

**TIP 2 DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA  
SİLİMARİN, OLEUROPEİN VE SAKSAGLIPTİNİN  
OKSİDAN – ANTiOKSİDAN SİSTEMLER ÜZERİNE  
ETKİSİ**

**Sedef ZİYANOK**



T.C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TİP 2 DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA SİLİMARİN, OLEUROPEİN VE  
SAKSAGLİPTİNİN OKSİDAN – ANTIOKSİDAN SİSTEMLER ÜZERİNE ETKİSİ**

**Sedef ZİYANOK**

Doç. Dr. Sibel TAŞ  
(Danışman)

DOKTORA TEZİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bursa- 2014

Her Hakkı Saklıdır

## TEZ ONAYI

Sedef ZİYANOK tarafından hazırlanan “Tip 2 Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda Silimarin, Oleuropein ve Saksagliptinin Oksidan – Antioksidan Sistemler Üzerine Etkisi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman:** Doç. Dr. Sibel TAŞ

**Başkan :** Doç. Dr. Sibel TAŞ İmza  
Uludağ Ün. Fen-Edebiyat Fakültesi  
Biyoloji Anabilim Dalı

**Üye :** Prof. Dr. Naciye İŞBİL-BÜYÜKÇOŞKUN İmza  
Uludağ Ün. Tıp Fakültesi  
Fizyoloji Anabilim Dalı

**Üye :** Prof. Dr. İsmail H. UĞURTAŞ İmza  
Uludağ Ün. Fen-Edebiyat Fakültesi  
Biyoloji Anabilim Dalı

**Üye :** Doç. Dr. Erdoğan ÇİÇEK İmza  
Nevşehir Ün. Fen-Edebiyat Fakültesi  
Biyoloji Anabilim Dalı

**Üye:** Doç. Dr. Tolga ÇAVAŞ İmza  
Uludağ Ün. Fen-Edebiyat Fakültesi  
Biyoloji Anabilim Dalı

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

**Prof. Dr. Ali Osman DEMİR**

**Enstitü Müdürü**  
**12/05/2014**

**U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;**

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
  - görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
  - başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
  - atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
  - kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
  - ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı
- beyan ederim.**

**12/05/2014**

**Sedef ZİYANOK**

## ÖZET

Doktora Tezi

TİP 2 DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA SİLİMARİN, OLEUROPEİN VE SAKSAGLIPTİNİN OKSİDAN – ANTiOKSİDAN SİSTEMLER ÜZERİNE ETKİSİ

**Sedef ZİYANOK**

Uludağ Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

**Danışman:** Doç. Dr. Sibel TAŞ

Diyabetes mellitus'ta kan glukoz ve lipit düzeylerindeki artış sonucu oluşan oksidatif stres, diyabete bağlı komplikasyonların gelişmesinde önemli rol oynamaktadır. *Olea europaea* (zeytin) yaprağı ve *Silybum marianum* (devedikeni = Meryem ana) ekstratı ve Saksagliptin kan glukozu ve lipit seviyelerini düşürücü ve ayrıca antioksidan özelliklerine bağlı olarak oksidatif stresi azaltabilir. Bu çalışmada, streptozotosin-nikotinamit ile tip 2 diyabet oluşturulmuş sıçanlarda oleuropein, silimarin ve saksagliptinin hipoglisemik, hipolipidemik, oksidan ve antioksidan sistemler üzerine etkisi araştırıldı. Nikotinamitin (45mg/kg) intraperitoneal enjeksiyonundan 15 dk sonra streptozotosin (65mg/kg) enjeksiyonu ile tip 2 diyabet oluşturuldu. *Olea europaea* ve *Silybum marianum* ekstraktları (%10) ve saksagliptin (1.5mg/gün) içme suyuna 5 hafta süre ile eklendi. 100 adet Wistar türü erkek sıçanlar rastgele kendi aralarında on gruba ayrıldı; kontrol (K), kontrol + *Olea europaea* ekstraktı (K + OEE), kontrol + *Silybum marianum* ekstraktı (K + SME), kontrol + *Olea europaea* + *Silybum marianum* ekstraktı (K + OEE + SME), diyabet (D), diyabet + Saksagliptin (D + S), diyabet + *Olea europaea* ekstraktı (D + OEE), diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı (D + SME), diyabet + *Olea europaea* + *Silybum marianum* ekstraktı (D + OEE + SME), diyabet + Saksagliptin + *Olea europaea* + *Silybum marianum* ekstraktı (D + S + OEE + SME). K + OEE grubunda K grubuna göre kan süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve aril esteraz enzim aktivitesinde anlamlı artış, K + SME grubunda K grubuna göre yüksek dansiteli lipoprotein, kan süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve aril esteraz enzim aktivitesinde anlamlı artış, K + OEE + SME grubunda K grubuna göre total kolesterol seviyesinde anlamlı azalma, yüksek dansiteli lipoprotein, kan süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, paraoksonaz ve aril esteraz enzim aktivitesinde anlamlı artış saptandı. D + S grubunda D grubuna göre serum total kolesterol, trigliserit, kan glukoz düzeylerinde anlamlı azalma, plazma gastrik inhibitör peptit, glukagon benzeri peptit-1, yüksek dansiteli lipoprotein, serum insülin, kan süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve aril esteraz enzim aktivitesinde anlamlı artış, D + OEE, D + SME, D + OEE + SME ve D + S + OEE + SME gruplarının her birinde D grubuna göre serum total kolesterol, trigliserit, kan glukoz, doku (kalp ve karaciğer) malondialdehit seviyelerinde anlamlı azalma, yüksek dansiteli lipoprotein, serum insülin, kan süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve aril esteraz enzim aktivitesinde anlamlı artış saptandı.

Sonuç olarak çalışmamızda, bir dipeptidil peptidaz inhibitörü olan saksagliptin tedavisiyle birlikte, *Olea europaea* ve *Silybum marianum* ekstraktlarının antihiperglisemik, antihiperlipidemik ve

antioksidan özelliklerinden dolayı tip 2 diyabette oluşan oksidatif strese karşı koruyucu ve/veya önleyici etkisinin olduğu ve diyabette tedaviye destek amaçlı kullanılmasının yararlı olabileceği sonucuna varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Diyabet, oksidatif stres, antioksidan enzimler, streptozotosin, oleuropein, silimarin, saksagliptin, inkretinler.

**2014, xi + 90**

**ABSTRACT**  
PhD Thesis  
**THE EFFECT OF SILYMARIN, OLEUROPEIN AND SAXAGLIPTIN ON  
OXIDANT-ANTIOXIDANT SYSTEMS  
IN TYPE 2 DIABETIC RATS**

**Sedef ZİYANOK**  
Uludağ University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology  
**Supervisor:** Assoc. Prof. Dr. Sibel TAŞ

Oxidative stress which occurs as a result of increased blood glucose and lipid levels plays an important role in the progression of the complications of diabetes. Since *Olea europaea* and *Silybum marianum* extracts is able to reduce blood glucose and lipid levels, it is thought to decrease oxidative stress. This study was designed to investigate the effects of *Olea europaea* and *Silybum marianum* extracts and saxagliptin on hypoglycemic, oxidant and antioxidant systems in streptozotocin - nicotinamide induced type 2 diabetes. Subjects were made type 2 diabetes by injecting nicotinamide (45mg/kg) intraperitoneally 15 min before injection of streptozotocin (65 mg/kg). Saxagliptin (1.5 mg/day) and herbally extracts (10%) was supplemented into drinking water for 5 weeks. Hundred male Wistar rats were randomly divided into ten groups; control (C), control + *Olea europaea* extract (C + OEE), kontrol + *Silybum marianum* extract (C + SME), kontrol + *Olea europaea* a and *Silybum marianum* extract (C + OEE + SME), diabet (D), diabet + Saxagliptin (D + S), diabet + *Olea europaea* extract (D + OEE), diabet + *Silybum marianum* extract (D + SME), diabet + *Olea europaea* and *Silybum marianum* extract (D + OEE + SME), diabet + Saksagliptin + *Olea europaea* and *Silybum marianum* extract (D + S + OEE + SME). Serum antioxidant enzyme capacity were significantly increased in C + OEE, C + SME and C + OEE +SME groups when compared with control group. Serum trigliseride, total cholesterol levels, blood glucose and tissue malondialdehyde levels were observed to reduced significantly in D + OEE, D + SME and D + OEE +SME and D + S groups while serum antioxidant

enzymes (SOD and GSH-Px) activity were significantly increased in D + OEE, D + SME and D + OEE +SME and D + S groups group when compared with diabetic group.

In conclusion, because of their antihyperglycemic and antihyperlipidemic and antioxidant features, oral antidiabetic agents and herbal extracts plays a protective and preventive role against oxidative stress in type 2 diabetes and it can be used to supplement and support the treatment of diabetes.

**Key words:** Diabetes, oxidative stress, antioxidant enzymes, streptozotocin, oleuropein, silymarin, saxagliptin, incretins.

**2014, xi + 90**

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım süresince bana her konuda yardımcı ve destek olan değerli danışman hocam, Doç. Dr. Sibel TAŞ' a,

Deneyisel aşamalarda, laboratuvar olanaklarını sağlayan Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Melehat DİRİCAN' a,

Bu zorlu süreçte daima yanımda olan sevgili aileme ve varlığı ile bana güç veren biricik kızım İNCİ' me,

Üzerimdeki emeklerinden dolayı çok sevgili büyükbabama,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, “U. Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı” tarafından UAP (T) 2011/ 51 nolu Bilimsel Araştırma Projesi olarak desteklenmiştir.

Bu çalışma “U.Ü. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu” nun 2011- 05/ 10 nolu izni ile gerçekleştirilmiştir.

Sedef ZİYANOK

24.04.2014

## İÇİNDEKİLER

|                                     | <b>Sayfa</b> |
|-------------------------------------|--------------|
| ÖZET .....                          | i            |
| ABSTRACT .....                      | ii           |
| TEŞEKKÜR .....                      | iii          |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ..... | vi           |



|  |    |
|--|----|
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....   | ix |
| ÇİZELGELER DİZİNİ.....   | xi |
| 1. GİRİŞ.....  | 1  |
| 2. KURAMSAL TEMELLER.....  | 4  |
| 2. 1. Diyabet, Oksidatif Stres ve Antioksidanlar.....                                | 4  |
| 2. 1. 1. Tip 2 Diyabetes Mellitus.....   | 4  |
| 2. 1. 1. 1. İnsülin Yapısı ve Etkileri.....  | 6  |
| 2. 1. 1. 2. Bozulmuş İnsülin Sekresyonu .....  | 10 |
| 2. 1. 2. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller.....                                  | 11 |
| 2. 1. 2. 1. Serbest Radikaller.....  | 11 |
| 2. 1. 2. 1. 1. Süperoksit Radikali.....  | 12 |
| 2. 1. 2. 1. 2. Hidrojen Peroksit.....  | 13 |
| 2. 1. 2. 1. 3. Hidroksil Radikali.....   | 14 |
| 2. 1. 2. 2. Serbest Radikal Kaynakları.....  | 15 |
| 2. 1. 2. 2. 1. Endojen Kaynaklar.....  | 15 |
| 2. 1. 2. 2. 2. Eksojen Kaynaklar.....  | 17 |
| 2. 1. 2. 3. Oksidatif Stres ve Serbest Radikal Hasarı ile İlişkili Hastalıklar ..... | 18 |
| 2. 1. 3. Antioksidan Mekanizmalar.....   | 18 |
| 2. 1. 3. 1. Enzim Yapısındaki Antioksidanlar.....                                    | 19 |
| 2. 1. 3. 1. 1. Süperoksit Dismutaz.....  | 19 |
| 2. 1. 3. 1. 2. Katalaz.....  | 20 |
| 2. 1. 3. 1. 3. Glutasyon Peroksidaz.....   | 21 |
| 2. 1. 3. 1. 4. Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz.....                                     | 21 |
| 2. 1. 3. 1. 5. Glutasyon Reduktaz.....   | 22 |
| 2. 1. 3. 1. 6. Paraoksonaz.....  | 22 |
| 2. 1. 3. 2. Enzim Yapısında Olmayan Antioksidanlar.....                              | 23 |
| 2. 1. 3. 2. 1. C Vitamini.....   | 23 |
| 2. 1. 3. 2. 2. E Vitamini.....   | 24 |
| 2. 1. 3. 2. 3. A Vitamini.....   | 25 |
| 2. 1. 3. 2. 4. Glutasyon.....  | 26 |
| 2. 1. 3. 2. 5. Ürik Asit.....  | 26 |
| 2. 1. 3. 2. 6. Seruloplazmin.....  | 26 |
| 2. 1. 3. 2. 7. Transferrin.....  | 26 |
| 2. 1. 3. 2. 8. Ferritin.....   | 27 |
| 2. 1. 3. 2. 9. Biluribin.....  | 27 |
| 2. 2. Diyabet ve Oksidatif Stres ile İlişkisi.....                                   | 27 |
| 2.2. 1. Diyabette İleri Glikasyon Son Ürünleri (AGE) Oluşumu .....                   | 29 |
| 2.2. 2. Glukozun Oto-oksidasyonu ve Süperoksit Üretimi .....                         | 32 |
| 2.3. Oral Antidiyabetik Tedavi, Saksagliptin.....                                    | 32 |
| 2.3. 1. Pankreastan İnsülin Salgılatan Ajanlar (İnsülin Sekretegogları).....         | 33 |
| 2. 3. 2. İnsülin Duyarlaştırıcı Ajanlar.....   | 33 |
| 2. 3. 3. Barsaklardan Glikoz Absorbsiyonunu Azaltanlar.....                          | 34 |
| 2. 3. 4. İnkretin Etkisini Arttıranlar (DPP-IV inhibitörleri) ve Saksagliptin.....   | 34 |
| 2. 4. <i>Olea europea</i> (Zeytin).....  | 40 |
| 2. 5. <i>Silybum marianum</i> (Deve diken) .....                                     | 44 |
| 3. MATERYAL ve YÖNTEM.....   | 46 |

|   |    |
|---|----|
| 3. 1. Deneyde Kullanılan Hayvanlar .....  | 46 |
| 3. 2. Hayvanların Gruplandırılması .....  | 46 |
| 3. 3. Diyabetin Oluşturulması ve Saksagliptin, <i>Olea europea</i> ve <i>Silybum marianum</i><br>Ekstraktı Tedavisi ..... | 47 |
| 3. 4. Örneklerin Toplanması .....   | 48 |
| 3. 5. Araç ve Gereçler.....   | 48 |
| 3. 6. Ticari Kitler.....  | 49 |
| 3. 7. Kimyasal Malzemeler .....   | 49 |
| 3. 8. Yöntemler.....  | 49 |
| 3. 8. 1. Serum Total Kolesterol, Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol ve<br>Trigliserit Ölçümü.....                   | 50 |
| 3. 8. 2. Plazma Glukagon Benzeri Peptit-1 (GLP-1) ve Gastrik İnhibitör Peptit (GIP)<br>Düzeyleri Ölçümü Ölçümü.....       | 50 |
| 3. 8. 3. Eritrosit Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Ölçümü.....  | 50 |
| 3. 8. 4. Eritrosit Glutasyon Peroksidaz Aktivitesinin Ölçümü.....   | 52 |
| 3. 8. 5. Serum Paraoksonaz Aktivitesinin Ölçümü.....  | 53 |
| 3. 8. 7. Serum Arilesteraz Aktivitesinin Ölçümü.....  | 54 |
| 3. 8. 8. Doku (Kalp, Karaciğer, Kas ve Böbrek) Malondialdehit Düzeyi Ölçümü.....  | 55 |
| 3. 9. İstatistiksel Analiz.....   | 55 |
| 4. BULGULAR .....   | 56 |
| 5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....   | 75 |
| KAYNAKLAR.....  | 82 |
| ÖZGEÇMİŞ.....   | 89 |

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

| Simgeler | Açıklama   |
|----------|------------|
| S        | Saat       |
| Se       | Selenyum   |
| Ü        | Ünite      |
| Zn       | Çinko      |
| A        | Alfa       |
| B        | Beta       |
| Γ        | Gamma      |
| Δ        | Delta      |
| δ        | Delta      |
| μL       | Mikrolitre |
| μM       | Mikromolar |
| μmol     | Mikromol   |
| %        | Yüzde      |

|                               |                   |
|-------------------------------|-------------------|
| <                             | Küçük             |
| °C                            | Santigrat derece  |
| Ca                            | Kalsiyum          |
| Cm                            | Santimetre        |
| Cu                            | Bakır             |
| Dk                            | Dakika            |
| dL                            | Desilitre         |
| e <sup>-</sup>                | Elektron          |
| Fe                            | Demir             |
| G                             | Gram              |
| Hb                            | Hemoglobin        |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | Hidrojen peroksit |
| Kg                            | Kilogram          |
| L                             | Litre             |
| M                             | Molarite          |
| Mg                            | Miligram          |
| Mg                            | Magnezyum         |
| mL                            | Mililitre         |
| Mmol                          | Milimol           |
| mM                            | Milimolar         |
| Mn                            | Mangan            |

|      |   |
|------|---|
| NaCl | Sodyum klorür                             |
| Nm   | Nanometre                                 |
| Nmol | Nanomol                                   |
| P    | İstatistiksel anlamlılık değeri           |
| pH   | Hidrojen iyonu konsantrasyonu             |
| Rpm  | Dakikadaki dönüş (Revolutions per minute) |

#### **Kısaltmalar**

#### **Açıklama**

|        |  |
|--------|--|
| Abs    | Absorbans                                  |
| ABTS   | 2,2'Azino-di (3-etilbeuztiazolin sülfonat) |
| BC     | Beta Karoten Radikali                      |
| DNA    | Deoksiribonükleik Asit                     |
| Enos   | Endotelial Nitrik Oksit Sentaz             |
| G6PD   | Glukoz-6- Fosfat Dehidrogenaz              |
| GLP-1  | Glukagon Benzeri Peptit-1                  |
| GR     | Glutasyon Reduktaz                         |
| GIP    | Glukoza Bağlı İnsülinotropik Peptit        |
| GSH    | Glutasyon                                  |
| GSH-Px | Glutasyon Peroksidaz                       |
| GSSG   | Okside Glutasyon                           |

|                             |   |
|-----------------------------|---|
| HDL                         | Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein                   |
| HDL-K                       | HDL-Kolesterol                                  |
| HOCl                        | Hipokloröz Asit                                 |
| HO <sub>2</sub> ·           | Perhidroksil Radikali                           |
| IDDM                        | İnsüline Bağımlı Diyabetes Mellitus             |
| KAH                         | Kardiyovasküler Hastalık                        |
| KAT                         | Katalaz   |
| KDH                         | Ksantin Dehidrogenaz                            |
| KO                          | Ksantin Oksidaz                                 |
| LDL                         | Düşük Yoğunluklu Lipoprotein                    |
| LOO·                        | Lipit Peroksil Radikali                         |
| LOOH                        | Lipit Hidroperoksit                             |
| LPO                         | Lipoprotein Oksidasyonu                         |
| MDA                         | Malondialdehit                                  |
| NADP                        | Nikotinamit Adenin Dinükleotit Fosfat (okside)  |
| NADPH                       | Nikotinamit Adenin Dinükleotit Fosfat (redükte) |
| OH·                         | Hidroksil Radikali                              |
| O <sub>2</sub> <sup>-</sup> | Süperoksit Radikali                             |
| PON                         | Paraoksonaz                                     |
| R·                          | Alkil Radikali                                  |
| RCOO·                       | Organik Peroksit Radikali                       |

|                        |                             |
|------------------------|-----------------------------|
| RO·                    | Alkoksil Radikali           |
| ROO·                   | Peroksil Radikali           |
| ROOH                   | Hidroperoksit               |
| RSO                    | Oksisülfür Radikali         |
| SDS                    | Sodyum Dodesil Sülfat       |
| SH                     | Tiyol                       |
| SOD                    | Süperoksit dismutaz         |
| SOR                    | Serbest Oksijen Radikalleri |
| STZ                    | Streptozotosin              |
| TG                     | Trigliserit                 |
| TK                     | Total Kolesterol            |
| $\alpha$ -tokoferol-O· | Tokoferoksil Radikali       |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|  | Sayfa |
|--|-------|
| Şekil 2. 1. Glukoz Taşınması .....                                   | 6     |
| Şekil 2. 2. İnsülinin Etkileri .....                                 | 7     |
| Şekil 2. 3. İnsülin Reseptörleri .....                               | 8     |
| Şekil 2. 4. Serbest Radikal Oluşumu .....                            | 12    |
| Şekil 2. 5. Proteinlerin Glikasyonu ve AGE Oluşumu .....             | 29    |
| Şekil 2. 6. Karbonil Bileşikler ve AGE'nin Oluşum Mekanizmaları..... | 31    |

|  |    |
|--|----|
| Şekil 2. 7. Glukagon Benzeri Peptit-1 (GLP-1) ve Gastrik İnhibitör Peptit (GIP)' in Etkileri .....   | 35 |
| Şekil 2. 8. Saksagliptinin Kimyasal Yapısı .....   | 36 |
| Şekil 2. 9. Saksagliptinin Etkisi .....  | 36 |
| Şekil 2. 10. İncretin Aktivitesinin Kısa Süreli Duraklatılması .....   | 37 |
| Şekil 2. 11. İncretin Aktivitesinin Devam Etmesi .....   | 37 |
| Şekil 2. 12. <i>Olea europaea</i> (Zeytin) .....   | 41 |
| Şekil 2. 13. Oleuropeinin Kimyasal Yapısı .....  | 41 |
| Şekil 2. 14. <i>Silybum marianum</i> (Deve diken) .....  | 44 |
| Şekil 2. 10. Silymarinin Kimyasal Yapısı .....   | 45 |
| Şekil 4. 1. Kontrol + <i>Olea europaea</i> ekstraktı (K + OEE), Kontrol + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı (K + SME), Kontrol + <i>Olea europaea</i> + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı (K + OEE + SME), Diyabet (D), Diyabet + Saksagliptin (D + S), Diyabet + <i>Olea europaea</i> ekstraktı (D + OEE), Diyabet + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı (D + SME), Diyabet + <i>Olea europaea</i> ekstraktı + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı (D + OEE + SME) ve Diyabet + Saksagliptin + <i>Olea europaea</i> ekstraktı + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı (D + S + OEE + SME) gruplarında total kolesterol,beş haftalık periyotta meydana gelen glukoz değişimi ..... | 59 |
| Şekil 4. 2. Kontrol + <i>Olea europaea</i> ekstraktı (K + OEE), Kontrol + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı (K + SME), Kontrol + <i>Olea europaea</i> + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı (K + OEE + SME), Diyabet (D), Diyabet + Saksagliptin (D + S), Diyabet + <i>Olea europaea</i> ekstraktı (D + OEE), Diyabet + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı (D + SME), Diyabet + <i>Olea europaea</i> ekstraktı + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı (D + OEE + SME) ve Diyabet + Saksagliptin + <i>Olea europaea</i>   |    |



ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + S + OEE + SME) gruplarında total kolesterol, beş haftalık periyotta meydana gelen vücut ağırlığı değişimi ..... 60

Şekil 4. 3. Kontrol + *Olea europaea* ekstraktı (K + OEE), Kontrol +

*Silybum marianum* ekstraktı (K + SME), Kontrol +

*Olea europaea* + *Silybum marianum* ekstraktı (K + OEE + SME),

Diyabet (D), Diyabet + Saksagliptin (D + S), Diyabet + *Olea europaea*

ekstraktı (D + OEE), Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı

(D + SME), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum*

ekstraktı (D + OEE + SME) ve Diyabet + Saksagliptin + *Olea europaea*

ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + S + OEE + SME) gruplarında glukoz ve insülin değerleri ..... 61

Şekil 4. 4. Kontrol + *Olea europaea* ekstraktı (K + OEE), Kontrol +

*Silybum marianum* ekstraktı (K + SME), Kontrol +

*Olea europaea* + *Silybum marianum* ekstraktı (K + OEE + SME),

Diyabet (D), Diyabet + Saksagliptin (D + S), Diyabet + *Olea europaea*

ekstraktı (D + OEE), Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı

(D + SME), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum*

ekstraktı (D + OEE + SME) ve Diyabet + Saksagliptin + *Olea europaea*

ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + S + OEE + SME) gruplarında kalp MDA düzeyleri ..... 69

Şekil 4. 5. Kontrol + *Olea europaea* ekstraktı (K + OEE), Kontrol +

*Silybum marianum* ekstraktı (K + SME), Kontrol +

*Olea europaea* + *Silybum marianum* ekstraktı (K + OEE + SME),

Diyabet (D), Diyabet + Saksagliptin (D + S), Diyabet + *Olea europaea*

ekstraktı (D + OEE), Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı

(D + SME), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + OEE + SME) ve Diyabet + Saksagliptin + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + S + OEE + SME) gruplarında kas MDA düzeyleri ..... 70

Şekil 4. 6. Kontrol + *Olea europaea* ekstraktı (K + OEE), Kontrol +

*Silybum marianum* ekstraktı (K + SME), Kontrol +  
*Olea europaea* + *Silybum marianum* ekstraktı (K + OEE + SME),  
Diyabet (D), Diyabet + Saksagliptin (D + S), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı (D + OEE), Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı (D + SME), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + OEE + SME) ve Diyabet + Saksagliptin + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + S + OEE + SME) gruplarında karaciğer MDA düzeyleri ..... 71

Şekil 4. 7. Kontrol + *Olea europaea* ekstraktı (K + OEE), Kontrol +

*Silybum marianum* ekstraktı (K + SME), Kontrol +  
*Olea europaea* + *Silybum marianum* ekstraktı (K + OEE + SME),  
Diyabet (D), Diyabet + Saksagliptin (D + S), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı (D + OEE), Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı (D + SME), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + OEE + SME) ve Diyabet + Saksagliptin + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + S + OEE + SME) gruplarında böbrek MDA düzeyleri ..... 72

Şekil 4. 8. Kontrol + *Olea europaea* ekstraktı (K + OEE), Kontrol +

*Silybum marianum* ekstraktı (K + SME), Kontrol +  
*Olea europaea* + *Silybum marianum* ekstraktı (K + OEE + SME),  
Diyabet (D), Diyabet + Saksagliptin (D + S), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı (D + OEE), Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı

(D + SME), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum*  
ekstraktı (D + OEE + SME) ve Diyabet + Saksagliptin + *Olea europaea*  
ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + S + OEE + SME)  
gruplarında plazma MDA düzeyleri ..... 73

## ÇİZELGELER DİZİNİ

|  | Sayfa |
|--|-------|
| Çizelge 2. 1. İnsülinin temel metabolik olaylar üzerindeki etkileri .....  | 9     |
| Çizelge 3. 1. Eritrosit SOD Aktivitesinin Ölçümü, Deneyin Yapılışı .....   | 52    |
| Çizelge 3. 2. Doku Malondialdehit (MDA) Düzeyi Ölçümü, Deneyin Yapılışı.....   | 55    |
| Çizelge 4. 1. Kontrol (K), Kontrol + <i>Olea europaea</i> ekstraktı (K + OEE),<br>Kontrol + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı (K + SME), Kontrol +<br><i>Olea europaea</i> + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı (K + OEE + SME),<br>Diyabet (D), Diyabet + Saksagliptin (D + S), Diyabet + <i>Olea europaea</i><br>ekstraktı (D + OEE), Diyabet + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı<br>(D + SME), Diyabet + <i>Olea europaea</i> ekstraktı + <i>Silybum marianum</i><br>ekstraktı (D + OEE + SME) ve Diyabet + Saksagliptin + <i>Olea europaea</i><br>ekstraktı + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı (D + S + OEE + SME) gruplarında<br>yem alımı, sıvı alımı, vücut ağırlığı, serum insülin ve kan<br>glukoz düzeyleri..... | 62    |
| Çizelge 4. 2. Kontrol (K), Kontrol + <i>Olea europaea</i> ekstraktı (K + OEE),<br>Kontrol + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı (K + SME), Kontrol +<br><i>Olea europaea</i> + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı (K + OEE + SME),<br>Diyabet (D), Diyabet + Saksagliptin (D + S), Diyabet + <i>Olea europaea</i><br>ekstraktı (D + OEE), Diyabet + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı<br>(D + SME), Diyabet + <i>Olea europaea</i> ekstraktı + <i>Silybum marianum</i><br>ekstraktı (D + OEE + SME) ve Diyabet + Saksagliptin + <i>Olea europaea</i>  |       |

|  |    |
|--|----|
| ekstraktı + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı (D + S + OEE + SME) gruplarında total kolesterol, trigliserit ve HDL- kolesterol düzeyleri.....  | 63 |
| Çizelge 4. 3. Kontrol (K), Kontrol + <i>Olea europaea</i> ekstraktı (K + OEE), Kontrol + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı (K + SME), Kontrol + <i>Olea europaea</i> + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı (K + OEE + SME), Diyabet (D), Diyabet + Saksagliptin (D + S), Diyabet + <i>Olea europaea</i> ekstraktı (D + OEE), Diyabet + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı (D + SME), Diyabet + <i>Olea europaea</i> ekstraktı + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı (D + OEE + SME) ve Diyabet + Saksagliptin + <i>Olea europaea</i> ekstraktı + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı (D + S + OEE + SME) gruplarında serum paraoksonaz ve aril esteraz , kan glutatyon peroksidaz, eritrosit süperoksit dismutaz aktiviteleri, Glukagon benzeri peptid-1 ve gastrik inhibitör peptid seviyeleri ..... | 66 |

|  |    |
|--|----|
| Çizelge 4.4. Kontrol (K), Kontrol + <i>Olea europaea</i> ekstraktı (K + OEE), Kontrol + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı (K + SME), Kontrol + <i>Olea europaea</i> + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı (K + OEE + SME), Diyabet (D), Diyabet + Saksagliptin (D + S), Diyabet + <i>Olea europaea</i> ekstraktı (D + OEE), Diyabet + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı (D + SME), Diyabet + <i>Olea europaea</i> ekstraktı + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı (D + OEE + SME) ve Diyabet + Saksagliptin + <i>Olea europaea</i> ekstraktı + <i>Silybum marianum</i> ekstraktı (D + S + OEE + SME) gruplarında kalp, kas , karaciğer, böbrek ve plazma malondialdehit düzeyleri..... | 74 |
|--|----|

## 1.GİRİŞ

Tüm dünyada çok hızlı olarak yayılan ve büyük bir sağlık problemi olarak görülen, diyabetes mellitus, kalıtım ve çevre faktörlerine bağlı olarak gelişen kronik metabolik bir bozukluktur.

Diyabetes mellitus tip 1 ve tip 2 diyabet olmak üzere iki kategoride incelenir. Tip 1 diyabet, pankreas beta hücrelerinin otoimmün haraplanması sonucu mutlak insülin yetersizliği ile ortaya çıkan bir tablodur ve insüline bağımlı diyabet adını alır (IDDM: Insulin Dependent Diabetes Mellitus). Tip 2 diyabet, hedef dokuların insülinin metabolik etkilerine duyarlılıklarının azalmasına bağlı ( insülin direnci) olarak gelişir ve insüline bağımlı olmayan diyabet adını alır (NIDDM: Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus). Tip 2 diyabetin oluşmasında en önemli iki faktör, pankreatik beta hücrelerinin fonksiyon bozukluğu ve insülin direncidir. Genellikle, başta kas ve karaciğer olmak üzere hedef dokularda insüline karşı direnç gelişmekte ve bunu da takip eden süreçte pankreatik beta hücrelerinin fonksiyon kaybına bağlı olarak insülin sekresyonunda bozulma gözlenmektedir. İnsülin sekresyonunda bozulma ise hiperglisemiye neden olmaktadır (Ward ve ark. 1984b, Haring ve Obermaier-Kusser 1990, Abdulfatahi 2012). Hiperglisemi ise, glukoz oksidasyonuna, proteinlerin nonenzimatik glikasyonuna ve bu proteinlerin oksidatif yıkımına neden olur ki bu durum da serbest radikallerin oluşmasına katkıda bulunabilir. Diyabetes mellitusta serbest radikallerin oluşması oksidatif stresin oluşmasına neden olabilir (Kuyvenoven ve Meinders 1999, West 2000). Oksidatif stres prooksidan ve antioksidanlar arasındaki dengenin prooksidanlar lehine bozulması sonucu oluşur (Yu 1994, Mutinati ve ark. 2013). Antioksidanlar ve antioksidan enzimler ise dokuları ve hücreleri oksidatif hasardan korurlar. Yaygın olarak bilinen antioksidanlar A, C, E vitaminleri, glutatyon ve enzimler olarak ise glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GR) süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (KAT)'dır (Yu 1994, Maxwell 1995, Mutinati ve ark. 2013). Bir diğer antioksidan enzim olan PON (paraoksonaz), fizyolojik olarak HDL (High Density Lipoprotein) ile ilişkilidir ve HDL, LDL (Low Density Lipoprotein)' yi oksidatif modifikasyona karşı korur (Aviram ve ark. 1998a, 1998b, Mackness ve ark. 1993, Subhabrata ve ark. 2013).

Fizyolojik koşullarda oksidanlar ve antioksidanlar denge halindedir. Diyabette ise bu denge serbest radikaller lehine bozulmuştur. Bu denge antioksidanlar lehine artarsa diyabetin komplikasyonlarıyla başa çıkabileceği belirtilmektedir.

Günümüzde diyabet tedavisinin temelini, plazma glukozunun normale çekilmesi, mikro ve makrovasküler komplikasyonların ve kardiyovasküler risk faktörlerinin kontrol altına alınması oluşturmaktadır. Bu amaçla tip 2 diyabette kan glukozunu kontrol altında tutmaya yarayan oral antidiyabetik ajanlar (OAD) (Saksagliptin, metformin, fenformin, troglitazon vb.) ve bunun yanı sıra antioksidan özelliği olan maddeler de tavsiye edilmektedir. Bu ilaçlar genel olarak insulin sekresyonunu arttırma veya karbonhidrat absorpsiyonunu azaltma yoluyla etki gösterirler.

Tip 2 diyabetin patofizyolojisindeki unsurlardan biri de inkretin hormonların düzeyi ve/veya etkisinin azalmasıdır. Oral yolla alınan glukozun, aynı miktarda intravenöz yolla alınan glukozu nazaran daha fazla insulin salınımına yol aması inkretin etkisi olarak tanımlanmıştır. İnkretinler, gıda alımına cevap olarak sindirim sistemindeki özel hücrelerden salgılanan ve insulin salgılanmasını uyaran hormonlardır ki bunlar (GLP-1) ve gastrik inhibitör peptid (GIP) dir. İnkretin etkisi gösteren ilaçlar, inkretin hormonları taklit ederek ya da inkretinlerin yıkımını inhibe ederek etki gösterirler. Bu grup ajanlar içinde glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) analogları ve dipeptidil peptidaz IV (DPP-IV) inhibitörleri yer almaktadır. Oral DPP-IV inhibitörlerinin geliştirilmiş olmasıyla ortaya çıkan GLP-1 ve gastrik inhibitör peptid (GIP) düzeylerindeki artış fizyolojik glukozu bağımlı olarak insulin ve glukagon üzerinden antidiyabetik etkinin oluşmasını sağlar. Saksagliptin bu inhibitörlerden biri olup, faz 3 araştırmaları devam eden moleküllerdir (Chacra 2010, Scheen 2012).

Diyabette ilaç tedavisinin yanında bitkilerin kullanımı uzun yıllardır süregelen bir durumdur. Günümüzde de tıbbi tedavinin yanı sıra farklı toplumlarda birçok tıbbi bitki ya da onların ekstraktlarının tedavi/destekleyici olarak diyabet hastaları tarafından kullanıldığı görülmektedir. Bu amaçla yaptığımız araştırmada, *Olea europaea* ve *Silybum marianum* bitkisinin, kan şekerini düşürücü, karaciğer fonksiyonlarını destekleyici, böbrekleri ve dokuları koruyucu özelliklerinden dolayı halk arasında yaygın olarak kullanıldığı tespit edilmiştir. Bu bitkilerin içerdiği oleuropein ve silimarinin çok kuvvetli antioksidan olması

sebebiyle, diyabette oluşan oksidatif hasarı önlemede etkin rol alacağı düşünülmektedir (Bock ve ark. 2013, Karimi ve ark. 2011).

Yaptığımız literatür taramalarında, tip 2 diyabette hem *Olea europaea* ve *Silybum marianum* ekstraktının birlikte verildiği hem de tip 2 diyabet tedavisinde kullanılan bir ilaç olan saksagliptin ile bu bitki ekstratlarının kombine olarak verildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Dolayısıyla çalışmamız bitki ekstratları ve ilaç kompozisyonunun oksidan-antioksidan sistemler üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi ve bu üçlü kombinasyonun diyabette tedavi/destekleyici değerinin olup olmadığı hakkında fikir vereceği gibi, diyabet tedavisinde ilaç kullananlar ile alternatif ürün desteği tercih edenler üzerindeki etkileri hakkında daha sonraki çalışmalara da yardımcı olacağı düşünülerek planlandı.

Bu amaçla yaptığımız çalışmada, STZ ve nikotinamit verilerek tip 2 diyabet oluşturulmuş sıçanlardakan glukoz ve serum insülin seviyeleri, kan lipit profili; total kolesterol (TK), trigliserit (TG), yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-K) düzeyleri ve antioksidan savunma sistemini tayin etmek için süperoksit dismutaz (SOD), paraoksonaz (PON), arilesteraz (ARE) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktiviteleri saptandı. Aynı zamanda oksidatif stres göstergelerinden olan plazma ve dokularda (kalp, M. gastocnemius kası, karaciğer, böbrek) malondialdehit (MDA) düzeyleri ve plazmada inkretin hormon (glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) ve gastrik inhibitör peptid (GIP) ) düzeyleri tespit edildi.

## **2. KURAMSAL TEMELLER**

### **2. 1. Diyabet, Oksidatif Stres, Antioksidanlar**

#### **2. 1. 1. Tip 2 Diyabetes mellitus**

Diyabetes mellitus, ilk kez yaklaşık 3000 yıl önce görülen ve yıllar geçtikçe de görülme sıklığı hızla artan, insülin sekresyonunda, insülin etkilerinde veya her ikisinde oluşan bozulma sonucu hiperglisemi ile karakterize edilen kronik bir hastalıktır. Yapılan tahminlere göre 2030 yılında dünya üzerinde bu hastalıktan etkilenmiş yaklaşık 366 milyon kişi olacaktır. Diyabette gözlenen karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki anormalliklerin temelinde insülinin hedef dokulardaki etkilerinin eksikliği bulunmaktadır. Diyabetin metabolik sorunlarının yanı sıra, uzun dönem hiperglisemiye maruz kalma sonucu, nefropati, nöropati, retinopati ve ateroskleroz gibi mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlar gelişmektedir.1936 yılında tip 1 ve tip 2 diyabet arasındaki farka işaret edilmiştir. Tip 1 diyabet, pankreas adacıklarındaki  $\beta$  hücrelerinin otoimmün yıkımı nedeniyle gelişen insülin yetersizliğine bağlıdır. Sık rastlanan tip 2 diyabet ise, insülin direnci ve bozuk insülin salgılanması ile karakterizedir. Tip 2 diyabetin oluşmasında iki önemli faktör bulunmaktadır. Bunlar:

1. İnsüline karşı insülin reseptörlerinin duyarlılığında azalma ve azalmış reseptör cevabı ile oluşmuş post reseptör defektleri.
2. Glukoz uyarısına karşı azalmış akut insülin salınması ile karakterize yetersiz total insülin salınması.

Bunun yanında genetik faktörün ve yaşam tarzının tip 2 diyabette oldukça etkili olduğu belirtilmektedir. Hastalık insülin yetersizliği sonucu hiperglisemi ile kendini gösterir ve ilerleyen dönemde protein, yağ ve karbonhidrat metabolizmasında bozulmalara yol açar (Lin 2010, Abdulfatahi ve ark. 2012).



### 2. 1. 1. 1. Glukozun Hücrelere Taşınması

Glukozun hücrelere taşınması kolaylaştırılmış difüzyon ve kotransport ile sağlanır.

Kolaylaştırılmış difüzyon insülininden bağımsız; beyin, eritrosit ve lökositler, göz, karaciğer, böbrek, koroid pleksusta, insüline bağımlı olarak ise; başta iskelet kası ve yağ dokusu olmak üzere dokuların çoğunda görülür.

Glukoz taşıyıcıları ile kolaylaştırılmış difüzyonda, glukoz hareketi konsantrasyon farkına göre gerçekleşir (Yüksek glukoz konsantrasyonundan düşük glukoz konsantrasyonuna). Yaklaşık on farklı glukoz taşıyıcı olup bunların en önemlisi GLUT4' tür.

GLUT-1; başta beyin olmak üzere tüm dokularda bulunur ve glukozu karşı yüksek afinitesi bulunmakla birlikte glukozun yakalanması ve kan-beyin bariyerinden geçmesinde rol alır.

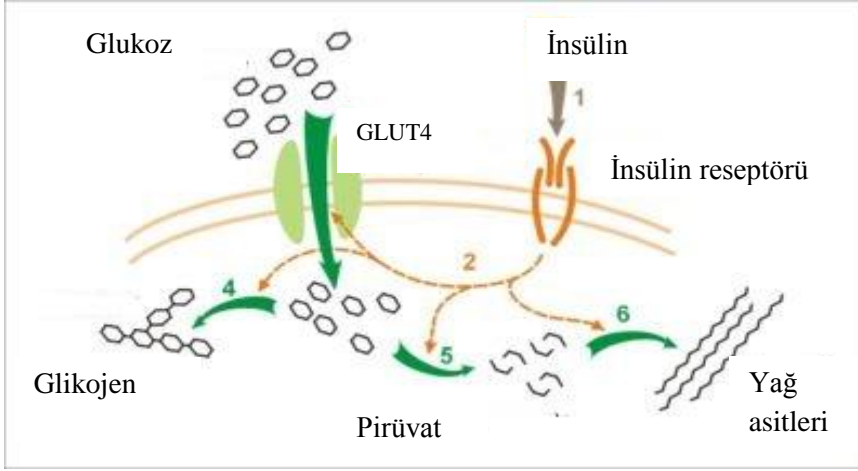
GLUT-2; karaciğer, böbrek ve pankreas beta hücrelerinde bulunur. Glukoz'un hızlı yakalanması ve salınımında rol alır ancak glukozu karşı düşük afiniteye sahiptir. GLUT2 yokluğu glukoz ile uyarılmış  $\beta$ - hücrelerinde insülin salgılanmasını engeller

GLUT-3; beyin, böbrek ve placentada bulunur. Glukoz'un yakalanmasında rol alır.

GLUT-4; kas, yağ dokusu ve iskelet kasında bulunur. İnsuline duyarlıdır ve buna bağlı olarak glukoz tutulumunda rol alır. Post-prandiyal dönemde kandan fazla glukozun alınmasında önemlidir.

GLUT-5; böbrekte bulunur, glukoz ve fruktozun absorpsiyonunda rol alır.

Kan glukozu'nun düzenlenmesinde görevli başlıca organ karaciğerdir. Tokluk durumunda glukoz depolanmak üzere glukoz-6-fosfat'a dönüştürülür. Açlık durumunda glukoz-6-fosfat kullanılmak üzere glukoz'a dönüştürülür ( Zhao ve Keating. 2007, Thorens ve Mueckler. 2010).



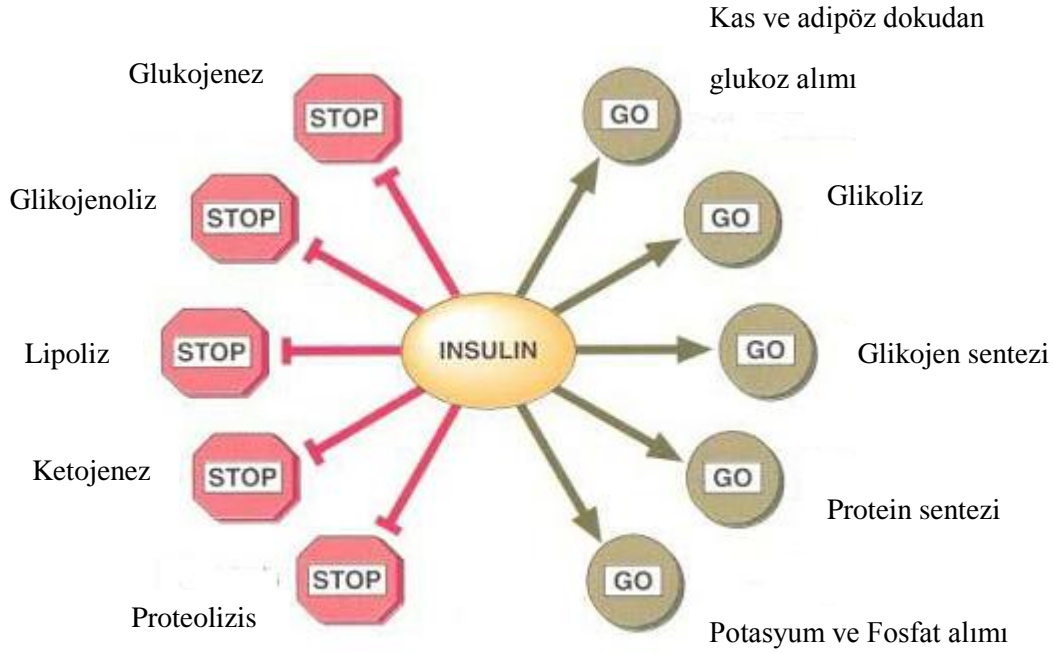
Şekil 2. 1. Glukoz taşınması (Thorens ve Mueckler, 2010)

### 2. 1. 1. 2. İnsülin Yapısı ve Etkileri

İnsülin yaklaşık 6000 molekül ağırlığında polipeptid yapılı bir hormondur ve birbirine disülfid köprüleri ile bağlanmış iki aminoasit zincirinden oluşmuştur. Bu iki aminoasit zincir birbirinden ayrıldığı zaman insülin molekülünün işlevsel etkinliği ortadan kalkar. İnsülin pankreasın Langerhans adacıklarındaki beta hücrelerinde sentezlenir. Beta hücrelerinin endoplazmik retikulumunda ilk olarak, insülinin prekürsörü olan preproinsülin sentezlenir. Preproinsülin 109 aminoasitli bir polipeptittir, ribozomlarda oluştuktan hemen sonra endoplazmik retikulum içine geçer ve 23 aminoasitli hidrofobik pre sinyal peptid bölgesini kaybederek 86 aminoasitli proinsüline dönüşür. Golgi cisimciği içindeki mikroveziküllere giren proinsülin proteazların etkisiyle C peptid segmentini kaybeder. C peptidinin kopması insülinin çözünürlüğünü azaltır ve  $Zn^{+2}$  iyonu ile birlikte çökmesine neden olur. Normal durumda salgılanan hormonun %95' i insülin ve %5' i proinsülidir.

İnsülin karbonhidratların, yağların, proteinlerin ve nükleik asitlerin sentezine ve/veya depolanmasına yönelik metabolik reaksiyonları stimüle eder (Çizelge 2. 1, Şekil 2. 2). Pek çok endojen maddenin hücre membranında taşınmasını, membrandaki insülin reseptörlerini aktive etmek koşuluyla düzenler. İnsülinin hedef hücrelerdeki etkilerinin başlayabilmesi için

önce insülinin zar reseptör proteinine bağlanarak onu aktive etmesi gerekir. Daha sonraki etkileri oluşturan insülin değil, bu aktive olmuş reseptördür (Şekil 2. 3).



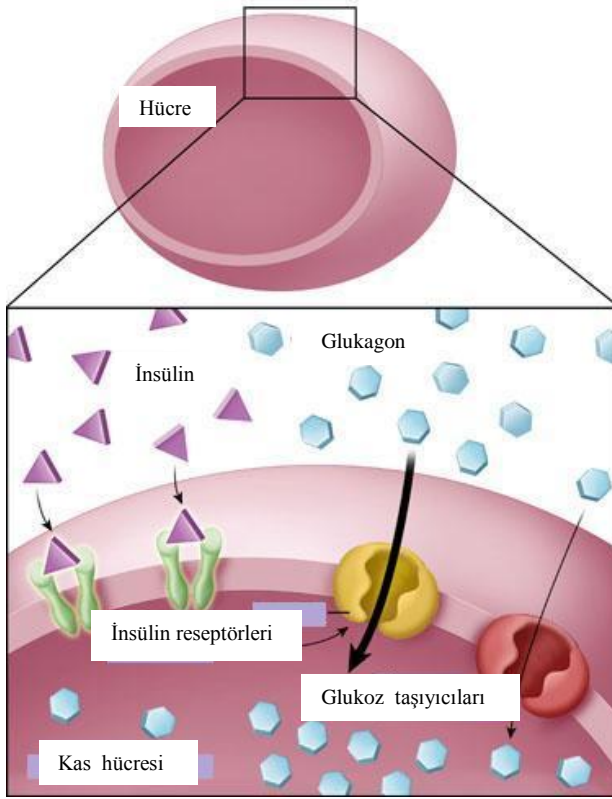
Şekil 2. 2. İnsülinin Etkileri (Wolf, 2008)

Hedef hücreler olan çizgili kas, miyokard, karaciğer ve yağ hücrelerinde kendine özgü spesifik reseptörleri vardır. İnsülin reseptörü hücre membranında bulunur. Aminoasit transport sistemiyle veya glukoz transport sistemiyle ilişkilidir. Yani bu reseptör uyarıldığında zaman glukoz, aminoasitler hücre içine girer.

İnsülin reseptörü, iki alfa ve iki beta alt ünitesinden oluşur. İki alfa alt ünitesi membranın dış yüzüne bakar, hormonu tanıma bölgesidir. İki beta alt ünitesi ise membrana gömülmüş şekildedir, tirozin protein kinaz aktivitesine sahiptir. İnsülin dış yüzdeki alfa ünitelerine bağlanır, internalize edilir, kinaz aktivitesi uyarılır. Kinaz aktivitesi, reseptör proteinini ve hücre içi diğer proteinleri fosforile ederek aktivitelerini değiştirir ve böylece biyolojik cevapları oluşturur.

İnsülin reseptörünün fosforilasyon substratları olarak çeşitli intraselüler proteinler tanımlanmıştır. Üzerinde en çok çalışılmış olan insülin reseptör substratı 1 veya IRS-1'dir.

Fosforilasyon sonucu IRS-1 aktive edildiğinde birçok olay tetiklenir ve diğer enzimlerin de aktivasyonu sonucu insülinin etkileri oluşturulur. IRS-1 aktif hale geçince, fosfoinozitol-1,3-kinaz'ı aktive eder. Bunu sonucunda GLUT-4 glukoz taşıyıcısı transloke olur ve glukoz hücre içine alınır (GLUT-4 ler normalde membranda değil, hücre içindedir. Translokasyon sonucu membrana yerleşirler). Tirozin kinaz aktivitesi ile başka pek çok protein/enzim de aktive edilir, çekirdekdeki transkripsiyon olayları tetiklenir.



**Şekil 2. 3. İnsülinReseptörleri(Wolf, 2008)**

İnsüline direnç ise, insülinin biyolojik etkisinin azalması sonucu normal veya artmış bir glisemiyle birlikte hiperinsülinizm olarak tanımlanır. Bu hiperinsülinizm dirence karşı bir reaksiyon olarak geliştiği için hipoglisemiye yol açmaz. Normal glisemi ile birlikte olan hiperinsülinizm insüline direnç göstergesidir. İnsüline dirençli birçok durumda insülin reseptörüne bağlanmada bozukluk olabilir. İnsüline cevapta post reseptör defektin oluşması,

glukozun hücre membranından geçişinde rol alan reseptörlerin bloke olmasına aynı zamanda hücre içinde insülin reseptör kompleksinde ve mediatörlerinde azalmaya neden olur. İnsülin direnci iki yerde kendini gösterir. Bunlardan biri karaciğer dokusu olup, oluşmuş insülin direnci nedeni ile karaciğer glukoz depolama özelliğini azaltır ve perifere glukoz çıkışı artar, glikojenoliz ve glikoneojenez nedeni ile yağ ve kas dokusunda kütle kaybı başlar ve bunları takip eden süreçte kan glukoz seviyesi hızla yükselir. İnsülin direncinin ikinci yeri kas dokusudur. Direnç sonucu kas hücresi içine geçemeyen glukoz nedeni ile kan glukozu artar ve hücresele seviyeden gelen glukoz yetersizliği impulsları, karaciğerden sürekli glukoz salınımına neden olur ve sonuçta yükselen kan glukozu nedeni ile kısır bir döngü oluşur (Sholikulman 1999, Powers ve ark. 2001, Salem ve ark. 2013, Kono ve ark. 2013).

**Çizelge 2. 1.** İnsülinin temel metabolik olaylar üzerindeki etkileri (Kayaalp 1990).

| Metabolik olay             | Etki | Metabolik olay                  | Etki |
|----------------------------|------|---------------------------------|------|
| Karbonhidratmetabolizması: |      | Protein metabolizması:          |      |
| Glikojenez                 | ↑    | Protein sentezi                 | ↑    |
| Glukoz oksidasyonu         | ↑    | Proteoliz                       | ↓    |
| Glukoneojenez              | ↓    | Üreojenez                       | ↓    |
| Glikojenoliz               | ↓    |                                 |      |
| Ketojeniz                  | ↓    |                                 |      |
| Yağ metabolizması:         |      | Diğer maddelerin metabolizması: |      |
| Lipoliz                    | ↓    | ATP oluşumu                     | ↑    |
| Lipojeniz                  | ↑    | DNA ve RNA oluşumu              | ↑    |

### 2. 1. 1. 3. Bozulmuş İnsülin Sekresyonu

Tip 2 diyabette insülin salgılanmasında bozulma gözlenmektedir. İnsülin salgısı normal, azalmış ya da normalin üstünde olabilir. Çok nadir olarak insülin salgısı görülmeyebilir. Plazma insülin seviyesi yükselmesine rağmen gliseminin önlenmesi için yeterli değildir (Efendic ve ark. 1991, Östenson 1993, Prentki 1996). Bilindiği gibi insülin salgılanmasının iki fazı mevcuttur. Birinci faz, glukozla uyarılan pankreas beta hücrelerinden ilk 3- 10 dakika içindeki insülin salınma miktarıdır. Erken faz da denilen bu fazdaki insülin salgısı, pankreasın depolanmış insülin değerlerini gösterir. İkinci faz veya geç faz salgılanması, 5. dakikadan başlayarak glukoz uyarısının devamı boyunca süren bir insülin salgılama değeridir. Bu faz yavaş şekilde plato çizen ve çok yavaş bir şekilde bazal değerlere inen insülin seviyesini göstermektedir ve pankreas beta hücrelerinin insülin sentez gücüne göre değişen değerler gösterir. Karakteristik bir gösterge olarak Tip 2 diyabetes mellituslu kişilerde, erken faz insülin salgısında azalma veya tamamen salgı yokluğu gözlenir (Ward ve ark. 1984a, Davidson 1986, Östenson 1993, Ward ve ark. 1984b).

Tip 2 diyabetli hastalar, genellikle, insüline duyarlı hücrelerinde normal sayıda GLUT 4 taşıyıcıya sahip ise de, bunların insülin almaçları etkinleştğinde bu taşıyıcıları hücre zarına normal bir şekilde yerleştiremez. Tip 2 diyabetin belirgin klinik belirtileri ise polidipsi, poliüri, kilo kaybı aynı zamanda tokluk kan glukoz düzeyinin 200 mg/dL üzerinde veya açlık kan şekerinin 120 mg/dL'nin üzerinde olmasıdır. Sonuçta tip 2 diyabette gözlenen hiperglisemi, glukoz oksidasyonu, proteinlerin nonenzimatik glikasyonu ve glikolize olmuş proteinlerin oksidatif yıkımına neden olur ki bu durum da serbest radikallerin oluşmasına katkıda bulunabilir. Serbest radikaller nedeniyle oluşan oksidatif stres ise diyabette gözlenen komplikasyonların patogeneğinde önemli bir role sahiptir (Gumieniczek ve ark. 2001, Kono ve ark 2013).

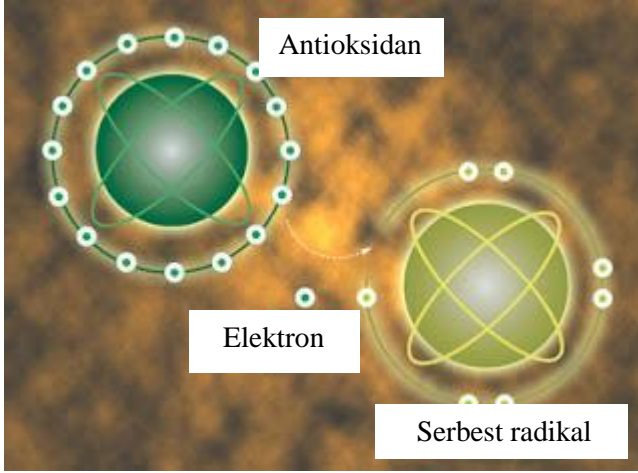
## **2. 1. 2.Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller**

Oksidatif stres terimi genel olarak prooksidan ve antioksidanlar arasındaki dengenin prooksidanlar lehine bozulduğu ve hemen hemen tüm patolojik durumlarla ilişkisi olan reaksiyonlar serisi olarak tanımlanmaktadır (Wolff 1993, Nordgren 2013,). Canlı organizmadaki serbest radikallerin başlıca ana kaynağı oksijendir. Serbest oksijen radikalleri (SOR) normal hücre metabolizması sırasında ortaya çıkan yan ürünlerdir ve başlıca hedef molekülleri çoklu doymamış yağ asitleri, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitlerdir (Kanter 1995, Mutinati ve ark. 2013, Shida ve ark. 2013).

Normal koşullar altında SOR'nin fizyolojik seviyesi/reaktivitesi detoksifikasyon mekanizmalarıyla hassas bir şekilde dengelenir ve bu dengede özellikle antioksidan savunma mekanizmaları önemli rol oynamaktadır. SOD, GSH-Px ve KAT gibi bazı enzimler, GSH (glutasyon), tiyoller, E ve C vitamini gibi antioksidan vitaminler, selenyum gibi eser elementler ve ürik asit, bilirubin gibi düşük molekül ağırlıklı bileşikler antioksidan savunma mekanizmalarının en önemlilerindedir (Gutteridge 1995, Kuyvenhoven ve Meinders 1999, Antolovich ve ark. 2002, Rahman 2007, Uttara ve ark. 2009, Rizzo ve ark. 2012).

### **2. 1. 2. 1. Serbest Radikaller**

Serbest radikaller; negatif yüklü elektron sayısının çekirdekdeki pozitif yüklü proton sayısı ile eşit olmadığı moleküllerdir (Şekil 2. 2). Temel kimyasal özellikleri dış yörüngelerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içermeleridir. Eksik elektronlu olan bu moleküller, bulabilecekleri herhangi bir molekül ile iletişime girer ve bu molekülden ya bir elektron alır veya ona bir elektron verirler. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine girip onların yapısını bozan bu moleküllere “serbest radikaller”, “oksidan moleküller” veya en doğru adlandırma ile “reaktif oksijen partikülleri” ya da “serbest oksijen radikalleri” denilmektedir. Serbest oksijen radikalleri önemli makromoleküllere yaptıkları ataklarla hücrel hasarlara neden olmaktadır. Lipitler, nükleik asitler ve proteinler öncelikli olmak üzere vücuttaki tüm moleküller serbest radikallerin hedefleri arasındadır (Lobo 2010, Pourova ve ark. 2010, Assar 2013, Mutinati ve ark. 2013).



**Şekil 2. 2.** Serbest radikal oluşumu (Lobo, 2010)

Organizmadaki en önemli reaktif  $O_2$  metabolitleri (Fang ve ark. 2002 Evans ve ark. 2003) ;

$O_2^{\cdot-}$  (Süperoksit radikali)

$H_2O_2$  (Hidrojen peroksit)

$OH^{\cdot}$  (Hidroksil radikali)

$HOCl$  (Hipokloröz asit)

$R^{\cdot}$  (Alkil radikali)

$ROO^{\cdot}$  (Peroksil radikali)

$RCOO^{\cdot}$  (Organik peroksit radikali)

$HO_2^{\cdot}$  (Perhidroksil radikali)

$RO^{\cdot}$  (Alkoksil radikali).

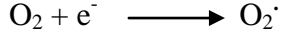
Bunlardan özellikle ilk üç tanesi çok önemlidir.

### **2. 1. 2. 1. 1. Süperoksit Radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ):**

Süperoksit radikali organizmada en çok üretilen radikaldir. İnsan vücudundaki pek çok molekül (katekolaminler, tetrahidrofolat, mitokondrial elektron transport sistemi elemanlarının bir kısmı vb.) oksijenle direkt olarak reaksiyona girerek süperoksit radikali oluşturabilir. Süperoksit radikali bu şekilde fizyolojik olarak oluştuğu gibi, yabancı mikroorganizmaları öldürmek üzere aktif fagositler tarafından koruyucu amaçla da üretilir (Kuyvenhoven ve Meinders 1999).



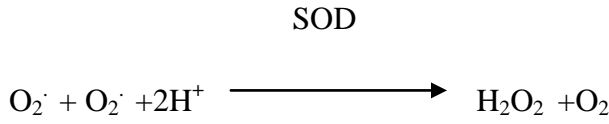
Doğal oksijen molekülü çevresindeki herhangi bir molekülden bir elektron olarak süperoksit radikaline dönüşebilir.



Süperoksit radikalinin organizmadaki başlıca kaynakları;

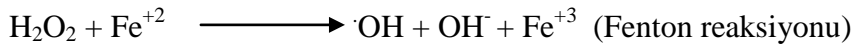
- a. Mitokondrial elektron transport zinciri reaksiyonları
- b. Fagositik hücrelerdeki “solunum patlaması” (respiratuar burst) olayı
- c. Endoplazmik retikulumdaki sitokrom P-450 enzim sistemi (Kuyvenhoven ve Meinders 1999).

Süperoksit radikali organizmada en çok üretilen radikal olmasına karşın, reaktivitesi çok yüksek değildir. Hidroksil radikaline göre daha düşük bir reaktiviteye sahip olduğu için açığa çıktığı hücre bölümünden daha uzak yerlere diffüze olabilir. Ancak bu diffüzyon hücre içindeki SOD enziminin yüksek konsantrasyonu nedeniyle sınırlıdır (Atalay ve Laaksonen 2002).



### 2. 1. 2. 1. 2. Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>):

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>aslında gerçek bir serbest radikal değildir. Çünkü bütün elektronları çiftleşmiştir. Ancak demir, bakır ve mangan gibi geçiş metalleri ile reaksiyona girerek hidroksil radikali oluşumuna yol açabildiğinden dolayı önemli bir oksidandır. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, DNA hasarı yapıcı etkisini hidroksil radikali aracılığı ile gösterir.

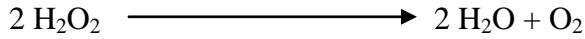


H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, süperoksit radikali ile de reaksiyona girerek hidroksil radikali oluşumuna yol açabilir.



Hidrojen peroksitin biyolojik önemi hidrofobik membranlardan kolayca diffüze olabilmesidir (örn. mitokondrial membran). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> plazma membranlarından da kolayca diffüze olarak toksik etkisini daha uzak hücrelerde de gösterebilir. İnsan hücrelerinden hidrojen peroksitin uzaklaştırılmasına KAT ve GSH-Px aracılık eder.

GSH-Px veya KAT

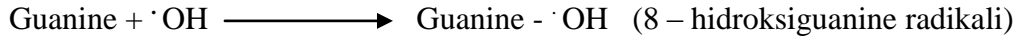


### 2. 1. 2. 1. 3. Hidroksil radikali ( $\cdot\text{OH}$ ):

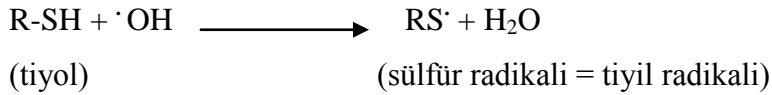
Biyolojik sistemlerde bulunan potansiyel olarak en güçlü oksidandır. Yarı ömrü çok kısa ve reaktivitesi çok yüksek olduğu için komşu moleküllerle hızla reaksiyona girer.

Hidroksil radikalinin etkileri:

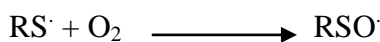
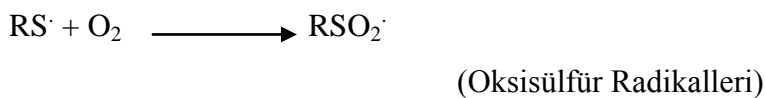
a. DNA'nın pürin ve pirimidin bazlarına etki ederek mutasyonlara neden olabilir.



b. Herhangi bir biyolojik molekülden H<sup>+</sup> atomu alarak, o biyolojik molekülün radikale dönüşümüne neden olabilir.



Oluşan tiyil radikali moleküler oksijen ile reaksiyona girerek, proteinlerde hasara yol açan oksisülfür radikallerinin oluşumuna da yol açabilir.



Hidroksil radikalının en önemli özelliği, hücre membranlarına yakın olduğu zaman membran fosfolipitlerinin yağ asidi yan zincirlerine etki ile serbest radikal zincir reaksiyonunu başlatabilmesidir.

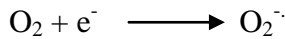
## 2. 1. 2. 2. Serbest Radikal Kaynakları

Serbest radikal kaynakları gerek vücutta oluşma şekilleri itibariyle endojen gerekse de vücuda dışarıdan alınması şeklinde eksojen kaynaklar olarak incelenebilir.

### 2. 1. 2. 2. 1. Endojen kaynaklar:

#### 1. Normal biyolojik işlemler:

i. Mitokondrial elektron transport zinciri reaksiyonları: Organizmanın temel radikal kaynağı iç mitokondrial membranda yerleşen elektron transport zinciridir. Bu transport zinciri boyunca elektronların taşınımı sırasında bazı elektronlar “elektron taşıyıcılarından” ayrılarak direkt olarak oksijene geçer ve onu süperoksit radikaline indirgeyebilir (Vallyatyan ve Shi 1997, Fridovich, 2004).



ii. Organizmadaki normal anabolik ve katabolik işlemler sırasında, moleküler düzeydeki reaksiyonlarda elektron kaçışları olabilir ve bu sırada bir miktar oksidan molekül oluşabilir.

2. Aktive fagositler (Polimorfonükleer lökosit-PMN- ve makrofajlar): PMN’ler fagositte ettikleri bakterileri öldürmek ve nekrotik dokuları temizlemek için proteazlarla birlikte oksijen radikallerini kullanır. PMN’nin aktive olmuş komplemanla aktivasyonu bir respiratuar patlama enzimini (NADPH oksidaz; respiratory burst oxidase) uyarır. Bu durumda PMN’nin oksijen tüketimi 80 kat kadar artar ve bu oksijen özellikle kısa ömürlü ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\cdot\text{OH}$  ve  $\text{O}_2^{\cdot -}$ ) ve uzun ömürlü (HClO) toksik oksijen türleri üretiminde kullanılır.

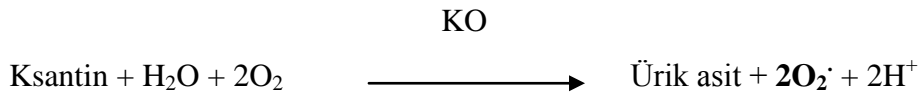
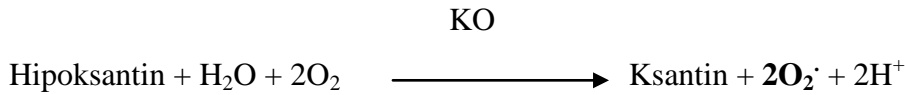
3. İskemi-reperfüzyon hasarı: Çelişkili bir durum olarak iskemi sonrası reperfüzyon ve hipoksiden sonra reoksijenasyon doku hasarına yol açabilir. Normal dokularda ksantin

oksidaz (KO) enzimi ksantin dehidrojenaz (KDH) formunda bulunur. KDH enzimi elektron alıcısı olarak  $\text{NAD}^+$  kullanır.



İskemik koşullarda ise KDH enzimi hücre içinde bulunan proteazlar aracılığı ile KO formuna dönüşür. KO enzimi düşük oksijen basıncında aktif değildir. Ancak, reperfüzyon sırasında oksijen basıncı arttığı için aktifleşir. Enzimin doğal şekli KDH'dır ve sağlam dokularda enzimin sadece % 10 gibi küçük bir kısmı KO formunda bulunur.

KO enzimi elektron alıcısı olarak  $\text{O}_2$ 'i kullanır.



Reperfüzyon sırasında oluşan süperoksit radikali ve hidrojen peroksit iskemi-reperfüzyon hasarının gelişiminden sorumludurlar. Bu iki oksidan madde özellikle Haber-Weiss reaksiyonu aracılığı ile daha toksik bir radikal olan hidroksil radikalinin oluşumuna yol açar (Vallyatyan ve Shi 1997, Aranda ve ark. 2007).

4. Araşidonik asit kaskadının aktivasyonu: Başta infeksiyöz ajanlar olmak üzere, bir çok nedenle aktive olan fosfolipaz  $\text{A}_2$  enzimi araşidonik asit kaskadını uyararak lökotrienler ve prostaglandinler gibi mediatör maddelerin üretiminde artışa yol açar. Bu mediatör maddeler de polimorf nüveli lökositler, nötrofiller, monosit, eozinofil ve granülositleri aktive ederek oksidan moleküller salgırlarlar.

5. Sitokrom P – 450, KO ve NADPH oksidaz enzimlerinin katalizlediği reaksiyonlarda serbest radikaller oluşur (McCord ve Omar 1993).

6. Nötrofillerde oluşan oksijen metabolitleri: İmmün bir uyarı, kemotaktik faktörler veya fagosite edilebilir partiküllerin etkisi ile nötrofiller aktive olabilir. Bu aktivasyon sonucu

nötrofil membranına bağlı NADPH oksidaz enzim sistemi uyarılır ve süperoksit radikali meydana gelir. Bu olay respiratory burst (patlama) olarak adlandırılır. Nötrofillerde yüksek konsantrasyonda bulunan bir diğer enzim de miyeloperoksidaz'dır. Miyeloperoksidaz lizozomal bir enzimdir ve NADPH oksidaz'ın etkisi ile oluşan  $H_2O_2$ 'i kullanarak klor, brom ve iyot gibi halojenleri okside edebilir ve böylece hipohalöz asitler meydana gelir. Hipohalöz asitler çok güçlü oksidanlardır ve biyolojik moleküllerin çoğu ile reaksiyon verirler. Nötrofillerde süperoksit radikali ve hipohalöz asitlerin reaksiyonu sonucu hidroksil radikali de meydana gelir.

7. Peroksizomlar ve lizozomlardaki metabolik olaylar: Peroksizomlar  $H_2O_2$ 'in hücredeki en önemli kaynağıdır. Peroksizomlarda bulunan D-aminoasit oksidaz ve L- $\alpha$ -hidroksiasit oksidaz enzimleri  $H_2O_2$  oluşumundan sorumludurlar. Peroksizomlarda aynı zamanda fazla miktarda katalaz enzimi de bulunur ve bu enzim  $H_2O_2$ 'in hasar verici etkilerini azaltır.

8. Stres: Stres sırasında katekolaminlerin düzeyinde meydana gelen artış oksidan maddelerin üretiminde artışa yol açarak birçok hastalığı tetikleyebilir.

9. Yaşlanma süreci: Oksidan moleküllerin düzeyi yaşlanma süreci ile paralel bir artış gösterir.

10. Organizmada serbest demir ve bakır gibi minerallerin fazlalığı, oksidanların oluşumunu hızlandırıcı bir etki yapar (Vallyatyan ve Shi 1997, Assar ve ark. 2013).

## **2. 1. 2. 2. 2. Eksojen kaynaklar:**

1. Yüksek oksijen konsantrasyonu (hiperoksi)

2. İyonizan radyasyon: 'OH kaynağı olması nedeniyle oldukça önemlidir.

3. Sigara

4. Ksenobiyotikler: Vücuda yabancı kimyasal maddelerdir (örn. ilaçlar, gıdalardaki katkı maddeleri, çevre kirliliğine neden olan maddeler-kimyasal karsinojenler) (Vallyatyan ve Shi 1997, Lobo 2010).

### 2.1. 2. 3. Oksidatif Stres ve Serbest Radikal Hasarı İle İlişkili Hastalıklar

Oksidatif stres ve buna bağlı biyolojik etkilerin birçok hastalıkla ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Bunlar arasında kalp damar hastalıkları, diyabet, kronik renal yetmezlik, bazı kanser türleri, nöro-dejeneratif hastalıklar, katarakt, sıkıntılı solunum sendromu, romatoid artrit ve bazı otoimmün hastalıklar bulunur.

SOR ile makromoleküller (protein, DNA, lipit, karbohidrat) arasındaki etkileşimler reversibl ve irreversibl oksidatif modifikasyonlara neden olabilir:

- DNA / RNA üzerine etki: Deoksiriboz halkası yarılması, baz hasarı, zincir kırılmaları sonucunda mutasyonlar, translasyonel hatalar ve protein sentezi inhibisyonu ortaya çıkar.
- Proteinlere etki: Agregasyon ve çapraz bağlanma, parçalanma ve kırılma, tiyol grupları modifikasyonu meydana gelir. Sonuçta enzim aktivitelerinde değişimler, iyon transportu değişimleri, hücre içine  $Ca^{+2}$  girişinde artış olur.
- Poliansatüre yağ asitlerine etki: Lipit peroksidasyon ürünleri oluşturur. Sonuçta hücre membran akışkanlığında azalma, permeabilite değişiklikleri, membrana bağlı enzimlerin aktivitelerinde değişiklikler olur.
- Karbonhidratlara etki: Özellikle monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu  $H_2O_2$ , peroksitler ve oksoaldehitler (glioksal, vs.) oluşur. Antimitotik özellik gösteren oksoaldehitler karsinogenez ve yaşlanmada rol oynarlar (Zima ve ark. 1995, Assar ve ark. 2013).

### 2. 1. 3. Antioksidan Mekanizmalar

Oksidatif hasarı önleyen, sınırlayan veya kısmen tamir eden moleküllere “antioksidanlar” denir (Yu, 1994, Shida ve ark. 2013). Vücut, oksidatif stres sonucu oluşabilecek hasarı engellemek için antioksidan vitaminler, GSH, antioksidan enzimler ve sülfidrillerden oluşan bir antioksidan savunma sistemi ile donatılmıştır. Genel olarak antioksidan vitaminler (E Vitamini ,  $\beta$ - karoten gibi) serbest radikalleri ve tek oksijeni direkt olarak yakalayarak (trapping) etkisiz hale getirirler. GSH ve diğer tiyol kaynakları ise hücresel oksidasyon ve

redüksiyonda (redoks) önemli rol oynarlar. SOD, KAT ve GSH-Px gibi antioksidan enzimler SOR'lerin bir elektron redüksiyonunu katalizlerler. Antioksidanların hücresele düzeyleri birçok fizyolojik, patolojik ve besinsel faktörlerden etkilenir. Antioksidanlar etkilerini başlıca şu yollarla gösterirler (Gutteridge 1995, Ji 1995, Mutinati ve ark. 2013):

1. Serbest radikal oluşumunun önlenmesi veya ortamdan uzaklaştırılması
2. Katalitik metal iyonlarının uzaklaştırılması
3.  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  gibi bazı SOR'lerinin ortamdan uzaklaştırılması
4. Zincir reaksiyonunun kırılması
5. Tek oksijen üzerine çöpçü veya söndürücü etki gösterilmesi

SOR ile etkileşip onları tutma ve daha zayıf bir moleküle çevirerek etkisiz hale getirme işlemine çöpçü (scavenging) etki denir. Doğal antioksidan enzimler, trakeobronşial mukus ve küçük moleküller bu tip bir etki ile SOR' in etkilerini azaltmaya çalışırlar. SOR ile etkileşip onlara bir hidrojen aktararak onların aktivitelerini azaltan veya inhibe eden moleküllerin etkinliğine söndürücü (quencher) etki denir. Vitaminler, flavanoidler, mannitol vb. moleküller böyle bir etki gösterirler. Serbest oksijen radikalleriyle oluşabilen zincirleme reaksiyonları yavaşlatan veya sonlandıran antioksidanların etkinliğine ise zincir kırıcı (chain breaking) etki denir. Hemoglobin ve seruloplazmin antioksidan etkilerini bu şekilde gösterirler. Birçok antioksidan, yukarıdaki etkilerden birkaç tanesini bir arada gösterebilmektedir. Antioksidanları etki mekanizmalarına veya organizmadaki lokalizasyonlarına göre sınıflandırmak mümkündür (Gutteridge 1995, Ji 1995, Mutinati ve ark. 2013).

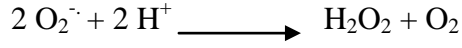
## **2. 1. 3. 1. Enzim Yapısındaki Antioksidanlar**

### **2. 1. 3. 1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) (E. C. 1. 15. 1. 1)**

SOD enzimi vasküler endotelde bulunan en önemli antioksidan enzimlerden birisidir ve endotel hücreleri ile düz kas hücreleri arasında bol miktarda bulunur. Normalde damar duvarında süperoksit radikallerini detoksifiye ederek lipid peroksidasyonunu ve ateroskleroz gelişimini önler. Hücrede serbest oksijen radikalleri oluşurken ilk basamakta  $O_2^-$  meydana geldiği ve SOD enzimi bu radikalın dismutasyonunu sağladığı için, hücre içindeki ilk

savunma sistemini bu enzim oluşturmaktadır (Petkau 1986, Cao ve Chen 1991, Gutteridge 1995, Kuyvenhoven ve Meinders 1999).

SOD



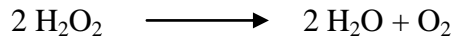
Süperoksit radikali kendi başına çok toksik olmamasına rağmen, serbest radikal zincir reaksiyonuna yol açabildiği için ortamdan uzaklaştırılması önemlidir.

SOD'ın farklı izoenzimleri mevcuttur. Sitosolik SOD ve vasküler endotele bağlı bulunan ekstrasellüler SOD'ın kofaktörleri bakır ve çinkodur (CuZn-SOD). Bu enzimlerin aktivitelerinden bakır, stabilitelelerinden çinko sorumludur. Mitokondrial SOD'ın kofaktörü ise mangandır (Mn-SOD). Ayrıca, bazı bakterilerde de Fe-SOD saptanmıştır (Cao ve Chen 1991, Gutteridge 1995, Kuyvenhoven ve Meinders 1999, Nozik-Grayck ve ark. 2005).

### **2. 1. 3. 1. 2. Katalaz (E.C.1.11.1.6)**

KAT başlıca peroksizomlarda lokalize ve yapısında 4 “hem” prostetik grubu bulunan bir hemoproteindir. Karaciğer ve eritrositlerde en yüksek aktiviteye sahiptir. SOD aracılığıyla oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hidrojen peroksit bir radikal olmamasına karşın en reaktif SOR olan HO· radikalinin öncüsü olduğu için birçok SOR'den daha fazla oksidatif hasara neden olur. KAT hidrojen peroksiti su ve moleküler oksijene parçalar.

KAT

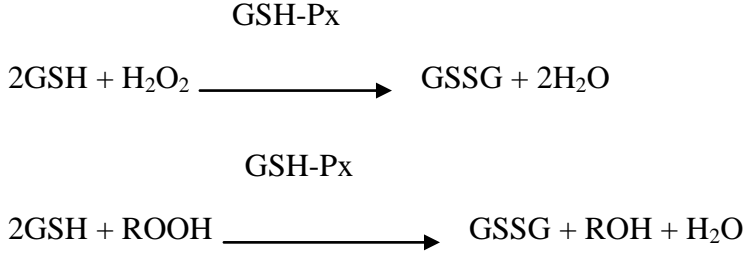


KAT, hidrojen peroksitin yanı sıra metil-etil-hidroperoksitler gibi küçük moleküllu lipit hidroperoksitleri de indirger.



### 1. 1. 3. 1. 3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) (E. C. 1. 11. 1. 9.)

Glutatyon peroksidaz eritrositlerde oksidan strese karşı en etkili antioksidan olup hidrojen peroksit ve lipit hidroperoksitlerin redüksiyonunu katalizler.



Her iki reaksiyonda da GSH hidrojen vericisi olarak kullanılır.

Selenyuma bağımlı GSH-Px,4 selenyum atomu içeren tetramerik yapıda bir enzimdir. %70'i sitozol, %30' u mitokondride bulunur. Enzimin aktivitesi özellikle karaciğer ve eritrositlerde yüksektir (Yu 1994, Gutteridge 1995, Tessier ve ark. 1995, Robertson ve ark. 2003).

### 2. 1. 3. 1. 4. Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz (G6PD) (E. C.1.1.1.49)

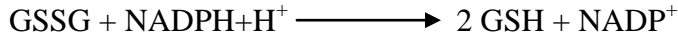
G6PD (Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz), pentoz fosfat yolunun ilk ve hız sınırlayıcı enzimi olup intrasellüler NADPH' ın da başlıca kaynağıdır. Üretilen NADPH ise serbest radikallerin detoksifikasyonunda rol oynayan GSH-Px enziminin aktivitesi için gerekli olan indirgenmiş GSH sağlamaktadır.

Son yapılan çalışmalarda G6PD'ın vasküler endotelial hücreler ve düz kas hücrelerinde de serbest radikallere karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir. Ayrıca G6PD'ın vasküler endotelial hücrelerde NADPH'ı kofaktör olarak kullanan eNOS (endotelial nitrik oksit sentaz) enziminin aktivitesi için de gerekli olduğu ve eksikliğinde eNOS'ın yeterli aktivite gösteremeyerek süperoksit radikali üretmeye başladığı ve sonuçta LDL oksidasyonunun tetiklenebileceği gösterilmiştir (Tian ve ark. 1999, Leopold ve ark. 2001).

### 2. 1. 3. 1. 5. Glutatyon Redüktaz (GR) (1.6.4.2)

Glutatyon redüktaz enzimi NADPH varlığında GSSG (okside glutatyon) nin tekrar redükte GSH a dönüşümünü katalizleyerek antioksidan aktivitenin devamını sağlar (Bompart ve ark. 1990).

GR



### 2. 1. 3. 1. 6. Paraoksonaz

PON adını ilk kez bir organofosfat olan paration'un vücuttaki aktif metaboliti olan paraoksonu hidrolize etmesinden almıştır. Başlıca karaciğerde sentezlenen PON enziminin aktivite ve stabilitesi için  $\text{Ca}^{+2}$  iyonu gereklidir. PON ayrıca arilesteraz aktivitesine de sahiptir ve arilesteraz aktivitesinin, PON aktivitesindeki değişikliklerden bağımsız olarak asıl protein konsantrasyonunun bir göstergesi olduğu bildirilmektedir (Aviram ve ark. 1998a, 1998b, Yılmaz ve ark 2013).

Son yıllarda ateroskleroz etyopatogenezinde rolü olduğu öne sürülen mekanizmalardan birisi LPO (lipoprotein oksidasyonu) dur. Hücre dışı ezimlerinden biri olan PON ile lipoprotein oksidasyonu arasındaki ilişki ilgi çeken yeni araştırma alanlarından birisidir. Eckerson ve ark. (1983), Mackness ve ark. (1998), La Du ve ark. (1999), Durrington ve ark. (2001), PON' un, HDL-K'ün bir bileşeni olduğunu ve ateroskleroz gelişim prosesindeki ilk adım olan LDL' in okside olmasını önleyerek ateroskleroz gelişimini engellediğini veya azalttığını öne sürmüşlerdir.

Aslında halen PON' un LDL oksidasyonuna karşı koruyucu mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Bu konuda kabul gören en geçerli görüş paraoksonazinkine benzer ester bağlarının okside lipit ürünlerinde de olduğu ve enzimin, bu bağları substrat olarak kabul ederek hidroliz ettiği ( peroksidaz benzeri aktivite) (Mackness ve ark. 1991, Aviram 1993, Costa ve ark. 2005, Kar ve ark. 2013). Sonuçta PON lipit peroksidasyonunu azaltır, LDL ve HDL'yi oksidasyondan korur ve bu özelliği ile ateroskleroz riskini de azaltmış olur. Yapılan

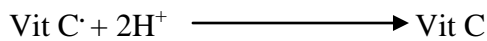
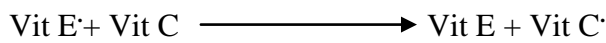
çalışmalarda PON aktivitesinin çeşitli nutrisyonel ve ilaç tedavileri ile değişiklik gösterdiği saptanmıştır. C vitamini, E vitamini, flavonoidler (quercetin, glabridin), polifenol içeren gıdalar (şarap, çay, meyve suyu) ve az miktarda alkol alımının PON aktivitesini arttırdığı, sigara, yüksek kolesterol, insülin direnci, doymuş yağ tkretimini ise PON aktivitesini azalttığı bildirilmiştir (Aviram ve ark. 1999, Kar ve ark 2013, Yılmaz ve ark. 2013).

### **1. 1. 3. 2. Enzim Yapısında Olmayan Antioksidanlar**

#### **1. 1. 3. 2. 1. C Vitamini (Askorbik Asit)**

Suda eriyen bir vitamin olan askorbik asit hücre dışındaki en önemli antioksidandır. Çok güçlü bir indirgeyici olan C vitamini;

- a. Süperoksit radikali, hidroksil radikali ve hipokloröz asidi indirger.
- b. Aktif nötrofil ve monositlerden kaynaklanan oksidanları nötralize eder.
- c. Lipit peroksidasyonu başlamadan önce sulu ortamdaki peroksil radikalleriyle direkt olarak reaksiyona girerek membranları peroksidatif hasardan korur.
- d. LDL oksidasyonunu önler ve elektronları membrandaki E vitaminine transfer eder.
- e. Oluşan E vitamini radikalini redükte ederek E vitaminini yeniden oluşturur. Böylece E vitamininin yeniden kullanılabilmesini sağlar. Ayrıca, antiproteazların oksidan maddeler ile inaktive olmasını engeller



C vitamini ideal bir elektron vericisidir. Çünkü elektronunu verdiği zaman oluşan serbest radikal ara ürünü (semihidroaskorbik asit) diğer serbest radikaller ile karşılaştırıldığında non-reaktiftir. C vitamini hidrofilik bir molekül olduğu için sulu ortamlarda E vitaminine göre daha iyi bir antioksidandır. Suda çözünebilen diğer antioksidanlarla kıyaslandığında ise plazma lipit peroksidasyonunu engelleyen en iyi antioksidandır.

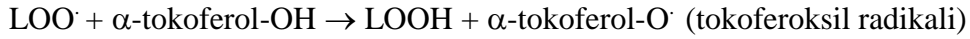
KAH (kardiyovasküler hastalık) da yapılan birçok çalışmada diğer antioksidanlar gibi seviyeleri düşük bulunmaktadır ve her ne kadar bazı karşıt bulguların elde edildiği çalışmalar

olsa da birçok çalışma ile KAH riski ile C vitamini seviyeleri arasında negatif bir ilişki olduğu gösterilmiştir (Goldfarb 1993, Yu 1994, Tiidus ve Houston 1995).

### **2. 1. 3. 2. 2. E Vitamini (Tokoferol)**

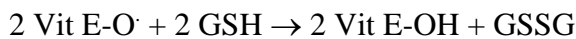
E vitamini tokoferol yapısında olup  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ve  $\delta$  olarak dört formu bulunmaktadır.  $\alpha$ -tokoferol doğal dağılımı en geniş ve biyolojik aktivitesi en fazla olanıdır. Antioksidan etkisi en fazla olan  $\alpha$ -tokoferolün yapısında bulunan fenolik hidroksil gruplu aromatik halka, vitaminin kimyasal olarak aktif kısmını oluşturur ve antioksidan özellik de bu gruptan kaynaklanır (Reilly ve ark. 1991).

En yüksek E vitamini konsantrasyonu mitokondri ve mikrozomlar gibi membrandan zengin hücre kısımlarında bulunur. Çok güçlü bir antioksidan olan E vitamini hücre membran fosfolipitlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal etkilerinden korur. E vitamini,  $O_2^-$ ,  $HO\cdot$ ,  $LOO\cdot$  (lipit peroksil radikali) ni ve diğer radikalleri temizler ve lipit peroksidasyonunu inhibe eder. Lipit peroksil radikallerini yıkarak lipit peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırdığı için zincir kırıcı bir antioksidan olarak da bilinir (Bast ve ark. 1991, Halliwell ve Chirico 1993, Halliwell 1994, Stahl ve Sies 1997).



Oluşan  $\alpha$ -tokoferol-O $\cdot$  (tokoferoksil radikali) stabildir ve kendi kendine lipit peroksidasyonu başlatmak için yeterince reaktif değildir. Glukuronik asitle oksidasyona uğrayarak safra yolu ile atılır.

E vitamini ve GSH-Px serbest radikal etkisine karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. GSH-Px oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırırken, E vitamini de sentezlerini engeller. Ayrıca GSH-Px' in yapısına katılan  $Se^{+2}$  un organizmadan kaybını önler ve enzimi aktif şekilde tutar. E vitamini okside olduktan sonra ve parçalanmadan önce askorbik asit ve GSH tarafından yeniden indirgenebilir (Packer 1991).



E vitamininin ayrıca kolesterol metabolizmasını da direkt olarak etkilediği bildirilmiştir. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, diyete eklenen E vitamininin serum kolesterolünü azalttığı gösterilmiş ve plazma kolesterolü ile E vitamini düzeylerinin ilişkili olduğu vurgulanmıştır. Plazma antioksidan düzeyleri ile KAH görülme sıklığı arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarda, plazma E vitamini düzeyleri düşük olan insanlarda iskemik kalp hastalıklarından ölüm oranının daha yüksek olduğu bulunmuştur

### 2. 1. 3. 2. 3. A Vitamini (β- Karoten)

Yağda eriyen bir vitamin olan vitamin A siklohekzenil halkası taşıyan bir poliizopren bileşiğidir. A vitamini, bu vitaminin biyolojik aktivitesini gösteren hayvansal kaynaklı tüm bileşikler kapsayan genel bir terimdir. Bunlar retinol, retinoik asit ve retinaldir. İçlerinden yalnızca retinol, vitamin A'nın tüm aktivitesini gösterirken, diğerleri vitamin A'nın ancak bazı aktivitelerini yerine getirmektedir. Sebzelerde A vitamini, 2 molekül retinalin birleşmesi ile oluşan bir pigment olan β-karoten formunda bir provitamin olarak bulunur. A vitamininin metabolik ön maddesi olan β-karoten antioksidan özelliklerini “quencher etki” ile göstermektedir. Karotenoidlerin yapısındaki konjuge çift bağlar antioksidan aktiviteden sorumludur. Son derece güçlü bir “singlet” O<sub>2</sub> temizleyicisi olan β-karoten ayrıca hidroksil, peroksil ve alkoksil radikalleriyle de doğrudan reaksiyon verip lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonunu önleyebilir. Görme, üreme, büyüme ve epitel hücre sağlamlığında da rol oynar



Her β-karoten molekülü 2 peroksil radikalini bağlayarak ortamdan uzaklaştırır. Ortamdaki oksijen konsantrasyonunun yüksek olması halinde ise reaktif bir peroksil radikali oluşur (Yu 1994).



Karotenoidlerin kardiyoprotektif etkilerini destekleyen epidemiyolojik veriler son birkaç yılda giderek artmıştır. Hennekens ve arkadaşları (1998)  $\beta$ -karoten alımının yüksek olduğu kişilerde, düşük olanlara göre kardiyovasküler hastalık riskinde %22'lik bir azalma olduğunu bildirmişlerdir.

#### **2. 1. 3. 2. 4. Glutasyon (GSH):**

Önemli bir intrasellüler antioksidan olan GSH glutamik asit, sistein ve glisin amino asitlerinden meydana gelmiş bir tripeptidtir. GSH'a antioksidan özelliğini sisteinin tiyol grubu kazandırır. GSH süperoksit radikali, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit ile direkt reaksiyona girerek antioksidan etki gösterir ve hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Bunun dışında proteinlerdeki –SH gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur (Sies 1999, Shimizu ve Morita 1992).

#### **2. 1. 3. 2. 5. Ürik Asit**

Ürik asitin antioksidan etkisini nasıl gösterdiği hakkında değişik görüşler vardır. Bazı yayınlara göre C vitaminini oksidasyondan koruyarak, bazılarında göre geçiş metal iyonlarını (Fe, Cu) bağlayarak, bir kısmına göre de radikal çöpçüsü olarak (süperoksit radikali, hidroksil radikali) antioksidan etki gösterdiği savunulmaktadır (Yu 1994).

#### **2. 1. 3. 2. 6. Seruloplazmin**

Bakır bağlayıcı bir glikoprotein olan seruloplazmin oksidoredüktaz aktivitesine sahiptir ve böylece oksijenden türemiş (örneğin,  $\cdot\text{OH}$ ) SOR'ni etkisizleştirmektedir. Ayrıca, SOR oluşumunu uyaran bakırı da bağlayarak antioksidan etki göstermektedir (Yu 1994, Memişoğulları ve Bakan 2004).

#### **2. 1. 3. 2. 7. Transferrin**

Transferrin, plazmada bulunan demir bağlayıcı bir glikoproteindir ve yaklaşık 1/3'ü demir ile yüklü olup plazmada serbest demir dolaşımını büyük ölçüde engellemektedir. Bu özelliği ile demirin uyardığı serbest radikal oluşumunu önleyen bir antioksidandır (Yu 1994, Memişoğulları ve Bakan 2004).

### **2. 1. 3. 2. 8. Ferritin**

Dolaşımdaki serbest demiri bağlayarak serbest radikal reaksiyonlarına kolayca girmesini önleyen bir proteindir (Yu 1994).

### **2. 1. 3. 2. 9. Bilirubin**

Bilirubin fizyolojik bir antioksidandır ve plazma antioksidan aktivitenin %10 – 30'nu bilirubin oluşturur. Zincir kırıcı ve çöpçü etkileri vardır (Hatfield ve Barclay 2004).

## **2. 2. Diyabet ve Oksidatif Stres İle İlişkisi**

Diyabet ileri evrede mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlarla kendini gösteren metabolik bir hastalıktır. Diyabette reaktif oksijen türlerinin rolü ise 1980'li yıllardan beri geniş çapta tartışılan bir konu olmuştur (Kono 2013). Diyabet ve diyabet komplikasyonlarının reaktif oksijen türleri ile olan ilişkisini gösteren çalışmalarda, nonenzimatik glikasyon, enerji metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan metabolik stres, sorbitol yol aktivitesi, hipoksi ve iskemi-reperfüzyon sonucu oluşan doku hasarının serbest radikal üretimini arttırdığı (Mullarkey ve ark 1990, Sano ve ark. 1998, Kuyvenhoven ve Meinders 1999) ve antioksidan savunma sistemini değiştirdiği vurgulanmaktadır (Wolf and Dean 1987, Godin ve ark 1988, Baynes ve Thorpe 1999, Ceriello 2000). Süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonlarının ve antioksidan kapasitenin pankreas adacık hücrelerinde, karaciğer, böbrek, iskelet kası ve adipoz doku gibi diğer dokularla kıyaslandığında en düşük düzeyde olduğu bilinmektedir ( Hunt ve ark 1988, West 2000). Oksidatif strese en duyarlı yapılardan biri olduğu da bilinen pankreas beta hücrelerinde gözlenen hasarın, hipergliseminin toksik etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Szaleczky ve ark 1999). Hidrojen peroksidin, yüksek reaktiviteye sahip bir ROS ürünü olan OH<sup>•</sup> radikaline dönüşmesi sonucunda insülin reseptör sinyal sistemi üzerinde etki gösterdiği ve insülin tarafından reseptör aracılığı ile düzenlenen sinyal transdüksiyon yollarında anahtar rol oynayabileceği belirtilmektedir (Donalith ve ark 1999). Glikasyon aracılı serbest radikal üretiminin insülinin gen transkripsiyonunu azalttığını ve beta hücre apoptozuna yol açtığını gösteren çalışmaların bulguları bu görüşü destekler niteliktedir (Ihara ve ark 1999). Serbest

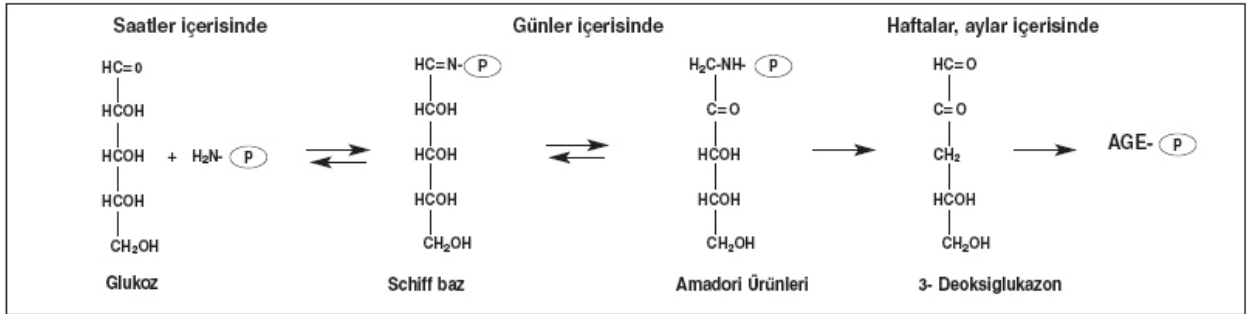
radikal oluşumunun hipergliseminin direkt sonucu olduğunu destekleyen çalışmaların (Mullarkey ve ark. 1990) yanı sıra endotel ve düz kas hücreleri yüksek konsantrasyonda glukoz içeren ortamda inkube edildiğinde de serbest radikal oluşumunun başladığı gözlenmiştir. Hiperglisemi ile oksidatif stres arasında yakın ilişki olduğu görüşü *in vivo* çalışmalar ile de desteklenmiştir (Hori ve ark. 1996, Wolff ve Dean. 1988, Hunt ve ark. 1988, Cameron ve Cotter. 1995, Inoguchi ve ark. 2000).

Diyabetin komplikasyonlarından özellikle aterosklerotik damar rahatsızlıkları için hiperlipideminin bağımsız risk faktörü olduğu görüşü önem kazanmaktadır (Wolff ve Dean 1988, Hori ve ark. 1996, Abdulfatai ve ark. 2012). Diyabetiklerde, plazma lipoproteinlerinde, eritrosit membran lipitlerinde ve çeşitli dokularında, lipit peroksidasyonunun arttığı yapılan çalışmalar sonucu görülmüştür. Lipit peroksidasyonu, hem yaygın vasküler inflamasyon sonucu aktifleşen lipooksijenaz yolu ile prostoglandinlerden, hem de serbest radikaller ve geçiş metallerinin etkisi ile endotelial ve fagositik hücrelerin membranlarında bulunan lipitlerden, nonenzimatik yolla oluşmaktadır. Daha sonra her iki yola ait ürünlerin, karşılıklı olarak birbirlerini aktive ederek, lipit peroksidasyonunu artırdıkları bildirilmiştir (Wolf and Dean 1987, Godin ve ark. 1988, Kuyvenhoven ve Meinders 1999, Baynes ve Thorpe 1999, Ceriello 2000, West 2000). Yine araştırmacıların bulguları, vasküler komplikasyonları olan diabetik hastalarda, hem düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) 'nin oksidasyonunda hem de nonenzimatik glikasyonunda, hiperglisemiye bağlı artışlar olduğunu göstermektedir. Diyabetik olgularda, lipitlere ilave olarak protein oksidasyonu da artmaktadır. Özellikle kollajen, elastin ve miyelin kılıfındaki ekstrasellüler proteinlerin oksidasyonu sonucu; lens, damar, bazal membran gibi dokularda katarakt, mikroanjyopati, ateroskleroz ve nefropati gibi diabetik komplikasyonlar gelişmektedir (Wolf and Dean 1987 ve Kuyvenhoven ve Meinders 1999, Abdulfatai ve ark. 2012).



## 2.2. 1. Diyabette İleri Glikasyon Son Ürünleri (AGE) Oluşumu

Diyabette kronik komplikasyonların gelişiminde AGE oluşumu ve etkileri önemli bir yer tutmaktadır. İleri glikasyon son ürünleri (AGE), proteinler, lipoproteinler ve/veya nükleik asitlerde bulunan azotlu grupların, indirgeyici şekerlerin karbonil grupları ile non-enzimatik glikasyonu sonucu oluşan heterojen bileşiklerdir. AGE ürünleri ilk kez 1912 yılında L.C. Maillard tarafından tanımlanmıştır. Protein glikasyonu, şekerin karbonil grubu ile proteinin serbest amino grubunun Schiff bazı oluşturmasıyla başlamaktadır. Schiff bazı oluşumu saatler içerisinde gerçekleşmekte ve sonrasında günler içerisinde Amadori ürünlerine dönüşmektedir. Amadori ürünleri ise daha sonra dikarbonil bileşiklerine ve sonrasında da haftalar içerisinde AGE' lere dönüşmektedir. Amadori ürünlerinin oluşumuna kadar olan bölüm geri dönüşümlü iken, daha sonraki evreler ise geri dönüşümsüzdür (Şekil 2. 5)



Şekil 2. 5. Proteinlerin glikasyonu ve AGE oluşumu (Parmaksız, 2011)

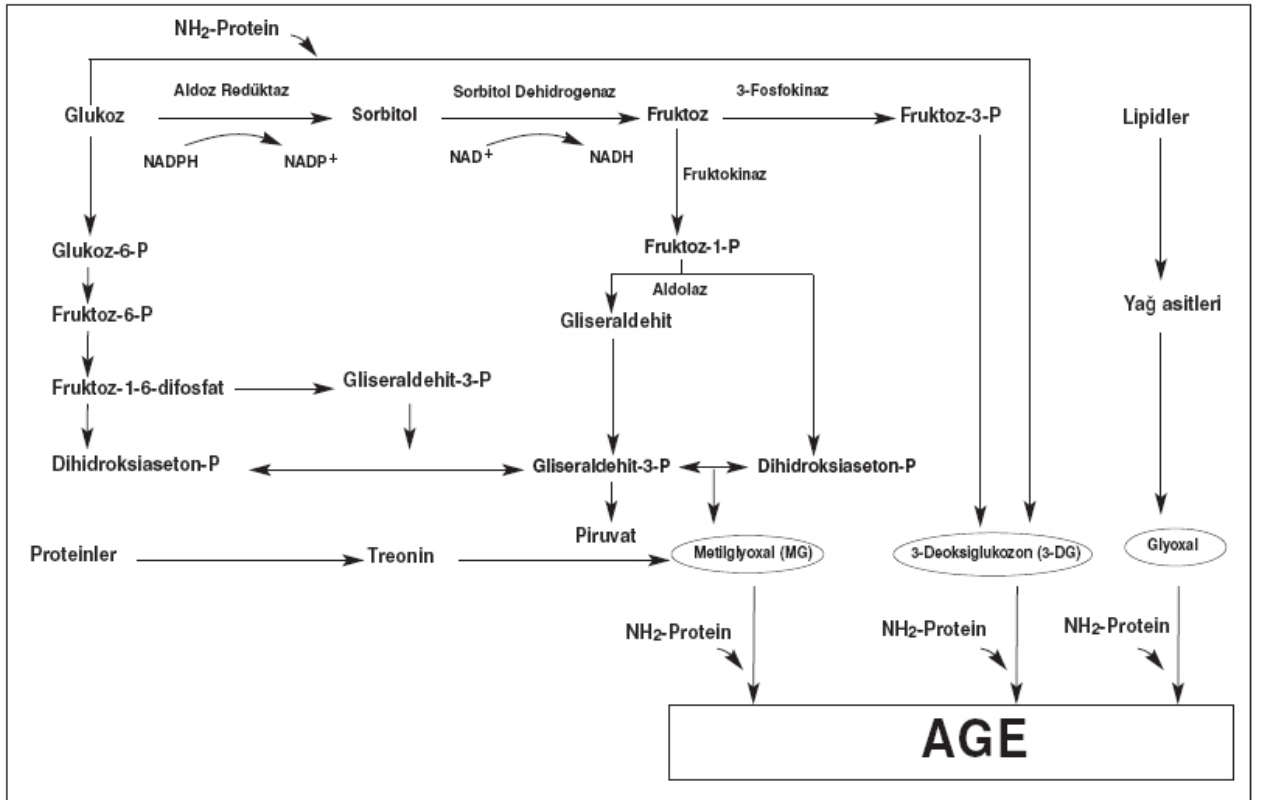
AGE oluşumunda diğer bir mekanizma ise diyabette artmış olan oksidatif strese bağlı olarak şeker veya lipidlerin oksidasyonu sonucunda, ara ürün olarak reaktivitesi yüksek 3-deoksiglukozon ve metilglukoksal gibi düşük molekül ağırlıklı, dikarbonil bileşiklerinin oluşumudur. Dikarbonil bileşikler genel olarak glikoliz ara ürünlerinden, glikasyona uğramış proteinlerin yıkımından ve lipidlerin peroksidasyonundan oluşabilmektedirler. Bu yollara ilave olarak; metil glukoksal, keton cisimlerinin metabolizması ve treonin metabolizması yollarıyla da az miktarda oluşabilmektedir. Dikarbonil bileşikler yüksek kimyasal aktiviteye sahiptir ve

çok küçük konsantrasyonlarda bile direkt olarak proteinlerin terminal aminoasitleriyle reaksiyona girerek AGE oluşumuna yol açabilmektedirler. AGE oluşumunda önemli diğer bir mekanizma ise poliyol yolağıdır. Diyabete bağı olarak ortaya çıkan yüksek miktarda glukozun bir kısmı önce sorbitole, sonrasında ise bir AGE ara ürünü olan 3-deoksi-glukozona dönüşüp AGE oluşumuna katılmaktadır. Bu yoldaki aldoz redüktaz enzim aktivitesi için NADPH kullanıldığından hücre içi NADPH tüketilir. Okside glutatyonun redükte forma çevrilebilmesi ve nitrik oksit (NO) sentezi için NADPH gereklidir. Bu nedenle sorbitol yolunun aktif olması ve sonuçta NADPH'ın yokluğu hücrenin antioksidan kapasitesinin sınırlanması anlamına gelmektedir (Kuyvenhoven ve Meinders 1999, Yagihashi 2001). Redükte glutatyonun ve vazodilatasyonda görev yapan NO sentezinin azalması diyabetin vasküler komplikasyonlarının ortaya çıkışında rol oynar (Godin ve ark 1988). Vazodilatör mediatörlerin kaybı endonöronal kan akımının azalmasına dolayısıyla endonöronal hipoksi veya iskemiye yol açmaktadır. Bu olayın sonucunda nöronal hücre, schwann hücrelerde hasar meydana gelmektedir (Greene ve ark. 1987, Williamson ve ark. 1993, Cameron ve Cotter 1997). Glukozun sorbitol yolu ile fruktoza ve sorbitola çevrilmesinin bir sonucu olarak hücrede miyoinozitol düzeylerinde azalma ve bunun sonucunda da Na-K ATP-az enzim aktivitesinde düşme olduğu gözlenmiştir ki bu enzim aktivitesi sinir iletim hızı için önem taşımaktadır (Greene ve ark. 1990, Bukan ve ark. 2004). Sorbitolun kendisi bir doku toksini gibi hareket eder. Yapılan çalışmalar hücre içindeki yüksek glukozun, tercihen poliyol yoluyla metabolize edildiğini göstermektedir. Bu nedenle retinopati, nöropati, katarakt, nefropati ve kalp hastalığı patogeneğinde rolü olduğu düşünülmektedir (Williamson ve ark. 1993, Bukan ve ark. 2004, Poulsen ve ark. 2013) (Şekil 2. 6).

Ancak bu reaksiyonlar da NADPH ve glutatyonun tüketimine yol açtığından dolayı dolaylı olarak oksidatif stresin artmasına da yol açmaktadır. AGE oluşumunda bu şekilde pek çok mekanizmanın rol oynaması AGE'lerin heterojen bir yapıya sahip olmasına yol açmaktadır. Bu yollar dışında diyetle alınan gıdalar ve tütün ürünleri reaktif AGE prekürsörlerini içermektedirler. AGE oluşumunda etkili faktörler; proteinlerin yapım yıkım hızı, hiperglisemi derecesi ve çevresel oksidan sistemin miktarı ve yaygınlığıdır.

AGE'ler temelde diyabet komplikasyonlarında iki şekilde rol almaktadırlar. Bunlardan birincisi, özellikle ekstrasellüler matriksin yapısını ve fonksiyonlarını bozmak, ikincisi ise;

AGE'lerin bir takım hücrelerde bulunan reseptörlerine bağlanması sonucunda çeşitli sinyal yollarını aktive ederek çeşitli transkripsiyon faktörlerinin ve sitokinlerin sentezine ve salınımına yol açarak pek çok metabolik değişikliklere neden olmaktadır (Wolf 1987, Mullarkey ve ark. 1990, Baynes 1991, Kuyvenhoven ve Meinders 1999, Shimoike ve ark. 2000, Assar 2013, Poulsen ve ark. 2013).



Şekil 2. 6. Karbonil bileşikler ve AGE'nin oluşum mekanizmaları (Parmaksız, 2011).

## **2.2. 2.Glukozun Oto-oksidasyonu ve Süperoksit Üretimi**

Bir geçiş elementinin varlığında glukoz, reaktif ketoaldehitlere ve süperoksit anyonuna çevrilir. Reaksiyonlar zinciri, superoksit radikalının hidrojen peroksit üzerinden son derece reaktif olan hidroksil radikali oluşturması ile sonuçlanır. Hücre içi glukoz oksidasyonu NADH'nın açığa çıkmasına yol açar. NADH solunum zincirinde oksidatif fosforilasyon yolu ile ATP üretimi için gerekli enerjiyi sağlamak üzere kullanılır. Solunum zincirindeki bu reaksiyon sırasında süperoksit radikali açığa çıkar. Yüksek glukoz konsantrasyonu varlığında bu yolla süperoksit radikal üretimi artar. Mitokondri solunum zinciri başlıca hücre içi ROS üretim kaynağıdır. Normal solunum zinciri olayları sırasında sürekli olarak süperoksit radikali oluştuğu düşünülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, diyabetteki patolojilerin birçoğunun artmış mitokondriyal ROS üretimi ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Mullarkey 1990, Kuyvenhoven ve Meinders 1999).

Özet olarak; diyabetik koşulda gözlenen hipergliseminin, proteinlerin enzimatik olmayan glikasyonuna ve poliyol yolunu içine alan kompleks mekanizmalar sonucu serbest radikallerin oluşmasına neden olduğudur.

Diyabetik koşulda oksidatif stresin diğer bir nedeni de hiperlipidemi ve antioksidan mekanizmalarda görülen değişimler olduğuna göre hem glisemik kontrol, hem lipit düzeylerinin kontrolü hem de antioksidan mekanizmalar, diyabetik koşulda oldukça önem kazanmaktadır. Bu metabolik süreç değerlendirildiğinde tıbbi ilaç tedavisi yanında alternatif destek tedavi için yaklaşımlar her geçen gün çoğalmaktadır.

## **2.3. Oral Antidiyabetik Tedavi, Saksagliptin**

Tip 2 diyabette beslenme tedavisi ve yaşam tarzı değişikliği ile plazma glukozunun ayarlanamadığı durumlarda tedaviye oral antidiyabetikler eklenir. Kan şekerini kontrol altında tutmaya yarayan oral antidiyabetik ajanlar genel olarak insülin sekresyonunu artırma veya karbonhidrat absorpsiyonunu azaltma yoluyla etki gösterirler. İncretin temelli ajanların glukagonu baskılayıcı etkisi de bulunmaktadır.

Tip 2 diyabetin tedavisinde kullanılan oral antidiyabetikler genel olarak dört grupta sınıflandırılmaktadır.

### **2.3. 1. Pankreastan İnsülin Salgılatan Ajanlar (İnsülin Sekretegogları)**

Bu grupta pankreas- $\beta$  hücrelerinden insülin salınımını arttıran sülfonilüreler ile glinidler bulunmaktadır.

1. Sülfonilüreler: Uzun yıllar boyunca tip 2 diyabet tedavisinde kullanılmış en eski grup oral antidiyabetik ajan (OAD) lardır.  $\beta$  hücreleri üzerindeki özel reseptörlerine (ATP- bağımlı potasyum kanalları) bağlanarak pankreastan insülin salgılanmasını arttırarak etki gösterirler. Tüm sülfonilüreler etkilerini gösterebilmek için insülin salgılama kapasitesi olan bir pankreasa ihtiyaç duyarlar.

2. Glinidler: Pankreas  $\beta$  hücrelerinde sülfonilüreler ile benzer biçimde, ATP- bağımlı potasyum kanalları üzerinden farklı reseptörler aracılığı ile insülin sekresyonunun 1. fazını arttırarak etkilerler. Bu nedenle etkileri hemen başlar ancak etki süreleri kısadır. Özellikle tokluk kan glukozu üzerine belirgin etki gösterirler.

### **2. 3. 2. İnsülin Duyarlaştırıcı Ajanlar**

Bu grupta insülin direncini azaltan biguanidler ve tiazolidindionlar bulunmaktadır. Biguanidler ağırlıklı olarak karaciğerde, tiazolidindionlar ise daha çok yağ dokusunda insülin duyarlılığını arttırıcı etki gösterirler.

1. Biguanidler (Metformin): Hem karaciğerin hem de periferik dokuların insüline duyarlılığını arttırır. Karaciğerde hem glukoneogenezi hem de glukojenolizi baskılar. Kaslarda ise insülin reseptör tirozin kinaz aktivitesini, GLUT 4 sayısını ve glukojen sentezini arttırarak etkili olmaktadır. Daha belirgin olarak açlık kısmen de tokluk kan glukozunu düşürür.

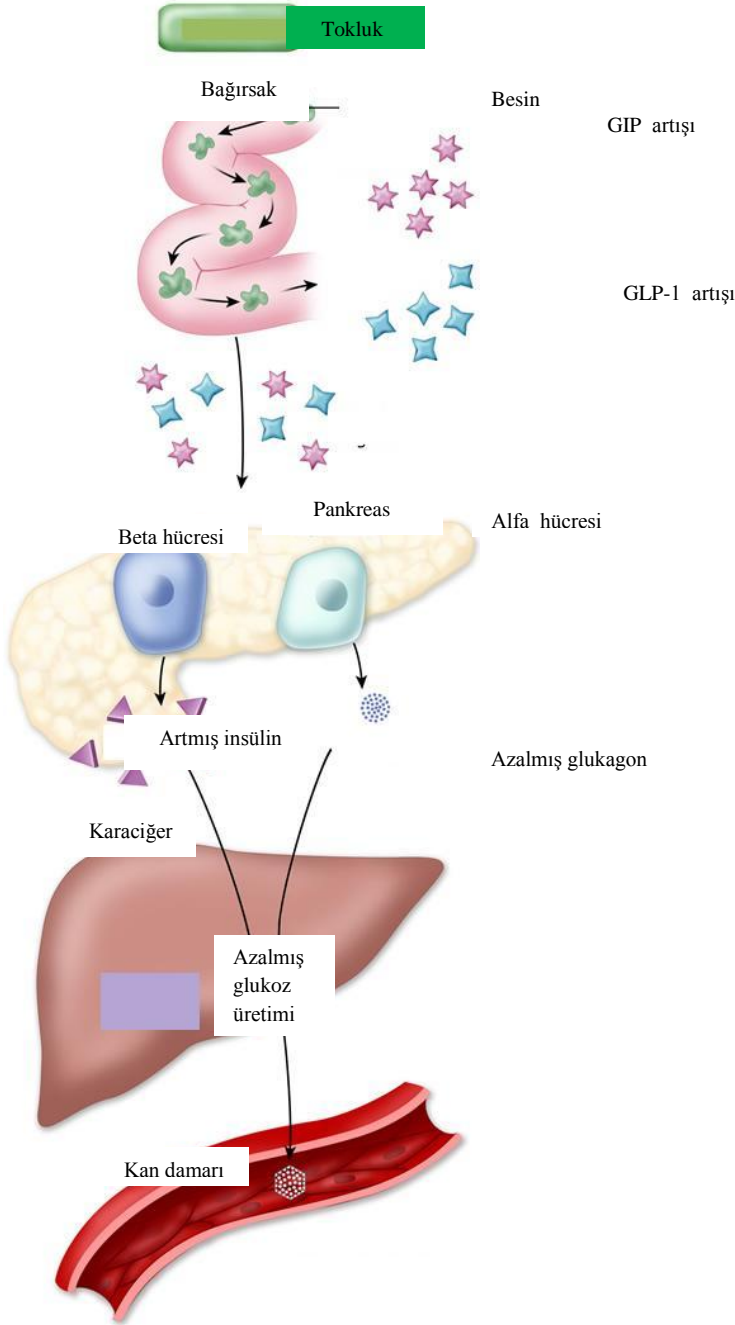
2. Tiazolidindionlar (Glitazonlar): Peroksizom proliferatör- aktif reseptör- $\gamma$  (PPAR-  $\gamma$ ) agonistleridir. PPAR aktivasyonu ile insüline cevap veren genlerin transkripsiyonunu düzenlerler. Bu gruptaki ilaçlar özellikle iskelet kasında olmak üzere periferik dokuların insülin duyarlılığını arttırarak etkili olurlar.

### **2. 3. 3. Barsaklardan Glukoz Absorbsiyonunu Azaltanlar**

Bu gruptaki ilaçlar alfa-glukosidaz inhibitörleri olarak adlandırılırlar. İnce bağırsakta  $\alpha$ -glukosidaz enzimlerini inhibe ederek karbonhidrat emilimlerini geciktirirler. Tokluk hiperglisemi tedavisinde etkilidirler (Holst 2004).

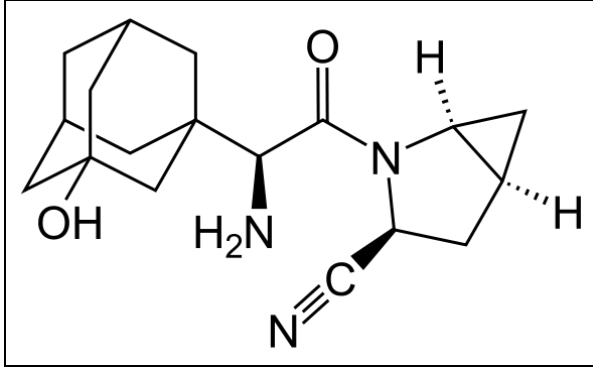
### **2.3. 4. İnkretin Etkisini Arttıranlar (DPP-IV inhibitörleri) ve Saksagliptin**

İntestinal peptidler, postprandial insülin sekresyonunun regülasyonunda rol almaktadır. Bununla ilgili olarak yapılan çalışmada, pankreas beta hücrelerinden oral glukoz yüklemesi sonucunda insülin sekresyonunda gözlenen artışın, eş dozda glukozun intravenöz olarak verilmesinden sonra salınan insülin düzeyinden daha fazla olduğu gösterilmiştir. “İnkretin etki” denen intestinal hormonların bu insülinotropik etkileri özellikle glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) ve glukozla bağlı insülinotropik peptid (GIP) tarafından gerçekleştirilir(Holst 2004). İnkretinler (GIP ve GLP-1) gıda ile alınan karbonhidratlara cevap olarak ince bağırsak K ve L hücrelerinden salgılanırlar.Pankreastan insulin salgısını arttırlar, gastrik boşalmayı yavaşlatırlar. Tip 2 DM’ de artmış olan postprandial glukagon salgısını baskırlar ve merkezi sinir sistemi üzerine olan etkileriyle gıda alınımını azaltırlar (Şekil 2.7).



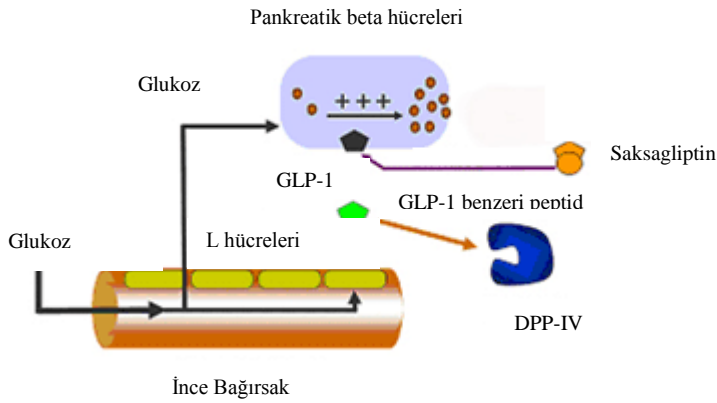
**Şekil 2. 7.** GLP-1 ve GIP' in Etkileri

Bu grup ajanlar içinde GLP-1 analogları ve dipeptidil peptidaz IV (DPP-IV) inhibitörleri yer almaktadır. Saksagliptin bu inhibitörlerden biridir (Chacra 2010, Scheen 2012) (Şekil 2. 8).



**Şekil 2. 8.** Saksagliptinin kimyasal yapısı (Nauck ve ark 1993)

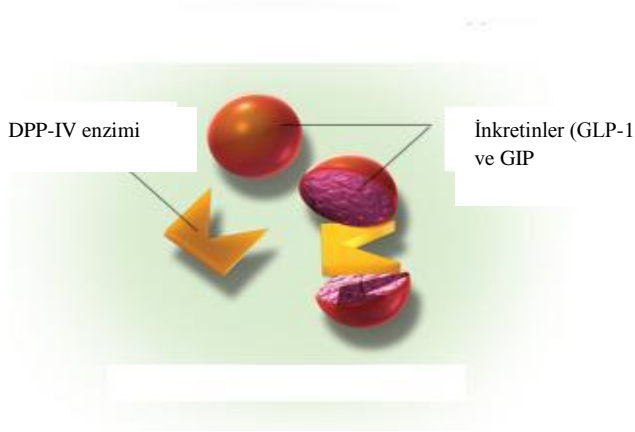
Endojen GLP-1 ve GIP' in hızla (2 dakikadan daha kısa bir süre içinde) DPP-IV aracılığı ile metabolize olduğu bilinmektedir. GLP-1' in faydalı etkilerini elde edebilmek için DPP-IV' e dirençli eksojen GLP-1 analogu uygulanması ya da DPP-IV' ü inhibe eden spesifik enzim inhibitörlerinin kullanılması gerekir. Oral DPP-IV inhibitörlerinin geliştirilmiş olmasıyla ortaya çıkan GLP-1 ve GIP düzeylerindeki artış fizyolojik glukozla bağımlı olarak insulin ve glukagon üzerinden antidiyabetik etkinin oluşmasını sağlar (Tahara ve ark. 2009, Deacon ve Ahren 2011, Duez ve ark. 2012) (Şekil 2. 9).



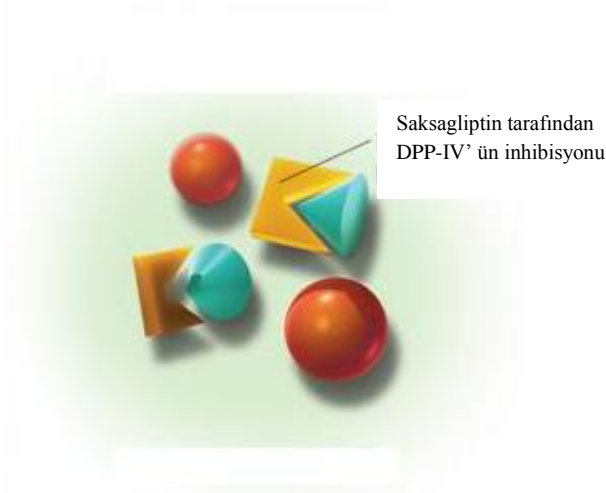
**Şekil 2. 9.** Saksagliptinin etkisi (Nauck ve ark 1993)



DPP-IV enzimi çeşitli hücre tiplerinde (bağırsak, epitelyum, karaciğer, akciğer, plesanta, böbrek ve proksimal tübül) bir protil proteaz olup, serebrospinal sıvı ve kan plazması gibi vücut sıvılarında çözülebilir. DPP-IV enzimi bağırsak GLP-1 hormonunu inaktive eder. Tip 2 diyabette DPP-IV inhibitörü kullanımının GLP-1' in yıkımını azalttığı için önemli olduğu vurgulanmıştır(Valk 2007, Matsuyama 2009, Scheen 2012, Kosaraju ve ark. 2013).



**Şekil 2.10.** İncretin aktivitesinin kısa süreli duraksatılması (Onglyza, 2011)



**Şekil 2.11.** İncretin aktivitesinin devam etmesi (Onglyza, 2011)

Yapılan araştırmalar DPP-IV inhibitörlerinin nitrik oksit salınımını arttırarak ve kan basıncını düşürerek kardiyovasküler hastalıkların önüne geçebileceğini ortaya koymuştur (Mason ve ark 2012).

Bu inhibitörlerin adacık hücrelerinin glukoza duyarlılığını arttırarak glisemik kontrolü düzenledikleri (Irons ve ark. 2012, Charbonnel ve ark. 2013), karbonhidrat alımı sonrası ögliseminin korunmasına olanak sağladıkları (Irons ve ark. 2012) ve pankreas  $\beta$ -hücreleri üzerine koruyucu etkilerinin olduğu ve diğer OAA olan sülfonilürelerin neden olduğu hipoglisemi riskini de önledikleri belirtilmiştir.

GIP, 423 amino asit içeren tek bir peptidyapısına sahiptir. Tek bir biyoaktif form şeklinde üst intestinal kanal K hücrelerinden oral olarak alınan gıdalardaki karbonhidrat ve yağlara yanıt olarak salgılanır. Bu nedenle, GIP sekresyonu gıda alımına yanıt olarak büyük artış gösterir. GLP-1, proglukagon geninin ürünüdür. Kendisini sentezleyen gen ile pankreasın  $\alpha$ -hücrelerindeki glukagon geni aynıdır. Hatta transkripsiyon ve translasyon sonrası oluşan proglukagona kadar sentez yolları aynıdır. GLP-1, intestinal mukozanın en aktif endokrin hücreleri olan L hücrelerinden salınır. GLP-1, iki biyoaktif formda bulunur. Birincisi GLP-1 [7-37] formu ikincisi ise, sirkülasyondaki predominant aktif formu olan GLP-1 [7-36] amid şeklindedir. Her iki peptidte aynı derecede aktiftir, benzer plazma yarılanma ömrü vardır ve aynı reseptör aracılığıyla aktivitelerini gösterirler. Her ne kadar L hücreleri dominant olarak distal intestinde lokalize iseler de GLP-1 gıda alımını takip eden dakikalar içerisinde salınır. Bu ani salınım, gıdaların proksimal gastrointestinal kanala gelmesiyle uyarılan nöral ve endokrin faktörler tarafından kontrol edilir. Bu etki gıdaların L hücrelerini direkt stimüle etmesinden daha önemlidir (Gautier ve ark 2005).

Sirkülasyondaki GIP ve GLP-1 düzeyleri açlıkta çok düşüktür ancak gıdaların alınmasıyla birlikte artar. GIP ve GLP-1 çok hızlı bir şekilde DPP-IV ile yıkılır edilir ve inaktif formlar olan GLP-1 [9-36] amid, GLP-1 [9-37]'den oluşur. DPP-IV yoğun bir şekilde villuslardaki kapillerlerin vasküler endotelinden salınır. Bu bulgular da GIP ve GLP-1 in daha portal sirkülasyona gelmeden tamamen inaktive olduğunu desteklemektedir.

GIP insanlarda ve deney hayvanlarında glukoz bağımlı insulin sekresyonunu arttırır. GIP [7-30] amid ile yapılan çalışmalarda, GIP'insülin salınmasını etkilediği rapor edilmiştir. Ayrıca GIP reseptör gen delesyonu yapılan sıçanlarda glukozu karşı intolerans geliştiği bulunmuştur (Miyakawi ve ark. 1999).

Deneysel çalışmalar, GIP'in adipoz dokuda yağ metabolizmasını etkilediğini desteklemektedir. GIP'in etkileri arasında, yağ asitlerinin, insülinle uyarılan trigliseritlerin yapısına katılmasını arttırmak, lipoprotein lipaz aktivitesini etkileyerek yağ asit sentezini uyarmak, pankreas beta hücre proliferasyonunu uyarmak sayılabilmektedir.

GLP-1, izole langerhans adacıklarında glukozla indüklenen insulin sekresyonunu stimüle eder. GLP-1' in insulin gen transkripsiyonunu ve pankreas beta hücrelerinde insulin biyosentezinin bütün basamaklarında etkili olduğu gösterilmiştir. Bunun yanında perfüze pankreas adacık hücrelerinde glukagon sekresyonunu baskılar. GLP-1'in glukagon sekresyonunu inhibe eden mekanizmaları tam olarak açık olmamakla birlikte inhibitör etkisini indirekt olarak insülin aracılığıyla yaptığı düşünülmektedir. GLP-1'in glukagon sekresyonunu inhibe etmesi yükselen plazma glukozu değerlerini düzenlemede önemli olabilir. GLP-1'in gastrointestinal sekresyon ve motilitesi üzerine özellikle gastrik boşalma üzerine inhibitör etkileri gösterilmiştir. GLP-1'in sağlıklı gönüllülere fizyolojik dozlarda verilmesi sonucunda gastrik boşalmanın ve glukoz absorpsiyonunun azaldığı gözlenmiştir.

Çeşitli hayvan deneyleri çalışmaları GLP-1' in pankreas beta hücre kütlesini arttırdığını göstermektedir. Ayrıca GLP-1'in sıçanlarda beta hücre replikasyonunu ve hücre kültürlerinde DNA sentezini arttırdığı saptanmıştır.

Sağlıklı bireylerde GIP ve GLP-1 in inkretin etkilerinin ortaya çıkması tip 2 diyabette inkretin defektleri olasılığını analiz etmeyi gündeme getirmiştir. Teorik olarak bu defekt inkretin hormonlarının bozulmuş sekresyonu ve/veya hızlanmış metabolizmalarından olabilir.

Tip 2 diyabette GIP sekresyonununun arttığını, normal kaldığını veya azaldığını gösteren çalışmalar vardır. Çalışmalar bozulmuş GLP-1 sekresyonunun diyabetin nedeni değil sonucu olabileceği görüşünü ortaya çıkarmıştır (Vaag ve ark. 1996) . Yapılan bir çalışmada GIP ve GLP-1 tip 2 diyabetlilere verildiğinde, normallerle karşılaştırıldıkları zaman GIP'in

insulintropik etkilerinin tamamen kaybolduğu, GLP-1 in yanıtının kontrollere benzer olduğu saptanmıştır (Nauck 1993).

Tip 2 diyabette GLP-1 sekresyonunun belirgin azalması ve GIP' in ikinci faz insülin sekresyonunu uyarıcı etkisinin kaybolması, tedavide GLP-1 in ilave olarak kullanılabilereği hipotezini ortaya çıkarmıştır. GLP-1 uygulanmasının tip 2 diyabet tedavisinde oldukça etkili olduğu, glisemik kontrolü sağladığı, insülin duyarlılığını ve beta hücre performansını arttırdığının saptanması üzerine tedavi olarak inkretinler önemli bir yere gelmiştir. Ancak GLP-1, DPP-IV ile süratle metabolize edildiği için klinik kullanımı pratik değildir. Bunun yerine rezistan hormon analogları, GLP-1 reseptör agonistleri ya da DPP-IV inhibitörleri geliştirilmiştir. DPP-IV inhibitörleri pek çok biyoaktif peptidin yıkımını önler ve böylece etkisini uzatır. Bunlardan sitagliptin ve vildagliptin klinik çalışmaları tamamlanmış ve kullanıma girmiş ilaçlardır. Saksagliptin ile ilgili klinik çalışmalar devam etmektedir (Fehman ve ark. 1995, Weber 2004).

Saksagliptin ile yapılan çalışmalar araştırıldığında, saksagliptinin tek bir oral alımından 24 saat sonra DPP-IV enzim aktivitesini inhibe ettiği, inkretin hormonların (GIP ve GLP-1) seviyelerini ve insülin sekresyonunu arttırdığı, postprandiyal hiperglisemiye azalttığı görölmüştür (Kosaraju 2013).

#### **2. 4. *Olea europaea* (Zeytin)**

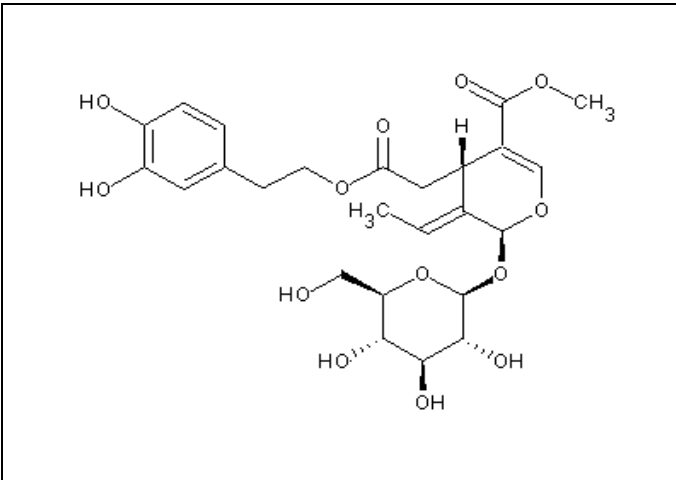
Zeytin ağacı (*Olea europaea*) Oleaceae familyasına ait herdem yeşil bir bitkidir. Zeytin yaprakları binlerce yıl önce insanlar tarafından hastalıkların tedavisinde are olarak kullanılmıştır. Son yıllarda dünyada, doğal organik bitkiler üzerindeki araştırmalar gittikçe önem kazanmaktadır. Özellikle Amerikan Kanseri Araştırma Enstitüsü zeytin yaprağının 21. yüzyılın en önemli doğal antimikrobiyal, antiviral bir etkiye sahip çok önemli bir bitki olduğunu belirtmiştir (Micol ve ark. 2005, Bock 2013).

Zeytin; fenil asitler, flavanoidler ve sekoiridoitler gibi farklı fenolik bileşikler içermektedir. Bugüne kadar zeytin yaprağında 101 madde saptanmıştır. Zeytin yaprağında bulunan maddeler zeytin çeşidi, uygulanan tedbirler, yetiştiği bölgeye ve hasat zamanına göre farklılıklar göstermektedir.



**Şekil 2. 12.** *Olea europaea* (Zeytin)

Oleuropein (Şekil 2.13) yaprağın en etken fenolik bileşiğidir. Bu bileşik aynı zamanda terapötik etkiye sahip sekoiridoit bir glukozit olup ham ve işlenmemiş zeytinin acı tadından sorumludur. Zeytin yaprağı çay ya da ekstrakt formunda alındığında oleuropein insan vücudunda bulunan iki enzim tarafından (esteraz ve  $\beta$ -glukozidaz) elenoik aside dönüştürülür. Bu bileşik güçlü bir antibakteriyal etkiye sahiptir, özellikle patojen bakteriler üzerinde öldürücü bir etki yapar. Bu özelliği ile vücudun bağışıklık sisteminde soğan ve sarımsak ile benzer etki göstermektedir.



**Şekil 2. 13.** Oleuropeinin kimyasal yapısı (Al- Azzawie ve Alhamdani, 2006).

$\beta$ -glukozidaz enzimi ile oleuropeinin hidrolizi iki aşamada gerçekleşmektedir. Birinci aşamada oleuropeinin glukozidik bağları  $\beta$ -glukozidaz enzimi tarafından hidrolize edilir ve oleuropein aglikon ile glukoz oluşur. İkinci aşamada ise oluşan aglikon esteraz aktivitesi ile elenolik asit ve hidroksitirozole dönüşür.

Hidroksitirozol olarak bilinen 3,4-Dihidroksifenil, oleuropeinin başlıca yıkım ürünüdür. Zeytinin olgunlaşma ya da işleme sürecinde (ör: zeytinyağı eldesi) hidroksitirozol konsantrasyonu artmakta, oleuropein konsantrasyonu ise azalmaktadır (Al- Azzawie ve Alhamdani M. 2006).

Zeytin yaprağının; güçlü antioksidan ve antimikrobiyal, kan glukozunu ve kolesterolü düşürücü, immün sistemi güçlendirici, kan basıncını dengeleyici, cilt yaşlanmalarına karşı koruyucu etki gösterdiği rapor edilmiş olup, antioksidan etkisinin C vitamininden, yeşil çaydan ve üzüm çekirdeğinden daha fazla olduğu belirtilmiştir (Micol ve ark. 2005, Bock ve ark. 2013).

Diyabetik hastalarda yüksek kan glukozu, proteinlerle reaksiyona girerek serbest oksijen radikallerinin oluşumuna yol açabilir (proteinlerin glukozillenmesi).

Oleuropein verilen diyabetik tavşanlarda oksidatif stresin göstergelerinden, yükselen malondialdehit (MDA) seviyesinin oleuropein uygulamasından sonra anlamlı olarak azaldığı ortaya konmuştur (Al-Azzawie ve ark. 2006).

Yapılan çalışmalarda diyabette azalan antioksidan aktivitenin (GPx, GRx, SOD, CAT, GSH, $\alpha$ -Tokoferol, Askorbik asit,  $\beta$ - karoten), oleuropein tedavisinden sonra anlamlı olarak arttığı ve kontrol değerlerine yaklaştığı ortaya konmuştur (Al-Azzawie ve ark. 2006).

Günlük 350 ünite insülin alan 15 yaşındaki genç diyabetikler bir ay süre ile zeytin yaprağı ekstresi aldıktan sonra günlük insülin gereksinimleri 220 ünite olarak saptanmıştır (Samuellson 1951).

Diyabetik hayvanlarda yapılan bir çalışmada özellikle kış aylarında toplanan zeytin yapraklarının maksimum hipoglisemik etki gösterdiği ortaya konmuştur (Gonzalez ve ark. 1992).

Alloksan ile diyabet oluşturulan tavşanlara, 16 hafta süresince kurutulmuş zeytin yapraklarından elde edilen oleuropein günlük oral doz 20 mg/kg olarak verildikten sonra, kan glukoz seviyesinin oleuropein alan diyabetik tavşanlarda 8. haftadan itibaren kontrol diyabetik tavşanlara göre anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır (Al-Azzawie ve ark. 2006).

Streptozotosin verilerek doku hasarı oluşturulan sıçanlarda, zeytin yaprağı hasarlı dokular üzerinde önemli bir onarım yaptığı ve aspartat aminotransferaz, üre ve kolesterol seviyelerini düşürdüğü saptanmıştır (Önderoğlu ve ark. 1999).

Yapılan çalışmalar oksidatif stresin lipit peroksidasyonu başlatarak aterosklerozisin oluşmasını tetiklediğini göstermektedir. Antioksidanlar ise lipit peroksidasyonu engelleyerek LDL oksidasyonunu önlemektedir. Epidemiyolojik çalışmalarda Akdeniz diyetiyle kardiyovasküler hastalıkların düşük insidansı arasında direkt bir korelasyon olduğunu ortaya konmaktadır (Tripoli ve ark. 2005).

Zeytin yaprağında bulunan oleuropein ve hidroksitirozolün oksidatif süreci geciktirdiği, LDL oksidasyonunu ve aterosklerozda önemli risk faktörü olan yüksek kolesterolü düşürdüğü ve bunun sonucunda kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde önemli bir rol oynadığı ortaya konmuştur (Visioli ve ark. 1995, Benkhalti ve ark. 2002).

Zeytin yaprağında bulunan hidroksitirozolün insan eritrositlerinde hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) tarafından oluşturulan oksidatif değişikliklere etkisinin araştırıldığı çalışmada, in vitro olarak hidroksitirosole maruz bırakılan eritrositlerde hidroksitirozolün oksidasyonu önlediği ve peroksitlerin oluşturduğu sitotoksositeye karşı koruyucu olduğu ortaya konmuştur (Manna ve ark. 1999).

Normal ve hiperkolesterolemik beslenen iskemili tavşanlarda oleuropein alan (10-20 mg/kg-gün) gruplarda kontrol gruplarına göre, plazma lipit peroksidasyonu ve protein karbonil gruplarının, total kolesterol ve trigiliserit konsantrasyonlarının azaldığı saptanmıştır (Andreodou ve ark. 2006).

Zeytin yaprağında bulunan oleuropeinin insan embriyonik fibroblastlarında hücre içi reaktif oksijen türlerinin (ROS) seviyesini azalttığı ortaya konmuştur (Katsiki ve ark. 2007).

Zeytin yaprağı ile yapılan çalışmalar çekirdeğin daha çok kompleksglukozidik yapılardan oluştuğunu ve en baskın glukozidik bileşenin nüzhenit olduğunu ortaya koymaktadır (Tripoli ve ark. 2005).

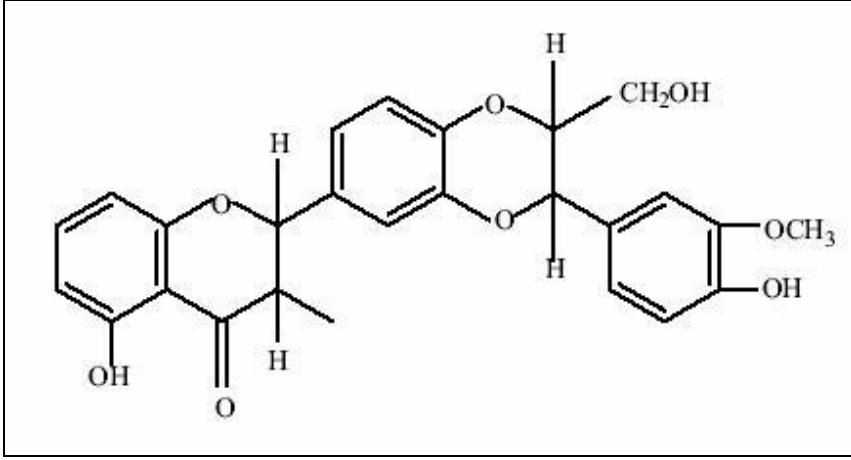
## 2.5. *Silybum marianum* (Deve dikeni)

*Silybum marianum* (Devedikeni) Asteraceae familyası üyesidir, 30-100 cm yükseklikte bir bitkidir. Yaprakları dişli ve dikenlidir. Günümüzde daha çok tohumları kullanılmaktadır. Tohumları; yağ, nişasta, tanen ve flavono-lignan türevi bileşikler (silimarin) ve silibin, isosilibin, silidianin ve silikristin içerirler (Chtourou ve ark. 2010, Sheela ve ark. 2013) (Şekil 2. 13). *Silybum marianum* karaciğerde toksik maddeleri parçalar ve atımını sağlar, dokuları korur, güçlü bir antioksidan ve hepatoprotektif bir ajandır. Tip 2 diyabetlilere uygulanan silimarinin hücre membran lipoperoksidasyonunu azalttığı, insülin direncini düşürdüğü ve eksojen insülin alınımını azalttığı ortaya konmuştur (Velussi ve ark. 1997, Matsuda ve ark. 2005, Fallah Huseini ve ark. 2006, Sheela ve ark. 2013). Diyabetli hastalarda artmış peroksidasyonun hücre yaşlanmasına ve uzun dönem diyabetik komplikasyonlara yol açtığı düşünülürse, silimarin radikal süpürücü etkisiyle bu olumsuz etkileri hafifletmektedir. Yine diyabetli hastalarda kan gkukoz, HbA1c, glukozüri, eritrosit MDA ve trigliserit seviyelerini ve insülin ihtiyacını azalttığı, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) seviyesini yükselttiği bulunmuştur (Velussi ve ark. 1997, Matsuda ve ark. 2005).



Şekil. 2. 14. *Silybum marianum* (Deve dikeni)





Şekil 2. 15. Silymarinin kimyasal yapısı (Velussi ve ark 1997)

Alloksanla diyabet oluşturulmuş farelerle yapılan bir çalışmada silimarinin, pankreatik lipit peroksidasyonundaki artışı engellediği ve kan glukozundaki artışı yavaşlattığı bulgusu elde edilmiştir (Fallah Huseini ve ark. 2006). Bu etki silimarinin antioksidatif özelliğinden kaynaklanabilir. Aynı zamanda, diyabetli hayvanların karaciğerinde SOD, glutasyon ve GSH-Px aktivitesini arttırdığı ortaya konmuştur (Soto ve ark. 2003). *Silybum marianum* ekstraktı verilen diyabetli hastalarda HbA1c ve kan glukoz seviyelerinin azaldığı bulunmuştur. Silimarinin kan glukoz düşürücü mekanizması çok açık olmamakla birlikte, hücresel glutasyonu ve antioksidan enzimleri artırıcı ve membran stabilize edici özelliği vardır (Matsuda ve ark. 2005).

Yapılan çalışmalar, silimarinin antioksidan etkilerinin, antioksidan enzimlerin gen ekspresyonunu ve SOD, GSH-Px, katalaz gibi serbest radikal hasarlarına karşı koruma mekanizmalarının çoğunu artırma yoluyla gerçekleştirdiğini göstermektedir (Karimi ve ark. 2011).

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3. 1. Deneyde Kullanılan Hayvanlar:

Deneyde Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi'nden sağlanan 100 adet 300- 350 g ağırlığında Wistar türü erişkin erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar deneysel çalışmaya başlamadan 20 gün önce ısı 18°C- 22°C arasında sabit tutulan özel odaya alındılar. Dört sıçan bir kafeste olacak şekilde yerleştirildiler ve standart diyet (pelet) yem ile beslendiler. Sıçanların su ve yem alımları serbest bırakıldı.

#### 3. 2. Hayvanların Gruplandırılması:

Deney grupları, n=10 sıçandan oluşmak üzere on gruba ayrıldı

Grup 1: Normal kontrol sıçanlar (K)

Grup 2: Oral olarak *Olea eruoepa* ekstraktı alan normal sıçanlar (K + OEE)

Grup 3: Oral olarak *Silybum marianum* ekstraktı alan normal sıçanlar (K + SME)

Grup 4: Oral olarak *Olea eruoepa* ve *Silybum marianum* ekstraktı alan normal sıçanlar (K + OEE + SME)

Grup 5: Diyabetik kontrol sıçanlar (D)

Grup 6: Oral olarak Saksagliptin alan diyabetik sıçanlar (D + S)

Grup 7: Oral olarak *Olea eruoepa* ekstraktı alan diyabetik sıçanlar (D + OEE)

Grup 8: Oral *Silybum marianum* olarak ekstraktı alan diyabetik sıçanlar (D + SME)

Grup 9: Oral olarak *Olea eruoepa* ve *Silybum marianum* ekstraktı alan diyabetik sıçanlar (D + OEE + SME)

Grup 10: Oral olarak Saksagliptin, *Olea eruoepa* ve *Silybum marianum* ekstraktı alan diyabetik sıçanlar (D + S + OEE + SME)

Çalışma Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezinin etik koşullarına uygun olarak planlandı.

### **3. 3. Diyabetin Oluşturulması ve Saksagliptin, *Olea europea* ve *Silybum marianum* Ekstraktı Tedavisi:**

Tip 2 diyabet, serum fizyolojikte çözülen nikotinamidin (45mg/kg). intraperitoneal enjeksiyonundan 15 dk sonra pH' ı 4.5 olan 20 mM sodyum sitrat tamponu içerisinde çözülen STZ (streptozotosin) in (65mg/kg) sıçanlara tek doz intraperitoneal enjeksiyonu ile oluşturuldu (Masiello ve ark. 1998). Kontrol grubu sıçanlarına da tek doz intraperitoneal sitrat enjeksiyonu yapıldı. Deney grubunu oluşturan sıçanlardan enjeksiyondan 48 saat sonra kuyrukları kesilerek kan glukoz düzeyleri tayin edildi. Sıçanların kan glukoz seviyesi  $\geq 200$  mg/dL olarak saptandığında diyabetik oldukları düşünülerek deneysel çalışma başlatıldı.

Saksagliptin 1.5 mg/gün, ticari olarak satın *Olea europea* ve *Silybum marianum* ekstraktları(Kale Naturel, Edremit,Balıkesir) %10 oranında içme suyuna 5 hafta süre ile ilave edilmiştir.

Diyabet oluştuktan bir hafta sonra 6. gruptaki (D + S) sıçanlara 1.5 mg/gün saksagliptin, 7. grup (D +OEE) taki ve grup 2 (K + OEE) deki sıçanlara %10'luk *Olea europaea* ekstraktı, 8. Grup (D + SME) taki ve grup 3 (K + SME) deki sıçanlara %10'luk *Silybum marianum* ekstraktı, 9. grup (D + OEE + SME) taki ve grup 4 (K + OEE + SME) deki sıçanlara %10'luk *O. europaea* ve %10'luk *S. marianum* ekstraktı, grup 10 (D + S + OEE + SME) daki sıçanlara 1.5 mg/gün saksagliptin, %10'luk *O. europaea* ve %10'luk *S. marianum* ekstraktı 5 hafta süre ile içme suyuna eklendi.

İçme suları günlük olarak hazırlanıp 24 saatlik sıvı tüketimi takip edildi. Ayrıca deney süresi olan 5 haftalık süre içinde sıçanların yem tüketimleri günlük olarak, kan glukoz düzeyleri ve vücut ağırlıkları ise haftada bir kez olmak üzere ölçüldü.Kan glukoz düzeyleri sıçanların kuyrukları kesilerek alınan kanda glukometrede glukostix stripleri kullanılarak (Abbot Glucometer Medisense Products, USA) ölçüldü.

### 3. 4. Örneklerin Toplanması

Deney süresi bitiminde anestezi altında olan sıçanların kalplerinden ponksiyonla alınan kan örnekleri, bir kuru tüp, bir heparinli ve iki EDTA'lı tüpe alındı. GSH-Px için heparinli tüpten 300 µl ve SOD için hemogram tüpünden (EDTA'lı) 500 µl tam kan ayrıldı. Diğer kan örnekleri 1500 rpm' de 10 dakika santrifüj edilerek serum ve plazmaları ayrıldı. Hemen çalışılmayacak olan parametreler [serum PON, arilesteraz, GLP-1, GIP, plazma MDA (malondialdehit), TK, TG, HDL, TK] için ayrılan örnekler -20 °C' de saklandı. SOD için hazırlanan numuneler (0,5 mL EDTA'lı tam kan alındı ve 3000 rpm' de 10 dakika santrifüj edilerek plazması ayrıldı ve aspire edildi. Kalan eritrositler, her yıkamada 3 mL % 0,9 NaCl kullanılarak 4 defa yıkandı ve eritrosit paketi şeklinde saklandı), GSH-Px (heparinli tam kandan) buzdolabında saklanarak 3 gün içinde çalışıldı. Kalp, kas, karaciğer, ve iskelet kası dokuları kan alımının hemen ardından çıkartılarak, serum fizyolojik ile yıkandı ve çalışılıncaya kadar -20 °C' de saklandı. Serum insülin düzeyleri radioimmunoassay (Diagnostic Products Corporation, USA) ile, plazma GIP ve GLP-1 ELİSA yöntemiyle ölçüldü

### 3. 5. Araç ve Gereçler

Spektrofotometre, "Shimadzu U.V. Visible 1202" (Japonya)

Spektrofotometre, "Shimadzu U.V. Visible 1601" (Japonya)

Su banyosu, "Julabo UC" (Almanya)

Santrifüj, "Sanyo Mistral 2000 R" (İngiltere)

Santrifüj, "Janetzki T 32" (Almanya)

Karıştırıcı (vorteks), "Heidolph" (Almanya)

Otomatik pipet (10 µL), "Gilson" (ABD)

Otomatik pipet (20 µL), "Gilson" (ABD)

Otomatik pipet (20-200µL), "Eppendorf" (Almanya)

Otomatik pipet (500-5000µL), "Eppendorf" (Almanya)

Otomatik pipet (200-1000 µL), "Eppendorf" (Almanya)

Derin dondurucu (-20° C), "Uğur" (Türkiye)

Elisa okuyucu "Biotek Epoch"(China)  
İnkübatör "Nüve" (Türkiye)  
Buzdolabı "Arçelik" (Türkiye)  
Abbot Glucometer Medisense Products (ABD)  
Kantar (Türkiye)

### 3. 6. Ticari Kitler

Kolesterol, "Randox Lab."(İngiltere) Lot.no:1132 F, Kat.no : CH200  
SOD (Ransod), "Randox Lab." (İngiltere) Lot.no:0019 J, Kat.no: SD125  
GSH-Px (Ransel), "Randox Lab." (İngiltere) Lot.no:1764 J, Kat.no : RS504  
GLP-1 ve GIP , "USCN Life Science Inc." Lot no: 9001: 2008

### 3. 7. Kimyasal Malzemeler

1. 2-Tiyobarbitürik asit (TBA) (>% 98), "Sigma" (A.B.D.) Kat.no : T 5500
2. n-Bütil alkol, "Sigma" (A.B.D.) Kat.no : S 15,467-9
3. Sodyum hidroksit, "Merck" (Almanya) Kat.no : 6462
4. Paraokson (Dietyl p-nitrofenil fosfat), "Sigma" (A.B.D.) Kat.no:D9286
5. Fenil asetat (% 99), "Aldrich" (A.B.D.) Kat.no: 10,872-3
6. Sodyum klorür, "Merck" (Almanya) Kat.no : 6400
7. Tris, "Merck" (Almanya) Kat.no : 8387
8. Kalsiyum klorür, "Merck" (Almanya) Kat.no : 2389
9. Glisin, "Merck" (Almanya) Kat.no : 4201
10. Sodyum dihidrojen fosfat, "Merck" (Almanya) Kat.no : 6345
11. Potasyum dihidrojen fosfat, "Merck" (Almanya) Kat.no : 4871
12. Potasyum ferri siyanür, "Merck" (Almanya) Kat.no : 4971
13. Potasyum siyanür, "Merck" (Almanya) Kat.no : 4966
14. Sodyum bikarbonat, "Horasan Kimya" (Türkiye)
15. Metafosforik asit, "Sigma" (A.B.D.) Kat.no : 6250
16. Metanol (HPLC grade), "BDH" (Almanya) Kat.no :15250
17. E vitamini standartı:  $\alpha$ - tokoferol, "Sigma" (A.B.D.) Kat.no : T-3251

18. Potasyum klorür, "Merck" (Almanya) Kat no. 4935
19. Sodyum dodesil sülfat (SDS), "Fluka" Kat.no. 71728
20. Bütanol, "Merck" (Almanya) Kat no. K 24430988
21. Asetik asit, "Kimetsan" (Türkiye) Kat no. KIM-AA/01GC
22. Piridin, "Merck" (Almanya) Kat no. 7462
23. 1,1,3,3-Tetramethoxy-propane, "Fluka" Kat no. 87670
24. Saksagliptin
25. Olea europaea ekstraktı (Kale firması, Edremit)
26. Silybum marianum ekstraktı (Kale firması, Edremit)

### **3. 8. Yöntemler**

#### **3. 8. 1. Serum Total Kolesterol, HDL-K ve Trigliserit Ölçümü**

Serum lipit (kolesterol, HDL-K ve trigliserit) düzeyleri, kantitatif elektrolit tayini yapılan Abbott C16000 otoanalizörde ölçüldü.

#### **3. 8. 2. Plazma GLP-1 ve GIP Düzeyleri Ölçümü**

İnhibisyon enzimlerin immunoassay teknikle ölçülmesi prensibine dayanır. Mikro kuyucuklu plakaya, sıçan GLP-1 ve GIP özel monoklonal antikorları yerleştirildi ve üzeri kaplandı. Standart ya da numuneler ile özel antikorlar arasında inhibisyon reaksiyonu başlatıldı. İnkübasyondan sonra serbest konjugatlar yıkandı. Daha sonra her bir kuyucuğa horseradish peroksidaz (HRP) eklenerek ve inkübe edildi. Numunelerdeki GLP-1 ve GIP yoğunluğu HRP konjugat miktarı ile ters orantılıdır. Daha sonra substrat solüsyonu ekledikten sonra, ortaya çıkan renk yoğunluğu numunelerdeki GIP konsantrasyonu ile ters orantılı olarak gelişir. Kuyucuklar 450 nm'de okunarak konsantrasyonlar belirlenirdi.

#### **3. 8. 3. Eritrosit SOD Aktivitesinin Ölçümü**

SOD aktivitesi kit (Ransod) kullanılarak ölçüldü. Bu yöntemde ksantin, KO enziminin katalizi ile  $O_2^-$  radikali oluşturur. Oluşan radikal 2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenol)-feniltetrazolyumklorid (İNT) ile reaksiyona girer ve pembe renkli bir bileşik oluşturur veya SOD enziminin katalizlediği bir reaksiyon ile dismutasyona uğrayarak  $H_2O_2$  ve  $O_2$  meydana

gelir. Böylece İNT ile reaksiyona giren  $O_2^-$  miktarı azaldığı için reaksiyon inhibe olur. Burada SOD aktivitesinin ölçümü, yukarıdaki reaksiyonun inhibisyon derecesinin ölçülmesine dayanmaktadır. Açığa çıkan pembe renk SOD aktivitesi ile ters orantılıdır.

#### Ayrıçlar :

1- 0.01 M fosfat tamponu (pH 7.0): 0.68 g  $KH_2PO_4$  ve 0.71 g  $Na_2HPO_4$  tartılarak 9 dL distile suda çözüldü ve pH'ı kontrol edilip 1 L' ye tamamlandı.

2- Ransod substrat: Ksantin 0,05 mmol/L, İ.N.T. 0.025 mmol/L

3- Ransod tampon: CAPS 40 mmol/L , pH 10.2 ; EDTA 0.94 mmol/L

4- Ransod XO: 80 Ü/L

5- Ransod standart: 5.4 Ü/mL

SOD aktivitesi ölçümü için, 0.5 mL tam kanın eritrosit paketi alındı ve hacmi soğuk distile su ile 2 mL' ye tamamlandı. Bu karışım +4 °C de 15 dakika bekletilerek hemolizat elde edildi. Hemolizat 0.01 M fosfat tamponu (pH 7.0) ile 25 kez sulandırıldı. Böylece ilk başta alınan 0.5 mL tam kan 100 defa sulandırılmış oldu. Deney 37° C' lik şartlarda gerçekleştirildi.

Tüpler karıştırıldı ve 30 saniye bekledikten sonra her bir tüp için spektrofotometrede 505 nm dalga boyunda absorbans sıfırlandı ve tam 3 dakika sonra son absorbans kaydedilerek  $\Delta A/dk$  hesaplandı. SOD aktivitesi, iki seri standart çözeltisi hazırlanarak elde edilen standart eğri grafiği üzerinden kit kataloğunda tarif edildiği gibi hesaplandı.

**Çizelge 3. 1. Eritrosit SOD Aktivitesinin Ölçümü, Deneyin Yapılışı**

|                        | <b>Ayıraç Körü</b> | <b>Standart</b> | <b>Örnek</b> |
|------------------------|--------------------|-----------------|--------------|
| <b>Fosfat tamponu</b>  | 25 µL              | -               | -            |
| <b>Dilüe hemolizat</b> | -                  | -               | 25 µL        |
| <b>Standart</b>        | -                  | 25 µL           | -            |
| <b>Substrat</b>        | 850 µL             | 850 µL          | 850 µL       |
| Karıştırıldı.          |                    |                 |              |
| <b>Ksantin Oksidaz</b> | 125 µL             | 125 µL          | 125 µL       |

### **3. 8. 3. Eritrosit GSH-Px Aktivitesinin Ölçümü**

GSH-Px aktivitesi kit (Ransel) kullanılarak ölçüldü. GSH-Px enzimi, glutatyonun (GSH) kümenhidroperoksit tarafından oksidasyonunu katalizlemektedir. Meydana gelen okside glutatyon, glutatyon redüktaz ve NADPH varlığında hızla redükte olurken aynı anda NADPH okside olarak  $\text{NADP}^+$  'ye dönüşmektedir. Bu esnada 340 nm deki absorbands azalması ( $\Delta\text{Abs}$ ) GSH-Px aktivitesi ile doğru orantılıdır.

#### Ayıraçlar:

1. Ransel ayıraç: GSH (4 mmol/L), GR ( $\geq 0.5$  Ü/L) ve NADPH (0.34 mmol/L)
2. Ransel tampon: 4.3 mmol/L EDTA içeren 0.05 molar fosfat tamponu (pH:7.2)
3. Ransel kümenhidroperoksit: 0.18 mmol/L
4. Ransel sulandırıcı ayıraç
5. Double Drabkin ayırıcı: 50 mg potasyum siyanid ve 200 mg potasyum ferri siyanid ve 1 g sodyum bikarbonat tartılarak hacim distile su ile 500 mL' ye tamamlandı.



### Deneyin Yapılışı:

GSH-Px aktivitesinin ölçümü için, 50 µL tam kan 1 mL Ransel sulandırıcı ayıraç ile seyreltilerek hemolizat elde edildi ve 5 dakika bekletildikten sonra 1 mL Double Drabkin ayıracağı ile karıştırıldı. Bu karışım en geç 20 dakika içinde kullanıldı. 1 mL Ransel ayıracağı üzerine yukarıdaki karışımdan 20 µL konuldu. 37 °C lik su banyosunda 5 dakika bekletildikten sonra reaksiyonu başlatmak için üzerine kümenhidroperoksit çözeltisinden 40 µL ilave edildi. Tam 1 dakika sonra başlangıç absorbansı kaydedilerek süre başlatıldı. 1. dakika ve 2. dakikada absorbanslar kaydedildi ve dakikadaki absorbans azalması ( $\Delta\text{Abs}/\text{dk}$ ) hesaplandı. Kör olarak çalışma çözeltisine örnek yerine 20 µL distile su konuldu. Absorbans ölçümleri spektrofotometrede 340 nm dalga boyunda yapıldı.

### Hesaplanma:

Numune aktivitesi kör aktivitesinden çıkarıldı ve çıkan sonuç 41 ile çarpıldı. Ü/L enzim aktivitesini veren bu değer numunenin Drabkin ayıracağı ile ölçülmüş g/L cinsinden hemoglobin değerine bölünerek hesaplandı (Ref;Ransel kit).

### **3. 8. 4. Serum Paraoksonaz Aktivitesinin Ölçümü**

Paraoksonaz aktivitesi ölçümü Eckerson ve arkadaşlarının (1983) tanımladığı yöntemle yapıldı. PON aktivitesinin saptanması amacıyla pH:10.5'da 0.05 M glisin-sodyum hidroksit tamponu içinde 1.0 mM  $\text{CaCl}_2$  ve 1.0 mM paraokson içeren 2,5 ml'lik karışıma 15,62 µL serum eklendi. Paraoksona PON'un etki etmesi sonucu açığa çıkan p-nitrofenol, 25 °C'de spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda (Molar absorbtivite katsayısı=  $18,290 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) ölçüldü. Paraokson'un non-enzimatik kendiliğinden hidroliz oranı ayıraç körü kullanılarak saptandı ve bu değer düşülerek gerçek absorbans değeri elde edildi. Bir ünite paraoksonaz aktivitesi 1 dakikada 1 µmol p-nitrofenol oluşturan enzim aktivitesi olarak tanımlandı ve serum PON aktivitesi ünite/litre (Ü/L) şeklinde ifade edildi.

### **3. 8. 5. Serum Arilesteraz Aktivitesinin Ölçümü**

Arilesteraz aktivitesi ölçümü Eckerson ve arkadaşlarının (1983) yöntemine göre yapıldı. Reaksiyon karışımı pH:8.0'de 9.0 mM tris (hidroksimetil) aminometan/HCl tamponu içinde 0.9 mM CaCl<sub>2</sub> ve 1.0 mM fenilasetat içeriyordu. Reaksiyon 2.5 mL tampon/substrat ayıracağına 1:3 oranında tamponla sulandırılmış 16,66 µL numune eklenmesiyle başlatıldı. Fenilasetat'ın hidrolizi ile açığa çıkan fenol oluşumu 270 nm dalga boyunda saptandı. 10. ve 70. saniyede absorbanslar kaydedildi ve böylece bir dakikada açığa çıkan fenol miktarı saptandı (Molar absorbtivite katsayısı=1310 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>). Bir ünite arilesteraz aktivitesi; 1 dakikada 1 µmol fenol açığa çıkaran enzim aktivitesi olarak tanımlandı ve serum arilesteraz aktivitesi Ü/L olarak ifade edildi.

### **3. 8. 6. Doku (Kalp, Karaciğer, Böbrek ve Kas) MDA Düzeyi Ölçümü**

Doku MDA düzeyi ölçümü Ohkawa ve arkadaşlarının (1979) tanımladığı yöntemine göre yapıldı.

Hesaplanma : Numune absorbansı / Standart absorbansı X Standart konsantrasyonu (100 mg/dL) = nmol/mg doku.

**Çizelge. 3. 2.** Doku Malondialdehit (MDA) Düzeyi Ölçümü, Deneyin Yapılışı

|                              | <b>Ayıraç körü</b>                   | <b>Standart</b> | <b>Örnek</b>    |
|------------------------------|--------------------------------------|-----------------|-----------------|
|                              | 0.2 ml. distile su                   | 0.2 ml standart | 0.2g. Homojenat |
| <b>Sodyum dodesil sülfat</b> | 0.2 mL                               | 0.2 mL          | 0.2 mL          |
| <b>Asetik asit</b>           | 1.5 mL                               | 1.5 mL          | 1.5 mL          |
| <b>TBA</b>                   | 1.5 mL                               | 1.5 mL          | 1.5 mL          |
| <b>Distile su</b>            | 0.6 mL                               | 0.6 mL          | 0.6 mL          |
| • Vortekslendi.              | 60 dk kaynatıldı.                    | Buzlu suda      | Soğutuldu.      |
| <b>Distile su</b>            | 1 mL                                 | 1 mL            | 1 mL            |
| <b>N-Bütanol / Piridin</b>   | 5 mL                                 | 5 mL            | 5 mL            |
| • Vortekslendi.              | 20 dk 3000 rpm' de santrifüj edildi. |                 |                 |
| • Üst faz abs.               | 532 nm' de köre karşı okundu.        |                 |                 |

### 3. 9. İstatistiksel Analiz

Biyokimyasal testlerden elde edilen verilerin ortalama değerleri ve standart sapmaları belirlenecek ve istatistiki değerlendirilmesi tek (ANOVA) ve çok (MANOVA) yönlü varyans ile yapılacak, fark grupları Tukey HSD testi ile  $p < 0.05$  anlamlılık düzeyinde belirlenecektir. İstatistiki analizler SPSS 20.0 paket programında yapıldı.

### 3. BULGULAR

Kontrol + *Olea europaea* ekstraktı, grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, yem alımı (sırasıyla  $16 \pm 1$  g/24s ve  $18 \pm 1$  g/24s), sıvı alımı (sırasıyla  $33 \pm 1$  g/24s ve  $27 \pm 1$  g/24s) ve vücut ağırlığı (sırasıyla  $356 \pm 8$  g ve  $351 \pm 4$  g) düzeylerinde gözlenen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Aynı zamanda kan glukoz (sırasıyla  $121 \pm 2$  mg/dL ve  $128 \pm 6$  mg/dL) düzeylerinde azalma ve serum insülin (sırasıyla  $2.59 \pm 0.5$  ve  $2.09 \pm 0.1$  mg/dL) düzeylerinde istatistiksel olarak anlam saptanmadı. Total kolesterol (sırasıyla  $55 \pm 4$  mg/dL ve  $62 \pm 1$  mg/dL), trigliserit (sırasıyla  $52 \pm 6$  mg/dL ve  $67 \pm 4$  mg/dL) düzeylerinde görülen azalma ve HDL-K (sırasıyla  $64 \pm 1$  mg/dL ve  $61 \pm 1$  mg/dL) düzeyinde gözlenen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Kontrol + *Silybum marianum*, ekstraktı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, yem alımı (sırasıyla  $17 \pm 1$  g/24s ve  $18 \pm 1$  g/24s), sıvı alımı (sırasıyla  $38 \pm 1$  mL/24s ve  $27 \pm 1$  mL/24s) ve vücut ağırlığı (sırasıyla  $352 \pm 6$  g ve  $351 \pm 4$  g) artış olmakla birlikte bu istatistiksel olarak anlamlı değildi. Kan glukoz (sırasıyla  $125 \pm 3$  mg/dL ve  $128 \pm 6$  mg/dL) düzeylerinde azalma ve serum insülin (sırasıyla  $1.8 \pm 0.3$  ve  $2.09 \pm 0.1$  mg/dL) düzeylerinde görülen artışta anlam saptanmadı. Total kolesterol (sırasıyla  $52 \pm 5$  mg/dL ve  $62 \pm 1$  mg/dL), trigliserit (sırasıyla  $71 \pm 2$  mg/dL ve  $67 \pm 4$  mg/dL) düzeylerinde görülen azalma ve HDL-K (sırasıyla  $62 \pm 1$  mg/dL ve  $61 \pm 1$  mg/dL) düzeyinde artış gözlenmede istatistiksel olarak anlam saptanmadı.

Kontrol + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, yem alımı (sırasıyla  $16 \pm 1$  g/24s ve  $18 \pm 1$  g/24s), sıvı alımı (sırasıyla  $29 \pm 1$  mL/24s ve  $27 \pm 1$  mL/24s) ve vücut ağırlığı (sırasıyla  $357 \pm 8$  g ve  $351 \pm 4$  g) artış olmakla anlam saptanmadı. Kan glukoz düzeylerinde (sırasıyla  $121 \pm 3$  mg/dL ve  $128 \pm 6$  mg/dL) azalma ve serum insülin (sırasıyla  $2.78 \pm 0.4$  ve  $2.09 \pm 0.1$  mg/dL) düzeylerinde görülen artış anlamlı değildi. Total kolesterol (sırasıyla  $43 \pm 3$  mg/dL ve  $62 \pm 1$  mg/dL), trigliserit (sırasıyla  $71 \pm 3$  mg/dL ve  $67 \pm 4$  mg/dL) seviyelerinde görülen azalma ve HDL-K (sırasıyla  $65 \pm 1$  mg/dL ve  $61 \pm 1$  mg/dL) artış gözlenmede istatistiksel olarak anlam bulunmadı.

Diyabet grubunda kontrol grubuna göre, yem alımı (sırasıyla  $30 \pm 3$  g/24s ve  $18 \pm 1$  g/24s), sıvı alımı (sırasıyla  $110 \pm 8$  mL/24s ve  $27 \pm 1$  mL/24s), kan glukoz (sırasıyla  $305 \pm 11$

mg/dL ve  $128 \pm 6$  mg/dL), total kolesterol (sırasıyla  $91 \pm 7$  mg/dL ve  $62 \pm 1$  mg/dL), trigliserit (sırasıyla  $173 \pm 7$  mg/dL ve  $67 \pm 4$  mg/dL) düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0.05$ ) bir artış saptanırken, vücut ağırlığı (sırasıyla  $305 \pm 11$  g ve  $351 \pm 4$  g), serum insülin (sırasıyla  $0.63 \pm 0.3$  ng/mL ve  $2.09 \pm 0.1$  ng/mL) ve HDL-kolesterol (sırasıyla  $38 \pm 1$  mg/dL ve  $61 \pm 1$  mg/dL) düzeylerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı ( $p < 0.05$ ).

Diyabet + Saksagliptin grubunda diyabet grubuna göre, yem alımı (sırasıyla  $26 \pm 2$  g/24s ve  $30 \pm 3$  g/24s ) ve sıvı alımında (sırasıyla  $103 \pm 3$  mL/24s ve  $110 \pm 8$  mL/24s ) azalma ve vücut ağırlığında (sırasıyla  $310 \pm 17$  g ve  $305 \pm 11$  g) artış gözlenirse de istatistiksel olarak anlam saptanmadı. Kan glukoz (sırasıyla  $245 \pm 7$  mg/dL ve  $305 \pm 11$  mg/dL), total kolesterol (sırasıyla  $68 \pm 6$  mg/dL ve  $91 \pm 7$  mg/dL), trigliserit (sırasıyla  $134 \pm 4$  mg/dL ve  $173 \pm 7$  mg/dL) düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanırken ( $p < 0.05$ ), serum insülin (sırasıyla  $1.75 \pm 0.2$  ng/mL ve  $0.63 \pm 0.3$  ng/mL) ve HDL-kolesterol (sırasıyla  $39 \pm 1$  mg/dL ve  $38 \pm 1$  mg/dL) düzeylerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı ( $p < 0.05$ ).

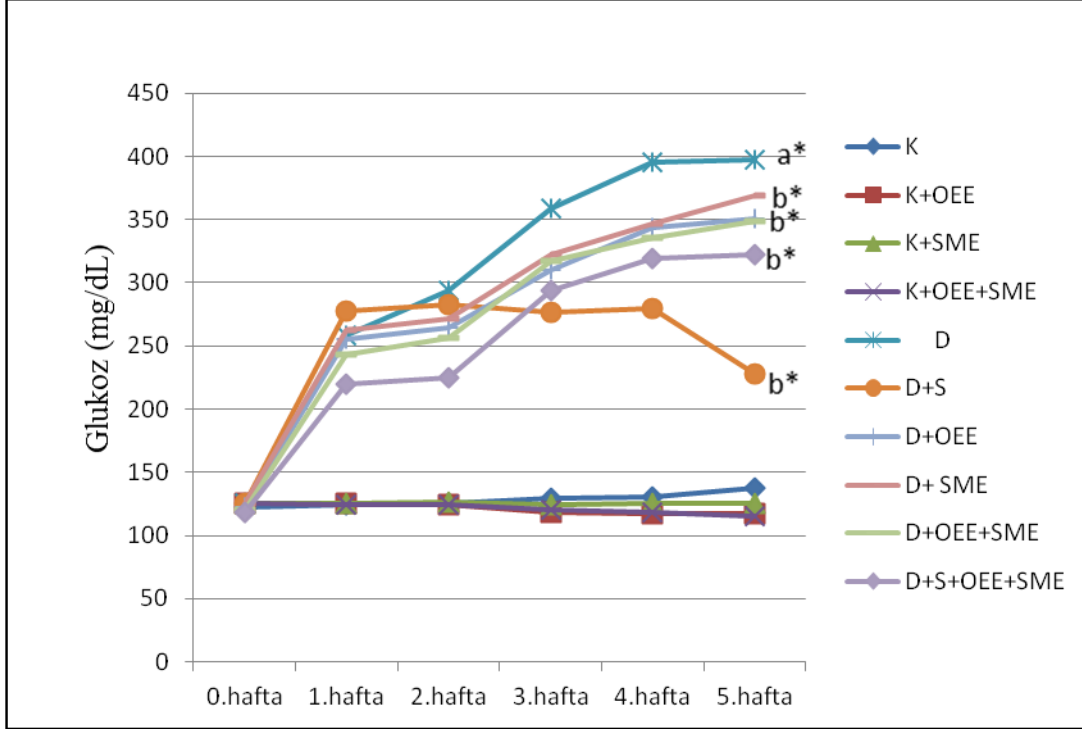
Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı grubunda, diyabet grubuna göre, yem alımı (sırasıyla  $23 \pm 2$  g/24s ve  $30 \pm 3$  g/24s ) ve sıvı alımında (sırasıyla  $102 \pm 5$  mL/24s ve  $110 \pm 8$  mL/24s ) azalma ve vücut ağırlığında (sırasıyla  $320 \pm 7$  g ve  $305 \pm 11$  g) artış gözlenirse de istatistiksel olarak anlamlı değildi. Kan glukoz (sırasıyla  $274 \pm 16$  mg/dL ve  $305 \pm 11$  mg/dL), total kolesterol (sırasıyla  $52 \pm 4$  mg/dL ve  $91 \pm 7$  mg/dL), trigliserit (sırasıyla  $124 \pm 13$  mg/dL ve  $173 \pm 7$  mg/dL) düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanırken ( $p < 0.05$ ), serum insülin (sırasıyla  $1.88 \pm 0.4$  ng/mL ve  $0.63 \pm 0.3$  ng/mL) ve HDL-kolesterol (sırasıyla  $47 \pm 1$  mg/dL ve  $38 \pm 1$  mg/dL) düzeylerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı ( $p < 0.05$ ).

Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı grubunda, diyabet grubuna göre, yem alımı (sırasıyla  $25 \pm 1$  g/24s ve  $30 \pm 3$  g/24s ) ve sıvı alımında (sırasıyla  $104 \pm 4$  mL/24s ve  $110 \pm 8$  mL/24s ) azalma ve vücut ağırlığında (sırasıyla  $321 \pm 5$  g ve  $305 \pm 11$  g) artış istatistiksel olarak anlamlı değildi. Kan glukoz (sırasıyla  $282 \pm 9$  mg/dL ve  $305 \pm 11$  mg/dL), total kolesterol (sırasıyla  $65 \pm 7$  mg/dL ve  $91 \pm 7$  mg/dL), trigliserit (sırasıyla  $137 \pm 12$  mg/dL ve  $173 \pm 7$  mg/dL) düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanırken ( $p < 0.05$ ), serum insülin

(sırasıyla  $1.54 \pm 0.2$  ng/mL ve  $0.63 \pm 0.3$  ng/mL) ve HDL-kolesterol (sırasıyla  $46 \pm 1$  mg/dL ve  $38 \pm 1$  mg/dL) düzeylerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı ( $p < 0.05$ ).

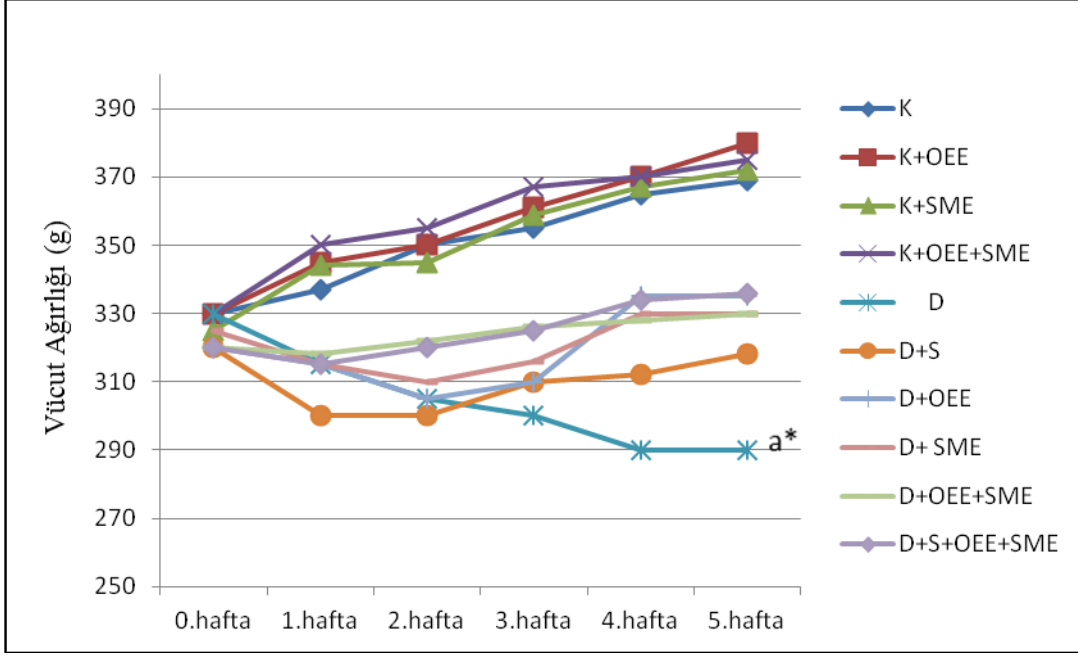
Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı grubunda, diyabet grubuna göre, yem alımı (sırasıyla  $23 \pm 2$  g/24s ve  $30 \pm 3$  g/24s ) ve sıvı alımında (sırasıyla  $101 \pm 3$  mL/24s ve  $110 \pm 8$  mL/24s ) azalma ve vücut ağırlığında (sırasıyla  $324 \pm 5$  g ve  $305 \pm 11$  g) gözlenen istatistiksel olarak anlamlı değildi. Kan glukoz (sırasıyla  $270 \pm 11$  mg/dL ve  $305 \pm 11$  mg/dL), total kolesterol (sırasıyla  $51 \pm 3$  mg/dL ve  $91 \pm 7$  mg/dL), trigliserit (sırasıyla  $123 \pm 10$  mg/dL ve  $173 \pm 7$  mg/dL) düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanırken ( $p < 0.05$ ), serum insülin (sırasıyla  $1.89 \pm 0.2$  ng/mL ve  $0.63 \pm 0.3$  ng/mL ve) ve HDL-kolesterol (sırasıyla  $48 \pm 1$  mg/dL ve  $38 \pm 1$  mg/dL) düzeylerinde ise istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0.05$ ) bir azalma saptandı.

Diyabet + Saksagliptin + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı grubunda, diyabet grubuna göre, yem alımı (sırasıyla  $22 \pm 1$  g/24s ve  $30 \pm 3$  g/24s ) ve sıvı alımında (sırasıyla  $101 \pm 5$  mL/24s ve  $110 \pm 8$  mL/24s ) azalma ve vücut ağırlığında (sırasıyla  $325 \pm 4$  g ve  $305 \pm 11$  g) artış gözlenmesine karşın bu istatistiksel olarak anlamlı değildi. Kan glukoz (sırasıyla  $248 \pm 8$  mg/dL ve  $305 \pm 11$  mg/dL), total kolesterol (sırasıyla  $65 \pm 2$  mg/dL ve  $91 \pm 7$  mg/dL), trigliserit (sırasıyla  $128 \pm 8$  mg/dL ve  $173 \pm 7$  mg/dL) düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanırken ( $p < 0.05$ ), serum insülin (sırasıyla  $1.90 \pm 0.1$  ng/mL ve  $0.63 \pm 0.3$  ng/mL ve) ve HDL-kolesterol (sırasıyla  $48 \pm 1$  mg/dL ve  $38 \pm 1$  mg/dL) düzeylerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı ( $p < 0.05$ ) (Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3, Çizelge 4.1, Çizelge 4.2).



**Şekil 4. 1.** Kontrol (K), Kontrol + *Olea europaea* ekstraktı (K + OEE), Kontrol + *Silybum marianum* ekstraktı (K + SME), Kontrol + *Olea europaea* + *Silybum marianum* ekstraktı (K + OEE + SME), Diyabet (D), Diyabet + Saksagliptin (D + S), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı (D + OEE), Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı (D + SME), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + OEE + SME) ve Diyabet + Saksagliptin + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + S + OEE + SME) gruplarında beş haftalık periyotta meydana gelen glukoz değişimi.

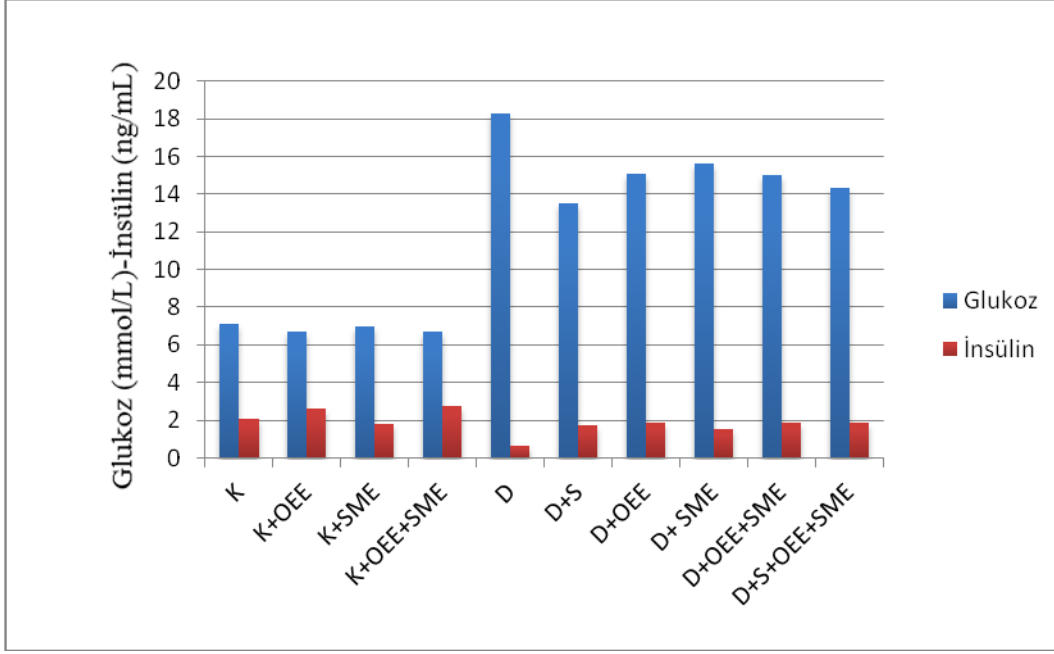
<sup>a</sup> : Kontrol grubu ile karşılaştırma. <sup>b</sup> : Diyabet grubu ile karşılaştırma. İstatistiksel anlamlılık düzeyi: \*  $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$



**Şekil 4. 2.** Kontrol (K), Kontrol + *Olea europaea* ekstraktı (K + OEE), Kontrol + *Silybum marianum* ekstraktı (K + SME), Kontrol + *Olea europaea* + *Silybum marianum* ekstraktı (K + OEE + SME), Diyabet (D), Diyabet + Saksagliptin (D + S), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı (D + OEE), Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı (D + SME), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + OEE + SME) ve Diyabet + Saksagliptin + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + S + OEE + SME) gruplarında beş haftalık periyotta meydana gelen vücut ağırlığı değişimi.

<sup>a</sup> : Kontrol grubu ile karşılaştırma. <sup>b</sup> : Diyabet grubu ile karşılaştırma. İstatistiksel anlamlılık düzeyi: \* p< 0.05, \*\*p< 0.01





**Şekil 4. 3.** Kontrol (K), Kontrol + *Olea europaea* ekstraktı (K + OEE), Kontrol + *Silybum marianum* ekstraktı (K + SME), Kontrol + *Olea europaea* + *Silybum marianum* ekstraktı (K + OEE + SME), Diyabet (D), Diyabet + Saksagliptin (D + S), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı (D + OEE), Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı (D + SME), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + OEE + SME) ve Diyabet + Saksagliptin + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + S + OEE + SME) gruplarında glukoz ve insülin değerleri.

<sup>a</sup> : Kontrol grubu ile karşılaştırma. <sup>b</sup> : Diyabet grubu ile karşılaştırma. İstatistiksel anlamlılık düzeyi: \*  $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$

**Çizelge 4. 1.** Kontrol (K), Kontrol + *Olea europaea* ekstraktı (K + OEE), Kontrol + *Silybum marianum* ekstraktı (K + SME), Kontrol + *Olea europaea* + *Silybum marianum* ekstraktı (K + OEE + SME), Diyabet (D), Diyabet + Saksagliptin (D + S), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı (D + OEE), Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı (D + SME), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + OEE + SME) ve Diyabet + Saksagliptin + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + S + OEE + SME) gruplarında yem alımı, sıvı alımı, vücut ağırlığı, serum insülin ve kan glukoz düzeyleri.

| <b>Gruplar</b>           | <b>K</b>   | <b>K+OEE</b> | <b>K+SME</b> | <b>K+OEE+SME</b> | <b>D</b>                 | <b>D+S</b>               | <b>D+OEE</b>             | <b>D+SME</b>             | <b>D+OEE+SME</b>         | <b>D+S+OEE+SME</b>       |
|--------------------------|------------|--------------|--------------|------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Yem alımı<br>(g/24s)     | 18 ± 1     | 16 ± 1       | 17 ± 1       | 16 ± 1           | 30 ± 3 <sup>a*</sup>     | 26 ± 2                   | 23 ± 2                   | 25 ± 1                   | 23 ± 2                   | 22 ± 1                   |
| Sıvı alımı<br>(mL/24s)   | 27 ± 1     | 33 ± 1       | 28 ± 1       | 29 ± 1           | 110 ± 8 <sup>a*</sup>    | 103 ± 3                  | 102 ± 5                  | 104 ± 4                  | 101 ± 3                  | 101 ± 5                  |
| Vücut<br>Ağırlığı<br>(g) | 351 ± 4    | 356 ± 8      | 352 ± 6      | 357 ± 8          | 305 ± 11 <sup>a*</sup>   | 310 ± 17                 | 320 ± 7                  | 321 ± 5                  | 324 ± 5                  | 325 ± 4                  |
| Glukoz<br>(mg/dL)        | 128 ± 6    | 121 ± 2      | 125 ± 3      | 121 ± 3          | 305 ± 11 <sup>a*</sup>   | 245 ± 7 <sup>b*</sup>    | 274 ± 16 <sup>b*</sup>   | 282 ± 9 <sup>b*</sup>    | 270 ± 11 <sup>b*</sup>   | 248 ± 8 <sup>b*</sup>    |
| İnsülin<br>(ng/mL)       | 2.09 ± 0.1 | 2.59 ± 0.5   | 1.8 ± 0.3    | 2.78 ± 0.4       | 0.63 ± 0.3 <sup>a*</sup> | 1.75 ± 0.2 <sup>b*</sup> | 1.88 ± 0.4 <sup>b*</sup> | 1.54 ± 0.2 <sup>b*</sup> | 1.89 ± 0.2 <sup>b*</sup> | 1.90 ± 0.1 <sup>b*</sup> |

<sup>a</sup> Kontrol grubu ile karşılaştırma. <sup>b</sup>: Diyabet grubu ile karşılaştırma. İstatistiksel anlamlılık düzeyi: \*p<0.05

**Çizelge 4. 2.** Kontrol (K), Kontrol + *Olea europaea* ekstraktı (K + OEE), Kontrol + *Silybum marianum* ekstraktı (K + SME), Kontrol + *Olea europaea* + *Silybum marianum* ekstraktı (K + OEE + SME), Diyabet (D), Diyabet + Saksagliptin (D + S), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı (D + OEE), Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı (D + SME), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + OEE + SME) ve Diyabet + Saksagliptin + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + S + OEE + SME) gruplarında total kolesterol, trigliserit ve HDL- kolesterol düzeyleri.

| Gruplar                  | K      | K+OEE  | K+SME  | K+OEE+SME | D                     | D+S                   | D+OEE                  | D+SME                  | D+OEE+SME              | D+S+OEE+SME           |
|--------------------------|--------|--------|--------|-----------|-----------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|
| Total Kolesterol (mg/dL) | 62 ± 1 | 55 ± 4 | 52 ± 5 | 43 ± 3    | 91 ± 7 <sup>a*</sup>  | 68 ± 6 <sup>b*</sup>  | 52 ± 4 <sup>b*</sup>   | 65 ± 7 <sup>b*</sup>   | 51 ± 3 <sup>b*</sup>   | 65 ± 2 <sup>b*</sup>  |
| Trigliserit (mg/dL)      | 67 ± 4 | 52 ± 6 | 71 ± 2 | 71 ± 3    | 173 ± 7 <sup>a*</sup> | 134 ± 4 <sup>b*</sup> | 124 ± 13 <sup>b*</sup> | 137 ± 12 <sup>b*</sup> | 123 ± 10 <sup>b*</sup> | 128 ± 8 <sup>b*</sup> |
| HDL- Kolesterol (mg/dL)  | 61 ± 1 | 64 ± 1 | 62 ± 1 | 65 ± 1    | 38 ± 1 <sup>a*</sup>  | 39 ± 1 <sup>b*</sup>  | 47 ± 1 <sup>b*</sup>   | 46 ± 1 <sup>b*</sup>   | 48 ± 1 <sup>b*</sup>   | 48 ± 1 <sup>b*</sup>  |

<sup>a</sup> : Kontrol grubu ile karşılaştırma. <sup>b</sup> : Diyabet grubu ile karşılaştırma. İstatistiksel anlamlılık düzeyi: \* p< 0.05.

Kontrol + *Olea europaea* ekstraktı grubunda, kontrol grubuna göre, aril esteraz ( sırasıyla 184 ± 4 Ü/L ve 143 ± 4 Ü/L), glutatyon peroksidaz (sırasıyla 18 ± 1 Ü/ mL ve 12 ± 2Ü/mL ) ve eritrosit süperoksit dismutaz (sırasıyla 74 ± 8 Ü/mL ve 66 ± 6 Ü/mL) enzim aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı artış saptanırken (p< 0.05), paraoksonaz (sırasıyla 131 ± 7 Ü/L ve 120 ± 1 Ü/L) aktivitesinde gözlenen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. GIP (sırasıyla 174 ± 7 pg/mL ve 175 ± 8 pg/mL) ve GLP-1 (sırasıyla 83 ± 3 pmol/L ve 75 ± 4 pmol/L) düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmedi.

Kontrol + *Silybum marianum* ekstraktı grubunda kontrol grubuna göre, aril esteraz enzim aktivitesinde (sırasıyla 184 ± 3 Ü/L ve 143 ± 4 Ü/L) ve glutatyon peroksidaz (sırasıyla 16 ± 2 Ü/mL ve 12 ± 2 Ü/mL) anlamlı artış bulundu (p< 0.05). Paraoksonaz (sırasıyla 128 ± 9 Ü/L ve 120 ± 1 Ü/L), eritrosit süperoksit dismutaz (sırasıyla 72 ± 5 Ü/mL ve 66 ± 6 Ü/mL) düzeylerindeki artış ve GIP (sırasıyla 167 ± 6 pg/mL ve 175 ± 8 pg/mL) ve GLP-1 (sırasıyla 75 ± 5 pmol/L ve 75 ± 4 pmol/L) düzeyindeki azalma istatistiksel olarak anlamdı değildi.

Kontrol + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı grubunda, kontrol grubuna göre, paraoksonaz (sırasıyla 145 ± 6 Ü/L ve 120 ± 1 Ü/L) ve aril esteraz enzim aktivitesinde (sırasıyla 192 ± 1 Ü/L ve 143 ± 4 Ü/L), glutatyon peroksidaz (sırasıyla 19 ± 1 Ü/mL ve 12 ± 2 Ü/mL), kan süperoksit dismutaz (sırasıyla 76 ± 4 Ü/mL ve 66 ± 6 mL) düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı (p< 0.05) . GIP (sırasıyla 178 ± 67 pg/mL ve 175 ± 8 pg/mL) ve GLP-1 (sırasıyla 72 ± 8 pmol/L ve 75 ± 4 pmol/L) düzeyindeki azalma istatistiksel olarak anlamdı değildi.

Diyabet grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, paraoksonaz (sırasıyla 55 ± 1 Ü/L ve 120 ± 1 Ü/L), aril esteraz (sırasıyla 77 ± 3 Ü/L ve 143 ± 4 Ü/L) enzim aktiviterinde, GIP (sırasıyla 62 ± 3 pg/mL ve 175 ± 8 pg/mL) ve GLP-1 (sırasıyla 24 ± 3 pmol/L ve 75 ± 4 pmol/L) düzeylerinde azalma istatistiksel olarak anlamlı olarak saptandı (p< 0.05) . Glutatyon peroksidaz (sırasıyla 22 ± 1 Ü/mL ve 12 ±2 Ü/mL), süperoksit dismutaz (sırasıyla 124 ± 6 Ü/mL ve 66 ± 6 Ü/mL) aktiviterinde anlamlı artış saptandı.

Diyabet + Saksagliptin grubunda diyabet grubuna göre, paraoksonaz (sırasıyla 86 ± 1 Ü/L ve 55 ± 1 Ü/L), aril esteraz (sırasıyla 119 ± 12 Ü/L ve 77 ± 3 Ü/L), glutatyon peroksidaz (sırasıyla 29 ± 1 Ü/mL ve 22 ± 1 Ü/mL), süperoksit dismutaz (sırasıyla 134 ± 5 Ü/mL ve 124

$\pm 6$  Ü/mL), GIP (sırasıyla  $120 \pm 5$  pg/mL ve  $62 \pm 3$  pg/mL) ve GLP-1 (sırasıyla  $42 \pm 3$  pmol/L ve  $24 \pm 3$  pmol/L) düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edildi ( $p < 0.05$ ).

Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı grubunda diyabet grubuna göre, paraoksonaz (sırasıyla  $116 \pm 3$  Ü/L ve  $55 \pm 1$  Ü/L), aril esteraz (sırasıyla  $120 \pm 3$  Ü/L ve  $77 \pm 3$  Ü/L), glutatyon peroksidaz (sırasıyla  $32 \pm 1$  Ü/mL ve  $22 \pm 1$  Ü/mL), süperoksit dismutaz (sırasıyla  $155 \pm 9$  Ü/mL ve  $124 \pm 6$  Ü/mL) düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış saptanırken ( $p < 0.05$ ), GIP (sırasıyla  $58 \pm 9$  pg/mL ve  $62 \pm 3$  pg/mL) ve GLP-1 (sırasıyla  $28 \pm 5$  pmol/L ve  $24 \pm 3$  pmol/L) düzeylerinde gözlenen azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı grubunda diyabet grubuna göre, paraoksonaz (sırasıyla  $102 \pm 6$  Ü/L ve  $55 \pm 1$  Ü/L), aril esteraz (sırasıyla  $128 \pm 6$  Ü/L ve  $77 \pm 3$  Ü/L), glutatyon peroksidaz (sırasıyla  $30 \pm 1$  Ü/mL ve  $22 \pm 1$  Ü/mL), süperoksit dismutaz (sırasıyla  $152 \pm 8$  Ü/mL ve  $124 \pm 6$  Ü/mL), düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış saptanırken ( $p < 0.05$ ), GIP (sırasıyla  $63 \pm 17$  pg/mL ve  $62 \pm 3$  pg/mL) ve GLP-1 (sırasıyla  $26 \pm 7$  pmol/L ve  $24 \pm 3$  pmol/L) düzeylerinde görülen azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı grubunda, diyabet grubuna göre, paraoksonaz (sırasıyla  $115 \pm 3$  Ü/L ve  $55 \pm 1$  Ü/L), aril esteraz (sırasıyla  $130 \pm 3$  Ü/L ve  $77 \pm 3$  Ü/L), glutatyon peroksidaz (sırasıyla  $34 \pm 1$  Ü/mL ve  $22 \pm 1$  Ü/mL), süperoksit dismutaz (sırasıyla  $158 \pm 9$  Ü/mL ve  $124 \pm 6$  Ü/mL), düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış saptanırken ( $p < 0.05$ ), GIP (sırasıyla  $59 \pm 7$  pg/mL ve  $62 \pm 3$  pg/mL) ve GLP-1 (sırasıyla  $29 \pm 8$  pmol/L ve  $24 \pm 3$  pmol/L) düzeylerinde görülen azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Diyabet + Saksagliptin + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı grubunda diyabet grubuna göre, paraoksonaz (sırasıyla  $115 \pm 4$  Ü/L ve  $55 \pm 1$  Ü/L), aril esteraz (sırasıyla  $127 \pm 3$  Ü/L ve  $77 \pm 3$  Ü/L), glutatyon peroksidaz (sırasıyla  $35 \pm 1$  Ü/mL ve  $22 \pm 1$  Ü/mL), süperoksit dismutaz (sırasıyla  $161 \pm 8$  Ü/mL ve  $124 \pm 6$  Ü/mL), GIP (sırasıyla  $112 \pm 7$  pg/mL ve  $62 \pm 3$  pg/mL) ve GLP-1 (sırasıyla  $40 \pm 3$  pmol/L ve  $24 \pm 3$  pmol/L) düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı ( $p < 0.05$ ) (Çizelge 4. 3).

**Çizelge 4. 3.** Kontrol (K), Kontrol + *Olea europaea* ekstraktı (K + OEE), Kontrol + *Silybum marianum* ekstraktı (K + SME), Kontrol + *Olea europaea* + *Silybum marianum* ekstraktı (K + OEE + SME), Diyabet (D), Diyabet + Saksagliptin (D + S), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı (D + OEE), Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı (D + SME), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + OEE + SME) ve Diyabet + Saksagliptin + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + S + OEE + SME) gruplarında serum paraoksonaz ve aril esteraz, kan glutatyon peroksidaz (GSH-Px), eritrosit süperoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri, glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) ve glukoza bağlı insülinotropik peptid (GIP) seviyeleri.

| <b>Gruplar</b>        | <b>K</b> | <b>K+OEE</b>          | <b>K+SME</b>          | <b>K+OEE+SME</b>      | <b>D</b>              | <b>D+S</b>             | <b>D+OEE</b>          | <b>D+SME</b>          | <b>D+OEE+SME</b>      | <b>D+S+OEE+SME</b>    |
|-----------------------|----------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Paraoksonaz<br>(Ü/L)  | 120 ± 1  | 131 ± 7               | 128 ± 9               | 145 ± 6 <sup>a*</sup> | 55 ± 1 <sup>a*</sup>  | 86 ± 1 <sup>b*</sup>   | 116 ± 3 <sup>b*</sup> | 102 ± 6 <sup>b*</sup> | 115 ± 3 <sup>b*</sup> | 115 ± 4 <sup>b*</sup> |
| Aril esteraz<br>(Ü/L) | 143 ± 4  | 184 ± 4 <sup>a*</sup> | 184 ± 3 <sup>a*</sup> | 192 ± 1 <sup>a*</sup> | 77 ± 3 <sup>a*</sup>  | 119 ± 12 <sup>b*</sup> | 120 ± 3 <sup>b*</sup> | 128 ± 6 <sup>b*</sup> | 130 ± 3 <sup>b*</sup> | 127 ± 3 <sup>b*</sup> |
| GSH-Px<br>(Ü/mL)      | 12 ± 2   | 18 ± 1 <sup>a*</sup>  | 16 ± 2 <sup>a*</sup>  | 19 ± 1 <sup>a*</sup>  | 22 ± 1 <sup>a*</sup>  | 29 ± 1 <sup>b*</sup>   | 32 ± 1 <sup>b*</sup>  | 30 ± 1 <sup>b*</sup>  | 34 ± 1 <sup>b*</sup>  | 35 ± 1 <sup>b*</sup>  |
| SOD<br>(Ü/mL)         | 66 ± 6   | 74 ± 8 <sup>a*</sup>  | 72 ± 5                | 76 ± 4 <sup>a*</sup>  | 124 ± 6 <sup>a*</sup> | 134 ± 5 <sup>b*</sup>  | 155 ± 9 <sup>b*</sup> | 152 ± 8 <sup>b*</sup> | 158 ± 9 <sup>b*</sup> | 161 ± 8 <sup>b*</sup> |
| GIP<br>(pg/mL)        | 175 ± 8  | 174 ± 7               | 167 ± 6               | 178 ± 7               | 62 ± 3 <sup>a*</sup>  | 120 ± 5 <sup>b*</sup>  | 58 ± 9                | 63 ± 17               | 59 ± 7                | 112 ± 7 <sup>b*</sup> |
| GLP-1<br>(pmol/L)     | 75 ± 4   | 83 ± 3                | 75 ± 5                | 72 ± 8                | 24 ± 3 <sup>a*</sup>  | 42 ± 3 <sup>b*</sup>   | 28 ± 5                | 26 ± 7                | 29 ± 8                | 40 ± 3 <sup>b*</sup>  |

<sup>a</sup> : Kontrol grubu ile karşılaştırma. <sup>b</sup> : Diyabet grubu ile karşılaştırma. İstatistiksel anlamlılık düzeyi: \* p< 0.05, \*\*p< 0.01

Kontrol + *Olea europaea* ekstraktı grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, kalp ( sırasıyla 83.4± 6 nmol/mg doku ve 111.9 ± 18 nmol/mg doku), kas (sırasıyla 77.7 ± 9 nmol/mg doku ve 78.4 ± 7 nmol/mg doku), karaciğer (sırasıyla 101.7 ± 16 nmol/mg doku ve 129.5 ± 24 nmol/mg doku), böbrek (sırasıyla 167.2 ± 49 nmol/mg doku ve 193.5 ± 14 nmol/mg doku) doku ve plazma (sırasıyla 8.05 ± 0.02 nmol/mL ve 8.25 ± 0.04 nmol /mL) MDA düzeylerindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Kontrol + *Silybum marianum* ekstraktı grubunda kontrol grubuna göre, kalp (sırasıyla 90.4 ± 1 nmol/mg doku ve 111.9 ± 18 nmol/mg doku), kas (sırasıyla 72.6 ± 1 nmol/mg doku ve 78.4 ± 7 nmol/mg doku), karaciğer (sırasıyla 119.0 ± 6 nmol/mg doku ve 129.5 ± 24 nmol/mg doku), böbrek (sırasıyla 182.4 ± 10 nmol/mg doku ve 193.5 ± 14 nmol/mg doku) doku ve plazma (sırasıyla 8.12 ± 0.01 nmol/mL ve 8.25 ± 0.04 nmol /mL) MDA düzeylerindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Kontrol + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı grubunda kontrol grubuna göre, kalp ( sırasıyla 87.3± 3 nmol/mg doku ve 111.9 ± 18 nmol/mg doku), kas (sırasıyla 71.2 ± 2 nmol/mg doku ve 78.4 ± 7 nmol/mg doku), karaciğer (sırasıyla 115.5 ± 9 nmol/mg doku ve 129.5 ± 24 nmol/mg doku), böbrek (sırasıyla 168.4 ± 43 nmol/mg doku ve 193.5 ± 14 nmol/mg doku) doku ve plazma (sırasıyla 8.03 ± 0.05 nmol/mL ve 8.25 ± 0.04 nmol /mL) MDA düzeylerindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Diyabet grubunda kontrol grubuna göre, kalp (sırasıyla 226.9 ± 29 nmol/mg doku ve 119.9 ± 18 nmol/mg doku), kas (sırasıyla 100.4 ± 14 nmol/mg doku ve 78.4 ± 7nmol/mg doku), karaciğer 219.1 ± 27 nmol/mg doku ve 129.5 ± 24 nmol/mg doku), böbrek (sırasıyla 288.3 ± 26 nmol/mg doku ve 193.5 ± 14 nmol/mg doku) doku ve plazma (sırasıyla 11.4 ± 00.4 nmol /mL ve 8.25 ± 00.4 nmol /mL) MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış bulundu (p< 0.05).

Diyabet + Saksagliptin grubunda diyabet grubuna göre, kalp (sırasıyla 190.0 ± 44 nmol/ mg doku ve 226.9 ± 29 nmol/mg doku ) ve karaciğer (sırasıyla 152.7 ± 22 nmol/mg doku ve 219.1 ± 27 nmol/mg doku) doku MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanırken (p< 0.05), kas (sırasıyla 105.4 ± 20 nmol/mg doku ve 100.4 ± 14 nmol/mg doku), böbrek (sırasıyla 262.1 ± 22 nmol/mg doku ve 288.3 ± 26 nmol/mg doku) doku ve plazma

(sırasıyla  $11.0 \pm 0.03$  nmol/mL ve  $11.4 \pm 0.4$  nmol/mL) MDA düzeylerinde görülen azalmalarda istatistiksel olarak anlam saptanmadı.

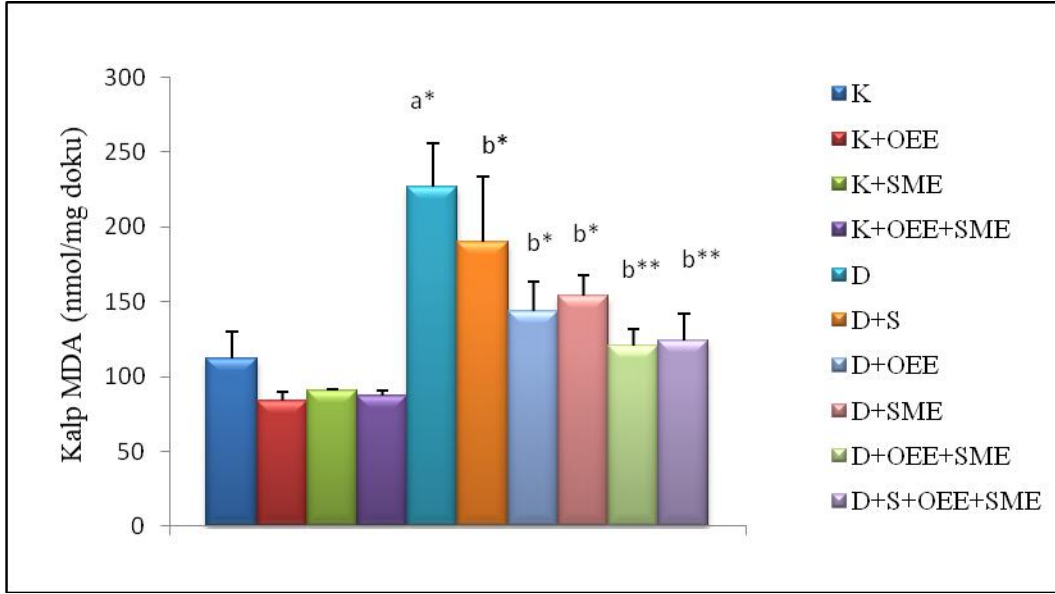
Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı grubunda diyabet grubuna göre, kalp (sırasıyla  $143.3 \pm 20$  nmol/mg doku ve  $226.9 \pm 29$  nmol/mg doku), karaciğer doku (sırasıyla  $124.5 \pm 18$  nmol/mg doku ve  $219.1 \pm 27$  nmol/mg doku) ve plazma (sırasıyla  $9.2 \pm 0.02$  nmol/mL ve  $11.4 \pm 0.4$  nmol/mL) MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanırken ( $p < 0.05$ ), kas (sırasıyla  $84.6 \pm 9$  nmol/mg doku ve  $100.4 \pm 14$  nmol/mg doku) ve böbrek (sırasıyla  $223.8 \pm 22$  nmol/mg doku ve  $288.3 \pm 26$  nmol/mg doku) doku MDA düzeylerinde görülen azalmada istatistiksel olarak anlam saptanmadı.

Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı grubunda diyabet grubuna göre, kalp (sırasıyla  $154.4 \pm 13$  nmol/mg doku ve  $226.9 \pm 29$  nmol/mg doku), karaciğer doku (sırasıyla  $139.2 \pm 13$  nmol/mg doku ve  $219.1 \pm 27$  nmol/mg doku) ve plazma (sırasıyla  $9.4 \pm 0.03$  nmol/mL ve  $11.4 \pm 0.4$  nmol/mL) MDA seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanırken ( $p < 0.05$ ), kas (sırasıyla  $103.6 \pm 25$  nmol/mg doku ve  $100.4 \pm 14$  nmol/mg doku), böbrek (sırasıyla  $237.6 \pm 25$  nmol/mg doku ve  $288.3 \pm 26$  nmol/mg doku) doku MDA düzeylerinde görülen azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı grubunda diyabet grubuna göre, kalp (sırasıyla  $120.3 \pm 11$  nmol/mg doku ve  $226.9 \pm 29$  nmol/mg doku,  $p < 0.01$ ), karaciğer doku (sırasıyla  $126.7 \pm 24$  nmol/mg doku ve  $219.1 \pm 27$  nmol/mg doku) ve plazma (sırasıyla  $9.12 \pm 0.04$  nmol/mL ve  $11.4 \pm 0.4$  nmol/mL) MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanırken ( $p < 0.05$ ), kas (sırasıyla  $87.9 \pm 5$  nmol/mg doku ve  $100.4 \pm 14$  nmol/mg doku) ve böbrek (sırasıyla  $255.3 \pm 27$  nmol/mg doku ve  $288.3 \pm 26$  nmol/mg doku) doku MDA düzeylerinde görülen azalma istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı.

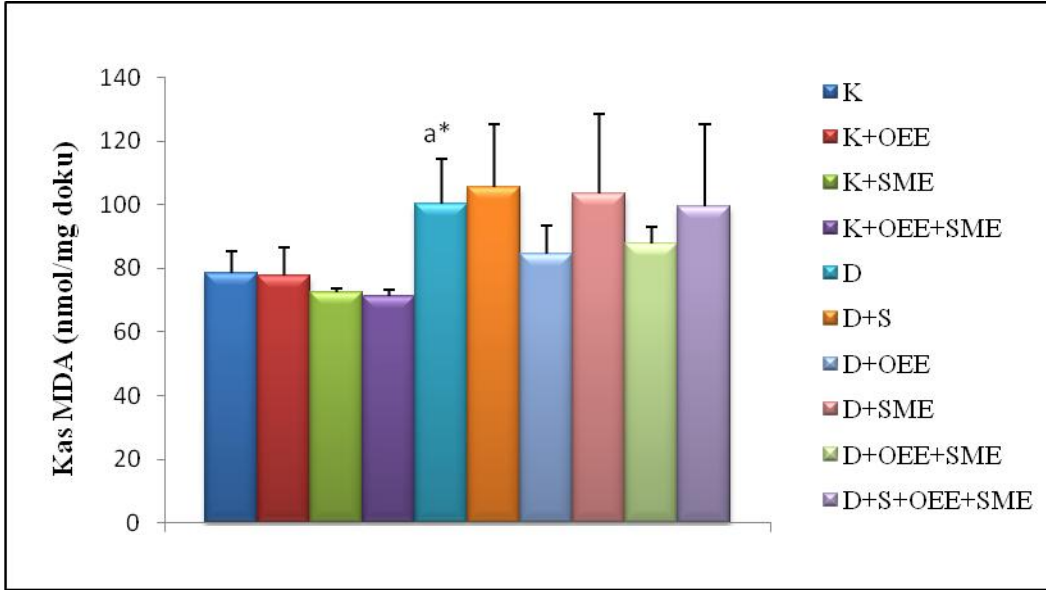
Diyabet + Saksagliptin + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı grubunda diyabet grubuna göre, kalp (sırasıyla  $124.3 \pm 18$  nmol/mg doku ve  $226.9 \pm 29$  nmol/mg doku,  $p < 0.01$ ), karaciğer doku (sırasıyla  $130.1 \pm 2$  nmol/mg doku ve  $219.1 \pm 27$  nmol/mg doku) ve plazma (sırasıyla  $9.1 \pm 0.02$  nmol/mL ve  $11.4 \pm 0.4$  nmol/mL) MDA seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanırken ( $p < 0.05$ ), kas (sırasıyla  $99.3 \pm 26$  nmol/mg doku ve  $100.4 \pm 14$  nmol/mg doku) ve böbrek (sırasıyla  $235.4 \pm 43$  nmol/mg doku ve  $288.3 \pm 26$  nmol/mg doku) doku MDA düzeylerinde görülen azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi (Şekil 4. 4, Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8, Çizelge 4.3).





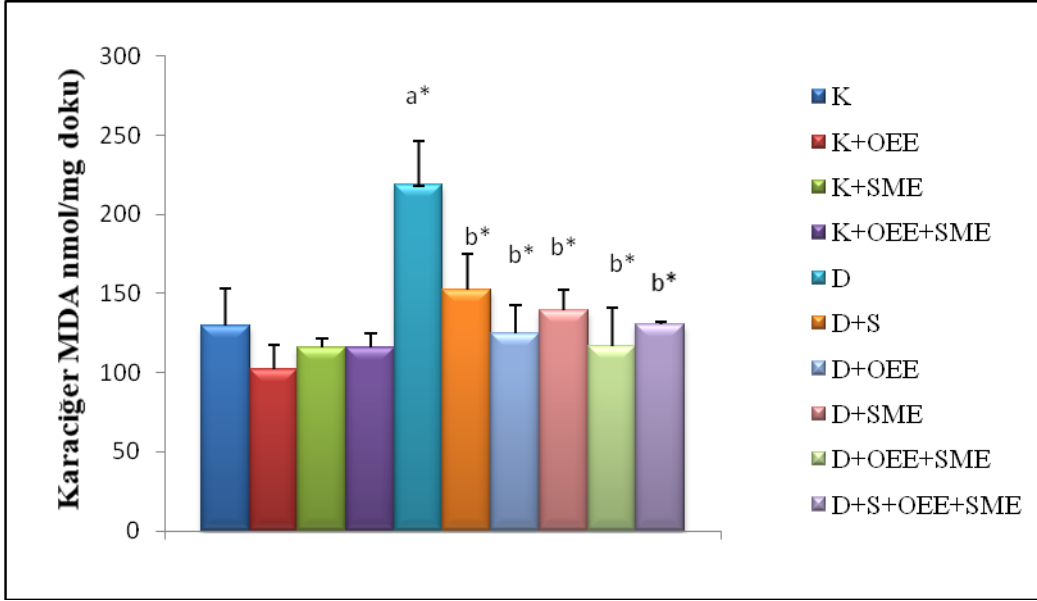
**Şekil 4. 4.** Kontrol (K), Kontrol + *Olea europaea* ekstraktı (K + OEE), Kontrol + *Silybum marianum* ekstraktı (K + SME), Kontrol + *Olea europaea* + *Silybum marianum* ekstraktı (K + OEE + SME), Diyabet (D), Diyabet + Saksagliptin (D + S), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı (D + OEE), Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı (D + SME), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + OEE + SME) ve Diyabet + Saksagliptin + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + S + OEE + SME) gruplarında kalp MDA düzeyleri

<sup>a</sup> : Kontrol grubu ile karşılaştırma. <sup>b</sup> : Diyabet grubu ile karşılaştırma. İstatistiksel anlamlılık düzeyi: \*  $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$



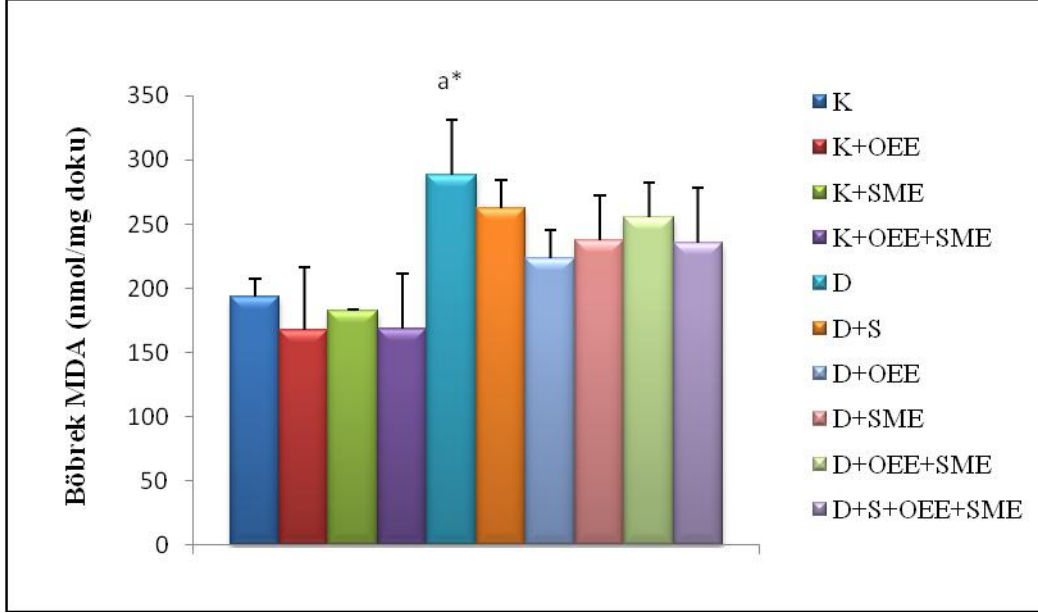
**Şekil 4. 5.** Kontrol (K), Kontrol + *Olea europaea* ekstraktı (K + OEE), Kontrol + *Silybum marianum* ekstraktı (K + SME), Kontrol + *Olea europaea* + *Silybum marianum* ekstraktı (K + OEE + SME), Diyabet (D), Diyabet + Saksagliptin (D + S), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı (D + OEE), Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı (D + SME), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + OEE + SME) ve Diyabet + Saksagliptin + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + S + OEE + SME) gruplarında kas MDA düzeyleri

<sup>a</sup> : Kontrol grubu ile karşılaştırma. <sup>b</sup> : Diyabet grubu ile karşılaştırma. İstatistiksel anlamlılık düzeyi: \* p< 0.05, \*\*p< 0.01



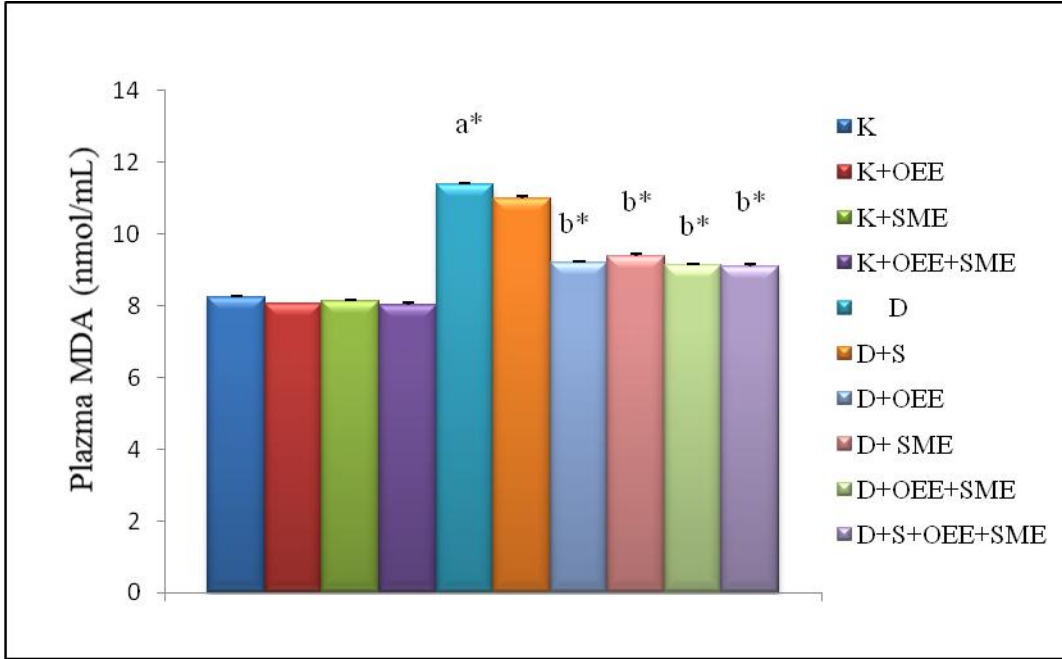
**Şekil 4. 6.** Kontrol (K), Kontrol + *Olea europaea* ekstraktı (K + OEE), Kontrol + *Silybum marianum* ekstraktı (K + SME), Kontrol + *Olea europaea* + *Silybum marianum* ekstraktı (K + OEE + SME), Diyabet (D), Diyabet + Saksagliptin (D + S), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı (D + OEE), Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı (D + SME), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + OEE + SME) ve Diyabet + Saksagliptin + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + S + OEE + SME) gruplarında karaciğer MDA düzeyleri

<sup>a</sup> : Kontrol grubu ile karşılaştırma. <sup>b</sup> : Diyabet grubu ile karşılaştırma. İstatistiksel anlamlılık düzeyi: \* p< 0.05, \*\*p< 0.01



**Şekil 4. 7.** Kontrol (K), Kontrol + *Olea europaea* ekstraktı (K + OEE), Kontrol + *Silybum marianum* ekstraktı (K + SME), Kontrol + *Olea europaea* + *Silybum marianum* ekstraktı (K + OEE + SME), Diyabet (D), Diyabet + Saksagliptin (D + S), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı (D + OEE), Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı (D + SME), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + OEE + SME) ve Diyabet + Saksagliptin + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + S + OEE + SME) gruplarında böbrek MDA düzeyleri

<sup>a</sup> : Kontrol grubu ile karşılaştırma. <sup>b</sup> : Diyabet grubu ile karşılaştırma. İstatistiksel anlamlılık düzeyi: \* p< 0.05, \*\*p< 0.01



**Şekil 4. 8.** Kontrol (K), Kontrol + *Olea europaea* ekstraktı (K + OEE), Kontrol + *Silybum marianum* ekstraktı (K + SME), Kontrol + *Olea europaea* + *Silybum marianum* ekstraktı (K + OEE + SME), Diyabet (D), Diyabet + Saksagliptin (D + S), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı (D + OEE), Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı (D + SME), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + OEE + SME) ve Diyabet + Saksagliptin + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + S + OEE + SME) gruplarında plazma MDA düzeyleri

<sup>a</sup> : Kontrol grubu ile karşılaştırma. <sup>b</sup> : Diyabet grubu ile karşılaştırma. İstatistiksel anlamlılık düzeyi: \* p< 0.05, \*\*p< 0.01

**Çizelge 4. 4.** Kontrol (K), Kontrol + *Olea europaea* ekstraktı (K + OEE), Kontrol + *Silybum marianum* ekstraktı (K + SME), Kontrol + *Olea europaea* + *Silybum marianum* ekstraktı (K + OEE + SME), Diyabet (D), Diyabet + Saksagliptin (D + S), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı (D + OEE), Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı (D + SME), Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + OEE + SME) ve Diyabet + Saksagliptin + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı (D + S + OEE + SME) gruplarında kalp, kas, karaciğer, böbrek ve plazma MDA düzeyleri.

| Gruplar                               | K           | K+OEE      | K+SME     | K+OEE+SME  | D                        | D+S        | D+OEE                    | D+SME                    | D+OEE+SME                 | D+S+OEE+SME               |
|---------------------------------------|-------------|------------|-----------|------------|--------------------------|------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Kalp MDA<br>(nmol/mg doku)            | 111.9 ± 18  | 83.4 ± 6   | 90.4 ± 1  | 87.3 ± 3   | 226.9 ± 29 <sup>a*</sup> | 190.0 ± 44 | 143.3 ± 20 <sup>b*</sup> | 154.4 ± 13 <sup>b*</sup> | 120.3 ± 11 <sup>b**</sup> | 124.3 ± 18 <sup>b**</sup> |
| İskelet kası<br>MDA<br>(nmol/mg doku) | 78.4 ± 7    | 77.7 ± 9   | 72.6 ± 1  | 71.2 ± 2   | 100.4 ± 14 <sup>a*</sup> | 105.4 ± 20 | 84.6 ± 9                 | 103.6 ± 25               | 87.9 ± 5                  | 99.3 ± 26                 |
| Karaciğer MDA<br>(nmol/mg doku)       | 129.5 ± 24  | 101.7 ± 16 | 119.0 ± 6 | 115.5 ± 9  | 219.1 ± 27 <sup>a*</sup> | 152.7 ± 22 | 124.5 ± 18 <sup>b*</sup> | 139.2 ± 13 <sup>b*</sup> | 126.7 ± 24 <sup>b*</sup>  | 130.1 ± 2 <sup>b*</sup>   |
| Böbrek MDA<br>(nmol/mg doku)          | 193.5 ± 14  | 167.2 ± 49 | 182.4 ± 1 | 168.4 ± 43 | 288.3 ± 26 <sup>a*</sup> | 262.1 ± 22 | 223.8 ± 22               | 237.6 ± 25               | 255.3 ± 27                | 235.4 ± 43                |
| Plazma MDA<br>(nmol/mL)               | 8.25 ± 0.04 | 8.05±0.02  | 8.12±0.01 | 8.03±0.05  | 11.4±0.04 <sup>a*</sup>  | 11.0±0.03  | 9.2±0.02 <sup>b*</sup>   | 9.4±0.03 <sup>b*</sup>   | 9.12±0.04 <sup>b*</sup>   | 9.1 ±0.02 <sup>b*</sup>   |

<sup>a</sup> : Kontrol grubu ile karşılaştırma. <sup>b</sup> : Diyabet grubu ile karşılaştırma. İstatistiksel anlamlılık düzeyi: \* p< 0.05, \*\*p< 0.01

#### 4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada STZ-nikotinamit ile tip 2 diyabet oluşturulmuş sıçanlarda yem, sıvı alımında, kan glukoz ve serum TG, TK düzeylerindeki artış, vücut ağırlığı ve insülin düzeylerinde görülen azalma diyabet tablosunun oluştuğunu yansıtan bulgular olarak yorumlandı.

Son dönemlerde diyabet gibi oksidatif strese neden olan çeşitli hastalıkları önlemede antioksidan özelliği olan bileşiklerin tedavi/destekleyici olarak kullanıldığı görülmektedir. Bu bileşiklerin tercih edilmesinin nedeni; güçlü antioksidan bileşikler içermeleri, yapılarında katkı maddesi bulunmaması ve daha az toksik özelliklere sahip olmalarındandır. Bu amaçla diyabet tedavisinde bitki ekstraktları ya da bu bitki ekstraktlarından elde edilen tabletler halk arasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Tas ve ark. 2005). Yapılan literatür taramalarında bu bitki ekstraktlarından *O. europaea* ve *S. marianum*'un kan glukozunu düşürücü ve insülin düzeylerini arttırıcı özelliklere sahip olduğu ve halk arasında yaygın olarak kullanıldığı tespit edilmiştir (Al-Azzawie ve ark.2006, Sheela ve ark. 2013).

Yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda, *O. europaea* (zeytin) yaprağında bulunan oleuropein (Pereira ve ark.2007) ve hidroksitirozolün (Jemai ve ark. 2009) , *S. marianum* (deve dikenini) da ise; silimarin ve silibinin (Sheela ve ark., 2013) kan glukozunu düşüren etken maddeler olduğu belirtilmiştir. Yapılan bir çalışmada silimarinin, kan glukozunu düşürmede ve insülin düzeylerini arttırmada birinci derecede sorumlu olduğu ortaya konmuştur (Matsuda ve ark.2005). Fallah Huseini ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada silimarinin diyabetik farelerde kan glukozundaki artışı azalttığını belirtmişlerdir. Yine Al-Azzawie ve ark. (2006), diyabetik tavşanlarda yaptıkları çalışmada oleuropeinin, kan glukozu üzerine düşürücü etkisini saptamışlardır. Gonzalez ve ark. (1992), insanlarda glisemik yanıtın araştırıldığı bir çalışmada, zeytin yaprağı ekstresinin, kan glukoz düzeyini önemli ölçüde azalttığını ve oleuropeinin, hücrelere glukoz alımını hızlandırdığını belirtmişlerdir. Yapılan farklı çalışmalarda, diyabette *O. europaea* ve *S. marianum* ekstraktlarının verildikten sonra, kan glukoz düzeylerinde gözlenen azalmanın nedeninin; bu bitki ekstraktlarının ya pankreası rejenere etmelerine bağlı olarak ya da karaciğeri metabolik yoldan etkilemeleri yoluyla olabileceği bildirilmiştir (Matsuda ve ark. 2005, Cumaoglu ve ark. 2011, Bock ve ark. 2013).

Bu çalışmada Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı ve Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı gruplarında diyabet grubu ile karşılaştırıldığında serum insülin düzeylerinde artış ve buna bağlı olarak kan glukoz düzeylerinde anlamlı azalma, her iki bitkinin de antihiperglisemik özelliğe sahip olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda kan glukoz düzeyindeki azalma ve insülin düzeyinde gözlenen artış bu bitki ekstrelerinin pankreas dokusu üzerine koruyucu etkilerinden dolayı olabileceğini düşündürmektedir ve bu konuda yapılan çalışmalar ile uyum göstermektedir (Gonzalez ve ark. 1992, Matsuda ve ark. 2005, Al-Azzawie ve ark. 2006, Sheela ve ark. 2013). Ayrıca bu bitki ekstrelerinin her ikisini birden alan Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı grubunda glukoz düzeyinde daha fazla azalma ve insülin düzeyinde ise daha fazla artış gözlenmiştir. Bu sonuçlarda bize bu bitki ekstrelerinin birlikte verildiğinde daha güçlü etki gösterdiklerini düşündürmüştür.

Bu çalışmada, Diyabet + Saksagliptin grubunda diyabet grubuna göre, insülin seviyesinde anlamlı artış ve bu artışa bağlı olarak kan glukozunda anlamlı azalma sapanmıştır. Bu parametrelerde görülen değişikliğin nedeni nedeni, saksagliptinin güçlü bir dipeptidil peptidaz inhibitörü olup insülin sekresyonunu uyaran gastrik inhibitör peptit ve glukagon benzeri peptit-1' in yıkımını engellemesi ve buna bağlı olarak hiperglisemiye karşı etkili olmasından kaynaklanabilir. Bunun yanı sıra saksagliptinin pankreatik beta hücrelerinde apoptozisi önleyerek insülin salınımını olumlu yönde etkilediği de düşünülmektedir (Chacra 2010, Duez ve ark. 2012, Scheen 2012, Anz 2013). Ayrıca çalışmamızda, Diyabet + Saksagliptin + *Olea europea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı grubunda; bitki ekstrelerine ilave olarak saksagliptinin verilmesi, glukoz ve insülinde meydana gelen değişimleri daha da arttırmış olup, bu sonuç ilaç ve bitki ekstrelerinin birlikte verilmesinin tedaviyi daha olumlu yolda etkileyebileceği fikrini oluşturmuştur.

Sağlıklı bireylerde GIP ve GLP-1 in inkretin etkilerinin ortaya çıkması ise tip 2 diyabette inkretin defektleri olasılığını analiz etmeyi gündeme getirmiştir. Teorik olarak bu defekt inkretin hormonlarının bozulmuş sekresyonu ve/veya hızlanmış metabolizmalarından olabilir.

Tip 2 diyabette GLP-1 sekresyonunun belirgin olarak azaldığını, Tip 2 diyabette GIP sekresyonununun arttığını, normal kaldığını veya azaldığını gösteren çalışmalar vardır (Kraup 1988). Bu çalışmada diyabetiklerde kontrol grubu sıçanlara göre, GLP-1 ve GIP hormon



seviyelerinin azalması bu konuyla ilgili yapılan çalışmalara paralellik göstermektedir. DPP-IV inhibitörlerinin mekanizması tam olarak açık olmamakla birlikte, T lenfositlerini arttırdığı ve pankreatik  $\beta$  hücrelerine karşı otoimmün atakları iyileştirdiği düşünülmektedir (Avila ve ark. 2013). Bu çalışmada Diyabet + Saksagliptin alan grupta GLP-1 ve GIP düzeylerinde meydana gelen artış, saksagliptinin, bu enzimlerin yıkımından sorumlu enzimin aktivasyonunu inhibe etmesinden kaynaklanabilir.

Diyabette saptanan lipit ve lipoprotein düzeyinde gözlenen artışlar ateroskleroz oluşma riskini arttıracı faktörlerden biri olarak düşünülmektedir. Yapılan pek çok çalışmada diyabette lipit düzeylerinin arttığı belirtilmiştir (Steiner 1999, Hansen 2001, Sözman ve ark. 2001, Michael ve ark. 2002, Tas ve ark. 2006). Bu çalışmada da diyabet grubunda kontrol grubuna göre serum TK ve TG düzeylerinde gözlenen artış bu konuda yapılan çalışmalar ile uyum göstermektedir (Steiner 1999, Sözman ve ark. 2001). Diyabette gözlenen serum TG ve TK düzeylerindeki artışın nedeni insülinin, hormona duyarlı lipaz enzimini inhibe etmesinden kaynaklanabileceği gibi periferel depolardan serbestlenen yağ asitlerinin mobilizasyonunda görülen artıştan da kaynaklanabilir.

Saksagliptin tedavisi verilen diyabetik grupta diyabet grubuna göre lipit profilinde gözlenen iyileşmenin (total kolesterol, trigliserit seviyesinde azalma ve HDL- kolesterol seviyesinde artış) nedeni; saksagliptinin DPP-IV enziminin inaktive etmesinden olabilir. Bu inaktivasyon sonucunda, diyabette bozulmuş olan insülin salgısında artış gözlenebilir ve bu artışta metabolik süreç üzerine iyileştirici bir etkiye sahip olabileceği düşünülebilir.

Diyabet + *Olea europea* ekstraktı, Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı gruplarında HDL- kolesterol düzeyinde artış, total kolesterol ve trigliserit düzeylerinde azalma; insülin varlığında glukoz kullanımının artması sonucu olarak yağ mobilizasyonunun baskılanmasından ve söz konusu bitki ekstraktlarının antihiperlipidemik özelliğinden kaynaklanabilir (Visioli ve ark. 1995, Önderoğlu ve ark. 1999, Benkhalti ve ark. 2002, Tripoli ve ark. 2005, Bock ve ark. 2013). Diyabet + *Olea europea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı gruplarında total kolesterol ve trigliserit düzeylerinde meydana gelen azalma ve HDL-kolesterol düzeyindeki artış, bu bitki ekstraktlarının ayrı ayrı verilmesi sonucu oluşan değişimden daha fazladır ki bu bize bu bitki ekstraktlarının her birinin sahip olduğu

antihiperlipidemik özelliklerinin birlikte verildiğinde daha güçlü bir etki yarattığını göstermiştir. Doğal fenolik bileşiklerin ve flavonoidlerin plazma lipit profili üzerinde iyileştirici etkiye sahip olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır. Bu bileşiklerin lipit profili üzerinde iyileştirici etkilerinin; bağırsaklardan kolesterol absorpsiyonunu engellemeleri, bir transmembran enzim olan; 3-hidroksi-3 metil glutaril KoA redüktaz aktivitesini inhibe etmeleri veya lipoproteinlerde kolesterol esterlerinin oluşumunu katalizleyen; lesitin kolesterol açıl transferaz aktivitesini arttırmaları sonucunda olabileceği belirtilmiştir (Usharani ve ark. 2013).

Lipit peroksidasyonunun en önemli göstergelerinden biri MDA düzeylerinde gözlenen değişikliklerdir (Janero 1990, Sabari ve ark. 2002). Plazma ve doku MDA düzeyleri ölçümü bu amaçla kullanılan parametrelerden biridir. Bu çalışmada diyabet grubunda doku ve plazma MDA düzeylerinde saptanan artışlar bu konuda yapılan çalışmalarla uyumludur (Martin-Gallan ve ark. 2005, Tas ve ark. 2006). Diyabette MDA düzeylerinde bulunan artış bu çalışmada gösterildiği gibi serum lipit düzeyleri ve/veya yetersiz antioksidan savunma sonucu gelişebilir. Diyabet grubunda saptanan hiperlipidemi, lipit peroksidasyonu için lipitlerin substrat olarak kullanılmasına neden olabilir ki bu da MDA düzeylerinde gördüğümüz artışı desteklemektedir (Tas ve ark. 2007).

Bu çalışmada Diyabet + Saksagliptin grubunda, sadece karaciğer ve kalp doku MDA düzeylerinde görülen anlamlı azalma, saksagliptinin insülin düzeyini arttırarak kan glukoz düzeyini azaltıp lipit peroksidasyonunu engellemesinden kaynaklanabilir. Ayrıca bu sonuçlar bize saksagliptinin sadece karaciğer ve kalp dokusu üzerinde koruyucu etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Diğer dokularda etki göstermemesi ise ilacın veriliş dozu ve süresine bağlı olarak gelişebilir ki, bu da bize bu konuda daha ileri çalışmaların yapılması gerektiğini düşündürmüştür.

Diyabet + *Olea europea* ekstraktı ve Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı gruplarında doku (kalp ve karaciğer) ve plazma MDA seviyelerinde gözlenen azalma, *Olea europea* ve *Silybum marianum*'un antihiperglisemik, antihiperlipidemik etkisinden kaynaklanabileceği gibi antioksidan özelliğinden de kaynaklanabilir. Bu sonuçlar *Olea europea* ve *Silybum marianum*'un bir antioksidan olarak dokuları toksik ajanlara karşı koruduğunu ve MDA

düzeylerinde azalmaya neden olduğunu bildiren çalışmalarla uyumludur (Manna ve ark.,1999, Chtourou ve ark. 2010, Zhang ve ark. 2013). Diyabet + *Olea europea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı grubunda ise MDA düzeyinde meydana gelen azalmanın daha fazla olması kullandığımız bitki ekstraktlarının bu dokuları oksidatif strese karşı daha güçlü koruduğunu düşündürmüştür. Çalışmamızda, saksagliptinin doku ve plazma MDA üzerindeki etkisinin *O.europea* ve *S. marianum* ekstraktlarına göre daha az olduğu gözlenmiştir.

Oksidatif stres prooksidan ve antioksidanlar arasındaki dengenin prooksidanların lehine bozulması sonucu oluşan bir tablodur. Oksidatif stresten korunmak için vücutta antioksidan enzim sistemleri ve vitaminler önemli role sahiptir. Bu enzimler PON ve ARE'dir. Antioksidan enzimlerden biri olan PON, HDL-K'ün bir bileşeni olup, gerek HDL'nin aterosklerozdan koruyucu etkisine katkıda bulunarak, gerekse lipoprotein peroksidasyonunu önleyerek aterosklerotik süreçte koruyucu rol oynamaktadır. PON'un ateroskleroz gelişiminde ilk basamak olan LDL oksidasyonunu önlediği veya azalttığı düşünülmektedir (Mackness ve ark. 1998, Kar ve ark. 2013). PON ayrıca HDL'yi de oksidasyondan da korur (Watson ve ark. 1995, Navab ve ark. 1997). Deneysel ve klinik olarak yapılan çalışmalarda serum PON ve ARE aktivitesinin diyabette azaldığı belirtilmiştir (Patel ve ark. 1990, Tas ve ark. 2007). Mackness ve ark. (1998), diyabette azalan PON aktivitesinin HDL' nin glikasyonu nedeniyle olabileceğini belirtmişlerdir. Abbott ve ark. (1995) diyabetik HDL' nin kompozisyonel olarak anormal olduğunu ve bu anormalliğin PON'un HDL' ye bağlanmasını etkileyebileceğini ve PON' da konformasyonel bir değişime yol açabileceğini belirtmişlerdir.

Bu çalışmada diyabet grubunda kontrol grubuna göre PON aktivitesinde saptanan azalma söz konusu çalışmalarla paralellik göstermektedir. Diyabet + Saksagliptin grubunda diyabet grubuna göre, PON ve ARE enzim aktivitelerinde meydana gelen artışın; saksagliptinin glisemik kontrolü düzenleyerek ve lipit peroksidasyonunu azaltarak gerçekleştirebileceği düşünülmektedir. Diyabet + Saksagliptin, Diyabet + *Olea europea* ekstraktı, Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı, Diyabet + *Olea europea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı ve Diyabet + Saksagliptin + *Olea europea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı gruplarında, diyabet grubuna göre, PON ve ARE enzim düzeylerinde görülen anlamlı artış diyabette tedavi/destek olarak verilen bu maddelerin, glisemik kontrolü düzenleyerek ve lipit peroksidasyonunu azaltarak etki gösterebileceklerini ve buna bağlı olarak da diyabette

görülen aterosklerotik kalp hastalıklarına karşı koruyucu etkiye sahip olabileceklerini düşündürmektedir. Diyabet grubu ile karşılaştırıldığında paraoksonaz aktivitesinde görülen en fazla artışın Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı grubu olduğu görülmektedir ki bu da çalışmamızda bu parametre üzerinde en etkili uygulamanın *Olea europaea* bitkisi olduğunu göstermektedir. ARE aktivitesi üzerindeki etkiler değerlendirilecek olursa en fazla artış Diyabet + *Olea europaea* + *Silybum marianum* bitki ekstrelerinin verildiği grupta gözlenmiştir ki bu durum iki bitki ekstresinin birlikte verildiğinde koruyucu etkilerinin daha fazla olduğunu göstermektedir.

Diyabette artmış oksidatif stres diyabetin birçok komplikasyonlarına zemin oluşturacağı için oksidatif strese karşı korunmada SOD ve GSH-Px' enzim aktivitelerinin diyabette azaldığı Atalay ve Laaksonen. 2002) ya da arttığına (Tas ve ark. 2007) ait farklı çalışmalar saptanmıştır. Bu çalışmada diyabet grubunda kontrol grubuna göre eritrosit GSH-Px ve SOD enzim aktivitelerinde anlamlı düzeyde bir artış olduğu bulundu. Enzim aktivitelerinde saptanan artış, diyabette artmış lipid peroksidasyonuna karşı gelişmiş bir cevap olarak düşünülebilir. Diyabet + Saksagliptin, Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı, Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı, Diyabet + *Olea europea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı ve Diyabet + Saksagliptin + *Olea europea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı gruplarında diyabet grubuna göre GSH-Px ve SOD aktivitesinde saptanan artış bu maddelerin bir antioksidan olarak bu enzim aktivitelerini artırma yönünde etki gösterdiğini düşündürmektedir. Ayrıca yapılan birçok çalışmada *Olea europaea* (Manna ve ark., 1999, Al-Azzawie ve ark. 2006, Katsiki ve ark. 2007) ve *Silybum marianum*' un (Velussi 1997, Fallah Huseyin 2006, Kiruthiga ve ark. 2007) radikal süpürücü etkilerinden söz edilmektedir. Bu çalışmada Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı ve Diyabet + *Silybum marianum* ekstraktı, gruplarında antioksidan enzim seviyelerinde (SOD, GSH-Px, PON ve ARE) gözlenen artış bu çalışmaları destekler niteliktedir. Diyabetik gruplarda SOD ve GSH-Px aktivitesinde görülen en etkili değişimin Diyabet + Saksagliptin + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı verilen grupta olması ilaç ve bitki ekstrelerinin kombine tedavisinin antioksidan savunma sistemini daha güçlü etkilediğini göstermektedir. Bu durum, ilaç tedavisinin yanında bitkisel ekstrelerin destekleyici etkisini doğrular niteliktedir. Kontrol + *Olea europaea* ekstraktı ve Kontrol + *Silybum marianum* ekstraktı gruplarında tüm antioksidan enzim

aktivitelerinde artış gözlenmiş, ayrıca Kontrol + *Olea europaea* ekstraktı + *Silybum marianum* ekstraktı grubunda bu artış daha da artmıştır.

Sonuç olarak, deneysel olarak oluşturulan tip 2 diyabette, antioksidan savunma sisteminde meydana gelen azalma; oksidatif stresin arttığını göstermektedir. Çalışmamızda kan glukoz, serum insülin, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz enzimi gibi bazı parametrelerde saksagliptin ve ilaç kombinasyonlarının birlikte verilmesinin daha etkili olabileceği sonucuna varılmıştır. Bununla beraber MDA ve lipitler üzerinde, *Olea europaea* ve *Silybum marianum*'ekstrelerinin birlikte verilmesinin, bu bitki ekstrelerinin ayrı ayrı verilmesinden daha güçlü bir etkiye sahip olduğunu düşündürmüştür. Ayrıca lipitler ve antioksidan enzimler üzerinde *O. europaea* ekstresinin, *S. marianum* ekstresine göre daha etkili olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda; diyabette saksagliptin tedavisine yardımcı olarak, antihiperlipidemik ve antihiperglisemik özelliğe sahip olmasının yanında güçlü birer antioksidan olan *Olea europaea* ve *Silybum marianum* ekstraktlarının, tip 2 diyabette artmış oksidatif strese karşı korunmada önemli bir etkiye sahip oldukları ve diyabette tedavi / destekleyici olarak kullanılacakları sonucuna varılmıştır.

## KkAYNAKLAR

- Abbott, C.A., Mackness, I., Kumar., S, Boulton, A.J., Durrington., P.N., 1995.** Serum paraoxonase activity, concentration, and phenotype distribution in diabetes mellitus and its relationship to serum lipids and lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol. Nov*; 15, 1812-8.
- Abdulfatai, B.O., Olusegun, A.O., Lateefat, B.O. 2012.** Type 2 Diabetes Mellitus: A Review of Current Trends. *Oman Medical Journal*, (27), 4, 269-273.
- Al-Azzawie H.F., ve Alhamdani M.S.S., 2006.** Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. *Life Sciences*, 78, 1371-1377.
- Andersen DK et al. 1978.** Oral glucose augmentation of insulin secretion: interactions of gastric inhibitory polypeptide with ambient glucose and insulin levels. *J Clin Invest*, 149:152-161.
- Anz, D., 2013.** The dipeptidylpeptidase-IV inhibitors sitagliptin, vildagliptin an saxagliptin do not impair innate and adaptive immune responses. *Diabetes, Obesity and Metabolism. Research Letter*, 1-4.
- Assar, M., Angulo, J., Rodriguez-Marias, L., 2013.** Oxidative stres and vascular inflammation in aging. *Free Radical Biology and Medicine*, 65, 380-401.
- Atalay, M., Laaksonen., D. E. 2002.** Diabetes, oxidative stres and physical exercise. *J Sports Sci & Med*, 1,1-14.
- Avila, D.L., Araujo, G.R., Silva, M., Miranda, P.H., Diniz, M.F., Pedrosa, M.L., Silva, M.E., Lima, W.G., Costa, D.C., 2013.** Vildagliptin ameliorates oxidative stress and pancreatic beta cell destruction in type 1 diabetic rats. doi: 10.1016/j.arcmed.2013.03.004
- Aviram, M., 1993.** Does paraoxonase play a role in susceptibility to cardiovascular disease? *Mol Med Today*, 5, 715-725.
- Aviram, M., Rosenblat, C., Bisgaier, R.S., 1998a.** Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its function: a possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest*, 101, 1581-1590.
- Aviram, M., Billecke, S., Sorenson, R., 1998b.** Paraoxonase active site required for protection against LDL oxidation involves its free sulfhydryl group and is different from that required for its arylesterase/paraoksonase activities: Selective action of human paraoksonase allozymes Q and R. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 18(10), 1617-1624.
- Aviram, M., Rosenblat, M., Billecke, M., 1999.** Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Radic Biol Med*, 26 (7-8), 892-904.
- Baynes, J.W., Thorpe, S.R., 1999.** Role of oxidative stress in diabetic complications: A new perspective on an old paradigm. *Diabetes*, 48, 1- 9.
- Benkhalti, F., Prost, J., Paz, E., 2002.** Effects of feeding virgin olive oil or their polyphenols on lipid of rat liver. *Nutrition Research*, 22, 1067–1075.
- Bock, M., Derraik, J.G.B., Brennan, C. M., Biggs, J. B., Morgan, P. E., Hodgkinson, S. C., Hofman, P. L., Cutfield, W. S., 2013.** Olive (*Olea europaea* L.) Leaf Polyphenos Improve Insulin Sensitivity in Middle-Aged Overweight Men: A Randomized, Placebo-Controlled, Crossover Trial. *Plos One*, (8), 3, e57622.

- Bompart, G., Prevot, S., 1990.** Rapid automated analysis of glutathione reductase, peroxidase, and s-transferase activity. *Clin Biochem*,23, 501-504.
- Bonefont, D., Bastard, J., 2000.** Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes Metab.* 26, 163-176.
- Bukan, N., Sancak, B., Bilgihan, A., Kosova, F., Buğdaycı, G., Altan, N., 2004.** The effects of the sulfonylurea glyburide on glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase activities in the heart tissue of streptozotocin-induced diabetic rat. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 26(7), 519-22.
- Cameron, N.E., Cotter, M.A., 1995.** Neurovascular dysfunction in diabetic rats: potential contribution of autooxidation and free radicals examined using transition metal chelating agents. *Journal of Clinical Investigation*, 96(2),1159-1163.
- Cameron, N.E., Cotter, M.A., 1997.** Metabolic and vascular factors in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Diabetes*, 46(Supplement 2), 31-37.
- Cao, G. ve Chen C., 1991.** Effects of dietary zinc on free radical generation, lipid peroxidation and superoxide dismutase in trained mice. *Arch Biochem Biophys*, 291, 15, 147-155.
- Charbonnel, B., Schweizer, B., Dejager, S., 2013.** Combination therapy with DPP-4 inhibitors and insulin in patients with type 2 diabetes mellitus: what is the evidence? *Hosp Pract* ,41(2):93-107.
- Ceriello, A., Bortolotti, N., Motz, E., 1998.** Meal-generated oxidative stress in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care.* 21: number 9.
- Ceriello, A., 2000.** Oxidative stress and glycemic regulation. *Metabolism*49, 27- 29.
- Chacra, A. R., 2010.** Saxagliptin for type 2 diabetes. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 3, 325-335.
- Chtourou, Y., Fetoui, H., Sefi, M., 2010.** Silymarin, a natural antioxidant, protects cerebral cortex. *Biometals*, 23, 985-996.
- Cumaloğlu, A., Rackova, L., Stefek, M., Kartal, M., Maechler, P., Karasu, Ç., 2011.** Effects of olive leaf polyphenols against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> toxicity in insulin secreting  $\beta$ -cells. *Acta Biochemica Polonica.* 58, 45-50.
- Davidson, J. K., 1986.** Non-insulin-dependent diabetes mellitus, in J. K. DAVIDASON (ed): Clinical Diabetes Mellitus: A Problem Oriented Approach. *New York, Thieme Inc. Cham 2*, pp 11-25.
- Donalht, M.Y., Gross, D.J., Cesari, E., Kaiser, N., 1999.**Hyperglycemia- induced  $\beta$  cell apoptosis in pancreatic islets of Psammoys obesus during development of diabetes. *Diabetes*,48(4): 738-40
- Duez, H., Cariou, B., Staels, B., 2012.** DPP-4 inhibitors in the type 2 diabetes. *BiochemicalPharmacology*, 83, 823-832.
- Durrington, P.N.,Mackness, B., 2001.** Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 21: 473-480.
- Eckerson, H. W., Romson, J., 1983.** The human serum paraoxonase polymorphism: idendification of phenotypes by their response to salts. *Am J Hun Genet.* 35: 214-227.
- Efendic, S., ve Ostenson, C.G., 1993.** Hormonal responses are future treatment of non-insuline-dependent diabetes mellitus (NIDDM). *J Intern Med*, 234: 127-138.
- Fallah Huseini, H.,ve ark., 2006.** The efficacy of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. (Silymarin) in the treatment of type II diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *Phytother. Res*, 20, 1036-1039.

- Fang, Y. Z., Yang, S., ve Wu, G., 2002.** Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*. 18, 872-879.
- Fehman, H.C. ve ark., 1995.** Cell and molecular biology of the incretin hormones: glucagon like peptide 1 and glucose dependent insulin releasing polypeptide. *Endo Rev*, 16, 390-410.
- Gautier, J.F. ve ark., 2005.** Biological actions of incretins GIP and GLP-1 therapeutic perspectives with type 2 diabetes. *Diabet and Metab* 31, 233-242.
- Greene, D.A., Lattimer, S.A., Sima, A.A.F., 1987.** Sorbitol, phosphoinositides and sodium-potassium-ATPase in the pathogenesis of diabetic complications. *The New England Journal of Medicine*, 316(10), 599-606.
- Greene, D.A., Sima, A.A.F., Alberts, J.W., Pfeifer, M.A., 1990.** Diabetic neuropathy. In *Diabetes Mellitus Theory and Practice (4th ed) Rifkin H, Porte D (Eds), Elsevier, New York, NY*.
- Godin, D.V., Wohaieb, S.A., 1988.** Antioxidant enzyme alterations in experimental and clinical diabetes. *Mol Cell Biochem*, 84:223-31.
- Gonzalez, M., Zarzuelo, A., Gamez, M.J., Utrilla, M.P., Jimenez, J., ve Osuna, I., 1992.** Hypoglycemic activity of olive leaf. *Planta Medica*. 58 (6): 513-515.
- Gutteridge, J. M. C., 1995.** Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem*. 41:1819-1928.
- Halliwell, B., 1993.** Lipid peroxidation: Its mechanism, measurement and significance. *Am J Clin Nutr*. 57, 715-725.
- Halliwell, B., 1994.** Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet*. 344, 721-724.
- Hansen, S.H., 2001.** The role of taurine in diabetes and the development of diabetic complications. *Diabetes Metab Res Rev*, 17, 330-346.
- Holst, J.J., 2004.** Role of incretin hormones in the regulation of insulin secretion in diabetic and non-diabetic humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 287, 199-206.
- Holst, J.J., 2002.** Therapy of the type 2 diabetes mellitus based on the actions of glucagon-like peptide 1. *Diabetes Metab Res Rev* 2002, 18, 430-441.
- Hori, O., Yan, S.D., Ogawa, S., 1996.** The receptor for advanced glycation end-products has a central role in mediating the effects of advanced glycation – end-products on the development of vascular disease in diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant*, 11, 23-29.
- Hunt, J.W., Dean, R.T., Wolff, S.P., 1988.** Hydroxyl radical production and autoxidative glycosylation. Glucose autoxidation as the cause of protein damage in the experimental glycation model of diabetes mellitus and ageing. *Biochem J*, 256, 205-12.
- Huseini, F. ve ark., 2006.** The efficacy of Silybum marianum (L) Gaertn. (Silymarin) in the treatment of type II diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *Phytotherapy Res*. 20, 1036-1039.
- Ihara, Y., Toyokuni, S., Uchida, K., Odaka, H., Tanaka, T., Ikeda, H., Hiani, H., Seino, Y., Yamada, Y., 1999.** Hyperglycemia causes oxidative stress in pancreatic  $\beta$  cells of GK rats, a model of type 2 diabetes. *Diabetes* 48(4): 927-932.
- Inoguchi, T., Li, P., Umeda, F., Yu, H. Y., Kakimoto, M., Imamura, M., Aoki, T., Etoh, T., Hashimoto, T., Naruse, M., Sano, H., Utsumi, H., Nawata, H., 2000.** High Glucose Level and Free Fatty Acid Stimulate Reactive Oxygen Species Production Through Protein Kinase C-Dependent Activation of NAD(P)H Oxidase in Cultured Vascular Cells. *Diabetes*, (49), 1939-1945.



- Irons, B.K., Weis, J.M., Stapleton, M.R., Edwards, K.L., 2012.** An update in incretin-based therapy: a focus on dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *Curr Diabetes Rev.*, 8(3):169-82.
- Janero, D.R., 1990.** Malondialdehyde and thiobarbituric acid reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic Biol Med.* 9, 515-540.
- Jemai, H., Elfeki, A., Sayadi, A., 2009.** Antidiabetic and antioxidant effects of hydroxytyrosol and oleuropein from olive leaves in alloxan-diabetic rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 57, 8798-8804.
- Ji, L.L., 1995.** Exercise and oxidative stress: Role of the cellular antioxidant systems. *ExercSports Sci Re.* 23, 135-166.
- Kanter, M., 1995.** Free radicals and exercise: Effects of nutritional antioxidant supplementation. *Exerc Sport Sci Rev*, 23, 375-398.
- Kar, S., Patel, M.A., Tripathy, R.K., Bajaj, P., pande, A.H., 2013.** Oxidized-phospholipids in reconstituted high density lipoprotein particles affect structure and function of recombinant paraoxonase 1. *Biochimica et Biophysica Acta.* doi: 201308008.
- Katsiki, M., Chondrogianni, N., Chinou, I., Rivett, J., ve Efstathios, S., 2007.** The olive Constituent Oleuropein Exhibits Proteasome Stimulatory Properties In Vitro and Confers Life Span Extension of Human Embryonic Fibroblasts. *Rejuvenation Research.* June 10(2): 157-172.
- Kayaalp, S., 1990.** Rasyonel Tedavi Yönünden *Tıbbi Farmakoloji.* Cilt:3, 5. Basım. 81: 2416-2429.
- Kosaraju, J., Gali, C.C., Khatwal, R.B., Dubala, A., Chinni, S., Holsinger, R.M.D., Madhunapantula, V.S.R., Nataraj, S.K.M., Basavan, D., 2013.** Saxagliptin: A dipeptidyl peptidase-4 inhibitor ameliorates streptozotocin induced Alzheimer's disease. *Neuropharmacology*, 72: 291-300.
- Kono, K., Fujii, H., Nakai, K., Goto, S., Kitazawa, R., Kitazawa, S., Shinohara, M., Hirata, M., Fukagawa, M., Nishi, S., 2013.** Anti-Oxidative Effect of Vitamin D Analog on Incipient Vascular Lesion in Non-Obese Type 2 Diabetes Rats. *Am J Nephrol.*, 37, 167-174.
- Kraup, T., 1988.** Immunoreactive gastric inhibitory polypeptide. *Endo Rev* 9, 122-134.
- Kuyvenhoven, J.P., Meinders, A.E., 1999.** Oxidative stress and diabetes mellitus. Pathogenesis of long term complications. *Eur J Inter Med*, 10, 9-19.
- Lee, A. Y. ve SCHUNG, S., 1999.** Contributions of polyol pathway to oxidative stress in diabetic cataract. *Faseb J.*13: 23-30.
- Lin, Y. ve Sun, Z., 2010.** Current views on type 2 diabetes. *Journal of Endocrinology*, 204, 1-11.
- Lobo, V. C., 2010.** Free radicals, antioxidants and functional foods: impact on human health. *Pharmacogn Rev.*, 4 (8), 118-126.
- Mackness, M. I., 1993.** Protection of low- density lipoprotein against oxidative modification by high- density lipoprotein associated paraoxonase. *Atherosclerosis.* 104: 129-135.
- Mackness, B., Mackness, M.I., Arrol, S., Turkei, W., Durrington, P. N., 1998.** The effect of human serum paraoxonase 55 and 192 genetic polymorphisms on the protection by high density lipoprotein against low density lipoprotein oxidative modification. *FEBS Letters.* 423, 57-60.
- Manna, C., Galleti, P., Cucciola, V., Montedoro, G., ve Zappia, V., 1999.** Olive oil hydroxytyrosol protects human erythrocytes against oxidative damages. *The journal of nutritional biochemistry.* 10, 159-165.

- Mason, P.R., Jacob, R.F., Kubant, R., Ciszewski, A., Corbalan, J.J., Malinski, T., 2012.** Dipeptidyl peptidase-4 inhibition with saxagliptin enhanced nitric oxide release and reduced blood pressure and SICAM-1 levels in hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol.*,60(5):467-73.
- Matsuda, T ve ark., 2005.** Silymarin protects pancreatic beta cells against cytokine-mediated toxicity: implication of c-Jun NH<sub>2</sub>- Terminal kinase and janus kinase/signal transducer and activator of transcription pathways. *Endocrinology*, 146(1): 175-185.
- Maxvell, S. R., 1995.** Prospects for the use of antioxidant therapies. *Drug*, 49, 345-361.
- Memişoğulları, R., ve Bakan, E., 2004.** Levels of ceruloplasmin, transferrin, and lipid peroxidation in the serum of patients with Type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications*. 18: 193-197.
- Michael, I., Bharti, M., Pau, N.D., 2002.** Paraoxonase and coronary heart disease. *Atheroscler Suppl.* 3, 49-55.
- Miyakawi, K., 1999.** Glucose intolerance axis: a study in gastric inhibitory polypeptide knock-out mice. *Proc Natl Acad Sci*, 96, 14843- 14847.
- Mullarkey, C.J., Edelstein, D., Brownlee, M., 1990.** Free radical generation by early glycation products: A mechanism for accelerated atherogenesis in diabetes. *Biochem Biophys Res Common*, 173(3): 932- 939.
- Mutinati, M., Panteleo, M., Roncetti, M., Piccinno, M., Rizzo, A., Sciorsci, R.L. 2013.** Oxidative Stress in Neonatology. A Review. *Reprod Dom Anim*. doi: 10.1111/rda.122.30.
- Navab, M., Hama-Levy, S., VAN- LENTEN, S.M., 1997.** Oxidized LDL induces an increased apolipoprotein J / PON ratio. *J Clin Invest*, 99, 2005-2019.
- Nauck, M.A., 1993.** Preserved incretin activity of glucagon-like peptide 1 (7-36) amide but not gastric inhibitory polypeptide in patients type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest*91, 301-307.
- Nordgren, M., Fransen, M., 2013.** Peroxisomal metaolism and oxidative stress. *Biochimic*, 1-7.
- Ohkawa, H., OHISHI, N., 1979.** Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbutiric acid reaction. *Anal. Biochem.*95, 351-358.
- Onderoğlu S., Sozer S., Erbil K.M.,Ortaç R., veLermioğlu F., 1999.** The evaluation of long term effects of cinnamon bark and olive leaf on toxicity induced by streptozotocin administration to rats. *The Journal Pharmacy and Pharmacology*, 51, 1305-1312.
- Packer, L., 1991.** Protective role of vitamin E in biological systems. *Am J Clin Nutr*. 1050-1055.
- Parmaksız, İ.,2011.** Diyabet Komplikasyonlarında İleri Glikasyon Son Ürünleri. *Marmara Medical Journal*. doi: 105472/mmj/2011020371.
- Patel, B. N., Mackness, M. I., Harty, D.W., Arrol, S., Boot-Hanford, R. P., Durrington, P.N., 1990.** Serum esterase activities and hyperlipidemia in the streptozotocin-diabetic rat. *Biochim Biophys Acta.* 1035, 113-116.
- Paulsen, M. W., Hedegaard, R.V., Andersen, J. M., Courten, B., Bügel, S., Nielsen, J., Skibsted, L. H., Dragsted, L., 2013.** Advanced glycation end products in food and their effects on health. *Food and Chemical Toxicology*, 10-37.
- Pereira, J.A., Peraira, A.P., Ferreira, I.C., Valentao, P., Andrade, P.B., Seabra, R., ve ark., 2006.** Table olives from Portugal: phenolic compounds, antioxidant potential and antimicrobial activity. *J Agric Food Chem*. 54, 8425-8431.

- Sabari, D., Dnesh, N.R., Nibhiti, D., 2002.** Interrelationship between lipid peroxidation, ascorbic acid and superoxide dismutase in coronary artery disease. *Curr Sci.* 83, 1-4.
- Salem, K. A., Qureshi, M. A., Sydorenko, V., parekh, K., Jayaprakash, P., Iqbal, T., Singh, J., Oz, M., Adrian, T. E., Howarth, F. C., 2013.** Effects of exercise training on excitation-contraction coupling and related mRNA expression in hearts of Goto-kakizaki type 2 diabetic rats. *Mol Cell Biochem.*, 380, 83-96.
- Samuelsson, G., 1951.** The blood pressure lowering factor in leaves of *Olea europaea*, *Farmaceutisk Revy.*, 15: 229–239.
- Scheen, A. J., 2012.** DPP-4 inhibitors in the management of type 2 diabetes: A critical review of head-to-head trials. *Diabetes & Metabolism*, 38,89-101.
- Sheela, N., Jose, M. A., Sathyamurthy, D., Kumar, B. N., 2013.** Effect of Silymarin on Streptozotocin-Nicotinamide-induced Type 2 Diabetic Nephropathy in Rats. *Iranian Journal of Kidney Diseases*, (7), 2, 117-123.
- Shida, T., Nozawara, T., Sobajima, M., Ihuri, H., Matsuki, A., Inoue, H., 2013.** Fluvastatin-induced reduction of oxidative stress ameliorates diabetic cardiomyopathy in association with improving coronary microvasculature. *Heart Vessels*, doi: 10.1007/s00380-013-0402-6.
- Shimoike, T., Inoguchi, T., Umeda, F., Nawata, H., Kawano, K., Ochi, H., 2000.** The Meaning of Serum levels of Advanced Glycosylation End Products in Diabetic Nephropathy. *Metabolism*, (49), 8, 1030-1035.
- Sies, H., 1999.** Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radic Biol Med.* 27: 916-921.
- Sozmen, E., Sozmen, B., 2001.** Catalase/superoxide dismutase (SOD) and catalase/paraoxonase (PON) ratios may implicate poor glycemic control. *Arch Med Res.*,32, 283-287.
- Steiner, G., 1999.** Risk factors for macrovascular disease in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 22: Supplement 3. Improving Prognosis in Type 1 Diabetes Proceedings from an Official Satellite Symposium of the 16<sup>th</sup> International Diabetes Federation Congress.
- Szaleczky, E., Prechl, J., Feher, J., Somogyi, A., 1999.** Alterations in enzymatic antioxidant defence in diabetes mellitus-a rational approach. *Postgrad Med J.*75:13-17.
- Soto, C., 2003.** Silymarin increases antioxidant enzymes in alloxan-induced diabetes in rat pancreas. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 136, 205-212.
- Tahara, A., Matsuyama-Yokono, A., Nakano, R., Someya, Y., Hayakawa, M., Shibasaki, M., 2009.** Antihyperglycemic effects of ASP8497 in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats: comparison with other dipeptidyl peptidase-IV inhibitors. *Pharmacological Reports*, 61, 899,908.
- Tas, S., Sarandol, E., Ziyank, S., Aslan, K., Dirican, M. 2005.** Effects of green tea on serum paraoxonase/arylesterase activities in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutrition Research*, 25, 1061-1074.
- Tas, S., Sarandol, E., Ziyank-Ayvalik, S., Ocak, N., Serdar, Z., Dirican, M. 2006.** Vanadyl sulfate treatment improves oxidative stress and increases serum paraoxonase activity in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutrition Research*, 26, 670-676.
- Tas, S., Sarandol, E., Ayvalik, SZ., Serdar, Z., Dirican, M. 2007.** Vanadyl sulfate, taurine, and combined vanadyl sulfate and taurine treatments in diabetic rats: Effects on the oxidative and antioxidative systems. *Archives of Medical Research*, .38, 276-283.

- Thorens, B., Mueckler, M., 2009.** Glucose transporters in the 21st Century. *Am J PhysiolEndocrinol Metab.* 298, 141-145.
- Tiedge, M., Lortz, S., Drinkgern, J., Lenzen, S.,1997.** Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidative defense status of insulin-producing cells. *Diabetes*, 46, 1733-1740.
- Tripoli, M., Giammanco, G., Tabacchi, D., Di Majo, S., Giammanco S ve La Guardia M., 2005.** The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutritional Research Reviews.* 18, 98–112.
- Usharani, P., Fatima, N., Muralidhar, N., 2013.** Effect of Phyllanthus emblica extract on endothelial dysfunction and biomarkers of oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized, double-blind, controlled study. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy.* 6, 275-284.
- Velussi, M., 1997.** Long-term (12 months) treatment with an anti-oxidant drug (silymarin) is effective on hyperinsulinemia, exogenous insulin need and malondialdehyde levels in cirrhotic diabetic patients. *Journal of Hepatology*, 26, 871-879.
- Visioli F, Bellomo G, Montedoro GF ve Galli C. 1995.** Low density lipoprotein oxidation is inhibited in vitro by olive oil constituents. *Atherosclerosis.* 117: 25–32.
- Watson, A.D. , Berliner, J. A., HAMA, S.Y., 1995.** Protective effect of HDL associated paraoxonase inhibition of the biological activity of minimally oxidized LDL. *J Clin Invest.* 96, 2882-2891.
- Ward, W.,1984b.** Pathophysiology of insulin secretion in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 7: 491-502.
- Weber, A.E.,2004.** Dipeptidyl peptidase IV inhibitors for the treatment of diabetes. *J Med Chem*, 47, 4135-4141.
- West, I., 2000.** Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabet Med*, 17, 171-180.
- Wolf, G., 2008.** Role of fatty acids in the development of insulin resistance and type-2 diabetes mellitus, *Nutr. News.* 66, 597.
- Wolff, S.P., Dean, R.T.,1987.** Glucose autooxidation and protein modification. The potential role of autooxidative glycosylation in diabetes. *Biochem J*, 245,243-50.
- Wolff, S. P., 1993.** Diabetes mellitus and free radicals. *Br Med Bull.* 49, 642-652.
- Yilmaz, N., Simsek, N., Aydin, O., Yardan, E., Aslan, S., Eren, E., Yegin, A., Buyukbas, S., 2013.** Decreased paraoxonase 1, arylesterase enzyme activity, and enhanced oxidative stress in patients with mitral and aortic valve insufficiency. *Clin Lab*, 59 (5-6), 597-604.
- Yu, B. P., 1994.** Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev.* 74, 139-162.
- Zhang, W., Hong, R., Tian, T., 2013.** Silymarin's Protective Effects and Possible Mechanisms on Alcoholic Fatty Liver for Rats. *Biomolecules and Therapeutics.* 21, 264- 269.
- Zhao, F., Keating, A.F., 2007.** Functional properites and genomic glucose transporters. *Curr Genomics.* 8, 113-128.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Sedef ZİYANOK

Doğum Yeri ve Tarihi: Bursa / 1979

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Çelebi Mehmet Lisesi / 1992-1996

Lisans : Ü.Ü.F.E.F. Biyoloji Bölümü / 1997-2001

Yüksek Lisans : U.Ü.F.E.F. Biyoloji A.B.D. Zooloji B.D. / 2002-2006

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

Araştırma Görevlisi : U.Ü. F.E.F. Biyoloji Bölümü / 2002- Halen.

İletişim (e-posta) : sziyanok@uludag.edu.tr

Yayınları :

### SCI ve SCI Expanded Kapsamında Taranan Dergilerde Yayımlanmış Makaleler:

**Celikler S., Tas, S., Ziyank-Ayvalik, S.,Vatan, O.,Yildiz, G., Ozel, M. 2014.** Protective and antigenotoxic effect of *Ulva rigida* C Agardh in experimental hypothyroid. *Acta Biologica Hungarica*. 65 (1): 61-71.

**Tas, S., Celikler, S. , Ziyank-Ayvalik, S., Sarandol, E., Dirican, M. 2011.** *Ulva rigida* improves carbohydrate metabolism, hyperlipitemia and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell Biochemistry and Function*, 29, 108-113.

**Celikler, S.,Tas,S., Vatan, O., Ziyank-Ayvalik, S.,Yildiz, G., Bilaloglu, R.2009.** Anti-hyperglycemic and antigenotoxic potential of *Ulva rigida* ethanolic extract in the experimental diabetes mellitus. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 1837-1840.

**Taş, S., Sarandöl, E., Ayvalık, SZ., Serdar, Z., Dirican, M. 2007.**Vanadyl sulfate, taurine, and combined vanadyl sulfate and taurine treatments in diabetic rats: Effects on the oxidative and antioxidative systems. *Archives of Medical Researc*, .38, 276-283.

**Taş, S., Sarandöl, E.,Ziyank-Ayvalık, S., Ocak, N., Serdar, Z., Dirican, M. 2006.** Vanadyl sulfate treatment improves oxidative stress and increases serum paraoxonase activity in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutrition Research*, 26, 670-676.

**Taş, S., Sarandöl, E., Ziyankok, S., Aslan, K., Dirican, M. 2005.**Effects of green tea on serum paraoxonase/arylesterase activities in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutrition Research*, 25, 1061-1074.

**Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Özeti Basılan Bildiriler:**

**Taş, S., Ziyankok, S.2013.**Streptozotosimle Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda Vitamin B6' nın Hiperlipidemi ve Oksidatif Stres Üzerine İyileştirici Etkisi. 1. Ulusal Zooloji Kongresi, 28-31 Ağustos, Nevşehir.

**Bağdaş, D., Yaşar-Gül, N., Topal, A., Taş, S., Özyiğit, M.Ö., Çinkılıç, N., Gül, Z., Çam-Etöz, B., Ziyankok, S., İnan-Öztürkoğlu, S., Turaçözen, Ö., Gürün, M.S.2013.** Klorojenik Asidin Sıçanlarda Yara İyileşmesi Üzerine Etkisi. IV. Ulusal Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi, 11-14 Eylül, Elazığ.

**Taş, S., Ziyankok, S., Dirican, M.2013.**Deneyisel Diyabette Vitamin B12: Oksidan ve Antioksidan Sistemler Üzerine Etkisi. Laboratuvar Hayvanları Bilimi 3. Ulusal Kongresi, 26-28 Eylül, Kayseri.

**Taş, S., Dirican, M., Sarandöl, E., Serdar, Z., Ziyankok, S. 2004,** Aslan, K. Streptozotosin ile Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda Vanadil Sülfatın Etkisi. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 30. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 31 Ağustos-3 Eylül, Konya.

**Dirican, M., Taş, S., Sarandöl, E.,Ziyankok, S., Aslan, K. 2004.** Deneyisel Diyabetes Mellitusta Yeşil Çayın Hipolipitemik ve Antioksidan Etkisi. IV. Ulusal Klinik Biyokimya Kongresi, 5-9 Eylül, Marmaris.

**Ziyankok-Ayvalık S.,Taş, S, Sarandöl E., Dirican M. 2007.** Deneyisel Olarak Oluşturulan Tip 2 Diyabette Taurinin Etkisi. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 33. Ulusal Kongresi, 15–19 Ekim, Girne.