

T. C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULAN SIÇANLARDA
Vaccinium myrtillus L. UYGULAMASININ PARAOKSONAZ,
PANKREAS ENZİM AKTİVİTELERİ VE LİPOPROTEİN
DÜZEYLERİNE ETKİSİ**

Karzan Mahmood SAEED
TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
BİYOKİMYA BİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Tahir KAHRAMAN

VAN-2016

T. C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULAN SIÇANLARDA
Vaccinium myrtillus L. UYGULAMASININ PARAOKSONAZ,
PANKREAS ENZİM AKTİVİTELERİ VE LİPOPROTEİN
DÜZEYLERİNE ETKİSİ**

Karzan Mahmood SAEED
TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
BİYOKİMYA BİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Semiha DEDE
Jüri Başkanı

Doç. Dr. Tahir KAHRAMAN
Jüri Üyesi (Danışman)

Yrd. Doç. Dr. Kürşat KAYA
Jüri Üyesi

TEZ KABUL TARİHİ
19.07.2016
VAN

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarında beni hep aydınlatan, çalışma sürecinde her zaman tecrübelerinde faydalandığım, benden hiçbir zaman desteğini esirgemeyen değerli danışmanım Doç. Dr. Tahir KAHRAMAN'a, her zaman değerli fikirlerinden ve tecrübelerinden yararlandığım Dr. Nihat MERT, Prof. Dr. Semiha DEDE, Prof. Dr. Fatmagül YUR, çalışmamın teorik ve pratik çeşitli aşamalarında yardımlarda bulunan Prof. Dr. Sıddık KESKİN, Yrd. Doç. Dr. Oruç ALLAHVERDİYEV ve Öğr. Gör. Mehmet BERKÖZ'e, çalışmamda beni cesaretlendiren ve yararlı fikirlerini esirgemeyen ve destekleyen arkadaşım Barham QASIM'a, laboratuvar çalışmalarında yardımlarında faydalandığım ve sürekli yardımlarıyla işlerimi kolaylaştıran değerli arkadaşlarım Evan Abdulkerim MAHMOOD, Zwain Nozad SHAMSULDDİN ve Gulala Ahmed MOHAMMED SHINKI'ye, en içten teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
SİMGELER VE KISALTMALAR	VI
TABLolar LİSTESİ	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ	VIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Diyabetes Mellitus	4
2.1.1. Diyabetin teşhisi	4
2.1.2. Diyabetin sınıflandırılması	5
2.1.3. Diyabetin epidemiyolojisi	7
2.1.4. Diyabetin patogenezi	8
2.1.5. Diyabetin komplikasyonu	9
2.1.6. Diyabet ve oksidatif stres	11
2.1.7. Diyabetin tedavisi	11
2.1.8. Diyabet ve lipoproteinler	12
2.1.9. Pankreas	14
2.2. Paraoksonaz (PON) Enzimi	15
2.2.1. Paraoksonaz (PON) enzimi yapı ve sentezi	16
2.2.2. Paraoksonaz (PON) enziminin fonksiyonları	17
2.2.3. Paraoksonaz (PON) enziminin biyokimyasal etkileri	18
2.2.4. Paraoksonaz (PON) enziminin polimorfizmi	20
2.2.5. Paraoksonaz (PON) enzim aktivitesi üzerine tıbbi bitkilerin etkileri	20
2.3. <i>Vaccinium myrtillus</i> L. (Yaban mersini)	21
2.3.1. <i>Vaccinium myrtillus</i> L. (Yaban mersini) bitkisinin kimyasal yapısı	21
2.3.2. <i>Vaccinium myrtillus</i> L. (Yaban mersini) bitkisinin biyokimyasal etkileri...	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1. Gereç	24
3.1.1. Deney hayvanları	24
3.1.2. Cihaz ve laboratuvar malzemeleri	24

3.1.3 Kimyasal maddeler	25
3.2. Yöntem	25
3.2.1. <i>Vaccinium myrtillus</i> L. ekstraktı ve deney hayvanlarına uygulanması	25
3.2.2. Kan örneklerin alınması	26
3.2.3. Biyokimyasal analizler.....	26
3.2.4. İstatistik analiz.....	30
4. BULGULAR	31
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	39
ÖZET	50
SUMMARY	51
KAYNAKLAR	52
ÖZGEÇMİŞ.....	66
EKLER	67
EK 1. Etik Kurul Araştırma Onay Belgesi	67
EK 2. Etik Kurul Araştırma Kesin Sonuç Onay Belgesi	68

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADA	:	Amerikan Diyabet Derneği
AKŞ	:	Açlık kan şekeri
CVA	:	Serebrovasküler olay
CVD	:	Serebrovasküler hastalık
DM	:	Diyabetes mellitus
GFR	:	Glomerüler filtrasyon hızı
Hba1c	:	Glikozile hemoglobin
HDL	:	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
IDL	:	Orta yoğunluklu lipoprotein
IL-6	:	İnterlökin – 6
KVH	:	Kardiyo vaskuler hastalıklar
LDL	:	Düşük yoğunluklu lipoprotein
MI	:	Miyokardiyal enfarktüs
NO	:	Nitrik oksit
OGTT	:	Oral glukoz tolerans testi
OP	:	Organofosforlu
PON	:	Paraoksonaz
RCT	:	Reverse kolesterol taşıyıcı
ROS	:	Reaktif oksijen türleri
T1 DM	:	Tip 1 Diyabetes mellitus
T2 DM	:	Tip 2 Diyabetes mellitus
TC	:	Total kolesterol
TG	:	Trigliserit
TNF α	:	Tümör nekroz faktörü α
VLDL	:	Çok düşük yoğunluklu lipoprotein
WHO	:	Dünya Sağlık Örgütü

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1 Deneme gruplarının paraoksonaz (PON), pankreas enzim ve lipoprotein düzeyleri	28
--	----



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Rekombinant paraoksonaz (PON) enziminin yapısı	17
Şekil 2. <i>Vaccinium myrtillus</i> L. (Yaban mersini) bitkisi	22
Şekil 3. Deneme gruplarındaki ortalama kan glukoz düzeyleri	34
Şekil 4. Deneme gruplarındaki ortalama HbA1c düzeyleri	34
Şekil 5. Deneme gruplarındaki ortalama kolesterol düzeyleri	35
Şekil 6. Deneme gruplarındaki ortalama trigliserit düzeyleri	35
Şekil 7. Deneme gruplarındaki ortalama HDL-kolesterol düzeyleri	36
Şekil 8. Deneme gruplarındaki ortalama LDL-kolesterol düzeyleri	36
Şekil 9. Deneme gruplarındaki ortalama VLDL-kolesterol düzeyleri	37
Şekil 10. Deneme gruplarındaki ortalama amilaz enzim düzeyleri	37
Şekil 11. Deneme gruplarındaki ortalama lipaz enzim düzeyleri	38
Şekil 12. Deneme gruplarının paraoksonaz enzim düzeyleri	38



1. GİRİŞ

Diyabetes mellitus (DM), 2030 yılına kadar 360 milyon insanı etkilemesi beklenen, hızlı bir şekilde büyüyen yaygın bir halk sağlığı problemidir (Ryden ve ark., 2013). Kronik hiperglisemi, karbonhidrat, protein ve lipid metabolizmasındaki bozukluklar hastalığın karakteristiğini oluşturmaktadır. Diyabet hastalığı, insülin direnci bozukluğu ve insülin yetersizliğinden kaynaklanır (Alberti ve Zimmet, 1998). Tip 2 diyabette insülin aktivitesindeki azalma pankreatik beta hücrelerinin insülin direncini karşılamada yetersiz kalması sonucu, beta hücrelerinin fonksiyonlarındaki bozukluğa hem glikotoksisite hem de lipotoksisite aracılık etmektedir (Poitout ve Robertson, 2002; Nyenwe ve ark., 2011).

Bu hastalık, akut ve kronik olarak sınıflandırılan birçok komplikasyonla seyretmektedir. Akut komplikasyonlar, koma ve ketoasidozu içermektedir. Kronik komplikasyonlar, kan damarlarının hasarını yani makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonları içermektedir. Makrovasküler komplikasyonlar, miyokardiyal enfarktüsü (MI) ve serebrovasküler hasarı içerirken, mikrovasküler komplikasyonlar nöropati, nefropati ve retinopatiji içermektedir (Forbes ve Cooper, 2013). Aterosklerozisi içeren kardiyovasküler komplikasyonlar diyabetik dislipidemiyle bağlantılı ve artmış hepatik çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) üretimi ile karakterizedir (Krauss, 2004).

Çevresel özelliklerin değiştirilmesinden terapötik ilaç kullanımına kadar diyabet tedavisinde oldukça geniş yaklaşımlar benimsenmiştir (Klein ve ark., 2004; Krentz ve Bailey, 2005). İlaçlar, hiperglisemide azalmayla sonuçlanacak çeşitli etki mekanizmasına sahiptir. Bu ilaçların kullanılmasında birçok yan etkilerinden dolayı araştırmacılar, alternatif ilaç adaylarına yönelmişler buda doğal tıbbi bitkiler ve içerikleri olmuştur. ((Krentz ve Bailey, 2005; Kos ve ark., 2012). Birçok tıbbi bitki, çeşitli yollar aracılığıyla antidiyabetik aktivite gösteren aktif bileşikler içerdiğinden geleneksel tıpta diyabet tedavisinde kullanılmaktadır (Li ve Perera, 2012; Wang ve ark., 2013).

Vaccinium myrtillus L. (Yaban mersini), geleneksel tıpta diyabeti de içeren birçok hastalığın tedavisinde kullanılan tıbbi bir bitkidir (Tracy, 2007; Helmstädter ve Schuster, 2010). Bu bitkideki fitokimyasallar, özellikle fenolik bir bileşik olan antosiyanin, antioksidan ve anti enflamatuvar özelliklerinden dolayı antidiyabetik aktiviteden sorumludur (Chu ve ark., 2011). Yaban mersini meyveleri ve çiçeklerine renk vermesi yanında, bu pigmentlerin ekstraktı; oksijen radikali türlerini yakaladığı bilinmektedir (Wang ve Jiao, 2000).

Antosiyaninler, antidiyabetik aktivitelerini insülin direncini iyileştirmek yoluyla, pankreatik beta hücrelerini oksidatif hasardan koruyarak ve insülin salgısını artırarak gösterirler (Sancho ve Pastore, 2012). *Vaccinium myrtillus* L. (Yaban mersini) ve pigmentlerinin ayrıca obezite ve bozulmuş lipid metabolizması gibi diyabete katkı sağlayan faktörleri azalttığı bildirilmiştir (Lee ve ark., 2014; Asgary ve ark., 2015).

Paraoksonaz (PON) enzimi, yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL) ile ilişkili kalsiyuma bağımlı glikoprotein yapıda olup, organofosfat hidrolizi yoluyla detoksifiye edici etki göstermektedir (Grdic ve ark., 2011). Bu enzimin klinik önemi; insanların pestisitlere maruziyetiyle organofosfatlı bileşiklerin detoksifikasyonu ile bağlantılı olduğundan (Androustopoulos ve ark., 2011), antioksidan aktivitesi ve antiaterojenik özellikleri de, düşük dansiteli lipoproteinleri (LDL) oksidatif modifikasyondan korumalarından ileri gelmektedir (Mackness ve ark., 1998b). Bu özellikleri lipid peroksidleri hidroliz etmelerinden (Aviram, 1999) ve makrofaj aracılı LDL oksidasyonunu geciktirmelerinden kaynaklanmaktadır (Rosenblat ve ark., 2006).

PON enzim aktivitesinin DM da % 10-15 civarında düştüğü belirlenmiştir ve bu azalmanın KVH 'ın gelişmesiyle ilişkili olduğu bilinmektedir (Ying, 2010).

PON enzim aktivitesinin önemi, diyabetin ilerlemesindeki koruyucu rolüyle açıklanmaktadır. Antioksidan aktivitesi nedeniyle PON enziminin uyarılması, diyabet gelişimini düşürerek etkili olmaktadır (Rozenberg ve ark., 2008). PON1 enzim aktivitesindeki artış için en çok çalışılan yöntemlerden birisi tıbbi bitkilerin kullanılması

ve uygulanmasıdır. Zira bir çok bitkinin bu enzimin aktivitesini arttırdığı bildirilmiştir (Parsaeyan ve ark., 2012; Takaeidi ve ark., 2014).

Bu çalışmanın amacı, *Vaccinium myrtillus* L. (Yaban mersini) meyvesi ekstraktının, diyabetik sıçanlarda PON enzim aktivitesinde ve lipoprotein seviyesi üzerindeki etkisini incelemektir. Bu çalışmanın asıl önemi yaban mersininin PON enzim aktivitesi üzerindeki etkisinin incelenmesidir. Bu çalışma ile *Vaccinium myrtillus* L. ekstresinin antidiyabetik etki mekanizması ile diyabetik kardiyovasküler komplikasyonların önlenmesinde PON enziminin olası koruyucu etkileri aydınlığa kavuşturulacaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diyabetes Mellitus

Diyabetes mellitus (DM), 2011’de 360 milyon kişiyi etkilemiş ve 2030 kadar bu sayının iki katına çıkması beklenen dünya genelinde görülen metabolik bir bozukluktur (Ryden ve ark., 2013). Bu hastalık kronik hiperglisemi, karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmalarındaki bozukluklarla karakterize, insülin sekresyonundaki yetersizlikten veya insüline dirençten veya her ikisinden de kaynaklanabilir (Alberti ve Zimmet, 1998; Cavaghan ve ark., 2000; Nyenwe ve ark., 2011). Çoğu durumda semptomlar şiddetli değildir ve bazen gizlidir, bu semptomlar ağız kuruluğu ve susama, sık idrara çıkma, bulanık görüş ve ağırlık kaybı olarak sıralanabilir (ADA, 2013). Diyabetli hastalar ketoasidoz ve koma gibi çok tehlikeli semptomlar sergileyebilirler (Alberti ve Zimmet, 1998).

2.1.1. Diyabetin teşhisi

Genel olarak, DM’nin teşhisi tip I ve tip II klasik semptomlara ve laboratuvar incelemelerine dayanır. Amerikan Diyabet Birliği’ne göre (ADA, 2003) teşhis üç model kullanılarak yapılabilir: Birincisi, klasik ve karakteristik semptomlar gösteren hastaların açlık plazma glikoz düzeyi (FPG) ≥ 126 mg/dL (7 mmol/L) ise hasta diyabettir. Teşhis için ikinci ölçüt, rastgele plazma glikozudur. Glikoz düzeyi 200 mg/dL (11 mmol/L)’den yüksek olup karakteristik semptomlar sergileyenler diyabet hastasıdır. Son olarak, oral glikoz tolerans testi (OGTT)’nde oral olarak 75 mg glikoz uygulanmasından 2 saat sonra plazma glikoz düzeyi 200 mg /dL (11 mmol/dL) olan kişilere diyabet teşhisi konulur (Alberti ve Zimmet, 1998; ADA, 2009).

Son zamanlarda, glikozillenmiş hemoglobin (HbA1c) testi teşhis sürecinde oldukça yaygın kullanılır hale gelmiştir. Çeşitli doğrulayıcı verilere dayanarak, 2013’da Amerikan Diyabet Birliği (ADA), HbA1c’i önemli bir ölçüt olarak tavsiye etmiştir. Standardize edilmiş çalışmalara göre, HbA1c \geq % 6,5 teşhisi doğrulamaktadır (ADA-2013).

HbA1c testi, eritrositlerin ömürlerinin yaklaşık 120 günü için ortalama glisemi seviyesini vermektedir. Bu nedenle, akut glisemiden daha çok kronik gliseminin saptanması için oldukça uygulanabilir olmaktadır. Bu testin üstünlüklerinden biri testin kararlı olmasıdır. Böylece beslenmeden kaynaklı günler arası glisemi dalgalanması, hastalık ve stress sonuçlara yansımaz ve ayrıca ölçüm için açlığa gerek duyulmaz. Bu yöntemin sakıncaları ise yüksek maliyetli oluşu ve hemogloblin hastalıklarına karşı hassasiyetidir (ADA, 2009; ADA, 2013).

Aynı kriterler, yukarıdaki mekanizmalardaki küçük bir değişiklikle, gebelik DM nin teşhisinde uygulanabilir. Birinci gebeliğe sahip kadınlar, obezite varlığı, aile hikâyesi, yaşla ve genetikle ilgili anormal karbonhidrat metabolizması dikkate alınarak düşük ve yüksek risk gruplarına bölünmelidir. Yüksek risk grubundaki bireyler diyabet taramasına alınmalıdır; ilk aşama testi basit açlık plazma glikozunun 126 mg/dL (7.0 mmol/L)'den ve rastgele kan glikozunun 200 mg/dL (11 mmol/L)'den daha yüksek olması gebelik diyabeti olarak ele alınmalıdır. Normal sonuçları elde edilmesi durumundaysa, doğrulayıcı oral glikoz testi uygulanmalıdır (Carpenter ve Coustan, 1982).

2.1.2. Diyabetin sınıflandırılması

DM'nin ve bozulmuş glikoz toleransının diğer tiplerinin en son sınıflandırılmasını, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Amerikan Diyabet Birliği (ADA) tarafından yapılan sınıflandırma yönteminde bir dizi değişiklik takip etmiştir (ADA, 2008). Bu organizasyonlara göre DM; tip I, tip II, gebelik diyabeti ve diyabetin diğer özel tiplerine ayrılmıştır (Carpenter ve Coustan, 1982; ADA, 2008; Goldenberg ve Punthakee, 2013).

Tip 1 Diyabetes mellitus (T1 DM) : Bu diyabet tipi tüm tiplerin % 5-10'unun oluşturmaktadır (ADA, 2008) ve sonuçta hiperglisemiye neden olan pankreatik beta hücrelerinin harabiyetinden kaynaklanmaktadır (Hanafusa ve Imagawa, 2007; Goldenberg ve Punthakee, 2013). Beta hücrelerinin hasarı mutlak insülin yetmezliği olarak bilinen son safhaya ilerlemeye yol açmaktadır. T1 DM gelişiminin etiyolojisi tam

olarak anlaşılmamıştır fakat genetik yatkınlığın ve çevresel faktörlerin rolü bildirilmiştir (Patterson ve ark., 2014).

En ağır basan özelliği, hastaların % 70-90'ında görülen, başlıca adacık hücrelerine karşı oluşmuş oto antikorların (Hanafusa ve Imagawa, 2007; Seino ve ark., 2010), insüline karşı (IAA) ve glutamik asit dekarboksilaz (anti GAD) varlığıdır (ADA, 2008); bunlar T1 DM'de ortaya çıkan tüm kompleks immünolojik modifikasyona karışmışlardır (Van Belle ve ark., 2011). Bu tip diyabeti bulunan hastaların tümünde antikorlar bulunmamıştır. Bu, T1 DM'nin daha ileri sınıflandırmasına yol açmış, antikor görülenler Tip I A diyabeti ifade ederken (otoimmün), antikor görülmeyenler Tip I B (idiyopatik) diyabet adı altında listelenmiştir (Eisenbarth, 2007; Gianani ve ark., 2010). Ketoasidoz insülin yetmezliğinden kaynaklanmaktadır, çünkü bu hormona ayrıca antilipolitik aktiviteye sahiptir ve eksikliği lipolizde artışa ve böylece ketoasidoza neden olur (Hanafusa ve Imagawa, 2007).

Tip 2 Diyabetes mellitus (T2 DM) : Bu diyabet tipi önceleri insüline bağımlı olmayan DM olarak bilinmekteydi (ADA, 2008). Diyabetik hastaların yaklaşık % 90-95'i bu tipdendir. Temel özellikleri, insülin direnci ve bağıl insülin yetmezliğidir. Bu tip diyabetli hastalar, hastalığın en azından başlangıç aşamalarında insüline ihtiyaç duymayabilirler ve pankreatik beta hücrelerinin yıkımı görülmez (ADA, 2013). Hastalığın ilerlemesi için insülin direncinden başka, azalmış insülin sekresyonu da önemli bir faktördür. (Nyenwe ve ark., 2011). Hastaların çoğunluğu aşırı kilolu ya da hayatlarının ilk evrelerinde aşırı kiloludurlar. T1 DM'nin aksine, T2 DM orta yaştan sonra çoğunlukla hayatın daha geç evrelerinde gelişir ancak ikinci derecede koşullara bağlı olarak gençlerde de görülebilir (Seino ve ark., 2010). Yaş, ırk ve genetik değiştirilemez nedenler arasındayken, kilo, şişmanlık ve hayat tarzı T2 DM'nin değiştirilebilir nedenleri arasında listelenmektedir (Nyenwe ve ark., 2011).

Gestasyonel Diyabet : Gestasyonel diyabet, gebelikten önce görülmemek üzere gebelik sürecinde herhangi bir glikoz intoleransı belirtmektedir (Metzger ve ark., 2007) ve insülin kullanarak ya da beslenmede değişiklik yapılarak tedavi edilmelidir (ADA, 2003). Büyüme hormonu ve kortizol, glikoz metabolizmasını etkileyen ve geri

alımını azaltan plasental laktojen sekresyonu ve plasenta tarafından salgılanan insülinaz gibi insülin antagonistlerindeki modifikasyonunu içeren birçok faktör insülin direncinde rol oynamaktadır (Ural ve Repke, 2008). Bu tip diyabet T2 DM gelişimi için bir risk faktörü olarak görülmektedir (Kim ve ark., 2002).

Diyabetin diğer spesifik tiplerinde; beta hücrelerindeki veya insülin sekresyonundaki genetik bozuklukları, ekzokrin ve endokrin hastalıkları, hiperglisemiye neden olan ilaçlar veya kimyasalları, enfeksiyonları, ve immün ilişkili diyabetin bilinmeyen formlarını içermektedir (ADA, 2008).

2.1.3. Diyabetin epidemiyolojisi

Nüfus artışı, obezite oranındaki artış ve fiziksel hareketsizlik diyabet yaygınlığında artışla bağlantılıdır. 2010'da tüm dünyadaki 171 milyon insan diyabet hastasıyken bu rakam 2013'de 382 milyona ulaşmıştır (Wild ve ark., 2004). Bu sayının 2035'e kadar % 55 oranında artacağı tahmin edilmektedir. Uluslararası Diyabet Federasyonu verilerine göre bu hastalık yalnızca 2013'de 5.1 milyon insanın ölümüne yol açmış ve 548 milyar Amerikan dolarına (USD) mal olmuştur (Guariguata, 2013). Bazı çalışmalardan elde edilen verilere dayanarak, 2010'daki en yüksek diyabet prevalansı Kuzey Amerika'da görülürken bunu Doğu Akdeniz, Ortadoğu, Güney Asya izlemiştir. Hindistan, Çin, ABD, Rusya Federasyonu ve Brezilya 2010'da diyabet prevalasında başta gelen ülkeler olmuşlardır. Diyabetin gelecekte gelişmekte olan ülkelere gelişmiş olan ülkelere göre daha yaygın olacağı tahmin edilmektedir (Shaw ve ark., 2010). 2002'de yürütülen Türk Endokrinoloji Metabolizma Derneği verilerine göre; Türkiye'de diyabet prevalansının derecesi % 7.2 ve bozulmuş glikoz toleransı (IGT) % 6.7 olarak bildirilmiştir (Satman ve ark., 2002). Bununla birlikte, 2011 verileri bu oranları diyabet için % 13.37'ye ve IGT için % 8 olarak verilmiştir (Buyukbese ve Bakar, 2012).

2.1.4. Diyabetin patogenezi

İnsülin direnci ve insülin yetmezliğinin her ikisi de T2 DM'nin karakteristiklerindedir (De Fronzo, 1999). Beta hücrelerinin disfonksiyonu ve azalmış kütlesi insülin yetmezliğinin nedenleridir (Sone ve Kagawa, 2004). Pankreatik beta hücresi disfonksiyonu hiperglisemi ve lipideminin aracılık ettiği hem glikotoksisite hem de lipotoksisiteden kaynaklanmaktadır (Poitout ve Robertson, 2002). Diğer taraftan, T2 DM'de farkedilen beta hücresi kütle azalmasına (Sakuraba ve ark., 2002) telafi edici rejenerasyonsuz hipoglisemi indüklenmiş beta hücrel apoptozu neden olmaktadır (Koyama ve ark., 1998).

İnsülin direnci hücrelerin, dokuların ve vücudun sistemlerinin insülinin normal miktarına cevap veremediği bir hastalık durumudur. T2 DM, insülin direncinde beta hücrelerinin yetersiz telafi edici fonksiyonundan kaynaklanmaktadır (Bonner-Weir, 2000). İnsülin dirençli hastalarda, insülin hepatik glikozu azaltamaz ve hedef organları depolama veya oksidasyon amaçlı olarak plazmadan glikoz almaları için uyaramaz (Ferrannini, 2009).

Farklı organlarda insülin direnci mekanizmaları farklı olmalarına rağmen, altta yatan sebeplerin tümünün yağ asidine aracılı enflamasyon olduğu bilinmektedir (Sears ve Perry, 2015). İnsülin etkisine olumsuz etki eden faktörlerin birçoğu yağ asitleri ve bazı proteinler olan adipokinler tarafından yağ dokularında salgılanır (Pereira ve Maahs, 2008). Serbest yağ asitleri ana faktördür. Palmitatın insülin reseptör proteinlerinin gen ekspresyonunu inhibe etme vasıtasıyla hücrel insülin reseptöründe bir azalmaya yol açtığı bilinmektedir. (Bhattacharya ve ark., 2007).

Enflamasyon esnasında makrofajlar, proenflamatuvar sitokinleri salgırlar. Bu sitokinler insülin tarafından hedeflenen insülin sinyal yolağını bozabilirler (De Luca ve Olefsky, 2007; Sears ve Perry, 2015). Sitokinlere ek olarak adipoz dokunun sekresyonu insülin etkisinde bozulmaya katkı sağlayan adinopektini ve leptinleri içerir (McArdle ve ark., 2013).

Diyabette ve insülin direncinde yüksek riskli etnik gruplar ve etnik köken nedeniyle risk seviyesindeki değişkenlik diyabetin genetik temeli için bir kanıt teşkil etmektedir (Leahy, 2005). İnsülin direncinde orta derecedeki genetik etkiler onaylanmıştır ve bu hastalığın birkaç formu sorumlu gen mutasyonundan dolayı insülin reseptöründeki defektlerden kaynaklanmaktadır (Mercado ve ark., 2002). Bu gerçeklere rağmen genotip, diyabet için sadece bir yatkınlık oluşturmaktadır ve diyabet gelişimi olasılığında çevresel faktörler esas rol oynamaktadır (Leahy, 2005). T2 DM ve bazı çevresel faktörler, örneğin obezite, fiziksel hareketsizlik ve sigara, arasındaki pozitif bir ilişki gözlenmiştir (Hu ve ark., 2001; Ferrannini, 2009).

2.1.5. Diyabetin komplikasyonları

Diyabet hem akut hem de kronik komplikasyonlara neden olabilir. Akut komplikasyonlar; diyabetik ketoasidozu ve komayı içerirken, kronik komplikasyonlar; vasküler sistemle bağlantılı, daha ileri bir şekilde makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlara sınıflandırılabilen tüm anormaliteleri kapsamaktadır. Mikrovasküler komplikasyonlar, küçük kan damarlarından kaynaklanan ve göz hasarlarını (retinopati), böbrek hasarını (nefropati) ve nöral hasarı (nöropati) içerirken, makrovasküler komplikasyonlar ise miyokardiyal enfarktüs (MI) ve serebrovasküler hastalığı (CVD) içermektedir (Forbes ve Cooper, 2013).

Akut Komplikasyonlar

Diyabetik Ketoasidoz: Bu hastalığın ana nedeni diyabette insülin yetmezliği dolayısıyla vücut yağ dokularını serbest yağ asitlerine yıkmak yoluyla, başlıca lipidler olmak üzere alternatif enerji kaynakları aramaktadır. Bu yağ asitleri enerji üretmek amacıyla Krebs döngüsüne katılan asetil CoA vermek üzere daha ileri bir şekilde metabolize edilirler. Bu metabolik aşamanın yan ürünleri sonucu hızlıca biriken ketonlardır (Asetonlar, asetoasetat ve hidroksil bütiratlar) (Trachtenbarg, 2005; Westerberg, 2013).

Diyabetik Koma: Koma, hastanın çevresinin farkında olmadığı bilinçsizlik hali olarak tanımlanabilir. Diyabette bu durum hiperglisemiden kaynaklanabilir. Semptomlar konfüzyonu, garip hareketleri ve nihayetinde bilinç kaybı içermektedir. (Ford-Adams ve Edge, 1999).

Kronik Vasküler Komplikasyonlar

Makrovasküler Komplikasyonlar (Makroanjyopati) : Hem CVD hem de Mİ içerir. Ana mekanizma olarak, hiperglisemi, ve oksidatif stress seviyesindeki artışın neden olduğu endotelial hücre hasarından kaynaklanan ve daha sonra immunolojik cevapları, plakların ve trombusların oluşumunu içeren ve sonrasında kan damarlarının daralmasının ve tıkanmasının takip ettiği bir dizi olay gelişir (Laakso, 2010; Zhou ve ark., 2014).

Mikrovasküler Komplikasyonlar (Mikroanjyopati)

Nefropati: Bu komplikasyon, mikroalbuminüriyle karakterizedir. Nefropati üç patolojik aşamada gelişir: İlk olarak, hasta normal seviyenin yaklaşık iki katı olmak üzere artmış glomerüler filtrasyon hızı (GFR) sergiler ve bu aşama ortalama beş gün sürer. İkinci aşama, GFR’da bir düşüş gözlenir ve orta seviyede mikroalbuminüri gelişebilir ve son olarak tedavi edilmemiş diyabet hastalarında şiddetli proteinüri ve kronik böbrek yetmezliği gelişir (Schena, 2005).

Retinopati: Polioll birikimi, ileri düzeyde glikollanmış son bileşikler (AGES), protein kinaz C aktivasyonu (PKC) ve oksidatif hasarı içeren birçok biyokimyasal olayın diyabetik retinopatide rolü olduğu bildirilmiştir. Oksidatif hasar hiperglisemiden kaynaklanır ve mikrovasküler hasara yol açan reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimine yol açar (Fong ve ark., 2004). Polioll oluşumu temel membrane kalınlığında artış, perisitlerin kaybı ve mikroanavrizma oluşumuna işaret eder (Engerman ve Kern, 1984).

Nöropati: Bozulmuş sinir fonksiyonunun başka nedenleri yoksa, nöropati diyabetik hastalardaki perifreal sinir disfonksiyonunun tüm belirtilerini ve

semptomlarını kapsar (Bansal, 2006). Nöropati tüm diyabet tiplerinde gelişebilir ve prevalansı diyabetin tedavi süresiyle orantılıdır (Tracy ve Dyck, 2008).

2.1.6. Diyabet ve oksidatif stres

Hiperlipidemi ve hiperglisemi içeren diyabetteki metabolik anormallikler, çoklu organ hasarına yol açan oksidatif strese neden olabilir (Wei ve ark., 2009). Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminden kaynaklanır ve insülin direnci, pankreatik beta hücrelerinin bozulmuş fonksiyonu ve bozulmuş glikoz toleransı gibi diyabetteki tüm patojenik yolların gelişmesindeki temel faktördür (Wright ve ark., 2006).

Oksidatif stres, diyabetteki mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonların gelişmesinde de rol oynamaktadır. Diyabetteki metabolik anormallikler nedeniyle küçük ve büyük kan damarlarını ve miyokardiyumu kaplayan hücrelerde mitokondriyal süperoksit üretiminde önemli bir artış görülmektedir. Süperoksit radikalinin aşırı üretimi hücrelerin hasarıyla ve sonunda diyabetik komplikasyonların gelişmesiyle sonuçlanan bir dizi majör yolağın tetiklenmesine yol açar (Giacco ve Brownlee, 2010). Glikozun oksidatif fosforilasyonu ve otooksidasyonundan oluşan ROS, antioksidan kapasiteyi azaltarak oksidatif hasarlara neden olmaktadır (Niedowicz ve Daleke, 2005). Bu oksidatif stress diyabet komplikasyonlarının temelini oluşturduğundan, antioksidan terapi diyabet tedavisi sürecinde hedeflenen yollardan biridir (Wei ve ark., 2009).

2.1.7. Diyabet tedavisi

Tedavide ilk aşamada hayat tarzının değiştirilmesi tavsiye edilmektedir. Çünkü obezite ve diyabet arasında önemli bir ilişki bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar artan kilo ile artan diyabet prevalansını göstermiştir. Bu yöntem, insülin hassasiyetini ve glisemik kontrolü destekleyen enerji alımında azalmayı ve fiziksel aktivitenin artışını içermektedir (Klein ve ark., 2004). Birçok diyabetik hasta hayat tarzı değişikliği hastalık kontrolünde yetersiz kaldığından dolayı insülin tedavisine ihtiyaç duymaktadır. Her birinin özel etki şekli olan birçok sınıf ve tip antidiyabetik ilaç mevcuttur.

Onaylanmış antidiyabetik ilaçların mekanizması, insülin sekresyonunun, hepatik glikoz sentezinin ve sindirimin gecikmesinin böylelikle, karbonhidrat absorpsiyonunun gecikmesinin stimüle edilmesini içermektedir (Krentz ve Bailey, 2005).

T1 DM'nin tedavisinde değişmez kural insülin tedavisidir. Bu tip şeker hastalığında insülin kullanmak bir zorunluluktur ve hayat kurtarıcıdır. Tedavinin diğer temel taşları ise sağlıklı beslenme, düzenli egzersiz ve eğitimidir. İdeal kan şekeri düzeyinin sağlanması için gün boyu belirgin özen ve günlük bakım gerekir. Kişinin kendini iyi hissetmesi ve sağlıklı yaşam sürdürmesi için gereken bakımı hayat biçimi haline getirilmelidir (Anonym 2016).

Kimyasalların yüksek maliyeti ve yan etkileri diğer tamamlayıcı ilaçların araştırılmasını gerekli kılmıştır (Atchutkumar ve ark., 2013). Tıbbi bitkiler, diyabetin tedavi edilmesi ve önlenmesinde Çin, Hindistan ve diğer Asya ülkelerde geçmişten beri kullanılmaktadır (Li ve Perera, 2012; Wang ve ark., 2013). Birçok bitki insülin sekresyonunu arttırmak, insülin etkisinde onarım, yağ ve kas dokularında hücresel glikoz alımı ve hepatoselüler glikoz sentezini azaltmak suretiyle çeşitli yollarla etki eden tedavide çok sayıda biyoaktif bileşik içermektedir (Li ve Perera, 2012; Li ve ark., 2013).

2.1.8. Diyabet ve lipoproteinler

Lipoproteinler, lipidlerin ve proteinlerin birleşmesinden oluşmuş biyokimyasal bileşiklerdir. Lipidler, kolesterol ve trigliserit esterlerinin globüler veya küresel nonpolar kütesidir. Bu lipidi çevreleyen fosfolipit, apoprotein ve esterlenmemiş kolesterol tabakasına bağlıdır (Cox ve García-Palmieri, 1990). Lipoprotein kaynakları, intestinal hücrelerden alınan besin lipidleri veya endojen lipidlerden karaciğerde sentezlenen lipidlerdir. Lipoproteinler genel olarak beş sınıfa ayrılmakta ve şilomikron, çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL), orta dansiteli lipoproteinler (IDL), düşük dansiteli lipoproteinler (LDL) ve yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL) olarak isimlendirilmektedir. Apoproteinler, lipoproteinlerin protein fraksiyonu olup,

lipoprotein assosiasyonu ve fonksiyonuna göre Apo (A, B, C, D ve E) türlerine ayrılmıştır (King, 2014).

Hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar (KVH) ve diyabet gibi hiperlipidemiyle ilişkili hastalıkların saptanmasında ve prevalansında lipoproteinler oldukça önemli bir öneme sahiptir ve bu nedenle lipoprotein konsantrasyonlarının saptanması tedavi şeklini kolaylaştırır (Lewis, 1973; Boronat ve ark., 2012; Wadhera ve ark., 2015).

Lipoproteinler arasında HDL-kolesterol, ters kolesterol taşıyıcı fonksiyonundan dolayı aterosklerozun ve KVH ın gelişmesine karşı koruyucu bir rolü olduğundan dolayı iyi huylu lipoprotein olarak değerlendirilir (Fisher ve ark., 2012). Ters kolesterol taşıyıcı etkisi, kan damarlarının çeperinden kolesterolün alımını ve karaciğer tarafından atılımı amacıyla karaciğere taşınmasını kapsamaktadır (Glomset, 1968).

HDL; ayrıca lezyon regresyonunu hızlandırarak aterosklerozun ilerlemesini geciktirir (Fisher ve ark., 2012). HDL-kolesterolün aksine, LDL-kolesterol, kardiyovasküler gelişiminde ters etki göstermektedir. LDL-kolesterol seviyesindeki düşüşün KVH riskini azalttığı bilinmektedir. Bu sonuç, hiperlipidemi teşhisinde LDL-kolesterolü total kolesterole alternatif yapmaktadır (Wadhera ve ark., 2015). LDL-kolesteroler (oksidasyon ve/veya glikasyon) modifiye edilecek ve endotelial duvarların endoteline girerek, aterosklerozun gelişimi esnasında endotelyumun enflamasyonuna ve hasarına yol açacaktır (Ross, 1999). Bulunan bu kanıtlar, LDL-kolesterol seviyesinde ve KVH'nin risk derecesinde bazı genetik mutasyonların rolü olduğunu göstermektedir (Wadhera ve ark., 2015).

Diyabetik Dislipidemi: T2 DM'da dislipidemi kardiyovasküler komplikasyonla ilişkilidir. Dislipidemi, HDL-kolesterol seviyesinde düşüş, hem LDL-kolesterol hem de plazma trigliserit seviyelerinde artışı içeren lipid ve lipoprotein seviyelerinde bozukluklarla karakterizedir. Açıklayıcı mekanizma, diyabetik hastalarda hepatik VLDL-kolesterolün aşırı üretimi ve kleransındaki bozukluktur (Krauss, 2004).

Dislipidemi, insülin direnciyle ilişkilidir ve diyabet oluşumu önce gelir. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalar lipoproteinlerin seviyesinde diyabet aracılı değişimi ayrıca doğrulamıştır. Garg ve ark. (2014), diyabetik hastalarda, normal kişilere göre kolesterol, LDL-kolesterol ve trigliserit seviyesinin yüksek olduğunu, HDL-kolesterol seviyesinin ise daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Dislipideminin hafifletilmesi diyabet tedavisinde davranış ve/veya ilaçlar yoluyla uygulanan yöntemlerden biridir (Al-Salih, 2010).

2.1.9. Pankreas

Pankreas, ikinci ve üçüncü lomber vertebralar hizasında yer alan, 15 cm uzunluğunda, 60-140 gram ağırlığında sekretuar bir organdır. Pankreasın arkasında aorta, splenik ven ve sol böbrek yer alır. Histolojik olarak bu organ çok sayıda doku ve organla kuşatılmıştır ve bu da tüm fiziksel aktivitelerde pankreası sabit tutmaktadır (Skandalakis ve ark., 2008; Campbell ve Verbeke, 2013).

Pankreasın iki fizyolojik rolü vardır, bunlar sindirim enzimlerinin salgılanması yoluyla sindirim ve plazma glikoz seviyesinin regülasyonudur. Bu organın yaklaşık % 90'ı ekzokrin pankreasın farklı bir hücre popülasyonu olan asiner hücreleri olarak bilinen sindirim enzimlerini salgılayan hücrelerden oluşur. Pankreas langerhans hücreleri endokrin fonksiyona sahiptir. Bu kısım insülin hormonu ve glikoz homeostasisinde rol oynayan diğer hormonları (glukagon) salgılamak üzere özelleşmiştir (Pandol, 2010).

Ekzokrin pankreas bölümü, besinlerin içeriğin sindirimi ve emilimindeki rolü için gerekli bütün enzimleri, su ve iyonları pankreatik kanalla duodenuma salgılar. Enzim olarak tripsin, kimotripsin, proteazlar, lipidlerin yıkımı için lipaz, karbonhidratların hidrolizi için amilazı içerir (Whitcomb ve Lowe, 2007).

Endokrin pankreas, insülin, glukagon, somatostatin ve pankreatik polipeptid hormonlarını salgılayarak emilen gıdaların hücresel beslenmede kullanımlarını ve/veya

depolanmalarını sağlar. Delta ve epsilon hücreleri de sırasıyla somatostatin ve ghrelin hormonlarını salgılar (Brass ve ark., 2010).

İnsülin, pankreastaki beta hücreleri tarafından salgılanan ve glukoz homeostazını regüle eden bir peptid hormondur. İnsülin, hücrel alım, lipit ve protein metabolizmasının regülasyonu ve hücrel bölünme yoluyla plazma glikoz seviyesinin normal sınırlar içinde kalmasını sağlar (Wilcox, 2005). Bu hormonun sentezi ve salımı çeşitli biyokimyasal reaksiyona ve adıma uğrar. Preproinsülin kaba endoplazmik retikulumdaki ribozomlarda üretilen ilk prekürsördür ve sinyal peptidlerin giderilmesiyle proinsüline modifiye edilir. Proinsülin golgi aygıtına aktarılır ve burada spesifik enzimler tarafından gerçekleştirilen birkaç reaksiyon dizisinden sonra biyoaktif insüline c peptide dönüştürülür (Dodson ve Steiner, 1998). Normal olarak, uyarı olmadan portal vene insülin salımı uyarılı, ancak glikoz aracılı uyarıda ilk aşamada kuvvetli ve çok hızlı insülin cevabı vardır ve ikinci aşamada ise az yoğun fakat daha uzun süren insülin sekresyonu gerçekleşir (Bratanova-Tochkova ve ark., 2002; Porksen ve ark., 2002).

İnsülin etkisi, her bir karbonhidratın, yağın ve proteinin metabolizması ile ilişkilidir (Dimitriadis ve ark., 2011). Karbonhidratlar üzerine olan etkisi, hepatik glikoz üretiminde (glikojenezis ve glikojenolizis) azalma ve yağ, kas ve kısmen de hepatik hücrelerdeki hücre membranından hücrel glikoz alımındaki artış içerir (Dimitriadis ve ark., 2011; Dube ve ark., 2013). İnsülin, adipoz dokuda lipolizi arttırmak ve trigliseritlerin adipoz ve kas dokularında hücrel alımını arttırmak suretiyle plazma yağ asiti seviyelerini düşürerek yağ metabolizmasına katılır (Dimitriadis ve ark., 2011). İnsülinin protein metabolizmasındaki rolü ise; dokulara amino asit taşınmasını artırması ve hücrel ribozomların artışıyla bazı doku ve organlarda protein sentezinde artıştır (Proud, 2006; Dimitriadis ve ark., 2011).

2.2. Paraoksonaz (PON) Enzimi

İnsan serum PON enzimleri, 43-47 kDa molekül ağırlığında ve 354 amino asit artığından oluşan HDL ile ilişkili kalsiyum bağımlı glikoprotein enzimdir (Grdic ve

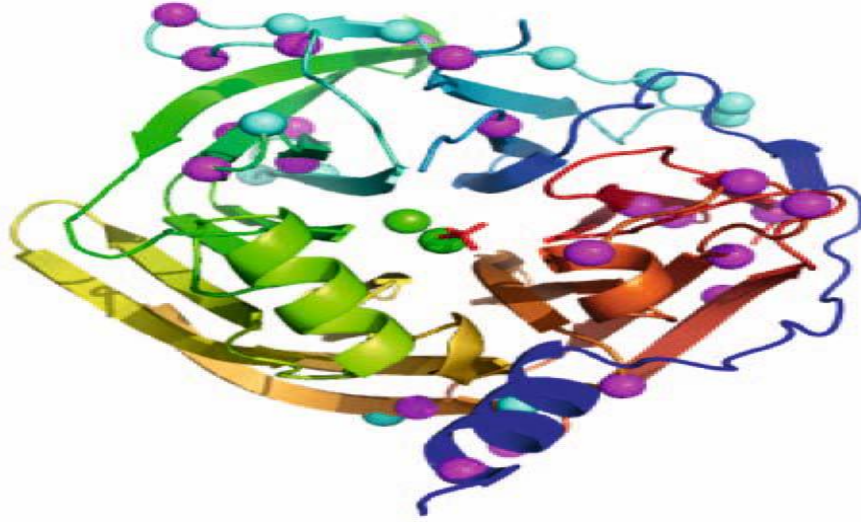
ark., 2011; Mackness ve Mackness, 2015). HDL'ye ek olarak, PON enzimleri, ayrıca kısmen VLDL'lere ve şilomikronlara bağlıdır. PON1, PON2 VE PON3 olmak üzere üç tip PON izoenzimi vardır. PON1 enzimi, organofosfataz, arilesteraz ve laktonaz aktiviteleri sergileyen multifonksiyonel bir enzimdir. Bu tipin ayrıca antiaterojenik özellikleri vardır (Grdic ve ark., 2011). Bu fonksiyonların bazıları ilaçların ve sinir gazlarının detoksifikasyonuna katılır (Harel ve ark., 2007). PON enzimleri insan genomunda 7. kromozomda yer alırken, farelerde 6. kromozomda yer alır (Primo ve ark., 1996).

2.2.1. Paraoksonaz (PON) enzimi yapı ve sentezi

PON1 enziminin yapısının saptanması için yürütülen kristalografi çalışmalarına göre, serbest sistein, substrat tanınması ve bağlanması için gereklidir. PON1'in, hidrofobik N-terminal bölgesi HDL lipidleriyle etkileşim için gereklidir. Kristalografi çalışmalarına göre 6 kanatlı beta pervane yapısına sahip olduğu görülmüştür. N-terminal hidrofobik bölge ile fosfolipidlere ve lipoproteinlere kolayca bağlanabilmektedir. PON1'i bağlayan HDL alt birimleri, apolipoprotein AI (Apo AI) ve Apo C (clusterin) proteinlerini de içerdiğinden, Apo AI ve Apo C'nin bağlanmada rol oynayabileceği düşünülmektedir. Bu enzimin katalitik aktivitesi ve stabilitesinin sağlanması için yapılarında iki kalsiyum iyonu içerirler (Harel ve ark., 2007). Aktif olan bölümde, kalsiyum iyonlarına rağmen, histidin, aspartat ve triptofandan oluşan bir aminoasit zinciri yer alır (Khersonsky ve Tawfik, 2006). Bu amino asitlerden histidin 115 ve 134 PON1'in laktonaz aktivitesine ve PON2'nin esteraz aktivitesine katılırken, diğer aminoasit artıkları PON1'in fosfotriesteraz aktivitesi gösterirler (Khersonsky ve Tawfik, 2006; Grdic ve ark., 2011). Substrata bağlanması ve düzenlenmesi, sistein 284 aracılığı ile sağlanmaktadır. Antioksidan aktivite için bir başka katalitik bölge öne sürülmüştür, fakat bunun için daha ileri çalışmalara gerek vardır (Grdic ve ark., 2011).

PON1 izoenzimi, karaciğerde sentezlenir ve HDL ile bağlanmasının sağlanması için dolaşıma transfer edilir. HDL, PON enzim sekresyonunu stimüle eden ve salgılanan enzimi stabilize eden optimal bir fizyolojik akseptör kompleksi oluşturur. Enzimin hidrofobik N-terminal bölgesi lipoproteinlerin sağladığı amfipatik ortamla korunur.

PON1 enzimi, lipoproteine enzimin N-terminal hidrofobik sinyal peptide ve HDL'nin fosfolipiti ile bağlanmıştır (James ve Deakin, 2004).



Şekil 1. Rekombinant paraoksonaz (PON1) enziminin yapısı (Harel ve ark., 2007).

2.2.2. Paraoksonaz (PON) enziminin fonksiyonları

Bütün PON enzim tiplerinin laktonaz aktivitesi gösterdiği bilinmektedir (Draganov ve La Du, 2004). Laktonlar, tabiatın her yerinde ve canlı organizmalarda da bulunan maddelerdir. Alkilleyici ajanlar ve enzim inhibitörleri olarak çalışırlar (Konaklieva ve Plotkin, 2005). PON'lar için doğal maddeler olan laktonlar hücrel sinyal, büyüme ve farklılaşma aşamaları üzerinde etkilidir. Bu nedenle, laktonların metabolizmasında ve biyolojik aktivitesinde değişiklikler PON'ların bazı fizyolojik rolünü belirler (Draganov ve Teiber, 2008).

PON, okside olmuş yağ asitleri, homoserine, sistein laktonlar ve statinleri içeren bazı laktonları metabolize eder. Bu maddelerin okside edebilme kabiliyeti PON1'a antioksidan özellikler kazandırır (Ross, 2008).

Yapılan bir çalışmaya göre PON'un laktonaz aktivitesindeki artış T1 DM'de enflamasyon derecesinin ve azalmış antioksidan kapasitenin telafi edilmesinde yetersiz kalmaktadır (Savu ve ark., 2014).

PON enziminin laktonaz aktivitesine ek olarak, organofosfataz aktivitesi de bilinmektedir. Organofosfatazlar, insanların maruz kaldığı pestisitlerin temel bileşenleri olan kimyasal bileşiklerdir (Androutsopoulos ve ark., 2011). Pestisitlerde paketlenmiş organofosfatazların birçok nörodejeneratif hastalıkla ve amyotropik lateral sklorozla bağlantılı olduğu kanıtlanmıştır (ALS) (Kamel ve Hoppin, 2004). Toksik okson formları, organofosfatazlardan vücutta oksidatif desülfürasyon aracılığıyla üretilmektedir. Diazinonlar ve klorpirifoslar organofosfatazlardan meydana gelen oksonlar olup, PON1 ile hidrolize edilirler (Androutsopoulos ve ark., 2011). PON1 enziminin aktif şekilde bulunması, organofosforlu (OP) toksifikasyon için önemli bir göstergedir ve çalışmalar hayvanlara PON uygulamasının hayvanları OP toksifikasyonuna karşı koruduğunu göstermiştir. Diğer taraftan, PON1 enzim yokluğunun hayvanlarda bazı oksonlara karşı hassasiyeti arttırdığı bildirilmiştir (Costa ve ark., 2013).

2.2.3. Paraoksonaz (PON) enziminin biyokimyasal etkileri

Anti-aterojenik aktivite ve lipid metabolizması: Mackness ve ark. (1998b), PON1'in LDL oksidasyonunda redüktif rolü olduğunu ve böylece PON1 izoenzimin antiaterojenik enzim olduğunu öne sürmüşlerdir. Bu bulgular farklı mekanizmaları kullanan çeşitli çalışmalarla doğrulanmıştır (Draganov ve La Du, 2004). PON1 bu etkisini, spesifik lipid peroksidleri okside olmuş lipidlerde hidroliz etme yoluyla HDL ve LDL'yi oksidatif modifikasyondan koruyarak sergilemektedir (Aviram, 1999). PON1'in antiaterojenik aktivitesi koroner arter hastalarının KAH normal bireylere göre daha düşük PON seviyesine sahip olduğunun ortaya çıkarılmasıyla tartışılmaya başlamıştır (Mackness ve Mackness, 2015). Çalışmalar PON1 aktivitesinin KAH gelişiminde HDL düzeyinden bağımsız bir risk faktörü olduğunu doğrulamıştır (Mackness ve ark., 2003; Bhattacharyya ve ark., 2008; Ikeda ve ark., 2008).

Bir diğer mekanizma PON1'in makrofaj indüklenmiş LDL oksidasyonunu azaltmasıdır (Rosenblat ve ark., 2006). Makrofajların ateroskleroziste serbest kolesterolün birikmesine ve okside olmuş LDL'nin alınma neden olması nedeniyle önemli bir rolü olduğu bilinmektedir (Dickhout ve ark., 2008). PON1'ler LDL

oksidasyonlarını inhibe ederek ve bu hücrelerden kolesterol akışını stimüle ederek ateroskleroziste makrofaj aktivitesini geciktirirler (Rosenblat ve ark., 2006). Yapılan çalışmalar PON1'in makrofajların gösterdiği proenflamatuvar cevabı doğrudan azalttığını göstermiştir (Aharoni ve ark., 2013). Bu hücrelerdeki birçok metabolik bozukluk bozulmuş glikolizis ve sitrik asit döngüsü ve hücrel apoptozun aktivasyonunu içeren okside edilmiş LDL tarafından indüklenmekte olduğundan dolayı, bu enzim ayrıca endotelial fonksiyonların normalleşmesinde de etkilidir (Besler ve ark., 2011; García-Heredia ve ark., 2013). PON1 enziminin aterosklerozisin önlenmesinde metabolik değişimleri azalttığı ve apoptozu inhibe ettiği bilinmektedir (García-Heredia ve ark., 2013).

Diyabette PON1 enzimi: Yapılan çeşitli çalışmalara göre DM, PON1 enzim aktivitesinde % 10-15'lik düşüşle bağlantılıdır. PON enzimi azalmasının nöropati ve retinopati gibi mikrovasküler komplikasyonlarla daha çok görüldüğü bilinmektedir ve bu da aterosklerozisin gelişime neden olmaktadır (Kota ve ark., 2013). PON1 ekspresyonundaki artış diyabet gelişiminde önleyici olduğu ve bunun bu enzimin antioksidan özelliğine bağlanabileceği bildirilmiştir (Rozenberg ve ark., 2008).

Diyabet hastalarında PON enzimi aktivitesinin azalmasının, kardiyovasküler hastalık artışı ile yakından ilişkili olduğu ve böylece KAH için bir öngösterge olduğu belirtilmiştir (Ying, 2010). Diyabetik komplikasyonların PON1 enzim aktivitesi azalmasının derecesini etkilediği bilinmektedir ve bu enzim aktivitesinin diğer diyabet hastalarına göre retinopatili diyabetik hastalarda az olduğu belirlenmiştir (Mackness ve ark., 2000). Diğer bir açıklayıcı mekanizma PON'ın okside olmuş LDL'ye karşı redüktif rolünün olmasıdır ve bu özellik sonuçta retinositlere karşı toksisitesi nedeniyle retinopatideki ana unsur olmasıdır. (Mackness ve ark., 1998b; Mackness ve ark., 2000). Düşük PON enzim aktivitesi de diyabetin nöropatik komplikasyonu ile ilişkilendirilmiştir ve nöropatik bireylerde düşük enzim aktivitesine rastlanmıştır. Diyabetteki düşük PON enzim aktivitesini açıklayan iki mekanizma vardır; bunlardan birincisi dolaşımda bulunan inhibitor ve ikincisi HDL'ye bağlanan enzimlerdeki bozulmadır (Abbott ve ark., 1995).

2.2.4. Paraoksonaz (PON) enziminin polimorfizmi

PON1 enzimi, iki tekli nükleotid polimorfizmi bulunmasından dolayı dört etkili alloenzime sahiptir. Biri, 55'inci pozisyonda metiyoninin (M) ve lösinin (L) süstitüsyonlu PON1 M 55 L şeklinde eksprese edilmiş ve diğeri de PON1 Q 192 R şeklinde eksprese edilmiş glutaminin (Q) ve arjininin (R) süstitüsyonlu 192'inci pozisyondadır (Humbert ve ark., 1993). Bu genetik polimorfizm bireyler arasında enzimlerin aktivitesinde oldukça geniş bir farklılığa sebep olmaktadır, örneğin, PON1 Q 192 R aktivite hızı çeşitli substratlara bağlıdır. PON1- R izoformu hızlı bir şekilde paraoksonlara hidroliz olurken, PON1 - Q izoformu diazokson hidrolinde daha hızlıdır (Mackness ve ark., 1998a). Bu polimorfizm PON1 enzim aktivitesini LDL oksidasyonu üzerindeki inhibitör etkisi, enzimin çeşitli hastalıklarla ilişkisi ve farklı etnik gruplardaki dağılımını içeren birçok yol ile etkilemektedir (Mackness ve Mackness, 2015).

2.2.5. Paraoksonaz (PON1) enzim aktivitesi üzerine tıbbi bitkilerin etkileri

Son yıllarda, bitkisel ilaçların PON1 enzim aktivitesi üzerinde olan etkisini araştıran çalışmalar artmıştır. Takaeidi ve ark. (2014), kolza tohumlarının hiperkolesterolemik sıçanlarda PON ve arilesteraz enzim aktivitelerini arttırdığını ve sonuç olarak bu bitkinin tohumlarının düşük PON enzim aktivitesiyle ilişkili hastalıkların semptomlarını azaltmada ve hafifletmede yararlı olabileceğini bildirmişlerdir.

İnsanlar üzerindeki araştırmalarda göre nar meyvesinin diyabet hastalarında yararlı bir rolü olduğunu gösterilmiştir. Altı ay boyunca günlük 200 mL nar suyu içilmesi hastalarda PON seviyesinde önemli bir artışa yol açmıştır (Parsaeyan ve ark., 2012). Bu etkilerin genetik temele dayandığı bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada, *Graptopetalum paraguayense* ekstresinin PON1 genini arttırmada etkili olduğu ve hatta bu tıbbi bitkinin antiaterojenik özelliğinin PON1 enzimin genetik olarak artmasıyla bağlantılı olduğu bildirilmiştir (Cheng ve ark., 2012). Tıbbi bitkilerin etkilerinin fenolik bileşikler gibi doğal antioksidanların etkilerinden kaynaklandığı ileri sürülmektedir,

çünkü bu bileşiklerin ekstraksiyonunun PON1 enzimi üzerinde aynı etkiyi gösterdiği çalışmalarla kanıtlanmıştır. Diyabetik sıçanlara likopen verilmesinin PON1 enzim seviyesini önemli ölçüde arttırdığı saptanmıştır (Yegin ve ark., 2013; Takaeidi ve ark., 2014).

2.3. *Vaccinium myrtillus L* (Yaban mersini)

Vaccinium myrtillus L (Yaban mersini) Avrupa'da dağlık bölgelere yayılmış ve buraya özgü bir çalı olup Kuzey Amerika ve Asya'da da rastlanılmaktadır. Filogenetik olarak, bu bitki *Vaccinium* cinsine aittir ve büyümesi için otlaklara ve nemli ormanlara ihtiyaç duyar. Yaban mersini küçük (5-9 mm), mavimsi-siyahımsı ve çok sayıda tohum içeren meyvelerle karakterizedir (Chu ve ark., 2011). Beslenmenin yanı sıra, bu bitkinin meyveleri, geleneksel tıpta böbrek taşları, safra hastalıkları ve tüberküloz gibi çok sayıda hastalığın tedavisinde yüzyıllardır kullanılmaktadır (Tracy, 2007). Ayrıca, yaprakları hiperglisemiyi tedavi etmede kullanılmaktadır. Bu geleneksel kullanımlar bu bitkiyi bir çok araştırmacı için çalışmalarının odak noktası haline getirmiş ve yaban mersininin göz hastalıkları, damar hastalıkları ve diyabet tedavisindeki etkisi üzerine çok sayıda araştırma yürütülmüştür (Helmstädter ve Schuster, 2010). Yaban mersini, antosiyaninler, çeşitli şekerler, vitaminler, pektin, flavonlar ve organik asitler gibi birçok biyokimyasal bileşik içermektedir (Helmstädter ve Schuster, 2010; Lowenthal ve ark., 2012). Bu maddeler arasında; meyveye kırmızı ve mavi rengini veren fenolik bir bileşik olan antosiyaninlerin çok sayıda klinik rolü ve yararlı sağlık etkileri olduğu bilinmektedir. Bu bileşikler antioksidan, antienflamatuvar, antikarsinojenik, antimikrobiyal ve hipoglisemik aktivite gösterirler (Şekil 2, Chu ve ark., 2011).

2.3.1. *Vaccinium myrtillus L*. (Yaban mersini) bitkisinin kimyasal yapısı

Yaban mersini, meyvelerinde ve yapraklarında, flavonoidlere ait antosiyaninler, kuersetin, kateşinler, tanenler ve fenol gibi organik asitleri kapsayan farmakolojik olarak önemli çok sayıda bileşik bulunmaktadır (Helmstädter ve Schuster, 2010; Lowenthal ve ark., 2012). Antosiyanin ve flavonoid bileşikleri, yaban mersinine

antioksidan ve antidiyabetik özellik kazandırır (Bagchi ve ark., 2004; Miguel, 2011; Babu ve ark., 2013).



Şekil 2. *Vaccinium myrtillus* L. (Yaban mersini) bitkisi (Chu ve ark., 2011).

2.3.2. *Vaccinium myrtillus* L. (Yaban mersini) bitkisinin biyokimyasal etkileri

Birçok çalışmada, bitkinin klinik olarak önemli rolleri gösterilmiş, potansiyel antioksidan aktivitesi, antikanser etkileri, antimikrobiyal ve antienflamatuvar özellikleri ile birçok hastalığa karşı yararlı etkileri ortaya konulmuştur. Elde edilen bulgular yaban mersininin göz hastalıklarında, nörolojik bozukluklarda ve diyabetteki rolünü desteklemektedir. Birçok araştırmacı, yaban mersini suyunu doğrudan kullanmak yerine ekstrakte edilmiş antosiyaninleri kullanmışlar ve bu bitkinin etkilerinin antosiyaninlerin bir rolü olduğunu ortaya koymuştur (Tracy, 2007; Helmstädter ve Schuster, 2010; Chu ve ark., 2011; Yang ve Kortensniemi, 2015).

Vaccinium myrtillus L. (Yaban mersini), bitkisinin hipoglisemik etkisi bu bitkinin içerdiği fitokimyasalların antidiyabetik aktivitesini göstermektedir. Antosiyaninlerin hipoglisemik etkileri insülin direncini azaltmak ve iyileştirmek, beta hücrelerinden insülin sekresyonunu arttırmak, beta hücrelerini oksidatif hasardan korumak ve ince bağırsaktaki karbonhidrat sindirimini kapsamaktadır. Antosiyaninlerin, antioksidan

özellikleri beta hücrelerini hiperglisemi kaynaklı oksidatif hasardan korumakta önemli bir rol oynamakta ve antiinflamatuvar özellikleri ise insülin direncinde hafifletici bir etki göstermektedir. Bunlara ek olarak, diğer enzimatik inhibisyonda antidiyabetik aktiviteyle bağdaştırılabilir (Sancho ve Pastore, 2012).

Antosiyaninlerden farklı olarak flavonoidler (flavan-3-oller, falavanlar, flavonoller ve izoflavanlar) antosiyaninlerdekine benzeyen fakat başlıca çeşitli mekanizmalar aracılığıyla antidiyabetik etkilerini gösterirler (Babu ve ark., 2013). Diyabet için başka bir risk faktörü olan obezite de antosiyaninler tarafından hedeflenir. Yapılan hayvan çalışmalarında, bu pigmentin obezite derecesinde ve yağ kütlesinde lipojenesis transkripsiyon faktörlerini inhibe ederek ve adipositlerde lipid birikimini geciktirerek azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Lee ve ark., 2014). Yaban mersi yaprağı ekstraktının, hastalığın farklı evresindeki deneysel diyabetik sıçanlarda plazma trigliserit seviyesini azalttığı ve plazma glikoz seviyesini % 26 düşürdüğü bildirilmiştir (Cignarella ve ark., 1996).

Diyabetik sıçanlara yaban mersini meyvesi tozunun verilmesi plazma glikoz seviyesinde düşüş, insülin aktivitesinde yükselme, lipid ve lipoprotein aktivitelerinde azalma ile sonuçlanmıştır. Bu bulgular yaban mersininin hem diyabette hem de bozulmuş lipid metabolizmasındaki koruyucu etkisini ortaya koymuştur (Asgary ve ark., 2015). Vacciniumun diğer türlerinin (böğürtlen, dut ve yaban mersini), antidiyabetik aktiviteleri, bitki ekstraktlarını doğrudan kullanarak ya da saflaştırılmış antosiyaninleri kullanarak da ayrıca bildirilmiştir (Grace ve ark., 2009; Ştefănuț ve ark., 2013).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Deney hayvanları

Çalışmada, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesi'nden temin edilen otuziki (32) adet erkek Wistar albino sıçan (300–350 g) kullanıldı. Deney hayvanları; özel kafesler içinde tutuldu ve standart sıçan yemi ile beslendi. Sıçanlar, 12 saat ışık / karanlık periyodunda ve 18–22 °C'de muamele edildi, uygulama öncesi 15 gün önce karantinaya alındı.

Çalışma, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 26.11.2015 tarih ve 2015/13 sayılı izni araştırma onayı ve 05.05.2016 tarih 2016/4 sayılı araştırma kesin sonuç onayı alınarak, etik kurul denetçileri gözetiminde, etik kurulun prensiplerine göre gerçekleştirildi.

3.1.2. Cihaz ve laboratuvar malzemeleri

Biyokimyasal otoanaliz cihazı (Hitachi-911, Japonya)

Derin dondurucu (Arçelik, Türkiye)

EDTA'lı ve jelli tüpler

Eliza okuyucu (Anthos-Zenith-200 rt)

Ependorf tüpleri

Falkon tüp 15 ml, 50 ml

Glikoz tayin cihazı (eBsensor, Taiwan)

Hassas terazi, Bosch S2000

İnsülin enjektörü

Mavi, sarı otomatik pipet ucu

Otomatik pipet (Socorex)

Santrifüj (Universal 320 R)

Spektrofotometre (Boaco S-22 UV/Vis)

Su banyosu

Tek kullanımlık normal enjektör 5 mL

Vorteks (Mixer VM20)

3.1.3. Kimyasal maddeler

Distile su

HbA1c ölçüm kiti (Roche, Almanya)

PON enzim aktivitesi ölçüm kiti (Rel assay, Türkiye)

Rutin biyokimyasal parametre ölçüm kiti (Glukoz, kolesterol, trigliserit, lipoprotein, amilaz ve lipaz; Roche, Almanya)

Sitrik asit (Merck, Almanya)

Streptozotosin (Sigma, ABD)

Yaban mersini ekstresi % 25 antosiyanin (Bilberry, GNC, ABD)

3.2. Yöntem

3.2.1. *Vaccinium myrtillus* L. (Yaban mersini) ekstraktı ve deney hayvanlarına uygulanması

Bu çalışmada, *Vaccinium myrtillus* L. ekstraktının, diyabetik sıçanlarda, PON ve pankreas enzim aktiviteleri ve lipoprotein düzeyleri araştırıldı. Bu amaçla, deneme gruplarında toplam 32 erkek, 2 aylıktan büyük, 250 - 300 g sıçanlar yer aldı. Her grupta 8 sıçan yer aldı. Deney hayvanları; kontrol (K), diyabet (D), *Vaccinium myrtillus* (VM) ve diyabet+ *Vaccinium myrtillus* (DVM) olarak dört (4) gruba ayrıldı.

1.Grup (Kontrol (K) Grubu): Bu gruptaki deney hayvanlar, standart sıçan yemi ile beslendi. Her gün saat 08.00'de yemler toplandı, saat 10.00'da her sıçana 1mL distile su intragastrik gavaj ile verildi.

2.Grup (Diyabet (D) Grubu): Bu gruptaki deney hayvanlarında, deneysel diyabet oluşumu için intraperitoneal streptozotosin (STZ) (45 mg/kg) uygulandı (Yegin ve ark., 2010). 72 saat sonra kuyruk veninden kan alınarak, glukoz düzeyi test edildi. Glukoz düzeyi >270 mg/dL üzeri sıçanlar, diyabet olarak kabul edildi. Bu grup sıçanlara üç (3) hafta boyunca standart sıçan yemi verildi. Her gün saat 08.00'de yemler toplandı, saat 10.00'da her sıçana 1mL distile su intragastrik gavaj ile verildi.

3.Grup (*Vaccinium myrtillus* L. (VM) Grubu): Bu gruptaki deney hayvanlarına üç (3) hafta boyunca standart sıçan yemi verildi. Her gün saat 08.00'de yemler toplandı, saat 10.00'da, *Vaccinium myrtillus* L. (Bilberry, GNC, USA) ekstresi 1.2 mg/kg distile suda çözdürülerek her sıçana 1 mL düzeyinde intragastrik gavaj ile verildi (Grace ve ark., 2009).

4.Grup (Diyabet ve *Vaccinium myrtillus* L. (DVM) Grubu): Bu gruptaki deney hayvanlarına deneysel diyabet oluşumu için intraperitoneal streptozotosin (STZ) (45 mg/kg) uygulandı. 72 saat sonra kuyruk veninden kan alınarak glukoz düzeyi test edildi. Glukoz düzeyi >270 mg/dL üzeri sıçanlar, diyabet olarak kabul edildi. Bu grup sıçanlara üç (3) hafta boyunca standart sıçan yemi verildi. Her gün saat 08.00'da yemler toplandı, saat 10.00'da, *Vaccinium myrtillus* L. (Bilberry, GNC, USA) ekstraktı 1.2 mg/kg distile suda çözdürülerek her sıçana 1 mL düzeyinde intragastrik gavaj ile verildi (Grace ve ark., 2009).

3.2.2. Kan örneklerinin alınması

Kan glikoz seviyeleri, deneme sürecinde sıçanların kuyruk veninden alınan kanlarda glukometre el ekipmanı ve stripler (eBsensor, Tayvan) kullanılarak ölçüldü. Tam kanda glukoz düzeyi, >270 mg/dL üzeri sıçanlar, diyabet olarak kabul edildi.

Çalışmanın 22. günü sonrasında anestezi altında kalbin apeksinden enjektörle kan numuneleri alınarak, EDTA'lı ve jelli tüplere aktarıldı. Kan glukoz miktarı ölçümü ve tüm kanda HbA1c ölçümü aynı gün gerçekleştirildi. Elde edilen serumlar, PON ve pankreas enzim aktivite ile lipoprotein ölçümleri için analize kadar -20° C'de saklandı.

3.2.3.Biyokimyasal analizler

Serum PON enzim aktivite düzeyi, rel assay PON enzim kiti ile spektrofotometrik; serum lipoprotein, glukoz ve pankreas enzim (amilaz, lipaz) aktivite düzeyleri, kit ile otoanalizatörde, HbA1c düzeyi ise, kit ile kolorimetrik olarak analiz edildi.

Serum glukoz ölçümü

Serum örneklerinde glukoz ölçümü, glukoz oksidaz test kiti ile otomatik biyokimya analizörü (Cobas C311, Roche-Almanya) kullanılarak saptandı.

Prensip: Glukoz testinin prensibi, glukozun heksokinazın enziminin ile oksidasyonuna dayanır. Heksokinaz enzimi, glikozu ATP varlığında glikoz-6-fosfata katalize eder. Bundan sonra, glukoz 6 fosfat, G6PD enzimi tarafından glukonat-6-fosfata okside edilir ve sonuçta NADPH üretilir. NADPH oranı, glikoz miktarının göstergesidir.

Tüm kanda HbA1c ölçümü

Tüm kanda HbA1c ölçümü, kit ile otomatik biyokimya analizörü (Cobas C311, Roche-Almanya) kullanılarak saptandı.

Prensip: Tüm kanda HbA1c, çözünmeyen antijen-antikor kompleksleri oluşturmak için, anti-HbA1c ile reaksiyona sokulur. Daha sonra ikinci bir antikor, anti-HbA1c antikor (çözünmeyen madde) oluşturmak için ilave edildi. Bu anti-HbA1c antikorü türbidimetrik yöntemle belirlenir.

Serum kolesterol ölçümü

Serum örneklerinde kolesterol ölçümü, kit ile otomatik biyokimya analizörü (Cobas C311, Roche-Almanya) kullanılarak saptandı.

Prensip: Kolesterol, esteraz varlığında, kolesterol esterleri, kolesterol ve yağ asitlerine hidrolize edilir. Kolesterol, kolesterol oksidaz tarafından kolestenone ve hidrojen peroksida oksitlenir. Hidrojen peroksida, peroksida mevcudiyetinde bir kromojenik oksijen alıcısı (fenol-ampyrone) tarafından tespit edilir. Oluşan kırmızı renk numunede mevcut olan kolesterol miktarı ile orantılıdır.

Serum trigliserit ölçümü

Serum örneklerinde trigliserit ölçümü, kit ile otomatik biyokimya analizörü (Cobas C311, Roche-Almanya) kullanılarak saptandı.

Prensip: Triasilgliserol gliserol enzimatik tayini dayanmaktadır. İlk olarak, lipoproteinler lipaz ile hidrolize edilir. Bundan sonra, trigliseritler, gliserol fosfat oksidaz (GPO) enzim tarafından belirlenir.

Serum HDL - kolesterol ölçümü

Serum örneklerinde, HDL – kolesterol ölçümü, kit ile otomatik biyokimya analizörü (Cobas C311, Roche-Almanya) kullanılarak saptandı.

Prensip: Bu deney, iki ayrı reaksiyon kademesini içerir. Öncelikle, kolesterol estera, kolesterol oksidaz ve katalaz tarafından, şilomikron, VLDL kolesterol ve LDL-kolesterolün eliminasyonu içermektedir. İkinci adımda, reaktifler içinde sağlanan deterjanlar vasıtası ile HDL-kolesterol ölçümü gerçekleşir.

Serum LDL - kolesterol ölçümü

Serum örneklerinde LDL – kolesterol ölçümü, kit ile otomatik biyokimya analizörü (Cobas C311, Roche-Almanya) kullanılarak belirlendi.

Prensip: Ölçüm prensibi iki aşamadan oluşmaktadır. İlk aşamada sadece LDL lipoprotein olmayanları deterjan 1 ile eritilir. renksiz bir bileşiği, kolesterol oksidaz (CO) ve kolesterol estera (CE) enzimlerin eylemleri ile, kolesterolden oluşur. İkinci evrede; Deterjan 2 LDL-C'yi çözünür. Bundan sonra, kromojenik madde, LDL-C ye renk verir ve Bu LDL kolorimetrik yöntemle saptanabilir.

Serum VLDL – kolesterol ölçümü

Serum örneklerinde VLDL – kolesterol ölçümü, aşağıdaki formülle hesaplandı.
VLDL-kolesterol = Serum triglisrit düzeyi /5

Serum amilaz enzimi ölçümü

Serum örneklerinde amilaz enzimi aktivite ölçümü, kit ile otomatik biyokimya analizörü (Cobas C311, Roche-Almanya) kullanılarak tespit saptandı.

Prensip: Pankreatik amilaz enzim aktivitesi, kolorimetrik olarak enzimatik reaksiyonlar ile tespit edilir. Amilaz enzimi, bir substrat (ethylidene G7 PNP) ile reaksiyona girer ve sonuçta P-nitrofenol oluşur. P-nitrofenolu, oluşum hızı amilaz aktivite düzeyi ile orantılıdır.

Serum lipaz enzim ölçümü

Serum örneklerinde lipaz enzim aktivitesi, kit ile otomatik biyokimya analizörü (Cobas C311, Roche-Almanya) kullanılarak tespit saptandı.

Prensip: Lipaz enzimi, 6-metilresolufin ile reaksiyona girer ve sonuç olarak glutarik asit metilresoulfin oluşacaktır. Glutarik asit metilresoulfin kararsız bir maddedir. Kendiliğinden metilresoulfin ve glutarik asit haline dönüşür. Bu reaksiyon sonucu oluşan kırmızı renk ölçülebilir ve bu renk lipaz enzim aktivitesi ile doğru orantılıdır.

Paraoksonaz (PON) enzim aktivitesinin ölçümü

PON enzim aktivitesi, rel-assay enzim kiti ile UV-VİS spektrofotometre cihazında ölçüldü.

Prensip: Bu testte iki ardışık reaksiyon çok önemli rol oynamaktadır. Birinci reaksiyon, PON enzimi ve bu enzim için bir kofaktör olan kalsiyum iyonu için reaktif 1 arasında gerçekleşir. İkinci reaksiyon substrat çözeltisinden oluşan reaktif 2'nin ortama ilave edilmesiyle gerçekleşir. Son aşama ise PON enzim aktivitesiyle doğrudan orantılı absorbanı olan P-nitrofenolün oluşmasıdır.

Deneyin yapılışı: İlk olarak, 500 µL reaktif (tampon çözeltisi) test tüpüne eklendi. Daha sonra 25 µl serum örneği test tüpüne eklendi ve son olarak 25 µl reaktif 2 (substrat çözeltisi) eklendi. UV spektrofotometresinde iki ardışık zamanda 412 nm dalga boyunda okuma yapıldı. İlk okuma 30 saniye sonra (Abs 1) ve ikinci okuma ise 150 saniye sonra (Abs 2) yapıldı. Ölçülen absorbanların enzim konsantrasyonlarına dönüştürülmesi için aşağıdaki eşitlik kullanıldı.

Hesablama

$$\Delta \text{ Absorbans } (\Delta \text{ Abs}) = [150^{\text{inci}} \text{ saniyedeki Abs}] - [30^{\text{uncu}} \text{ saniyedeki Abs}]$$

$$\Delta \text{ Abs/dk} = \Delta \text{ Abs} / 2$$

$$\text{Sonuç} = ([\Delta \text{ Abs} / 2]) * 1202.84$$

$$\text{Birim} = \text{U/L}$$

Faktör 1294 kullanıldı.

3.2.4. İstatistik analiz

Bu değişkenler bakımından grupları karşılaştırmada Kruskal-Wallis analizi kullanıldı. Farklı grupları belirlemede Dunnet çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Hesaplamalarda, ortalama ± standart hata, minimum ve maksimum değerler hesaplandı. İstatistik anlamlılık düzeyi % 5 olarak alındı ve hesaplamalar için SPSS 13.0 for Windows istatistik paket programından yararlanıldı.

4. BULGULAR

Deneysel diyabet oluşturulan sıçanlara *Vaccinium myrtillus* L. ekstraktının uygulamasının, serum paraoksonaz (PON) ve pankreas enzim aktivite ve lipoprotein düzeylerindeki etkilerinin araştırıldığı bu çalışmamızda, deneme gruplarına ait serum glikoz, HbA1c, total kolesterol, trigliserit, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, VLDL-kolesterol, amilaz, lipaz ve PON enzim aktivite düzeylerinin ortalamaları Tablo 1’de verildi.

Tablo 1. Deneme gruplarının paraoksonaz (PON), pankreas enzim ve lipoprotein düzeyleri

	Kontrol (K) Ortalama±SH N = 8	Diyabet (D) Ortalama±SH N = 8	<i>V.myrtillus</i> (VM) Ortalama±SH N = 6	Diyabet+<i>V.</i> <i>Myrtillus</i> (DVM) Ortalama±SH N = 8
Glukoz mg/dL	158 ± 15 c	636 ± 30 a	230 ± 20 c	463 ± 90 b
HbA1c %	3.79 ± 0.04 c	8.02 ± 0.28 a	3.79 ± 0.07 c	6.67 ± 0.74 b
Kolesterol mg/dL	56.25 ± 3.20 b	76.88 ± 10.71 a	44.13 ± 1.49 c	51.83 ± 4.00 bc
Trigliserit mg/dL	93.75 ± 4.69 a	100.88 ± 11.40 a	53.75 ± 4.51 b	84.83 ± 6.36 a
HDL-Kol. mg/dL	51.49 ± 3.34 b	60.85 ± 2.41 a	40.97 ± 1.13 c	46.36 ± 2.29 bc
LDL-Kol. mg/dL	19.90 ± 2.48 ab	24.85 ± 1.38 a	14.09 ± 1.35 b	16.88 ± 4.32 b
VLDL-Kol. mg/dL	18.37 ± 0.99 ab	22.40 ± 2.38 a	10.75 ± 0.90 c	16.97 ± 1.27 b
Amilaz U/L	1073 ± 27 a	681 ± 84 b	1008 ± 21 a	575 ± 75 b
Lipaz U/L	7.75 ± 0.41 b	21.38 ± 2.06 a`	6.75 ± 0.45 b	19.33 ± 3.19 a
Paraoksonaz U/L	22.55 ± 6.81 a	1.56 ± 0.82 b	38.64 ± 7.75 c	7.22 ± 1.49 a

Satırlar arasında farklı harfler istatistik açıdan önemlidir (p<0.05).

D grubunda serum glikoz düzeyi, K grubuna göre önemli ölçüde artmıştır ($p<0.05$). Serum glikoz düzeyleri bakımından VM ve K grubu arasında önemli bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$). VM ile tedavi edilen grup DVM’de K grubuna göre, glukoz seviyesinde önemli bir düşüş saptandı ($p < 0.05$) (Tablo 1 ve Şekil 3).

D grubunda glikozillenmiş hemoglobin düzeyi, K grubuna göre önemli ölçüde arttı ($p<0.05$). VM grubunda HbA1c düzeyi, K grubuyla karşılaştırıldığında önemli bir değişiklik saptanmadı ($p>0.05$). DVM grubu, D ve K grubu ile karşılaştırıldığında önemli istatistik farklılık saptandı ($p<0.05$). Diyabet oluşturulup VM ekstresi ile tedavi gerçekleştirilen DVM grubunda D grubunda yükselen HbA1c seviyesinde önemli bir düşüş saptandı ($p<0.05$) (Tablo 1 ve Şekil 4).

D grubu serum kolesterol seviyesinin, K grubu ile karşılaştırılmasında, D grubunda önemli bir artış gözlemlendi ($p<0.05$). DVM grubu serum kolesterol seviyesi, hem K hemde D grubu ile karşılaştırıldığında kolesterol önemli bir düşüş saptandı ($p<0.05$) (Tablo 1 ve Şekil 5).

D grubu serum trigliserit seviyelerinin K grubuyla karşılaştırılmasında önemsiz bir artış gözlemlendi ($p>0.05$). VM grubu serum trigliserit seviyeleri ile K grubu serum trigliserit seviyelerinin karşılaştırılmasında VM grubunda serum trigliserit seviyeleri önemli bir azalmaya yol açtı ($p<0.05$). *Vaccinium myrtillus L.* ekstraktı verilen DVM grubunda, D grubuna göre; DVM grubunda trigliserit seviyesinde küçük bir azalmaya yol açmışsa da bu düşüş istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($p > 0.05$) (Tablo 1 ve Şekil 6).

D grubunda serum HDL-kolesterol seviyelerinde, K grubuna göre, önemli bir yükselme saptandı ($p<0.05$). Kontrol (K) grubu ile VM grubu HDL-kolesterol seviyelerinde VM grubunda önemli bir düşüş gözlemlendi ($p<0.05$). *Vaccinium myrtillus L.* ekstresiyle beslenme gerçekleştirilen DVM grubu HDL-kolesterol seviyesinde, D grubuna göre istatistik bir azalma saptandı ($p<0.05$) (Tablo 1 ve Şekil 7).

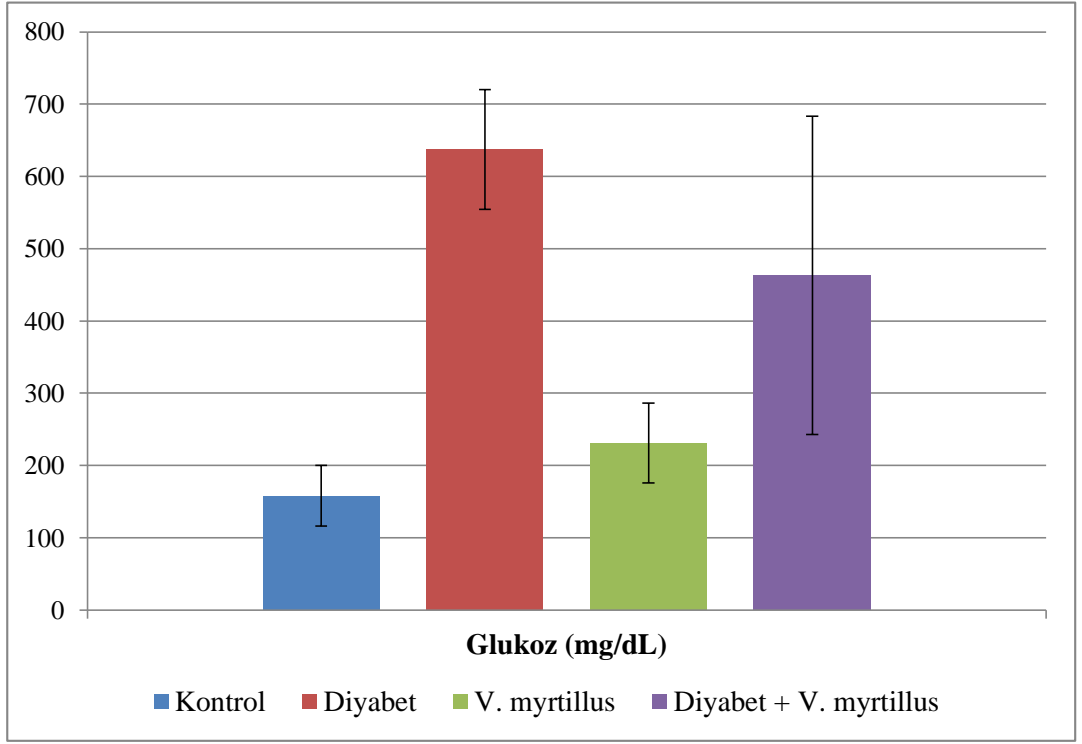
D grubu serum LDL kolesterol seviyesi ile K grubu karşılaştırıldığında aritmetik bir artış saptandı ($p > 0.05$). Elde edilen sonuçlara göre VM grubu ve K grubu arasında LDL- kolesterol seviyeleri yönünden önemli bir fark gözlenmedi ($p > 0.05$). DVM grubu serum LDL kolesterol seviyesi D grubuna göre istatistik olarak önemli bir azalmaya neden oldu ($p < 0.05$) (Tablo 1 ve Şekil 8).

D grubu serum VLDL-kolesterol seviyesinin K grubu ile karşılaştırılmasında aritmetik bir artmış saptandı ($p > 0.05$). VM grubunda K grubuna göre önemli düşüş gözlemlendi ($p < 0.05$). Vaccinium myrtillus L. ekstraktının uygulanması, D grubuna kıyasla DVM grubunda VLDL-kolesterol seviyesinde istatistik önemde bir azalmaya neden oldu ($p < 0.05$) (Tablo 1 ve Şekil 9).

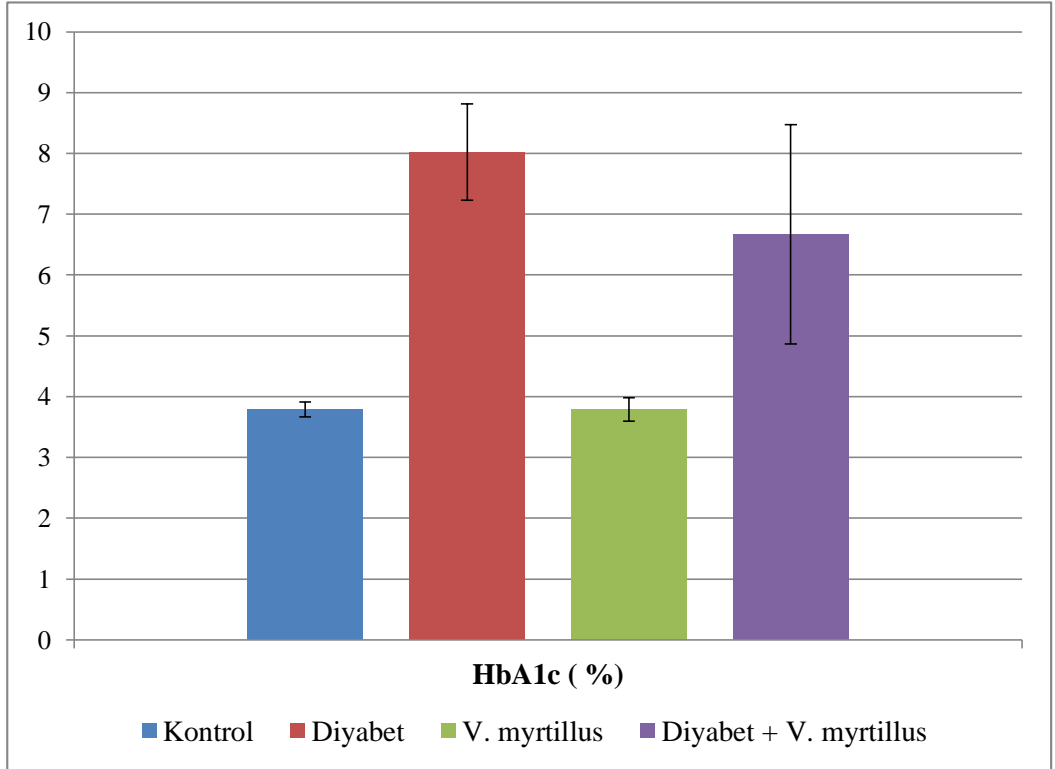
D grubu serum amilaz seviyesi, kontrol (K) grubuyla karşılaştırıldığında istatistik önemde düştüğü saptandı ($p < 0.05$). VM ve K grupları arasında önemli bir değişiklik elde edilemedi ($p > 0.05$). Vaccinium myrtillus L. ekstraktı uygulandıktan sonra, amilaz seviyesinde DVM grubunda D grubuna göre aritmetik bir düşüş gözlemlendi ($p > 0.05$) (Tablo 1 ve Şekil 10).

D grubundaki serum lipaz aktivitesinde K grubuyla karşılaştırıldığında istatistik önemde bir artış bulundu ($p < 0.05$). VM ve K grupları arasında, D ve DVM grupları arasında istatistik önemde bir değişiklik gözlenmedi ($p > 0.05$). Vaccinium myrtillus ekstraktının uygulanması D grubuna göre DVM grubunda lipaz aktivitesinde aritmetik olarak anlamlı olmayan bir düşüş saptandı ($p > 0.05$) (Tablo 1 ve Şekil 11).

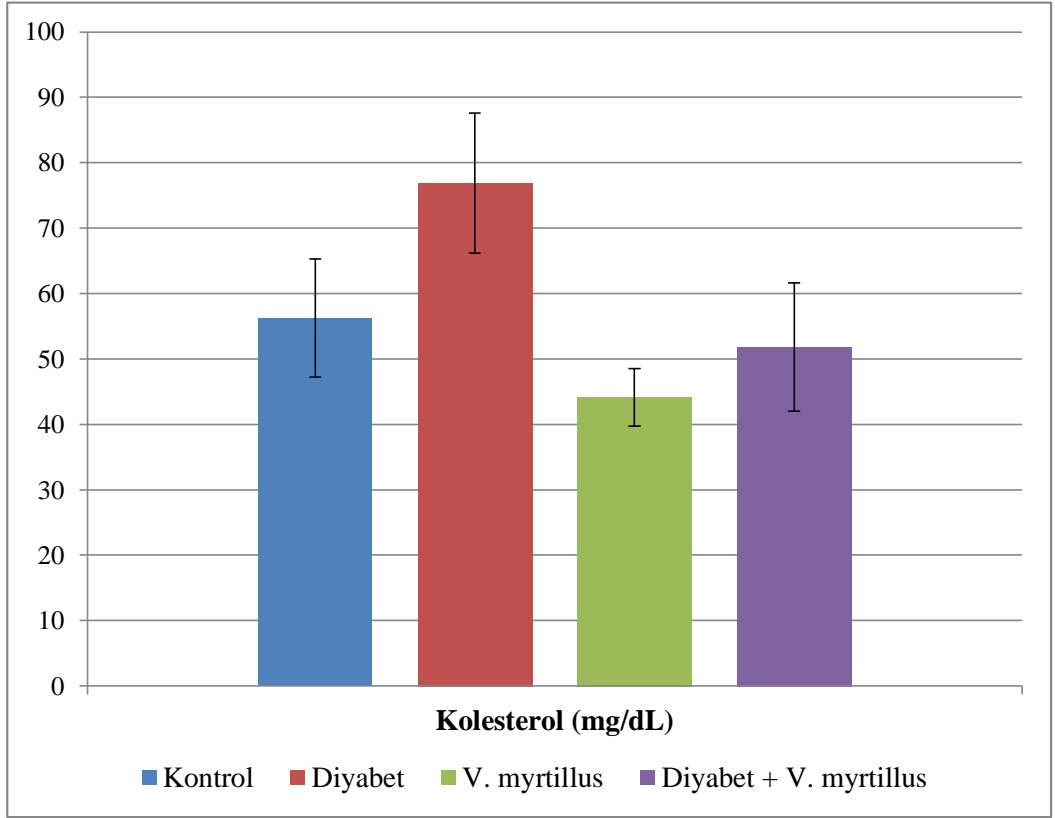
D grubu serum PON enzim aktivitesi ile K grubunun karşılaştırılmasında D grubunda serum PON enzim aktivitesinin istatistik olarak önemli derecede düştüğü saptandı ($p < 0.05$). Vaccinium myrtillus L. ekstraktı uygulaması ile VM grubunda serum PON enzim aktivitesi K grubuna göre istatistik önemde artışa yol açtı ($p < 0.05$). D grubu ile DVM grubunun PON enzimlerinin istatistiksel analizi sonucunda DVM grubunda PON aktivitesi istatistik olarak önemli derecede arttığı saptandı ($p < 0.05$) (Tablo 1 ve Şekil 12).



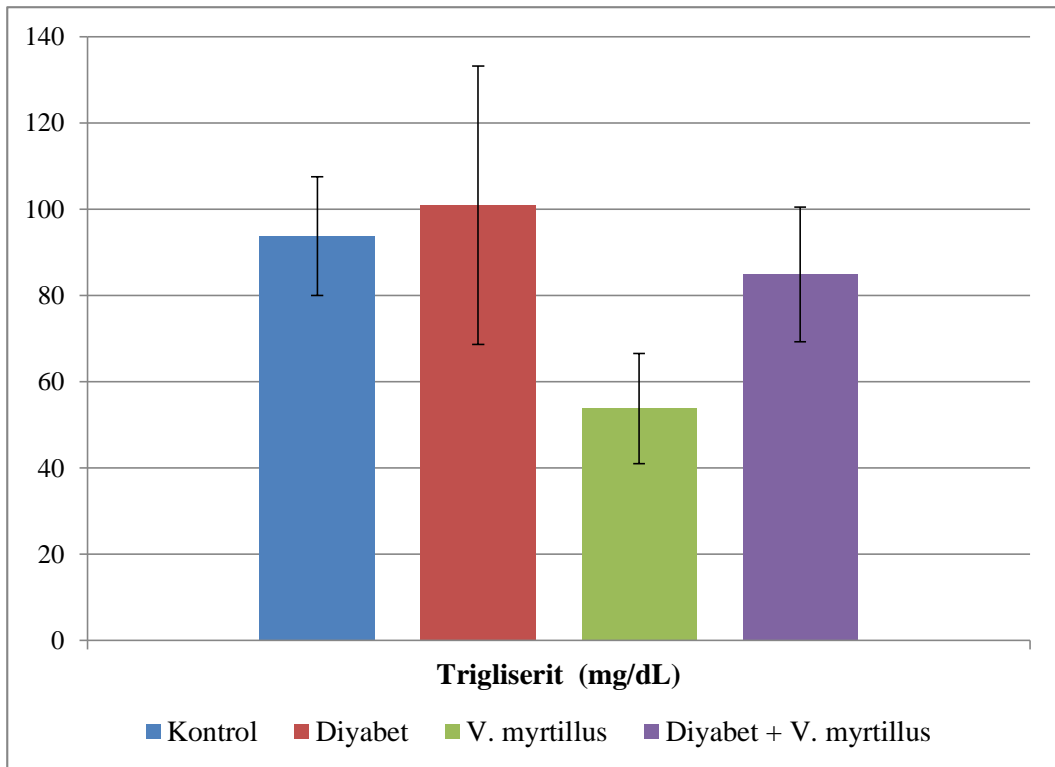
Şekil 3. Deneme gruplarındaki ortalama serum glukoz (mg/dL) düzeyleri



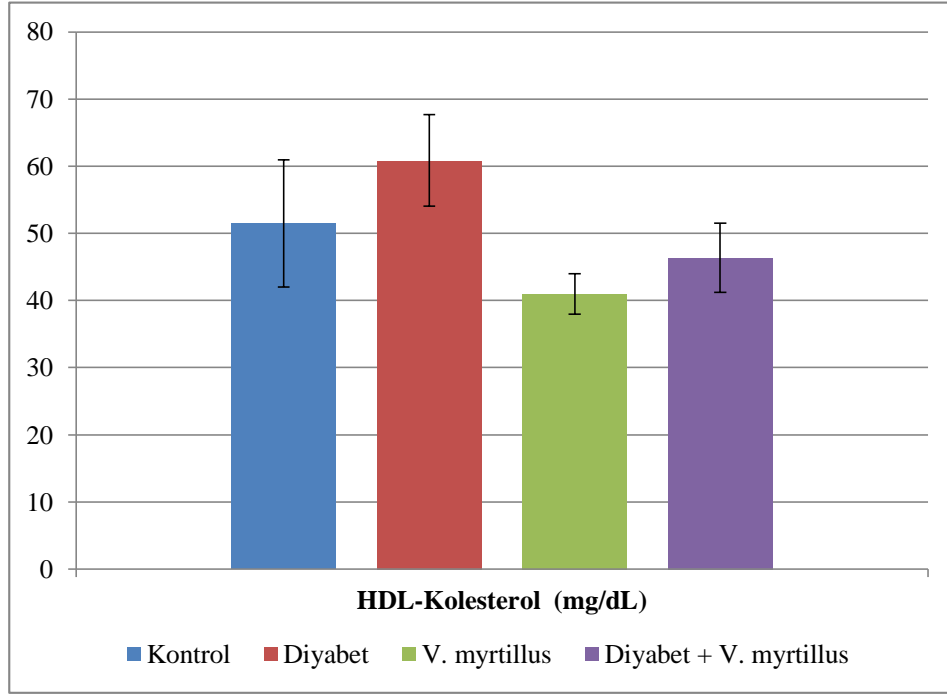
Şekil 4. Deneme gruplarındaki ortalama tam kan HbA1c (%) düzeyleri



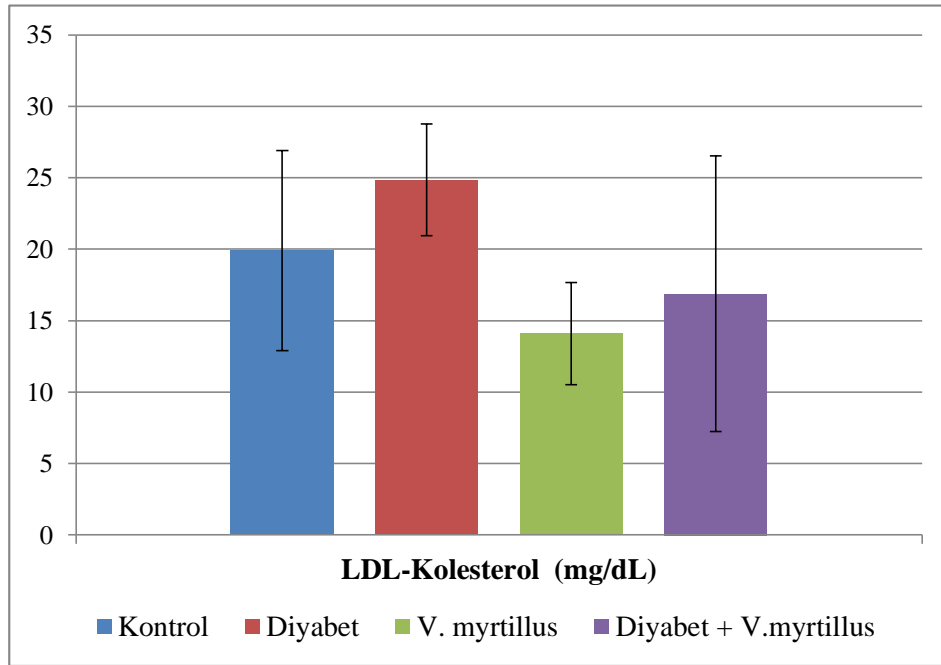
Şekil 5. Deneme gruplarındaki ortalama serum kolesterol (mg/dL) düzeyleri



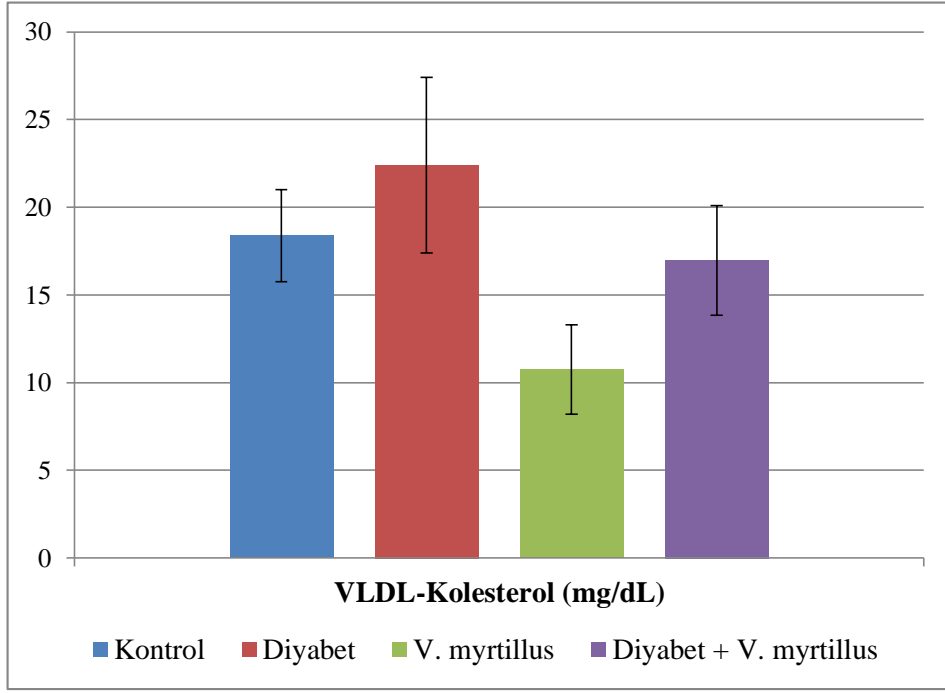
Şekil 6. Deneme gruplarındaki ortalama serum trigliserit (mg/dL) düzeyleri



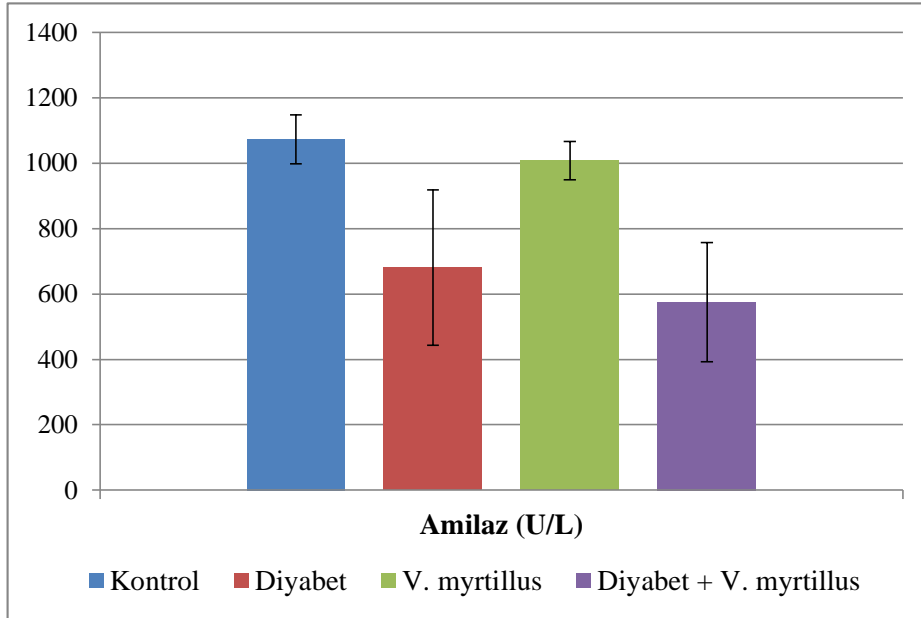
Şekil 7. Deneme gruplarındaki ortalama serum HDL-kolesterol düzeyleri



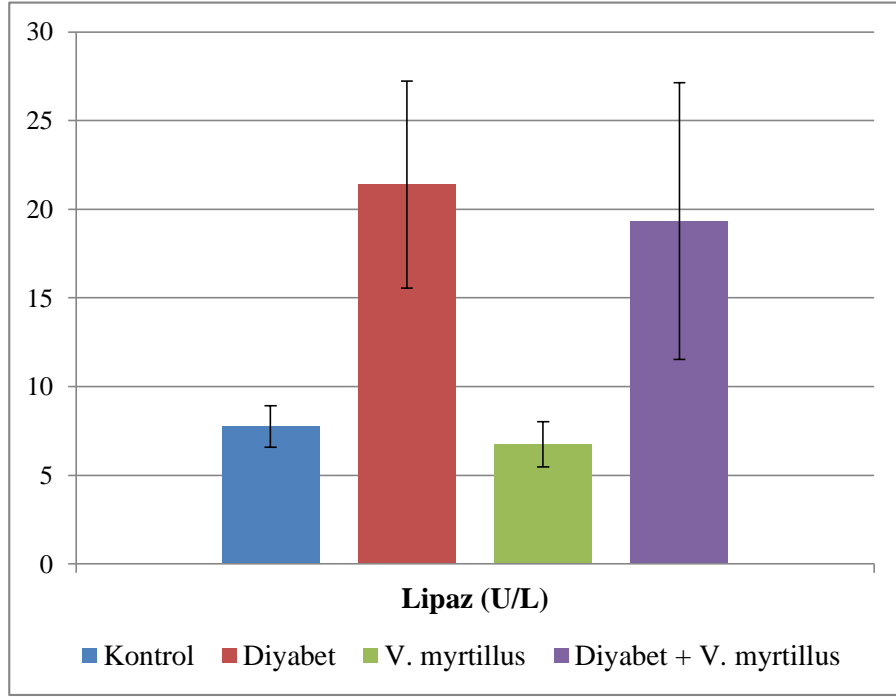
Şekil 8. Deneme gruplarındaki ortalama serum LDL-kolesterol (mg/dL) düzeyleri



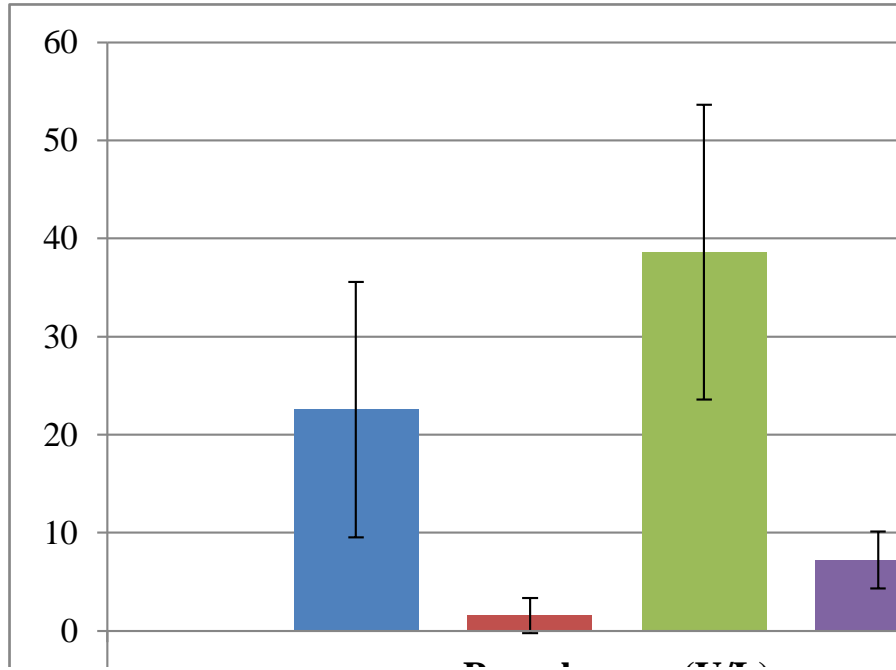
Şekil 9. Deneme gruplarındaki ortalama serum VLDL-kolesterol (mg/dL) düzeyleri



Şekil 10. Deneme gruplarındaki ortalama serum amilaz (U/L) düzeyleri



Şekil 11. Deneme gruplarındaki ortalama serum lipaz düzeyleri (U/L)



Şekil 12. Deneme gruplarındaki ortalama serum paraoksonaz düzeyleri (U/L)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, *Vaccinium myrtillus* L. (Yaban mersini) ekstresinin, diyabetik sıçanlarda paraoksonaz (PON) ve pankreas enzim aktivitesi ile lipoprotein düzeyleri üzerindeki etkisi incelendi. Çalışma ile *Vaccinium myrtillus* L. ekstresinin antidiyabetik etki mekanizması yanında, diyabetik kardiyovasküler komplikasyonların önlenmesinde PON enziminin muhtemel koruyucu etkileri aydınlığa kavuşturulmaya çalışıldı.

Bu çalışmada, diyabetik sıçanların *V. myrtillus* (Yaban mersini) ekstresiyle tedavi edilmesi, glikoz ve glikozillenmiş hemoglobin (HbA1c) seviyelerinde istatistik olarak önemli bir düşüşe, PON enzim aktivitesinde de istatistik olarak önemli bir yüklemişe neden oldu ($p<0.05$). Bu bitkinin ekstresi, antosiyaninleri ve kuersetin, kateşin gibi flavonoidleri kapsayan antidiyabetik aktivite gösteren çok sayıda biyoaktif bileşik içermektedir (Helmstädter ve Schuster, 2010). Bunlar arasında antosiyaninler, antioksidan aktivitesi göstermesi nedeniyle esas önemli rolü göstermektedir (Miguel, 2011). Antosiyaninler, insülin direncini iyileştirmek ve insülin seviyesini arttırmak, karbonhidrat katabolizmasını azaltmak ve pankreatik beta hücrelerini oksidatif hasardan korumak gibi birçok mekanizma ile etki gösterir (Sancho ve Pastore, 2012). Bu etkilerin göstergesi olarak, bu çalışmada elde edilen kan glikoz seviyesindeki düşüş, daha önceki çalışmalarla benzerlik göstermektedir (Cignarella ve ark., 1996; Asgary ve ark., 2015).

Antosiyaninlerin hipoglisemik aktivitesi büyük ölçüde insülin seviyesini artırma üzerindeki etkisinden kaynaklanmaktadır. Diğer deneysel çalışmalar antosiyaninlerin beta hücrelerinden insülin sekresyonunu stimüle ettiğini açığa çıkarmıştır. Mevcut çalışmada insülin seviyesinin saptanmasına yer verilmemiştir. Yaban mersininde bulunan antosiyaninlerin insülin seviyesi üzerindeki etkisi gelecek çalışmalar için ilgi çekici bir konu olacağı bildirilmiştir (Sancho ve Pastore, 2012).

Yaban mersinindeki antosiyaninlerin ve fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi oksidatif stresten dolayı pankreatik hücrelerdeki oksidatif hasara karşı koruyucu bir mekanizma sergilemektedir. Diyabetteki hipergliseminin reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna neden olduğu ve bunun da beta hücrelerinde apoptoza ve

en sonunda beta hücrelerinin hasarına neden olduğu bilinmektedir (Sancho ve Pastore, 2012).

Yaban mersininde bulunan antosiyaninlerin oksidatif stresi azaltabilme kabiliyeti total antioksidan aktiviteye katılabilir ve böylelikle bu madde beta hücrelerini yıkımdan koruyabilir (Roy ve ark, 2008). Ayrıca, antosiyaninler, insülin direncinin gelişmesine katılan tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) ve interlökin-6 gibi bazı sitokinlerin ekspresyonunu inhibe ederek, antiinflamatuvar aktivite gösterirler (Sasaki ve ark., 2007; DeFuria ve ark., 2009).

Yaban mersininin hipoglisemik aktivite gösterdiği bir başka muhtemel çalışmada, ince bağırsakta bulunan ve karbonhidrat katabolizmasında aktivite gösteren bir enzim olan α -glükozidaz aktivitesinde azalmaya neden olmasıdır (Matsui ve ark., 2001; Matsui ve ark., 2002). Antosiyaninlerin, α -glükozidazın, maltaz ve sükröz aktivitelerini hedef aldığı bilinmektedir (Adisakwattana ve ark., 2009; Feshani ve ark., 2011). Bazı çalışmalar α -glükozidaz ve ayrıca amilaz aktivitelerinin düzeyini saptamayı amaçlamış, bu enzimlerin antosiyaninler tarafından azaltıldığı sonucuna varılmıştır. Fakat, bu çalışmalarda, α -glükozidaz seviyesinin tespitinin yer almaması, yaban mersini ekstresinin ve antosiyanin içeriğinin karbonhidrat katabolizması üzerindeki etkisinin araştırılmasında bir noksanlık olarak görülmektedir (Farbstein ve Levy, 2012; You ve ark., 2012).

Antosiyaninler dışındaki diğer biyoaktif bileşikler (tanenleri kuersetin, kateşin ve organik asitler), diyabetin ilerlemesi üzerinde inhibe edici bir aktiviteye sahip olabilir. Bu bileşiklerin, özellikle tanenlerin, yol açtığı antioksidan aktivitelerin gösterilmesi diyabet gelişmesindeki faktörlerden birini geciktirebilir. Diyabette, ROS'in artmasındaki etkenlerden biri, lipitlerin peroksidasyonudur. Bu bileşiklerin bir çoğunun lipid peroksidasyonunda güçlü inhibitör etki gösterdiği bildirilmiştir (Hong ve ark., 1995; Chen ve Ahn, 1998; Khennouf ve ark., 2010; Ujwala ve ark., 2012).

HbA1c'nin yaban mersini ekstresinin antidiyabetik aktivitesini kronik anlamda aydınlatmak için saptanmasının önemi bu parametrenin akut hiperglisemiden daha çok

kronik hipergliseminin saptanmasında kullanılabilmesidir (Florkowski, 2013). Ayrıca, daha önce yapılmış çalışmaların çoğu, sadece glukoz seviyesi üzerinde yoğunlaşmıştır (Cignarella ve ark., 1996; Asgary ve ark., 2015).

Bu çalışmada, Tablo 1 ve Şekil 3’de serum glukoz düzeyleri incelendiğinde, D grubu glukoz düzeyinin, diğer gruplara göre istatistik olarak önemli düzeyde arttığı saptandı ($p<0.05$). Çalışma sonuçlarına göre, Tablo 1, Şekil 3 ve 4 incelendiğinde, 1.2 mg/kg yaban mersini ekstresi verilmesiyle glukoz ve HbA1c seviyelerinde sırasıyla % 28 ve % 17 düşüş gözlemlendi. Glukoz ve HbA1c seviyeleri, yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir (Cignarella ve ark., 1996; Asgary ve ark., 2015).

Diyabet, tüm lipoproteinlerde ve plazma lipoproteinlerde bir çok kompleks ve birbiriyle ilişkili anormalitelerle karakterizedir (Taskinen, 2002; Krauss, 2004). Artmış kardiyovasküler risk ile diyabetik dislipidemi karışmış olgulardır. Diyabetik dislipideminin en önemli noktalarından birisi, karaciğerde VLDL-kolesterol ile zengin trigliseritlerdeki artış ve aynı zamanda VLDL-kolesterolün hepatik klirensindeki bozulmadır (Adiels ve ark., 2006).

VLDL-kolesterol iki sınıfa ayrılır; VLDL-1-kolesterol, VLDL-2- kolesterolde daha büyüktür ve diyabette seviyesi arttığından dolayı diyabetin belirleyici sınıfıdır. Bu çalışmada, total VLDL-kolesterol düzeyi analiz edildi (Hiukka ve ark., 2005). Bızcce, Gelecek çalışmalarda, VLDL alt sınıflarının ayırt edici şekilde çalışılması daha aydınlatıcı sonuçlar verecektir. Çünkü VLDL alt sınıflarının analizi sağlıklı yaşam göstergeleri için daha net sonuçlar ortaya koymaktadır

VLDL-1’den trigliserit moleküllerini gideren lipoprotein lipazın (LPL) aracılığıyla VLDL-1’in lipolizi trigliseritler dansitesindeki artış takip eder. LPL’in bu aktivitesi her iki VLDL sınıfının da dolaşımında kalmasında önemli bir rol oynar. Bu nedenle, LPL diyabetik dislipidemide ve dislipideminin en az bir özelliğinde önemli bir etkidir. Yaban mersini ekstresinin, LPL aktivitesi üzerindeki etkisinin olup olmadığı da gelecek çalışmalar için mantıklı bir dayanak noktasını oluşturacaktır (Taskinen, 1987).

İnsülin hormonunun etkisi, trigliseritleri ve kolesterolü lenf sistemi yoluyla enterositlerden dolaşıma taşıyan lipoprotein molekülleri olan şilomikronların sekresyonunun inhibisyonunu da kapsar. Bu nedenler diyabette insülin seviyesinde düşüş, şilomikronların aşırı salgılanmasını beraberinde getirir ve bu nedenle hiperlipidemiye indükler (Xiao ve Lewis, 2012). Diğer taraftan insülin normal olarak şilomikronlarda bulunan bir tip lipoprotein olan Apo B48'in üretimini inhibe eder, bu nedenle insülin yetmezliği Apo 48 üretimini artırır ve intestinal yağlar daha etkin bir biçimde paketlenir. Bu olayların sonucunda lipitlerin hepatik hipersekresyonu ve postprandiyal lipidemi gerçekleşir (Xiao ve ark., 2014).

Diyabetteki hipertrigliseriteminin mekanizması, serbest yağ asitlerinin metabolizmasını disregülasyonu ile sıkıca bağlıdır. Özellikle obez bireylerde, visceral ve subkutan yağlardan serbest yağ asitlerinin dolaşıma salınması, karaciğere daha çok yağ asitinin VLDL yapımına dahil olarak trigliseritlerin sekresyonu için bir kaynak oluşturur (Taskinen ve Borén, 2015).

Hiperglisemi asetil Co A'yı yağ asitlerine dönüştürerek de novo lipojenezisi (DNL) stimüle eder. Buna ek olarak hiperglisemi, diğer enzimleri yükselterek etki eden DNL'nin esas düzenleyicisi olan karbonhidrat element bağlayıcı proteini (ChREBP) aktive eder. Böylece ChREBP, DNL uyarımına katılır (Ferre ve ark., 2010).

Diyabette LDL-kolesterol seviyesindeki yükselme başlıca trigliserit seviyesinde ve insülin direncinde artış ile indüklenir (Verges, 2005). LDL-kolesterol üretimi mekanizması kolesterol ester transferi yoluyla (CETP) VLDL-kolesterolde trigliseritlerin transferrini içerir. Bu nedenle yüksek miktarda trigliserit içeren VLDL-kolesterolün varlığı LDL-kolesterol üretimi için gereklidir ve bu da diyabette hipertrigliseritemi ilişkili LDL-kolesterol seviyesi artışını açıklayabilir (Krauss, 2004; Taskinen ve Borén, 2015). VLDL-kolesterol seviyesindeki artış, metabolik davranışta ve patolojideki rollerinde farklı olan küçük yoğun LDL-kolesterol partiküllerinin oluşumuna da yol açmaktadır (Krauss, 2004).

Genel olarak, diyabette kolesterol yükselmesi kolesterolce zengin lipoproteinlerin artmış glikasyonundan kaynaklanmaktadır (Monnier ve ark., 1994). İnsülin direncinde ve T2 DM'de kolesterol sentezinin arttığı bilinmektedir. Bununla birlikte, bu artış obeziteden bağımsız olarak insülin direnciyle ilişkilidir (Gylling ve ark., 2010).

Tablo 1, Şekil 5, 6, 7, 8 ve 9 incelendiğinde; D grubu deney hayvanlarına ait total kolesterol, HDL-kolesterol düzeylerinde istatistik olarak önemli bir yükselme görülmüştür ($p<0.05$). D grubu serum trigliserit, LDL-kolesterol ve VLDL-kolesterol düzeylerinde K grubuna göre artış istatistik olarak anlamlı bulunmamış ($p>0.05$), sadece aritmetik artış düzeyinde kalmıştır. D grubu ile diyabet sonrası *V. myrtilus* ekstresi ile tedavi edilen DVM grubuna ait serum kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, VLDL-kolesterol arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. D grubunda K grubuna göre anlamlı düzeyde artan bu parametrelerde *V. myrtilus* ekstresi ile tedavi edilen DVM grubunda istatistik olarak anlamlı düzeyde azalma saptandı ($p<0.05$). Bu çalışmada elde edilen bulgulardaki istatistik analizler, daha önce yapılan literatür verileriyle uyum içindedir (Cignarella ve ark., 1996; Adiels ve ark., 2006; Yadav ve ark., 2013; Kruger ve ark., 2014; Asgary ve ark., 2015). Bu bulgular yaban mersini ekstresinin diyabetik dislipideminin iyileştirilmesiyle pozitif bir ilişkisinin olduğunu ve diyabetteki anormalliklerin birçoğunu hafifletebileceğini göstermektedir. (Cignarella ve ark., 1996; Asgary ve ark., 2015). Aynı zamanda yaban mersini içeriğinde bulunan antosiyaninler ve diğer biyoaktif bileşikler de lipoprotein metabolizmasındaki enzim seviyelerinin düzenlenmesi ile diyabetik dislipideminin iyileştirilmesinde katkı sağlamaktadır (Tsuda ve ark., 2003). Bu özelliği bileşiğin antioksidan, antienflamatuvar, antiiskemik etkileri, kalp-damar sistemi üzerindeki koruyucu etkisini ortaya koymuştur (Kruger ve ark., 2014). Antosiyaninlerin bu etkileri ile insülin direncini ve diyabet vakalarını azaltabileceği bazı çalışmalarla desteklenmektedir (Tsuda ve ark., 2003). Obezite gelişiminin ve bozulmuş lipid metabolizmasının her ikisi de saflaştırılmış antosiyaninler ile geciktirilmiştir (Prior ve ark., 2010). Antosiyaninlerin adipozit fizyolojisi üzerindeki genetik düzeydeki olası etkisi, bu maddenin hücre ölümü üzerindeki inhibitor etkilerinin sorumlu olduğu düşünülmektedir (Wang ve Mazza, 2002).

Bu çalışmada Şekil 5'te verilen total kolesterol düzeyinde, sıçanlara yaban mersini ekstresi verildikten sonra DVM grubu serum kolesterol seviyesindeki düşüşün, antosiyaninlerin dışkı kolesterol seviyesini arttırması yoluyla gerçekleştiği tahmin edilmektedir. Yapılan bir çalışma, bir bitkideki antosiyaninlerin feçeste asidik ve nötral sterollerini arttırarak plazma kolesterol seviyesinde düşüşe neden olduğunu gösterilmiştir (Liang ve ark., 2013). Başka bir çalışmada yaban mersini ekstresinde bulunan bir lif olan pektinin sıçanlarda hem plazma hem de karaciğer kolesterolü seviyelerini düşürdüğü belirlenmiştir (Marounek ve ark., 2010). Yaban mersininde bulunan fitosteroller de bir başka lipit düşürücü faktördür. Bu bileşiklerin intestinal kolesterol sekresyonunu arttırdığı ve kolesterol absorpsiyonunu azalttığı bildirilmiştir (Racette ve ark., 2009). Çalışmada elde edilen HDL-kolesterol seviyeleri daha önceki çalışmalarla benzerlik göstermemektedir. Diyabette HDL-kolesterol seviyesinin düştüğü bildirilmekte, bu düşüşle diyabetin patofizyolojisiyle ve diyabetik komplikasyonlarının, özellikle kardivasküler sistem komplikasyonlarının arttığı bildirilmektedir. Ancak, bu bulgular, diyabetin akut etkili olması ve/veya HDL-kolesterol ölçüm prosedüründeki teknik nedenlerden kaynaklanmış olabilir (Cignarella ve ark., 1996; Farbstein ve Levy, 2012; Kostapanos, 2014;).

Serum amilaz enzim düzeylerinin, Tablo 1 ve Şekil 10 incelenmesi sonucu, D grubu ve DVM grubu verilerinde, kontrol (K) grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir düşüş gözlemlendi ($p < 0.05$). DVM grubunda D grubuna göre amilaz aktivitesinde % 15.5 düzeyinde aritmetik olarak önemsiz bir düşüş saptandı ($p > 0.05$). Amilazda diyabetik düşüş önceki çalışmalarla da desteklenmektedir (Nakajima ve ark., 2011; Yadav ve ark., 2013). Diğer birçok bitkinin antidiyabetik aktivitelerinde amilazı hedefledikleri gösterildi. Bundan dolayı, yaban mersini ekstresinin amilaz seviyesi üzerindeki düşürücü etkisi sonrası azalan amilaz enzimi sonucu diyetdeki karbonhidratların sindirimide etkilenmiştir (Ponnusamy ve ark., 2011; Lee ve ark., 2012; Cheng ve ark., 2013).

Diyabette ekzokrin pankreatik yetmezliğini yorumlamak için, çok sayıda mekanizma öne sürülmüştür. Diyabet, pankreası etkilediğinden, onun hem ekzokrin hemde endokrin fonksiyonlarını da etkileyecektir. İlk açıklayıcı mekanizma insülin

hormonuyla ilişkili olarak insülinin, asiner hücreler üzerinde etki ederek amilaz enzimi üzerinde destekleyici aktivite göstermesidir (Singh ve ark., 1998; Aughsteen ve Mohammed 2002). Bu nedenle, diyabette insülin yetmezliğinin bir sonucu olarak da, amilaz enziminde azalma meydana gelmektedir. Glukagon hormonu, insülinin aksine amilaz üzerinde inhibitor etki gösterir, böylece glukagon seviyesindeki yükselme amilaz seviyesinde düşmeyle ilişkilidir (Singh ve ark., 1998). Diyabet nedeniyle oluşan pankreatik fibröz atropisi ve yağ infiltrasyonu gibi histolojik değişimler asiner hücrelerin kaybıyla sonuçlanır (Matsuda ve ark., 2014). Diyabetik hiperlipideminin bir sonucu olan pankreatik lobüllerde yağların birikmesi ve asiner hücrelerde yağ damlacıklarının birikmesi, asiner hücre hasarına yol açar. Bu olaylar, amilaz enzim aktivitesinin diyabetteki düşüşünün temel sebeplerini oluşturabilir. Nöropati gibi bazı diyabetik komplikasyonların da asiner hücre hasarına katıldığı bildirilmiştir (Newihi ve ark., 1988). Yaban mersininin asiner hücre hasarı üzerindeki inhibitör etkisinin aydınlatılması da gelecek çalışmalarımız için ilgi çekici bir konu olacaktır (Matsuda ve ark., 2014).

Diyabette amilaz seviyesindeki azalmanın, bu enzimin teşhis için ve ayrıca tedaviye verilen cevabın gözlenmesi gibi ek parametreler olarak kullanabilmesi nedeniyle klinik öneme sahip olduğu öne sürülmüştür (Aughsteen ve ark., 2005). T2 DM'da kan glikozunu ani yükselmesinin nedeni nişastanın amilaz tarafından hidroliz edilmesi olduğu için, yaban mersini ekstresinin kullanılmasıyla elde edilen amilaz inhibisyonu bu bitkinin göstermiş olduğu hipoglisemik aktivitenin önemli bir göstergesidir (Gray, 1995).

Yaban mersininin amilaz aktivitesi üzerindeki inhibitor etkisinin mekanizması, çok net değildir. Fakat başka bitkilerle yapılmış çalışmalar polifenol içeriğinin bu rolü oynadığını göstermiştir. Yaban mersininin ekstresinin amilaz üzerindeki etkisini açıklamak için bu bilgiler yeterli değildir, bu bilgileri doğrulamak için daha ileri çalışmalara gerek vardır (Cheng ve ark., 2013).

Serum lipaz enzim aktivite düzeylerinin Tablo 1 ve Şekil 11'de incelenmesi sonucu, D grubunun K grubuna istatistik olarak anlamlı bir artış saptandı ($p < 0.05$). Diyabetik sıçanların yaban mersini ekstresiyle tedavi edilen DVM grubunda serum lipaz

aktivitesinde aritmetik olarak anlamlı olmayan bir düşüş saptandı ($p>0.05$). Diyabette lipaz artışı başka çalışmalarla da benzerlik arz etmektedir (Steinberg ve ark., 2014).

Serum lipaz enzim aktivitesi geleneksel pankreas fonksiyonunun göstergesidir. Diyabetik hiperlipazeminin, pankreas dışı kaynaklardan meydana geldiği düşünülmektedir (Marks ve ark., 2003). Diyabetin glomerüler filtrasyon hızında (GFR) düşüşe neden olduğu ve bunun da yükselmiş lipaz aktivitesine neden olduğu bilindiğinden, diyabette bu enzim aktivitesinin yükselmesinin, GFR'deki azalmadan kaynaklandığı öne sürülmektedir. Araştırmacılar tübüler yeniden absorpsiyondaki değişimin, lipaz aktivitesine neden olduğunu öne sürmüşlerdir (Steinberg ve ark., 2014). Ayrıca diyabetik bireylerde pankreatik fibrozun arttığı histopatolojik incelemelerle ortaya konmuş, pankreatitin mekanizması olan histopatolojik harabiyetin lipazın dolaşıma salınmasına neden olabileceği öne sürülmüştür (Lazarus ve Volk, 1961).

Lipaz enzimi, besinlerden alınan yağları, yağ asitlerine hidroliz ederek ince bağırsakta lipid absorpsiyonunda önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle, yaban mersini ekstresi, lipazı inhibe ederek yağ asidi absorpsiyonunu azaltabilir ve böylece dislipidemi ve obeziteyi hafifletebilir (Hegele ve ark., 2001). Yaban mersinindeki biyoaktif bileşiklerin antilipaz aktivitesi lipazı düşürmede etkili olabilir. Yapılan bir çalışmaya göre ekstrakte edilmiş fenolik bileşikler, özellikle kuersetin lipaz enzimine karşı çok güçlü inhibitör etkinlik göstermiştir (You ve ark., 2012). Benzer olarak, bazı antosiyanin tipleri de lipaz aktivitesini düşürmüştür (Guo ve ark., 2012).

Serum PON enzim aktivite düzeylerinin Tablo 1 ve Şekil 12'de incelenme ile, D grubunda, diğer K, VM, DVM gruplarına göre, istatistik olarak anlamlı düşüş saptandı ($p<0.05$). D grubu ile VM grubu arasında da istatistik olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0.05$). Diyabetik sıçanların yaban mersini ekstresiyle tedavi edildiği DVM grubuna ait serum PON enzim aktivite düzeyleri, hem K hemde D grubu ile istatistik olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). D grubunda düşen PON enzim aktivite düzeyi, VM ekstresi verilmesi sonucu deneme süreci sonrasında istatistik olarak önemli düzeyde artış gösterdi ama aktivite düzeyi K grubu seviyesine ulaşamadı. Çalışmamızdaki D grubu

PON enzim aktivite seviyesinde görülen düşme, daha önce yapılan çalışmalarla da benzerlik göstermektedir (Abbott ve ark., 1995; Ying, 2010; Kota ve ark., 2013).

PON enzimi, HDL-kolesterol ile ilişkilidir ve klinik rolü LDL-kolesterolün peroksidasyonunun engellenmesidir. Bu enzimin seviyesindeki düşme enzim molekülünün HDL-kolesterol ile olan bağının kopmasından kaynaklanabilir (Abbott ve ark., 1995). Normal olarak, PON enzimi, Apo A1 ve apolipoprotein J içeren HDL'ye bağlıdır (Ying, 2010). Enzim proteini, Apo A1 ve HDL arasında kaybolmuş ya da zayıf bir korelasyon olduğu bilinmektedir. Ayrıca, dolaşımdaki endojen inhibitörler ve/veya artmış PON glikolizasyonu nedeniyle diyabette enzimin büyük bir kısmı inaktiftir (Abbott ve ark., 1995).

Çalışmamızda serum PON aktivitesinde, diyabetli deney hayvanlarına yaban mersini ekstresi verilen DVM grubu ile D grubu arasında istatistik olarak önemli bir artış saptandı ($p < 0.05$). Çeşitli çalışmalarla, bitkilerin PON enzim aktivite seviyesinde artışa neden olduğu gösterilmiştir (Parsaeyan ve ark., 2012; Yegin ve ark., 2013; Takaeidi ve ark., 2014).

Yaban mersinindeki biyoaktif bileşikler muhtemelen PON aktivitesinin yükselmesine neden olmaktadır. Bu durumun bitkinin antioksidan mekanizmalarından kaynaklandığı düşünülebilir. Antosiyaninlerin, PON enzim aktivitesini düzeltmede önemli rollerinin olduğu bilinmektedir ve bu özellikleri hiperkolesterolemik sıçanlarda kolesterol eflüks kapasitesinde artışa yol açmıştır. Bu bulgu, antosiyaninlerin lipid düzeylerini düşürme yeteneklerinin PON enzim aktivitesindeki artış ile HDL-kolesterol fonksiyonuna ve aortik kolesterolün düşürülmesine katkı sağlaması ile ilişkili olduğu ortaya konulmuştur (Farrell ve ark., 2015).

Antosiyaninlere ek olarak, yaban mersininde bulunan polifenollerin özellikle kuersetinin, PON enzim aktivitesindeki artışta sorumlu olabileceği ileri sürülmektedir. Bu alandaki çalışmalar, bu bileşiklerin genetik düzeydeki regülasyonlarla PON enzim aktivitesini yükselttiğini göstermiştir. Polifenollerin PON1 gen ekspresyonunu indüklediğini ve böylece PON1 enzim aktivitesini yükselttiğini bildirmişlerdir (Garige ve ark., 2010; Gouedard ve ark., 2010). Diğer taraftan, daha yeni bir çalışma kuersetinin

PON1 enzim geni transkripsiyonunu arttırarak PON1enzim aktivitesini arttırdığı ortaya konulmuştur (Garige ve ark., 2010).

Çalışmada elde edilen sonuçlara göre, yaban mersini ekstresinin PON enzim aktivitesi üzerindeki uyarıcı etkisinin sağlık üzerinde gösterdiği pozitif roller çok sayıda fizyolojik olaylarla aydınlatılabilir. PON enzimi, LDL-kolesterolü oksidasyondan korur ve hücre membran oksidasyonunu inhibe eder. Bu nedenle bu enzim, antiaterojenik bir enzim olarak bilinmekte, ateroskleroz oluşumuyla doğrudan bağlantılı olduğu bildirilmektedir. PON1 enzimi, HDL-kolesterolün antioksidan aktivite etkisine pozitif etki sağlar. PON enzim aktivitesindeki eksiklik enflamatuvar temelli yaygın birçok hastalıkla ilişkilidir, HDL-kolesterol fonksiyonunda bozulmaya neden olmakta ve sonuçta enflamasyonu ve aterosklerozu ilerletmektedir (Mackness ve Mackness, 2015).

Daha önce de belirtildiği gibi PON1 enzimi, özellikle aterogenezde major rol oynadığı kabul edilen lipid peroksitlerin oksidasyonunu önlediğinden, antioksidan savunma sistemi içinde yer almaktadır. Yaban mersini ekstresinin, PON enziminin sağlık üzerindeki bütün pozitif etkilerini, PON enzim aktivitesini arttırarak, özellikle koroner arter hastalığı ile ilişkili hastalıkların ilerlemesinde önleyici ve dislipidemiği düzelterek tedavi edici rollere sahip olduğu ortaya konulmuştur. Bununla birlikte bu sonuçlara rağmen daha ileri ve doğrulayıcı çalışmaların yapılmasının yararlı bilgiler elde edilmesi açısından gerekli olduğu kanaatindeyiz.

Sonuç olarak, çalışmada yaban mersini ekstresinin, hiperglisemiği iyileştirdiği ve diyabetik dislipidemiği hafiflettiği ortaya konuldu. Diyabetik sıçanların yaban mersini ekstresiyle beslenmesi, kan glikozu, serum HbA1c, serum total kolesterol, HDL-kolesterol, serum LDL-kolesterol, VLDL-kolesterol seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı düşmeye neden olmuştur. Serum trigliseritler, serum amilaz ve serum lipaz enzim aktivite seviyelerinin her birinde de aritmetik olarak düşüş, serum PON enzim aktivitesinde istatistik önemde yükselme saptandı.

Bu bilgilerin ışığında, PON aktivitesinin belirlenmesinin diyabetin erken komplikasyonlarını gösterebileceği ve diyabet hastalığında yaban mersini ekstresinin

uygulanmasının, diyabet nedenli komplikasyonları hafifletebileceği düşünölebilir. Bunun için, PON ve yaban mersini ekstresi birlikte değlerlendirildiği, uzun süreli ve materyal sayısı fazla çalışmalara ihtiyaç vardır.



ÖZET

SAEED KM, Deneysel Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda *Vaccinium myrtillus* L. Uygulamasının Paraoksonaz, Pankreas Enzim Aktiviteleri ve Lipoprotein Düzeylerine Etkisi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Eczacılık Bilimleri Anabilim Dalı Biyokimya Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van, 2016. Bu çalışmada; *Vaccinium myrtillus* L. (Yaban mersini, *V. myrtillus*) ekstresinin streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda paraoksonaz (PON), pankreas enzim aktiviteleri ve lipoprotein seviyeleri üzerindeki etkisinin araştırılması amaçlandı. Diyabet oluşturmak için, diyabet (D) ve diyabet+ *V. myrtillus* ekstresi (DVM) grubundaki sıçanlara tek doz streptozotosin (45 mg/kg) intraperitoneal (i.p.) uygulandı. *V. myrtillus* ekstresi, yirmibir gün süreyle 1.2 g/kg doz distile suda çözündürülerek VM ve DVM gruplarındaki sıçanlara gavaj yoluyla uygulandı. Çalışma sonunda tam kanda HbA1c serumda glukoz, lipoprotein, paraoksonaz (PON), amilaz ve lipaz enzim seviyeleri analiz edildi. Glukoz ve glikolize hemoglobin (HbA1c) seviyelerinde D grubunda diğer gruplara göre istatistik önemde bir artışa neden oldu. DVM grubu glukoz ve HbA1c seviyeleri ile D grubunun karşılaştırılmasında istatistik önemde bir düşüş saptandı ($p<0.05$). Kolesterol düzeyinin, D grubunda istatistik yükseldiği, DVM grubunda istatistik olarak normal düzeye düştüğü saptandı ($p<0.05$). Trigliserit düzeyi, gruplar arasında istatistik olarak önemsiz bulundu ($p>0.05$). HDL-kolesterol düzeyi, istatistik anlamlılıkta D grubunda yüksek, DVM grubunda düşük düzeylerde saptandı ($p<0.05$). LDL-kolesterol ve VLDL-kolesterol düzeyleri, D grubunda aritmetik olarak yüksek saptanmasına rağmen, DVM grubunda D grubu ile karşılaştırıldığında istatistik bir düşüş saptandı ($p<0.05$). Amilaz düzeyinde D grubunda istatistik önemde düşüş, lipaz düzeyinde ise istatistik önemde artma saptandı ($p<0.05$). Amilaz ve lipaz düzeyleri D ve DVM gruplarının karşılaştırılmasında anlamsız bulundu ($p>0.05$). Paraoksonaz enzimi, D grubunda K ve VM grubuna göre istatistik olarak düşük bulundu ($p<0.05$). DVM grubu paraoksonaz düzeyleri, D grubu ile karşılaştırıldığında istatistik olarak yüksek bulundu ($p<0.05$). Sonuç olarak, *V. myrtillus* L. (Yaban mersini) ekstresinin hiperglisemiyi düzelttiği ve diyabetik dislipidemi hafiflettiği gösterildi. Lipaz ve amilaz aktivitesini düşürmesiyle ekzokrin pankreas fonksiyonları üzerinde inhibitör etki oluşturdu. Paraoksonaz enzim düzeyinde diyabetteki düşüş yirmibir gün süreyle *Vaccinium myrtillus* L. (Yaban mersini) ekstresi verilmesiyle enzim aktivite düzeyinde istatistik anlamlılıkta yükselme saptandı.

Anahtar Sözcükler: Diyabet, *Vaccinium myrtillus* L. (Yaban mersini) ekstresi, paraoksonaz enzim aktivitesi, pankreas enzim aktivitesi, lipoprotein.

SUMMARY

SAEED KM, The Effect of *Vaccinium myrtillus* L. Application on Paraoxonase Activity, Pancreatic Enzymes Activity and Lipoprotein Levels in Experimental Diabetic Rats. Yüzüncü Yıl University, Health Science Institute, Department of Basic Pharmacy-Biochemistry, MSci, Thesis, Van, 2016.

The objective of this study was to determine the effect of *Vaccinium myrtillus* L. (bilberry, VM) extract on paraoxonase activity, lipoprotein levels and pancreatic functions in streptozotocin induced diabetic rats. For this purpose, experimental diabetes was induced by injecting 45 mg/kg single dose of streptozotocin intraperitoneally (ip) in the groups of diabetes (D) and diabetes + VM (DVM). A dose of 1.2 g/kg of VM extract was dissolved in distilled water and then administered to the rats in VM (V) and in DVM groups using intragastric gavage for a period of twenty one days. Glycated hemoglobin (HbA1c) in whole blood and glucose, lipoproteins, paraoxonase (PON), amylase and lipase enzyme activities in serum were measured. Glucose and HbA1c levels increased significantly in the group of D in comparison to the control (K) group and their levels decreased statistically significantly in the group of DVM compared to D ($p < 0.05$). Cholesterol level was increased significantly in D and decreased significantly in DVM groups ($p < 0.05$). There was no statistically significant change in triglycerides levels between groups ($p > 0.05$). Serum HDL- cholesterol levels increased significantly in D group and decreased significantly in DVM group ($p < 0.05$). Serum LDL-cholesterol and VLDL- cholesterol levels increased arithmetically in group D, In addition, there were statistically significant increases in their levels in DVM group compared to D group ($p < 0.05$). There was a statistically significant decrease in serum amylase level and a statistically significant increase in serum lipase levels in D group ($p < 0.05$). Serum amylase and lipase levels were determined to be statistically non significant ($p > 0.05$) between diabetes group D and DVM group. Serum PON enzyme significantly ($p < 0.05$) decreased in group D in comparison with control and VM group. Statistically significant increase ($p < 0.05$) can be seen in PON levels in the DVM group in comparison with group D. In conclusion, this study suggested that bilberry extract improved hyperglycemia and alleviated diabetic dyslipidemia. This plant also showed inhibitory effects on exocrine function of pancreas via reducing amylase and lipase activities. This study concluded that administering of VM extract for twenty one days, affected significant increase in the PON enzyme activity and may compensate the diabetic reduction of this enzyme.

Key Words: Diabetes, *Vaccinium myrtillus* L. (bilberry) extract, paraoksonase enzyme activities, pancreas enzyme activities, lipoproteins.

KAYNAKLAR

Abbott C, Mackness M, Kumar S, Boulton A, Durrington P (1995). Serum paraoxonase activity, concentration, and phenotype distribution in diabetes mellitus and its relationship to serum lipids and lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 15, 11, 1812-1818.

Adiels M, Taskinen MR, Packard C, Caslake MJ, Soro-Paavonen A, Westerbacka J, Boren J (2006). Overproduction of large VLDL particles is driven by increased liver fat content in man. *Diabetologia*, 49, 4, 755-765.

Adisakwattana S, Charoenlertkul P, Yibchok-Anun S (2009). A Glucosidase inhibitory activity of cyanidin-3-galactoside and synergistic effect with acarbose. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 24, 65–69.

Aharoni S, Aviram M, Fuhrman, B (2013). Paraoxonase1 (PON1) reduces macrophage inflammatory responses. *Atherosclerosis*, 228, 2, 353-361.

Alberti K, Zimmet P (1998). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med*, 15, 7, 539-553.

Al-Salih RM (2010). Clinical experimental evidence: Synergistic effect of gallic acid and tannic acid as antidiabetic and antioxidant agents. *Thi-Qar Medical Journal*, 4, 4, 109-119.

American Diabetes Association (2003). Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 27, 1, 88-90.

American Diabetes Association (2008) Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, *Diabetes Care*, 32, 1, 62-67.

American Diabetes Association (2009). Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*, 33, 1, 11-61.

American Diabetes Association (2013) Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus (2013). *Diabetes Care*, 37, 1, 81-90.

Androutsopoulos V, Kanavouras K, Tsatsakis A (2011). Role of paraoxonase1 (PON1) in organophosphate metabolism: Implications in neurodegenerative diseases. *Toxicol Appl Pharmacol*, 256, 3, 418-424.

Anonym (2016) <http://www.turkdiab.org/page.aspx?u=1&s=13>.

Asgary S, Rafieian KM, Sahebkar A, Shamsi F, Goli-Malekabadi N (2015). Anti-hyperglycemic and anti-hyperlipidemic effects of Aviram fruit in experimentally induced diabetes (antidiabetic effect of Vaccinium myrtillus fruit). *J Sci Food Agric*, 96, 3, 764-768.

- Atchutkumar, K, Satyanarayana T, Raj KK, Rajesh K (2013). Antihyperglycemic activity of methanolic extract of *Leucas aspera* wild whole plant on blood glucose levels of streptozotocin-induced diabetic rats. *Int J Pharm Pharm Sci*, 5, 76-78.
- Aughsteeen AA, Mohammed FI (2002). Insulin enhances amylase and lipase activity in the pancreas of streptozotocin-diabetic rats. An in vivo study. *Saudi Med J*, 23, 7, 838-844.
- Aughsteeen AA, Abu-Umair MS, Mahmoud SA (2005). Biochemical analysis of serum pancreatic amylase and lipase enzymes in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Saudi Med J*, 26, 1, 73-77.
- Aviram M (1999). Does paraoxonase play a role in susceptibility to cardiovascular disease? *Mol Med Today*, 5, 9, 381-386.
- Babu P, Liu D, Gilbert E (2013). Recent advances in understanding the anti-diabetic actions of dietary flavonoids. *J Nutr Biochem*, 24, 11, 1777-1789.
- Bagchi D, Sen C, Bagchi M, Atalay M (2004). Anti-angiogenic, antioxidant, and anti-carcinogenic properties of a novel anthocyanin-rich berry extract formula. *Biochem (Mosc)*, 69, 1, 75-80.
- Bansal V, Kalita J, Misra UK (2006). Diabetic neuropathy. *Postgrad Med J*, 82, 964, 95-100.
- Besler C, Heinrich K, Rohrer L, Doerries C, Riwanto M, Shih D (2011). Mechanisms underlying adverse effects of HDL on eNOS-activating pathways in patients with coronary artery disease. *J Clin Invest*, 121, 7, 2693-2708.
- Bhattacharya S, Dey D, Roy S (2007). Molecular mechanism of insulin resistance. *J Biosci*, 32, 2, 405-413.
- Bhattacharyya T, Nicholls S J, Topol E J, Zhang R, Yang X, Schmitt D, Brennan M L (2008). Relationship of paraoxonase 1 (PON1) gene polymorphisms and functional activity with systemic oxidative stress and cardiovascular risk. *Jama*, 299, 11, 1265-1276.
- Bonner-Weir S (2000). Islet growth and development in the adult. *J Mol Endocrinol*, 24, 3, 297-302.
- Boronat M, Saavedra P, Pérez-Martín N, López-Madrado M, Rodríguez-Pérez C, Nóvoa F (2012). High levels of lipoprotein(a) are associated with a lower prevalence of diabetes with advancing age: Results of a cross-sectional epidemiological survey in Gran Canaria, Spain. *Cardiovasc Diabetol*, 11, 1, 81.
- Brass BJ, Abelev Z, Liao EP, Poretsky L (2010). Endocrine Pancreas. In: *Princ Diabetes Mellit*, 37-55.

- Bratanova-Tochkova T, Cheng H, Daniel S, Gunawardana S, Liu Y, Mulvaney-Musa J (2002). Triggering and augmentation mechanisms, granule pools and biphasic insulin secretion. *Diabetes*, 51, 1, 83-90.
- Buyukbese MA, Bakar B (2012). Diabetes where continents meet: Turkey. *Eur J Gen Med*, 9, 3.
- Campbell F, Verbeke C (2013). Pathology of the pancreas. Chapter one, UK. London: Springer.
- Carpenter M, Coustan D (1982). Criteria for screening tests for gestational diabetes. *Am J Obstet Gynecol*, 144, 7, 768-773.
- Cavaghan M, Ehrmann D, Polonsky K (2000). Interactions between insulin resistance and insulin secretion in the development of glucose intolerance. *J Clin Invest*, 106, 3, 329-333.
- Chen X, Ahn D (1998). Antioxidant activities of six natural phenolics against lipid oxidation induced by Fe²⁺ or ultraviolet light. *J Am Oil Chem Soc*, 75, 12, 1717-1721.
- Cheng CC, Wu LC, Lai JM, Chen CT, Hsueh CM, Hsu SL (2012) Ethanol extract of *Graptopetalum paraguayense* upregulates paraoxonase1 gene expression via an AKT/NF- κ B-dependent pathway. *Am J Chin Med*, 40, 2, 357-372.
- Cheng Q, Cai S, Ni D, Wang R, Zhou F, Ji B, Chen Y (2013). In vitro antioxidant and pancreatic α -amylase inhibitory activity of isolated fractions from water extract of Qingzhu tea. *J Food Sci Technol*, 52, 2, 928-935.
- Chu W, Cheung SCM, Lau RAW (2011). Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) In: Benzie IFF, Wachtel-Galor S, Editors. Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects. Chapter 4, 2nd Edition. Boca Raton (FL): CRC Press/ Taylor Francis.
- Cignarella A, Nastasi M, Cavalli E, Puglisi L (1996). Novel lipid-lowering properties of *Vaccinium myrtillus* L. leaves, a traditional antidiabetic treatment, In several models of rat dyslipidaemia: A comparison with ciprofibrate. *Thromb Res*, 84, 5, 311-322.
- Costa L, Giordano G, Cole T, Marsillach J, Furlong C (2013). Paraoxonase1 (PON1) as a genetic determinant of susceptibility to organophosphate toxicity. *Toxicology*, 307, 115-122.
- Cox RA, García-Palmieri MR (1990). Cholesterol, Triglycerides, and Associated Lipoproteins. In: Walker HK, Hall WD, Hurst JW, editors. Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations. Chapter 31. 3rd Edition. Boston: Butterworths.
- De Fronzo R (1999). Pathogenesis of type 2 diabetes. *Drugs*, 58, 1, 29-30.
- De Luca C, Olefsky J (2007). Inflammation and insulin resistance. *FEBS Letters*, 582, 1, 97-105.

- DeFuria J, Bennett G, Strissel KJ, Perfield JW, II Milbury PE, Greenberg AS, Obin MS (2009). Dietary blueberry attenuates whole-body insulin resistance in high fat-fed mice by reducing adipocyte death and its inflammatory sequelae. *J Nutr*, 139, 1–7.
- Dickhout J, Basseri S, Austin R (2008). Macrophage function and its impact on atherosclerotic lesion composition, progression, and stability. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 28, 8, 1413-1415.
- Dimitriadis G, Mitrou P, Lambadiari V, Maratou E, Raptis S (2011). Insulin effects in muscle and adipose tissue. *Diabetes Res Clin Pract*, 93, 52-59.
- Dodson G, Steiner D (1998). The role of assembly in insulin's biosynthesis. *Curr Opin Struct Biol*, 8, 2, 189-194.
- Draganov D, La Du B (2004). Pharmacogenetics of paraoxonases: a brief review. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 369, 1, 78-88.
- Draganov DI, Teiber JF (2008). PONs' natural substrates—the key for their physiological roles. In the *Paraoxonases: Their role in disease development and xenobiotic metabolism*, Chapter 19. United States, Texas. 297-305.
- Dube S, Errazuriz I, Cobelli C, Basu R, Basu A (2013). Assessment of insulin action on carbohydrate metabolism: physiological and non-physiological methods. *Diabet Med.*, 30, 6, 664-670.
- Eisenbarth G (2007). Update in type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, 92, 7, 2403-2407.
- Engerman R, Kern T (1984). Experimental galactosemia produces diabetic-like retinopathy. *Diabetes*, 33, 1, 97-100.
- Farbstein D, Levy A (2012). HDL dysfunction in diabetes: causes and possible treatments. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 10, 3, 353-361.
- Farrell N, Norris G, Lee S, Chun O, Blesso C (2015). Anthocyanin-rich black elderberry extract improves markers of HDL function and reduces aortic cholesterol in hyperlipidemic mice. *Food Funct*, 6, 4, 1278-1287.
- Ferrannini E (2009). Insulin resistance versus β -cell dysfunction in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Curr Diab Rep*, 9, 3, 188-189.
- Ferre P, Fougelle F (2010). Hepatic steatosis: A role for de novo lipogenesis and the transcription factor SREBP-1c. *Diabetes Obes Metab*, 12, 2, 83-92.
- Feshani AM, Kouhsar SM, Mohammadi S (2011). Vaccinium arctostaphylos, a common herbal medicine in Iran: Molecular and biochemical study of its antidiabetic effects on alloxan-diabetic Wistar rats. *J Ethnopharmacol*, 133, 67–74.

- Fisher EA, Feig JE, Hewing B, Hazen SL, Smith JD (2012). High-density lipoprotein function, dysfunction, and reverse cholesterol transport. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 32, 12, 2813-2820.
- Florkowski C (2013). HbA1c as a diagnostic test for diabetes mellitus – Reviewing the evidence. *Clin Biochem Rev*, 34, 1, 75-83.
- Fong D, Aiello L, Ferris F, Klein R (2004). Diabetic retinopathy. *Diabetes care*, 27, 10, 2540- 2553.
- Forbes J, Cooper M (2013). Mechanisms of diabetic complications. *Physiol Rev*, 93, 1, 137-188.
- Ford-Adams M, Edge J (1999). Coma in the child with diabetes. *Curr Anaesth Crit Care*, 10, 5, 257-261.
- García-Heredia A, Marsillach J, Rull A, Triguero I, Fort I, Mackness B (2013). Paraoxonase-1 inhibits oxidized low-density lipoprotein-induced metabolic alterations and apoptosis in endothelial cells: A nondirected metabolomic study. *Mediators Inflamm*, 1-9.
- Garg N, Agrawal YB, Gupta S (2014). A study of lipid profile levels in diabetics and non-diabetics taking TC/HDL ratio and LDL/HDL ratio into consideration. *Ind Acad Clin Med*, 15, 3-4, 192-195.
- Garige M, Gong M, Varatharajalu R, Lakshman M (2010). Quercetin up-regulates paraoxonase1 gene expression via sterol regulatory element binding protein2 that translocates from the endoplasmic reticulum to the nucleus where it specifically interacts with sterol responsive element–like sequence in paraoxonase1 promoter in HuH7 liver cells. *Metabolism*, 59, 9, 1372-1378.
- Giacco F, Brownlee M (2010). Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res*, 107, 9, 1058-1070.
- Gianani R, Campbell-Thompson M, Sarkar S, Wasserfall C, Pugliese A, Solis J. (2010). Erratum to: Dimorphic histopathology of long-standing childhood-onset diabetes. *Diabetologia*, 53, 8, 1811-1812.
- Glomset JA (1968). The plasma lecithin: Cholesterol acyltransferase reaction. *J Lipid Res*, 9, 2, 155-167.
- Goldenberg R, Punthakee Z (2013). Definition, classification and diagnosis of diabetes, prediabetes and metabolic syndrome. *Can J Diabetes*, 37, 8-11.
- Gouedard C, Barouki R, Morel Y (2004). Dietary polyphenols increase paraoxonase 1 gene expression by an aryl hydrocarbon receptor-dependent mechanism. *Mol Cell Biol*, 24, 12, 5209-5222.

- Grace M, Ribnicky D, Kuhn P, Poulev A, Logendra S, Yousef G (2009). Hypoglycemic activity of a novel anthocyanin-rich formulation from lowbush blueberry, *Vaccinium angustifolium* Aiton. *Phytomedicine*, 16, 5, 406-415.
- Gray DM (1995). Carbohydrate digestion and absorption role of small intestine. *New Engl J Med* 29, 1225-1230.
- Grdic Rajkovic M, Rumora L, Barisic K (2011). The paraoxonase 1, 2 and 3 in humans. *Biochemia Medica*, 122-130.
- Guariguata L (2013). Contribute data to the 6th Edition of the IDF Diabetes Atlas. *Diabetes Res Clin Pract*, 100, 2, 280-281.
- Guo H, Guo J, Jiang X, Li Z, Ling W (2012). Cyanidin-3-O- β -glucoside, a typical anthocyanin, exhibits antilipolytic effects in 3T3-L1 adipocytes during hyperglycemia: Involvement of FoxO1-mediated transcription of adipose triglyceride lipase. *Food Chem Toxicol*, 50, 9, 3040-3047.
- Gylling H, Hallikainen M, Pihlajamaki J, Simonen P, Kuusisto J, Laakso M, Miettinen T (2010). Insulin sensitivity regulates cholesterol metabolism to a greater extent than obesity: Lessons from the METSIM study. *The J Lipid Res*, 51, 8, 2422-2427.
- Hanafusa T, Imagawa A (2007). Fulminant type 1 diabetes: A novel clinical entity requiring special attention by all medical practitioners. *Nature Clinical Prac Endoc Met*, 3, 1, 36-45.
- Harel M, Brumshtein B, Meged R, Dvir H, Ravelli R, McCarthy A (2007). 3-D structure of serum paraoxonase 1 sheds light on its activity, stability, solubility and crystallizability. *Arch Indust Hygiene Toxicol*, 58, 3.
- Hegele R, Ramdath D, Ban M, Carruthers M, Carrington C, Cao H (2001). Polymorphisms in PNLIP, encoding pancreatic lipase, and associations with metabolic traits. *J Human Genetics*, 46, 6, 320-324.
- Helmstädter A, Schuster N (2010). *Vaccinium myrtillus* as an antidiabetic medicinal plant—research through the ages. *Die Pharmazie-An Inter J Pharmaceutical Sci*, 65, 5, 315-321.
- Hiukka A, Fruchart-Najib J, Leinonen E, Hilden H, Fruchart JC, Taskinen MR (2005). Alterations of lipids and apolipoprotein CIII in very low density lipoprotein subspecies in type 2 diabetes. *Diabetologia*, 48, 6, 1207-1215.
- Hong C, Wang C, Huang S, Hsu F (1995). The inhibitory effect of tannins on lipid peroxidation of rat heart mitochondria. *J Pharm Pharmacol*, 47, 2, 138-142.
- Hu F, Manson J, Stampfer M, Colditz G, Liu S, Solomon C, Willett W (2001). Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *New Eng J Med*, 345, 11, 790-797.

- Humbert R, Adler DA, Disteché CM, Hassett C, Omiecinski CJ, Furlong CE (1993). The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. *Nat Genet*, 3, 1, 73-76.
- Ikeda Y, Inoue M, Suehiro T, Arai K, Kumon Y, Hashimoto K (2008). Low human paraoxonase predicts cardiovascular events in Japanese patients with type 2 diabetes. *Acta Diabetol*, 46, 3, 239-242.
- James R, Deakin S (2004). The importance of high-density lipoproteins for paraoxonase-1 secretion, stability, and activity. *Free Rad Biol Med*, 37, 12, 1986-1994.
- Kamel F, Hoppin, J (2004). Association of pesticide exposure with neurologic dysfunction and disease. *Environ Health Perspect*, 112, 9, 950-958.
- Khenouf S, Amira S, Arrar L, Baghiani A (2010). Effect of some phenolic compounds and quercus tannins on lipid peroxidation. *World Applied Sci J*, 8, 9, 1144-1149.
- Khersonsky O, Tawfik D (2006). The histidine 115-histidine 134 dyad mediates the lactonase activity of mammalian serum paraoxonases. *J Biol Chem*, 281, 11, 7649-7656.
- Kim C, Newton K, Knopp R (2002). Gestational Diabetes and the Incidence of Type 2 Diabetes: A systematic review. *Diabetes Care*, 25, 10, 1862-1868.
- King, M (2014). Integrative medical biochemistry examination and board Review. 1.Edition, Chapter 3. McGraw-Hill Education. United States, Indiana.
- Klein S, Sheard N, Pi-Sunyer X, Daly A, Wylie-Rosett J, Kulkarni K, Clark N (2004). Weight management through lifestyle modification for the prevention and management of type 2 diabetes: Rationale and strategies: A statement of the American Diabetes Association, The North American Association for the study of obesity, and the American society for clinical nutrition. *Diabetes Care*, 27, 8, 2067-2073.
- Konaklieva M, Plotkin B (2005). Lactones: Generic inhibitors of enzymes? *MRMC*, 5, 1, 73-95.
- Kos E, Liszek M, Emanuele M, Durazo-Arvizu R, Camacho P (2012). Effect of metformin therapy on vitamin D and vitamin B₁₂ levels in patients with type 2 diabetes mellitus. *Endocr Prac*, 18, 2, 179-184.
- Kostapanos M (2014). High density lipoproteins and type 2 diabetes: Emerging concepts in their relationship. *WJEM*, 4, 1, 1.
- Kota S, Kota S, Krishna S, Meher L, Modi K, Jammula S (2013). Implications of serum paraoxonase activity in obesity, diabetes mellitus, and dyslipidemia. *Indian J Endocr Met*, 17, 3, 402.
- Koyama M, Wada R, Sakuraba H, Mizukami H, Yagihashi S (1998). Accelerated loss of islet β cells in sucrose-fed goto-kakizaki rats, a genetic model of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Pathol*, 153, 2, 537-545.

- Krauss RM (2004). Lipids and lipoproteins in patients with type 2 diabetes. *Diabetes care*, 27, 6, 1496-1504.
- Krentz A, Bailey C (2005). Oral antidiabetic agents. *Drugs*, 65, 3, 385-411.
- Kruger M, Davies N, Myburgh K, Lecour S (2014). Proanthocyanidins, anthocyanins and cardiovascular diseases. *Food Res I*, 59, 41-52.
- Laakso M (2010). Cardiovascular disease in type 2 diabetes from population to man to mechanisms: The Kelly West Award Lecture 2008. *Diabetes Care*, 33, 2, 442-449.
- Lazarus SS, Volk BW (1961). Pancreas in maturity-onset diabetes. Pathogenetic considerations. *Arch Pathol*, 71, 44-59.
- Leahy J (2005). Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Arch Med Res*, 36, 3, 197-209.
- Lee B, Lee M, Lefevre M, Kim H (2014). Anthocyanins inhibit lipogenesis during adipocyte differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. *Plant Foods Hum Nutr*, 69, 2, 137-141.
- Lee S, Park M, Han J, Jeong Y, Kim M, Jeon Y (2012). Bioactive compounds extracted from Gamtae (*Ecklonia cava*) by using enzymatic hydrolysis, a potent α -glucosidase and α -amylase inhibitor, alleviates postprandial hyperglycemia in diabetic mice. *Food Sci Biotechnol*, 21, 4, 1149-1155.
- Lewis B (1973). Classification of lipoproteins and lipoprotein disorders. *J Clin Pathol*, 1-5, 1, 26-31.
- Li GQ, Kam A, Wong KH, Zhou X, Omar EA, Alqahtani A, Chan K (2013). Herbal medicines for the management of diabetes. *Diabetes*, 396-413.
- Li Y, Perera P (2012). Functional herbal food ingredients used in type 2 diabetes mellitus. *Pharmacognosy*, 6, 11, 37.
- Liang Y, Chen J, Zuo Y, Ma K Y, Jiang Y, Huang Y, (2013). Blueberry anthocyanins at doses of 0.5 and 1 % lowered plasma cholesterol by increasing fecal excretion of acidic and neutral sterols in hamsters fed a cholesterol-enriched diet. *Eur J Nutr*, 52, 869-875.
- Lowenthal M, Phillips M, Rimmer C, Rudnick P, Simón-Manso Y, Stein S (2012). Developing qualitative LC-MS methods for characterization of Vaccinium berry standard reference materials. *Anal Bioanal Chem*, 405, 13, 4451-4465.
- Mackness B, Durrington P, Abuashia B, Boulton A, Mackness M (2000). Low paraoxonase activity in type II diabetes mellitus complicated by retinopathy. *Clin Sci*, 98, 3, 355-363.
- Mackness B, Durrington P, Mackness M (1998a). Human serum paraoxonase. *General Pharmacology: Vasc Syst*, 31, 3, 329-336.

- Mackness B, Durrington P, McElduff P, Yarnell J, Azam N, Watt M, Mackness M (2003). Low paraoxonase activity predicts coronary events in the caerphilly prospective study. *Circulation*, 107, 22, 2775-2779.
- Mackness B, Mackness M, Arrol S, Turkie W, Durrington P (1998b). Effect of the human serum paraoxonase 55 and 192 genetic polymorphisms on the protection by high density lipoprotein against low density lipoprotein oxidative modification. *FEBS Letters*, 423, 1, 57-60.
- Mackness M, Mackness B (2015). Human paraoxonase-1 (PON1): Gene structure and expression, promiscuous activities and multiple physiological roles. *Gene*, 567, 1, 12-21.
- Marks S, Girgis R, Couch R (2003). Screening for adrenal antibodies in children with type 1 diabetes and autoimmune thyroid disease. *Diabetes Care*, 26, 11, 3187-3188.
- Marounek M, Volek Z, Skřivanová E, Tůma J (2010). Effects of amidated pectin alone and combined with cholestyramine on cholesterol homeostasis in rats fed a cholesterol-containing diet. *Carbohydr Polym*, 80, 3, 989-992.
- Matsuda A, Makino N, Tozawa T, Shirahata, N, Honda T, Ikeda Y, Sato H, Ito M, Kakizaki Y, Akamatsu M, Ueno Y, Kawata S (2014). Pancreatic fat accumulation, fibrosis, and acinar cell injury in the zucker diabetic fatty rat fed a chronic high-fat diet. *Pancreas*, 43, 5, 735-74.
- Matsui T, Ebichi S, Kobayashi M, Fukui K, Sugita K, Terahara N, Matsumoto K (2002). Anti-hyperglycemic effect of diacylated anthocyanin derived from *Ipomoea batatas* cultivar ayamurasaki can be achieved through the α -glucosidase inhibitory action. *J Agric Food Chem*, 50, 7244-7248.
- Matsui T, Ueda T, Oki T, Sugita K, Terahara N, Matsumoto K (2001). α -Glucosidase inhibitory action of natural acylated anthocyanins. 2. α -glucosidase inhibition by isolated acylated anthocyanins. *J Agric Food Chem*, 49, 1952-1956.
- McArdle M, Finucane O, Connaughton R, McMorrow A, Roche H (2013). Mechanisms of obesity-induced inflammation and insulin resistance: Insights into the emerging role of nutritional strategies. *Front In Endocr*, 4, 52,1-24.
- Mercado M, McLenithan J, Silver K, Shuldiner A (2002). Genetics of insulin resistance. *Curr Diab Rep*, 2, 1, 83-95.
- Metzger B, Buchanan T, Coustan D, De Leiva A, Dunger D, Hadden D, Hod M, Kitzmiller J, Kjos S, Oats J, Pettitt D, Sacks D, Zoupas C (2007). Summary and Recommendations of the Fifth International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 30, 2, 251-260.
- Miguel MG (2011). Anthocyanins: Antioxidant and/or anti-inflammatory activities. *J Appl Pharm Sci*, 1, 6, 7-15.

- Monnier L, Colette C, Percheron C, Descomps B (1994). Insulin, diabetes and cholesterol metabolism. *Comptes rendus des seances de la Societe de biologie et de ses filiales*, 189, 5, 919-931.
- Nakajima K, Nemoto T, Muneyuki T, Kakei M, Fuchigami H, Munakata H (2011). Low serum amylase in association with metabolic syndrome and diabetes: A community-based study. *Cardiovasc Diabetol*, 10, 1, 34.
- Newihi H, Dooley C, Saad C, Staples J, Zeidler A, Valenzuela J (1988). Impaired exocrine pancreatic function in diabetics with diarrhea and peripheral neuropathy. *Digest Dis Sci*, 33,6, 705-710.
- Niedowicz D, Daleke D (2005). The role of oxidative stress in diabetic complications. *CBB*, 43, 2, 289-330.
- Nyenwe E, Jerkins T, Umpierrez G, Kitabchi A (2011). Management of type 2 diabetes: evolving strategies for the treatment of patients with type 2 diabetes. *Metabolism*, 60, 1, 1-23.
- Pandol SJ (2010). The exocrine pancreas. San Rafael (CA) The First Edition: Morgan Claypool, Life Sciences; Chapter One: Anatomy. United States, California.
- Parsaeyan N, Mozaffari-Khosravi H, Mozayan M (2012). Effect of pomegranate juice on paraoxonase enzyme activity in patients with type 2 diabetes. *J Diabet Met Dis*, 11, 1, 11.
- Patterson C, Guariguata L, Dahlquist G, Soltész G, Ogle G, Silink M (2014). Diabetes in the young – a global view and worldwide estimates of numbers of children with type 1 diabetes. *Diabet Res Clin Prac*, 103, 2, 161-175.
- Pereira R I, Maahs D M (2008). Mediators of Insulin Resistance. In: Insulin Resistance. Chapter 10, 161-177. Humana Press. State of Colorado. USA.
- Poitout V, Robertson R (2002). Secondary β -cell failure in type 2 diabetes a convergence of glucotoxicity and lipotoxicity. *Endocrin*, 143, 2, 339-342.
- Ponnusamy S, Ravindran R, Zinjarde S, Bhargava S, Ravi Kumar A (2011). Evaluation of traditional Indian antidiabetic medicinal plants for human pancreatic amylase inhibitory effect in vitro. *Evid Based Comp Alternat Med*, 1-10.
- Porksen N, Hollingdal M, Juhl C, Butler P, Veldhuis J, Schmitz O (2002). Pulsatile insulin secretion: Detection, regulation, and role in diabetes. *Diabetes*, 51, 1, 245-254.
- Primo-Parmo S, Sorenson R, Teiber J, Du B (1996). The human serum paraoxonase/arylesterase gene (pon1) is one member of a multigene family. *Genomics*, 33, 3, 498-507.
- Prior RL, E Wilkes SR, Rogers T, Khanal RC, Wu X, Howard LR (2010). Purified blueberry anthocyanins and blueberry juice alter development of obesity in mice fed an obesogenic high-fat diet. *J Agric Food Chem*. 14, 58,3970-3976.

- Proud CG, (2006). Regulation of protein synthesis by insulin. *Biochem Soc Trans*, 34, 2, 213-216.
- Racette S, Lin X, Lefevre M, Spearie C, Most M, Ma L, Ostlund R (2009). Dose effects of dietary phytosterols on cholesterol metabolism: A controlled feeding study. *Am J Clin Nutr*, 91, 1, 32-38.
- Rosenblat M, Gaidukov L, Khersonsky O, Vaya J, Oren R, Tawfik D, Aviram M (2006). The catalytic histidine dyad of high density lipoprotein-associated serum paraoxonase-1 (PON1) is essential for PON1-mediated inhibition of low density lipoprotein oxidation and stimulation of macrophage cholesterol efflux. *J Biol Chem*, 281, 11, 7657-7665.
- Ross P (2008). Kinetic investigation of oxidized polyunsaturated fatty acids as inhibitors of human serum paraoxonase (Master degree). 21-22, New York. USA.
- Ross R (1999). Atherosclerosis an inflammatory disease. *New Eng J Med*, 340, 2, 115-126.
- Roy M, Sen S, Chakraborti A (2008). Action of pelargonidin on hyperglycemia and oxidative damage in diabetic rats: Implication for glycation-induced hemoglobin modification. *Life Sci*, 82, 21-22, 1102-1110.
- Rozenberg O, Shiner M, Aviram M, Hayek T (2008). Paraoxonase 1 (PON1) attenuates diabetes development in mice through its antioxidative properties. *Free Radic Biol Med*, 44, 11, 1951-1959.
- Ryden L, Grant PJ, Anker SD, Berne C, Cosentino F, Danchin N, Marre M (2013). ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD. *Eur Heart J*, 34, 39, 3035-3087.
- Sakuraba H, Mizukami H, Yagihashi N, Wada R, Hanyu C, Yagihashi S (2002). Reduced beta-cell mass and expression of oxidative stress-related DNA damage in the islet of Japanese type II diabetic patients. *Diabetologia*, 45, 1, 85-96.
- Sancho R, Pastore G (2012). Evaluation of the effects of anthocyanins in type 2 diabetes. *Food Res Int*, 46, 1, 378-386.
- Sasaki R, Nishimura N, Hoshino H, Isa Y, Kadowaki M, Ichi T, Tanaka A, Nishiumi S, Fukuda I, Ashida H, Horio F, Tsuda T (2007). Cyanidin 3-glucoside ameliorates hyperglycemia and insulin sensitivity due to downregulation of retinol binding protein 4 expression in diabetic mice. *Biochem Pharmacol*, 74, 1619-1627.
- Satman I, Yilmaz T, Sengul A, Salman S, Salman F, Uygur S (2002). Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: Results of the Turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes Care*, 25, 9, 1551-1556.
- Savu O, Serafinceanu C, Grajdeanu I, Iosif L, Gaman L, Stoian I (2014). Paraoxonase lactonase activity, inflammation and antioxidant status in plasma of patients with type 1 diabetes mellitus. *Int J Med Nano Res*, 42, 2, 523-529.

- Schena F (2005). Pathogenetic mechanisms of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*, 16, 31, 30-33.
- Sears B, Perry M (2015). The role of fatty acids in insulin resistance. *Lipids Health Dis*, 14, 1, 2-9.
- Seino Y, Nanjo K, Tajima N, Kadowaki T, Kashiwagi A, Araki E (2010). Report of the committee on the classification and diagnostic criteria of diabetes mellitus. *Diabetol Int*, 1, 1, 2-20.
- Shaw J, Sicree R, Zimmet P (2010). Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract*, 87, 1, 4-14.
- Singh J, Yago MD, Adeghate E (1998). The role of insulin, glucagon, somatostatin, cholecystokinin, acetylcholine and nerve stimulation in the interactions between the endocrine and exocrine pancreas in normal and diabetic conditions in rats. *Int J Diabetes Mellit*, 6, 105-121.
- Skandalakis LJ, Skandalakis JE, Skandalakis PN (2008). Surgical anatomy and technique. Third edition. Chapter 9. 348-387. Springer. Georgia, Atlanta. USA.
- Sone H, Kagawa, Y (2004). Pancreatic beta cell senescence contributes to the pathogenesis of type 2 diabetes in high-fat diet-induced diabetic mice. *Diabetologia*, 48, 1, 58-67.
- Steinberg W, Nauck M, Zinman B, Daniels G, Bergenstal R, Mann J (2014). Leader 3 lipase and amylase activity in subjects with type 2 diabetes. *Pancreas*, 43, 8, 1223-1231.
- Ștefănuț M, Căta A, Pop R, Tănăsie C, Boc D, Ienașcu I, Ordodi V (2013). Antihyperglycemic effect of bilberry, blackberry and mulberry ultrasonic extracts on diabetic rats. *Plant Foods Hum Nutr*, 68, 4, 378-384.
- Takaeidi M, Jahangiri A, Khodayar M, Siahpoosh A, Yaghooti H, Rezaei S (2014). The effect of date seed (*Phoenix dactylifera*) extract on paraoxonase and arylesterase activities in hypercholesterolemic rats. *Jundishapur J Nat Pharm Prod*, 9, 1 30-34.
- Taskinen M (1987). Lipoprotein lipase in diabetes. *Diabetes/Metab Rev*, 3, 2, 551-570.
- Taskinen M (2002). Diabetic dyslipidemia. *Atheroscler Suppl*, 3, 1, 47-51.
- Taskinen M, Borén J (2015). New insights into the pathophysiology of dyslipidemia in type2 diabetes. *Atherosclerosis*, 239, 2, 483-495.
- Trachtenbarg DE (2005). Diabetic ketoacidosis. *Am Fam Physician*, 71, 9, 1705-1714.
- Tracy J, Dyck P (2008). The spectrum of diabetic neuropathies. *Phys Med Rehabil Clin N Am*, 19, 1, 1-26.

- Tracy TS (2007). Bilberry. *Herbal Products*, pp. 259-268. Humana Press. New York. USA.
- Tsuda T, Horio F, Uchida K, Aoki H, Osawa T (2003). Dietary cyanidin 3-O- β -D-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice. *J Nutr*, 133, 7, 2125-2130.
- Ujwala W, Vijender S, Mohammad A (2012). In-vitro antioxidant activity of isolated tannins of alcoholic extract of dried leaves of *Phyllanthus amarus* Schonn and Thonn. *Int J Drug Dev Res*. 4, 1, 274-285.
- Ural SH, Repke JT (2008). Gestational diabetes mellitus. *Rev Obstet Gynecol*, 1, 3, 129.
- Van Belle T, Coppieters K, Von Herrath M (2011). Type 1 diabetes: Etiology, immunology and therapeutic strategies. *Physiol Rev*, 91, 1, 79-118.
- Verges B (2005). New insight into the pathophysiology of lipid abnormalities in type 2 diabetes. *Diabetes Met*, 31, 5, 429-439.
- Wadhwa RK, Steen DL, Khan I, Giugliano RP, Foody JM (2015). A review of low-density lipoprotein cholesterol, treatment strategies, and its impact on cardiovascular disease morbidity and mortality. *J Clin Lipidol*, 10, 3, 472 – 489.
- Wang J, Mazza G (2002). Inhibitory effects of anthocyanins and other phenolic compounds on nitric oxide production in LPS/IFN- γ -activated RAW 264.7 macrophages. *J Agric Food Chem*, 50, 4, 850-857.
- Wang S, Jiao H (2000). Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen. *J Agric Food Chem*, 48, 11, 5677-5684.
- Wang Z, Wang J, Chan P (2013). Treating type 2 diabetes mellitus with traditional Chinese and Indian medicinal herbs. *Evid Based Complement Alternat Med*, 1-17.
- Wei W, Liu Q, Tan Y, Liu L, Li X, Cai L (2009). Oxidative stress, diabetes, and diabetic complications. *Hemoglobin*, 33, 5, 370-377.
- Westerberg DP (2013). Diabetic ketoacidosis: evaluation and treatment. *Am Fam Physician*, 87, 5, 337-334.
- Whitcomb D, Lowe M (2007). Human pancreatic digestive enzymes. *Dig Dis Sci*, 52, 1, 1-17.
- Wilcox G (2005). Insulin and insulin resistance. *Clin Biochem Rev*, 26, 2, 19-39.
- Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H (2004). Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030: Response to Rathman and Giani. *Diabetes Care*, 27, 10, 2569-2570.

- Wright E, Scism-Bacon J, Glass L (2006). Oxidative stress in type 2 diabetes: the role of fasting and postprandial glycaemia. *Int J Clin Pract Suppl*, 60, 3, 308-314.
- Xiao C, Lewis GF (2012). Regulation of chylomicron production in humans. *Biochim Biophys Acta*, 1821, 5, 736-746.
- Xiao C, Dash S, Morgantini C, Lewis G F (2014). New and emerging regulators of intestinal lipoprotein secretion. *Atherosclerosis*, 233, 2, 608-615.
- Yadav R, BhaRtiYa JP, Verma SK, Nandkeoliar MK (2013). The evaluation of serum amylase in the patients of type 2 diabetes mellitus, with a possible correlation with the pancreatic functions. *J Clin Diagn Res*, 7, 7, 1291-1294.
- Yang B, Kortensniemi, M (2015). Clinical evidence on potential health benefits of berries. *Curr Op Food Sci*, 2, 36-42.
- Yegin S, Yur F, Ceylan E (2013). Effect of lycopene application in rats with experimental diabetes using lipoprotein, paraoxonase and cytokines. *J Memb Biol*, 246, 8, 621-626.
- Ying Y (2010). Paraoxonase 1 activity as a predictor of cardiovascular disease in type 2 diabetes. *Southeast Asian J Trop Med Pub Health*, 41, 5, 1231-1246.
- You Q, Chen F, Wang X, Jiang Y, Lin S (2012). Anti-diabetic activities of phenolic compounds in muscadine against alpha-glucosidase and pancreatic lipase. *LWT - Food Sci Technol*, 46, 1, 164-168.
- Zhou H, Zhang X, Lu J (2014). Progress on diabetic cerebrovascular diseases. *Bosn J Basic Med Sci*, 14, 4, 185-190.

ÖZGEÇMİŞ

Karzan Mahmood SAEED, 1987 yılında Suleymaniya – Irak'ta doğdu. İlköğrenimini Goizha İlköğretim Okulunda, orta öğrenimini Watan Lisesi'nde tamamladı. 2006 yılında Suleymaniya Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümüne başladı ve 2010 yılında mezun oldu. 2014 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Temel Eczacılık Bilimleri Anabilim Dalı Biyokimya Bilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. 2011 yılında Irak Sulaymaniya Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne atandı. Halen aynı hastanede görev yapmaktadır.



EKLER

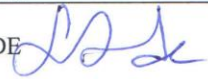




EK 1. YYÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (YUHADYЕК) Araştırma Onay Belgesi

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAY BELGESİ

Araştırmanın Adı	Deneysel Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda <i>Vaccinium myrtillus</i> Uygulamasının Paraoksonaz, Pankreas Enzim Aktiviteleri ve Lipoprotein Düzeylerine Etkisi
Araştırmanın Yürütücüsü	Doç. Dr. Tahir KAHRAMAN
Yardımcı Araştırmacılar	Biyolog Karzan Mahmood SAEED
Kurumu	Eczacılık Fakültesi
Araştırmanın Tahmini Süresi	10 Ay
Kullanılacak Hayvan Türü ve Sayısı	Sıçan 32 Adet
Destekleyecek Kuruluş (lar)	YYÜ. Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı
Başvuru Tarihi	24.11.2015

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2015/13	Tarih:26.11.2015
	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi/elemanı Doç. Dr. Tahir KAHRAMAN sorumluluğunda yürütülmesi planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Yüksek Lisans projesi gerekçe, amaç ve yöntemler dikkate alınarak ilgi başvuru belgeleri incelendi. Çalışmanın etik açıdan uygun olduğuna, projenin aşağıdaki hususlar dikkate alınarak yürütülmesine ve proje yürütücüsüne iletilmesine oy birliği/_oy çokluğu ile karar verildi. 1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması. 2) Projede çalışacağı bildirilen araştırmacılar da değişiklik olduğunda kurulumuzdan onay alınması. 3) Deney hayvanları üzerinde yapılacak girişimin başlangıç ve bitiş tarihlerinin bildirilmesi. 4) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması. 5) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi.	

ETİK KURUL ÜYELERİ	
BAŞKAN	
Prof. Dr. Semiha DEDE 	
ÜYELER	
Prof. Dr. Duran BOLAT	Prof. Dr. Sıddık KESKİN
Prof. Dr. Fazıl ŞEN 	Doç. Dr. M. Fatih GARÇA 
Doç. Dr. Atilla DÜRMÜŞ 	Doç. Dr. Abdülbaki AKSAKAL
Yrd. Doç. Dr. Ferda KARAKUŞ 	Yrd. Doç. Dr. Fatih KAZANCI
Vet. Hek. Yrd. Doç. Dr. Yıldırım BAŞBUĞAN 	Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU 
Vet. Hek. İsmail Hakkı BEHÇET	


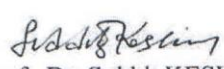
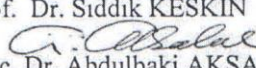
***Bu form YUHADYЕК tarafından doldurulacaktır.**

EK 2. YYÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (YUHADYEK) Araştırma Kesin Sonuç Onay Belgesi



T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
ARAŞTIRMA KESİN SONUÇ ONAY BELGESİ

YUZUNCU YIL UNIVERSITY (TURKEY)
ANIMAL RESEARCHES LOCAL ETHIC COMMITTEE
RESEARCH FINAL REPORT APPROVAL CERTIFICATE

Araştırmannın Adı	Deneyssel Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda <i>Vaccinium myrtillus</i> Uygulamasının Paraoksonaz, Pankreas Enzim Aktiviteleri ve Lipoprotein Düzeylerine Etkisi
<i>Title of the Research</i>	The Effect of <i>Vaccinium myrtillus</i> Application on the Paraoksonase, Pancreatic Enzymes Activity and Lipoproteins Levels in Experimental Diabetic Rats
Araştırmacı(lar) <i>Investigator(s)</i>	Yürütücü / <i>Chief investigator</i> : Doç. Dr. Tahir KAHRAMAN Yardımcı Araştırmacı(lar) / <i>Co-investigator(s)</i> : Karzan Mahmood Saeed
Araştırmannın Başlama Tarihi / <i>Research Starting Date</i> : 02-03-2016	
Araştırmannın Bitiş Tarihi / <i>Research Completion Date</i> : 26-03-2016	
Proje Süresi / <i>Total Time of Project</i> : 10 Ay	
Proje No / <i>Project Number</i> : ---	
Araştırmayı Destekleyen Kuruluş (varsa) / <i>Funding institution(s) (if available)</i> : ---	
Destek Şekli ve Miktarı / <i>Type and amount of funding</i> :	
Karar: Yukarıda bilgileri verilen araştırma projesinin kesin sonuç raporu Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 05/05/2016 tarih ve 2016/04 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.	
Decision: <i>Final report of the research project detailed above was approved by Yuzuncu Yil University Animal Researches Local Ethic Committee in the session held on 05/05/2016 (decision number 2016/04).</i>	
	Başkan V./ Chair V.  Vet. Hek. Yrd. Doç. Dr. Yıldırım BAŞBUĞAN
	Üyeler/Members Prof. Dr. Duran BOLAT Prof. Dr. Fazıl ŞEN Doç. Dr. Atilla DURMUŞ Doç. Dr. Nalan ÖZDAL Vet. Hekim İsmail Hakkı BEHÇET
	 Prof. Dr. Sıddık KESKİN  Doç. Dr. Abdülbaki AKSAKAL Doç. Dr. M. Fatih GARÇA Yrd. Doç. Dr. Ferda KARAKUŞ Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU