de yapılan iki çalışmada, farklı etnik grupların diagnostik kriterleri standardize edilerek 1991'de %4 olan gestasyonel diyabet insidansının 2002'de %6'ya çıktığı bildirilmiştir (Buchanan 2012). Setji ve ark (2005) tarafından gebelerin %7'sinde, Gilmartin ve ark tarafından (2008) gebelerin %2-5'inde GDM görüldüğü bildirilmiştir. Bu oran popülasyon ve kullanılan tanısal yöntemlere bağlı olarak %1 ile 22 arasında değişmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde 2001 yılında, 135 000 gebenin %14'ünün GDM tanısı aldığı bildirilmiştir (Jovanovic ve Pettitt 2001). Gebelikte gestasyonel diyabet tanısı almış olguların çoğunun kan glikoz seviyesinin doğumdan sonra normale döndüğü bildirilmektedir. İlk gebeliğinde gestasyonel diyabet tanısı almış olan bayanların daha sonraki gebeliklerinde yeniden gestasyonel diyabet görülme olasılığı yaklaşık %50 olarak belirtilirken, yaşam sürelerince tip 2 diyabete yakalanma risklerinin %70-80'e kadar çıktığı belirtilmektedir. Bu nedenle gebelikte GDM tanısı almış olan

kadınların, doğum sonrasında kan glikoz düzeyleri normale dönse dahi, prediyabetli olarak kabul edilmeleri gerektiği bildirilmektedir (Kitzmilller ve ark 2007).

1.2.5. Prediyabet (Bozulmuş Glikoz Toleransı, Impaired Glucose Tolerance; IGT)

ADA uzmanlar grubu tarafından, diyabet hastası olmayan ancak açlık kan glikoz düzeyi 100 – 125 mg/dl, oral glikoz tolerans testinden (OGTT) 2 saat sonra ölçülen kan glikoz değeri 140 – 199 mg/dl aralığında olan, ancak diyabet tanı sınırının altında bulunan olgular için prediyabet tanımlaması yapılmıştır (ADA 2004). Kısaca kan glikoz seviyesi normalin üzerinde, ancak diyabet tanı sınırının altında bulunan olguları tanımlamak için kullanılmıştır (Tabak ve ark 2012). Prediyabet erişkinlerde tip 2 diyabetin klinik olarak tanı koyulma aşamasından önce geçirilen bir ara aşama olarak tanımlanmaktadır (Weiss ve ark 2003). Bu nedenle diyabet gelişimi açısından yüksek risk durumunu oluşturmaktadır (Tabak ve ark 2012). Prediyabet hastalarında kardiyovasküler sistem hastalıkları sebebiyle mortalite ve kanser riskinin arttığı bildirilmektedir (Alberti ve Zimmet 1998). IDF'nin 2013 yılı verilerine göre tüm dünyada erişkinlerin %6,9'unu oluşturan 316 milyon kişinin prediyabetli olduğu bildirilmekle birlikte, 2030 yılında bu rakamın 471 milyon kişiye ulaşacağı tahmin edilmektedir. Bunun yanı sıra Amerika Birleşik Devletleri'nde 2014 yılında 86 milyon kişinin, yani ülkede yaşayan her üç kişiden birinin prediyabetli olduğu rapor edilmiştir (Kharroubi ve ark 2015).

1.3. Diabetes Mellitus'un Patofizyolojisi

1.3.1. Pankreasın Endokrin ve Ekzokrin İşlevleri

İlk olarak 1869'da Paul Langerhans pankreas dokusunu mikroskopta incelerken, organın farklı hücre kümelerinden oluştuğunu farketmiştir. Daha sonra bu hücre kümeleri Langerhans adacıkları olarak adlandırılmıştır. Pankreas hem ekzokrin hem de endokrin salgı yapan değişik tipte hücreler içermektedir. Pankreas ekzokrin olarak proteaz; tripsin, kimotripsin, lipaz, amilaz, jelatinaz ve elastaz enzimlerini salgılayarak duodenuma, endokrin olarak insülin, glukagon, somatostatin, amilin ve pankreatik polipeptid hormonlarını salgılayarak kan dolaşımına vermektedir (Wang ve ark 2015). Pankreas hücre kümelerinin %60-70'ini insülin sentezini gerçekleştiren β hücreleri, %20-30'unu glukagon salgılayan α hücreleri oluşturmaktadır. Pankreasın kan glikoz metabolizmasında rolü olduğu ise ilk kez 1889 yılında Alman fizikçi Oscar Minkowski ve Joseph von Mering

tarafından anlaşılmıştır. Pankreasın enzim salgılarını incelemek amacı ile, pankreasını cerrahi olarak uzaklaştırdıkları bir köpeğin idrarında glikoz tespit eden araştırmacılar, organın kan glikoz kontrolünde ve diyabet gelişiminde rolü olduğunu belirtmişlerdir. İnsülin ise ilk kez 1916 yılında Romanyalı fizyolog Nicolae Paulescu tarafından izole edilmiştir (Berke 2015).

Pankreas enzim sekresyonu gıda alımı ile aktive edilen kompleks nörohumoral mekanizmalar ile gerçekleştirilmektedir. Duodenuma gıda içeriğinin geçmesiyle salgılanan sinyaller pankreas ekzokrin enzim sekresyonu için gerekli uyarımların intestinal aşamasını başlatmaktadır. Nöral regülasyon ise enterik sinir sistemi ve merkezi sinir sisteminin karşılıklı etkileşimleri ile gerçekleşmektedir. Pankreasta sekresyondan sorumlu, pankreasın kan akışını düzenleyen, enterik sinir sisteminin bir parçası olan otonomik sinir lifleri bulunmaktadır. Enzim sekresyonunun merkezi düzenlenmesi ise beyin sapında yer alan, kolinerjik enteropankreatik refleksi oluşturan, dorsal vagal kompleksin aktive olmasıyla gerçekleşmektedir. (Jaworek ve ark 2010).

Bir gece açlıktan sonra insülin seviyesi bazale inmekte, insülin duyarlı periferel dokularda glikoz kullanımı azalmaktadır. İnsüline duyarsız olan beyin dokusunda ise glikoz kullanımı devam etmektedir. Kan glikoz seviyesinin artmasını sağlayan mekanizmalar sindirim sonrası bağırsaklardan gıda maddelerinin emilimi, glikoneolizis ve glikoneogenezis olarak sayılmaktadır (Tanju 1999). Kan glikoz seviyesinin stabil tutulması karaciğerden ve çok az bir miktarda böbreklerden glukoneogenezis yoluyla glikoz salınması ile gerçekleştirilmektedir. Açlık durumunda glikoneogenezis yolu ile saatte ortalama 7-10 gr glikoz salınımı gerçekleşmektedir. Karaciğerde gerçekleşen glikoneogenezis reaksiyonları portal dolaşımda bulunan insülin ve glukagon oranına bağlıdır. Karaciğer tarafından glikoz üretiminin, glikoz alımından daha fazla insülin düzeyinden etkilendiği bildirilmektedir (Inzucchi ve Sherwin 2015). Bağırsaklardan emilen gıda maddeleri vena portae'ya geçerler. Sindirim ürünlerinin emiliminden sonra vena portae'da kan glikoz seviyesi 300-400 mg/kg 'a çıkmaktadır. Karaciğer glikozun hepsini metabolize edemez ve bir kısmını kan dolaşımına verir. Sindirim ürünlerinin emiliminden iki saat sonrasına kadar periferel kan glikoz düzeyi 140 mg/kg'a ulaşabilmektedir. Bu yükselmeye emilim hiperglisemisi adı verilmektedir. Diyabet hastalarında insülin etkisinde görülen defektler veya insülin eksikliği nedeni ile kan glikoz seviyesi oldukça yükselmekte, insanlar için 160-170 mg/kg olan böbrek eşiği (böbreklerin kan dolaşımında

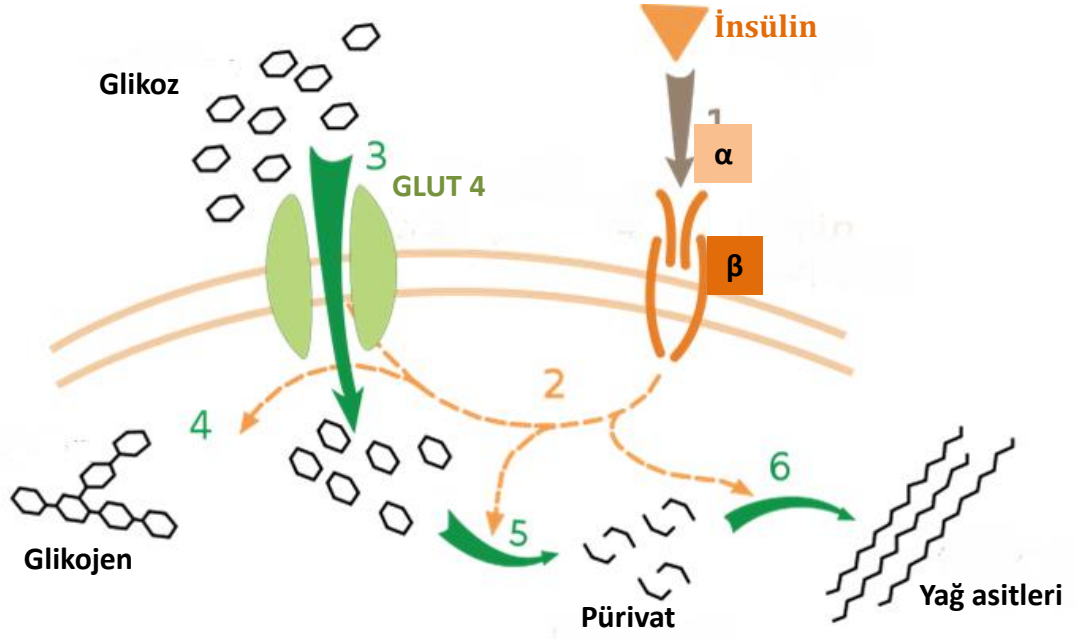
bulunan glikozu reabsorbe edebildikleri üst sınır) aşularak, idrarla glikoz atılmaktadır. (Tanju 1999). Klinik olarak diyabet hastalarında bu durum glikozüri olarak adlandırılmaktadır (Kharroubi ve ark 2015).

Tokluk durumunda ise, gıda alımından sonra, endojen glikoz üretiminin baskılanması, karaciğerde ve özellikle kas doku olmak üzere periferal dokularda glikoz alımının artmasını sağlayan bir dizi homeostatik mekanizma tetiklenmektedir. Kan glikoz seviyesinin yükseldiği durumlarda çeşitli biyokimyasal mekanizmalar aktive edilmektedir. (Skrha 2015). Kan glikoz seviyesini azaltan reaksiyonlar başlıca; glikozun oksidasyonu, glikogenezis, glikoliz, glikoz kullanılarak yağ asitleri, karbonhidrat ve protein sentezi ve böbrek eşiği olarak sayılmaktadır (Tanju 1999).

1.3.2. İnsülin Hormonu, Metabolik Önemi ve İşlevleri

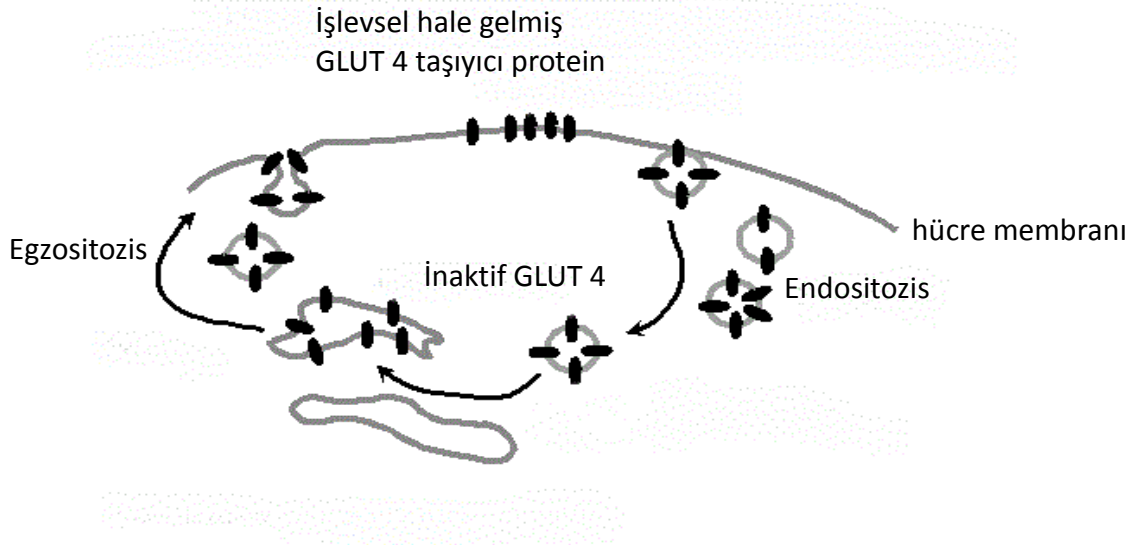
İnsülin 51 amino asit içeren, moleküler ağırlığı 5808 Dalton olan peptid yapılı bir hormondur. İnsüli hormonunun kan dolaşımında yarılanma ömrü 3-6 dakika olarak belirtilmektedir (Berke 2015). Pankreas β hücrelerinden ilk olarak salgılanan insülin tek zincirli, 86 aminoasit içeren, polipeptid yapılı proinsülidir. Proinsülinin yıkılması, C-peptit bağının uzaklaştırılması ile 51 aminoasit içeren çift zincirli insülin molekülünün meydana geldiği bildirilmektedir. İnsülin ve C-peptit hücre membranına bağlı depolama granüllerinde depo edilirler. İnsülin salınımı için uyarı alındığında eşit miktarlardaki insülin hormonu ve C-peptit ve bir miktar proinsülin hepatik dolaşıma salınmaktadır. İnsülin hormonunun büyük bir kısmı karaciğerdeki reseptörlerine bağlanarak metabolize olurken, C-peptit karaciğerde metabolize olmamaktadır. Bu nedenle periferal dolaşımda bulunan C-peptit miktarı, endojen insülin salınımının belirteçlerinden biri olarak kullanılmaktadır (Inzucchi ve Sherwin 2015). Depo halde bulunan insülin hekzamer katlanma yapısında olup inaktif formdadır. İnsülinin özellikle monomer yapısındaki formu olmak üzere dimer yapısındaki formu da dolaşıma geçerek etkisini göstermektedir, Hekzamer yapısındaki insülin formu aktif işlev gösterememektedir. İnsülin hormonunun çeşitli sebeplerle gelişen yapısal katlanma bozuklukları da diyabet gelişimi ile ilişkilendirilmektedir (Berke 2015).

Şekil 1.3.2.1.'de de görüldüğü gibi insülin hormonu hücrelerdeki etkisini, birbirlerine disülfid bağları ile bağlanmış iki α ve iki β zinciri içeren reseptörleri (IRS1, IRS3, IRS2, IRS4 ve Gab-1) vasıtası ile göstermektedir.



Şekil 1.1. Hücelere insülin ve glikoz alınımı

İnsülin reseptörünün β zincirinde bulunan bir protein; tirozin kinazın aktive olması insülin reseptörünün işlevi için gereklidir. İnsülin etkisinin oluşturulmasında reseptörünün otofosforilasyonu ve tirozin kinazın fosforilasyonu ilk basamaklardır. Takiben, insülinin nihai etkisini göstermesi ile sonuçlanan çeşitli fosforilasyon ve defosforilasyon reaksiyonları gerçekleşmektedir. İnsülin tarafından aktive edilen bu postreseptör sinyal yollarından fosfatidilinositol-3 kinaz enziminin aktivitesi, glikoz alımını kolaylaştırmak için hücre içerisinden hücre yüzeyine glikoz taşıyan glikoz transport proteinlerin (GLUT1, GLUT2, GLUT 4) translokasyonunu gerçekleştirmektedir (Inzucchi ve Sherwin 2015). Şekil 1.3.2.2.'de de görüldüğü gibi normalde hücre içerisinde, stoplazmada bulunan GLUT 4 taşıyıcı proteinleri fosfatidilinositol-3 kinaz enziminin aktivitesi ile hücre membranına yerleşmektedirler (Ashcroft ve Rorsman 2012).



Şekil 1.2. Glikoz transport moleküllerinin hücre membranına translokasyonu

İnsülinin glikoz taşıyıcı moleküllerin membrana translokasyonunu sağladığı gibi bu proteinlerin sayılarının artmasını sağladığı, GLUT 1 ve GLUT 2 taşıyıcı proteinlerini de uyardığı belirtilmektedir (Ashcroft ve Rorsman 2012).

1.3.3. İnsülin Salgılanmasında ve/veya Etkisinde Görülen Defektler Nedeni ile Değişen Enerji Metabolizması ve Diyabet Gelişimi

Diyabet hastalığında GLUT taşıyıcı proteinlerin membrana translokasyonu gerçekleşemez, dolayısı ile glikoz hücre içerisine alınarak kullanılamaz. Tip 1 diyabette pankreas β hücrelerinden salgılanan insülinin mutlak eksikliği ve buna eşlik eden insülin direnci bulunmaktadır. Tip 2 diyabette ise yeterli insülin salınımı olduğu halde insülin etkisinde defektler söz konusu olmaktadır. Diyabetin iki önemli formunun fenotipik benzerlikleri nedeni ile patofizyolojilerinin de benzer basamaklarla geliştiği düşünülebilir. Ancak tip 1 ve tip 2 diyabetin patofizyolojisinde önemli farklılıklar bulunmaktadır (Inzucchi ve Sherwin 2015).

Gıda içeriğinin duodenuma geçmesi ile karaciğerde glikoz yapımı baskılanıp, glikoz glikojen olarak depo edilirken, trigliserit yapımı artmaktadır. Glikoz, insülin hormonu sekresyonunun aktivasyonu için öncelikle glikoz transport molekülü GLUT2 ile pankreas β hücrelerine taşınır. Glikoz molekülü hücre içerisinde glukokinaz enzimi ile fosforile edilerek metabolize edilir. Bu aşamadan sonra pankreas β hücrelerinden insülin

salınımını tetikleyen etmenler bilinmemekle birlikte, hücre stoplazmasına kalsiyum girişinin engellenmesi, ATP bağımlı potasyum kanallarının kapatılması, sinyal transdüksiyon yollarının ve mitokondriyal sinyallerin aktivasyonu ile gerçekleştiği düşünülmektedir. Salınan insülinin magnitudü kan glikoz konsantrasyonuna bağlıdır. Ancak oral olarak alınan glikozun, intravenöz olarak uygulanan glikozdan daha fazla insülin salınımını uyardığı belirtilmektedir. Bu farklılığın, sindirim sırasında bağırsaklardan kendiliğinden sentezlenen inkretin hormonları olarak adlandırılan, glukagon benzeri peptit 1 (glucagon-like peptid 1 GLP-1) ve eskiden gastrik inhibitör polipeptid olarak bilinen, glikoz bağımlı insülinotropik peptit (glucose dependent insulinotropic peptide, GIP) isimli, insülinotropik etkili bağırsak peptit hormonlarının insülin salınımı üzerine olan pozitif etkileri nedeni ile gerçekleştiği bildirilmektedir (Ashcroft ve Rorsman 2012). Lössin gibi bazı aminositlerin, vagal uyarımın, sülfonilüre ilaçları kullanımının ve bağırsak inkretin salınımını düzenleyen bir takım etken maddelerin de insülin salınımını uyardıkları bildirilmektedir. İnkretin hormonlardan GLP-1'in diyabetli hastalarda glukagon etkisini zayıflatarak, gastrik boşalmayı geciktirdiği, merkezi sinir sisteminde doyumluk duygu durumunun süresini arttırdığı için yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir (Inzucchi ve Sherwin 2015).

İnsülin hormonu kas dokuda da aminoasit alımını ve protein sentezini artırırken, yağ dokuda lipoprotein lipaz enzimini aktive ederek trigliserit sentezini ve depolanmasını arttırmakta dolayısı ile anabolik etki göstermektedir (Inzucchi ve Sherwin 2015). Lipoliz, glikogenoliz ve glikoneogenezisin inhibe edilmesi insülinin önemli etkilerinden sayılmaktadır. Periferel dokularda insülinin etkisi ile glikoz alımı artar. Karaciğer ve kas dokusunda glikojen olarak depolanan glikoz, yağ dokuda serbest yağ asitlerinin esterleşmesini gerçekleştirerek, trigliserit olarak depo edilmesini sağlayan α -gliserol fosfata dönüştürülmektedir. İnsülin etkisi ile hücreler içersine alınabilen glikoz molekülünün büyük kısmı okside edilir iken, karbondioksit ve su açığa çıkarılır ve enerji üretilir. Bu olay glikoliz basamakları ve trikarboksilik asit siklusu (TCA siklusu, sitrik asit siklusu, Krebs döngüsü) tarafından gerçekleştirilmektedir. Glikoliz sonucu aerobik koşullarda pürivik asite kadar yıkımlanmış olan glikoz molekülü TCA siklusuna girmektedir (Tanju 1999).

İnsülin hormonunun metabolik işlevine ters yönde etki eden kateşolaminler, büyüme hormonu, kortizol ve glukagon hormonlarının hastalık ve stres durumlarında

oldukça fazla sentezlenerek kan glikoz düzeyini arttırdıkları belirtilmektedir. Bu hormonların arasında hipoglisemiye cevap olarak pankreas α hücrelerinden sentezlenen glukagon diyabetik durumun gelişmesinde önemli rol oynamaktadır. Sağlıklı bireylerde glukagon salınımı artan kan glikoz seviyesi ve insülin salınımı tarafından baskılanırken, tip 1 ve tip 2 diyabet hastalarında, hiperglisemi ve periferik insülin miktarında artış gözlenmesine rağmen, glukagon seviyesinin mutlak veya göreceli olarak yüksek olduğu belirtilmektedir. Buna sebep olarak diyabette hücre ve dokuların glikozu enerji ihtiyaçları için kullanamamaları gösterilmektedir. Ayrıca kan glukagon seviyesinin yüksek olmasının da direkt olarak hücrelerin bazal enerji ve oksijen tüketimlerini arttırdığı bildirilmektedir (Charlton ve Nair 1998). Hücre ve dokular düşük enerji krizi olarak adlandırılan, metabolik strese girerek enerji ihtiyaçlarını karşılamak için lipolizis aktive olmasını sağlayan kateşolaminler, büyüme hormonu ve glukagon salgısını uyarılmaktadırlar. İnsülin yokluğunda vücutta yağ depolarının ve proteinlerin yıkımına bağlı şiddetli katabolik durum meydana gelmektedir. Lipolizis sonucu açığa çıkan yüksek miktarda serbest yağ asidi karaciğer tarafından keton cisimciklerine dönüştürülür. Kan glikoz seviyesinin böbrek eşliğinin üstüne çıkması nedeni ile idrar ile glikoz atılması aşamasında (glikozüri), sodyum ve potasyum gibi elektrolitlerde kaybedilmektedir. Bu durumda kandaki miktarı artan keton cisimcikleri nedeni ile iyon dengesi bozulmakta ve akut bir komplikasyon olarak asidozis olguları meydana gelmektedir (Hebert ve Nair 2010).

Yüksek kan glikoz seviyesi özellikle damarlar ve sinirlere, pankreas β hücrelerine toksik etki göstermektedir. Kan dolaşımında insülin azaldığında yağ dokuda lipaz enzimi aktive edilmekte ve lipaz enzimi yağ asitlerini, pankreas β hücrelerine toksik trigliseridlere, serbest yağ asitlerine veya gliserole dönüştürmektedir. Prediyabet döneminde olan kişilerde intraabdominal bölgede biriken yağ dokusu insülin azlığının etkisi ile trigliseridlere dönüşerek direkt olarak portal sisteme drene olur dolayısıyla pankreasa geçer ve pankreas β hücrelerinde yıkıma, fonksiyon kaybına sebep olurlar. Glikoz toksikasyonu ve lipid toksikasyonu bir kısır döngü haline gelir ve bu durum hipoglisemik ajanlarla tedavi edilmek durumundadır. Kişilere tip 2 diyabet tanısı konulduğunda pankreas β hücre hasarının %50 civarında olduğu tahmin edilmektedir. Bu nedenle tip 2 diyabet tanısının konulmasından 3 veya 5 yıl sonra insülin terapisi gerekmektedir (Guthrie ve ark 2004).

Tip 2 diyabette görülen progresif insülin eksikliğinin tip 1 diyabette olduğu gibi immun sistem aracılığı ile olmadığı bilinmektedir. Tip 2 diyabette insülin eksikliğinin,

pankreas β hücrelerinin fazla insülin salgılamaları nedeniyle tükenmelerinden, yukarıda anlatılan şekilde glikoz veya yağ toksikasyonundan veya genetik defekt sonucu oluştuğu bildirilmektedir (Ashcroft ve Rorsman 2012). Tip 2 diyabette insülin direnci ile enerji metabolizması ve enerji metabolizmasında rol alan organlar arasındaki ilişkiler henüz tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Obezite, intraabdominal yağ dokusu birikimindeki artış, metabolik sendromun ana bileşenleri olan hiperlipidemi, hipertansiyon ve tip 2 diyabet gelişimi için önemli bir risk faktörü olarak sayılmaktadır. Metabolik sendrom ve kardiyovasküler hastalıklara yatkınlığın artması ile yağ dokunun, özellikle visseral yağ dokusunun arasındaki ilişki henüz tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Adipoz doku hücreleri adipositler, karaciğer ve kas dokuda insülin sinyal yollarını inhibe eden adipositokin olarak adlandırılan çok çeşitli biyoaktif moleküller sentezlemektedirler (Matsuzawa 2005, Yudkin ve Stehouwer 2005). Bu biyoaktif moleküllerden leptin ve adiponektin yine yağ doku hücrelerinde etki gösteren, yağ doku spesifik hormonlar iken, TNF- α ve plazminojen aktivasyon inhibitörü (PAI-I) herhangi bir doku veya organa spesifik olmayan adipositokinlerdir. Adipositokin salınımında görülen bozukluklar metabolik sendrom gelişimi ile ilişkilendirilmektedir. Obezite ve insülin direnci tespit edilen olgularda plazma TNF- α seviyesi yüksek bulunmaktadır. Çeşitli hücrelerde TNF- α , insülin hormonunun uyarımı ile IRS-I reseptöründe gerçekleşen fosforilasyonu azaltmaktadır (Matsuzawa 2005). Leptin ve adiponektin gibi adipositokinlerin üretimini sağlayarak, metabolik homeostazisin sağlanmasına katılan yağ dokusunun önemli bir endokrin organ olduğu belirtilmektedir. Leptin hormonu gıda alımını inhibe ederek insülinin etkisini sağlamasını kolaylaştırmaktadır. Adiponektin karaciğer ve kas doku hücrelerini insüline karşı hassaslaştırmaktadır. Obez kişilerde leptin direncinin gelişmiş olması nedeni ile yüksek leptin seviyesi, adiponektin üretiminde azalma ve işlevinde değişiklikler görülmektedir. Bu durum insülin direnci, dislipidemi ve ateroskleroz gelişiminin patolojisinde önemli rol oynamaktadır. Yağ dokuda görülen kronik yangıda önemli miktarda TNF- α , interlökin-6 (IL-6) gibi inflammatuar sitokinler ve insülin direncinin gelişimini destekleyen serbest yağ asidi salınımı gerçekleşmektedir (Agil ve ark 2012). Başlıca endotel, karaciğer ve yağ doku hücrelerinden sentezlenen adiponektin, kollajen benzeri bir 30 kDa ağırlığında protein yapılı bir hormondur. Tip 2 diyabet hastalarında, kardiyovasküler hastalığı bulunanlarda plazma adiponektin seviyesinin azalmış olarak bulunduğu belirtilmektedir. Yağ doku ve insülin direnci gelişimi arasındaki ilişkiler yağ asitlerinin, hücre içi glikoliz reaksiyonlarında rol alan pürivat dehidrojenaz enzimini inhibe ederek, insülin aracılı glikoz alımını baskılaması nedeni ile

gerçekleşmektedir (Samuel ve Shulman 2012). Adiponektin çeşitli dokularda farklı cevaplar oluşturan monomer, hegzamer, oligomer formlarında bulunmaktadır. Obez ve tip 2 diyabet hastası kişilerin ürettikleri adiponektin profilinin değişmiş olduğu bildirilmektedir (Fang ve Sweeney 2006). Adipositlerin farklılaşması sırasında salgılandığı bilinen 12,5 kDa ağırlığında sisteinden zengin olan protein yapılı resistin hormonunun bozulmuş glikkoz toleransına ve insülin etkisinde bozulmalara neden olduğu bildirilmektedir. Adipositlerden sentezlenen 16 kDa ağırlığında olan leptin hormonu ise gıda alımını baskılar, termogenezi ve metabolizma hızını arttırarak enerji harcanmasını arttırır. Leptin sentezinde görülen defektler veya leptin reseptörlerindeki bozulmaların şiddetli obezite, hiperinsülinizm ve insülin direnci gelişimine neden olduğu bildirilmektedir (Matsuzawa 2005). Adipositlerden sentezlenen bir diğer adipositokin ise heparine bağlanan epidermal büyüme faktörü (HB-EGF) düz kas hücrelerinin proliferasyonunu arttırmaktadır (Matsuzawa 2006).

1.3.4. Diyabet Gelişiminde Genetik Faktörlerin Rolü

Tip 1 diyabet insanlarda altıncı kromozomun kısa kolunda bulunan ve DQ bandı olarak adlandırılan HLA genlerinin sorumlu tutulduğu, immun sistemin genetik bir bozukluğu olarak tanımlanmaktadır. Kromozomun bu bölgesinde bulunan genler; ana doku uyuşum kompleksi (MHC) genleri ve immun sistemi kontrol eden genlerdir. Bu genlerde çeşitli sebeplerle gelişen işlev bozuklukları, immun sistemin vücudun kendi hücrelerini tanıma yetisinde bozulmaya neden olmaktadır. Sonuç olarak tip 1 diyabet gibi makrofaj hücreleri aracılı, T lenfosit hücrelerinin pankreas β hücrelerini yıkımlamasıyla otoimmun hastalıklar ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle genetik yatkınlık tip 1 diyabetin patofizyolojisinde önemli bir predispozisyon faktörü olarak sayılmaktadır (Chatzigeorgiou ve ark 2009). Normal popülasyonda %50-60 oranında eksprese edilen HLA sınıf II genlerinin ürünü DR3 ve DR4 tip 1 diyabet hastalarında %90-95 oranında eksprese edilmektedir.

Pankreas β hücrelerinden insülin salınımının kontrolü ise on birinci kromozomun kısa kolunda bulunan IDDM2 genleri tarafından kontrol edilmektedir. Bu genlerin timusta insülin gen ekspresyonunu etkileyerek, timus T lenfosit hücrelerinin insülin reaktif T lenfosit hücrelerine dönüşümünü sağlıyor olabileceği belirtilmektedir. İkinci kromozomun kısa kolunda bulunan CTLA4 genleri de T hücrelerinin aktivasyonunda, kromozom 1 de bulunan protein tirozin fosfataz'ın da (PTPN22) T lenfosit hücrelerinin düzenlenmesini

sağladıkları, dolayısı ile diyabet ile ilişkili olabilecekleri belirtilmektedir. Pankreas β hücrelerinden insülin salınımını tetikleyen en önemli etmen kan glikoz konsantrasyonudur (Naylor ve Philipson 2011).

1.3.5. Diyabet Gelişiminde Çevresel Faktörlerin Rolü

Pankreas β hücre hasarını tetikleyen faktörler arasında genetik faktörlerden sonra ikinci sırada sayılabilecek çevresel faktörlerin diyabetin patofizyolojisi üzerine etkisi henüz tam olarak aydınlatılabilmiş değildir. Tip 1 diyabet gelişiminde genetik faktörlerin etkisinin belirlenebilmesi için tek yumurta ikizlerinde yapılan çalışmalar doğrultusunda elde edilen bulgular birbirleri ile %30-40 uyum göstermektedir. Bu durum hastalığın gelişiminde çevresel faktörlerin önemini ortaya koymaktadır (Inzucchi ve Sherwin 2015). Diyet ve toksinlerin diyabet oluşumunu tetikleyici etkileri bilinse de pek çok bilimsel araştırma diyabet ile ilişkilendirilen virüsler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Çevresel faktörlerin önde gelenleri arasında; diyabetli hastalardan izole edilmiş bazı virüs türleri (coxsackie virüs B, sitomegalovirüs, adenovirüs, rubella, rubulavirüs) ve beslenme sayılmaktadır. Guthrie ve Inzucchi). Özellikle bebek beslenmesinin ileriki yaşlarda tip 1 diyabet gelişme riskini önemli ölçüde etkilediği vurgulanmaktadır. Örneğin anne sütü ile beslenen ve günlük D vitamini takviyesi alan bebeklerin tip 1 diyabet gelişme riski açısından, inek sütü ile erken yaşta tanışan ve tahıl tüketimi daha fazla olan bebeklerden çok daha az risk altında oldukları gösterilmiştir (Guthrie ve ark 2004)

Tip 2 diyabet insülin sekresyon bozuklukları ve insülin etkisindeki defektlerin her ikisini de barındırdığından patofizyolojisini tanımlamanın oldukça güç olduğu belirtilmektedir. Çevresel faktörlerin mi veyahut genetik faktörlerin mi tip 2 diyabet hastalığının ortaya çıkışında etkisinin daha fazla olduğu ve tip 2 diyabette, pankreas β hücrelerinde insülin sekresyonunu, hücre düzeyinde insülin aktivitesini, hücrelerin insülin reseptörü üretimini ve hücre içerisinde insülin aktivitesini düzenleyen, henüz tam olarak tanımlanmış genlerde görülen işlev bozuklukları tip 2 diyabetin patofizyolojisini tanımlamayı güçleştiren etmenler olarak sayılmaktadır (Inzucchi ve Sherwin 2015).

İnsülin direnci tip 2 diyabetin gelişmesinde ilk basamak olarak sayılmaktadır. İnsülin direnci diyabet semptomlarının görülmesinden ve kan glikoz seviyesinin tip 2 diyabet seviyesi sınırına ulaşmasından yıllar önce başladığı belirtilmektedir. İnsülin direncinin vücutta öncelikle kas ve yağ hücrelerinde, daha sonra karaciğer hücrelerinde

geliştiği bildirilmektedir. Tip 2 diyabetin gelişmesine neden olan çevresel faktörler arasında yaşlanma, hareketsiz yaşam ve obezite sayılmaktadır. Bu faktörler arasında en fazla önem arz eden obezite problemidir. Yetişkin insanların %50'sinin, çocuk ve gençlerin ise %15'inin obez olduğu bildirilmekte ve obezite ile ilişkilendirilen tip 2 diyabet formunun 2030 yılında ikiye katlanacağı öngörülmektedir (Agil ve ark 2012). İnsülin direnci geliştiğinde pankreas β hücreleri, organizmanın insülininden yararlanamama durumunu kompanze etmek için başlangıçta daha fazla insülin salgırlar. Genellikle yıllarca süren, insülin direncinin kalıcı olduğu veya arttığı durumlarda β hücreleri genetik defekt veya glikoz toksikasyonu nedeni ile tükenirler. İnsülin direncinin devam ettiği ve insülin salınımının azaldığı bu noktada tip 1 diyabet gelişmektedir (Guthrie ve ark 2004). Ancak tüm obez kişilerde insülin direncinin ve telafi edici hiperinsülineminin olduğu bildirilse de tüm obezlerde diyabet gelişmemektedir. Buradaki farklılığın sebeplerinden biri vücut yağ dağılımı olarak gösterilmektedir. Göbek bölgesinde yağlanma diyabet gelişimi ile ilişkilendirilmektedir (Despres 1993). Bir başka neden de kişinin genetik yapısı ile ilişkilendirilerek pankreas β hücrelerinin sürekli yeterli insülin salgılayabilme kapasitesine sahip olmaları olarak gösterilmektedir (Guthrie ve ark 2004).

1.4. Diyabette Tanı Yöntemleri

Birleşik Krallık'ta yapılan prospektif bir diyabet çalışmasında, diyabetin erken tanı ile önemli ölçüde komplikasyonlarının azaldığı ve hastalığın etkin tedavisinin gerçekleştirilebildiği belirtilmiştir. bu nedenle tanı kriterleri ve tanı kriterlerinde standardizasyon önem kazanmıştır. Kan glikoz seviyesi ölçümü uygulama açısından basit bir tanı yöntemidir. Ancak kan glikoz seviyesinin ölçümünde metodolojik ve prosedür hatası gibi problemler görülmektedir (Emden ve ark 2012). Hastalar kliniğe diyabetin klasik semptomları; poliüri, polidipsi, kaşıntı, kilo kaybı, halsizlik, tekrarlayan mantar ve genitoüriner sistem enfeksiyonları gibi, ve komplikasyonları ile başvurduklarında, diyabet tanısı koymanın oldukça kolay olduğu belirtilmektedir (Durna 2015). Ancak bozulmuş glikoz intoleransı, tip 2 diyabetin erken safhalarında olan hastalara tanı koyulabilmesi için pratikte bir takım uygulamaların gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Diyabetin tanısı açlık plazma glikoz seviyesi, 2 saatlik oral glikoz tolerans testi ve hemoglobin A_{1c} değerlerinin birlikte değerlendirilmesi ile yapılmaktadır. Oral glikoz tolerans testi'nde 75 gr glikoz oral olarak alındıktan 2 saat sonra plazma glikoz seviyesi ölçülerek değerlendirilmektedir (ADA 2004, Durna 2015).

1.4.1. Diyabet Tanısında Plazma Glikoz Seviyesinin Ölçümü

Açlık plazma glikoz seviyesinin normal olarak değerlendirildiği aralık (normoglisemi) 70 – 110 mg/dl'dir (Alberti ve Zimmet 1998, ADA 2004, Kharroubi ve ark 2015). Yemeklerden sonra görülen emilim hiperglisemisi nedeni ile, genellikle kan glikoz ölçümleri en az 8 saat açlığı takiben uygulanmaktadır (Berg 2013, Durna 2015).

Açlık kan glikoz seviyesinin 100 – 125 mg/dl aralığında olan ve OGTT sonucu 140 – 199 mg/dl olan bireyler prediyabetli olarak değerlendirilmektedir (Berg 2013).

Açlık plazma glikoz seviyesi 126 mg/dl üzerinde olması ve OGTT sonucunun 200 mg/dl üzerinde olması kesin olarak diyabet tanısını koydurmaktadır (Berg 2013).

Açlık, tokluk durumu bilinmeden, herhangi bir zamanda rastgele alınan kan örneklerinin analizinde plazma glikoz seviyesinin 200 mg/dl üzerinde olması diyabet tanısı için yeterli olmaktadır.

1.4.2. Diyabet Tanısında Hemogloblin A_{1c} Seviyesinin Değerlendirilmesi

Hemogloblin A_{1c} (Hb A_{1c}, glikozile hemogloblin) seviyesi son 2-3 aylık dönemin kan glikoz seviyesi hakkında, dolayısıyla hastanın diyabet hastası olup olmadığı fikir vermektedir. Kırmızı kan hücrelerinin ortalama yaşam süresi 120 gündür. Bu 120 günlük dönemde, yüksek kan glikoz seviyesi hemogloblin ile etkileşime girer. Glikozilasyon sonucu hemogloblin molekülünde yapısal değişiklikler meydana gelmektedir (Emden 2014). Ancak hemogloblin A_{1c} seviyesi diyabet tanısı koymak için yeterli bir parametre değildir (Berg 2013). Bununla birlikte 2009 yılında ADA %5,7 - %6,4 aralığında bulunan Hemogloblin A_{1c} değerlerinin prediyabet tanısı koyulması için yeterli olduğunu belirtirken, IDF uzmanlar grubu tarafından bu aralık %6 – 6,4 olarak belirtilmiştir (Berg 2013, Kharroubi ve ark 2015). Hastanın plazma glikoz seviyesi bulguları hemogloblin A_{1c} değeri ile karşılaştırılırken hemogloblinopati ve anemi gibi eritrositleri ve yaşam sürelerini etkileyen patolojilerin göz önünde bulundurulması gerekmektedir (Emden ve ark 2012). Avustralya'da %6,5 ve üzerinde hemogloblin A_{1c} değeri ile tip 2 diyabet tanısı koyulmakta, bu değer ve üzerinde Hemogloblin A_{1c} bulgularında makrovasküler komplikasyonların başladığı kabul edilmektedir (Emden 2014). Hemogloblin A_{1c} değerinin %7,5 ve üzerinde bulunduğu durumlarda da mikrovasküler komplikasyonların başladığı kabul edilmektedir (Durna 2015).

1.5. Diyabetin Komplikasyonları

Mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlar, nöropati ve enfeksiyon olarak başlıkları altında toplanan diyabet komplikasyonlarının her birinin oluşum mekanizmasının farklı olduğu belirtilmektedir (Guithre ve ark 2004). Diyabetin akut komplikasyonları arasında hayati önem arz eden, diyabetik ketoasidoz, hiperglisemik hiperozmolar durum, laktik asidoz, hipoglisemi kronik komplikasyonları arasında ise, mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonların yanında diyabetle ilişkilendirilen bir takım bozukluklar sayılmaktadır (ADA 2004). Arterlerde aterosklerozis olarak kendini gösteren makrovasküler komplikasyonlar, diyabet hastaları arasında mikrovasküler komplikasyonlardan daha sık görülmektedir. Mikrovasküler komplikasyonların çoğunlukla kapillerlerde meydana geldiği bildirilmektedir (Skrha ve ark 2015).

1.5.1. Diyabetin akut komplikasyonları

1.5.1.1. Diyabetik Ketoasidoz (DKA)

Diyabetik ketoasidozis çoğunlukla tip 1 diyabet hastalarında görülen, tip 2 diyabet hastaları arasında yaygın olmayan diyabetin akut, hayati önem arzeden bir komplikasyondur (Kitabchi ve ark 2009, Nemecek ve ark 2014, Seth ve ark 2015). Tip 2 diyabet hastalarında travma, cerrahi işlem geçirme ve enfeksiyon hallerinde DKA gelişme olasılığı önemli ölçüde artmaktadır (Kitabchi ve ark 2009). Diyabetik ketoasidoz yağ dokudan yoğun miktarda serbest yağ asidi salınımı, karaciğerde glikoz ve keton cisimciklerinin aşırı üretimi ile karakterizedir (Gerich ve ark 1975, Guillermo ve ark 2002). Diyabetik ketoasidozlu hastalarda serum glikoz seviyesinin 250 mg/dl üzerinde, kan pH seviyesinin 7,3'ün altında, bikarbonat iyon miktarının 15 mEq/l'den az olduğu bildirilmektedir (Westerberg ve ark 2013, Seth ve ark 2015).

Pankreas β hücreleri tarafından sentezlenen insülin hormonu çoğu hücrenin özellikle kas dokusu, yağ dokusu ve karaciğer hücrelerinin, enerji üretimini sağlaması için glikozun hücre içine alımını sağlamaktadır. Tip 1 diyabet hastalarında insülin eksikliği sebebi ile enerji üretimi için gerekli olan glikoz kan dolaşımından hücre içerisine alınamamaktadır. Yalnızca beyin dokusu hücreleri glikozu insülin aracılığı olmadan da kullanabilmektedirler. İnsülin hormonunun yokluğunda hücreler enerji ihtiyaçlarını karşılamak için serbest yağ asitlerini kullanırlar. Ancak beyin, retina ve gonadların germinal epitel hücrelerinin enerji ihtiyacını karşılayabilmesi için mutlak olarak glikoza

gereksinimleri bulunmaktadır (Kerl 2001). Diyabetik ketoasidoz olgusunda dokuların enerji gereksinimi keton cisimcikleri tarafından karşılanmaktadır. Yağ dokunun lipolizisi ile açığa çıkan serbest yağ asitlerinin karaciğer tarafından trigliserit ve keton cisimciklerinin sentezi gerçekleştirilir. Keton cisimcikleri tanımlaması karaciğer tarafından sentezlenen asetoasetat (AA), 3-β-hidroksibütirat (3HB) ve aseton için kullanılmaktadır. Sağlıklı bireylerde kan dolaşımındaki AA:3HB oranı 1:1 iken DKA'da bu oran 10:1'e çıkmaktadır (Laffel 1999). Asetoasetatın mitokondriyonda redükte edilmesi ile 3HB, kendiliğinden dekarboksile olması ile ketoasidozlu hastalarda nefesin aseton kokmasına neden olan aseton oluşmaktadır. Keton cisimciklerinin yanında protein yıkımı ile açığa çıkan aminoasitlerin de kana geçmesi metabolik asidoz oluşumunda rol oynamaktadır (Rosival 2015). Diyabetik ketoasidoz hastalarında kandaki aminoasit düzeylerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada plazma lösin, izölösün, valin ve α-amino bütirat konsantrasyonu sağlıklı insanlardan iki-üç kat fazla bulunurken, glikojenik aminoasitler alanin, glisin, treonin ve serin konsantrasyonlarında %25-40 arasında azalma tespit edilmiştir (Felig ve ark 1970). Diyabetik ketoasidoz gelişiminde insülin yokluğu nedeni ile artan glukagon/insülin oranı, stres hormonları olarak adlandırılan kateşolaminler, kortizol, epinefrin ve büyüme hormonunun da etkisinin bulunduğu bildirilmektedir (Laffel 1999, Kerl 2001, Kitabchi ve ark 2009). Bu hormonların lipolitik aktivitede olmalarından ötürü insülin yokluğunda kanda serbest yağ asidi miktarını arttırdıkları, insülin reseptörlerinde bozulmaların ortaya çıkmasında dolayısıyla hiperglisemi kondisyonunun kötüleşmesinde rolleri olduğu belirtilmektedir (Kerl 2001). Kortizol ve epinefrin kas dokusu hücrelerine etki ederek protein yıkımını arttırmaktadırlar. Dolaşıma geçen protein yıkım ürünleri aminoasitler karaciğerde glukoneogenez için hammadde olarak kullanılmakta dolayısı ile kan şekerinin artmasına katkıda bulunmaktadırlar. Ayrıca keton cisimciklerinin in vitro ortamda insülin salınımını uyardıkları, lipid peroksidasyonuna neden olarak reaktif oksijen radikallerinin artmasına ve diyabein vasküler komplikasyonlarının gelişmesine katkıda buldukları bildirilmektedir (Laffel 1999). Diyabet hastalarında DKA gelişiminin erken belirtileri polidipsi, poliüri, şiddetli dehidrasyon ve önemli miktarda kilo kaybı, bulantı, kusma, abdominal ağrı olarak sayılmaktadır (Westerberg ve ark 2013, Seth ve ark 2015). Munro ve ark (1973) tarafından yapılan bir çalışmada DKA'lı hastaların %86'sında kusma, %27'sinde abdominal ağrı, %24'ünde poliüri, polidipsi tespit edilmiştir.

Tip 1 diyabetli çocuklarda DKA en önemli morbidite ve mortalite nedeni olarak gösterilmektedir (Jefferies ve ark 2015). Diyabet hastası çocuklarda DKA nedeni ile

gelişen serebral ödem en sık ölüm nedeni olarak belirtilmektedir. Tip 2 diyabet hastası çocuklarda da DKA, yetişkin tip 2 diyabet hastalarına göre daha sık görülmektedir. Diyabetik ketoasidozun erken belirtileri olan poliüri, polidipsi ve aşırı kilo kaybının gözlenmesindeki zorluklar, yetişkinlere göre daha fazla büyüme hormonu salgısı, yüksek bazal metabolizma hızı ve vücut ağırlığına oranla geniş vücut yüzey alanı nedeniyle daha fazla sıvı ve elektrolit ihtiyaçları olması, hiperglisemi durumuna karşı serebral ve diğer otheregülatör mekanizmaların henüz tam olarak gelişmemiş olması çocuklarda DKA olgularının daha şiddetli seyretmesinin nedenleri arasında sayılmaktadır (Wolfsdorf ve ark 2006).

Diyabetik ketoasidoz nedeniyle sekonder olarak gelişen pulmoner ve kardiyovasküler rahatsızlıklar ölüm oranını arttırmaktadır (Konstantinov ve ark 2015). Diyabetik ketoasidoz nedeni ile gelişen ölüm oranının %3.4-4.6 arasında olduğu bildirilmektedir (Berthold ve Krone 2006).

1.5.1.2. Hiperglisemik hiperozmolar durum (HHD)

Hiperglisemik hiperozmolar durum önemli bir ketoasidozis tablosu çok silik veyahut hiç olmaksızın, kan glikozu 600 mg/dl ve üzerinde olduğunda ileri derecede hiperglisemi ile gelişen, şiddetli dehidrasyon ve hiperosmolalite ile karakterize, mortalitesinin %10-50 arasında olduğu belirtilen diyabetin akut metabolik bir sendromudur (Stoner 2005, Berthold ve Krone 2006 Kitabchi ve ark 2009, Rybka ve ark 2015). Daha çok tip 2 diyabet hastalarında görüldüğü bildirilmektedir. Hiperglisemik hiperozmolar sendromda insülin seviyesinin normalden düşük olmasına rağmen, DKA sendromundaki kadar şiddetli olmadığı ancak lipolizisi ve ketogenezisi engelleyecek miktarda olduğu belirtilmektedir (Guillermo ve ark 2002).

Diyabetik ketoasidoz ve HHD, diyabetin en yaygın görülen ve en önemli akut komplikasyonları olarak belirtilmektedir. İki sendromun patogenezi farklı olmasına rağmen, gelişmelerinin temelinde yatan neden insülin yokluğu ve buna eşlik eden kateşolaminler, kortizol, epinefrin ve büyüme hormonu seviyesinin artması olarak belirtilmektedir (Guillermo ve ark 2002, Kitabchi ve ark 2009). Hiperglisemik hiperozmolar durum nedeni ile gelişen mortalite oranı yaklaşık %15 olarak belirtilmektedir (Berthold ve Krone 2006). Mortalitesinin DKA sendromundan fazla olması nedeni ile daha fazla önem arz etmektedir ancak patogenezi DKA sendromu kadar ayrıntılı anlaşılabilmiş

değildir ve iki sendrom arasındaki sınırlar da kesin şekilde belirlenememiştir (Kitabchi ve ark 2009, Rybka ve ark 2015). Hiperglisemik hiperozmolar durum sıvı alımını kısıtlayan herhangi bir hastalığın eşlik ettiği ve daha çok yaşlı tip 2 diyabet hastalarında görülmektedir (Stoner 2005, Kitabchi ve ark 2009). Hiperglisemik hiperozmolar durumda serum bikarbonat düzeyinin 15mEq/l üzerinde, pH'sının 7,3 üzerinde, serum osmolalitesinin 320 mOsm/kg üzerinde olduğu belirtilmektedir (Nugent 2005).

Hiperglisemi durumunda kandaki glikozun bir kısmı böbrekler tarafından idrar ile atılmaktadır ve bu durum glikozüri olarak adlandırılmaktadır. Glikozüri diyabetin klasik semptomları arasındadır. Hiperglisemij hiperozmolar durumda böbreklerin kapasitesi üzerinde kan glikozunun atılmaktadır. Bu durum ozmotik diürece neden olmaktadır (Stoner 2005). Hiperglisemik hiperozmolar durumun oluşmasına neden olan etkenler arasında en sık görülenler solunum sistemi ve genitoüriner sistem enfeksiyonları olarak sayılmaktadır (Rybka ve ark 2015). Madde bağımlılığı, henüz tanı koyulmamış diyabet hastası olunması ikinci sırada sayılmaktadır (Berthold ve Krone 2006, Rybka ve ark 2015).

1.5.1.3. Diyabetik Laktik Asidoz

Çoğunlukla diyabet ile birlikte seyreden, şiddetli ateş, enfeksiyon, böbrek ve kalp hastalıkları, hipotansiyon gibi ciddi metabolik bir hastalığı olan diyabet hastalarında görülen akut metabolik bir komplikasyondur (Watkins ve ark 1969, English ve Williams 2004, Liatis ve ark 2011). Laktik asidozis başlıca karaciğerde metabolize olan laktik asitin, sirkülator, respirator, hematolojik ve/veya hücresel işlev bozuklukları nedeni ile gelişen doku hipoksisi durumunda pürivat metabolizmasının bozulması nedeni ile karaciğerin kapasitesinin üzerinde aşırı üretimi ile meydana gelmektedir (Oliva 1970). Laktik asidozis normal değer aralığı 0,4-1,2 mmol/l olan kan laktat konsantrasyonunun 5 mmol/l üzerine çıkması ve anyon açığının 10'un üzerinde olması ile karakterizedir (English ve Williams 2004). Anaerobik glikolizis nedeni ile laktat ve hidrojen iyonları oluşmaktadır. Doku hipoksisi ile gelişen laktik asidozis olguları tip A laktik asidozis, doku hipoksisi olmadan gelişen laktik asidozis olguları tip B laktik asidozis olarak isimlendirilmektedir (Katsilambros ve ark 2011).

Tip 2 diyabetin sağaltımında kullanılan metformin, fenformin gibi guanidlerin de laktik asidoz gelişimine katkıda buldukları bildirilmektedir (English ve Williams 2004). Özellikle fenformin kullanımının ölümcül laktik asidoz komplikasyonlarına sebep olduğu

bildirilmiştir (Watkins ve ark 1969). Metformin etkisi sebebi ile gelişen laktik asidozis olgularına sık rastlanılmadığı ancak mortalite riskinin oldukça yüksek olduğu belirtilmektedir (Katsilambros ve ark 2011).

1.5.1.4. Hipoglisemi

Diyabetin en sık karşılaşılan akut komplikasyonu olarak belirtilen diyabetik hipoglisemi, kan glikoz konsantrasyonunun aniden normalin altına düşmesi olarak tanımlanmaktadır. Hipoglisemi soğuk terleme, titreme, bulantı, çarpıntı, acıkma hissi, baş ağrısı, konsantrasyon güçlüğü, halsizlik, konuşma bozukluğu ve konfüzyon gibi klinik belirtilere neden olmaktadır. yetersiz beslenme veya fazla insülin alımı nedeni ile ortaya çıkmaktadır (Frier 2008).

Tip 1 diyabet hastası çocuk ve gençlerin kan şekeri kontrolünü yönetmede yetersiz kalmalarından nedeniyle hipoglisemi bu hastalarda ciddi problemler oluşturmaktadır (Jones 2009). Benzer nedenlerden dolayı yaşlı insanlarda da hipoglisemi komplikasyonu önem kazanmaktadır. Tip 1 diyabetli hastaların ölüm sebeplerinin %2-4'ünü hipogliseminin oluşturduğu tahmin edilmektedir (Frier 2008).

1.5.2. Diyabetin kronik komplikasyonları

Diyabetli bireylerde, zaman içerisinde vasküler sistemde yapısal ve fonksiyonel bozulmalar meydana gelmektedir. Diyabetin kronik komplikasyonları arasında sayılan hastalıkların temelinde vasküler sistem bozuklukları yatmaktadır (Fowler 2008).

1.5.2.1. Makrovasküler komplikasyonlar

Diyabetli hastalarda makrovasküler komplikasyonlar iskemik kalp hastalıkları, serebrovasküler ve perivasküler hastalıklar olarak sayılmaktadır. Diyabetli hastaların kardiyovasküler hastalıklar açısından yaş, obezite, sigara kullanımı, dislipidemi ve hipertansiyon nedeni ile bu hastalıklara yatkınlığı bulunan bireylerden dahi 4 kat daha fazla risk taşıdıkları ifade edilmektedir (Nuzum ve Merz 2015). Diyabetli hastaların miyokardiyal infarktüs riskinin, daha önce miyokardiyal infarktüs geçirmemiş normal insanlara göre 5 kat, daha önce miyokardiyal infarktüs geçirmiş olan ancak diyabetli olmayan hastalardan ise 2 kat daha fazla olduğu belirtilmektedir (Cade 2008). Diyabetli hastalarda serebrovasküler hastalıklar nedeni ile felçlerin gelişme riski 5 – 10 kat, alt ekstremitelerde iskemik rahatsızlıkların gelişme riskinin ise, diyabetli olmayan insanlara göre

neredeşye 20 kat daha fazla olduğu belirtilmektedir (Skrha ve ark 2015). Koroner arterlerde aterosklerozis, yaygın olarak gör÷lmektedir ve diyabetli hastalarda gör÷len yaygın ölüm nedeni olarak bildirilmektedir (Guithre ve ark 2004, Fowler 2008). Diyabetli hastalarda kardiyovasküler hastalıklar nedeni ile gerçekleşen ölüm oranı %70 olarak bildirilmektedir (Cade 2008, Fowler 2008).

Aterosklerozis kronik inflammasyon nedeni ile arter duvarlarının hasar görmesi sonucu gelişmektedir ve arter duvarlarında daralmaya neden olmaktadır. İnflammasyon ve endotel hasarına yanıt olarak okside olan düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) partikülleri endotel duvarında birikir. Anjiyotensin II'nin LDL'nin okside olmasını desteklediği bildirilmektedir. Daha sonra arter duvarına göç eden monositler makrofajlara farklılaşırlar. Makrofajlar okside olmuş lipidleri köpük hücrelerine dönüştürürler. Köpük hücrelerinin oluşumu makrofajların proliferasyonunu ve bölgeye T lenfosit hücrelerinin gelmesini sağlar. T lenfositler arter duvarında düz kasların proliferasyonunu ve kollejen birikimini sağlarlar. Bu durum yüksek lipid içerikli, fibröz bir kapsülle sarılı aterosklerotik skar dokusunun (ateroma) oluşması ile son bulmaktadır (Skrha ve ark 2015). Bu lezyonun rupturu akut vasküler infarktüslerin gelişmesine neden olmaktadır (Fowler 2008). Bu sürecin başlaması ve ilerlemesinin merkezinde, inflammasyon ile ilişkilendirilen faktörler sayılmaktadır. Bu faktörler tip 2 diyabetin gelişme nedenlerinden olan insülin direnci, yükselen C reaktif protein (CRP), plazminojen aktivatör inhibitörü 1 ve fibrinojen gibi inflammasyon faktörleri ile ilişkilendirilmektedir. Bu durum insülin direnci ile diyabetik kardiyovasküler hastalıklar arasında pozitif korelasyon olduğunu göstermektedir (Skrha ve ark 2015). Nitekim Tip 2 diyabet abdominal obezite, hipertansiyon, glikoz intoleransı, dislipidemi ve pıhtılaşma mekanizmasında artma gibi metabolik bozukluklar ile seyretmektedir ve kardiyovasküler hastalıkların tip 2 diyabet hastalarında görülme sıklığının daha fazla olduğu bildirilmektedir (Libby ve Plutzky 2002). Tip 2 diyabet hastalarında antihipoglisemik ajanlar ile etkili şekilde kan glikoz seviyesinin kontrolü sağlanmasının, kardiyovasküler hastalıkların gelişimi üzerine etkili olmadığı, yalnızca kalp krizi gelişme riskini azalttığı belirtilmektedir (Huri ve ark 2015). Ayrıca kadınların, erkeklere göre kardiyovasküler hastalıklar açısından daha fazla risk altında oldukları belirtilmektedir (Fowler 2008, Huri ve ark 2015).

Diyabetli hastalarda makrovasküler komplikasyonların gelişim mekanizmasının, diyabetli olmayan kişilerden daha hızlı gelişmesi haricinde bir fark olmadığı

belirtilmektedir. Yüksek kan glikoz düzeyinin makrovasküler patolojilerin gelişmesinde ki rolü henüz tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Yüksek kan glikoz seviyesinin pıhtılaşma mekanizması üzerine de olumsuz etkileri olduğu bilinmektedir. Yüksek kan glikoz seviyesi trombozisi artırır, fibrinin uzaklaştırılmasını engeller (Guithre ve ark 2004). Tip 2 diyabetli hastalarda platelet adezyonu ve hiperkoagülabilitenin arttığı belirtilmiştir. Plateletlerde kalsiyum regülasyonunun bozulmasının ve serbest radikallerin artmasının, platelet kümelenmesini arttırdığı belirtilmektedir. Diyabetli hastalarda plazmada plazminojen aktivatör inhibitör tip 1 molekülünün seviyesinin artmasının da fibrinoliz mekanizmasında bozulmaya neden olarak damarların tıkanmasına ve kardiyovasküler hastalıkların ortaya çıkmasına neden olduğu bildirilmektedir (Fowler 2008). Bu durum miyokardial infarktüs gelişiminde, beynin etkilenmesi ile felç durumunun ortaya çıkmasında ve ekstremitelere giden kan akışının azalmasına bağlı ağrı duyumunun ve enfeksiyonların iyileşmesinin gecikmesinde önemli rol oynamaktadır (WHO 2015).

Kardiyovasküler hastalıklar ve kanserden sonra, serebrovasküler hastalıklar nedeni ile gelişen felçlerin ölüm nedenleri arasında üçüncü sırada yer aldıkları bildirilmektedir. Serebrovasküler hastalıkların diyabet hastası olan tüm yaş grupları için, felç gelişimi açısından risk faktörü oluşturduğu ve diyabetli hastalarda görülen ani ölümlerden sorumlu tutulduğu bildirilmektedir (Cade 2008).

Diyabetli hastalarda görülen perivasküler arter hastalıkları, alt ekstremitelerde görülen aterosklerotik değişimleri kapsamaktadır. Birleşik devletlerde 12 milyon perivasküler arter hastalığına sahip diyabet hastası olduğu bildirilmektedir Perivasküler arter hastalıklarında alt ekstremitelerde arteriyel perfüzyon azalmaktadır, zamanla diyabet hastalarında alt ekstremitelerde amputasyonuna dahi ihtiyaç duyulabilmektedir. Ayak ülserleri, enfeksiyon ve gangren oluşumu görülen olgularda mortalite oranının oldukça yüksek olduğu belirtilmektedir (Palumbo ve Melton 2015, Rhee ve Kim 2015). Perivasküler arter hastalığı bulunan diyabet hastalarında ayak ülserlerinin gelişme oranı %2 – 4 olarak belirtilmektedir (Bowling ve ark 2015). Bu nedenle perivasküler arter hastalıklarının önlenmesinde tanı ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi önem kazanmaktadır. Doppler ultrason teknolojisinin gelişmesi ile ekstremitelerin kan basıncı ölçülebilmektedir. Dolayısıyla klinik semptomlar gelişmeden önce, noninvaziv olarak perivasküler arter hastalıklarına tanı koyulabilmektedir. Ayrıca röntgen görüntülerinde de arteriyel

kalsifikasyonun gözlenebileceği belirtilmektedir. Ancak bu durum hastalığın ilerlemiş aşamalarında meydana gelmektedir.

1.5.2.2. Mikrovasküler komplikasyonlar

Diyabet hastalığının mikrovasküler komplikasyonları arasında; retinopati, nöropati ve nefropati sayılmaktadır. Diyabette mikrovasküler disfonksiyonların gelişmesinde vitamin E gibi antioksidan bileşiklerin iyileştirici etkileri olduğu gösterilmişse de, gelişmelerini önlemede antioksidan bileşiklerin etkileri saptanmamıştır (Fowler 2008).

1.5.2.2.1. Diyabetik Retinopati

Diyabetik retinopati, diyabetin mikrovasküler komplikasyonları arasında en sık görülenidir (Fowler 2008, Wu ve ark 2015). Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl 10 000 diyabet hastasının, diyabetik retinopati nedeni ile kör olduğu bildirilmektedir (Fowler 2008). Diyabet körlüğe neden olan hastalıklar arasında üçüncü sırada sayılmaktadır (Durna 2015). Tip 2 diyabet hastalarında diyabetik retinopati gelişiminin hiperglisemi durumuna yüksek tansiyon varlığı eşlik ettiğinde gerçekleştiği bildirilmektedir. Diyabetik retinopatinin gelişiminde intrasellüler poliyol yolağının başlangıç enzimi olan aldoz redüktaz önemli rol oynamaktadır. Bu yolak glikozu, anaerobik olarak bir alkol molekülü olan sorbitole çevirmektedir. Hücrelerde sorbitolün birikimi ile gelişen ozmotik stresin, diyabetik retinopatinin altında yatan ana neden olduğu bildirilmektedir. Bundan başka inflammasyon, oksidatif stres, apoptozis, TNF- α ve interlökin-1 β (IL-1 β) gibi proinflammatuar sitokinler retinal nöroinflammasyonun ve nörodejenerasyonun gelişiminde rol oynamaktadırlar (Wu ve ark 2015). Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), transforme edici büyüme faktörü β (TGF β) ve büyüme hormonunun da diyabetik retinopati gelişiminde önemli rol oynadıkları belirtilmektedir. Diyabetik retinopatili hastalarda retinanın orta tabakasında, klinikte nokta kanamaları olarak adlandırılan, kılcal damarların kanaması görülmektedir (Fowler 2008).

1.5.2.2.2. Diyabetik Nefropati

Diyabetik nefropati, diyabetin böbrek yetmezliğine sebep olan mikrovasküler bir komplikasyonudur. Tip 2 diyabet hastası tanısı koyulan kişilerin, %7'sinde tanı aşamasında diyabetik nefropatinin gelişmiş olduğu bildirilmektedir. Buna karşın tip 1 diyabetli hastalarda nefropati gelişiminin, diyabet süresince ortalama on yıl içerisinde gerçekleştiği bildirilmektedir (Roett ve ark 2012). Patogenezi kompleks olmasına rağmen, diyabetik

nefropati gelişiminde oksidatif stresin önemli rolü olduğu bildirilmektedir. Oksidatif stres durumunda artan reaktif oksijen moleküllerinin çok çeşitli yollarla aktive ederek, glomerular hipertrofi gelişimine katkıda bulunan TGF- β ve matriks metalloproteinaz-9 işlevlerini değiştirdiği bildirilmektedir (Mi ve ark 2015). Sonuç olarak böbrek parenşiminde, böbrek yetmezliğine neden olan progresif glomerulosklerotik değişiklikler gelişir (Hsu ve ark 2015). Diyabetik nefropati de glomerular filtrasyon oranı düşer, klinik olarak proteinüri ve mikroalbüminüri görülmektedir. Histopatolojik olarak ise artmış, glomerulus bazal membran kalınlığı, mikroanevrizma oluşumu, Kimmelsteil-Wilson cisimcikleri olarak adlandırılan mezenşimal nodül formasyonunun görüldüğü bildirilmektedir. Renin anjiyotensin sisteminin blokajı, anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörlerinin ve anjiyotensin reseptör blokörlerinin kullanımının tip 1 ve tip 2 diyabet hastalarında mikroalbüminüri gelişimini engellemediği ancak, diyabetik nefropatinin ilerlemesini önlediği belirtilmiştir (Lewis ve ark 1993, Fowler 2008, Roett ve ark 2012).

1.5.2.2.3. Diyabetik Nöropati

Diyabetli hastalarda hipergliseminin üzerine etkisi nöropati gelişimi ve diyabetik nöropatinin patofizyolojisi tam olarak bilinmese de, polyol birikimi, enzimatik olmayan yollarla metabolize edilen glikoz son ürünlerinin zararları ve oksidatif stresin nöropati gelişimde rolü olduğu bildirilmiştir (Fowler 2008, Duksal ve ark 2015). Diyabetik nöropati gelişiminin inflammasyon ile ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada, dorsal sural ve median plantar nöropatili tip 2 diyabet hastaları ve prediyabetlilerde proinflammatuar TNF- α ve inflammatuar interlökin-10 (IL-10) sitokinlerinin nöropati gelişimini destekledikleri bildirilmiştir (Duksal ve ark 2015).

Kronik sensorimotor distal simetrik polinöropati, diyabetik nöropatinin en sık görülen formudur. Distal simetrik polinöropati hastaları genellikle alt ekstremitelerinde yanma, karıncalanma, elektrik çarpması hissi duyduklarından şikayet etmektedirler. Bazı hastalarda da yalnızca hafif bir uyuşma görülmektedir. Ağrı ve acı duyumu olmayan bu hastalar diyabetik ayak ülserlerinin gelişmesi açısından risk altındadırlar. Klinik olarak bu hastalarda ayak bileği refleksinin olmadığı görülmektedir. Diyabetik nöropatiden farklı sinir lifleri farklı derecelerde etkilenmektedir. Bu nedenle yalnızca sensor nöropati görülme sıklığının oldukça nadir olduğu bildirilmektedir. Benzer şekilde diyabetli hastalarda kraniyal nöropatiler de belirlenmiştir ancak oldukça nadir görülmektedir

diyabetik otonomik nöropati morbidite ve mortalite gelişiminde en önemli rolü oynamaktadır ve sıklıkla diyabetli hastalarda periferik sensorimotor nöropatlere eşlik etmektedir. Diyabetik otonomik nöropati çoğu organ ve sistemi etkileyerek konstipasyon, gastroparezis, diyare, anhidrozis, sidik kesesi disfonksiyonları, egzersiz intoleransı, kalıcı taşikardi, iskemik ve kardiyak problemler nedeni ile ani ölümlere neden olmaktadır. Diyabetik otonomik nöropatinin klinikte en sık karşılaşılan formları gastrointestinal sistem, kardiyovasküler sistem ve genitoüriner sistemin etkilenmesine bağlı görülen semptomlardır (Durna 2015).

1.5.2.3. Diyabette Gastrointestinal Sistem Tutulumu

Diabetes mellitus tüm organ ve sistemleri etkilediği gibi gastrointestinal sistemi de etkilemektedir. Gastrointestinal sistem hastalıkları diyabetli hastalarda oldukça yaygın görülmektedir (Zhao ve ark 2003, Bjelakovic ve ark 2005, Bragg 2008). Diyabet kliniğine başvuran hastaların %75'inin ciddi gastrointestinal problemler yaşadığı belirtilmiştir (Zhao ve ark 2003). Oral kaviteden, özofagus, mideden ince ve kalın bağırsaklara, anorektal bölgeye kadar tüm gastrointestinal sistemin diyabetten etkilendiği bildirilmektedir (Wolosin ve Edelman 2000). Bu nedenle diyabet hastalarında görülen gastrointestinal semptomlar kompleksdir. Disfaji, erken doyma, reflü, kabızlık, abdominal ağrı, bulantı, kusma ve ishal diyabetli hastalarda sık rastlanılan şikayetler arasındadır (Zhao ve ark 2003). Diyabet hastalarının zayıf glisemik kontrol yeteneği sonucu gelişen akut veya kronik hiperglisemi diyabetin diğer komplikasyonları ile birlikte şiddetli gastrointestinal sistem rahatsızlıklarına neden olmaktadır (Wolosin ve Edelman 2000). Diyabetin komplikasyonları arasında sayılan otonomik nöropati, diyabetik mikroanjyopati, zayıf glisemik kontrol, değişmiş insülin ve glukagon üretimi, gastrointestinal sistem enfeksiyonlarına yatkınlığın artması gibi birkaç mekanizmanın, gastrointestinal sistem komplikasyonlarına yol açabileceği bildirilmektedir (Bjelakovic ve ark 2005).

Gastrointestinal sistem hastalıklarının diyabet ve komplikasyonları ile ilişkilendirilmediği için çoğu diyabet hastasının gastrointestinal şikayetlerine tanı koyulmadığı ve tedavi edilmediği bildirilmektedir (Bragg 2008). Diyabetin gastrointestinal komplikasyonları arasında en sık görülen semptomlar başlıca gastroparesis, diyare, konstipasyon veya fekal inkontinansa sebep olabilen intestinal enteropati ve nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı sayılmaktadır (Wolosin ve Edelman 2000, Bragg 2008).

Tüm gastrointesitinal sistem organlarının diyabetten etkilendiği kabul edilmektedir. Bunlar arasında öne çıkan organlar özefagus, mide, ince bağırsaklar, kalın bağırsaklar, pankreas, karaciğer, safra kesesi olarak sayılmaktadır (Bjelakovic ve ark 2005). Diyabet hastalarında gelişen otonomik nöropati nedeni ile özefagusun, peristaltik hareketleri ve kontraksiyonlarının amplitüdü azalmaktadır. Mideye giriş kısmında bir nevi sfinkter yapısı oluşturan organın kas tabakasının zayıflaması ile reflünün açığa çıktığı da bildirilmektedir (Bjelakovic ve ark 2005, Bragg 2008).

Diyabetin önemli mide rahatsızlıklarına neden olduğu bilinirken, diyabetli hastalarda tanımlanmamış dispeptik sorunlarda da diyabet durumu sorumlu tutulmaktadır (Bjelakovic ve ark 2005). Hiçbir tıkanıklık durumu olmadığı halde gastrik boşalmanın gecikmesi; gastroparezis durumunu, 1945'te diyabet ile ilişkilendirerek ilk olarak Rundles periferik nöropatili bir hastada tanımlamıştır. Diyabetik gastroparezis'in tip 1 ve tip 2 diyabet hastaları arasında %30 – 50 oranında görüldüğü bildirilmektedir (Block ve ark 2006).

Diyabet hastalarında görülen intestinal problemlerin ana nedeni enterik sinir sisteminde yer alan nöronların disfonksiyonu olarak görülmekte ve enterik nöropati olarak adlandırılmaktadır (Bjelakovic ve ark 2005, Bragg 2008). Bu otonomik veya istemsiz olarak adlandırılabilir nöropati intestinal motilite ve fonksiyonların inhibisyonu, dolayısıyla intestinal fonksiyonlarda yavaşlamaya veya hızlanmaya neden olarak kompleks semptomların hastalarda ortaya çıkmasına neden olmaktadır. İnce bağırsaklarda içerik geçişinin motilite bozukluğu sebebi ile yavaşlaması bağırsak içeriğinde diyare ve abdominal ağrıya neden olan bakteri artışına neden olmaktadır (Wolosin ve Edelman 2000). Diyabetli hastalarda genellikle asemptomatik seyreden mide rahatsızlıklarının tersine ince bağırsaklarda görülen rahatsızlıklar semptomatik olarak hastalar için çok daha fazla rahatsız edici olmaktadır. İnce bağırsaklarda görülen rahatsızlıklar başlıca diyare, diyare ve steatore, malabsorpsiyon olarak sayılmaktadır (Bjelakovic ve ark 2005).

Bazen diyabetli hastalarda ayaklarda görülen periferik nöropati gibi enterik nöropati olgusu da hastalarda sürekli abdominal ağrı duyumuna sebep olmaktadır. Bu durumda olan diyabet hastalarının ağrı tedavisine yanıt vermedikleri ve çoğunlukla trisiklik antidepresan tedaviler uygulandığı belirtilmektedir (Wolosin ve Edelman 2000).

Pankreas hastalıkları diyebete neden olabildiği gibi, diyabetin de pankreasa zararlı etkileri bulunmaktadır. Karaciğerde diyabetle ilişkili olarak en sık görülen probem yağlı karaciğer hastalığı olarak bildirilmektedir. Diyabetli hastalarda safra kesesinde ise açıklanamayan yüksek insidansta safra kesesi taşı görülmektedir. Safra kesesi taşları akut kolesistit oluşturabilme potansiyelleri açısından ve opere edildikleri hallerde diyabetli hastalarda, operasyon sonrası gelişebilecek komplikasyonların yüksek olması sebebi ile önem arz etmektedir (Bjelakovic ve ark 2005).

Diyabet ile ilişkili komplikasyonların oluşmasında başlıca glikoz toksikasyonu nedeniyle aşırı miktarda reaktif oksijen moleküllerinin (ROS) üretimi rol oynamaktadır. İlginç olarak bu aşırı ROS üretiminin yalnızca kronik hiperglisemi süresince değil, yemekten sonra kan şekerinin yükseldiği; emilim hiperglisemisi sırasında da görüldüğü bildirilmektedir. Yüksek kan glikoz seviyesi gen regülasyonunu etkileyerek, metabolik yollarda bozulmalara neden olmaktadır. Bu etki hücre ve dokularda anormal miktarda yapısal moleküllerin üretimi (örneğin kollajen üretimi) gibi kantitatif ve anormal yapıda moleküllerin üretimi gibi kalitatif değişikliklere neden olmaktadır. (Skrha ve ark 2015).

Gastrointestinal sistemde bu semptomların zamanla gelişen diyabetik otonomik nöropati sebebi ile geliştiği düşünülmektedir. Diyabet Kontrol ve Komplikasyon Kurulu ise bundan farklı olarak diyabetin süresinin dolayısıyla otonomik nöropatinin değil, zayıf kan glikoz kontrol mekanizmasının semptomların gelişmesinde etkili olduğunu savunmaktadır (Shakil ve ark 2008). Diyabetli hastalarda gastrointestinal sistem komplikasyonlarında organ ve dokularda görülen değişikliklerin doğru olarak yorumlanabilmesi için normal anatomik ve histolojik yapının iyi bilinmesi gerekmektedir.

1.5.2.3.1. İnce Bağırsaklar Hakkında Genel Bilgiler

İnce bağırsaklar abdominal kavitede yer alan, tubuler yapılı, proksimalde mide distalde sekum ve kolon ile devam eden, besin maddelerinin sindirimi ve emilimini gerçekleştiren organlardır (Buraimoh ve Ojo 2012, Bass ve Wershil 2015). Morfolojik özelliklerine göre duodenum, jejunum ve ileum olmak üzere üç parçaya ayrılarak incelenirler. Yeni doğanlarda ortalama 200 - 250 cm uzunluğunda iken, yetişkin bir bireyde ortalama 6 – 8 m uzunluğundadırlar. Canlılarda bağırsak yapısında bulunan kas tabakasının tonusu nedeniyle 3 - 4 metre uzunluk gösterirler (Bass ve Wershil 2015). Hemen hemen tüm uzunlukları boyunca periton içerisinde yer alırlar. Yelpezae şeklinde bir

yapılaşma; radix mezenterii ile karın arka duvarına asılmış durumdadırlar. İnce bağırsaklarda lumen çapı başlangıçta 3-4 cm iken gittikçe azalarak distalde 2-3 cm civarına iner. Bağırsak yüzeyinde emilimi arttırmak için mukoza özelleşmiş bir takım yapılar içerir. Bunlar, Kerkring plikaları (plicae circulares), villuslar ve mikrovilluslardır. Kerkring plikaları lümeneye doğru çıkıntı yapmış sirküler tarzdaki mukoza kıvrımlarıdır. Bu yapılar bağırsak yüzeyinin genişlemesini ve emilimin artmasını sağlarlamaktadırlar (Bass ve Wershil 2015).

1.5.2.3.1.1. Duodenum

1.5.2.3.1.1.1. Duodenum'un Makroskopik Anatomisi

İnce bağırsakların ilk bölümü olan duodenum pars superior, pars descendens, pars horizontalis ve pars ascendens olmak üzere dört bölüme ayrılarak incelenmektedir. Bir 'U' veya yarım halka şeklinde olan duodenum'un kavsi içerisine pankreasın başı; çaput pancreatitis oturur. Erişkin bireylerde duodenum'un tümü göbek seviyesinin üzerinde bulunmaktadır ve ortalama 25 – 38 cm uzunluğundadır (Buraimoh ve Ojo 2012, Bass ve Wershil 2015).

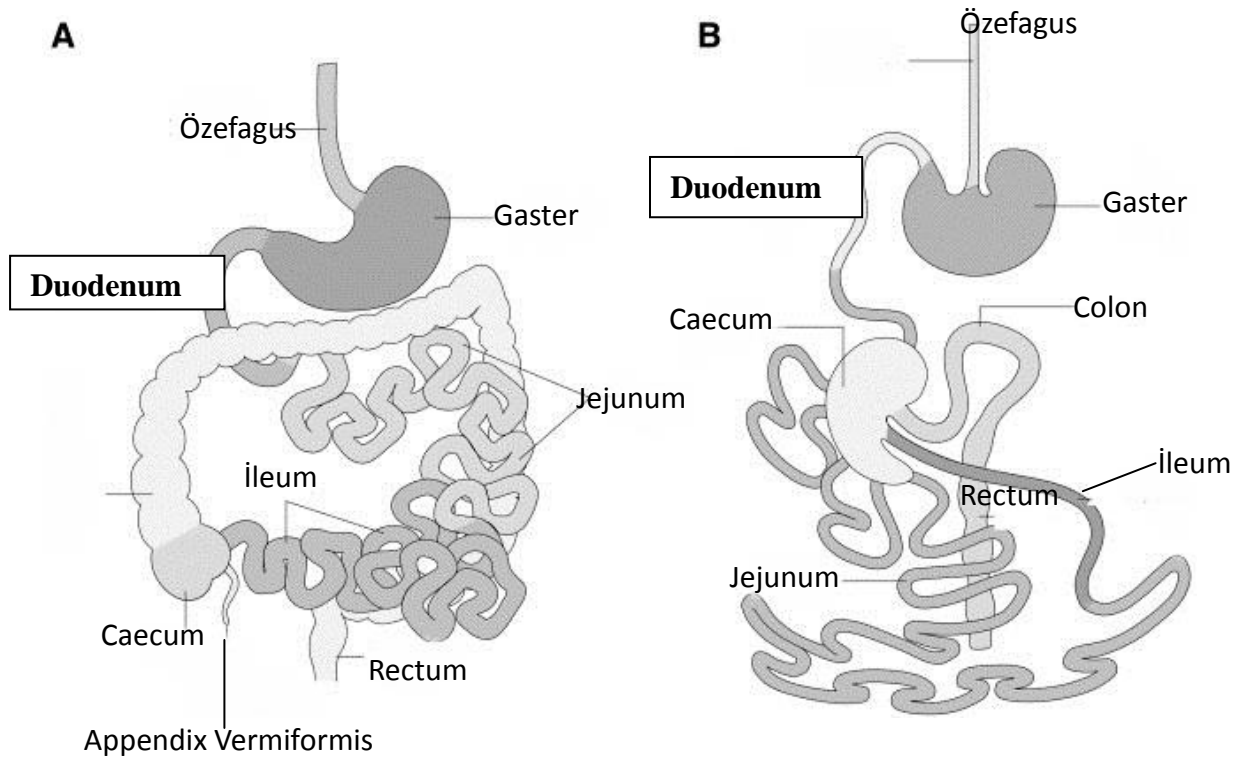
Ortalama 5 cm uzunluğunda olan pars superior sağa doğru uzanarak flexura duodeni superior denilen kıvrımı yaparak aşağıya doğru pars descendens olarak devam eder. Pars superiorun genişlemiş ilk yarısı ampulla (bulbus) duodeni ismini almaktadır. İntraperitoneal olan ampulla duodeni mide ile birlikte hareket edebilmektedir. Duodenumun geri kalan kısımları retroperitoneal olup hareketsizdirler (Arıncı ve Elhan 2006).

Ortalama 8 – 10 cm uzunluğunda olan pars descendens'e ductus choledochus ve ductus pancreaticus açılmaktadır. İki kanal duodenumun medial kenarında yan yana gelirler, duodenum duvarına oblik olarak girdikten sonra birleşerek ampulla hepatopancreatica'yı oluştururlar. Ampulla hepatopancreatica duodenumun iç ve arka duvarının birleştiği yerde bulunan plica duodeni major'a açılır. Ductus pancreaticus minor bulunduğu zaman papilla duodeni major'un 2 cm yukarısındaki papilla duodeni minor'a açılır (Arıncı ve Elhan 2006).

Ortalama 8 – 10 cm uzunluğunda olan pars horizontalis, ortalama 2,5 cm uzunlukta olan pars ascendens ile devam eder. Pars ascendens flexura duodenojejunalis denilen

kıvrımı yaparak jejunum ile devam eder. Flexura duodenojejunalis, ligamentum suspensorium duodeni (Treitz bağı) denilen, musculus suspensorius duodeni olarak isimlendirilen düz kas liflerini içeren, diafragmanın crus dextrum'undan başlayan ligament ile karın arka duvarına asılmış olarak bulunmaktadır (Arıncı ve Elhan 2006).

Ratlarda ince bağırsaklar insanlardakine benzer şekilde duodenum, jejunum ve ileum olmak üzere üç parçaya ayrılmaktadır ve ortalama 70 cm. uzunluğundadırlar. Duodenum ince bağırsakların en geniş çaplı bölümüdür, abdominal kavitenin sağ tarafında yer alır ve pars descendens, pars transversalis ve pars ascendens olmak üzere üç bölümde incelenmektedir. Midenin pylorusundan çıktıktan sonra geniş bir kavis yaparak arkaya ve sağa yönelir. Pars transversalis, pars descendens'in arkasında kalan kısa bölümdür. Duodenum'un son parçası pars ascendens kolonun sağ tarafı boyunca ilerler ve kolon ile arasında mesocolon'un distal parçasının oluşturduğu ligamentum duodenocolicum adı verilen bağ bulunmaktadır. Ligamentum duodenocolicum aynı zamanda duodenum'un sonlandığı sınırı oluşturmaktadır. Bu bağdan sonra ince bağırsaklar jejunum olarak devam ederler (Hamedi ve ark 2011).



Şekil 1.3. İnsanlarda (A) ve ratlarda (B) gastrointestinal sistem organlarının şematik görünümü

Ratlarda pankreas duodenum'un pars descendensi boyunca yayılan mesoduodenum ve omentum majus'un aşağı inen kısmı içerisinde yaygın lobuler bez yapısındadır. Bulunduğu bölgeye göre gastrosplenik, biliar ve duodenal olmak üzere üç loba ayrılarak incelenmektedir (Kara 2005, Halıgr ve Karakurum 2014). Median hattın sağında, mide ve dalağın ventralinde, duodenum'un pars descendens'i ile colon transversum arasında yerleşmektedir (Halıgr ve Karakurum 2014).

Ratlarda safra kesesi bulunmamaktadır. Karaciğerde yapılan safra, ductus biliaris adı verilen kanallarla duodenuma getirilir. Ductus biliaris'ler bazen pankreasın akıtıcı kanalları ile birleşerek ductus biliaropancreatici adı verilen kanalları oluşturularak duodenuma açılmaktadırlar (Halıgr ve Karakurum 2014).

1.5.2.3.1.1.2. Duodenum Histolojisi (Mikroskopik Anatomi)

Duodenum duvarı mukoza; tunica mucosa, submukoza; tunica submucosa, kas tabakası; tunica muscularis ve adventisya tabakası; tunica adventitia olmak üzere dört tabakadan oluşmaktadır (Palipoch ve ark 2013).

1.5.2.3.1.1.2.1. Tunica Mucosa

En ite yer alan mukoza tabakası; tunica mucosa, lamina epithelialis, lamina propria ve lamina muscularis tabakalarından oluşmaktadır. Lamina epithelialis absorpsiyonu sağlayan enterositler, goblet hücreleri, Paneth hücreleri ve enteroendokrin hücreler olmak üzere temel olarak dört hücre tipinden oluşmaktadır (Kim ve Ho 2010).

Enterositler epitel tabakasının baskın hücre tipidir ve absorpsiyon hücreleri olarak da adlandırılmaktadırlar. Enterositler bazal yerleşimli nükleusa sahip, uzun kolumnar hücrelerdir. Villuslar lamina epithelialis ve lamina propria'nın katılımı ile oluşan, epitelyal sınırdan başlayarak lümene uzanan parmak şeklinde çıkıntılardır (Buraimoh ve Ojo 2012, Palipoch ve ark 2013). Mikrovilluslar ancak elektron mikroskopta izlenebilen, epitel hücrelerin apikal yüzeylerinden lümene uzanan sellüler stoplazma çıkıntılıdır. Elektron mikroskop görüntülerinde lümene bakan yüzde adeta bir fırçamsı kenar oluştururlar (Anders 2011). Yüzeylerinde glikoprotein-polipeptid kompleksi içeren glikokaliks isimli koruyucu bir tabaka bulunur. Bu tabaka sindirimin son aşamasında emilimi sağlayan bazı enzimler içermektedir ve mikrovillus yapısını koruyucu özelliği

bulunmaktadır. Her enterositin yüzeyinde yaklaşık 3000 mikrovillus içerdiği bildirilmektedir (Buraimoh ve Ojo 2012).

Kök hücreler kriptlerin tabanında yer alan olgunlaşmamış hücrelerdir. Kök hücre belirtecinin (Lgr5) kullanılması ile son yıllarda keşfedilmişlerdir (Kim ve Ho 2010).

Goblet hücreleri oval veya yuvarlak şekilli, basık ve bazal yerleşmiş nükleusa, bazofilik ve metakromatik stoplazmaya sahip hücrelerdir. Enterosit hücrelerinden sonra epitel tabakasında en çok bulunan ikinci hücre tipidir (Buraimoh ve Ojo 2012). Kriptlerin üst yarısında baskın olarak bulunurlar. Gebeliğin 9-10. haftalarında, ince bağırsaklarda ilk olarak gelişen hücre tipi goblet hücreleridir (Kim ve Ho 2010).

Paneth hücreleri şişe şekilli, asidofilik granüler stoplazması olan, geniş tabanlı bazal membrana karşı pozisyon almış hücrelerdir. Çinko içerirler, antimikrobiyal peptidler, büyüme faktörleri ve bazı lizoenzimleri salgırlar. Bazı bakteri ve protozoon türlerini fagosite etme yeteneğine sahip olduklarından, intestinal mikrofloranın düzenlenmesinde önemli rolleri olduğu belirtilmektedir (Buraimoh ve Ojo 2012).

Enteroendokrin (nöroendokrin) hücreler kendilerine özgü endokrin fonksiyonları olan özelleşmiş hücrelerdir. Granülleri gümüş nitratı redükte edebildiğinden argentaffin hücreler olarak da isimlendirilmektedirler. Oval veya üçgen şekilli, bazal pozisyonlu, soluk boyanan stoplazmalarında koyu renkte boyanan granülleri ile karakterizedirler. Enteroendokrin hücreler çoğunlukla kriptlerin aşağı kısımlarında bulunsalar da epitelin herhangi bir bölgesinde de gözlenebilmektedirler. Bu hücreler kolesistokinin (CCK) salgılayarak pankreasın enzim sekresyonunu ve safra kesesinin kontraksiyonunu uyarırlar. Sekretin salgılayarak ise pankreas ve safra kesesi akıtıcı kanallarında bikarbonat sekresyonunu ve gastrik asit sekresyonunu inhibe eden gastrik inhibitör peptid (GIP) salgılanmasını uyarırlar (Buraimoh ve Ojo 2012).

Mikrofold (M hücreleri, membranöz hücreler) Hücreleri patojenleri bağlayarak lenfositler, makrofajlar veya mukozada bulunan lenfoid sistemin diğer üyelerine taşıyan özelleşmiş epitelyal hücrelerdir (Hamedi ve ark 2011, Buraimoh ve Ojo 2012).

Cajal bağırsak hücreleri (ICC) myenterik pleksusta yer alan, intestinal motiliteyi düzenleyen intersitisyel hücrelerdir. İnsanlarda ve memeli laboratuvar hayvanlarında intestinal sistem düz kas duvarı boyunca yer almaktadırlar. Buldukları bölgeye ve türe

bağlı olarak yapı ve organizasyonlarında geniş varyasyonlar görülmektedir (Fausone Pellegrini ve Thuneberg 1999).

Epiteli destekleyen lamina propria tabakası elastin, retikülin, kollajen lifler, lenfositler, plazma hücreleri, eozinofilik grenüositler, lenf ve kan damarları içeren retiküler bağ dokudan oluşmaktadır (Hamedı ve ark 2011).

Mukoza ve submukoza arasındaki sınırı oluşturan lamina muscularis ince bir tabaka düz kas liflerinden oluşmuştur. Dışta longitudinal içte sirküler kas tabakası bulunur. İçte bulunan sirküler kas tabakası villusların yapısına katılarak hareketlerini sağlar. Her villus uzunluğu boyunca kendisine paralel aktin filamentleri içermektedir (Hamedı ve ark 2011).

1.5.2.3.1.1.2.2. Tunica Submucosa

Tunica muscularis ve lamina muscularis arasında fibroblast, mast hücreleri, kan damarları, lenfatik damarlar, Meissner pleksusuna ait myelinsiz postganglionik sempatik sinir liflerini ve parasempatik ganglion hücrelerini içeren fibröz bağ dokusundan oluşan katmandır (Palipoch ve ark 2013). Duodenum'da bu bölgede, diğer ince bağırsak bölümlerinden farklı olarak Brunner bezleri bulunmaktadır (Buraimoh ve Ojo 2012).

İnce bağırsaklarda Brunner bezleri ve Lieberkühn kriptaları olmak üzere iki çeşit bez yapısı bulunmaktadır. Brunner bezleri proksimal duodenumda bulunan, morfolojik olarak pilorik bezlere benzeyen, salgılarını intestinal kriptlere boşaltan bezlerdir (Buraimoh ve Ojo 2012). Ratlarda pilorik bezlerle morfolojik olarak benzerliklerinin olmadığı bildirilmektedir (Krause 2000).

1.5.2.3.1.1.2.2.1. Brunner Bezleri

Brunner bezleri ilk olarak 1976'da Wepfer tarafından keşfedilmiştir. Wepfer bezlerin suda yumuşatıldığında çok miktarda mukus salgısı boşalttıklarını bildirmiştir. Dokuz yıl sonra Wepfer'in damadı olan, İsviçre'li anatomist Johann Conrad Brunner, duodenal bezleri at, koyun, domuz, kunduz, geyik ve köpekte incelemiş ve başlangıçta bu bezlerin aksesuar pankreas dokusu olduğunu düşünerek 'glandula duodeni' veya 'pancreas secundinarium' olarak adlandırmıştır. Daha sonra Middeldorpf'un bezlerin salgılarının pankreas ile aynı olmadığını keşfederek, bu bezleri Brunner bezleri olarak adlandırdığı bildirilmektedir (Krause ve ark 1967).

Brunner bezlerinin tüm memeli canlılarda bulunmasına rağmen diğer omurgalılarda bulunmadığı bildirilmektedir. Brunner bezlerinin gastrointestinal birleşme yerinden başlayarak türe göre ince bağırsakların proksimal kısmında, farklı uzunlukta yayıldıkları belirtilmektedir. Brunner bezlerinin çoğunlukla submukozada buldukları, ancak nadiren de olsa türlere göre lokalizasyonlarının farklılık gösterdiği bildirilmektedir. Domuz, köpek, geyik, dağ keçisi ve insanlarda Brunner bezlerinin bir kısmının mukoza altında da bulunduğu gösterilmiştir. Çoğu türde submukozada bulunan bezler pankreas kanalının açıldığı bölgede bulunmazlar (Krause ve ark 1967, Macea ve ark 2006).

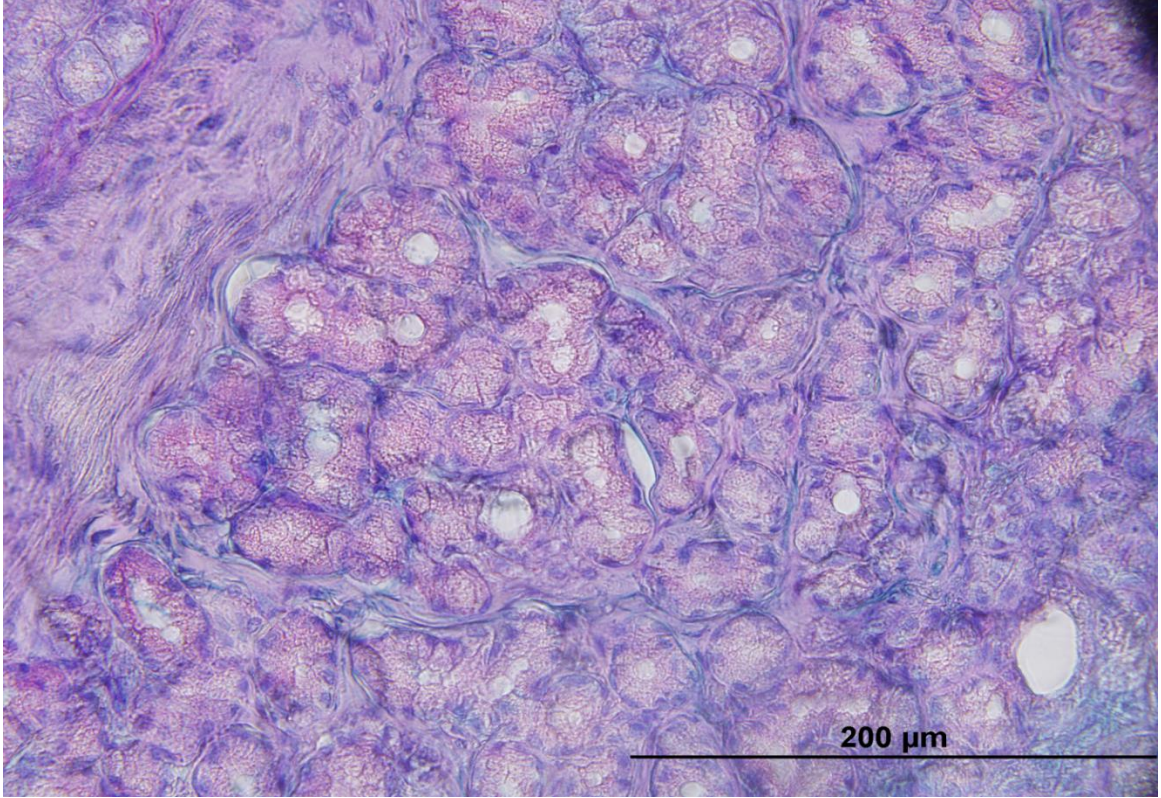
Duodenumda Brunner bezlerinin varlığı tartışılmaz olarak kabul edilmektedir ancak bezlerin duodenum duvarı boyunca, tam olarak lokalizasyonlarının neresi olduğu hakkında araştırmacılar arasında fikir ayrılıkları bulunmaktadır (Macea ve ark 2006). Botros ve arkadaşları (1990), Burkitt ve arkadaşları (2000) Brunner bezlerinin duodenumun ilk parçasında ve submukozada bulunduğunu belirtirken, Farkas (1989), Coutinho ve arkadaşları (1996) Brunner bezlerinin duodenumun başlangıç kısmının yalnızca birkaç milimetrik alanında bulduklarını, Giacosa (1989) ve Carnerio (2004) isimli araştırmacılar ise bezlerin bazen duodenumun distal bölümlerinde de bulduklarını öne sürmektedirler. Zollinger ve ark (1986), Desa ve ark (1991) ise Brunner bezlerinin proksimal jejunuma kadar yayıldığını belirtmektedirler. Herhangi bir hastalığı bulunmayan, 20 taze kadavradan alınan tüm duodenum örneklerinin, organın dört bölümünün her birini kapsayacak şekilde, 2'şer cm.'lik doku örneklerine ayrılarak histolojik olarak incelendiği bir çalışmada, duodenumun dört bölümünde de Brunner bezi tespit edilmiştir. Duodenumun ilk parçası pars superior'dan, son parçası pars ascendens'e kadar Brunner bezlerinin gittikçe azalma gösterdiği belirtilmiştir. Duodenum'un üçüncü parçası olan pars horizontalis'te altı örnekte, duodenumun dördüncü bölümü pars ascendens'de on iki örnekte Brunner bezinin tespit edilemediği bildirilmiştir (Macea ve ark 2006).

Ratlarda prenatal ve postnatal dönemde Brunner bezlerinin lokalizasyonu ve farklılaşmasının incelendiği bir çalışmada, Brunner bezlerinin postnatal 2 günlük ratlarda pilorik sfinkterin altında kompakt bir kitle oluşturarak, sfinkterin iç yüzünde proksimale doğru pilorik bezlerin altında yayılma gösterdikleri bildirilmektedir. Postnatal 4 günlük ratlarda ise pilorik sfinkterin altında aşağıya doğru, duodenum yönünde, duodenumun proksimal kısmında yayılma gösterdiklerine dikkat çekilmektedir. Erişkin ratlarda ise

Brunner bez kitlesinin büyük çoğunluğunun pilor bölgesi epitelinin altında yer aldığı bildirilmektedir (Krause ve ark 1967).

Brunner bezlerinin temel işlevi pH'sı 8 – 9.5 arasında olan, glikoprotein içeren, mideden gelen asit içeriği nötralize ederek pankreatik enzimlerin çalışabilmesi için uygun pH ortamını yaratan, saydam, visköz, alkali karakterde mukus ve bikarbonat iyonları salgılamaları olarak bildirilmektedir (Krause ve ark 1967, Macea ve ark 2006, Wong ve ark 2012, Buraimoh ve Ojo 2012). Brunner bezleri parasempatik vagal uyarıma karşı salgılarını üretmektedirler (Moore ve ark 2000). Florey ve Harding (1934) Brunner bezlerinin bulunduğu duodenum mukozasının asit erozyonuna karşı çok daha dirençli olduğunu göstermişlerdir. Ancak lokalizasyonu konusundaki fikir ayrılıkları, bezlerin temel işlevi konusunda da akıllara soru işareti getirmektedir. Çünkü insanlarda pankreasın ve safra kanalının akıtıcı kanalları duodenumun, araştırmacıların çoğuna göre hiç Brunner bezi bulunmayan, bazılarına göre ise çok az bulunan ikinci kısmı pars descendense açılmaktadırlar (Macea ve ark 2006).

Brunner bezleri rutin histolojik incelemelerde müsin dolu granülleri ile bazal olarak yerleşmiş oval veya yuvarlak çekirdekleri ve açık renk boyanan stoplazmaları görülür. Bez hücreleri basit küboid veya basit kolumnar yapıda olabilirler. Her bir bezin kanalı lamina muscularisi delerek intestinal bezlere veya çoğu durumda olduğu gibi mukozayı geçerek doğrudan duodenum epiteline açılmaktadır. İnsanlarda intestinal bezlerin orta kısmına açıldıkları bildirilmektedir.



Resim 1.1. Brunner bezlerinin ışık mikroskop görüntüsü (AB – PAS 40X)

Brunner bezleri, duodenumda asit içeriğin bulunması ile enteregastron isimli bir hormon salgılayarak, pepsinojen ve urogastron salınımını uyarırlar, böylece gastrik asit sekresyonunun inhibisyonunu ve hücre bölünmesinin artmasını sağlamaktadırlar (Wong ve ark 2012).

1.5.2.3.1.1.2.3. Tunica Muscularis

İçte sirküler, dışta longitudinal düz kas tabakasından oluşan katmandır. İki tabaka kas arasında plexus myentericus (Auerbach' s pleksus) bulunur. Parasempatik ve postganglionik sempatik lifler parasempatik ganglion hücrelerinde, postganglionik parasempatik lifler düz kas tabakasinda sonlanır.

1.5.2.3.1.1.2.4. Tunica Adventitia (Serosa)

Adventisya bağ dokunun en dış katmanıdır. Tek kat mezotelyal hücreler tarafından oluşturduğunda seroza olarak adlandırılır.

Ratlarda duodenum mukozasında plica circularis'ler bulunmaz, submukoza incedir ve lamina mukus yüzey hücreleri histolojik olarak yalnızca PAS ile boyanır.

1.5.2.4. Diyabette Oksidatif Strese Karşı Antioksidan Kullanımı

Serbest radikaller aterosklerozis, kanser ve diabetes mellitus gibi pek çok dejeneratif hastalığın patogeneğinde önemli rol oynamaktadır. Diabetes mellitus'ta antioksidan sistemin fonksiyonlarında olumsuzluklar meydana gelmektedir (Guven ve ark 2006). Metabolizmada hayati önem arz eden, komplike semptomlara neden olan Tip 1 diyabet hastalığında, oksidatif stresin zararlarını daha ılımlı hale getirmek amacı ile antioksidan kullanımı yaygın olarak araştırılmaktadır (Aksoy 2003). Çeşitli antioksidanların oksidatif stresin hasarını önlemede faydalı etkileri gösterilmiştir (Kharroubi ve ark 2015). Ratlarda oluşturulan deneysel diyabet modelinde vitamin C ve vitamin E'nin antioksidan olarak kullanımının, eritrositlerde oksidatif stres hasarının önlenmesinde olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir (Murase ve ark 1998, Sun ve ark 1999). Çalışmamızın materyal ve metoduna benzer olarak, Aksoy ve ark tarafından yapılan bir çalışmada (2003) 60 mg/kg STZ enjeksiyonu ile Tip 1 diyabet oluşturulan ratlarda, altı hafta süresince intraperitoneal melatonin uygulanarak karaciğer, böbrek ve kalp dokularında molandialdehid, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz düzeyleri incelenmiştir. Lipid peroksidasyonu sırasında karbon bağlarının kopması ile oluşan bir reaktif oksijen türü olan molandialdehid, süperoksit radikalini hidrojen peroksit radikaline çeviren enzim süperoksit dismutaz tüm doku örneklerinde diyabetli grupta, melatonin uygulanan diyabetli grup ve kontrol grubuna kıyasla yüksek olarak bulunmuştur. Hidrojen peroksitin indirgenmesinde görev alan glutatyon peroksidaz enziminin de diyabet grubunda arttığı görülmüştür.

Anwar ve Meki (2002) deneysel Tip 1 diyabet oluşturdukları ratlarda oksidatif strese karşı melatonin ve sarımsak yağı uygulamasını, hayvanlardan alınan karaciğer ve böbrek doku homojenatlarında ve eritrosit lizatlarında lipid peroksidasyonunu, süperoksit dismutaz ve glutatyon transferaz aktivitesini, nitrik oksit ve ürik asit düzeylerini araştırarak karşılaştırmışlardır. Sarımsak yağı veya melatonin uygulamasının araştırılan tüm parametrelerde oksidatif stres üzerine olumlu etkilerini tespit eden araştırmacılar yalnızca nitrik oksit seviyesinin, diyabetli grupla kıyaslandığında sarımsak yağı uygulanan hayvanlarda azalmadığını, ancak melatonin uygulanan hayvanlarda azaldığını rapor etmişlerdir. Baydaş ve ark tarafından yapılan başka bir çalışmada (2001) diyabetli ratlar sürekli ışık altında tutularak melatonin sentezleyebilme yetenekleri engellenmiştir. Karaciğer, böbrek ve beyin dokusunda, subkutan melatonin enjeksiyonu yapılan diyabetli

grupta molandialdehid düzeyi düşük bulunurken, glutasyon peroksidaz enziminin aktivitesinde artış bulunmuştur. Molandialdehid düzeyinin özellikle beyin dokusunda daha fazla düşüş gösterdiği kaydedilmiştir. Baydaş ve ark tarafından karaciğer, beyin ve böbrek dokusunda yapılan bir diğer çalışmada ise (2002) melatonin ve vitamin E'nin diyabetik ratlarda oksidatif stres durumuna etkileri karşılaştırılmıştır. Melatonin uygulanan hayvanların tüm dokularında molandialdehid konsantrasyonu vitamin E uygulanan hayvanlardan daha düşük bulunurken, vitamin E uygulanan hayvanlarda beyin ve böbrek dokusu hariç, karaciğer dokusunda glutasyon peroksidaz enzim aktivitesinde daha fazla artış kaydedilmiştir. Güven ve ark (2006) tarafından diyabetli ratlarda karaciğer dokusunun histolojik olarak incelendiği bir çalışmada melatoninin olumlu etkileri bulunmuştur.

Yapılan pek çok çalışmada melatoninin yüksek kan glikoz seviyesine etkisinin olmadığı ileri sürülmüşse de son zamanlarda yapılan çalışmalarda melatoninin kan glikoz kontrol mekanizmasında rolü olabileceğini düşündürmektedir (Baydaş ve ark 2002). Farelerde yapılan bir çalışmada melatoninin hiperglisemiye karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (Abdel-Wahab ve Abd-Allah 2000). Oral olarak uygulanan melatoninin diyabete yatkın rat türlerinde de diyabet başlangıcında koruyucu etkisi olduğu ve aynı hayvanların kan kolesterol ve trigliserid değerlerinde de diyabet hastası hayvanlara göre iyileşme gözlemlendiği kaydedilmiştir (Prunet ve ark 2003, Sartori ve ark 2009). Yapılan çeşitli genom çalışmaları, tip B melatonin reseptöründe meydana gelen, tekli nükleotid polimorfizmlerinin yükselen kan glikoz ve HbA1C seviyesi ve gestasyonel diyabet insidansının artmasıyla ilişkili olduğunu bildirmektedir. Melatonin reseptöründe fonksiyon kaybına neden olan bu polimorfizmler artış gösteren Tip 2 Diyabet insidansı ile ilişkilendirilmektedir (Bouatia-Naji ve ark 2009, Soranzo ve ark 2010). Günümüze kadar 39 yıl boyunca sürdürülen, 30-35 yaşlarında toplam 121.701 Tip 2 Diyabetli hasta ile yapılan bir vaka kontrol çalışmasında, gece sentezlenen melatonin miktarı sabah idrarında melatoninin major metaboliti 6-sülfatoksimelatonin (aMT6s) ölçülerek tespit edilmiş, yapılan çeşitli değerlendirmeler neticesinde melatonin sekresyonu ve tip 2 diyabet arasında ilişki saptanmıştır (McMullan ve ark 2013).

Diyabetik ratlarda vitamin E ve melatoninin antioksidan özelliklerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada ise kan glikoz konsantrasyonu üzerine vitamin E'nin olumlu etkisinin daha güçlü olduğu belirtilmiştir (Baydaş ve ark 2002).

1.5.2.4.1. Melatonin

1.5.2.4.1.1. Melatoninin Keşfi ve Melatonin Hakkında Genel Bilgiler

Melatonin, sentezi ışık uyarımı ile alınan karanlık-aydınlık sinyalleri ile regüle edilen, epifiz bezinde bulunan pinealosit hücrelerinden diurnal ritimde salgılanan bir hormondur (Merle ve ark 2000, Baydaş ve ark 2001, Espino ve ark 2011, Agil ve ark 2012). Epifiz bezi (epiphysis cerebri, glandula pinealis, corpus pineale) diencephalonun tavanında, üçüncü ventrikülün arka ucundan geriye doğru uzanan, şekil itibari ile çam kozalağı veya koniye benzetilen bir bezdir. Epifiz bezinde pinealosit hücrelerinin yanı sıra perivasküler bölgede ve pinealosit kordonları etrafında %5 oranında glial (intersitisyel) hücreler bulunmaktadır. Bunlara ek olarak, yaşın ilerlemesi ile, pinealositlerin salgıladığı matriks içerisinde kalsiyum fosfat ve kalsiyum karbonat granüllerinin birikmesi beyin kumu anlamına gelen acervulus cerebri (corpora arenacea) olarak adlandırılan cisimler bulunmaktadır. Melatonin sentezi karanlık ortamda gerçekleşmektedir. Bu nedenle melatonin karanlık hormonu olarak da adlandırılmaktadır (Espino ve ark 2011, McMullan ve ark 2013). Aydınlik ortamda epifiz bezinden hemen hemen hiç melatonin sekresyonu gerçekleşmez iken, karanlık ortamda salınımı başlar ve genellikle uyku başlangıcından 3 – 5 saat sonra pik yapar (Merle ve ark 2000, Espino ve ark 2011, McMullan ve ark 2013).

Melatoninin purifikasyonu ve karakterizasyonu ilk kez 1958 yılında Aron Lerner ve arkadaşları tarafından, sığır epifiz bezi ekstraktından sağlanmıştır (Jaworek ve ark 2005, Bubenik 2008, Carrillo-Viko ve ark 2013). Melatonin epifiz bezinde keşfedilmesinden sonra, Bubenik ve ark tarafından (2008) retinanın dış katında, Raikhlin ve Kvetnoy tarafından (1974) insan appendix vermiformis'inde tespit edilmiştir. Melatonin günümüzden elli yedi sene öncesinde keşfedilmiş olmasına rağmen, fizyolojik önemi nedeni ile günümüzde halen pek çok çalışmaya konu olmaktadır. Keşfinden bu yana sellüler ve moleküler düzeyde etkisinin anlaşılabilmesi için yapılan pek çok çalışma ile anlamlı bir ilerleme kaydedildiği bildirilmektedir (Jaworek ve ark 2007). Zamanla melatoninin sırrını ortadan kaldıran bu tutarlı çalışmalar, melatoninin farklı hayvan türlerinde, özellikle insanlarda vücudun çeşitli fonksiyonlarını etkilediğini, vücutta pek çok dokuda, özellikle santral sinir sisteminde melatonin raseptörlerinin yaygın olarak bulunduğunu bildirmektedir (Topal ve ark 2009). Buna rağmen melatonin birçok organ ve dokuya etki ettiğinden, çok daha kapsamlı çalışılması gereken bir alan olarak önemini korumaktadır (Chowdhury ve ark 2008). Öyle ki başlıca sezonal ve sirkadiyen ritmin

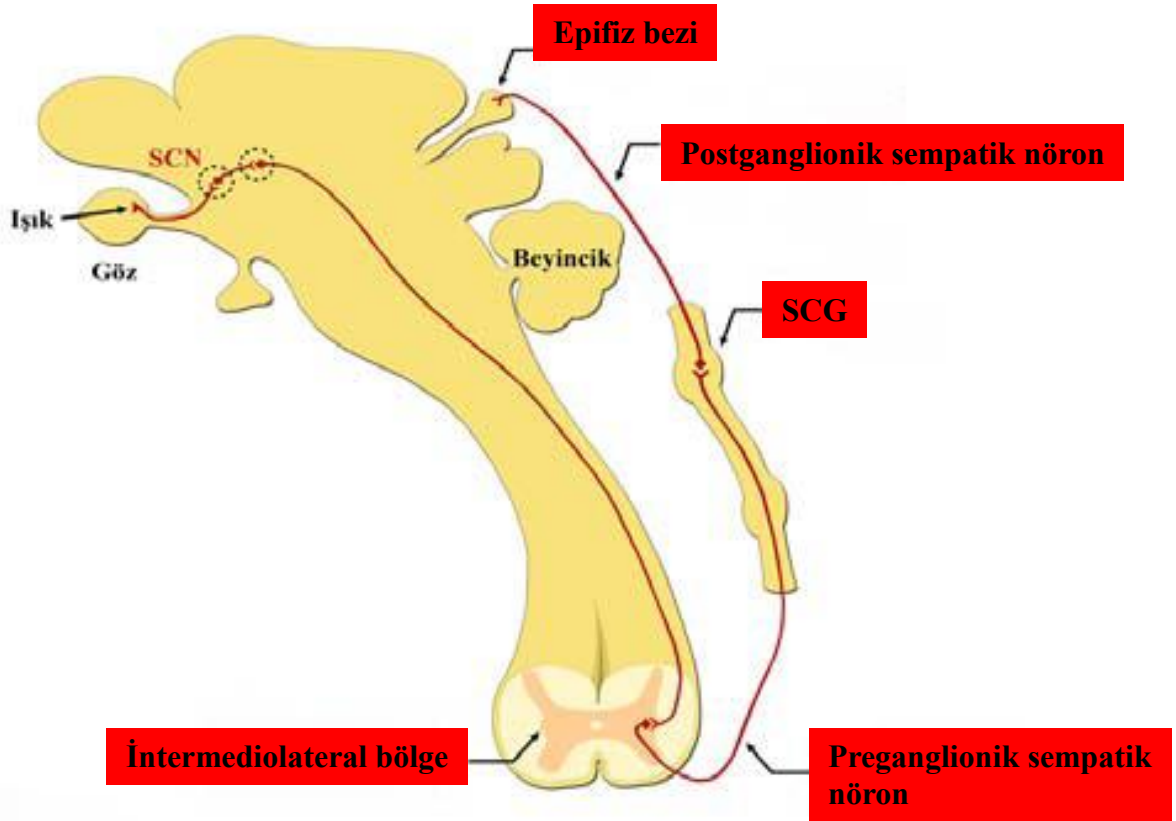
düzenlenmesinde etkili olduğu düşünölen melatoninin çok güçlü bir antioksidan olmasının yanında, endojen antioksidan sistemi aktive etme özelliğini de gösterdiği ancak 1993 yılında keşfedilmiştir (Espino ve ark 2011).

Pek çok interaksiyonları günümüze kadar aydınlatılamamış olmasına rağmen melatoninin immun sistem ile de bağlantılı olduğu bilinmektedir. Pozitif immunolojik etkileri arasında antiinflamatuar etkisi, sitokin salınımını artırıcı etkisi, bazı çalışmalarda saptanan enfeksiyon durumunda tespit edilen olumlu etkileri sayılmaktadır. Ayrıca yapılan çalışmalarda melatoninin in vitro ortamda kadmiyum ve bazı diğer ağır metallerle şelat oluşturduğu da gösterilmiştir. Melatonin klinik pratikte uyku bozuklukları (insomnia), anksiyete bozukluklarında, dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluklarında, migren, safra kesesi taşları, kanser tedavisinde, radyasyondan korunmada, kulak çınlamaları-uğuldamalarında, otizmde ve pediatrikte terapötik olarak kullanılmaktadır (Verma ve ark 2015).

1.5.2.4.1.2. Melatoninin Kimyasal Yapısı ve Sentez Mekanizması

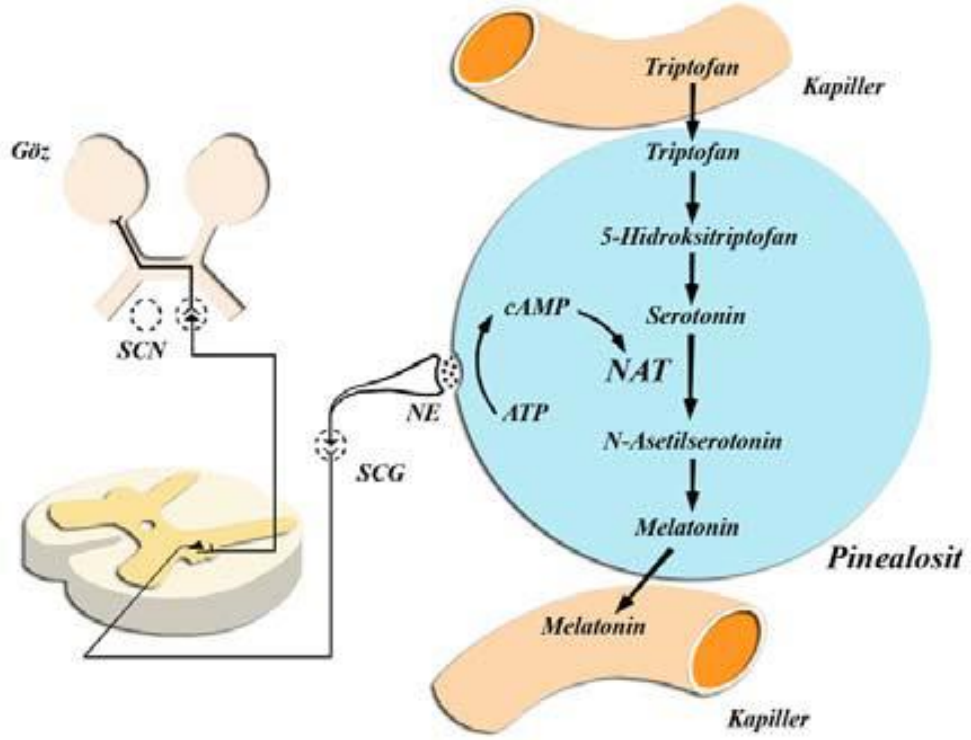
Serotonin gibi aminoasit türevi bir tür indolamin olan melatoninin Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC) isimlendirmesine göre kimyasal formülü N-asetil-5-metoksitriptamin'dir (Hardeland 2006, Jaworek ve ark 2007, Espino ve ark 2011, Carrillo-Viko ve ark 2013).

Günün aydınlanması ile uyarılan, gözün retinasında bulunan ışığa duyarlı ganglion hücreleri nervus opticus aracılığı ile aldıkları aydınlık-karanlık bilgisini taşıyan impulsu suprakiazmatik çekirdeklere iletmektedirler. Pinealosit hücreleri ışığa duyarlıdır, elektromanyetik dalga yoğunluğu yani gün ışığı arttıkça metabolizmaları yavaşlamakta dolayısı ile melatonin sentezi azalmaktadır. Aydınlık ortamda, suprakiazmatik çekirdek hücrelerinden, üst servikal ganglion hücrelerinin melatonin sentezinin uyarımını sağlayan impulsun salgılanmasını inhibe eden uyarımlar gönderilmektedir. Dolayısı ile üst servikal ganglionlar ile pinealosit hücreleri arasında iletişimi sağlayan adrenerjik yollar, aydınlık ortamda aktive edilemezler (Topal ve ark 2009).



Şekil 1.4. Melatonin sentezinin retina yolu ile sinirsel uyarım aşaması

Melatonin sentezi insanlarda ve hayvanlarda toplamda dört basamakta, diyet ile birlikte alınan esansiyel aminoasit L-triptofan kullanılarak gerçekleştirilmektedir (Leja-Szpak ve ark 2004). İlk iki basamakta L-triptofan öncelikle triptofan 5-hidroksilaz enzimi vasıtasıyla 5-hidroksi-L-triptofana (5HTP) dönüştürülür. Daha sonra 5- hidroksitriptofan dekarboksilaz enzimi ile dekarboksile edilerek 5-HTP serotonine dönüşür. Bu nokta hız sınırlayıcı aşamadır ve reaksiyonun devam etmesi ortamın aydınlık veya karanlık durumuna bağlıdır (Macchi 2004, Hardeland 2006, Espino ve ark 2011). Yalnızca karanlık ortamda, pinealosit hücrelerine gelen uyarımlar, G protein aracılığı ile, anahtar enzim olarak nitelendirilen N-asetiltransferazı (NAT) aktive ederek, serotonini N-asetil serotonine dönüştürür. Gündüz süresi boyunca pinealositlere kan dolaşımından alınan triptofan amino asidi NAT enzimi vasıtası ile serotonine dönüştürülür, gece süresince pinealosit hücrelerinde biriken serotonin melatonine dönüştürülür (Topal ve ark 2009). N-asetil serotonin, asetilserotonin O-metiltransferaz enzimi (HIOMT) vasıtası ile melatonine dönüştürülmektedir (Jaworek ve ark 2007, Carrillo-Viko ve ark 2013).



Şekil 1.5. Melatonin sentezinin kimyasal basamakları

Melatonin sentezi için gereken sinirsel uyarımlar ve pinealosit hücrelerinde gerçekleşen melatonin sentezinin aşamaları (SCN; suprakiazmatik çekirdek hücreleri, SCG; servikal gangliyon hücreleri, NE; norepinefrin, ATP; adozin tri fosfat, cAMP; siklik adozin monofosfat, NAT; N-asetiltransferanz enzimi)

Omurgalılarda melatonin sentezi norepinefrin tarafından düzenlenmektedir (Hardeland ve ark 2006). Norepinefrin beta adrenerjik reseptörler vasıtası ile intrasellüler siklik adozin monofosfat (cAMP) miktarını artırır ve cAMP-bağımlı protein kinaz A (PKA) enzimini aktive eder. PKA, N-asetiltransferaz enzimini fosforile ederek aktif hale gelmesini sağlar. Gün ışığında noradrenerjik uyarım durduğundan bu protein proteolizis ile yıkılmaktadır (Macchi 2004, Jaworek ve ark 2005, Jaworek ve ark 2007).

1.5.2.4.1.3. Biyolojik Sistemlerde Melatoninin Fonksiyonel Önemi

Epifiz bezinden salgılanmasının yanında bağırsaklar, deri, gözde bulunan Harder bezleri, retina, plasenta, böbrekler, pankreas solunum sistemi ve timüs, kemik iliği gibi lenfoid organlar ve immun sistem hücrelerinden de salgılandığı rapor edilmiştir (Kvetnoy 1999, Leja-Szpak ve ark 2004, Jaworek ve ark 2005, Hardeland ve ark 2006, Maldonado

ve ark 2010, Espino ve ark 2011, Carrillo-Viko ve ark 2013). Bu durum hücre ve dokular üzerinde melatoninin yerel etkilerinin olduğunu düşündürmektedir. Lokal olarak üretilen melatoninin hücre ve dokular için önemli bir antiinflammatuar ve antioksidan ajan olarak görev yaptığı bildirilmektedir (Agil ve ark 2012). Melatonin hücre düzeyinde etkisini, hücre membranında bulunan G proteinlerine bağlı reseptörleri vasıtası ile hücre içi sinyal iletim yollarını etkileyerek veya redoks oluşum sürecini etkileyerek göstermektedir (Carrillo-Viko ve ark 2013). Pankreas hücreleri de dahil olmak üzere vücutta pek çok dokuda melatonin reseptörlerinin varlığı tespit edilmiştir. Bu durum melatoninin enerji metabolizması, vücut ağırlığının kontrolü gibi fizyolojik işlevlerde de rolü olduğunu düşündürmektedir (Mcmullan ve ark 2013). Melatonin sezonal ve sirkadiyen ritmin düzenlenmesi, kardiyovasküler, nöroendokrin ve immun fonksiyonlar da dahil olmak üzere çok çeşitli biyolojik süreçlerde rol almaktadır (Merle ve ark 2000, Brzozowski ve ark 2005, Espino ve ark 2011). Bir nevi 'iç saat' olarak adlandırılan bu hormon reproduktif hormonların salınım zamanlamasını da düzenlemektedir (Jaworek ve ark 2010).

Sirkadiyen ritmin bozulmasının çeşitli metabolik hastalıkların ve glikoz intoleransının gelişimi ile korelasyon gösterdiği bildirilmektedir. Bu nedenle sezonal ve sirkadiyen ritmin korunmasının diyabetin önlenmesinde etkili olabileceği bildirilmektedir. Sirkadiyen ritim kronobiyojide 24 saatlik süreçte organizmanın kalp atım sayısı, tansiyon, uyku ve uyanma hali, vücut ısısı gibi birçok hayati işlevini düzenleme ve kontrolde etkili olarak tanımlanan biyolojik saattir. Son yıllarda yapılan çalışmalar doğrultusunda sirkadiyen ritmin nasıl kontrol edildiği konusunda olağanüstü gelişmeler kaydedilmiştir. Sirkadiyen lokomotor çıkış siklusları olarak adlandırılan bir grup karmaşık transkripsiyon faktörleri (CLOCK, circadien locomotor output cycles kaput), kas doku ve beyinde bulunan ARNT-1 ve BMAL-1 reseptörlerinin etkileşiminin periyodun kontrolünü sağlayan genlerde etkili olduğu bildirilmektedir. Sirkadiyen ritim endojen olarak ayarlanırken ışığında önemli rol oynadığı dış uyaranlar tarafından uyarılmaktadır. Aynı zamanda metabolizmanın sinyallerine de duyarlı olan bu sistemin hücrelerin oksidasyon durumunun CLOCK aktivitesini etkilediği bildirilmektedir (Mcmullan ve ark 2013).

Sirkadiyen ritmi ayarlanmasında, kardiyovasküler ve immun sistem üzerine olan etkilerinin yanında kimyasal yapısı nedeni ile melatonin çeşitli doku ve organların reaktif oksijen türleri (ROS) olarak adlandırılan oksidasyon ürünlerinden korunmasında oldukça etkili bir antioksidandır. Melatonin antioksidan özelliğini oluşturmuş olan ROS'ları

etkisizleştirerek gerçekleştirmektedir. Oksidasyon ürünlerinin oluşum mekanizmasına etki etmemektedir (Espino ve ark 2011). Melatonin antiinflammatuar etkisi dokuları yıkımdan korumaktadır ve bu etkisini çeşitli yollarla göstermektedir. Direkt olarak antioksidan özelliği neticesinde reaktif oksijen türlerini nötralize ederek tüm organları hasardan korur, nüklear faktör kappa b'nin (NFκ-B) nükleusa translokasyonunu ve deoksiribonükleik asit (DNA) ile birleşmesini engelleyerek IL-1 ve TNF-α gibi proinflammatuar sitokinlerin salınımını önler, lökositlerin endotel hücrelere yapışmasını sağlayarak endotel hücrelerinin dışına hücre göçünü ve ödem oluşumunu sağlayan adhezyon moleküllerinin üretimini engeller (Mcmullan ve ark 2013).

Melatoninin akut pankreatitis olgusunda pankreas üzerine olumlu antiinflammatuar etkisi olduğu gösterilmiştir (Jaworek ve ark 2012). Fizyolojik koşullarda mitokondriyonda moleküler oksijenden üretilen ROS'lar, organizmada doğal olarak bulunan antioksidan bileşikler (melatonin ve diğer antioksidanlar) tarafından hızlıca inaktive edilmektedirler. İnflamasyon, neoplastik ve nörodejeneratif hastalık durumlarında, organizmanın intrinsik savunma mekanizmasının üzerinde yoğun bir ROS üretimi vardır. Bu nedenle bu tip durumlarda ekzojen antioksidan kullanımı önem kazanmaktadır. Lipofilik yapısı nedeniyle hücre zarlarını ve kan-beyin bariyerini oldukça kolay geçebilmesi melatoninin antioksidan özelliğini önemli kılmaktadır. Melatonin güçlü bir antioksidan olmasının yanı sıra endojen antioksidan sistemi örneğin; süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz enzimlerini aktive etme özelliğine de sahiptir (Jaworek ve ark 2005).

1.5.2.4.1.4. Melatoninin Diyabet ile ilişkilendirilen İşlevleri

İnsan ve hayvanlarda yapılan çalışmalar sonucu elde edilen bulgular neticesinde melatoninin glikoz metabolizmasında ve tip 2 diyabet gelişimde de rolü olabileceğini düşünülmektedir. Pinealektomi uygulanan ratlarda hiperinsülinemi geliştiği tespit edilmiştir. Hiperinsülinemi görülen tip 2 diyabet olgularında Goto sakizaki cinsi ratlarda ve insanlarda kan glikozu üzerinde olumlu etkisi tespit edilmiştir. Ayrıca genom çalışmalarının yaygınlaşması ile melatonin 2 reseptöründe (MTNR1B) görülen tekli nükleotid polimorfizmlerinin bozulmuş glikoz toleransı (IGT) ve tip 2 diyabet oluşumu ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Agil ve ark 2012). Oral olarak alınan melatoninin yüksek yağlı diyet ile beslenen, diyabete yatkın rat türlerinde diyabet gelişimine karşı koruyucu etkisi olduğu ve hayvanlarda trigliserid ve kolesterol değerlerinin normal düzeyde tutulmasına ve kan glikoz seviyesi homeostazına katkı sağladığı belirtilmiştir (Prunet-

Marcassus ve ark 2003, Pulchalski ve ark 2003, Sartori ve ark 2009). Periferal dokularda yer alan melatonin reseptörlerinde meydana gelen tekli nükleotid polimorfizmleri nedeni ile kan şekerinin ve Hb A_{1c} seviyesinin oldukça yükseldiği, gestasyonel diyabet ve tip 2 diyabet yatkınlığının önemli ölçüde arttığı belirtilmiştir. Ayrıca gen ekspresyon çalışmalarının yaygınlaşması ile,oral olarak L-triptofan uygulandıktan sonra NAT enzimi pankreas dokusunda belirlenmiştir (Jaworek ve ark 2007). Ancak melatoninin glikoz metabolizmasındaki rolü henüz tam aydınlatılabilmiş değildir (Mcmullan ve ark 2013). Rasmussen ve ark (1999) tarafından obezite ile ilişkili tip 2 diyabet gelişiminde, günlük melatonin uygulamasının erkek ratlarda visseral yağlanma oranını, plasma leptin ve plasma insülin seviyesini azalttığı belirtilmiştir. Rios-Lugo ve ark da (2010) yüksek yağlı diyet ile beslenen ratlara oral olarak uygulanan melatoninin, vücut ağırlığı, hiperglisemi ve hiperinsülinemi azalttığı, plasma adiponektin, leptin, tirgliserit ve kolesterol düzeyini arttırdığını bildirmişlerdir.

Epifiz bezinde sentezlenmesinin yanı sıra, çok daha fazla miktarlarda melatonin bağırsaklarda enteroendokrin hücrelerde de sentezlenmektedir (Leja-Szpak ve ark 2004). Pinealektomize ratlara gündüz vakti, oral L-triptofan uygulaması ile kanda seviyesi artan melatoninin, bağırsaklardan sentezlenen melatonin olduğu bildirilmiştir (Brzozowski ve ark 2005, Jaworek ve ark 2007). Bağırsaklarda sentezlenen melatonin miktarının, plazmada bulunan melatonin miktarından 10 – 100 kat, pineal bezden sentezlenen melatonin miktarından ise 400 kat daha fazla olduğu belirtilmektedir (Jaworek ve ark 2005, Jaworek ve ark 2007, Bubenik 2008).

Epifiz bezinden sentezlenen melatonin etkisini endokrin olarak gösterirken, bağırsaklardan sentezlenen melatonin endokrin, parakrin, otokrin olarak etki etmekte ve luminal yüzeyde çeşitli işlevler göstermektedir Gece boyunca kanda bulunan melatoninin orijini epifiz bezi, gün boyunca kanda bulunan melatoninin orijini ise bağırsaklar olarak kabul edilmektedir (Bubenik 2008). Bağırsakların çeşitli bölgelerinde melatonin bağlayan alanlar olduğu gösterilmişse de, yapılan pek çok çalışmaya rağmen melatoninin bağırsaklardaki fizyolojik etkisi aydınlatılabilmiş değildir (Merle ve ark 2000).

İntraperitoneal olarak verilen veya bağırsak lümenine uygulanan melatoninin oldukça etkin olarak, pankreas amilaz sekresyonunu uyardığı belirtilmiştir. Ayrıca melatonin membran reseptörü (MT1 ve MT2) insanlarda pankreas dokusunda tespit

edilmiş ve bu reseptörlerin diyabetli hastalarda artış gösterdiği bildirilmiştir (Jaworek ve ark 2007).

Bağırsaklarda melatonin, serotoninin peristaltik üzerine olan işlevine doğal inhibitör etki yapmakta olduğu ilk kez 1965'te Quastel ve Rahamimoff tarafından in vitro ortamda tanımlanmıştır. Kolon fonksiyonlarında serotonin ve melatonin antagonizmi ilk kez Harlow ve Weekly (1986) tarafından gösterilmiştir. Serotonin bağırsak düz kaslarında kasılmaya neden olurken melatonin gevşemeye neden olmaktadır (Chau ve Patel 2008). Farelerde gıda boyama yöntemi ile yapılan bir çalışmada, oral olarak verilen gıdaların feçesle atılmasına kadar geçen süre gıda geçiş süresi olarak tanımlanmış melatonin uygulanan hayvanlarda bu sürenin çok daha uzadığı bildirilmiştir (Bubenik 2008). Melatoninin gastrointestinal sistem üzerine olan bu etkilerinin dolaylı olarak bağırsak – beyin eksenini yoluyla gerçekleştirdiği bildirilmektedir. Organların periferik reseptörlerinden duyuşal afferent yollarla alınan sinyaller merkezi sinir sisteminde değerlendirilerek, otonomik efferent lifleri ve nöromediyatörleri tarafından organların işlevleri üzerine etki etmektedirler (Jaworek ve ark 2005).

1.5.2.5. Deneysel Diyabet

Çeşitli hastalıkların patogenezinin anlaşılması, hastalıklardan korunmanın ve tedavi olanaklarının incelenebilmesi için deneysel hayvan modellerinin kullanımı yaygındır (Öntürk 2007). Çevresel faktörlerin etkilerini belirlemek için kontrollerin kullanılabilmesi, araştırılan patolojiye uygun hayvan türlerinin genetik olarak seçilebilmesi, anlamlı istatistiksel değerlendirme yapmaya izin verecek sayıda örnekte çalışılabilmesi, hayvan modelleri ile çalışmayı rasyonel hale getiren temel faktörlerdir (Zuhair ve ark 2009, Dhuria ve ark 2015). Ayrıca deneysel diyabet oluşturularak yapılan araştırmalar hastalıkların tedavi edilmesinde önemli bulgular kaydetmektedirler. Diyabetin sağaltımında önemli olabilecek gelişmelerin keşfi örneğin; sağlıklı ratlardan alınan pankreas dokusunun, diyabet hastası ratlarda testise subkutan olarak yerleştirilmesi, ve buraya yerleştiren dokunun insülin salınımını gerçekleştirmesi, deneysel enfeksiyonlar aracılığı ile mümkün olmaktadır (Akbarzadeh ve ark 2007).

Deney hayvanlarında deneysel diyabet oluşturulması, kimyasal ajanlarla, spontan olarak veya virüs aracılığıyla olmak üzere çeşitli yöntemlerle yapılabilmektedir (Akbarzadeh ve ark 2007, Öntürk ve ark 2007). Pankreasın cerrahi olarak uzaklaştırılması veya daha az başarılı olan bir yöntem olarak ön hipofiz ekstraktının kullanılmasıyla da

deneysel diyabet oluşturulmaktadır (Akbarzadeh ve ark 2007, Zuhair ve ark 2009). Cerrahi olarak tip 1 diyabet oluşturulabilmesi için, pankreas dokusunun %90-95'nin uzaklaştırılması gereklidir ve işlem sırasında uzaklaştırılan doku miktarı ölçülememektedir. Ayrıca uzaklaştırılmayan pankreas dokusunun, hipertrofi göstererek zaman içerisinde yeterli insülin salgısını yapmaya başlayabileceği, dolayısı ile diyabet oluşturmuş hayvanlarda spontan iyileşmelerin görülebileceği bildirilmektedir. Spontan olarak yaşamlarının belli bir döneminde otoimmün tip 1 diyabet gelişen özel fare ve rat türleri bulunmaktadır.

Kimyasal ajanlarla diyabet oluşturmak için kullanılan etkin maddeler Alloksan ve Streptozotosin, ditizona ve anti insülin serumudur. (Carvalho ve ark 2003, Akbarzadeh ve ark 2007, King 2012). Alloksan veya streptozotosin (STZ) ile oluşturulan deneysel diyabet modeli günümüzde üzerinde en çok çalışılan konular arasındadır. Deneysel olarak diyabet oluşturulan hayvan modellerinde, kısa sürelerde diyabetin patolojik komplikasyonlarını görmek amacıyla hayvanlar hipoglisemik ajanlarla tedavi edilmemektedirler. Bu nedenle, gelişen hipoglisemi veya hiperglisemi atakları sebebiyle hayvanlarda mortalitenin azaltılmasında, hayvanların diabetojenik aktiviteleri ve etken maddenin uygulama prosedürü önem kazanmaktadır. Hayvanların diabetojenik aktivitelerini kıyaslamak amacı ile yapılan bir çalışmada, Tip 1 Diyabet oluşturmak amacı ile uygulanan STZ'ye Sprague Dawley cinsi ratların Nude ratlara göre daha duyarlı olduğu gösterilmiştir (Abu Abeeleh ve ark 2009).

1.5.2.5.1. Alloksan

Alloksan monohidrat kimyasal formülü; (2,4,5,6- tetra pirimidin; 5,6-deoksiurasil) yapısında bir ürik asit türevidir. Suda kolayca çözünür, toz halinin 2-8 C°'de, solüsyon halinin ise ise 4 C°'nin ve altında saklanması gerektiği bildirilmektedir. Alloksan geri dönüşümsüz olarak diyabete neden olmaktadır (Carvalho ve ark 2003). Alloksan pankreas β hücreleri alloksana yüksek affinite göstermektedir. Taşıyıcı proteinler; GLUT 2 vasıtası ile hücre tarafından alınan etken madde, hücre içerisinde bir dizi oksidasyon reaksiyonu gerçekleştirmektedir (Chatzigeorgiou ve ark 2009, King 2012). Pankreas β hücrelerinin antioksidan savunma mekanizmalarının oldukça zayıf olduğu dolayısı ile oksidatif strese son derece duyarlı oldukları bildirilmektedir. Açığa çıkan serbest radikaller hücre DNA'sında fragmentasyona neden olarak hücre ölümüne sebep olmaktadır (King 2012).

1.5.2.5.2. Streptozotosin

N- (Methylnitrosocarbamoyl)- α -D-glucosamine; N-nitro türevi glikozamin yapısındadır, nötral pH'da ve ışıktta hızla dekompoze olur. STZ geniş spektrumlu bir antibiyotik ve özellikle memelilerde pankreas β hücrelerine sitotoksik bir maddedir (Akbarzede ve ark 2007). Deneysel diyabet oluşturmak amacı ile STZ'nin intravenöz veya intraperitoneal yol ile uygulanmaktadır. Kan dolaşımına giren STZ pankreas β hücrelerine insülin taşıyıcı molekül; GLUT 2 sayesinde girmekte ve hücre DNA'sının alkilasyonuna ve sonunda hücre ölümüne neden olmaktadır (King 2012). Streptozotosin uygulama dozuna bağlı olmak üzere Pankreas β hücrelerini hasarlayarak tip 1 ve tip 2 diyabete neden olmaktadır (Zuhair ve ark 2009). Yetişkin sıçanlarda tek doz (40-60 mg/kg) damar içi veya intraperitoneal yolla STZ uygulamasının tip 1 diyabete, yeni doğmuş sıçanlara tek doz periton içi veya damar içi yolla 100 mg/kg STZ uygulamasının ise tip 2 diyabete neden olduğu bildirilmiştir (Öntürk ve ark 2007, Zuhair ve ark 2009). Ratlarda diyabeti indüklemek amacı ile tek doz STZ uygulaması, oldukça yaygın olarak çalışılmaktadır (Aksoy ve ark 2003, King 2012). Streptozotosinin yüksek dozda kullanılarak, tek uygulama ile tip 1 diyabetin indüklenmesi yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu uygulama pankreas β hücrelerinde çok hızlı yıkımlanmaya neden olmaktadır. Buna rağmen yıkımlanmadan kalan pankreas dokusunun rejenere olarak spontan iyileşmelerin görülebileceği göz önüne alınmalı, deney hayvanlarının diyabet durumları rutin kan glikoz seviyeleri ölçülerek takip edilmelidir. Ayrıca streptozotosinin lenfopeniye neden olarak T lenfosit hücrelerinin sayısında artmaya neden olduğu bildirilmektedir (King 2012).

Çalışmamızda ratlarda deneysel diyabet oluşturarak, komplikasyonlarının temel sebebinin glikoz ototoksikasyonu ile geliştiği düşünülen diyabet hastalığında oldukça güçlü bir antioksidan olan melatoninin, kan glikoz düzeyine olan etkileri de göz önüne alınarak, duodenum üzerine olan morfolojik etkilerini araştırmayı amaçladık.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Deney Hayvanlarının Temin Edilmesi ve Bakımı

Çalışmada on altı haftalık, ağırlıkları 408-466,9 gr arasında değişen 32 adet yetişkin erkek Wistar Albino türü rat kullanıldı. Deney hayvanları Ankara'da bulunan Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edildi. Çalışmada hayvanlar normal bakım besleme koşullarında, her kafeste dört adet olacak şekilde, yem ve su kısıtlaması yapılmadan, standart pellet yem yedirilerek, polikarbon kafeslerde, 21 ± 1 °C ortam sıcaklığında, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ritimde (08:00-20:00), %45-60 nem oranına sahip Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'nda bakıldılar. Gruplar arasında diyabetin klasik semptomları poliüri, polidipsi ve polifaji açısından değerlendirilme yapılabilmesi için her gün aynı saatte hayvanların sulukları ve yemlikleri eşit miktarda dolduruldu. Hayvanların ortama adaptasyonu için geçirilen iki haftalık süreden sonra deney grupları oluşturularak çalışmanın uygulama aşamasına geçildi.

Çalışmada kullanılacak olan hayvan sayısı benzer çalışmalar, istatistiksel önemi ve etik değerler göz önüne alınarak minimum düzeyde tutulmaya çalışıldı. Etik nedenlerle her bir çalışma grubu için kullanılacak deney hayvanı sayısı 5 ila 10 arasında sınırlandırılmaktadır. Bu araştırmanın yapılabilmesi için Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 64583101/2014/030 no'lu onay alınmıştır.

2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Deney gruplarının oluşturulması için rastgele seçilen hayvanlar her grupta sekiz adet olmak üzere toplamda dört gruba ayrıldı. Gruplar diyabet grubu (D), diyabet ve melatonin grubu (DM), melatonin grubu (M) ve kontrol grubu (K) olarak isimlendirildi.

2.3. Deney Hayvanlarında Deneysel Diyabetin Oluşturulması

Deneysel diyabet oluşturmak amacı ile streptozotosin enjeksiyonu yapılmadan önce, deney hayvanlarının içerisinde diyabet hastası olabileceklerin belirlenebilmesi için, deney hayvanlarının lateral kuyruk veni; vena caudalis lateralis kullanılarak kan glikoz değerleri ölçüldü. Kan glikoz değerlerinin ölçümünde, glikoz oksidaz metodu ile kan glikoz seviyesini ölçen, ticari olarak temin edilen kit On Call Plus® (Almanya) kullanıldı. Tüm hayvanların kan glikoz değerleri 96 – 118 mg/dl aralığında, normal seviyede saptandı. Deney hayvanlarının içerisinde diyabet hastası tespit edilmediğinden, D ve DM grubunu

oluşturan hayvanlara STZ enjeksiyonu yapıldı. Literatür bilgisine dayanarak deney hayvanlarında deneysel tip 1 diyabet modeli oluşturmak amacı ile tek doz 60 mg/kg STZ intraperitoneal yol ile uygulandı. Tek doz 60 mg/kg STZ, pH 4.5 sodyum sitrat tamponunda toplamda 1 ml. hacimde çözdürülerek intraperitoneal yol ile uygulandı (Baydaş ve ark 2002, Aksoy ve ark 2003, Anwar ve Meki 2003, Guven ve ark 2006, Braslaşu ve ark 2007). Streptozotosin enjeksiyonunu takip eden 18 saat süresince, hayvanlarda hipoglisemi nedeni ile gelişebilecek mortalite oranını azaltmak için D ve DM grubu hayvanların kafeslerinde bulunan suluklara toplam hacimin %15'ini oluşturacak şekilde glikoz eklendi. Streptozotosin enjeksiyonunu takip eden üçüncü günde deney hayvanlarının lateral kuyruk veni kullanılarak kan glikoz değerleri ölçüldü. Kan glikoz konsantrasyonu 200 mg/dl ve üzerinde bulunan hayvanlar diyabet hastası olarak kabul edilip çalışmaya dahil edildi. Çalışmamızda deneysel diyabet oluşturmak amacı ile STZ enjeksiyonu yapılan tüm deney hayvanlarının kan glikoz değerleri 200 mg/dl üzerinde saptandığından, tümü çalışmaya dahil edildi.

Tip 1 diyabette nadir görülen bir durum olsa da, spontan iyileşmelerin belirlenebilmesi ve hayvanlarda canlı ağırlığın takip edilebilmesi için, her hafta aynı gün hayvanların canlı ağırlıkları ve kan glikoz değerleri ölçüldü.

2.4. Melatonin Uygulama Prosedürü

Çalışmanın gerçekleştirildiği toplam altı haftalık süre boyunca, D grubu deney hayvanlarına herhangi bir uygulama yapılmaz iken, DM ve M grubu deney hayvanlarına her gün 10 mg/kg melatonin, toğlamda 1 ml hacimde olacak şekilde, %1'lik etanol çözeltisinde çözdürülerek intraperitoneal olarak uygulandı (Aksoy ve ark 2003). Kontrol grubu deney hayvanlarına ise, her gün %1'lik etanol çözeltisi intraperitoneal olarak uygulandı.



Resim 2.1. Ratlarda intraperitoneal enjeksiyon uygulaması

2.5. Deneyin Sonlandırılması ve Doku Örneklerinin Alınması

Altıncı haftanın sonunda çalışmanın gerçekleştirildiği deney hayvanları 5 mg/kg Ksilazin (Alfazyne®) ve 100 mg/kg Ketamin (Ketalar®) anestezisi altında servikal dislokasyon yapılarak sakrifiye edildi. Servikal dislokasyon yapılmasının hemen ardından, Hemogloblin A_{1c} değerlerinin ölçülmesi amacı ile ratlardan EDTA'lı tüplere kan alındı.

Kan örnekleri alındıktan sonra, deney hayvanları cerrahi işleme tabi tutularak, median hattın dikey insizyon ile karın boşlukları açıldı. Duodenum proksimalde gastroduodenal birleşme bölgesi, distalde ratlarda duodenum ve kolon arasında bulunan ve duodenum jejunum geçiş sınırını oluşturan plica duodenocolica dikkate alınarak ligatüre edildi. Brunner bezlerinin lokalizasyon farklılıkları göz önüne alınarak, proksimalde pilor bölgesinin bir kısmı da duodenum doku örnekleri ile birlikte alındı. Ligatüre edilen doku örnekleri kesilerek karın boşluğundan çıkarıldı ve tespit edilmeleri için formaldehit solüsyonu içerisine konuldu.

2.5.1. Duodenum Doku Örneklerinin İşlenmesi

Alınan duodenum doku örnekleri %10'luk formaldehit çözeltisi içerisinde konularak yirmi dört saat süre ile tespit edildi. Bağırsak dış çapı gibi, bağırsağın tüm uzunluğu boyunca değişkenlik gösteren histometrik parametreler nedeni ile histometrik ölçümlerin gerçekleştirileceği duodenum doku örnekleri tek bir bölgeden alındı. Bu amaçla gastroduodenal birleşme bölgesinin bir serçe parmağı aşağısından ortalama 1 cm uzunluğunda doku örnekleri alındı. Alınan duodenum doku parçaları Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda rutin histolojik doku takibi yapılarak parafin bloklara gömüldü. Parafin doku bloklarından Leica RM 2135 mikrotom ile 5µm'lik kesitler alındı. Alınan kesitler histometrik ve histokimyasal incelemeler için, hematoksilin – eozin, Alsiyan mavisi, PAS, Alsiyan mavisi-PAS boyaları ile işleme tabi tutularak boyandı.

Histometrik ölçümler Bx51 ışık mikroskopunda, olympus dp70 objektif kullanılarak, AnalySIS LS Starter görüntü analiz sisteminde gerçekleştirildi. Doku preparatlarının mikroskop görüntüleri DP Controller programı ile fotoğraflandı. Deney gruplarının arasında kimyasal ajanlara verilen cevaplar, lümende asidik mukus miktarı (ASM), goblet hücre mukus salgısının karakteri (GHS), villuslarda PAS reaksiyon şiddeti (PASV), kriptlerde PAS reaksiyon şiddeti (PASK) bakımından histoskorlanarak, histokimyasal olarak değerlendirildi.

2.5.1.1. Hematoksilin Eozin (HE) Boyama Metodu

Lamlar üzerine alınan doku kesitleri 16 saat etüvde bekletildikten sonra 1 saat ksilolde tutularak deparafinizasyon ve saydamlaştırma işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra azalan alkol serilerinden geçirilen preparatların rehidrasyonu sağlandı ve sırası ile hematoksilin ve eozin ile boyandı. Boyama işleminden sonra artan alkol serilerinden geçirilerek dehidre edilen preparatlar, ksilolde saydamlaştırıldı. Entellan kullanılarak lamel ile kapatılan preparatlar ışık mikroskopunda incelemeye hazır hale getirildi.

Çizelge 2.1. Hematoksilen Eozin boyama yöntemi

İŞLEM	SÜRE
Deparafinizasyon	Etüvde 16 saat
Ksilol ile saydamlaştırma	1 saat
Rehidrasyon (%100, %95, %80 ve %70'lik etil alkol serilerinden geçirme)	1'er dakika
Distile Su	5 dakika
Harris Hematoksilen solüsyonu	5 dakika
Distile su	1dakika
Eozin solüsyonu	5 dakika
Dehidrasyon (%70, %80, %95 ve %100'lük etil alkol serilerinden geçirme)	1'er dakika
Ksilol	10 dakika
Kapatma (entellan)	

2.5.1.2. Periodic Acid Schiff (PAS) Boyama Metodu

Çeşme suyundan geçirilen kesitlerin 5 dakika Periodic acid reaktifi ile oksidasyonu sağlandı. Süre sonunda distile suda hızlıca yıkanan kesitler laboratuvar koşullarına bağlı olmak üzere, boyanma derecelerine göre 5-15 dakika Schiff reaktifi ile kaplandı. Daha sonra akarsu altında 5 dakika yıkanan kesitler yine laboratuvar gereksinimlerine göre 3-5 dakika Mayer hematoksilen solüsyonu ile kaplandı. Süre sonunda akarsu altında mavimsi

renk verene kadar bekletilen doku kesitlerinin %95'lik alkolde dehidrasyonu sağlanarak entellan ile kapatıldı.

Çizelge 2.2. Periyodik acid schiff boyama yöntemi

İŞLEM	SÜRE
Periodic acid reaktifi ile kaplama	5 dakika
Distile su	Bekletme yok
Schiff reaktifi ile kaplama	5-15 dakika
Akarsu altında yıkama	5 dakika
Mayer hematoksilen solüsyonu ile kaplama	3-5 dakika
Akarsu altında yıkama	En az 2 dakika
Dehidrasyon (%95'lik alkol)	2 dakika
Ksilol	10 dakika
Entellan ile kapatma	

2.5.1.3. Alcian Blue pH 2,5 (AB pH 2,5) Boyama Metodu

Etüvde 16 saat bekletilen doku kesitleri distile sudan geçirilerek 30 dakika Alcian Blue reaktifi ile kaplandı. Akarsu altında ortalama 2 – 5 dakika yıkanan kesitler Nuclear fast red boyama solüsyonu ile kaplanarak, laboratuvar koşullarına göre 2-5 dakika boyandı. Akarsu altında 1 dakika yıkanan kesitlerin artan alkol kesitlerinden geçirilerek dehidrasyonu sağlandı ve entellan ile kapatıldı.

Çizelge 2.3. Alcian Blue pH 2,5 boyama yöntemi

İŞLEM	SÜRE
Deparafinizasyon	Etüvde 16 saat (60°C)
Ksilol ile saydamlaştırma	1 saat
Alcian Blue pH 2.5 boyama solüsyonu ile kaplama	30 dakika
Akarsu altında yıkama	2-5 dakika
Nuclear fast red boyama solüsyonu ile kaplama	5-10 dakika
Akarsu altında yıkama	1 dakika
Dehidrasyon (%70, %80, %95 ve %100'lük etil alkol serilerinden geçirme)	1'er dakika
Ksilol	10 dakika
Entellan ile kapatma	

2.5.1.4. Alcian Blue pH 2.5 – Periodic Acid Schiff Boyama Metodu (AB pH 2,5/PAS)

Distile sudan geçirilen doku kesitleri Alcian blue pH 2.5 solüsyonu ile 30 dakika kaplanarak boyandı. Akarsu altında 2 dakika yıkanan preparatlar Periodic acid solüsyonu ile kaplanarak 10 dakika bekletildi. Süre sonunda distile sudan geçirilen preparatlar 30 dakika Schiff's reaktifi ile kaplandı. Süre sonunda 5 dakika akarsu altında yıkanan preparatlar distile sudan geçirilerek, 3 dakika Harri's hematoksilen solüsyonu ile kaplandı. Akarsu altında 2 dakika yıkandıktan sonra artan alkol serilerinden geçirilen preparatların, ksilolde 10 dakika saydamlaşması sağlanarak entellan ile kapatıldı.

Çizelge 2.4. Alcian Blue pH 2.5 – Periodic Acid Schiff boyama yöntemi

İŞLEM	SÜRE
Distile sudan geçirme	Bekletme yok
Alcian Blue pH 2.5 solüsyonu	30 dakika
Akarsu altında yıkama	2 dakika
Periodic acid solüsyonu	10 dakika
Distile sudan geçirme	Bekletme yok
Schiff's reaktifi ile kaplama	30 dakika
Akarsu altında yıkama	5 dakika
Distile sudan geçirme	Bekletme yok
Harri's hematoksilen solüsyonu	3 dakika
Akarsu altında yıkama	2 dakika
Dehidrasyon (%70, %80, %95 ve %100'lük etil alkol serilerinden geçirme)	1'er dakika
Ksilol ile saydamlaştırma	10 dakika
Entellan ile kapatma	

2.5.2. Histometrik Analiz

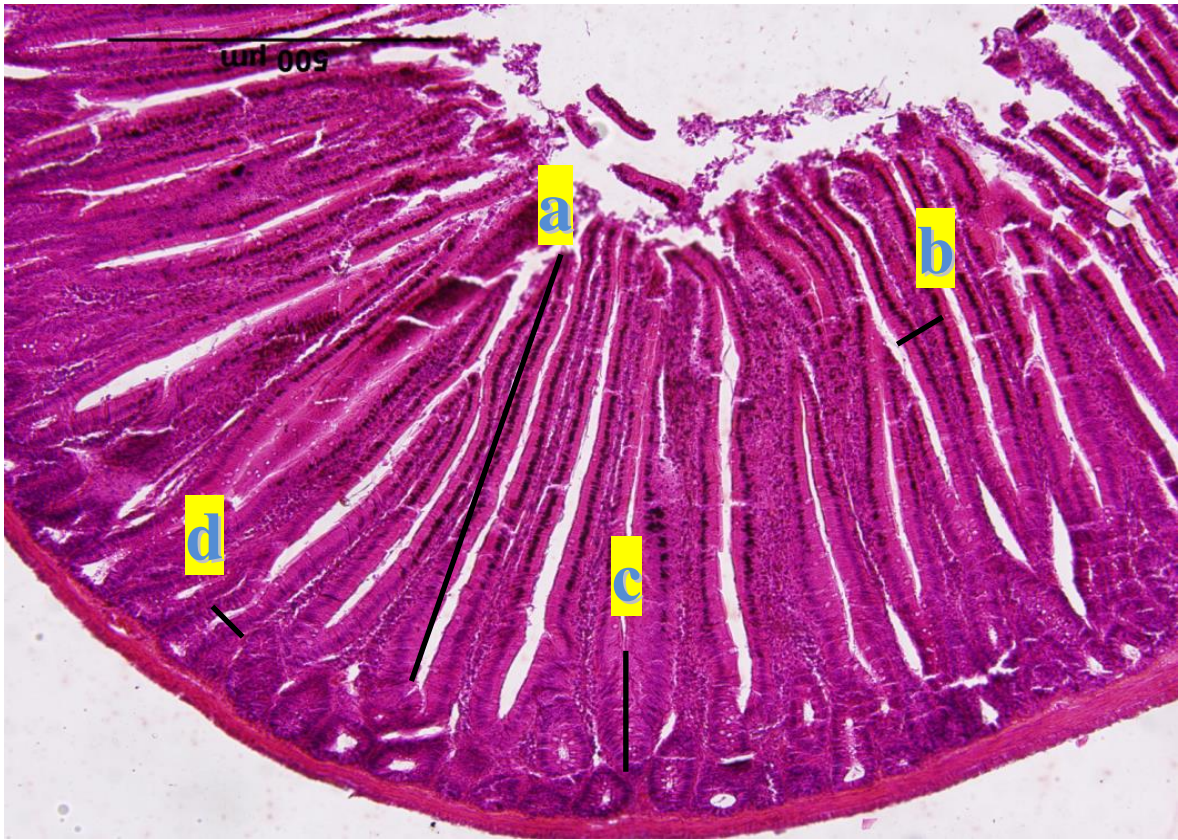
İşlenen doku örneklerinin mikroskopik morfolojileri çeşitli parametreler belirlenerek histometrik olarak incelendi. Belirlenen parametrelerin; villus uzunluğu (VU), villus genişliği (VG), kripta derinliği (KD), kripta çapı (KÇ), tunica muscularis kalınlığı

(TM), villus goblet hücre sayısı (GS), atardamar (AÇ) ve toplardamar çapları (VÇ), brunner bezlerinin çapları (BRÇ), bağırsak dış çapı (BÇ) her doku örneğinden aralıklarla alınan toplam 10 kesitte ölçümü gerçekleştirildi. Toplamda 20 bin 480 histometrik ölçüm gerçekleştirildi.

Alınacak kesit sayısı ve kesit başına ölçüm yapılacak grup değişkeni sayısı One-Sample T-Test Power Analysis PASS 11 programında, alfa değeri 0,05 alınarak ve benzer bir çalışmanın (Bakır ve ark 2015) kontrol grubu verileri değerlendirilerek belirlendi.

2.5.2.1. Villus Uzunluğu Ölçümü

Her kesitte rastgele seçilen, kesit alma ve boyama gibi işlemler sırasında hasar görmemiş, iyi yapıda 10 adet villus seçildi. Villus uzunluğu ölçümü, villusların lumene bakan apikal uçlarından bazalde villus – kripta birleşim yerine kadar olan mesafeyi ifade etmektedir (Elbe ve ark 2014). Her doku örneğinden on kesit alınarak, her kesitte iyi yapıda 10 villus seçilerek, bir grup için toplamda 800 adet villus uzunluğu ölçüldü.



Resim 2.2. Villus uzunluğu (a), villus genişliği (b), kripta derinliği (c), kripta genişliği (d) ölçümünde dikkate alınan referans noktaları (H+E, X10).

2.5.2.2. Villus Genişliği Ölçümü

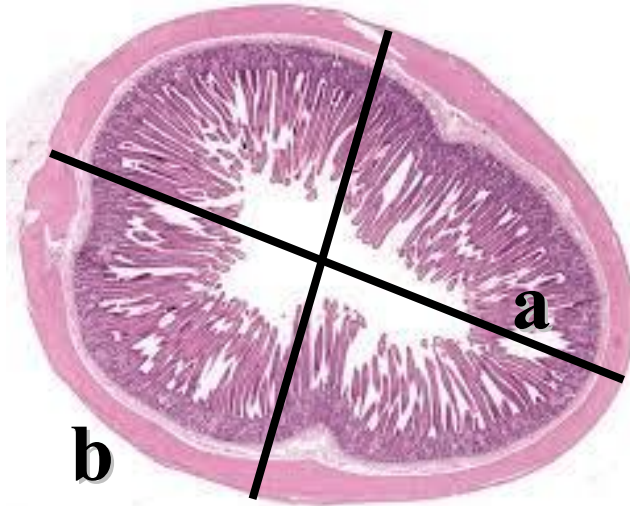
Villus uzunluğunun orta bölgesinde ölçülen villus genişliğini ifade etmektedir (Elbe ve ark 2014). Her doku örneğinden aralıklarla alınan on kesitin her birinde 10'ar ölçüm yapılarak bir grup için toplamda 800 adet villus genişliği ölçüldü (Ekinci ve ark 2004).

2.5.2.3. Kripta Derinliği Ölçümü

Kripta derinliği ölçümü bitişik iki villusun arasında kalan, epitel tabakasının oluşturduğu invaginasyon derinliğini ifade etmektedir. (Xu ve ark 2003, Awad ve ark 2008). Her doku örneğinden aralıklarla alınan on kesitin her birinde 10'ar ölçüm yapılarak bir grup için toplamda 800 adet kripta derinliği ölçüldü (Ekinci ve ark 2004).

2.5.2.4. Kripta Çapının Hesaplanması

Kripta çapı ölçümü, kripta derinliği ve kripta derinliğinin orta bölgesinden ölçülen kripta genişliğinin aritmetik ortalamasını ifade etmektedir. Her doku örneğinden aralıklarla alınan on kesitin her birinde alınan on adet kripta derinliğinin, genişliği de ölçülerek ortalaması alındı. Bir grup için toplamda 800 adet kripta çapı hesaplandı (Ekinci ve ark 2004).



Şekil 2.3. Bağırsak dış çapının hesaplanmasında dikkate alınan referans noktalar, $a+b/2$: dış çap.

2.5.2.5. Bağırsak Dış Çapının Hesaplanması

Bağırsak dış çapı ölçümü, bağırsak kesitinin boyuna ve enine tüm uzunluğu boyunca, birbirlerini dik kesecek şekilde alınan iki doğrunun aritmetik ortalamasını ifade etmektedir. Her doku örneği için aralıklarla alınan on kesitin her birinin çapı ölçülerek, bir grup için toplamda 80 adet bağırsak dış çapı ölçümü hesaplandı (Ekinci ve ark 2004).

2.5.2.6. Goblet Hücreleri Sayısının Belirlenmesi

Goblet hücre sayısı, villusların orta bölgesinden itibaren belirlenen 200 µm'lik birim uzunluk boyunca sayılan toplam goblet hücre sayısını ifade etmektedir (Bozkurt ve ark 2008). Her doku örneği için aralıklarla alınan on kesitin her birinde seçilen iyi yapıda on villus kullanılarak, her kesit için on adet goblet hücre sayısı sayılmıştır. Bir grup için toplamda 800 villusta yer alan, 800 goblet hücre sayısı sayıldı.



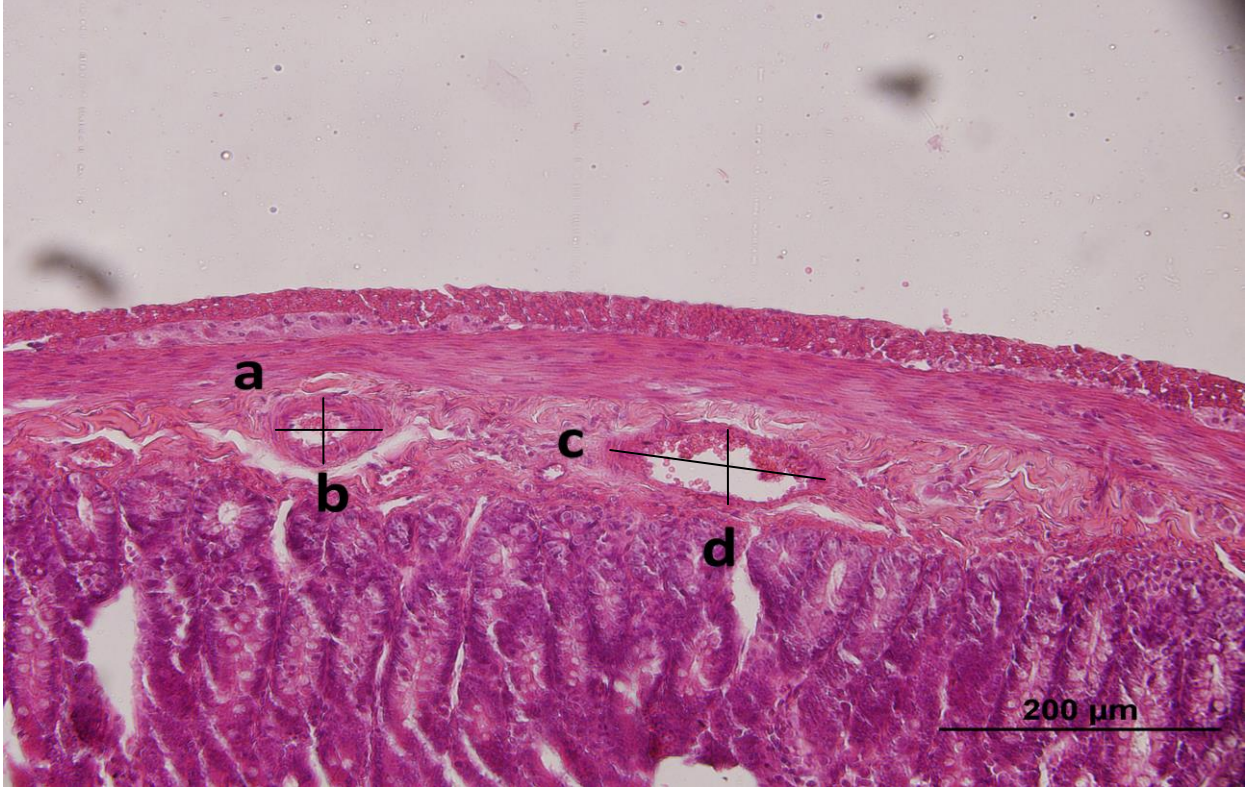
Resim 2.4. K grubu deney hayvanı villuslar ve goblet hücreleri (PAS 100X)

2.5.2.7. Tunica Muscularis Kalınlığı Ölçümü

Her doku örneği için alınan on kesitin her birinde farklı beş bölgeden kas tabakası kalınlığı ölçülerek bir kesit için, ölçülen bu beş değer ortalaması alınmıştır. Bir grup için toplamda 80 adet tunica muscularis kalınlığı ölçülmüştür.

2.5.2.8. Arter ve Ven aplarının Hesaplanması

Doku kesitlerinde arterler düzgün yuvarlak veya oval şekilli ve kas tabakası kalın olarak görülürken venler tam yuvarlak veya oval şekilde olmayan, kas tabakası dolayısıyla duvar yapısı ince görünen damarlar olarak birbirlerinden ayırt edildi.



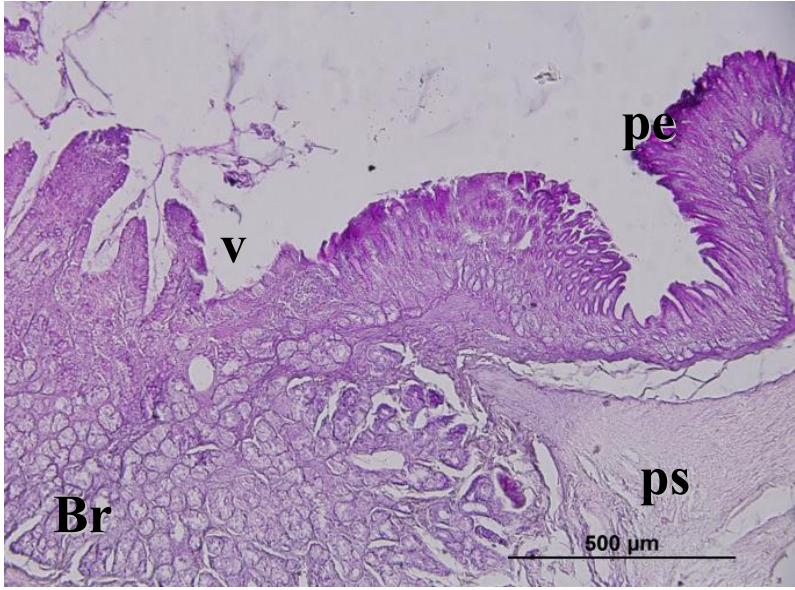
Resim 2.5. Arter ve ven çaplarının hesaplanması için dikkate alınan referans noktaları $a+b/2$; arter çapı, $c+d/2$; ven apı (H+E 40X)

İncelenen her kesitte görülen, birbirine eşlik eden arter ve venlerin uzunlamasına ve enlemesine çapları alınarak, aritmetik ortalamaları hesaplandı. Her doku neği için alınan toplam on kesitin her birinde birer adet llen arter ve ven çapı ölümü, bir grup için toplamda 80 adet lld.

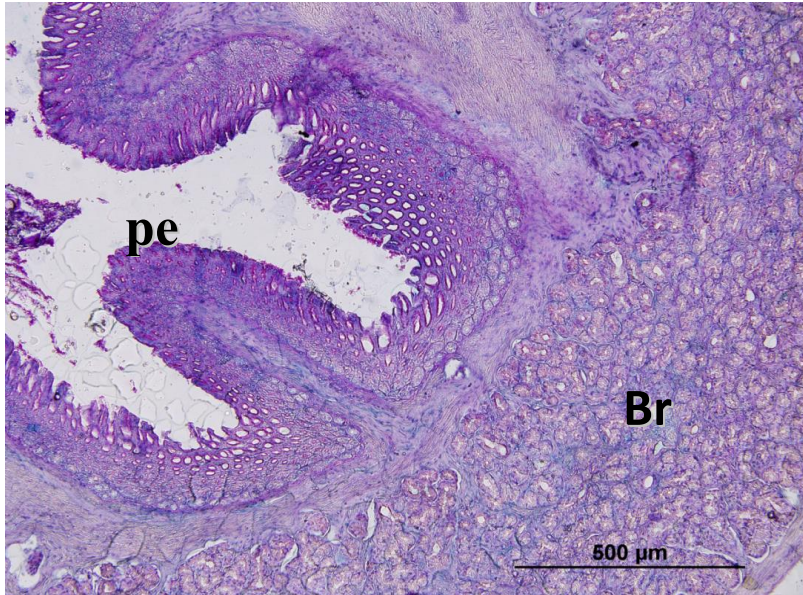
2.5.2.9. Brunner Bezlerinin aplarının Hesaplanması

Çalışmamızda histometrik incelemeler için, gastroduodenal birleşme bölgesinin bir serçe parmağı aşağısından alınan doku örneklerinde dördü diyabet, beşi kontrol, altısı melatonin grubu deney hayvanlarından olmak üzere toplamda on beş hayvanda duodenumun doku örneklemesini gerçekleştirdiğimiz bölümünde Brunner bezi tespit edildi. Diğer hayvanlarda Brunner bezlerinin mideye yakın olan duodenumun proksimal

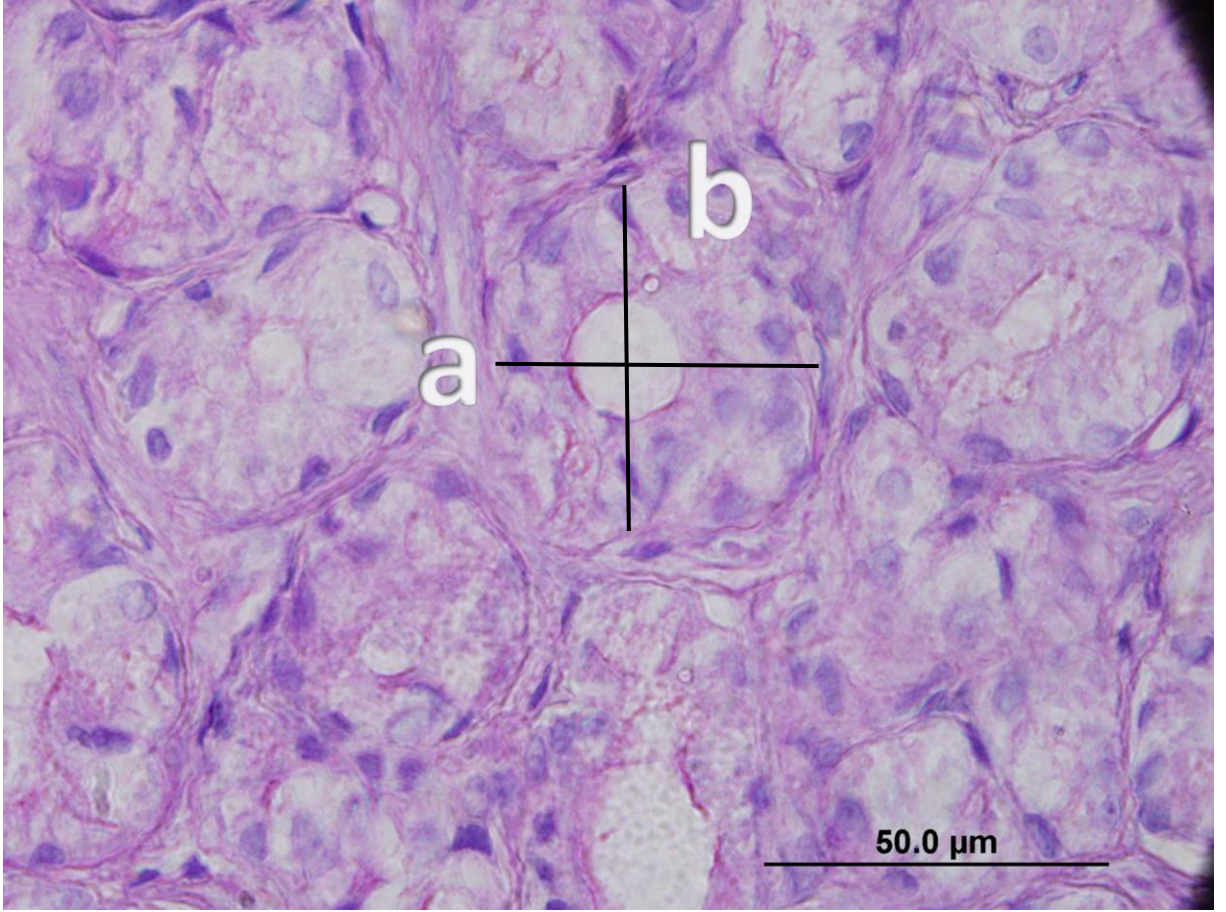
bölümünde, hatta on bir hayvanda mide içerisinde pilorik epitelin altından başlayarak, duodenumun proksimalinde çok sınırlı bir alanda yayılma gösterdiği tespit edildi.



Resim 2.6. DM grubu bir hayvanda, duodenumun proksimalinde yer alan, musculus sphincter pyloricus'un bitiminden hemen sonra başlayan Brunner bezleri (Br). musculus sphincter pyloricus (pilorik sfinkter, ps), pilor bölgesi epitel (pe), duodenum villus yapısı (v) (Longitudinal kesit, PAS 10X).



Resim 2.7. Pilor bölgesi epitel (pe) altında lokalizasyon gösteren Brunner bezleri (Br) (Transvers kesit, AB - PAS 10x)



Resim 2.8. Brunner bezlerinin çaplarının hesaplanması için dikkate alınan referans noktaları, $a+b/2$: brunner bez çapı (PAS 100x)

Brunner bezlerinin çapları ölçümü, yuvarlak veya oval şekilli olan bez yapılarının uzunlamasına ve enine alınan çaplarının aritmetik ortalamasını ifade etmektedir. Her doku örneği için alınan toplam on kesitin her birinde, sınırları düzgün seçilen on adet Brunner bezi seçilerek, bir kesit için toplamda 10 bir grup için toplamda 800 adet ölçüldü.

2.5.3. Histokimyasal Değerlendirme

Işık mikroskop altında, proje ekibini oluşturan iki farklı kişi tarafından kesitlerde; villuslar arası alanda ve lümeninde serbest asidik mukus miktarı (ASM), goblet hücrelerinin salgı karakteristikleri (GHS), villuslarda PAS reaksiyon şiddeti (PASV) ve kriptalarda PAS reaksiyon şiddeti (PASK) parametreleri açısından değerlendirildi.

Çizelge 2.5. Uygulanan boyama yöntemleri ve amaçları

Uygulanan Yöntem	Kaynak	Uygulanan Yöntemin Amacı
AB pH 2,5	İli ve ark 2014	Lümeninde asidik mukosubstansın belirlenmesi
PAS	İli ve ark 2014	Nötral mukosubstansın belirlenmesi, dokuların PAS reaksiyon şiddetinin karşılaştırılması
AB pH 2,5/PAS	Linden ve ark 2008	Goblet hücrelerinde nötral ve asidik mukosubstansın karşılaştırılması

Her bir parametre kendi içerisinde çizelge 2.6. 'da görüldüğü şekilde histoskorlandı ve her deney hayvanı için iki kişi tarafından, toplamda 10 kesitte verilen histoskorların ortalaması alınarak istatistiksel analiz gerçekleştirildi.

Çizelge 2.6. Histokimyasal incelemeler için belirlenen parametrelere verilen histoskor değerleri

ASM için oluşturulan histoskor değerleri	1; Az
	2; Orta
	3; Fazla
GHS için oluşturulan histoskor değerleri	1; Mavi – mor
	2; Mor
	3; Pembe, kırmızı – mor
	4; Mavi
PASV ve PASK için oluşturulan histoskor değerleri	1; Güçlü
	2; Orta derecede
	3; Zayıf
	4; Yok

2.5.4. Hemoglobin A_{1c} Analizi

Hemoglobin A_{1c} analizi için hayvanlardan alınan kan örnekleri Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı'nda analiz edildi.

3. BULGULAR

3.1. Uygulama Süresince ve Deneyin Sonlandırılma Aşamasında Hayvanlar Üzerinde Yapılan Gözlemler

Çalışmanın uygulama aşamasında diyabet oluşturulan hayvanlarda üçüncü günde ciddi halsizlik, hareketlerde kısıtlılık, birbirlerine karşı ilgisizlik durumu gözlemlendi. Birinci haftanın sonunda diyabet hastası D ve DM gruplarında diyabetin klasik semptomları arasında sayılan poliüri, polidipsi ve diyabetik diyare olarak adlandırılan dışkı kıvamında yumuşama gözlemlendi. Günlük olarak, her gün aynı saatte altlık, suluklar değiştirildi ve aynı miktar yem kafeslere ilave edildi. D ve DM grubunda altlıklar K ve M grubundaki hayvanlara kıyasla oldukça ıslak, tüketilen su miktarı ise oldukça fazla bulundu. D ve DM grubu hayvanların yem tüketimlerinin K ve M grubu hayvanlara göre daha fazla olduğu gözlemlendi ancak yem tüketimi açısından D ve DM grubu hayvanlar arasında dikkat çekici bir fark gözlemlenmedi.



Resim 3.1. 750 ml hacimde tam olarak doldurulan, deney hayvanlarının suluklarının 24 saat sonraki durumları. Deney hayvanlarının günlük su tüketimi

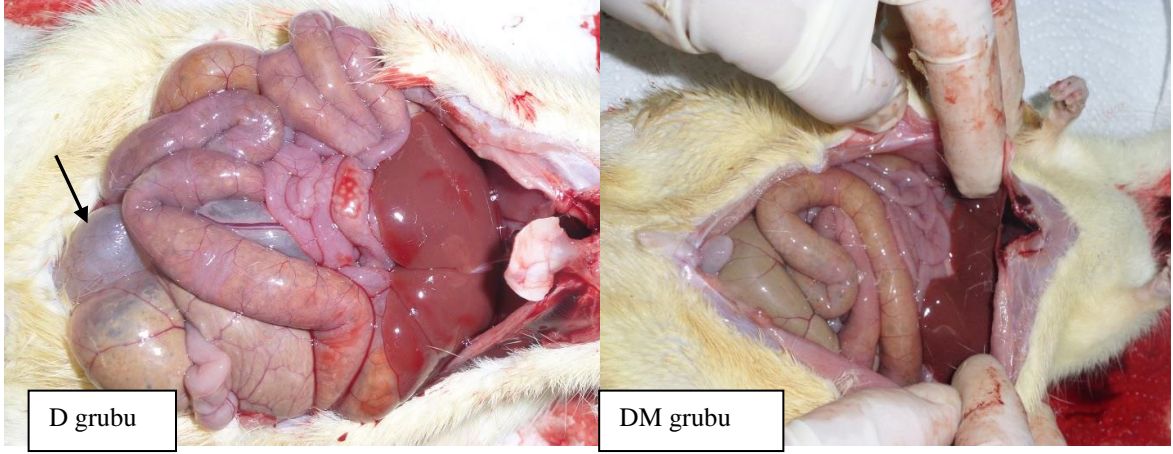
Takip eden haftalarda DM grubu deney hayvanlarında halsizlik, çevreye karşı ilgisizlik durumunun D grubuna göre daha ılımlı seyrettiği gözlemlendi. D grubu hayvanlar altı hafta süresince ciddi ağırlık kaybı gösterirken DM grubu hayvanlarda ağırlık kaybının ve halsizliğin daha ılımlı durumda olduğu gözlemlendi.



Resim 3.2. Deney hayvanlarının bir gün öncesinde temizlenmiş kafes altlıkları

M grubunda bulunan deney hayvanlarında, K grubu deney hayvanlarına göre aşırı hareketlilik, çevreye ve birbirlerine karşı ilginin artması, zaman zaman kavga, çoğunlukla oyun davranışları içerisinde oldukları gözlemlendi.

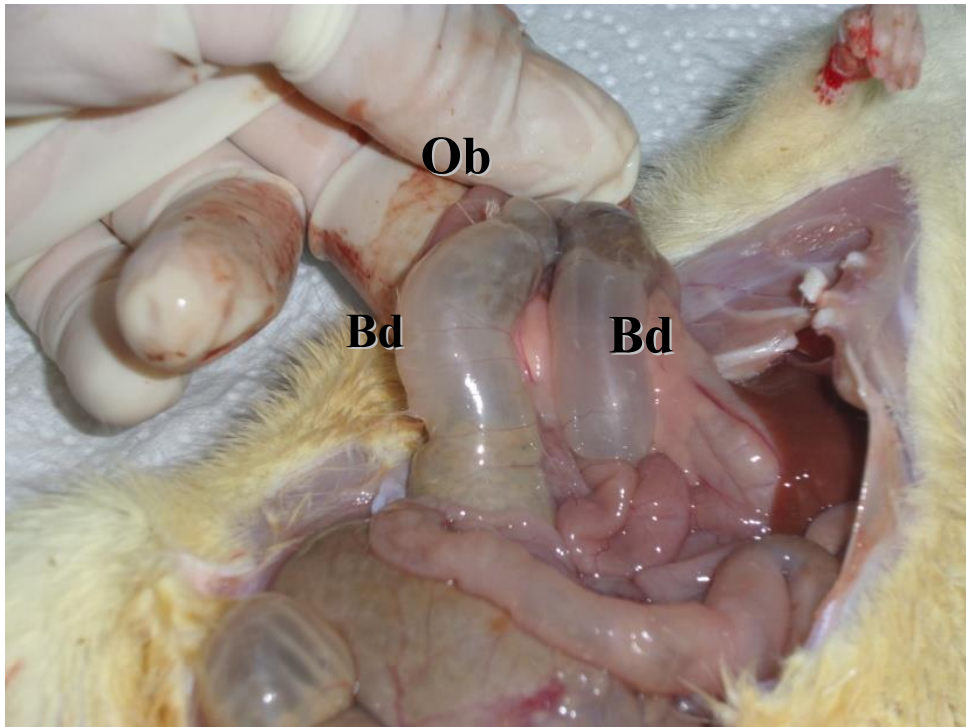
Deneyin sonlandırılması aşamasında ise uygun anestezi altında servikal dislokasyon yapılarak karın boşluğu açılan hayvanlarda, özellikle D grubu deney hayvanlarında makroskopik bakıda önemli farklılıklar gözlemlendi. D ve DM grubu deney hayvanlarında tüm organlarda yaygın hiperemi, bağırsaklarda dilatasyon, mide ve bağırsak duvarında elastikiyetin azalarak, doku kıvamının yumuşamış olması dikkat çekici bulundu.



Resim 3.3. Abdominal kavitenin açılması, ilk bakıda D grubu bir hayvanda yaygın hiperemi ve okun ucunda zayıflamış kolon duvarı, sağda DM grubu bir hayvanda karın boşluğu organ ve dokularında nispeten daha az şiddetli hiperemi

Gastrointestinal sistem organlarında D ve DM grubu hayvanlarda, K ve M grubu hayvanlara göre büyüme gözlemlendi. Karın boşluğunun ilk bakısında DM grubunda, D grubuna göre organların daha az hiperemik olduğu gözlemlendi.

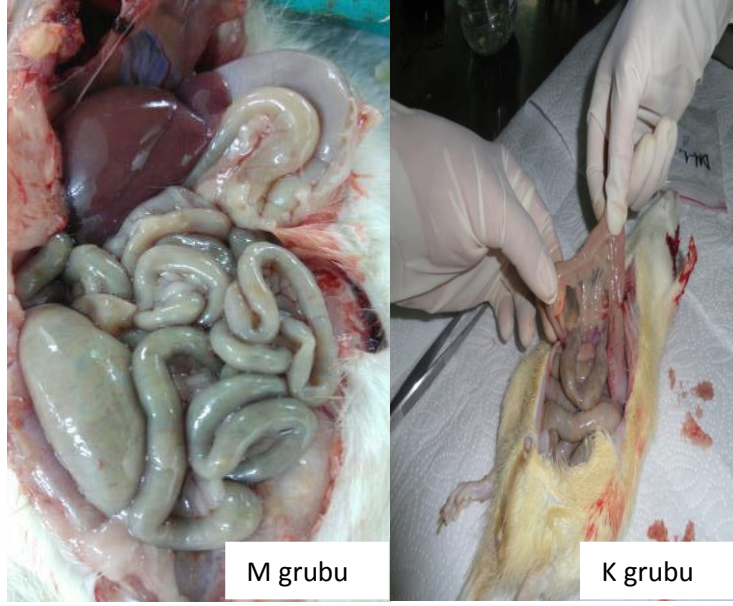
Diyabet grubunda yer alan iki hayvanda kolonun farklı bölgelerinde tespit edilen, obstrüksiyon nedeni ile bağırsak duvarının oldukça incelmesi görüldü.



Resim 3.4. D grubunda yer alan bir hayvanda oldukça zayıflamış kolon bağırsak duvarı (Bd) ve buna bağlı gelişen obstrüksiyon (Ob)

Bu bölgede bağırsak içeriğinin geçişinin sınırlanarak, obstrüksiyon geliştiği tespit edildi. DM grubunda karın boşluğu ve karın boşluğunda bulunan organlarda yaygın hiperemi, organların boyutlarının büyümesi haricinde herhangi bir gastrointestinal sistem patolojisi gözlenmedi.

K ve M grubunda karın boşluğunun ilk bakışında ve organların makroskopik muayenesinde iki grup arasında dikkat çekici bir farklılık gözlenmedi.



Resim 3.5. K grubu ve M grubu deney hayvanlarında abdominal kavite ve organların görünümü

Resim 3.1.5.'de görüldüğü üzere, abdominal kavitede yer alan organlarda D ve DM grubunda olduğu gibi hiperemi, dilatasyon gastrointestinal sisteme ait herhangi bir patoloji gözlenmedi. Doku ve organlar normal konumunda, normal görünümünde ve normal boyutlarındaydılar.

3.2. İstatiksel Analiz

Ölçülen parametrelerden, villus uzunluğu (VU), villus genişliği (VG), kripta derinliği (KD), kripta çapı (KÇ), tunica muscularis kalınlığı (TM), arter (AÇ) ve ven çapları (VÇ), brunner bezlerinin çapları (BRÇ), bağırsak dış çap ölçümleri (BÇ) ve goblet hücre sayısının (GS) her hayvan için ortalaması alınarak IBM SPSS Statistics 21 Version programında istatiksel olarak analiz edildi (Xu ve ark 2003, Garcia ve ark 2007, Wang ve Peng 2008). Aynı şekilde histokimyasal değerlendirmelerde de her parametre için iki kişi

tarafından verilen histoskorların ortalaması alınarak istatistiksel olarak değerlendirildi. Vücut ağırlığı ölçümleri, her deney hayvanı için son ağırlık ve ilk ağırlık arasındaki fark bulunup, son ağırlığa bölünerek 100 ile çarpılmış ve vücut ağırlığının yüzde değişimi (VAYD) hesaplanarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Çalışmanın altı hafta süren uygulama aşamasında her hafta rutin olarak takip edilen kan glikoz değerlerinin de ortalaması alınarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

Nicel verilerin normal dağılım gösterip göstermedikleri Kolmogorov Smirnov testi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren parametrik grup değişkenleri; villus uzunluğu, villus genişliği, kripta derinliği, kripta çapı, tunica muscularis kalınlığı, arter çapı, brunner bezlerinin çapları, goblet hücre sayısı ve hemoglobin A_{1c} değerleri istatistiksel olarak One Way Anova testi ile değerlendirilirken, normal dağılım göstermeyen grup değişkenleri; ven çapı, bağırsak çapı, kan glikoz seviyesi (KGL), vücut ağırlığı yüzde değişimi, ve parametrik olmayan veriler; villuslarda PAS reaksiyon şiddeti (PASV), kriptalarda PAS reaksiyon şiddeti (PASK), goblet hücre salgı karakteri (GHS) ve lümende asidik mukus miktarı (ASM) Kruskal Wallis testi ile değerlendirilerek, Bonferroni düzeltmesi uygulandıktan sonra elde edilen anlamlılık seviyeleri dikkate alındı.

One Way Anova testinde, normal dağılım gösteren parametrik verilerin varyanslarının homojenitesi Levene testi ile belirlenerek, varyansları homojen ($p>0,05$) olan veriler; villus genişliği, kripta derinliği, kripta çapı ölçümleri ve goblet hücre sayıları Tukey, varyansları homojen olmayan; villus uzunluğu, tunica muscularis kalınlığı, arter çapı, Brunner bez çapları ölçümleri ve hemoglobin A_{1c} değerleri ($p<0,05$) Tamhane testi ile değerlendirildi.

3.2.1. Kan Glikoz Değeri, Vücut Ağırlığı Yüzde Değişimi ve Hemoglobin A1c Bulgularının İstatistiksel Analiz Bulguları

Çizelge 3.1.'den de görülebileceği gibi K ve M gruplarının ve D ve DM gruplarının kendi aralarında ikili karşılaştırmalarında kan glikoz seviyesi açısından anlamlı farklılık saptanmadı. D grubu ile K ve M grubu arasında, DM grubu ile K ve M grubu arasında anlamlı farklılık bulundu.

Çizelge 3.1. Kan glikoz değerleri (mg/dl)

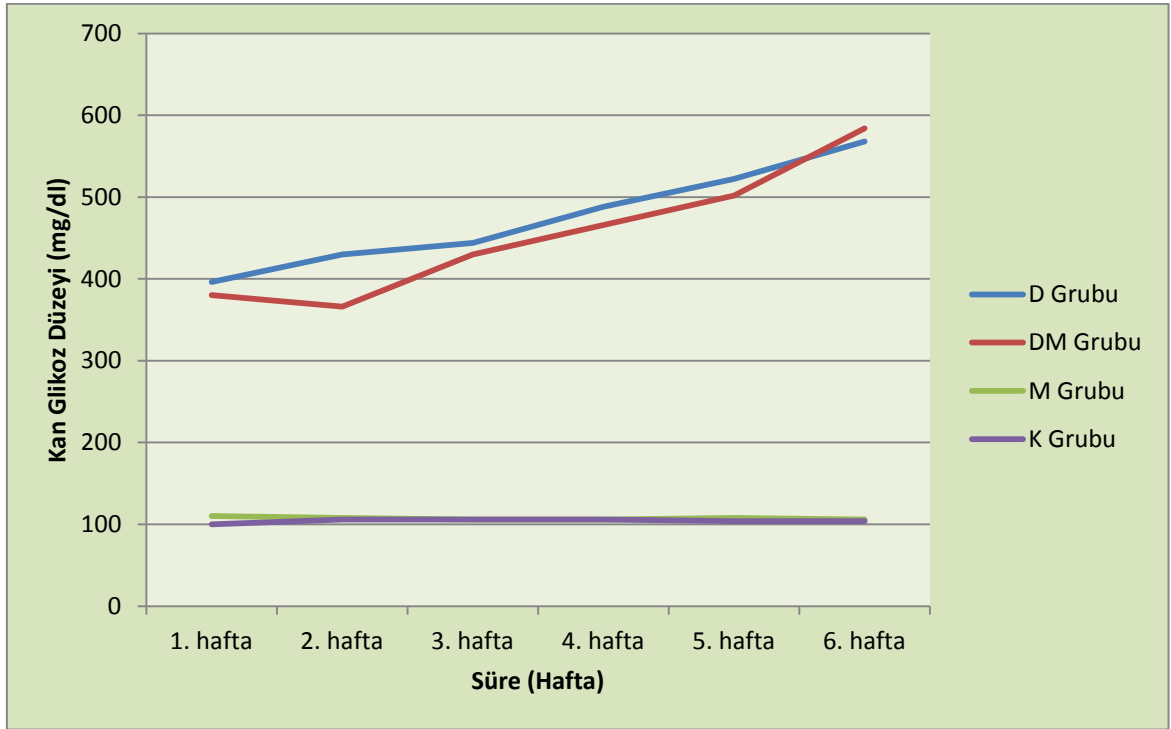
GRUP	KGL(Persantil)
D	516,5 (416,25 – 582,45) ^{a,b}
DM	454,5 (393,5 – 545,25) ^{a,b}
M	106 (105,25 – 107) ^{c,d}
K	104 (102 – 105,75) ^{c,d}

a; K grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,05$

b; M grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,05$

c; DM grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,05$

d; D grubu hayvanlar ile karşılaştırıldığında $p<0,05$

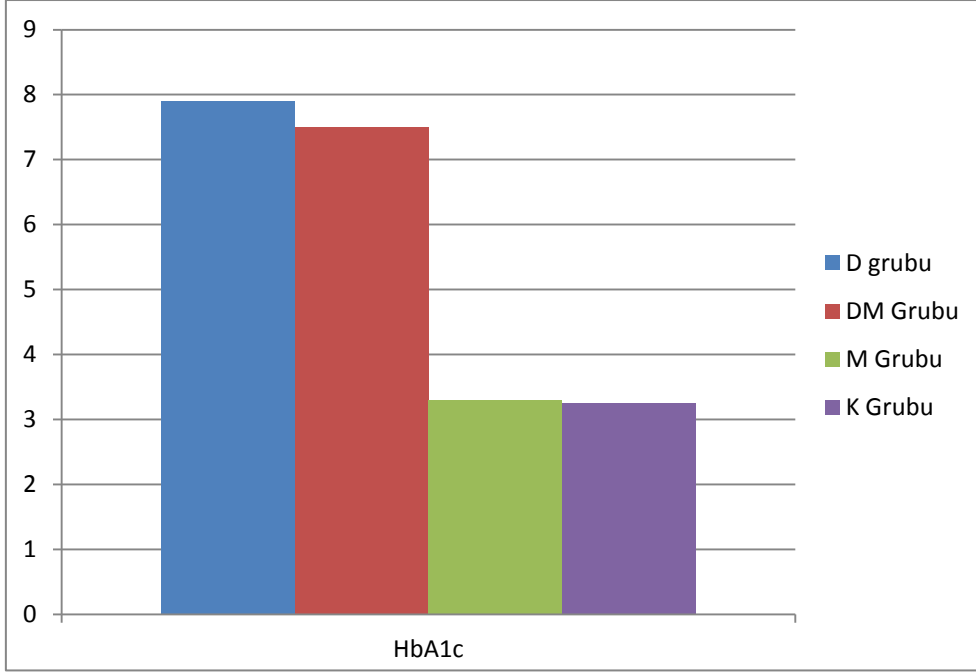


Şekil 3.1. Deney gruplarında çalışma süresince ölçülen kan glikoz değerlerinin grafiği

Şekil 3.1.'den de görülebileceği gibi K grubu ile M grubunun çalışma süresince ölçülen kan değerleri birbirinden farklıydı.

Şekilde 3.2.'de görüldüğü üzere hemoglobin A_{1c} D ve DM grubunda K ve M grubu ile kıyaslandığında anlamlı olarak yüksek bulundu. D ve Dm grubunun, K ve M grubunun

kendi aralarında ise hemogloblin A_{1c} değerleri açısından anlamlı farklılık saptanmadı. yüksek HbA_{1c} değeri D grubunda tespit edildi ve D grubunun diğer tüm gruplar ile arasında anlamlı farklılık bulundu. Kontrol grubu ve M grubu arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi ancak bu gruplar ve DM grubu arasında da anlamlı farklılık tespit edildi.



Şekil 3.2. Deneyin sonlandırılması aşamasında alınan kan örneklerinden analiz edilen hemogloblin A_{1c} değerlerinin grafik görünümü

Çizelge 3.2. Grupların hemogloblin A_{1c} yüzde değerleri

GRUP	HbA1c (Ortalama±ss)
D	7,4±0,64 ^{a,b}
DM	7,2±0,87 ^{a,b}
M	3,31±0,08 ^{c,d}
K	3,31±0,08 ^{c,d}

a; K grubu ile karşılaştırıldığında p<0,05

b; M grubu ile karşılaştırıldığında p<0,05

c; DM grubu ile karşılaştırıldığında p<0,05

d; D grubu hayvanlar ile karşılaştırıldığında p<0,05

Gruplar arasında VAYD değerlendirmesinde D grubu ile K ve M grubu arasında, DM grubu ile K ve M grubu arasında anlamlı farklılık saptandı. D ve DM grubu ile K ve

M gruplarının kendi aralarında karşılaştırılmalarında anlamlı farklılık saptanmadı. Diyabet hastası D ve DM gruplarının ciddi ağırlık kaybı gösterirken, M grubunun da az da olsa ağırlık kaybettiği bunun yanında K grubunun her hafta ağırlık kazandığı görüldü. Çizelge 3.3.'de ağırlık kaybı gösteren grupların, (son ağırlık – ilk ağırlık)/son ağırlık X 100 formülü ile hesaplanan VAYD değerleri negatif olarak görülmektedir.

Çizelge 3.3. VAYD (gr) değerlerinin ortalama ve standart sapmaları

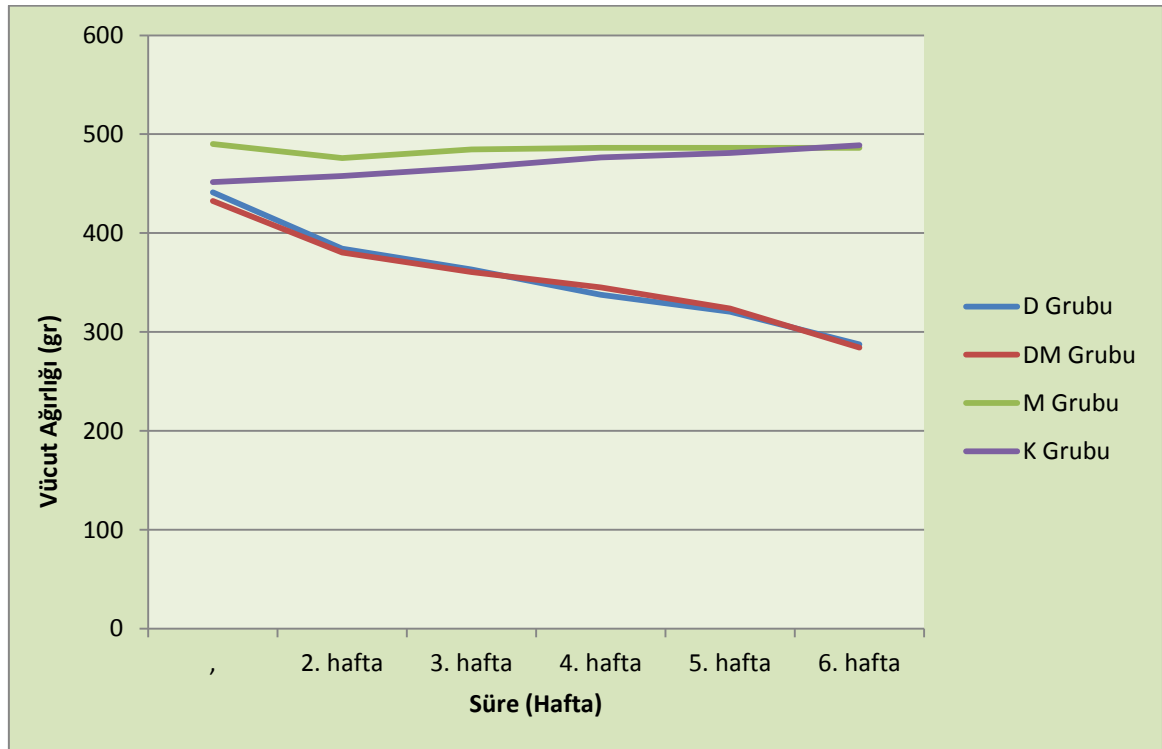
GRUP	VAYD (Persantil)
D	-48,45 [(- 52,74) – (-35,47)] ^{a,b}
DM	-53,95 [(-56,1) – (-52,06)] ^{a,b}
M	-0,71 [(-4,32) – (0,06)] ^{c,d}
K	6,86 (6,09 – 9,19) ^{c,d}

a; K grubu ile karşılaştırıldığında p<0,05

b; M grubu ile karşılaştırıldığında p<0,05

c; DM grubu ile karşılaştırıldığında p<0,05

d; D grubu hayvanlar ile karşılaştırıldığında p<0,05



Şekil 3.3. Deney gruplarında çalışma süresince saptanan vücut ağırlığı değerleri

3.2.2. Histometrik Ölçümlerin İstatiksel Analiz Bulguları

Histometrik parametrelerin istatiksel analiz bulgularının ölçüm birimi mikro metre (μm) cinsinden ifade edilmiştir. Goblet hücre sayısı ise adet olarak ifade edilmiştir.

3.2.2.1. Villus Uzunluğu Ölçümlerinin İstatiksel Analiz Bulguları

Çalışmamızda tüm gruplar arasında villus uzunluğu bakımından anlamlı farklılık bulundu ($p<0,05$). Kontrol grubu ile kıyaslandığında en uzun villus uzunluğu D grubu hayvanlarda (VUd) daha sonra DM grubu hayvanlarda (VUdm) saptandı. Melatonin grubu deney hayvanlarının villus uzunlukları (vuM), K grubu deney hayvanlarının villus uzunluklarına (VUk) göre daha kısa bulundu.

3.2.2.2. Villus Genişliği Ölçümlerinin İstatiksel Analiz Bulguları

Villus genişliği K grubunda en kalın (VGk), DM grubunda en ince bulunurken, M grubunda D ve K grubundan ince DM grubundan kalın olarak bulundu. Ancak villus genişliği bakımından gruplar arasında istatiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

Çizelge 3.4. Villus uzunluğu ve vilus genişliği değerleri (μm)

GRUP	VU (Ortalama \pm ss)	VG (Ortalama \pm ss)
D	772,94 \pm 120,58 ^{a,b,c}	90,64 \pm 5,79
DM	597,91 \pm 76,42 ^{a,b,d}	85,27 \pm 7,46
M	419,94 \pm 27,79 ^{a,c,d}	87,49 \pm 6,5
K	462,46 \pm 18,29 ^{b,c,d}	91,36 \pm 3,07

a: K grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,05$

b: M grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,05$

c: DM grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,05$

d: D grubu hayvanlar ile karşılaştırıldığında $p<0,05$

3.2.2.3. Kripta Derinliği Ölçümlerinin İstatiksel Analiz Bulguları

Çizelge 3.5.'den de görülebileceği gibi K grubu kripta derinliği (KDk) ile kıyaslandığında D grubunda kripta derinliği (KDd) ve DM grubunda kripta derinliği

(KDdm) daha yüksek bulunurken, M grubunda kripta derinliği (KDm) daha düşük bulundu. Tukey testi ile grupların kendi aralarında karşılaştırmalarında yalnızca KDd grubu ve KDm parametreleri arasında anlamlı farklılık bulundu ($p=0,016$). Diğer grupların arasında kripta derinliği ölçümleri bakımından anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

3.2.2.4. Hesaplanan Kripta Çapı Değerlerinin İstatiksel Analiz Bulguları

Çalışmamızda kripta çapı bakımından gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,18$). K grubu ile kıyaslandığında en yüksek kripta çapı D grubunda (KÇd) daha sonra K grubunda (KÇk) bulundu. K grubuna göre DM (KÇdm) ve M grubu kripta çapı (KÇm) düşük bulundu. DM ve M grubu kendi arasında kıyaslandığında en düşük kripta çapı M grubunda saptandı.

Çizelge 3.5. Kripta derinliği ve kripta çapı değerleri (μm)

GRUP	KD (Ortalama \pm ss)	KÇ (Ortalama \pm ss)
D	203,86 \pm 38,83 ^b	130,04 \pm 8,94
DM	180,05 \pm 18,2	121,18 \pm 8,55
M	162,3 \pm 23,55 ^d	119,06 \pm 16,98
K	174,71 \pm 16,84	128,21 \pm 9,27

a: K grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,05$

b: M grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,05$

c: DM grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,05$

d: D grubu hayvanlar ile karşılaştırıldığında $p<0,05$

3.2.2.5. Tunica Muscularis Kalınlığı Ölçümlerinin İstatiksel Analiz Bulguları

Çizelge.3.6.'dan da görülebileceği gibi en yüksek tunica muscularis kalınlığı M grubu hayvanlarda (TMm) daha sonra sırası ile K grubu (TMk), DM grubu (TMdm) ve D grubunda (TMd) tespit edildi. TMd ile diğer tüm gruplar ile arasında anlamlı farklılık bulunur iken, TMdm, TMm ve TMk arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi.

Çizelge 3.6. Tunica muscularis kalınlığı değerleri (µm)

GRUP	TM (Ortalama±ss)
D	31,61±4,9 ^{a,b,c}
DM	40,77±6,08 ^d
M	46,18±7,55 ^d
K	45,01±2,02 ^d

a: K grubu ile karşılaştırıldığında p<0,05

b: M grubu ile karşılaştırıldığında p<0,05

c: DM grubu ile karşılaştırıldığında p<0,05

d: D grubu hayvanlar ile karşılaştırıldığında p<0,05

3.2.2.6. Arter Çapı Ölçümlerinin İstatiksel Analiz Bulguları

Çizelge 3.7.'den de görülebileceği üzere K grubu (AÇk) ile kıyaslandığında D (AÇd) ve DM (AÇdm) grubu arter çaplarının daha büyük olduğu saptandı. D ve DM grubu kendi içinde kıyaslandığında ise D grubu arter çapı daha küçük bulundu. M grubunda (AÇm) ise arter çapının diğer tüm gruplara göre küçük olduğu tespit edildi. Ancak çalışmamızda arter çapı bakımından gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı (p=0,18).

Çizelge 3.7. Arter çapı ve ven çapı değerleri (µm)

GRUP	AÇ (Ortalama±ss)	VÇ (Persantil)
D	54,79±11,93	132,94 (108,07 – 139,73) ^{a,b}
DM	52,4±15,6	129,59 (121,64 – 142,25) ^{a,b}
M	42,53±6,12	81,32 (76,98 – 90,43) ^{c,d}
K	50,09±10,69	86,26 (76,66 – 117,19) ^{c,d}

a: K grubu ile karşılaştırıldığında p<0,05

b: M grubu ile karşılaştırıldığında p<0,05

c: DM grubu ile karşılaştırıldığında p<0,05, d: D grubu hayvanlar ile karşılaştırıldığında p<0,05

3.2.2.7. Ven Çapı Ölçümlerinin İstatiksel Analiz Bulguları

Çalışmamızda M (VÇm) ve K (VÇk) grubunun ven çap ölçümlerinin ikili karşılaştırması ($p=0,45$) ve D (VÇd) ve DM (VÇdm) grubunun ven çap ölçümlerinin ikili karşılaştırılmasının ($p=0,9$) haricinde, tüm grupların ikili karşılaştırmalarında ven çaplarının değerleri arasında anlamlı farklılık bulundu ($p<0,05$).

3.2.2.8. Goblet Hücre Sayısı Değerlerinin İstatiksel Analiz Bulguları

Çalışmamızda goblet hücre sayısı bakımından gruplar M (GSm) ve K (GSk) grupları haricinde diğer grupların arasında anlamlı farklılık bulundu. D ve DM grupları arasında goblet hücre sayısı bakımından anlamlı farklılık tespit edilirken, M ve K grupları arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi.

Çizelge 3.8. Goblet hücre sayısı değerleri (adet)

GRUP	GS (Ortalama±ss)
D	14,03±0,68 ^{a,b,c}
DM	15,71±0,24 ^{a,b,d}
M	18,05±0,46 ^{c,d}
K	18,11±0,43 ^{c,d}

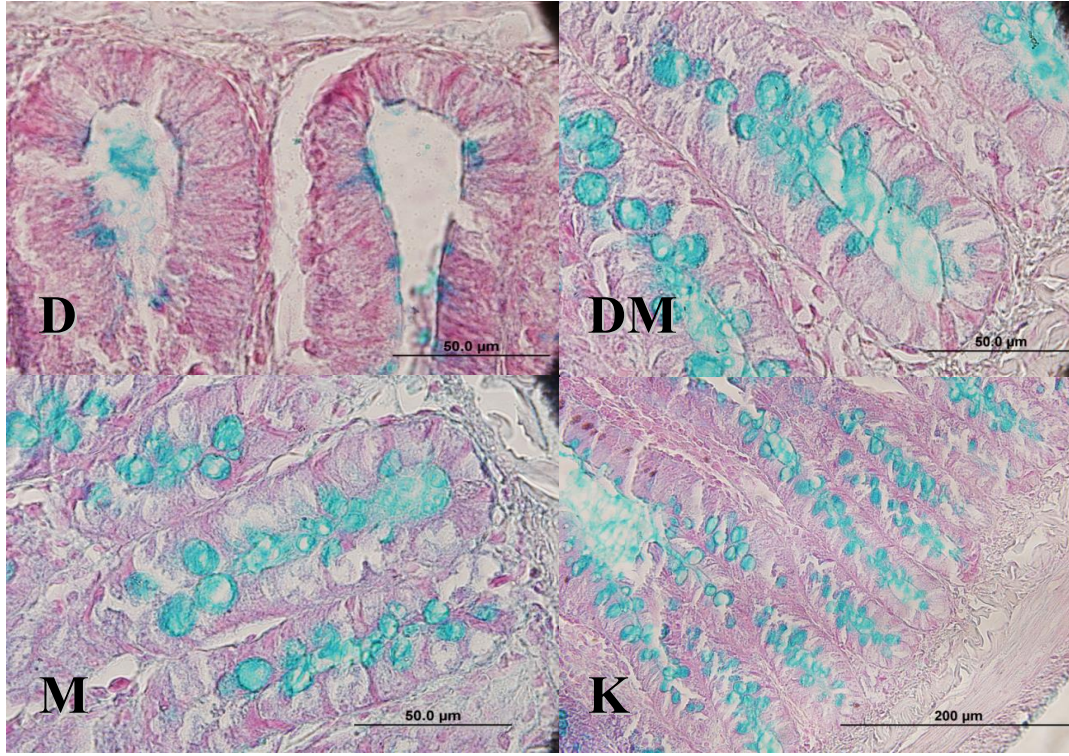
a: K grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,05$

b: M grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,05$

c: DM grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,05$

d: D grubu hayvanlar ile karşılaştırıldığında $p<0,05$

Çalışmamızda en düşük goblet hücre sayısı D grubunda saptanmıştır. DM grubu goblet hücre sayısı da M ve K grubuna göre düşük bulunmasına rağmen, DM grubundan anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir. Duodenum doku kesitlerinin değerlendirilme aşamasında D grubu prepatlarının genelinde, diğer gruplardan farklı şekilde Resim 3.6'da da görüldüğü üzere, kriptaların tabanında goblet hücrelerinin bulunmadığını gözlemledik.



Resim 3.6. Deney gruplarında kriptalarda goblet hücreleri (AB pH 2,5 D, DM, M 100X, K 40X)

3.2.2.9. Brunner Bezlerinin Çap Hesaplamalarının İstatiksel Analiz Bulguları

Brunner bezleri çaplarının değerlendirmesinde BRÇd ve BRÇdm arasında, BRÇk ve BRÇm verilerinin kendi aralarında karşılaştırılmaları ile anlamlı farklılık saptanmadı.

Çizelge 3.9. Gruplara göre Brunner bezlerinin çaplarının ölçümlerinin ortalama değerleri (μm)

GRUP	BRÇ (Ortalama \pm ss)
D	36,11 \pm 0,7 ^{a,b}
DM	37,99 \pm 1,68 ^{a,b}
M	41,73 \pm 1,67 ^{c,d}
K	40,86 \pm 1,31 ^{c,d}

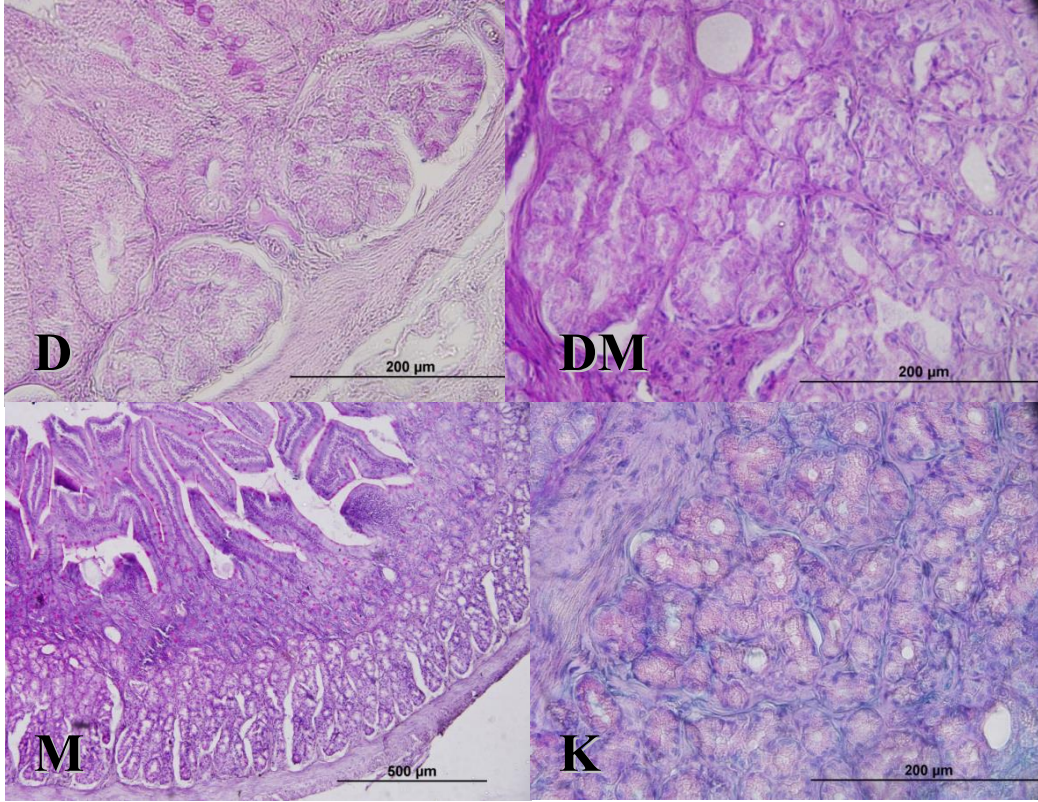
a: K grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

b: M grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

c: DM grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

d: D grubu hayvanlar ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

Brunner bez çaplarının ölçümlerinin D ve DM grubunda diğer gruplara göre anlamlı olarak düşük çıkmasının yanında, özellikle D grubunda olmak üzere, Resimde de görülebileceği üzere, her iki grupta da Brunner bezlerinin normal histolojik yapılarının bozulduğu gözlemlendi.



Resim 3.7. Deney gruplarında Brunner bezlerinin histolojik görünümü (D, DM, M PAS 40X, M PAS 10X, K AB pH 2,5/PAS 40X)

3.2.2.10. Bağırsak Dış Çapı Hesaplamalarının İstatiksel Analiz Bulguları

Bağırsak dış çap ölçümlerinde D (BÇd) ve DM (BÇdm) grupları arasında anlamlı farklılık saptanırken ($p=0,01$), K (BÇk) ve M (BÇm) grupları arasında ($p=0,24$) anlamlı farklılık saptanmadı. En düşük BÇ verisi M grubunda saptandı. BÇdm ve BÇk arasında anlamlı farklılık saptanmaz iken ($p=0,06$), BÇd ve BÇdm ve BÇm arasında anlamlı farklılık saptandı.

Çizelge 3.10. Gruplara göre bağırsak dış çap ölçümlerinin persantil değerleri (μm)

GRUP	BÇ (Persantil)
D	4824,55 (4433,12 - 5300,94) ^{a,b}
DM	4091,85 (3985,43 - 4273,14) ^b
M	3132,52 (2965,86 - 3345,48) ^{c,d}
K	3406,85 (3291,49 - 3651,44) ^d

a: K grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

b: M grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

c: DM grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

d: D grubu hayvanlar ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

3.2.3. Histokimyasal Bulguların İstatiksel Analizi

Çalışmamızda histokimyasal incelemeler için duodenum doku kesitleri, AB pH 2,5, PAS, AB pH 2,5/PAS boyama yöntemleri uygulanarak değerlendirildi. Villuslarda ve kriptalarda PAS reaksiyon şiddeti PAS boyalı kesitlerde, goblet hücrelerinin salgı karakteristikleri AB pH 2,5/PAS boyalı kesitlerde, lümende asidik mukus miktarı ise AB boyalı kesitlerde değerlendirildi.

3.2.3.1. Villuslarda ve Kriptalarda Periodic Acid Schiff Reaksiyon Şiddeti

Periodic acid Schiff reaksiyon şiddeti dokunun Schiff reaktifi ile aldığı rengin derinliği; açıklık ve koyuluk durumu, göz önüne alınarak histoskorlandı. Çalışmamızda her grubun duodenum doku kesitleri pozitif PAS reaksiyonu vermiştir.

Resim 3.8. ve Resim 3.9.'dan da görülebileceği gibi, gruplardan D ve DM grubunun duodenum doku kesitlerinin pembe, goblet hücreleri fuşya renginde, M ve K grubunun duodenum doku kesitlerinin eflatun ve mor tonlarında, goblet hücreleri kırmızıya yakın koyu pembe renginde boyandığı görüldü.

Çizelge 3.11. PASV ve PASK median ve persantil değerleri

GRUP	PASV (Persantil)	PASK (Persantil)
D	2,5 (2 – 3) ^{a,b}	2,5 (2 – 3) ^{a,b}
DM	2 (2 – 2,75) ^{a,b}	2 (2 – 2,75) ^{a,b}
M	1 (1 – 1,75) ^{c,d}	1,5 (1 – 2) ^{c,d}
K	1,5 (1 – 2) ^{c,d}	1 (1 – 1,75) ^{c,d}

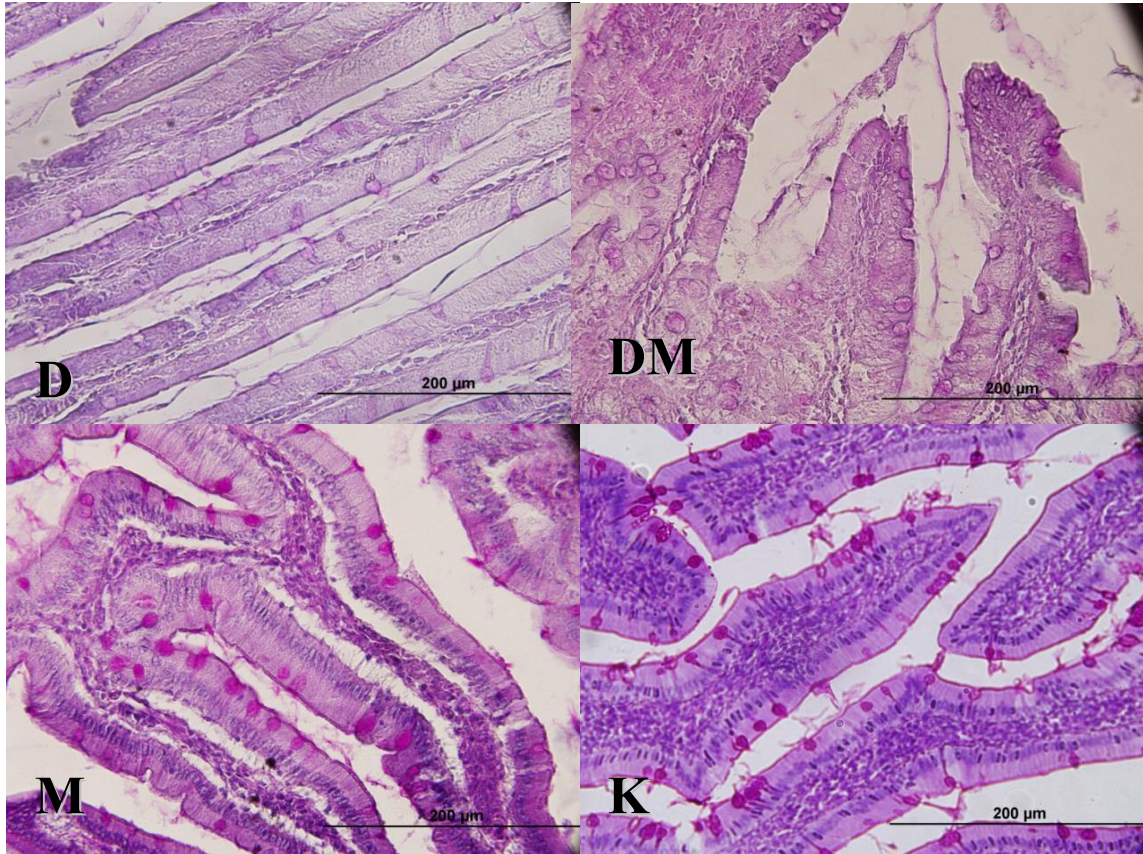
a; K grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

b; M grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

c; DM grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

d; D grubu hayvanlar ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

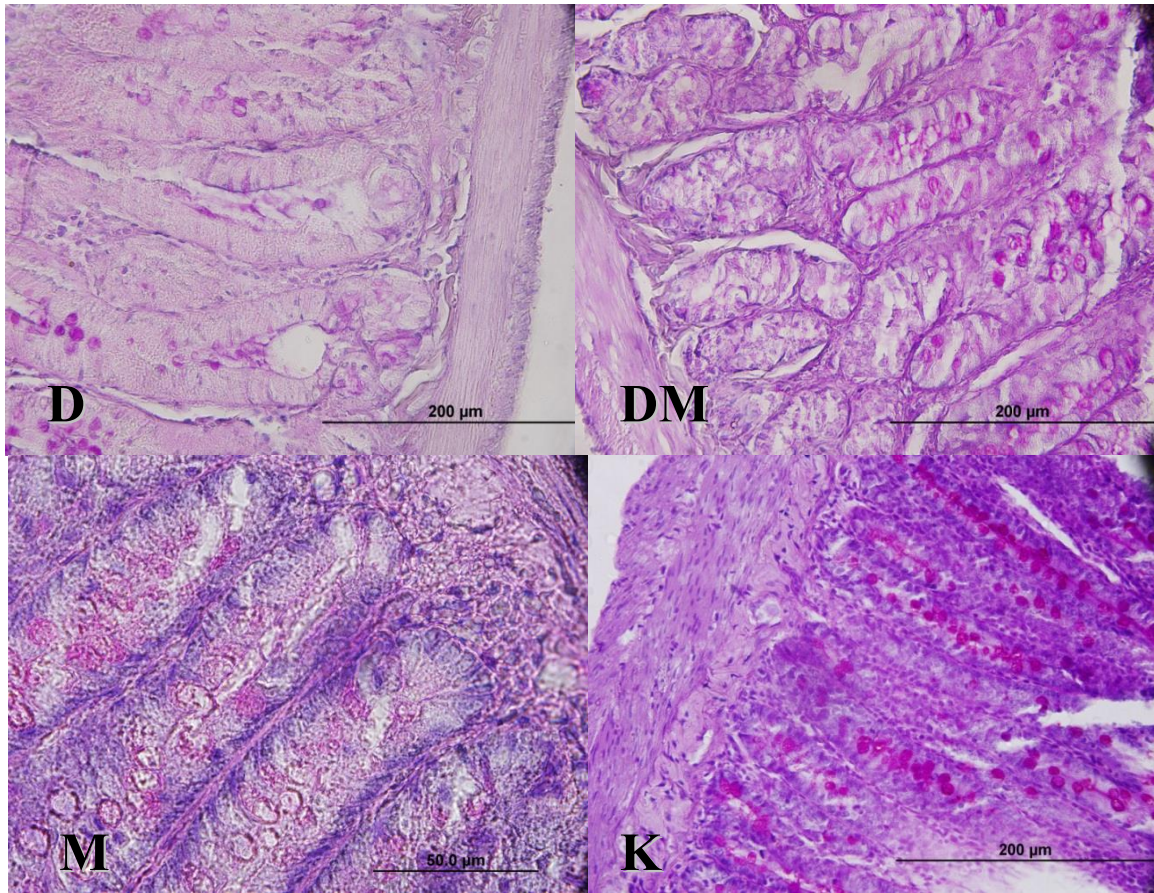
Villuslarda PAS reaksiyon şiddeti açısından D grubunun DM grubu ile arasında anlamlı farklılık bulunmaz iken, K ve M grubu ile arasında anlamlı farklılık tespit edildi. Aynı şekilde DM grubunun D grubu ile arasında anlamlı farklılık tespit edilemezken M ve K grubu ile arasında anlamlı farklılık tespit edildi.



Resim 3.8. Deney gruplarında villuslarda PAS reaksiyon şiddeti (PAS 40X)

Resim 3.8.'de D grubunda villuslarda zayıf PAS reaksiyon şiddeti, DM grubunda orta dereceli PAS reaksiyon şiddeti, K ve M grubunda güçlü PAS reaksiyon şiddeti görülmektedir.

Kriptalarda PAS reaksiyon şiddeti değerlendirmelerinin istatistiksel analiz bulguları Çizelge 3.11.'de de görüldüğü üzere PASV bulguları ile benzer şekilde tespit edilmiştir. Melatonin grubunda kriptalarda PAS reaksiyon şiddeti bulguları, villuslarda PAS reaksiyon şiddeti bulgularına göre daha zayıf bulunmuştur. Ancak istatistiksel olarak diğer gruplar ile M grubu arasında PASV bulgularının sonuçlarından farklı bir anlamlılık saptanmamıştır.



Resim 3.9. Deney gruplarında kriptalarda PAS reaksiyon şiddeti (PAS D, DM, K 40X, M 100X)

Resim 3.9.'da D grubunda kriptalarda oldukça zayıf PAS reaksiyon şiddeti, DM ve M grubunda orta dereceli PAS reaksiyon şiddeti, K grubunda ise güçlü PAS reaksiyon şiddeti görülmektedir.

3.2.3.2. Goblet Hücrelerinin Salgı Karakteristikleri

Çalışmamızda goblet hücrelerinin salgı karakteristikleri açısından DM, M ve K grupları arasında anlamlı farklılık tespit edilmez iken, her üç grubunda D grubu ile arasında anlamlı farklılık tespit edildi. Doku kesitlerinde Alcian blue asidik mukosubstansın mavi renkte boyanır iken, Schiff reaktifi nötral mukosubstansın pembe-kırmızı renkte boyanmaktadır. Her iki tipte salgı içeren goblet hücreleri AB pH 2,5/PAS eflatun, mor olarak boyanmaktadır (Yamabayashi 1987, Linden ve ark 2008).

Çizelge 3.12. GHS histoskorlarının median ve persantil değerleri

GRUP	GHS (Persantil)
D	2 (1,25 – 2,75) ^{a,b,c}
DM	3 (2 – 3) ^d
M	3 (3 – 3,75) ^d
K	3 (3 – 3,75) ^d

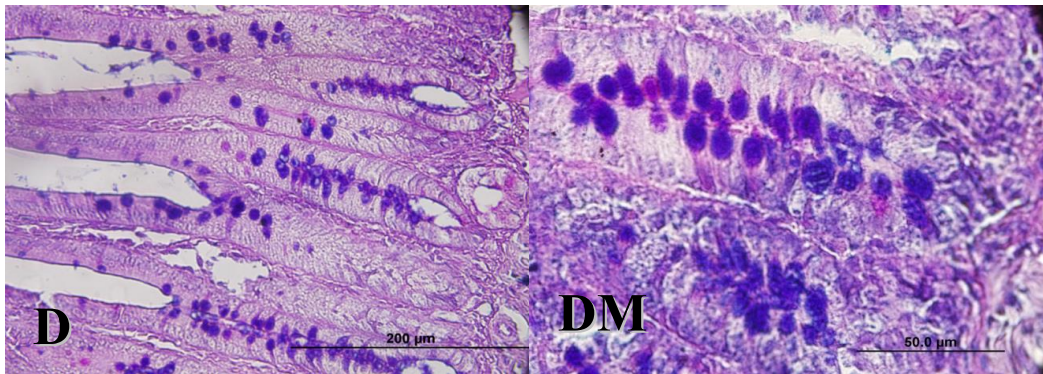
a; K grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

b; M grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

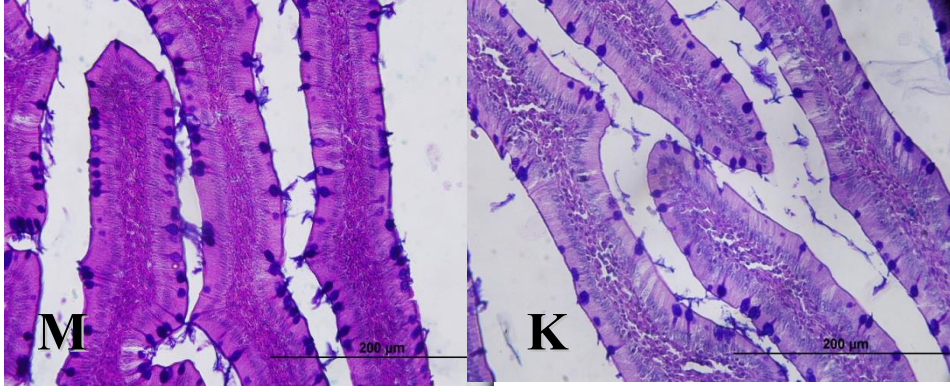
c; DM grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

d; D grubu hayvanlar ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

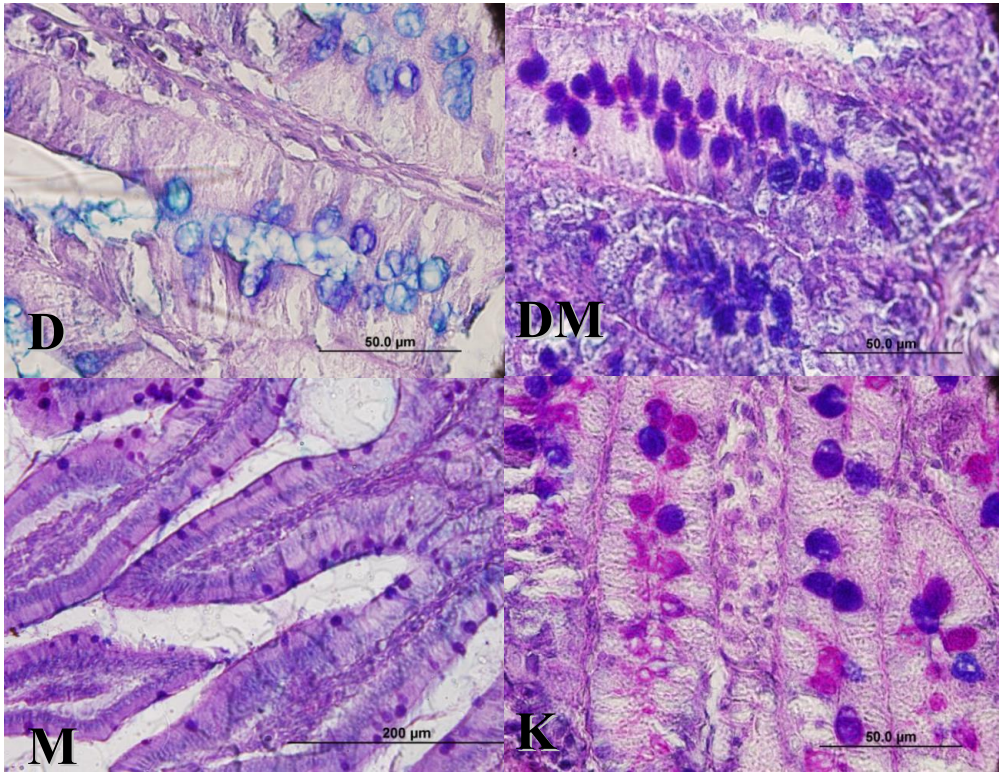
D grubunda tüm goblet hücrelerinin bazı preparatlarda koyu, bazı preparatlarda ise bir kısmının mavimsi, bir kısmının açık - koyu mor boyandığı, DM grubunda goblet hücrelerinin koyu mor olarak boyandığı, bazı preparatlarda mavimsi ve pembemsi boyanmış goblet hücrelerinin bulunduğu gözlemlendi.



Resim 3.10. D ve DM grubunda homojen boyanma gösteren doku kesitleri (AB pH 2,5/PAS D 40X, DM 100X)



Resim 3.11. K ve M grubunda homojen olarak mor renkli boyanma gösteren goblet hücreleri (AB pH 2,5/PAS 100X)



Resim 3.12. Doku kesitlerinde heterojen boyanma gösteren goblet hücreleri (AB pH 2,5/PAS D, DM, K 100X, M 40X)

Resimde 3.11.'de görülebileceği gibi K grubunun preparatlarında genel olarak goblet hücreleri AB pH 2,5/PAS boyama yöntemi ile koyu mor boyanır iken, Resim 3.12.'de görüldüğü gibi bazı preparatlarında ise bir kısmının pembe-kırmızı bir kısmında koyu mor renk ile boyandığı gözlemlendi. Melatonin uygulaması yapılan M grubu hayvanların AB pH 2,5/PAS boyalı doku örneklerinde K grubuna benzer şekilde genel olarak tüm goblet hücrelerinin açık – koyu mor renkte boyandığı gözlenirken, bazı preparatlarında goblet hücre içeriklerinin mavimsi boyandığı tespit edildi.

3.2.3.3. Lümende Asidik Mukus Miktarı

Lümende asidik mukus miktarı, AB boyalı duodenum doku kesitlerinde değerlendirildi.

Çizelge 3.13. ASM histoskorlarının median ve persantil değerleri

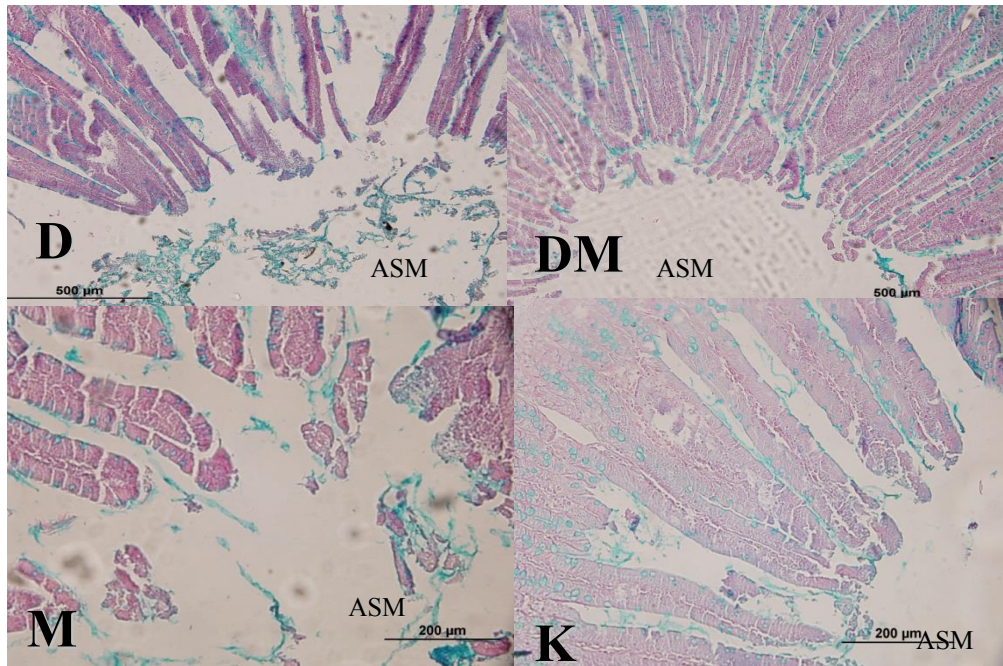
GRUP	ASM (Persantil)
D	2,62 (2 - 3) ^{a,b,c}
DM	1,75 (1 - 2) ^d
M	1,37 (1 - 2) ^d
K	1,25 (1 - 1,75) ^d

a; K grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

b; M grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

c; DM grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

d; D grubu hayvanlar ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$



Resim 3.13. Deney gruplarında lümende asidik mukus miktarı (AB pH 2,5 D ve DM grubu 10X, M ve K grubu 20X)

Alcian blue boyama yöntemi doku kesitlerinde asidik mukosubstansın mavi renkli boyanmasını sağlamaktadır (Yamabayashi 1987, Linden ve ark 2008). Çalışmamızda D

grubunun diğer tım gruplar ile arasında lımende asidik mukus miktarı bakımından anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi. Resim 3.13.'de D grubunda lımende asidik mukus miktarının diğer gruplara gıre oldukça yoğun olduğu gızlenmektedir.

4. TARTIŞMA

Altı hafta boyunca uygulama aşamasını sürdürdüğümüz araştırmamızda, 60 mg/kg STZ'nin intraperitoneal enjeksiyonu ile on altı haftalık ratlarda deneysel tip 1 diyabet modeli oluşturduk. Çalışma süresince D ve DM grubu deney hayvanlarının kan glikoz seviyesi M ve K grubuna göre oldukça yükselirken, ciddi ağırlık kaybettiği tespit edildi. Diyabetli hayvanlarda kan şekeri oldukça yükselirken, ciddi ağırlık kaybı görülmektedir (Length ve ark 1991, Vural ve ark 2001).

Melatoninin DM grubu hayvanlarda kan glikoz seviyesine ve ağırlık kaybı üzerine D grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı etkisini tespit etmedik. Çalışma süresince M ve K grubunun kan glikoz seviyesi normal sınırlar içerisinde ve birbirinden farksızdı. Altı hafta süresince K grubu hayvanlarda ağırlık kazanımı, M grubu hayvanlarda istatistiksel olarak önemli olmayan ağırlık kaybı tespit ettik.

Abdel – Wahab ve Abd –Allah (2000) isimli araştırmacılar tip 1 diyabetli farelerde melatoninin kan glikoz seviyesini düşürdüğünü dolayısıyla kan glikoz seviyesinin kontrolünde rolü olabileceğini savunmuşlardır. Ancak belirtilen çalışmada melatonin, farelerde STZ ile tip 1 diyabetin oluşturulmasından önce koruyucu olarak uygulanmıştır. Melatoninin hayvanlarda deneysel diyabet oluşturmak amacı ile kullanılan etken maddenin uygulamasından önce verilmesinin, diyabet gelişimine karşı koruyucu etki gösterdiği birçok çalışma tarafından gösterilmiştir. (Montilla ve ark 1998, Anderson ve Sandler 2001, Yavuz ve ark 2003, Yüzüak ve Aybak 2014). Melatoninin pankreas β hücrelerini STZ hasarından koruduğu bildirilmektedir (Kanter ve ark 2006). Ancak STZ toksisitesi ile açığa çıkan nitrik oksit sentetazın aktive olmasıyla oluşan nitrik oksit hasarından pankreas β hücrelerini korumada melatoninin etkisi görülmemiştir (Anderson ve Sandler 2001). Anwar ve Meki (2002) deneysel Tip 1 diyabet oluşturdukları ratlarda oksidatif strese karşı melatonin Baydaş ve ark (2002) erkek Wistar ratlarda 60 mg/kg STZ ile indükledikleri tip 1 diyabet modelinde, on hafta süresince intraperitoneal 100 mg/kg melatonin uygulamasının diyabetli ratlarda kan glikoz düzeyi üzerine etkisinin bulunmadığını belirtmişlerdir. Cam ve ark'da benzer şekilde (2003) erkek Wistar ratlarda 60 mg/kg STZ ile indükledikleri tip 1 diyabet modelinde, dört hafta süresince günlük 200 mg/kg intraperitoneal melatonin uygulaması yapmışlardır. Çalışmanın neticesinde diyabetli grup ile melatonin uygulanan diyabetli grubun kontrol grubuna kıyasla anlamlı ağırlık kaybı göstermediklerini, kan glikoz düzeyinin ise melatonin uygulanan diyabetli grupta kontrol

diyabet grubuna göre azalma göstermediğini bildirmişlerdir. Melatonin uygulanan diyabetli hayvanlar ile melatonin uygulanmayan diyabetli hayvanların, çalışma süresince kan glikoz düzeylerinde anlamlı farklılık tespit etmemişlerdir. Aksoy ve ark'da (2003) tarafından 60 mg/kg STZ enjeksiyonu ile dişi Wistar ratlarda oluşturulan tip 1 diyabet modelinde, altı hafta süresince 10 mg/kg dozda intraperitoneal olarak uyguladıkları melatoninin, diyabetli ratlarda kan glikoz düzeyine etkisini saptamamışlardır. Güven ve ark (2006) ise erkek Wistar ratlarda 60 mg/kg STZ ile diyabetin indüklenmesinden üç gün önce intraperitoneal 200 mg/kg melatonin uygulamışlar ve aynı uygulamayı 4 hafta süre ile devam ettirmişlerdir. Koruyucu olarak da melatonin uygulamalarına rağmen, kontrol diyabetli ratlar ile melatonin uygulanan diyabetli ratların kan glikoz düzeylerinde ve ağırlık kayıpları arasında anlamlı fark tespit etmemişlerdir. Kanter ve ark (2006) ise on altı haftalık erkek Wistar ratlarda 50 mg/kg STZ'nin intraperitoneal olarak uygulanması ile oluşturdukları deneysel tip 1 diyabet modelinde, günlük olarak intraperitoneal 10 mg/kg melatonin uygulamasını oluşturdukları diyabetli grupların bir kısmında altı, diğer kısmında sekiz hafta süresince devam ettirmişlerdir. Melatonin uygulaması yaptıkları her iki grupta da, melatonin uygulaması yapılmayan diyabetli gruba göre kan glikoz seviyesinin azaldığını, kan insülin seviyesinin arttığını tespit etmişlerdir. Yeğin ve ark (2009) tarafından insanlarda yapılan bir çalışmada ise tip 2 diyabetli hastalara 3 mg oral olarak uygulanan melatoninin, kontrol grubu diyabet hastaları ile karşılaştırıldığında kan glikoz ve insülin düzeyine ve insülin direncinin değerlendirilmesini sağlayan HOMA-IR indeksine etkisi saptanmamıştır. Yine oral yol ile melatonin uygulayarak benzer şekilde Montano ve ark (2010) erkek Wistar ratlarda 60 mg/kg STZ ile oluşturdukları tip 1 diyabet modelinde, içme suyuna 1 mg/kg olacak şekilde melatonin ekleyerek dört hafta uygulama aşamasını sürdürmüşlerdir. Çalışmanın sonunda kontrol diyabet grubu ile melatonin uygulanan diyabet grubu arasında kan glikoz düzeyi ve ağırlık kaybı açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır. Agil ve ark (2012) altı haftalık Zucker cinsi tip 2 diyabetli obez ratların içme sularına altı hafta süresince 10 mg/kg/gün olarak melatonin ilavesi yapmışlar, kan glikoz ve hemoglobin A_{1c} seviyesini melatonin takviyesi almayan diyabetik ratlardan anlamlı ölçüde düşük tespit etmişlerdir. Bibak ve ark (2014) ise 60 mg/kg intraperitoneal STZ uygulaması ile tip 1 diyabet oluşturdukları Wistar ratlara, diyabetik nöropatinin geliştiği altıncı haftanın sonundan itibaren iki hafta süresince 2,5 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg ve 20 mg/kg olmak üzere farklı dozlarda intraperitoneal melatonin uygulaması gerçekleştirmişlerdir. Sekizinci haftanın sonunda, melatonin uygulanan tüm grupların kan glikoz düzeyinin melatonin uygulanmayan diyabetli gruba göre oldukça azalma

gösterdiğini, gruplar arasında vücut ağırlığı değişimi bakımından anlamlı farklılık bulunmadığını belirtmişlerdir. Kan glikoz düzeyinde en büyük düşüşün 2,5 mg/kg dozda melatonin uygulaması yapılan diyabetli grupta görüldüğü bildirilmiştir. Yüzüak ve Aybak (2014) çalışmamıza benzer şekilde 16 haftalık, erkek Wistar Albino türü ratlarda 55 mg/kg STZ enjeksiyonu ile oluşturdukları deneysel tip 1 diyabet modelinde, 10 mg/kg intraperitoneal yol ile uyguladıkları melatoninin koruyucu ve sağaltıcı etkisini araştırmışlardır. Diyabetin indüklenmesinin yedi gün öncesinden başlayarak günlük olarak uygulanan melatoninin hayvanlarda kan glikoz düzeyinin neredeyse normal seviyede kalmasını sağladığını ancak diyabet indüklendikten sonra uygulanan melatoninin kan glikoz düzeyi üzerine etkisi olmadığını bildirmişlerdir. Araştırmamızda hemoglobin A_{1c} seviyesi açısından da kan glikoz seviyesine benzer şekilde D ve DM grubu arasında, K ve M grubunun kendi aralarında anlamlı farklılık tespit etmedik. Diyabetli D ve DM grupları ile diyabetli olmayan K ve M grupları arasında hemoglobin A_{1c} değerleri bakımından anlamlı farklılık tespit ettik. D ve DM grupları ve K ve M gruplarının kendi aralarında kan glikoz seviyesi açısından da anlamlı farklılık tespit edilmediğinden, hemoglobin A_{1c} seviyesi açısından da anlamlı farklılık tespit edilmemiş olması şaşırtıcı değildir. Çünkü hemoglobin A_{1c} seviyesi kan glikoz seviyesine bağlı olarak değişmektedir (Emden 2014). Diyabetin indüklenmesinden sonra melatoninin tedavi edici etkilerini araştırmaya yönelik yaptığımız çalışmada vücut ağırlığı değişimi, kan glikoz ve hemoglobin A_{1c} seviyesi bulgularımız Baydaş ve ark (2002), Aksoy ve ark (2003), Güven ve ark (2006), Yeğin ve ark (2009) ve Yüzüak ve Aybak'ın (2014) bulguları ile benzer olmasına rağmen, Abdel Wahab ve Abd Allah (2000), Anwar ve Meki (2002), Kanter ve ark (2006) ve Agil ve ark'nın (2012) bulguları ile benzerlik göstermemektedir. Yapılan çalışmaların bütününe bakıldığında yüksek dozda melatonin uygulamasının diyabetli hayvanlarda hiperglisemi üzerine etkisi olmadığı açıkça görülmektedir. Daha önce de belirtildiği gibi deneysel diyabet modeli oluşturulmadan önce melatonin uygulamasının, pankreas β hücrelerini yıkımdan koruduğu dolayısı ile melatoninin diyabet gelişimi üzerine koruyucu etkisi olduğu konusu, araştırmacılar arasında fikir birliğine varılmış olan bir görüştür. Güven ve ark (2006) koruyucu olarak melatonin uygulamalarına rağmen, diyabet süresince yüksek dozda melatonin uygulamışlar ve diyabetli hayvanlarda melatoninin hiperglisemi üzerine etkisi olmadığını belirtmişlerdir. Antioksidanların birçok yararı olmasına rağmen, bir veya birkaç antioksidanın birlikte yüksek dozda veya uzun süreli kullanımlarda toksik etkileri olduğu belirtilmektedir (Bouayed ve Bohn 2010). Araştırmamızın yönteminde koruyucu olarak melatonin uygulaması bulunmamaktadır. Ancak kan glikoz ve hemoglobin A_{1c}

düzeyinde, ağırlık kaybının önlenmesinde DM grubunda anlamlı farklılık tespit etmemiş olmamız yalnızca bununla ilintili olarak açıklanamaz. Yapılan çalışmalar neticesinde elde edilen bulguların oldukça varyasyon göstermesinin sebebi diyabetin patofizyolojisinin çok çeşitli kompleks etmenler içermesi olabilir. Bu farklılıkların oluşmasında kullanılan hayvanların türü ve yaşı, diyabeti indüklemek amacı ile uygulanan etken maddenin uygulama ve doz farklılıkları, melatonin uygulama ve doz farklılıkları, deneysel diyabet oluşturmak amacı ile kullanılan sitotoksik maddelerin diğer doku ve organlarda da hasara neden olması, etken maddenin uygulama aşamasında gerçekleşen iatrojenik hatalar gibi birçok neden de etkili olmuş olabilir. Tip 1 diyabeti indüklemek amacı ile kullanılan STZ miktarı pankreas β hücrelerinde en az %90 yıkım oluşturmaktadır. Bu amaçla 50 – 60 mg/kg aralığında STZ kullanılmaktadır. Ayrıca STZ ışık ile hızla dekompoze olmaktadır. Hayvanlara verilmeden önce pH 4,5 sitrat tamponunda çözdürülen STZ, çözüldükten sonra bekletilmemelidir. Streptozotosin uygulandıktan sonra kan dolaşımındaki glikoz ile reaksiyona girmektedir. Bu nedenle aç hayvanların STZ enjeksiyonundan oldukça fazla etkilendikleri bildirilmektedir (King 2012). Melatoninin kan glikoz seviyesini azalttığı tespit edildiği çalışmalarda, melatoninin insülinin işlevselliğini arttırdığı ve/veya insülin sentezini iyileştirdiği dolayısıyla diyabetli hayvanlarda kan glikoz düzeyini azalttığı belirtilmiştir. Fabis ve ark (2002) ise diyabet hastası olmayan normal ratlara 0,5 mg/kg ve 1 mg/kg melatonin subkutan olarak uyguladıktan 1 saat sonra hayvanlardan alınan kan örneklerinde insülin seviyesinin, uygulanan melatonin dozuna bağlı olarak arttığını tespit etmişlerdir. Kan insülin düzeyine benzer HDL kolesterol seviyesinde de artış tespit eden araştırmacılar, insülin hormonunun yüksek bulunmasına rağmen kan glikoz seviyesinin de yüksek bulunmasının şaşırtıcı olduğunu belirtmişlerdir. Gerek deneysel diyabet ile ilgili önemli noktalar gerekse diyabet gelişiminin kompleks patofizyolojisi ve melatoninin hücre, doku ve organlarda çeşitli interaksiyonları olması, diyabette melatonin kullanımı üzerine yapılan araştırmalardan elde edilen farklı sonuçların yorumlanmasını güçleştirmektedir. Bu konuda daha kesin yorumlar yapılabilmesi için diyabetin patofizyolojisinin ve melatoninin hücre, doku ve organlar üzerine olan etkisinin moleküler düzeyde aydınlatılmış olması gerekmektedir.

Streptozotosin kullanılarak oluşturulmuş deneysel diyabet modellerinde, STZ'nin ince bağırsakların morfolojik yapısını değiştirdiği bildirilmektedir (Novak ve ark 1990, Zhao ve ark 2003). Zhao ve ark (2003) STZ kullanarak ratlarda oluşturdukları deneysel tip 1 diyabet modelinde duodenum, jejunum ve ileumda villus uzunluğu, kripta derinliği,

mukoza kalınlığı ve submukoza kalınlığını histometrik olarak değerlendirmişlerdir. Zhao ve ark (2003) histometrik ölçümünü gerçekleştirdikleri tüm parametrelerin diyabetli ratlarda oldukça yükseldiğini belirtmişlerdir.

Çalışmamızda her kesitte toplam on villus, on kesitte yüz villus ölçümü gerçekleştirerek elde ettiğimiz villus uzunluğu verilerimizde Mayhew ve ark (1989), Zhao ve ark (2003) ile benzer şekilde, tüm gruplar arasında anlamlı farklılık tespit ettik. Villus uzunluğu bağırsağın digestif ve absorbtif kapasitesine göre belirlenmektedir. Sindirim ve emilimin yoğun olarak gerçekleştiği ince bağırsak bölümlerinde villus uzunluğu, kalın bağırsakta bulunan villusların uzunluğuna göre fazladır (Yamauchi ve ark 2010, Wang ve ark 2012). İntestinal mukozanın morfolojik yapısında görülen değişimler intestinal fonksiyonlar ve intestinal sistem sağlığı hakkında bilgi edinilmesinde faydalı olmaktadır. Villus uzunluğu intestinal yüzey alanını arttırarak, besin maddelerinin emiliminin artmasını sağlamaktadır. İnce bağırsakların villus uzunluğunun, diyet ile alınan besin maddelerinden tam olarak yararlanılmadığı malabsorbsiyon durumunda arttığı bildirilmektedir (Caspary 1992, Samanya ve Yamauchi 2002, Awad ve ark 2008). Besin maddelerinin sindirimi sırasında rolleri olan enzimlerin pek çoğu pankreastan salgılanmaktadır (Fieker ve ark 2011). Diyabetli hastalarda pankreatik yetersizlik malabsorbsiyonun temel sebebi olarak gösterilmektedir. Hardt ve ark (2004) yaptıkları çalışmada pankreas ekzokrin fonksiyon yetersizliğinin, tip 1 ve tip 2 diyabet hastalarında insidansının oldukça yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Ekzokrin ve endokrin salgı yapan pankreas dokularının birbirleri ile olan yakın ilişkisi, pankreasın ekzokrin ve endokrin bozukluklarının birbirlerinden etkilenmelerine sebep olmaktadır (Gonzalez ve ark 2015). Diyabet ile birlikte seyreden ekzokrin pankreatik yetersizliğin prognozunun kötü olduğu bildirilmektedir (Czako ve ark 2009). Araştırmamızda bu bulgular ile örtüşür şekilde en yüksek villus uzunluğunu VUd, onu takiben sırası ile VUdm ve VUk grubunda tespit ettik. DM grubu villus uzunluğu, D ve K grubu ile karşılaştırıldığında diyabetli hayvanlarda melatonin uygulamasının villus uzunluğuna dolayısı ile ekzokrin pankreas fonksiyonuna olumlu etki ettiği söylenebilir. Nitekim Jaworek ve ark (2007) melatoninin pankreas ekzokrin enzim sekresyonunu stimüle ettiğini belirtmişlerdir. Melatonin veya prekürsörü L-triptofan'ın duodenum lümenine uygulanması ile pankreatik enzim çıkışının arttırdığı bildirilmektedir. VUm ise VUk'dan anlamlı olarak kısa tespit edildi. Palipoch ve ark (2013) STZ gibi kemoterapötik olarak kullanılan Cisplatin uygulaması yaptıkları erkek Wistar ratların ince bağırsaklarında morfolojik bozulmalara ve villuslarda atrofiye neden olduğunu bildirmişlerdir. Benzer

şekilde Fijlstra ve ark (2015) kemoterapötiklerin toksik etkileri nedeni ile gelişen gastrointestinal mukozitis durumlarında villus uzunluğunda azalma görüldüğünü bildirmişlerdir. Sağlıklı canlılarda organizmanın intrinsik antioksidan mekanizmaları, metabolik işlevler sonucu oluşan reaktif oksijen moleküllerin neredeyse tamamını etkisiz hale getirebilme yetisine sahiptir. M grubu villus uzunluğunun K grubuna göre kısa bulunmasının nedeni olarak, daha önce de belirttiğimiz gibi, herhangi bir patolojik kondisyonları bulunmayan M grubu deney hayvanlarında melatoninin uzun süreli kullanımının toksik etki yaratmış olabileceği nedeni ile geliştiğini düşünmekteyiz. Normale göre villus uzunluğunun kısalmasının zayıf besin emilimine neden olarak, canlıların sağlığını olumsuz etkilediği bildirilmektedir (Xie ve ark 2011). Nitekim çalışmamızda M grubu deney hayvanlarının, K grubu hayvanlara benzer şekilde ağırlık kazanımı göstermediklerini, istatistiksel olarak anlamlı olmayan ağırlık kaybı gösterdiklerini tespit ettik.

Çalışmamızda her kesitte toplam on villus, her deney hayvanı için on kesitte yüz villus ölçümü gerçekleştirerek elde ettiğimiz villus genişliği verilerimizde; VGd, VGdm, VGm ve VGk gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır. Villus uzunluğunun artmasının bağırsağın digestif ve absorbtif kapasitesine göre geliştiği düşünüldüğünde, villusların boyca uzamasının bağırsak yüzey alanını ve her villusta bulunan toplam enterosit hücre sayısını dolayısı ile mikrovillus sayısını arttırdığı, genişliğin artmasının ise yüzey alanının gelişmesinde etkili olmadığı görülebilir.

Çalışmamızda her kesitte toplam on kripta derinliği, her deney hayvanı için on kesitte yüz kripta derinliği ölçümü gerçekleştirerek elde ettiğimiz kripta derinliği verilerimizde istatistiksel olarak yalnızca D ve M grubu arasında anlamlı farklılık tespit ettik. Bu farklılığın M grubunda ölçülen villus uzunluğu, bağırsak dış çapı gibi parametrelerin normalden kısa, D ve DM grubunda ise normalden uzun bulunmasına bağlı göreceli olarak açığa çıktığını düşünmekteyiz. Zira kripta derinliği açısından M grubu ile K grubu arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır. Kripta derinliği ölçümünün kripta genişliği ile aritmetik ortalamasını alarak elde ettiğimiz kripta çapı verilerinde gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Mayhew ve ark (1989), Zhao ve ark (2003) ise çalışmalarında, kripta derinliğinin diyabetik ratlarda kontrol grubu ratlara göre arttığını belirtmişlerdir.

Dokulardan kesit alınması sırasında, dokunun kendi eğimi, parafin blok içerisindeki pozisyonu vb etmenlerle mikrotom bıçağı ile yaptığı açığı, alınan kesitlerde her zaman doku katmanlarının normal kalınlıklarının görülmesinde problem yaratmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda tunica muscularis kalınlığını, her doku kesitinde farklı beş bölgeden ölçerek, bir kesitin tunica muscularis kalınlığının değeri olarak bu beş ölçümün ortalamasını kullandık. Elde ettiğimiz tunica muscularis kalınlığı verileri açısından istatistiksel olarak D grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı farklılık tespit ettik. D grubunda tunica muscularis kalınlığı diğer gruplara göre anlamlı olarak azalmış bulundu. Bu durumun nedeni olarak diyabetik nöropatinin intestinal kas tabakasında atrofiye neden olduğunu düşünmekteyiz. Enterik nöropati kas tabakasının sinirsel uyarımının zayıflamasına, atrofiye olmasına ve buna paralel olarak zamanla güçsüzleşmesine neden olmaktadır (Andersen ve ark 1997, Andersen 2012, Bagyanszki ve Bodi 2012). Düz kasların kontraktilite yeteneklerinde görülen değişimlerin çok çeşitli patolojik kondisyonlarda ortaya çıktığı belirtilmektedir. Oksidatif stres ve inflamasyon gelişimi, düz kasların fonksiyon bozukluklarının başlama, gelişme ve klinik bulgularının oluşma aşamasında anahtar özellik göstermektedirler. Reaktif oksijen türleri plexus myentericus yer alan nöronların farklılaşmasında dolayısı ile diyabetik nöropatinin gelişmesinde önemli rol oynamaktadırlar (Bagyanszki ve Bodi 2012). Storr ve ark (1969) ratların midesinde ve ince bağırsaklarında, plexus myentericus'ta yer alan nöronlarda MT1 ve MT2 olarak adlandırdıkları melatonin reseptörlerini keşfetmişlerdir. Ratlarda intraperitoneal melatonin uygulamasının bağırsakların kas tabakasının miyoelektrik aktivitesini arttırdığı belirtilmiştir (Amed ve ark 2013). Ayrıca Parkinson, Alzheimer ve Huntington gibi nörodejeneratif hastalıklarda, melatoninin beyin dokusunda nöroprotektif etki gösterdiği belirtilmiştir (Gupta ve ark 2003). Çalışmamızda D grubunun tunica muscularis kalınlığı diğer gruplara göre anlamlı olarak düşük bulunmasına rağmen, DM grubu ile M ve K grubunun tunica muscularis kalınlığı verileri arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır. DM grubunda melatoninin hem antioksidan özelliği hem de sinir dokuyu koruyucu etkisi ile diyabetik nöropati gelişiminin engellenmesinde etkili olduğu görülmektedir.

Duodenum doku kesitlerinin her birinde birbirlerine eşlik eden arter ve ven çapları ölçümlerimizin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde arter çapları açısından gruplar arasında ve grupların kendi içerisinde anlamlı farklılık bulunmaz iken, VÇd ve VÇdm parametrelerinin VÇk ve VÇm parametrelerine göre anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi. VÇd ve VÇdm parametreleri arasında ise anlamlı farklılık bulunmadı. Deneysel

diyabetli ratlarda görülen intestinal hipereminin nedenini araştırmak amacı ile Korthuis ve ark (1987) tarafından radyoaktif mikrosfer tekniği kullanılarak yapılan bir çalışmada diyabetik ratların intestinal kan akımının kontrollere göre %60 arttığı, vasküler direncin ise %37 azaldığı bildirilmiştir. Vasküler dirençteki azalmanın nedeni plazma glikoz ve glukagon seviyesinin artması ile damar içi hidrostatik basıncın artması olarak belirtilmektedir. Damar içi onkotik basıncı ile hidrostatik basıncı arasında hassas bir denge bulunmaktadır. Bu dengenin bozulması vasküler direncin azalması olarak ifade edilmektedir. Onkotik basıncı kanda bulunan albümin gibi proteinlerin oluşturdukları ozmotik basıncıdır. (Kristinsson ve ark 1997). Yrle ve ark (1988) glukagon antiserumu uyguladıkları tip 1 diyabetik ratlarda mide ve ince bağırsaklara giden kan akımında %25 azalma tespit etmişler, distal bağırsak segmentlerinde ise glukagon anti serumunun etkisinin bulunmadığını bildirmişlerdir. Vasküler direncin zayıflaması sonucu venöz drenajın etkili şekilde sağlanamamasının venöz damarlarda daha şiddetli dilatasyon görölmesinin nedeni olarak belirtilmektedir. Venlerde yapısal olarak arterlerden zayıf damarlardır. Venlerin dilatasyonu ile kan akımının artması; hiperperfüzyon ve vasküler direncin azalması dokularda hiperemi ve ödem gelişimine neden olmaktadır (Shrikhande ve Mckinsey 2012). Vasküler dilatasyonun gelişmesinde damar endoteli tarafından oksidatif stres durumunda üretilen, güçlü bir vazodilatatör olan nitrik oksitin etkisi önem arz etmektedir. Ayrıca damar duvarındaki düz kas tabakasının plateletlerle olan interaksiyonlarının da vazodilatasyon gelişiminde etkili olduğu bildirilmekle birlikte hemoglobin A_{1c} seviyesinin vazodilatasyonla ilişkisi olmadığı belirtilmiştir (Lambert ve ark 1996). Arterlerde görülen genişleme diyabet hastalarında aterosklerotik değişimlerin nedeni olarak belirtilmektedir (Clarkson ve ark 1996). Deney gruplarımızın arter çapları arasında anlamlı farklılık saptanmaması Johnstone ve ark'nın (1993) ve Smits ve ark (1993) bulguları ile benzerlik göstermektedir. Johnstone ve ark (1993) tip 1 diyabetli hastalarda pletismografi yöntemi ile değerlendirdikleri önkol arterlerinin kan akımında kontrol grubu ile fark bulmadıklarını bildirmişlerdir. Smits ve ark (1993) tip 1 diyabet hastalarında önkol arterlerinde iskemi oluşturarak arteriyel kan akımını değerlendirmişler, kontrol grubu ile diyabet grubu arasında anlamlı farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu farklılığın nedenini diyabet hastalarının henüz erken dönemde olmaları, vasküler komplikasyonların gelişmemiş olabileceği nedeni ile kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. Bu farklılık kan proteinlerinin yarattığı onkotik basıncı ile ilişkili olabilir. Lambert ve ark (1996) normal üriner albümin sekresyonuna sahip tip 1 diyabetli hastaların arteriyel genişlemeye eğilimlerinin çok daha yavaş olduğunu bildirmişlerdir. Anwar ve ark

(1999) melatoninin kemik iliği üzerine olan stimülatör etkisini araştırmak amacı ile ratlara kemik iliği hücrelerine sitotoksik arastin uygulamışlar ve bir grupta melatonin sağaltımı yapmışlardır. Melatonin sağaltımı yapılan grupta kan total protein oranının anlamlı olarak artış gösterdiğini bildirmışlerdir. Benzer şekilde Ögetürk ve ark (2004) karbon tetraklorid uygulayarak, melatonin sağaltımı yaptıkları ratların kan serumunda, melatonin sağaltımı yapılmayan ratlarda serum total protein ve albümin oranının düştüğünü belirtmışlerdir. Melatonin sağaltımı yapılan ratlarda ise serum total protein ve albümin miktarında anlamlı değişik tespit edilmediğini bildirmışlerdir. Damar dilatasyonuna etki eden faktörlerin, çok daha geniş çaplı ele alınarak yapılacak araştırmalar vazodilatasyonun patofizyolojisinin daha iyi anlaşılmasına yardımcı olacaktır.

Çalışmamızda her grup için 800 adet sayılan goblet hücre sayıları istatikselsel olarak anlamlı farklılık göstermiştir. GSd diğer tüm gruplara göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. GSm ve GSk arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır. GSdm ise GSd verisine göre anlamlı olarak yüksek, GSm ve GSk verilerine göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Morrisey ve ark (1983) duodenal ülser gelişiminde kriptalardaki goblet hücrelerinin sayısında azalma görüldüğünü bildirmışlerdir. Çalışmamızda bu literatür bilgisi ile benzer olarak, D grubu deney hayvanlarının duodenum doku kesitlerinde genel olarak kriptaların tabanında yer alan goblet hücrelerinin bulunmadığını gördük. Kim ve Ho (2010) ise intestinal enfeksiyonların kronikleşmesi sürecinde goblet hücrelerinin çok fazla salgı yapmaları nedeni ile tükendikleri, mukus tabakasının kalitatif ve kantitatif özelliklerinin değiştiğini bildirmışlerdir.

Periferal kanda bulunan melatoninin ratlarda duodenal ülser gelişimine karşı koruyucu etkisi olduğu, prostoglandin üretimi ile sağlanan sinirsel uyarım ile, duodenum mukozasından asidik erozyona karşı mukozayı koruyan bikarbonat salgısını stimüle ettiği belirtilmiştir (Sjöblom ve ark 2001). Duodenum mukozasından yüksek miktarda salgılanan bikarbonat iyonu mideden gelen asit içeriğe karşı duodenum mukozasının korunmasında görev alan en önemli etmendir (Flemström ve Sjöblom 2002, Sjöblom ve Flemström 2003). Çalışmamız D grubu hayvanlarda duodenal ülser gelişip gelişmediğini kesin olarak doğrulayacak bir uygulama içermemektedir. Ancak D grubu deney hayvanlarında duodenal ülser gelişmiş olabileceği ihtimal dahilindedir. Çünkü D grubunun goblet hücre sayısı ve AB pH 2,5/PAS boyamada asidik müsin ihtiva eden goblet hücrelerinin bu grupta diğer gruplara oranla daha fazla olması duodenal ülser gelişimi ile örtüşen bulgulardır. DM

grubunda ise GSdm'nin GSd'ye göre anlamlı olarak yüksek bulunması ve histokimyasal incelemelerde açıklandığı üzere D grubu ile anlamlı farklılık göstermesi, bu grupta melatoninin koruyucu etkileri nedeni ile gerçekleşmiş olabilir.

Çalışmamızda Brunner bez çapları ölçümlerinde diyabetli gruplar ile diyabetli olmayan gruplar arasında anlamlı farklılık bulundu. BRÇd ve BRÇdm arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi. Aynı şekilde BRÇm ve BRÇk arasında da anlamlı farklılık tespit edilmedi. BRÇd ve BRÇdm değerleri ise BRÇm ve BRÇk değerlerine göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Brunner bezleri mideden gelen asit içeriği nötralize ederek pankreatik enzimlerin çalışabilmesi için uygun pH ortamını yaratan, saydam, visköz, alkali karakterde mukus ve bikarbonat iyonları salgılamaktadırlar (Krause ve ark 1967, Macea ve ark 2006, Wong ve ark 2012, Buraimoh ve Ojo 2012). Aynı zamanda Brunner bezleri gastrik asit sekresyonunu inhibe eden pepsinojen ve ürogastron salgılamaktadırlar (Abbass ve Kawas 2008). Brunner bezlerinin yapısal ve fonksiyonel değişimlerini içeren herhangi bir literatür bulgusuna rastlamadık. Literatür bilgileri klinik olarak görülen Brunner bezlerinin hiperplazisi veya Brunner bezlerinin adenoması (hamartoma) ile ilişkiliydi. Çalışmamızda duodenum doku kesitlerinde D grubunda Brunner bezlerinin çaplarının azalmasının yanında histolojik yapılarının bozulduğunu da gözlemledik. Histolojik yapının dejenerasyonu DM grubunda D grubunda olduğu kadar şiddetli gözlenmedi.

Brunner bezlerinde görülen bu morfolojik değişiklikler, bezlerin lümende bikarbonat sekresyonunu desteklemek için aşırı bikarbonat salgılamaları sonucu tükenmeleri veya diyabete bağlı çok çeşitli dejeneratif değişikliklerden etkilenmiş olabilecekleri nedeni ile gelişmiş olabilir. Brunner bezleri ile ilgili moleküler düzeyde yapılacak çok daha ayrıntılı çalışmalar bu konuya ışık tutacaktır.

Çalışmamızda bağırsak dış çapı ölçümleri açısından BÇd, BÇm ve BÇk'dan anlamlı olarak yüksek bulundu. BÇdm ile BÇk arasında anlamlı farklılık bulunmadı. BÇm ile BÇk arasında anlamlı farklılık bulunmaz iken, BÇm, BÇd ve BÇdm'ye göre anlamlı olarak düşük bulundu. Nowak ve ark (1990), Zhao ve ark (2003) deneysel tip 1 diyabetli Wistar ratlarda ince bağırsakların uzunluğunun ve genişliğinin artarak kütle ağırlıklarının arttığını, viskoelastik özelliklerinin değiştiğini belirtmişlerdir. Bağırsak dış çapı bulgularımız, literatür bilgileri ile örtüşür şekilde D ve DM grubunda diğer gruplardan anlamlı olarak yüksek bulundu. BÇdm ile BÇk arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

Ancak BÇm, BÇdm ve BÇk'ya göre anlamlı olarak düşük bulundu. M grubuna ait diğer histometrik parametrelerde olduğu gibi BÇm'inde uzun süreli anntioksidan kullanımının zararlı etkileri nedeni ile geliştiğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda PASK ve PASV histokimyasal değerlendirmeleri açısından D ve DM grubu ile K ve M grupları arasında anlamlı farklılık bulunmuştur. Periodic acid doku kesitlerinde 1,2 glikol (-CHOH -CHOH-) bağlı karbonhidratları okside ederek, Schiff reaktifi ile eflatun, mor veya parlak pembe, kırmızı renkte boyanan aldehid gruplarının meydana gelmesini sağlamaktadır (Mcmanus 1948, Dring 1954). Periodic acid Schiff reaksiyonu polisakkaritleri, farklı organlarda epitel hücreleri tarafından üretilen glikoprotein, glikolipid ve nötral müsini, dokuların bazal membranını oluşturan retiküler bağ dokudaki karbonhidrat bileşiklerini ve mantar hifalarını göstermek için kullanılmaktadır. Glikojen, glikoprotein ve proteoglikanlar gibi yüksek molekül ağırlıklı karbonhidratların doku kesitlerinde gösterilmesini sağlayan PAS reaksiyonu sıklıkla glikojen depolama hastalıklarında da kullanılmaktadır (Sheehan ve Hrapchak 1980). Bütün karbonhidratların molekül yapısı PAS ile boyanmaya uygun değildir, bu yöntemle polisakkartiler, mukopolisakkaritler, glikoprotein ve glikolipidler boyanmaktadır. Araştırmacıların bazıları PAS pozitif reaksiyonu dokuların pembe, kırmızı renk alması olarak bildirirken, bazıları da doğru reaksiyonun dokuların eflatun, mor rengini alması olduğunu ileri sürmüşlerdir. Son zamanlarda araştırmacılar arasında, dokuların Schiff reaktifi ile hangi rengi alırsa alsın PAS pozitif olarak kabul edilmesi gerektiği fikir birliğine varılmıştır. Bu histokimyasal farklılığın sebebi birçok araştırmacı tarafından ele alınmıştır. Aynı dokulara ait kesitlerin farklı boyanmasının, dokunun histokimyasal yapı farklılıkları nedeni ile gerçekleşebileceği belirtilmiştir (Fusaro ve ark 1960). Çalışmamızda literatürlerde de belirtildiği gibi PAS ile boyanan duodenum doku kesitlerinde gruplar arasında birbirlerinden farklı renk oluşumu gözlenmiştir. D ve DM gruplarının duodenum doku kesitleri pembe, goblet hücreleri fuşya rengi tonunda boyanır iken, M ve K grubu hayvanların doku kesitleri mor goblet hücreleri kırmızıya yakın fuşya renkte boyanmıştır. Her grubun kendi içerisinde PASK ve PASV açısından farklılık gözlenmemiştir. Dokuların boyanma derecesi; PAS reaksiyon şiddeti D ve DM grubunda villuslarda ve kriptalarda zayıf iken M ve K grubunda güçlü olduğu görülmüştür.

Çalışmamızın histokimyasal verileri, her grupta değil de diyabet hastası olan ve olmayan gruplar arasında fark gösterdiğinden, bu farklılığın diyabet nedeni ile geliştiğini düşünmekteyiz. Reaksiyon şiddetinin D ve DM grubunda zayıf bulunması, diyabet

hastalığında organ ve dokuların glikozu kullanamamaları sebebi ile dokunun karbonhidrat profilinin değişmiş veya azalmış olması sebebi ile gerçekleşmiş olabilir. Bu konuda kesin bir fikir sahibi olmak için diyabetli hastaların duodenum doku örnekleri farklı boyama yöntemlerinin de uygulandığı daha ayrıntılı histokimyasal ve moleküler incelemeyi gerektirmektedir.

Alcian blue pH 2,5/Periodic acid Schiff ikili boyama yönteminin etkileri maymun, rat ve farelerin üzerinde, bu hayvanlara ait çeşitli doku örnekleri kullanılarak araştırılmıştır. Nötral mukopolisakkaritler Schiff reaktifi ile pembe-kırmızı renk ile boyanır iken, asidik mukopolisakkaritler Alcian blue ile mavi renge boyanmaktadır. Her iki karakterde molekül içeren dokular iki rengin karışımı olarak mor renk ile boyanmaktadır (Linden ve ark 2008). Her iki boyama yöntemi de; AB ve PAS, doku ve hücrelerindeki münlerin renklendirilmesi için önemli metodlardır (Mowry 1960). Alcian blue pH 2,5/Periodic acid Schiff ikili boyama yöntemi genellikle konjunktiva ve duodenum goblet hücrelerinde bulunan glikoproteinlerin heterojenitesini göstermek amacıyla uygulanmaktadır (Yamabayashi 1987). Çalışmamızda bu ikili boyama yöntemini uygulamamızın amacı Yamabayashi'nin (1987) belirttiği gibi duodenum goblet hücrelerinin salgı karakteristiklerini incelemektir.

Gastrointestinal sistem baskın olarak glikoprotein yapılu münlerin oluşturduğu, goblet hücreleri tarafından sentezlenen koruyucu mukus tabakası ile kaplıdır. Mukus tabakası koruyucu etkisinin yanı sıra bağırsak lümen yüzeyinin lubrikasyonunu ve luminal yüzeyden madde transportunu sağlamaktadır (Deplancke ve Gaskins 2001, Kim ve Ho 2010, Kim ve Khan 2013). Münler asidik ve nötral olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Asidik münlerin sülfat molekülü içerenler sülfomün, içermeyenler ise sialomün olarak adlandırılmaktadır (Machado-Neto ve ark 2013). Münler yüksek molekül ağırlıklı, glikoprotein yapısında bileşiklerdir. Merkezi bir protein çekirdeğine çoklu zincir içeren polisakkaritlerin bağlanması ile oluşurlar ve organizmada gastrointestinal sistem, respirator sistem ve reproduktif sistem organlarında salgı yapan hücrelerde bulunmaktadır. Münlerin molekül ağırlıklarının %60-80'ini karbonhidratlar oluşturmaktadır (Myers 2009). Münlerin kimyasal yapısı ile benzerlik gösteren ve münler ile karıştırılan pek çok glikoprotein yapılu molekül mevcuttur. Bunlardan proteoglikanlar ekstrasellüler matrikste fazlaca bulduklarından, eski araştırmacılar tarafından bağ doku münleri olarak adlandırılmışlardır. Münlerin histokimyasal özellikleri içerdikleri

karbonhidratların kimyasal yapısına bağlıdır. Karbonhidrat yapısında karboksilat (COO-) ve sülfonat (SO₃) içeren müsinler asidik müsinlerdir ve fizyolojik pH'da çözünmemiş olarak, yüksüz halde bulunurlar. Merkezinde bakır atomu bulunan bir ftalosiyanın molekülü olan Alcian blue pH 2,5 reaktifi pozitif yüklüdür ve dokularda asidik müsinlerin oluşturduğu anyonik bölgelerde reaksiyon vermektedir. Alcian blue pH 2,5 solusyonu uygulanan doku kesitlerinde bulunan asidik müsinler, pH 2,5'da çözünerek, negatif yüklenirler ve iyonize hale geçerek AB reaktifi ile mavi renkli boyanırlar. Periodic acid Schiff ile reaksiyon veren nötral müsinler başlıca mide epitelinde ve duodenumda bulunan Brunner bezlerinde bulunmaktadır (Myers 2009).

Çalışmamızda goblet hücrelerinin salgı karakteristiklerini incelemek amacı ile AB pH 2,5/PAS boyalı preparatlar değerlendirilmiştir. D grubunda tüm goblet hücrelerinin bazı preparatlarda koyu mor boyandığı, bazı preparatlarda ise bir kısmının mavimsi, bir kısmının açık - koyu mor boyandığı, DM grubunun AB pH 2,5/PAS boyalı preparatlarında ise goblet hücrelerinin koyu mor olarak boyandığı, bazı preparatlarda mavimsi ve pembemsi boyanmış goblet hücrelerinin bulunduğu gözlemlendi. Kontrol grubunun çoğu preparatında tüm goblet hücrelerinin koyu mor, bazı preparatlarında ise bir kısmının pembe-kırmızı bir kısmında koyu mor renk ile boyandığı gözlemlendi. Melatonin uygulaması yapılan M grubunun çoğu preparatında goblet hücrelerinin açık – koyu mor renkte olduğu gözlenirken, bazı preparatlarında goblet hücre içeriklerinin mavimsi boyandığı tespit edildi. İstatiksel olarak D grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı farklılık saptandı.

Goblet hücrelerinin salgı içeriklerinin kompozisyonunu değiştiren etmenler arasında diyet, malnutrisyon, intestinal enfeksiyonlar sırasında lümeninde mikroorganizmaların bulunması veya zararlı etkili bileşiklerin bulunması sayılmaktadır (Meslin ve ark 1999, Uni ve ark 2003, Machado-Neto ve ark 2013). İnsanlar, fareler ve ratlar üzerinde yapılan araştırmalarda mukus salgısının bazı etken maddelerin kullanımı durumunda ve glikozilasyon ile protein sentezi metabolizmasında bozukluklara yol açan durumlarda baskılandığı belirtilmiştir (Uni ve ark 2003).

Mukus tabakasının, goblet hücrelerinin salgılarına bağlı olmak üzere enfeksiyonlarda konak savunmasında oldukça önemli rol oynadığı, patojenlerin bağırsak duvarına tutunmasını ve invazyonunu engellediği belirtilmektedir (Kim ve Ho 2010, Kim ve Khan 2013). Ayrıca gastrointestinal sistemin farklı bölgelerinde goblet hücre

salgılarının farklı olduğu da bildirilmektedir (Morrisey ve ark 1983, Kim ve Ho 2010). İnsanlarda intestinal mukozanın yüzeyini kaplayan müsinin MUC2 tipinde, midede ise MUC5AC ve MUC6 olduğu bildirilmektedir (Linden ve ark 2008, Kim ve Ho 2010). İnce bağırsaklardan kalın bağırsaklara doğru gidildikçe asidik müsin miktarında artış gözlemlendiği belirtilmektedir. Çalışmamızda D grubunda yer alan bazı hayvanlarda mavi boyalı diğer bir deyiş ile asidik müsin ihtiva eden goblet hücrelerinin bulunmasını, diyabet nedeni ile gelişmiş olan bir intestinal enfeksiyon nedeni ile gerçekleşmiş olabileceğini düşünmekteyiz. Wolosin ve Edelman'ında (2000) belirttiği gibi diabetes mellitus nedeni ile gelişen enterik nöropati bağırsak konsantrasyonlarında azalmaya, içerik geçişinin yavaşlamasına neden olmaktadır. Bu durum bakteriyel üremeye ve intestinal sistemde enfeksiyona yatkınlık yaratmaktadır (Wheat 1980, Cheah ve ark 1985, Perschel ve ark 1995, Schubert ve Heesemann 1995, Chin-Hong 2006, Papanas ve ark 2010, Casqueiro ve ark 2012). Kim ve Khan (2013) enfeksiyon halinde bağırsaklardan sentezlenen mukus miktarının arttığını belirtmişlerdir. Asidik müsinin mikroorganizmaların enzimlerine çok daha dayanıklı olduğu, akut intestinal enfeksiyonlarda lümendeki miktarında artış gözlemlendiği bildirilmiştir (Uni ve ark 2003, Kim ve Ho 2010, Machado-Neto ve ark 2013). Mikrobiyal ürünler ve inflammatuar sitokinler goblet hücreleri tarafından salgılanan müsin miktarını arttırmaktadır (Linden ve ark 2008). Bu durum AB boyalı preparatlarımızda D grubunda diğer tüm gruplara göre ASM miktarının yüksek olmasını ve diğer tüm gruplar ile arasında anlamlı farklılık olmasını da açıklamaktadır. Belirtildiği gibi çalışmamızda goblet hücrelerinin salgı karakteristikleri bulgularına benzer şekilde, lümeninde asidik mukus miktarı bakımından yapılan değerlendirme ve istatistiksel analiz sonucunda, yalnızca D grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir. Bu bulgunun GHS analiz bulguları ile uyum göstermesi şaşırtıcı olmamıştır. Nitekim lümeninde tespit edilen salgının kaynağı goblet hücreleridir. Gruplar arasında ASM'nin yalnızca D grubunda anlamlı olarak farklı ve diğer gruplardan fazla bulunmasını goblet hücrelerinin belirtilen nedenlerden ötürü daha fazla asidik mukus salgılamaları nedeni ile oluştuğunu düşünmekteyiz.

Enfeksiyonun kronikleşmesi sürecinde goblet hücrelerinin çok fazla salgı yapmaları nedeni ile tükendikleri, mukus tabakasının kalitatif ve kantitatif özelliklerinin değiştiği belirtilmiştir (Kim ve Ho 2010). Ancak müsin tiplerinin hepsi ile yapılmış karşılaştırmalı bir çalışma bulunmamaktadır (Linden ve ark 2008).

Altı hafta süresince günlük intraperitoneal melatonin uygulaması yapılan DM grubunun AB pH 2,5/PAS boyalı duodenum preparatlarında baskın olarak asidik içerik içeren ve mavi renge boyanmış goblet hücresi bulunmamasını ve ASM miktarının K ve M grubundan farklı olmamasını, melatoninin antiinflammatuar etkileri nedeni ile geliştiğini düşünmekteyiz (Mayo ve ark 2005, Espozito ve Cuzzocrea 2010, Tahan ve ark 2011, Carrillo-Viko ve ark 2013). Pinealektomi yapılan ratların primer ve sekonder lenfoid organlarının kütlelerinde, doğal ve kazanılmış bağışıklık işlevlerini yerine getiren immun sistem hücre içeriklerinde önemli miktarda azalma tespit edilmiştir (Carrillo-Viko ve ark 2013). Melatonin antioksidan özelliklerinin yanında tümör gelişimini yavaşlatıcı, yaşlanmayı geciktirici immuno modülatör özellikler göstermektedir (Naza ve ark 2010). Bu bulgu ve çalışmamızda elde ettiğimiz diğer histokimyasal bulgulara dayanarak, diyabet hastalığında melatoninin intestinal sistem sağlığı üzerine pozitif etki ettiği söylenebilir.

5. SONUÇ

Araştırmamızda elde edilen istatistiki verilerin literatür verileri ile karşılaştırılması ve literatürlerden edinilen bilgiler doğrultusunda yorumlanması neticesinde, Diabetes mellitus'ta melatonin uygulamasının, duodenum morfolojisi üzerine olumlu etkileri olduğu söylenebilir. Çalışmamızda melatoninin hayvanlarda kan glikoz düzeyine ve ağırlık kaybına ve vazodilatasyona ciddi bir etkisi tespit edilmemiş olsa da, pek çok araştırmacı bu parametreler bakımından melatoninin olumlu etkisini göstermiştir. Melatoninin kan glikoz homeostazisini sağlayan mekanizmalarla ilişkisinin daha açık olarak anlaşılması, gelecekte melatoninin diyabetin sağaltım seçenekleri arasına girmesini sağlayabilir.

ÖZET

DeneySEL Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda Melatonin Uygulamasının Duodenum Üzerindeki Etkisinin Morfolojik Olarak İncelenmesi

Diabetes mellitus hiperglisemi ile karakterize kronik metabolik bir bozukluktur. İnsülin yokluğu veya insülin etkisindeki defektler nedeni ile organizma karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamaz. Hiperglisemi glikoz toksikasyonu nedeni ile serbest radikallerin oluşum hızının artmasına neden olur dolayısıyla diyabette vücudun tüm doku ve organlarında oksidatif stres meydana gelir. Ayrıca diyabet insülin salınımı açısından önemli olan gastrointestinal sistemde de çeşitli semptomlara neden olmaktadır. Diyabette oksidatif stresin hasarını azaltmak için antioksidanların kullanımının pozitif etkileri gösterilmiştir. Bu güne kadar bilinen en güçlü antioksidan olan melatoninin de diyabette kullanımının gastrointestinal sistem üzerine olumlu etkileri olabilir.

Bu çalışmada deneysel diyabet oluşturulan ratlarda melatoninin duodenum üzerindeki morfolojik etkisini araştırmak amaçlandı. Bu amaçla sekiz haftalık yaşta, 32 erkek sıçan, diyabet grubu (D), diyabet melatonin grubu (DM), melatonin grubu (M) ve kontrol grubu (K) olmak üzere dört gruba ayrıldı. D ve DM grubuna tek doz Streptozotosin intraperitoneal olarak verildi ve takip eden üçüncü günde kuyruk venasından alınan kanda glikoz değerleri ölçüldü. Tüm hayvanların kan glikoz değerleri 200 mg/dl üzerinde tespit edildiğinden hepsi çalışmaya dahil edildi. Daha sonra altı hafta süresince her gün DM ve M grubuna intraperitoneal 10 mg/kg melatonin uygulaması yapıldı. Altıncı haftanın sonunda uygun anestezi altında hayvanlara servikal dislokasyon yapılarak karın boşlukları açıldı ve duodenum doku örnekleri toplandı. Doku örnekleri rutin histolojik takipten sonra parafine gömülerek 5 mm'lik kesitler alındı ve hematoksilin – eozin, alsiyen mavisi (AB), periodic acid schiff (PAS) ve alsiyen mavisi – periodic acid schiff boyaları ile boyandı. Histometrik parametreler; villus uzunluğu, villus genişliği, kript derinliği, kript çapı, tunica muscularis kalınlığı, arter ve ven çapları, goblet hücre sayısı, bağırsak dış çapı ve Brunner bezlerinin çapları bilgisayar destekli mikroskop altında, her doku örneği için toplam on kesitte on adet iyi yapıda villus ve brunner bezi seçilerek incelendi. Goblet hücrelerinin salgı karakteristikleri AB - PAS boyalı preparatlarda incelendi. Villuslarda ve kriptalarda PAS reaksiyon şiddeti PAS boyalı preparatlarda, lümende aloidik mukus miktarı AB boyalı preparatlarda değerlendirildi. Veriler IBM SPSS Statistics 21 Version programında analiz edildi.

Analiz sonuçlarına göre villus uzunluğu, kripta derinliği, tunica muscularis kalınlığı, ven çapları, goblet hücre sayısı, bağırsak dış çapı ve Brunner bezlerinin çapları, vücut ağırlığı yüzde değişimi, kan glikoz seviyesi, hemoglobin A1_c ve lümende asidik mukus miktarı, goblet hücrelerinin salgı karakteristikleri, villuslarda PAS reaksiyon şiddeti ve kriptlerde PAS reaksiyon şiddeti değerleri bakımından gruplar arasında anlamlı farklılık bulundu. Villus genişliği, kripta çapı, arter çapı, parametrelerinde gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı.

Melatoninin diyabetik sıçanlarda duodenum histomorfolojisi üzerine pozitif etkisi bulundu.

Anahtar Kelimeler; deneysel diyabet, sıçan, melatonin, duodenum

SUMMARY

Morphological Examination of the Melatonin Effects on Duodenum in Experimental Diabetic Rats

Diabetes Mellitus is a chronic metabolic disorder characterized by hyperglycemia. Due to the insulin deficiency or insulin defects, organism can not benefit enough from carbohydrate, fat and protein. Hyperglycemic condition increase free radicals because of glucose intoxication, therefore diabetes mellitus leads to oxidative stress in all tissues and organs. It would also cause a variety of symptoms in the gastrointestinal tract which is important for insulin secretion. The benefits of the use of antioxidants to improve oxidative stress has been shown in diabetes mellitus. Melatonin is known as the most powerful antioxidant to this day and use of it may be useful in diabetes for gastrointestinal system.

This study aimed to investigate melatonin effects on duodenum in experimental diabetic rats. To this end, thirty two male rats which are eight weeks of age were divided into four groups. Diabetes mellitus group (D), diabetes mellitus and melatonin group (DM), melatonin group (M) and control group (C). D and DM groups was injected single dose of 60 mg/kg Streptozotocin intraperitoneally. Three days later blood glucose levels were measured from the tail vein. All animals were included in the study because blood glucose levels are above 200 mg/dl all of them. Afterwards melatonin administration was carried out everyday for six weeks in DM and M group 10 mg/kg intraperitoneally. Control group was injected only isotonic. After six weeks cervical dislocation was performed under anesthesia to animals and collected duodenal tissue samples by opening the abdominal cavity. Tissue samples were passed through routine histological procedures and 5 mm sections were taken and stained hematoxylin and eosin, alcian blue (AB), periodic acid schiff (PAS) and alcian blue-periodic acid schiff. Histometric parameters; villus length, villus width and crypt depth, crypt diameter, tunica muscularis thickness, number of goblet cells, intestinal outer diameter, artery and vein diameter, the diameter of the Brunner's glands were measured to select well oriented ten villi and Brunner's glands on ten sections under computer assisted microscope. Secretion contents of goblet cells was studied on AB - PAS stained sections. PAS reaction severity of the villi and crypt was studied on PAS stained section and amount of acidic mucus in lumen was evaluated on AB stained sections. Data were analyzed with IBM SPSS Statistics 21 Version program.

Statistical results showed significant differences between groups in terms of villus length, crypt depth, tunica muscularis thickness, number of goblet cells, intestinal outer diameter, vein diameter, the diameter of the Brunner's glands, secretion of goblet cells characteristic, PAS reaction severity of the villi and crypt, body weight changes, blood glucose level, hemoglobin A1_c, amount of acidic mucus in lumen. Statistical results showed no significant differences between groups in terms of villus width, crypt diameter, artery diameter.

Positive effects of melatonin were found in diabetes mellitus about duodenum histomorphology.

Keywords; experimental diabet, rat, melatonin, duodenum

KAYNAKLAR

Abdel-Wahab MH, Abd-Allah AR. Possible protective effect of melatonin and/or desferrioxamine against streptozotocin-induced hyperglycaemia in mice. *Pharmacol Res* 2000; 41:533– 537.

Abu Abeeleh MA, Ismail ZB, Alzaben KR, Abu-Halaweh SA, Al-Essa MK, Abuabeeleh J, Alsmady MM. Induction of diabetes mellitus in rats using intraperitoneal streptozotocin: a comparison between 2 strains of rats. *European Journal of Scientific Research* 2009;32(3):398-402.

Agil A, Rosado I, Ruiz R, Figueroa A, Zen N, Fernandez-Vazquez G. Melatonin improves glucose homeostasis in young Zucker diabetic fatty rats. *Journal of Pineal Research* 2012;52:203–210.

Akbarzadeh A, Norouzi D, Mehrabi MR, Jamshidi S, Farhangi A, Verdi AA, Mofidian SMA, Lame B. Induction of Diabetes by Streptozotocin in Rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 2007;22(2): 60-64.

Aksoy N, Vural H, Sabuncu T, Aksoy S. Effects of melatonin on oxidative–antioxidative status of tissues in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell Biochemistry Function* 2003; 21: 121–125.

Amed R, Mahava S, Al-Shboul O, Bhattacharya S, Grider JR, Murthy KS. Characterization of signaling pathways coupled to melatonin receptors in gastrointestinal smooth muscle. *Regulatory Peptides* 2013;184:96-103.

Anders RA. Functional Histology of the Gastrointestinal Tract. *Gastroenterology* 2011;3:71-78.

Andersen H. Decreased isometric muscle strength after acute hyperglycaemia in Type 1 diabetic patients. *Diabetic Medicine* 2012;22:1401–1407.

Andersen H, Gadeberg PC, Brock B, Jakobsen J. Muscular atrophy in diabetic neuropathy: A stereological Magnetic Resonance Imaging Study. *Diabetologia* 1997;40:1062-1091.

Andersson AK, Sandler S. Melatonin protects against streptozotocin, but not interleukin-1beta-induced damage of rodent pancreatic beta cells. *Journal of Pineal Research* 2001;30:157–165.

Anwar MM, Mahfouz HA, Sayed AS. Potential protective effects of melatonin on bone marrow of rats exposed to cytotoxic drugs. *Comparative Biochemistry and Physiology* 1998;119:493–501.

Anwar MM, Meki AR. Oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats: effects of garlic oil and melatonin. *Comparative Biochemistry and Physiology* 2003;135:539-547.

Arıncı K, Elhan A. Anatomi. In: Arıncı K, Elhan A. (Eds) *Duodenum*. 4. Baskı Ankara: Güneş Kitabevi; 2006. p 125-126.

Ashcroft FM, Rorsman P. Diabetes Mellitus and the β Cell: The Last Ten Years. *Cell* 2012;16:1660-1667.

Awad W, Ghareeb K, Böhm J. Intestinal Structure and Function of Broiler Chickens on Diets Supplemented with a Synbiotic Containing *Enterococcus faecium* and Oligosaccharides. *International Journal of Molecular Science* 2008;9:2205-2216.

Bjelakovic G, Nagorni A, Stamenkovi I, Benedeto-Stojanov D, Bjelakovi M, Petrovi B, Anti S. Diabetes Mellitus and Digestive Disorders. *Acta Facultatis Medicae Naissensis* 2005; 22(1): 43-50.

Block C, Leeuw IH, Pelckmans PA, Van Gaal LF. Current concepts in gastric motility in diabetes mellitus. *Current Diabetes Reviews* 2006;2: 113-130.

Bragg JD. Understanding diabetes and its effects on the gastrointestinal tract. *DOs Against Diabetes* 2008;3:9-15.

Braslaşu MC, Braslaşu DE, Bradaian C, Savuleiscu I, Gojmaleaja R, Budai M, Tirifon E. Experimental Studies Regarding the Diabetes Mellitus Induced in Wistar Rats. *Lucrari Medicina Veterinaria* 2007;15:109-116.

Brzozowski T, Konturek PC, Zwirska-Korcza K, Konturek SJ, Brzozowska I, Drozdowicz Sliwowski Z, Pawlik M, Pawlik WW, Hahn EG. Importance of the pineal gland, endogenous prostaglandins and sensory nerves in the gastroprotective actions of central and peripheral melatonin against stress-induced damage. *Journal of Pineal Research* 2005;39:375–385.

Bagyánszki M, Bódi N. Diabetes-related alterations in the enteric nervous system and its microenvironment. *World Journal of Diabetes* 2012;3(5):80-93.

Bass LM, Wershil BK. Developmental Anomalies of the Small and Large Intestine. *Gastrointestinal and Liver Disease* 2015;(98):1649-1678.

Baydas G, Erel E, Canatan H, Dönder E, Akyol A. Effect of melatonin on oxidative status of rat brain, liver and kidney tissues under constant light exposure. *Cell Biochemistry Function* 2001; 19: 37±41.

Baydas G, Canatan H, Turkoglu A. Comparative analysis of the protective effects of melatonin and vitamin E on streptozocin-induced diabetes mellitus. *Journal of Pineal Research* 2002; 32:225–230.

Berke W. Endothelial dysfunction and diabetes: roles of hyperglycemia, impaired insulin signaling and obesity. *Cell and Tissue Research* 2015;21:89-96.

Bibak B, Khalili M, Rajaei Z, Soukhtanloo M, Hadjzadeh MA, Hayatdavoudi P. Effects of melatonin on biochemical factors and food and water consumption in diabetic rats. *Advanced Biomedical Research* 2014;19(3):173-175.

Bouatia-Naji N, Bonnefond A, Cavalcanti-Proença C. A variant near MTNR1B is associated with increased fasting plasma glucose levels and type 2 diabetes risk. *Nature Genetics* 2009;41(1):65-72.

Bouayed J, Bohn T. Exogenous antioxidants - Double-edged swords in cellular redox state: Health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2010;3(4):228-237.

Bozkurt M, Sandıkçı M. Farklı yaşlardaki civcivlerin barsak villus boyu ve çapı ile kadeh hücresi ve mitotik hücre sayılarındaki değişimler. *YYU Veteriner Fakültesi Dergisi* 2008;20(1):5-9.

Bowling FL, Rashid ST, Boulton AJ. Preventing and treating foot complications associated with diabetes mellitus. *Nature reviews Endocrinology* 2015;3:28-35.

Bubenik GA. Thirty four years since the discovery of gastrointestinal melatonin. *Journal of Physiology and Pharmacology* 2008;59(2):33-51.

Buraimoh AA, Ojo SA. Effects of Aluminium Chloride Exposure on the Histology of the Small intestine of Wistar Rats. *International Journal of Applied Science and Technology* 2012;2:123-132.

- Chau W, Patel BA. Determination of serotonin, melatonin and metabolites in gastrointestinal tissue using high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Biomedical Chromatography* 2008;23:175-181.
- Chatzigeorgiou A, Halapas A, Kalafatakis K, Kamper E. The Use of Animal Models in the Study of Diabetes Mellitus. *In vivo* 2009;23:245-258.
- Cheah JS, Thai AC, Alli R, Chan L, Wang KW, Yeo PP. Infections in diabetes with special reference to diabetics in Singapore. *Annals Academy of Medicine Singapore* 1985;14(2):240-246.
- Chin-Hong PV. Infections in Patients With Diabetes Mellitus: Importance of Early Recognition, Treatment and Prevention. *Infectious Disease* 2006;6(2):71-81.
- Clarkson P, Celermajer DS, Donald AE. Impaired vascular reactivity in insulin-dependent diabetes mellitus is related to disease duration and low density lipoprotein cholesterol levels. *Journal of American College of Cardiology* 1996;28:573-579.
- Czakó L, Hegyi P, Rakonczay Z, Wittmann T, Otsuki M. Interactions between the Endocrine and Exocrine Pancreas and Their Clinical Relevance. *Pancreatology* 2009;9:351-359.
- Cade T. Diabetes-Related Microvascular and Macrovascular Diseases in the Physical Therapy Setting. *Physical Therapy* 2008;88:1322-1335.
- Cam M, Yavuz O, Guven A, Ercan F, Bukan N, Ustundag N. Protective effects of chronic melatonin treatment against renal injury in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Pineal Research* 2003;35:212-220.
- Carillo-Viko A, Lardone PJ, Nuria-Alvarez S, Rodriguez AR, Guerrero JM. Melatonin: Buffering the Immune System. *Internal Journal of Molecular Science* 2013;14(4): 8638-8683.
- Carvalho EN, Carvalho NAS, Ferreira LM. Experimental model of induction of diabetes mellitus in rats. *Journal of Veterinary Medicine* 2003;6:60-65.
- Caspary WF. Physiology and Pathophysiology of Intestinal Absorption. *American Clinical Journal of Nutrition* 1992;55:299-308.
- Casqueiro J, Casqueiro JA, Alves C. Infections in patients with diabetes mellitus: A review of pathogenesis. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism* 2012;16:27-36.

Dring DM. A Periodic Acid Schiff Technique for Staining Fungi in Higher Plants. *New Phytologist* 1954;54:277-279.

Deplancke B, Gaskins HR. Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2001;73:1131-1141.

Despres JP. Abdominal obesity as important component of insulin-resistance syndrome. *Nutrition* 1993;9(5):452-459.

Duksal T, Tiftikçioğlu BI, Bilgin S, Kose S, Zorlu Y. Role of inflammation in sensory neuropathy in prediabetes or diabetes. *Acta Neurologica Scandinavica* 2015;24:15-23.

Durna Z. Diyabetin Sınıflandırılması ve Tanı Kriterleri, http://www.tdhd.org/dhd_kitap/02blm.pdf. Erişim Tarihi: 28.09.2015.

Ekinci N, Kırkpınar K, Acer N. The Examination of Morphological Changes in Duodenum of Vagotomized and Sympathectomized Rats. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2004;13(3):8-17.

Espino J, Pariente JA, Rodríguez AB. Role of melatonin on diabetes-related metabolic disorders. *World Journal Diabetes* 2011;2(6):82-91.

Emden M. The Role of HbA1c Diagnosis of Diabetes in Australia. *Clinical Focus* 2012;197:1-3.

Emden M. Glycated haemoglobin for the diagnosis of diabetes. *Australian prescriber* 2014;37:98-100.

English P, Williams G. Hyperglycaemic crises and lactic acidosis in diabetes Mellitus. *Postgrad Medicine* 2004;80:253-261.

Espozito E, Cuzzocrea S. Antiinflammatory Activity of Melatonin in Central Nervous System. *Current Neuropharmacology* 2010;8(3):228-242.

Frier B. Welcome to Diabetic Hypoglycemia – an essential new source for hypoglycemia awareness. 2008;1(1):1-11.

Flemström G, Sjöblom M. Duodenal defence mechanisms: role of mucosal bicarbonate secretion. *Inflammopharmacology* 2002;10:327-332.

Florey HW, Harding HE. Further observations on the secretion of Brunner's glands. *The Journal of Pathology and Bacteriology* 1934;39(2):255-276.

Faussone-Pellegrini MS, Thuneberg L. Microscopy research and technique. 1999;47:248-266.

Fajans SS, Graeme IB, Polonsky KS. Molecular Mechanism and Clinical Pathophysiology of Maturity-Onset Diabetes of the Young. *The New England Journal of Medicine* 2001;345:411-419.

Fieker A, Phillipot J, Armand M. Enzyme replacement therapy for pancreatic insufficiency: present and future. *Clinical and Experimental Gastroenterology* 2011;4:55-73

Fijlstra M, Ferdous M, Koning AM Rings EHH, Harmsen HJM, Tissing WJE. Substantial decreases in the number and diversity of microbiota during chemotherapy-induced gastrointestinal mucositis in a rat model. *Support Care Cancer* 2015;23:1513-1522.

Fusaro RM, Goltz MS, Goltz RW. A Comparative Study of the Periodic Acid-Schiff and Alcian Blue Stains. *The Journal of Investigative Dermatology* 1960;35:305-307.

Gabbe SG. Gestational Diabetes Mellitus. *The New England Journal of Medicine* 1986;315:1025-1026.

Garcia M, Gregori C, Hernandez F, Megi MD, Madrid J. Effect of Formic Acid and Plant Extracts on Growth, Nutrient Digestibility Intestine. *Poultry Science* 2007;16:555-562.

Gilmartin AB, Ural SH, Repke JT. Gestational diabetes mellitus. *Reviews in Obstetrics and Gynecology* 2008;1(3):129-134.

Gupta J, Jonathan MD, Vasudevan V. Rabson-Mendenhall syndrome. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry* 2012;30(3):279-282.

Guthrie RA, Guthrie J, Menden AB. Pathophysiology of Diabetes Mellitus. *Critical Care Nursing Quarterly* 2004;27(12):113-125.

Güven A, Yavuz Ö, Cam M, Ercan F, Bukan N, Comunoglu C, Gokce F. Effects of melatonin on streptozotocin-induced diabetic liver injury in rats. *Acta histochemica* 2006;108:85—93.

Gonzalez A, Santofimia-Castano P, Saido GM. Melatonin, mitochondria, and Ca²⁺ homeostasis in the exocrine pancreas: an overview. *Turkish Journal of Biology* 2015;39:1503-1512.

- Hsu YC, Lei CC, Ho C, Shih YH, Lin CL. Potential biomarkers associated with diabetic glomerulopathy through proteomics. *Ren Fail* 2015;12:1-8.
- Haligür A, Karakurum E. Sığıçanda Pankreas'ın Makroanatomisi ve İmmun Boyama Yöntemi ile İnnervasyonunun İncelenmesi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi* 2014;9(1):16-22.
- Hamedı S, Rezaian M, Shamoli T. Histological Changes of Small Intestinal Mucosa of Cocks Due to Sunflower Meal Single Feeding. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences* 2011;6(4):171-175.
- Hardeland H, Pandi-Perumal SR, Cardinali DP. Melatonin. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2006;38:313–316.
- Hardt PD, Hauenschild A, Nalop J, Marzeion AM, Jaeger C, Teichmann J, Bretzel RG, Hollenhorst M, Kloer HU. High Prevalence of Exocrine Pancreatic Insufficiency in Diabetes mellitus. *Pancreatology* 2003;3:395-402.
- Hattersley AT. Maturity-onset diabetes of the young: clinical heterogeneity explained by genetic heterogeneity. *Diabetic Medicine* 1998;15(1):15-24.
- Holt RIG. Diagnosis, epidemiology and pathogenesis of diabetesmellitus: an update for psychiatrists. *British Journal of Physiciatri* 2004;134:55-63.
- Inzucchi SE, Sherwin RS. Type I Diabetes Mellitus. *Journal of Internal Medicine* 2015;6:83-91.
- Huri HZ, Ling DYH, Azmav WA. Association between glycemic control and antidiabetic drugs in type 2 diabetes mellitus patients with cardiovascular complications. *Drug Design, Development and Therapy* 2015;9:4735–4749.
- IDF. Diabetes Atlas, <http://www.idf.org/diabetesatlas>. Erişim Tarihi: 28.09.2015.
- İli P, Keskin N, Mammadov R, Sarı F. Cyclamen graecum ekstraktlarının sıçan alt gastrointestinal sistem üzerindeki etkilerinin histokimyasal olarak araştırılması. *SDÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2014;5(3):98-102.

- Jaleel A, Baig S. Classification and Criteria for Diagnosis of Diabetes Mellitus: Recent Proposal, <http://www.jpma.org.pk/PdfDownload/3493.pdf>. Erişim Tarihi: 28.09.2015.
- Jaworek J, Nawrot-Porabka K, Leja-Szpak A, Bonior J, Szklarczyk J, Kot M, Konturek SJ, Pawlik WW. Melatonin as modulator of pancreatic enzyme secretion and pancreatoprotector. *Journal of Physiology and Pharmacology* 2007;58(6):68-80.
- Jaworek J, Brzozowski T, Konturek SJ. Melatonin as an organoprotector in the stomach and the pancreas. *Journal of Pineal Research* 2005; 38:73–83.
- Jaworek J, Nawrot-Porabka K, Leja-Szpak A, Konturek SJ. Brain gut axis in the modulation of pancreatic enzyme secretion. *Journal of Physiology and Pharmacology* 2010;61(5):523-535.
- Jaworek J, Szklarczyk J, Jaworek AK, Nawrot-Porabka K, Leja-Szpak A, Bonior J, Kot M. Protective effect of melatonin on acute pancreatitis. *International Journal of Inflammation* 2012;3:1-8.
- Joens T. Hypoglycemia in children and adolescents. *Diabetic Hypoglycemia* 2009;2(2):3-10.
- Johnstone MT, Creager SJ, Scales km, Cuzco JA, Lee BK, Creager MA. Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation* 1993 ;88(6):2510-6.
- Kharroubi AT, Darwish HM. Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World Journal of Diabetes* 2015;25(6):850-867.
- Krause WJ, Leeson CR. The origin, development and differentiation of Brunner's glands in the rat. *Journal of Anatomy* 1967;101:309-320.
- Krause WJ. Brunner's glands: a structural, histochemical and pathological profile. *Prognostic Histochemical Cytochemistry* 2000;35(4):259-367.
- Kristinsson JK, Gottfredsdóttir MS, Stefánsson E. Retinal vessel dilatation and elongation precedes diabetic macular oedema. *British Journal of Ophthalmology* 1997;81:274-278.
- Kvetnoy IM. Extrapineal melatonin: location and role within diffuse neuroendocrine system. *Histochemical Journal* 1999;31(1):1-12.

Kanter M, Uysal H, Karaca T, Sagmanligil HO. Depression of glucose levels and partial restoration of pancreatic beta-cell damage by melatonin in streptozotocin-induced diabetic rats. *Archives Toxicology* 2006;80(6):362-369.

Katsilambros N, Kanaka-Gantenbein C, Liatis S, Makrilakis K, Tentolouris N. Lactic Acidosis in Diabetes Diabetic Emergencies: Diagnosis and clinical management. 2011;12:123-135.

Kelly P, Menzies I, Crane R, Zulu I, Nickols C, Feakins B, Mwansa J, Mudenda V, Katubulushi M, Greenwald S, Farthing M. Response of Small Intestinal Architecture and Function Over Time to Environmental Factors in a Tropical Population. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2004;70:412-419.

Kerl ME. Diabetic Ketoacidosis: Pathophysiology and Clinical and Laboratory Presentation. *Small Animal Journal* 2001;3:1-8.

Kim YS, Ho SB. Intestinal Goblet Cells and Mucins in Health and Disease: Recent Insights and Progress. *Current Gastroenterology Representative* 2010;12:319-330.

Kim JJ, Khan WL. Goblet Cells and Mucins: Role in Innate Defense in Enteric Infections. *Pathogens* 2013;2:55-70.

King JFA. The use of animal models in diabetes research. *British Journal of Pharmacology* 2012;166:877-894.

Korthuis RJ, Benoit JN, Kvietys PR, Laughlin MH. Intestinal hyperemia in experimental diabetes mellitus. *American Journal of Physiology* 1987;253:26-32.

Lambert MT, Copeland LA, Sampson N, Duffy SA. New-onset type-2 diabetes associated with atypical antipsychotic medications. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 2006;30:919-923.

Leja-Szpak A, Jaworek J, Nawrot-Porabka K, Palonek M, Mitis-Musiol M, Dembinski A, Konturek SJ, Pawlik WW. Modulation of pancreatic enzyme secretion by melatonin and its precursor; L-Tryptophan. Role of CCK and afferent nerves. *Journal of Physiology and Pharmacology* 2004;55(2):33-46.

Length SE, Bhat D, Blakeney W, Dunn WA. Effects of streptozotocin-induced diabetes on rough endoplasmic reticulum and lysosomes of rat liver. *Am J Physiol* 1991;263:E856-62.

Lewis EJ, Hunsicker LG, Bain RP, Rohde RD. The effect of angiotensin converting enzyme inhibition on diabetic nephropathy. *The New England Journal of Medicine* 1993;11:1456-1462.

Linden SK, Florin THJ, McGuckin MA. Mucin Dynamics in Intestinal Bacterial Infection. *Plos One* 2008;3:1-14.

Mcmanus JFA. Histological and Histochemical Uses of Periodic Acid. 1948;23(3):19-26.

McMullan CJ, Schernhammer ES, Rimm EB, Hu FB, Forman JP. Melatonin secretion and the incidence of type 2 diabetes. *The Journal of the American Medical Association* 2013; 309(13): 1388–1396.

Myers R. Special Stain Techniques for the Evaluation of Mucins. Leica Byosystems. 2009;12:90-97.

Macchi MM, Bruce JN. Human pineal physiology and functional significance of melatonin. *Frontiers in Neuroendocrinology* 2004;27:177–195.

Macéa MIM; Macéa JR, Guerreiro JT, Fregnani H. Quantitative Study of Brunner's Glands in the Human Duodenal Submucosa. *Internal Journal of Morphology* 2006;24(1):7-12.

Machado-Neto MCF, Pontin WM, Nordi AL, Moretti L. Goblet cell mucin distribution in the small intestine of newborn goat kids fed lyophilized bovine colostrum R. *Livestock Science* 2013;157:125–131.

Maldonado MD, Mora-Santos M, Naji L, Carrascosa-Salmoral MP, Naranjo MC, Calvo JR. Evidence of melatonin synthesis and release by mast cells. Possible modulatory role on inflammation. *Pharmacological Research* 2010;62:282–287.

Matsuzawa Y. White adipose tissue and cardiovascular disease. *Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 2005;19(4):637-647.

Matsuzawa Y. The Metabolic Syndrome and Adipocytokines. *Febs Letters* 2006;580:2917-2921.

Mayhew TM, Carson FL, Sharma AK. Small Intestinal Morphology in Experimental Diabetic Rats: a Stereological Study on the Effects of an Aldose Reductase inhibitor given with or without Conventional Insulin Therapy. *Diabetologia* 1989;32:649-654.

Mayo JC, Sainz RM, Tan DX, Hardeland R, Leon J, Rodriguez C, Reiter RJ. Anti-inflammatory actions of melatonin and its metabolites, N1-acetyl-N2-formyl-5-

methoxykynuramine (AFMK) and N1-acetyl-5-methoxykynuramine (AMK), in macrophages. *Journal of Neuroimmunology* 2005;165:139-149.

Merle A, Delagrangre P, Renard P, Lesieur D, Cuber JC, Roche M, Pellissier S. Effect of melatonin on motility pattern of small intestine in rats and its inhibition by melatonin receptor antagonist S 22153. *Journal of Pineal Research* 2000;29:116–124.

Meslin JC, Fontaine N, Andrieux C. Variation of mucin distribution in the rat intestine, caecum and colon: effect of the bacterial flora. *Comparative Biochemistry and Physiology* 1999;123:235-239.

Mi N, Zhang XJ, Ding Y, Li GH, Wang WD, Xian HX, Xu J. Branched-chain amino acids attenuate early kidney injury in diabetic rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2015;8;17-29.

Miller H, Zhang J, KuoLee R, Patel GB, Chen W. Intestinal M cells: The fallible sentinels? *World Journal of Gastroenterology* 2007;13:1477-1486.

Montano ME, Molpeceres V, Mauriz JL, Garzo E, Cruz IB, Gonzalez P, Barrio JP. Effect of melatonin supplementation on food and water intake in streptozotocin-diabetic and non-diabetic male Wistar rats. *Nutricion Hospitalaria* 2010;25(36):931-938.

Montilla PL, Vargas JF, Tunez IF, Munoz de Agueda MC, Valdelvira ME, Cabrera ES. Oxidative stress in diabetic rats induced by streptozotocin: protective effects of melatonin. *Journal of Pineal Research* 1998;25:94–100.

Morrisey SM, Ward PM, Jayaraj AP, Tovey FI, Clark CG. Histochemical changes in mucus in duodenal ulceration. *Gut* 1983;24:909-913.

Mowry RW. Alcian blue techniques for the histochemical study of acidic carbohydrates. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 1956;4:403-404.

Nadhem O, Nakhla E, Smalligan RD. Diabetic Ketoacidosis as First Presentation of Latent Autoimmune Diabetes in Adult. *Hindawi Publishing Corporation Case Reports in Medicine* 2015;2:1-3.

Naylor R, Philipson H. Who Should Have Genetic Testing for Maturity-onset Diabetes of the Young? *Clinical Endocrinology* 2011;75(4):422-426.

Naza MA, Jum'ma KM, Hussain SA. Dose-Dependent Anti-Inflammatory Activity of Melatonin in Experimental Animal Model of Chronic Inflammation. 2010;4(2):66-70.

Nowak TV, Harrington B, Weisbruch JP, Kaşbfleisch JH. Structural and functional characteristics of muscle from diabetic rodent small intestine. *American Journal of Physiology* 1990;258:690-698.

Oliva B. Lactic acidosis. 1970;48(2):209-225.

Ozougwu JC, Obimba KC, Belonwu CD, Unakalamba C. The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Jurnal of Physiology and Patophysiology* 2013;4(4):46-57.

Ögetürk M, Karaca Ö, Pekmez H, Kuş MA, Akpolat N, Kuş İ. Deneysel Karbon Tetraklorür Toksisitesi Sonucu Karaciğerdeki IŞP70 İmmunoreaksiyon Artışı Üzerine Melatonin Hormonunun Etkisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi* 2004;25:73-76.

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

Palipoch S, Punsawad C, Chinnapun D. Histopathology of Small Intestine Induced by Cisplatin in Male Wistar Rats. *Health Science* 2013;10:657-663.

Kitzmiller JL, Kilduff LD, Taslimi MM. Gestasyonel Diabetes After Delivery. *Diabetes Care* 2007;30:5225-5235.

Palumbo S, Melton K. Diabetes, <http://www.niddk.nih.gov/about-niddk/strategic-plans>. Erişim Tarihi: 28.09.2015.

Parveen BA, Sindhuja R. Rabson-Mendenhall syndrome. *International Journal of Dermatology* 2008;47(8):839-841.

Prunet-Marcassus B, Desbazeille M, Bros A. Melatonin reduces body weight gain in Sprague Dawley rats with diet-induced obesity. *Endocrinology* 2003;144(12):5347-5352.

Papanas N, Zissimopoulos A, Maltezos E. The role of nuclear medicine in the diagnosis of common and specific diabetic infections. *Hellenic Society of Nuclear Medicine* 2010;13(2):150-157.

Peschke E, Bahr I, Mühlbauer E. Melatonin and Pancreatic Islets: Interrelationships between Melatonin, Insulin and Glucagon. *International Journal of Molecular Science* 2013;14:6981-7015.

Perschel WT, Langefeld TW, Federlin K. Susceptibility to infections in diabetes--effects on metabolism. *Immun Infektionen* 1995;23:196–200.

Pinero-Pilona A, Raskin P, Bennett T. Idiopathic Type 1 diabetes. *Journal of Diabetic Complications* 2001;15(6):328-335.

Rhee SY, Kim YS. Peripheral Arterial Disease in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes Metabolism Journal* 2015;39:283-290.

Robbins DC, Sims AE. Recurrent Ketoacidosis in Acquired, Total Lipodystrophy (Lipoatrophic Diabetes). *Diabetes Care* 1984;7:381-385.

Roett MA, Liegl S, Jabbarpour Y. Diabetic Nephropathy—The Family Physician's Role. *American Family Physician* 2012;85(9):883-889.

Schubert S, Heesemann J. Infections in diabetes mellitus. *Immun infectious* 1995;23(6):200-204.

Sjöblom M, Jedstedt G, Flemström G. Peripheral melatonin mediates neural stimulation of duodenal mucosal bicarbonate secretion. *The Journal of Clinical Investigation* 2001;108(4):625-633.

Sjöblom M, Flemström G. Melatonin-induced calcium signaling in clusters of human and rat duodenal enterocytes. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology* 2003;284:1034–1044.

Shakil A, Church RJ, Rao SS. Gastrointestinal complications of diabetes. *American Family Physician* 2008;77(12):1697-1792.

Sheehan DC, Hrapchak BB. Theory and practice of histotechnology. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 1980;35:12-19.

Shrikhande GV, McKinsey JF. Diabetes and Peripheral Vascular Disease. *Contemporary Diabetes* 2012;8:122-131.

Skrha J, Ceriello A, Gitt AK, Mauricio D, Staels B, Strojek K, Tkac I. Macrovascular complications. *Road Map for Diabetes Research in Europe* 2015;5:137-154.

Smits P, Kapma J, Jacobs M, Lutterman J, Thien T. Endothelium-dependent vascular relaxation in patients with type I diabetes. *Diabetes* 1993;42:148–153.

Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, Horvath AR, Kirkman MS, Lernmark A, Metzger BE, Nathan DM. Guidelines and Recommendations for Laboratory Analysis in the Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2011;34:61-99.

Samanya M, Yamauchi K. Histological alterations of intestinal villi in chickens fed dried *Bacillus subtilis* var. *Natto*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 2002;133:95-104.

Samuel VT, Gerasimov T. Mechanisms for Insulin Resistance: Common Threads and Missing Links. *Cell* 2012;148:852-871.

Sartori C, Dessen P, Mathieu C. Melatonin improves glucose homeostasis and endothelial vascular function in high-fat diet-fed insulin-resistant mice. *Endocrinology*. 2009;150(12):171-182.

Seth P, Harpreet K, Maneet K. Clinical Profile of Diabetic Ketoacidosis: A Prospective Study in a Tertiary Care Hospital. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2015;9(6):1-4.

Setji TL, Brown AJ, Feinglos MN. Gestational Diabetes Mellitus. *Clinical Diabetes* 2015;23:17-24.

Sobngwi E, Mauvais-Jarvis F, Vexiau P, Mbanya JC, Gautier JF. Diabetes in Africans. Part 2: Ketosis-prone atypical diabetes. *Diabetes & Metabolism* 2002;28(1):5-12.

Soranzo N, Sanna S, Wheeler E. Common variants at 10 genomic loci influence hemoglobin A1(C) levels via glycaemic and nonglycaemic pathways. *Diabetes* 2010;59(12):3229–3239.

Tahan G, Gramignoli G, Marongiu F, Aktolga S, Cetinkaya A, Tahan V, Dorko K. Melatonin Expresses Powerful Anti-inflammatory and Antioxidant Activities Resulting in Complete Improvement of Acetic-Acid-Induced Colitis in Rats. *Digestive Diseases and Science* 2011;56:715-720.

Timsit J, Bellane-Chantelot C, Dubois-Laforgue D, Velho G. Diagnosis and management of maturity-onset diabetes of the young. *Treatment Endocrinology* 2005;4(1):9-18.

Topal T, Öter Ş, Korkmaz A. Melatonin ve kanserle ilişkisi. *Genel Tıp Dergisi* 2009;19(3):137-143.

Uni Z, Smirnov A, Sklan D. Pre- and Posthatch Development of Goblet Cells in the Broiler Small Intestine: Effect of Delayed Access to Feed. *Poultry Science* 2003;82:320-327.

- Unwin N, Marlin A. Diabetes Action Now. Diabetes Society 2004;49:26-31.
- American Diabetes Association (ADA). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Society 2004;27:5-10.
- Vural H, Sabuncu T, Arslan SO, Aksoy N. Melatonin inhibits lipid peroxidation and stimulates the antioxidant status of diabetic rats. Journal of Pineal research 2001;31:193–198.
- Yrle LF, Smith KJ, Benoit JN, Granger N, Korthuis J. Role of glucagon in intestinal hyperemia associated with early experimental diabetes mellitus. American Journal of Physiology 1988;255:542- 546.
- Yamauchi K, Incharoen T, Yamauchi K. The Relationship Between Intestinal Histology and Function as Shown by Compensatory Enlargement of Remnant Villi After Midgut Resection in Chickens. The Anatomical Record 2010;293:2071-2079.
- Yamayabashi S. Periodic acid-Schiff-alcian blue: a method for the differential staining of glycoproteins. Histochemistry Journal 1987;19(10-11):565-571.
- Yavuz O, Cam M, Bukan N, Guven A, Silan F. Protective effect of melatonin on -cell damage in streptozotocin-induced diabetes in rats. Acta Histochemica 2003;105(3):261-266.
- Yeğın ZA, Mutluay R, Elbeg Ş, Karakuş R, Çakır N. The Impact of Melatonin on Glucose Homeostasis. Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism 2009; 13:52-59.
- Yudkin JS, Eringa E, Stehouwer CDA. “Vasocrine” signalling from perivascular fat: a mechanism linking insulin resistance to vascular disease. Lancet 2005;365:1817-1820.
- Yüzüak H, Aybak M. Streptozotosin ile oluşturulan deneysel diyabette melatonin’in olası koruyucu etkisinin araştırılması. Journal of Clinical and Experimental Investigations 2014;5(4):592-598.
- Xie Q, Zhang QY, Zhang Y, Su T, Gu J, Kaminsky LS, and Ding X. Induction of mouse CYP2J by pyrazole in the eye, kidney, liver, lung, olfactory mucosa and small intestine, but not in the heart. Drug Metabolic Disposal 2011;1311-1316.
- Xu ZR, Hu CH, Xia MS, Zhan XA, Wang MQ. Effects of Dietary Fructooligosaccharide on Digestive Enzyme Activities Intestinal Microflora and Morphology of Male Broilers. Poultry Science 2003;82:1030-1036.

- Watkins PJ, Smith JS, Fitzgerald MG, Malins JM. Lactic Acidosis in Diabetes. *British Journal of Medicine* 1969;1:744-747.
- Wheat LJ. Infection and diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1980;3(1):187-197.
- WHO. The top 10 causes of death, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/#>. Erişim Tarihi: 28.09.2015.
- Wang K, Cui H, Peng X, Zuo Z, Fang J, Deng J, Deng Y, Wu WB. Effect of dietary vanadium on small intestinal morphology in broilers. *Poultry Science* 2012;4:667-674.
- Wei M, Ong L, Smith ML, Ross FB, Smid K, Hoey A, Burstow D, Brown L. The Streptozotocin-Diabetic Rat as a Model of the Chronic Complications of Human Diabetes. *Heart, Lung and Circulation* 2003;12:44-50.
- Weiss R, Dufour S, Taksali SE, Tmamborlane W, Petersen KF, Bonadonna R, Boselli L, Barbetta G, Allen K, Rife F, Savoye M, Dziura J, Sherwin R, Shulman GI, Caprio S. Prediabetes in obese youth: a syndrome of impaired glucose tolerance, severe insulin resistance and altered myocellular and abdominal fat partitioning. *Mechanisms of Disease* 2003;362:951-957.
- Westernberg DP, Katiya M, Edenberg S. Diabetic Ketoacidosis: Evaluation and Treatment. *American Family Physician* 2013;87:337-347.
- Wolfsdorf J, Glaser N, Sperling MA. Diabetic Ketoacidosis in Infants, Children, and Adolescents. *Diabetes Care* 2006;29:1150-1159.
- Wolosin JD, Edelman SV. Diabetes and the gastrointestinal tract. *Clinical diabetes* 2000;18(4):15-21.
- Wong C, Matin A, Syed MA, Levi GS, Carr-Locke DL. When Brunner Glands Are Not So Innocent. *Medscape Gastroenterology* 2012;11:31-37.
- Zhao J, Yang J, Gregersen H. Biomechanical and morphometric intestinal remodelling during experimental diabetes in rats. *Diabetologia* (2003) 46:1688–1697.

ÖZGEÇMİŞ

Dört çocuklu bir ailenin ilk çocuğu olarak, 1986 yılında İzmir Konak'ta dünyaya geldim. İlk ve ortaöğrenimimi Söke'de bulunan Kocagözoğlu İlköğretim Okulu'nda tamamladım. Liseyi yine Söke'de bulunan Söke Hilmi Fırat Anadolu Lisesi'nde okudum. Lise öğrenimim süresince İngilizce hazırlık sınıfını ve birinci sınıfı okul birinciliği ile tamamladım. Üniversite eğitimime 2006 yılında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde başladım. Üniversitede ilk 2 sene, 4 dönem boyunca onur öğrencisi ve yüksek onur öğrencisi oldum. 2011 yılında üniversiteden mezun oldum. Klinik pratik kazanmak amacı ile mezun olduktan sonra, 2011 güz döneminde Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Veteriner Doğum ve Jinekoloji Bölümü'nde yüksek lisans başladım. Yüksek lisans eğitimim devam ederken, 2013 Şubat ayında Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı kapsamında Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı'na Araştırma Görevlisi olarak atandım. Halen bu bölümdeki görevimi sürdürmekteyim. Evli ve bir çocuk annesiyim.

TEŞEKKÜR

Araştırmamın yürütülmesi esnasında manevi desteklerinden ötürü öncelikle eşim Ömer Faruk İpek'e, her ne kadar çalışma zamanımı kısıtlasa da, motivasyonumu sağladığı için oğlum Süleyman Kerem İpek'e, hiçbir konuda yardımlarını esirgemediği için, çok sevgili arkadaşım Arş. Gör. Tuğba Çelik Samancı'ya, laboratuvarlarını ve ellerinde olan imkanları kullanmama izin vererek, çalışmamın önemli bir bölümünü gerçekleştirmeme olanak sağlayan Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Veteriner Parazitoloji Anabilim Dalı bölümündeki hocalarıma, özellikle Doç. Dr. Süleyman Aypak'a, çalışmamın uygulama aşamasında benden yardımlarını esirgemeyen, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji bölümündeki hocalarım Doç. Dr. Selim Sekkin, Yrd. Doç. Dr. Murat Boyacıoğlu ve asistan arkadaşım Hande Sultan Yalınkılıç, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deney Hayvanı Üretim ve Araştırma Laboratuvarı sorumlusu veteriner hekim, Serdar Aktaş'a verilerimin istatistiki değerlendirme sürecinde bana yardımcı olan, Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Mevlüt Türe, Doç. Dr. İmran Kurt Ömürlü, Arş. Gör. Hakan Öztürk, Arş. Gör. Fulden Cantaş ve Arş. Gör. Merve Katrancı'ya, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Alpaslan Gökçimen'e, her konuda desteklerinden dolayı bölüm arkadaşım Arş. Gör. Ayşe Gizem Polat'a ve çalışmam sırasında küçük veya büyük yardımını esirgemeyen herkese teşekkür ederim.

Tez konumun belirlenme sürecinden, yazım sürecine kadar her aşamada bana destek olarak yardımlarını esirgemeyen sevgili danışman hocam Prof. Dr. Hulki Başaloğlu'na, tez savunma sınavıma katılmayı kabul ederek, bana vaktini ayıran Prof. Dr. Sacide Karakaş ve Yrd. Doç. Dr. Gökşin Nilüfer Yonguç hocama ayrıca teşekkürü bir borç bilirim.