

**ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**STREPTOZOTOSİN İLE DENEYSEL OLARAK DİYABET OLUŞTURULAN
RATLARDA *PLANTAGO MAJOR*'UN BİYOKİMYASAL ETKİLERİ**

Yasin Dursun

KİMYA ANABİLİM DALI

ÇANKIRI

2016

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Yasin DURSUN tarafından hazırlanan “DENEYSEL OLARAK STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULAN RATLARDA, *PLANTAGO MAJOR*’UN BİYOKİMYASAL ETKİLERİ” adlı tez çalışması 11/11/2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç.Dr. Tünay KONTAŞ AŞKAR

Jüri Üyeleri : Doç.Dr. Tünay KONTAŞ AŞKAR , Prof.Dr. Mehmet ÇAKIR,
Yrd.Doç.Dr.Olga BÜYÜKLEBLEBİCİ

Başkan: Doç.Dr. Tünay KONTAŞ AŞKAR

Üye: Prof.Dr. Mehmet ÇAKIR

Üye: Yrd.Doç.Dr.Olga BÜYÜKLEBLEBİCİ

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Doç. Dr. Tamer KEÇELİ
Enstitü Müdür V.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

STREPTOZOTOSİN İLE DENEYSSEL OLARAK DİYABET OLUŞTURULAN RATLARDA *PLANTAGO MAJOR*'UN BİYOKİMYASAL ETKİLERİ

Yasin DURSUN
Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Tünay KONTAŞ AŞKAR

Diyabet mellitus karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında meydana gelen değişiklikleri içeren ve hiperglisemi ile karakterize metabolik bir hastalıktır. İnsülin hormon sekresyonunun ve/veya insülin eksikliğinin sonucu olarak karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmasında bozukluklara yol açar. Bu çalışma ile deneysel olarak diyabet oluşturulan ratlarda *Pl. major*'ün diabet üzerine olan etkisinin biyokimyasal, oksidatif durum ve apoptotik belirteçler ile gösterilmesi amaçlanmaktadır.

Çalışmada hayvan materyali olarak 30 erkek Sprague-Dawley ırkı Albino rat kullanılmıştır. Ratlar kontrol, *Pl. major*, diyabet, diyabet+insülin ve diyabet+ *Pl. major* olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır. Tüm hayvanlar 4 haftalık deneme boyunca standart yem ve suyla beslenmiştir. Diyabet oluşturmak için; diyabet ve diyabet+ *Pl. major* grubundaki ratlara (60 mg/kg) tek doz streptozotosin i.p. olarak uygulandı. Diyabet oluşumunu takiben diyabet+ *Pl. major* ve *Pl. major* grubunda bulunan ratlara içme suyu ile 0,3 mg/ml *Pl. major* verilmiştir. Diyabette *Pl. major*'ün etkisinin araştırıldığı çalışmada; diyabet+ *Pl. major* grubunda serum glikoz, HbA1c, trigliserit, total kolesterol, LDL, TBARS, kaspaz-3 ve kaspaz-8 düzeyleri diyabet grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derece düşük bulunurken, serum insülin, TAC ve HDL düzeyleri yüksek bulunmuştur.

Bu çalışma ile; diyabetli ratlarda *Pl. major* uygulamasının insülin benzeri etki göstererek, kan glikoz ve HbA1c düzeylerini düşürdüğü ve lipid profilini değiştirdiği belirlenmiştir. Çalışmadan elde edilen verilerin ışığında; *Pl. major*'ün ileriki yıllarda insülin direnci ve diyabet tedavisinde kullanılabileceği düşünülmektedir.

ANAHTAR KELİMELELER: Diabetes mellitus, *Plantago major*, lipid profili, rat fareleri, apoptozis

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

BİOCHEMİCAL EFFECTS OF *PLANTAGO MAJOR* İN RATS WİTH EXPERİMENTALLY DİABETES İNDUCED WİTH STREPTOZOTOCİN

Yasin Dursun

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisors: Assoc. Prof. Dr. Tünay KONTAŞ AŞKAR

Diabetes mellitus is a disease which caused by the deficiency of insulin hormone secretion or it's effect. Insulin, the hormone secretion and / or insulin deficiency as a result of, leading to disturbances carbohydrates, lipid and protein metabolism. In this study we investigated the effects of *Pl.major* in rats with experimentally induced diabet. Biochemical effects of diabetes on the majors, are intended to demonstrate the oxidative status and apoptotic markers.

30 male rats were used in this study as animal material. Rats divided into five groups as control, *Pl.major*, diabetic, insülin and diabetic+ *Pl.major*.

All the animals fed with standard food and water during the four week trial. To induce experimental diabetes; a single dose (60 mg/kg) of STZ were applied i.p. to rats in diabetes, diabetes+*Pl major* and diabetes+insülin groups. After the formation of diabetes in diabetes + *Pl major* and *Pl major* groups, 0,3 mg/ml of *Pl major* were added the rat's drinking water for three weeks. In the study however serum glucose, HbA1c, triglycerides, total cholesterol, TBARS, LDL, kaspaz-3 ve kaspaz-8 levels were found significantly lower in diabetic+ *Pl major*, the levels of serum insulin, TAC and HDL levels were found higher than the diabetic group.

In this study, the application of *Pl major* in diabetic rats showed that *Pl major* acting as insülin analog lowering blood glucose and decreasing HbA1c levels and changing lipid profile. With the light of the data obtained from the study, it is considered that *Pl major* can be used in the treatment of insulin resistance and diabetes in the following years.

2016, 40 pages

Keywords: Diabetes Mellitus, *Pl Major*, lipid profile, rats, apoptosis

TEŞEKKÜR

Derslerimden tezimin yazılmasına kadar benimle ilk günden itibaren çok ilgilenen, bana yol gösteren, değerli bilgilerini benimle paylaşan, desteğini hi esirgemeyen, sayın danışman hocam Doç. Dr. Tünay KONTAŞ AŞKAR' a, benden maddi manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, eőim Seyhan DURSUN'a ve adını burada sayamadığım katkısı olan herkese ayrıca őükranlarımı sunarım.

Yasin DURSUN

ankırı, Kasım 2016

İÇİNDEKİLER

Özet.....	i
Abstract.....	ii
Teşekkür.....	iii
Simgeler Dizini.....	v
Şekiller Dizini.....	vi
Çizelgeler Dizini.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	2
2.1 Diabetes Mellitus.....	2
2.2 Diabetes Mellitusun Sınıflandırılması.....	3
2.3 Diabetes Mellitus'un Laboratuvar Tanısı.....	6
2.4.Apoptoz.....	7
2.5. Apoptoz Sürecinde Rol Alan Gruplar.....	10
2.6. Apoptoz Süreci.....	13
2.7. Apoptoz Ve Diabet İlişkisi.....	16
2.8. Bitki Ekstraktları.....	16
2.9. Amaç.....	18
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	19
3.1 Materyal.....	19
3.1.1 Deney Hayvanı Materyali.....	19
3.2 Yöntem.....	21
3.2.1 Glikoz düzeyinin ölçümü.....	21
3.2.2 HbA1c hesaplama yöntemi.....	21
3.2.3 İnsülin analizi.....	21
3.2.4 Triglisericid ölçüm yöntemi.....	22
3.2.5 Total kolesterol ölçüm yöntemi.....	22
3.2.6 HDL ölçüm yöntemi.....	23
3.2.7 LDL hesaplama yöntemi.....	23
3.2.8 Tiyobarbitürik asit türevleri (TBARS) tayin yöntemi.....	23
3.2.9 Total antioksidan kapasite (TAC).....	24
3.2.10 Kaspaz (3 ve 8) enzim tayin yöntemleri.....	24
3.2.11 Kullanılan istatistik yöntemler.....	24
4. BULGULAR.....	25
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	34
KAYNAKLAR.....	40
ÖZGEÇMİŞ.....	45

SİMGELER DİZİNİ

Apo-B	Apolipoprotein B
DM	Diabetes Mellitus
ELİSA	Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
HbA1c	Glikozillenmiş Hemoglobin
HDL	Yüksek Dansiteli Lipoprotein
IGT	Bozulmuş Glikoz Toleransı
LDL	Düşük Dansiteli Lipoprotein
NGT	Normal Glikoz Toleransı
OGTT	Oral Glikoz Tolerans Testi
PEG	Polietilenglikol
STZ	Streptozotosin
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
TAC	Total serum antioksidan kapasite
TBARS	Tiyobarbitürik Asit Türevleri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Apoptozda rol alan gruplar.....	11
Şekil 2.3 Apoptoz sürecinde hücredeki değişiklikler.....	15
Şekil 4.1 Deneme gruplarındaki ratların kan glikoz düzeyleri.....	27
Şekil 4.2 Deneme gruplarındaki ratların HbA1c düzeyleri	27
Şekil 4.3 Deneme gruplarındaki ratların İnsülin düzeyleri.....	28
Şekil 4.4 Deneme gruplarındaki ratların serum trigliserit düzeyleri.....	29
Şekil 4.5 Deneme gruplarındaki grubundaki ratların serum total kolestrol düzeyleri....	29
Şekil 4.6 Deneme gruplarındaki grubundaki ratların serum LDL düzeyleri.....	30
Şekil 4.7 Deneme gruplarındaki grubundaki ratların serum HDL düzeyleri.....	31
Şekil 4.8 Deneme gruplarındaki ratların serum TBARS düzeyleri.....	31
Şekil 4.9 Deneme gruplarındaki ratların serum TAC düzeyleri.....	32
Şekil 4.10 Deneme gruplarındaki ratların serum kaspaz-3 düzeyleri.....	33
Şekil 4.11 Deneme gruplarındaki ratların serum kaspaz-8 düzeyleri	33

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 WHO kriterlerine göre OGTT yorumu	7
Çizelge 2.2 Bcl-2 Gen Ailesi.....	12
Çizelge 4.1 Deneme gruplarındaki ratların haftalık beden ağırlığı düzeyleri.....	25
Çizelge 4.2 Deneme gruplarındaki ratların kan glikoz, HbA1c, insülin,Kaspaz-3,Kaspaz-8 ve lipid profil düzeyleri.....	26



1.GİRİŞ

Diabetes mellitus (şeker hastalığı); karbonhidrat, protein ve lipid metabolizmalarının bozukluğu ile seyreden, hiperglisemi ile karakterize, kronik bir hastalıktır. Dünyada ölüme sebebiyet veren hastalıklar arasında üst sıralarda yer almaktadır. Son beş yıl içinde Türkiye’de diyabetin görülme sıklığı % 3,5’den % 6,9’a yükselmiştir (Anonim 2013).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre, özellikle gelişmekte olan ülkelerde Tip II diyabetin neden olduğu hastalık ve komplikasyonlar toplum sağlığında önemli bir sorun oluşturmaktadır. Uzun tedavi gerektiren komplikasyonların meydana geldiği kronik bir hastalık olan diyabet, son 10 yıl içinde üç kat artış göstermiştir. Diyabetli hastalarda ölümlerin % 75-80’i koroner arter hastalığına, serebrovasküler hastalığa ve periferel damar hastalığına bağlı olarak meydana gelmektedir. Diabetes mellitusun hem insidensi hem prevalansı ileri yaşlarda artmaktadır (Rolo and Palmeire 2006). Kadınlarda erkeklere oranla biraz daha fazla görülmektedir (Yenigün 1995).

Son yıllarda diabet ile ilgili yapılan çalışmalarda diyabet tedavisinde insüline alternatif olarak çeşitli bitki ekstraktı takviyelerinin etkisi araştırılmaktadır. Yapılan çalışmalarla kudratnarı, Çemen, Ginseng gibi çeşitli bitkilerin hipoglisemik etkili olduğu belirlenmiştir (Aslan ve Orhan 2010). Fakat literatürde *Plantago major*’ün antidiabetik aktivitesi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada *Plantago major*’ün diyabet üzerine olan etkisini göstermek amacı ile kan glikoz, insülin, HbA1c, lipid profili ve kaspaz enzim (3 ve 8) gibi biyokimyasal, oksidatif durum ve apoptotik belirteç aktivite düzeyleri belirlenmiştir.

2. KURUMSAL TEMELLER

2.1. Diabetes Mellitus

Diyabetes mellitus, pankreasın yeterince insülin üretmediği veya vücudun, üretilmiş insülini etkili şekilde kullanmadığı durumlarda oluşan kronik bir hastalıktır (Çaparuşağı ve Owayolu 2006). Bu durum, başta kan damarları ve sinirler olmak üzere çoğu vücut sistemlerini ciddi biçimde hasara uğratan kan şekeri düzeyinin artmasına (hiperglisemiye) neden olur. Diyabet sık görülen bir hastalıktır. Diyabeti olan kişi sayısı ülkeden ülkeye değişiklik gösterir ancak, diyabetli olan kişi sayısının genellikle bir ülke nüfusunun % 3-5'i olduğu kabul edilmektedir.

Genetik, çevresel faktörler ve yaşam tarzı değişikliklerinin etkileşimi nedeniyle ortaya çıkar ve farklı tipleri vardır. Bu hastalarda en özgün klinik semptomlar; polidipsi, polifaji ve poliüridir. Zaman içinde diyabette görülen hiperglisemi birçok hayati organda hasara, fonksiyon bozukluğuna ve yetmezliğe neden olmaktadır.

Diyabet vakalarının büyük çoğunluğu Tip I ve Tip II diyabet olarak iki büyük kategoriye ayrılır. Tip I diyabet; pankreasın Langerhans adacıklarının β hücrelerinde otoimmün yıkım sonucu insülin salınımındaki eksiklik nedeni ile meydana gelirken, Tip II diyabet; oluşan insülin direnci sebebi ile insülin yanıtındaki yetersizliğe bağlı olarak oluşur. Bazı hastalarda ani kilo kaybı, bazılarında da kronik komplikasyonlara bağlı göz, merkezi sinir sistemi, kardiyovasküler sistem veya ürogenital sistemle ilgili yakınmalar ön planda olabilir (Watkins *et al.* 1996).

2.2. Diabetes Mellitusun Sınıflandırılması

Diabetes mellitus için WHO' de kabul gören ve 1985 yılında son şekli verilen bir sınıflandırma yapılmıştır (Yenigün 1995).

Bu sınıflandırmada diyabet üçe ayrılmıştır:

1. Tip I (İnsülin bağımlı Diabetes mellitus)
2. Tip II (İnsülin bağımlı olmayan Diabetes mellitus)
3. Gestasyonel Diabetes mellitus

2.2.1. Tip 1 diabetes mellitus

Bu tip diyabet genellikle çocuklarda ve gençlerde görüldüğü için “Jüvenil diyabet” adını alır. Hastalık ani olarak başlar. Tip 1 diyabet pankreasın β -hücrelerinin otoimmün bir cevap sonucu tahrip olmasından kaynaklanır. β -hücrelerinin tahrip olması sonucu bu hücrelerden insülin salgılanamamakta ve doğal olarak da glikozun hücrelerin içine girişine aracılık eden bu hormonun yokluğundan kaynaklanan bir hiperglisemi oluşmaktadır. Bu tip şeker hastalığının tüm diyabetliler içerisindeki oranı yaklaşık %10 gibidir (Rolo and Palmeire 2006).

Bu yüzden tip 1 diyabetin diğerk bir adı da “insüline bağımlı diyabet”tir. İnsülin olmadan glikoz kas, yağ ve karaciğerk hücrelerine giremez. Bu nedenle hücresel enerji ihtiyacı yağlardan karşılanmaya başlar. İnsülin yokluğunda, yağ yıkımlanması artarken buna paralel olarak serbest yağ asitlerinin özellikle asetoasetik asit ve β hidroksibutirik asit gibi ketoasitlere dönüşümü de artar. İmmunolojik olarak beta hücrelerinin % 90’ı harap olduktan sonra klinik tablo ani olarak oluşur. Polidipsi, poliüri, kilo yakınmaları veya ketoasidoz koması ilk bulgu olabilir. Hipergliseminin kontrol altına alınamaması ve ketoasitlerin birikmesi sonucu oluşan metabolik ketoasidoz, daha sonraki durumlarda diyabetik komayla hatta ölümle sonuçlanabilir (Murray et al. 1996, Chausmer 1998, Quinn 2002). Tip 1 diyabetli tüm hastalarda diyet ve oral antidiyabetik ilaçlara yeterli cevap alınamaz ve olguların büyük kısmı insülin tedavisine mutlak ihtiyaç duyarlar (Karayalçın 2007).

Tip 1 diyabetin belirtileri :

- Çok fazla acıkma
- Fazla miktarda idrar yapma
- Ani kilo kaybı olarak sayılabilir. Bu belirtiler genellikle aniden başlar.

2.2.2. Tip 2 diabetes mellitus

Tip 2 Diabetes mellitus pankreastan kana verilen insülinin vücutta yeterince etki gösterememesi sonucu ortaya çıkar. Şeker hastalarının % 90’ ını Tip 2 diyabet oluşturup, değişik derecelerde insülin yetmezliği ve insülin direnci ile karakterizedir. Periferik dokularda (özellikle kas, karaciğerk ve yağ dokusunda) insülinin etkisi yetersizdir. Kas ve yağ hücresinde glikoz tutulumu azalmıştır. Ketoasidozun nadiren görüldüğü hastaların büyük bölümü klasik diyabet belirtileri ortaya çıkana kadar yıllarca tanı konmadan yaşarlar. Bu tip hastalarda bazen de uzun süren hiperglisemi durumunun pankreasdaki insülin salgılayan β -hücrelerinde tahribata neden olmasıyla hipoinsülinemiden kaynaklanan bir hiperglisemi söz konusudur. En sık görülen diyabet tipidir. Tip 2 diyabet hastalığının görülme sıklığı, tüm diyabet vakaları içinde %90’dır (Yenigün 1995, Nayak and Bhaktha 2005, Rolo and Palmeire 2006).

Tip 1 diyabete göre daha fazla genetik yatkınlık vardır. Tip 2 diyabet gelişiminde vücut kitle indeksinin 25 ve üzeri olması, ailede diyabet ve/veya gestasyonel diyabet öyküsünün bulunması risk faktörü olarak kabul edilir. Hastalar çoğunlukla obez ve fiziksel açıdan inaktiftir. Genellikle 45 yaşı üzerinde ilk yakınmalar başılar. Polidipsi, poliüri ve polifaji gibi Őikayetlerden ziyade retinopati, nefropati, nöropati ve aterosklerotik kalp hastalığı gibi kronik komplikasyonlarla ilgili yakınmalar hastayı hekime ilk kez getirebilir ve çoğunlukla ilk tanı konulduğunda kronik komplikasyonlar ortaya çıkmıştır.

Tip II diyabetin belirtileri olarak :

- Sık enfeksiyona yakalanma
- Ciltteki kesik ya da yaraların zor iyileşmesi
- Sık idrara çıkma
- Açlık ve susuzluk hissinin artması
- Bulanık görme
- Yorgunluk hissi sayılabilir.

Bu belirtiler uzun dönemde ortaya çıkar.

2.2.3. Gestasyonel diabetes mellitus (Gebelikte Diyabet - GDM)

Gestasyonel diyabet (gebelik şekeri), hamilelik sırasında veya hamilelikten önce başlayarak ilk kez gebelik dönemi sırasında fark edilen, gebede karbonhidrat metabolizması ile ilgili bir sorundur. Gebelik dönemi sırasında salgılanan pek çok hormon kan şekerinin yükselmesi yönünde rol oynamaktadır. Özellikle plasentadan (eş kısmından) salınan steroid yapısındaki hormonlar, kan şekerinin düşmesi için uğraşan insülin hormonuna karşı bir etki ile kan şekerini yükseltmektedir. GDM olan hastalarda insülin salınımında veya salınım sonrasında bir takım problemler vardır ve bu şekilde kan glikoz seviyelerinde yükselmeler gözlenmektedir. Hamilenin kan şekerindeki artışlar anne karnındaki bebeğin de kan şekerini yükseltir (hiperglisemi). Kan şekeri yükselen fötusta reaktif olarak salgılanan insülin hormonu bebeğin anne karnındayken normalden daha fazla gelişmesine (makrozomik fötüs) ve sonrasında iri bebeklerin doğmasına neden olur (Toprak 2006) .

2.3. Diabetes Mellitus'un Laboratuvar Tanısı

WHO'ya göre günün herhangi bir saatinde açlık ve tokluk durumuna bakılmaksızın kan glikoz düzeyinin 200 mg/dL'nin üzerinde olması ve polidipsi, poliüri, polifaji ve ani zayıflama gibi diyabet semptomlarının oluşu ile diyabet tanısı konulabilir (Yalçın 2004, Karayalçın 2007).

Ayrıca açlık kan glikoz düzeyi en az bir hafta içerisinde iki kez 140 mg/dl veya üzerinde bulunursa, Oral Glikoz Tolerans Testi (OGTT) yapılarak diyabet tanısı kesinleştirilir (WHO Experts Report 1985).

Çizelge 2.1 WHO kriterlerine göre OGTT yorumu

Kan Glikoz Düzeyi (mg/dl)	Normal Glikoz Toleransı (NGT)	Bozulmuş Glikoz Toleransı (IGT)	Diabetes Mellitus (DM)
Açlık	< 110	< 140	≥ 140
2 saatlik	< 140	140-199	≥ 200

2.4. Apoptoz

Eski bir Yunan terimi olan apoptoz, Yunancada ‘apo’= ayrı, ‘ptosis’= düşen anlamındadır ve ağaçların sonbaharda yaprak dökümünü andırdığı için, hücre kaybını belirtmek amacı ile kullanılmıştır. Apoptozis; gelişmiş organizmalarda gereksinim duyulmayan ve fonksiyonları bozulan hücrelerin, çevreye zarar vermeden programlı ölümüdür. Apoptoz fizyolojik bir olaydır ve normal gelişim sırasında ve olgun organizmadaki çeşitli hücre tiplerinin tahribi esnasında spesifik hücrelerin kaybindan sorumludur. Organizmanın yaşam döngüsü için gerekli ve yararlıdır. Dokuların devamlılığı, gereksiz hücrelerin yok edilmesi olan apoptosis ile gereken hücrelerin oluşumu dengesine bağlıdır. Canlıların vücudunda her an hücreler apoptosise uğrayarak yok edilmektedir. Bir sayı vermek gerekirse, günde 50-70 milyar hücremiz apoptosis ile öldürülmektedir (Özvaran 2004).

Embriyo döneminden başlayarak tüm yaşam boyunca apoptotik mekanizma ve programlı hücre ölümü vardır. Deri, gastrointestinal sistem ve immün sistem gibi pek çok dokuda devamlılık apoptozis ve hücre yenilenmesine bağlıdır. Kurbağaların metamorfozisi esnasında kuyrukları kaybolur. Böylece yetişkin forma geçerler. Kuyruktaki hücreler apoptozisle ölümler kaybolurlar. Embriyo oluşumu sırasında bazı canlılarda parmaklar arasındaki perdenin ortadan kaldırılmasında olduğu gibi, doku ve organların meydana gelmesi sırasında apoptozis, fazla üretilen hücrelerin ortadan kaldırılmasını sağlamaktadır. Bu tip hücre ölümü vücutta ihtiyaç duyulmayan veya anormalleşmiş hücrelerden kurtulmanın normal yoludur. Apoptotik hücre sayısı kişinin ya da organizmanın sağlıklı ya da hasta oluşunu belirlediğinden, apoptozun fonksiyonel mekanizmaları hücrede denge unsurudur. Bu da demektir ki; apoptoz oranının azalması ile hücre sayısı artar aksine eğer apoptoz oranı artarsa hücre sayısı azalır ve istenmeyen doku tahribatı meydana gelir (Altunkaynak ve Özbek 2008).

Ölmesi gereken hücrelerimiz zamanında ve gerekli sayıda ölmelidir. Mutasyonlar, hormonal olarak aktif çeşitli maddeler, iyonize radyasyon ve kemoterapiyi içeren travmatik ajanlar vs. sebebiyle hızlanmış ya da yavaşlamış bir apoptozis patolojiktir. Apoptosis çok hızlı gerçekleşiyorsa, gerekenden fazla hücre ölümler atrofî, olması gerekenden yavaş gerçekleşiyorsa istenmeyen hücreler bazı bölgelerde birikerek kanser oluşumuna sebep olur (Leal *et al* 2010).

2.4.1. Apoptozun sınıflandırılması

Apoptozun sınıflandırılması lizozomun fonksiyonuna göre yapılır (Altunkaynak ve Özbek 2008). Bu sınıflandırma aşağıda özetlenmiştir:

2.4.1.1. Tip 1 hücre ölümü (heterofaji)

Hücre ölümünün bu şekli hemen hemen bütün özelleşmiş hücrelerde gözlenir. Hem çekirdek hem de sitoplazmanın yoğunlaşmasıyla başlar. Nükleustan sonraki en önemli değişiklik hücre zarının katlanmasıdır. Sonraki rutin fagositoz aşamasından sonra hücre içeriği lizozomlar tarafından parçalanır. Hücrenin parçalanması diğer hücrelerin lizozomları vasıtasıyla olmaktadır. Bazı araştırmacılar bu çeşit hücre ölümünü yapısal hücre ölümü olarak tanımlamışlardır (Altunkaynak ve Özbek 2008).

2.4.1.2. Tip 2 hücre ölümü (Otofaji)

Bu tip hücre ölümünde, hücrenin parçalanması büyük ölçüde hücrenin kendi lizozomlarıyla olur. Belirgin olarak geniş miktarda otofajik vakuollerle karakterizedir ve bazen bu vakuoller mitokondri ve endoplazmik retikulumu da içerebilir. Lizozomlar içerdikleri hidrolitik enzimleri otofajik vakuollere boşaltırlar. Ölen hücreler etraflarındaki sağlam hücrelerin endositozuna maruz kalır. Amfibia'ların kuyruğunda görülen metamorfoz buna örnektir (Altunkaynak ve Özbek 2008).

2.4.1.3 Tip 3 Hücre ölümü

Bu tip hücre ölümü de kendi içinde 2 alt tipe ayrılır:

2.4.1.3.1. Non-lizozomal vezikül parçalanması

Bu tipte hücre içi organellerin şişmesini takiben sitoplazmik alanların hücre dışı boşluklarla birleşmesi olayı gerçekleşir. Hücre ve hücreyel yapılar küçültülerek tahrip edilir.

2.4.1.3.2. Sitoplazmik tip parçalanma

Bu tip hücre ölümünde organeller genişler ve sitoplazma vakuolleşir, çekirdek dejenerasyonu görülür. Tip-1 hücre ölümünden nükleusun erken evrede kondanse olmayışı ile, tip-2 hücre ölümünden otofajik vakuollerin görülmemesi ile ayrılır (Altunkaynak ve Özbek 2008).

2.5. Apoptoz Sürecinde Rol Alan Gruplar

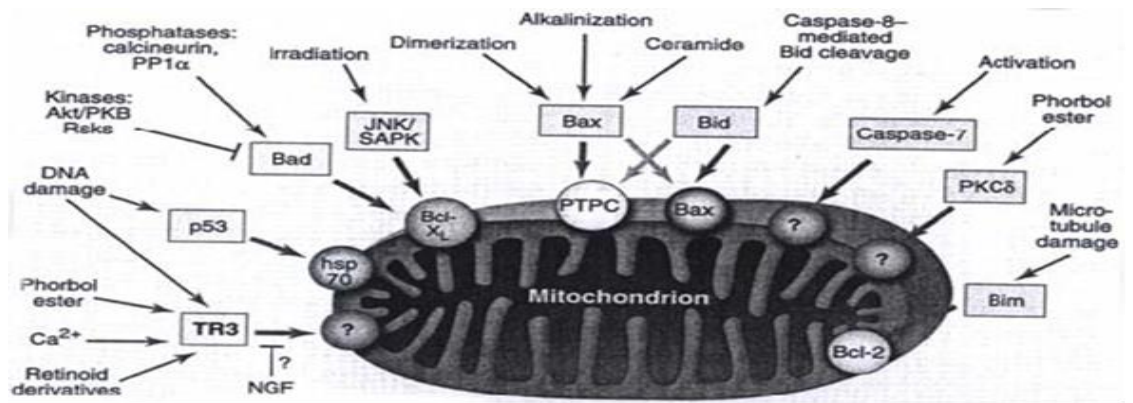
Apoptoz mekanizmasında farklı gruplar rol alır. Bu gruplar:

2.5.1.Ölüm reseptörleri: Tümör Necrosis Factor (TNF) reseptör gen ailesine aittir. Bunlar; CD95 (APO-1/Fas), TRAIL (TNF-Related Apoptosis Inducing Ligand)-R1, TRAIL-R2, TNF-R1, DR3, DR6'dır.

2.5.2. Adaptör proteinler: Reseptörle gelen sinyal sonucunda kaspazlara bağlanıp onları aktive ederler ve kaspazlar aktive olan DNAaz aracılığı ile DNA yıkımına neden olurlar (Altınışik 2007).

2.5.3. Proteolitik enzimler (Kaspazlar):

Kaspazlar, bugüne dek bir düzine farklı türü tanımlanan, sitoplazmada inaktif proenzimler halinde bulunan, aktif katalitik bölgesinde sistein içeren ve substratlarını aspartat içeren özgül bir bölgeden kesen proteaz enzimlerdir (caspase= cysteine-dependent aspartat spesifik proteases). Kaspazlar, sistein proteaz ailesindedir. Proteinleri yalnızca aspartik asit bulunan bölgelerden keser (Solakoğlu 2013). Kaspazlar prekürsör(inaktif) zimojen olarak üretilir. Aktive olmaları için proteolizle C-ucundaki aspartik asit kalıntılarının ayrılması gerekir. Aktif kaspaz ikişer p10 ve p20 alt ünitesi içeren ve iki aktif bölgesi olan bir heterotetramerdir. Apoptoziste hücreyi parçalayan yani apoptotik morfolojinin oluşumunu sağlayan etkenler “effectors” olarak bilinirler. İnsan ve farede ondört kaspaz belirlenmiştir. Bunların 11’i insanda bulunmaktadır. Kaspazlar, apoptozisi aktive eden sinyaller tarafından tetiklenir. Kaspazlar, kalsiyum bağımsız sistein sınıfının en önemli bölümünü oluşturur. Proksimal veya başlatıcı kaspazlar, terminal veya efektör kaspazlar olmak üzere iki grupta incelenir. Başlatıcı kaspazlar 1,2,4,5,8,9,10 ve 12 olmak üzere 8 adettir. Efektör kaspazlar ise, proteinazlar tarafından aktive olur ve kaspaz 3,6,7,11,13 olmak üzere 5 adettir (Saikumar *et al* 1999).



Şekil 2.1 Apoptozda rol alan gruplar (Url-1, 2007)

2.5.4. p53 geni

İnsanda apoptozun düzenlenmesi, p53 ile başlayan ve kaspazlara kadar devam eden bir süreçtir. Genotoksik olaylarla oluşan hücre hasarı p53'ü aktive eder. p53 apoptozisi indükler. Ayrıca p53'ün Bax/Bax, Bax/BcL-2, BcL-2/BcL-2 gruplarının oranlarını düzenlemektedir. p53'ün apoptozisi indüklemesi Bax'ın ekspresyonunu artırması, böylece BcL-2/Bax oranını değiştirmesi yoluyla gerçekleşir (Altınışık 2007).

2.5.5. BcL-2 gen ailesi (Apoptoz Önleyiciler)

Apoptozun regülasyonu BcL-2/ Bax gen ailesi ile sağlanır. Bu ailenin 20 üyesi vardır; bunlardan bazıları apoptoz inhibitörüdür (antiapoptotik), bazıları ise apoptozu uyarır ve proapoptotik genler olarak tanımlanır. Bu ailenin üyeleri kendi aralarında homo veya heterodimerler oluştururlar. Hücrenin yaşayabilirlik durumu bu ailenin proapoptotik ve antiapoptotik üyelerinin rölatif oranına bağlıdır. BcL-2/Bax gen ailesinin ürünleri, mitokondri ve çekirdek zarlarının yanı sıra endoplazmik retikulum zarının üzerinde de yer alırlar (Altınışık 2007).

Çizelge 2.2 BcL-2 Gen Ailesi (Apoptoz Önleyiciler) (Url-1, 2007)

Apoptozu Baskılayan Genler		Apoptozu İndükleyen Genler	
BcL-2	Al	Bax	Bid
BcL-xL	Nr-13	BcL-xs	Bim
BcL-W	Ced-9	Bad	Noxa
McL-1		Bik	

2.6. Apoptoz Süreci

Hücreler apoptoz sürecinde 4 aşamadan geçer:

- 1) Ölüm sinyali ile apoptozun başlatılması
- 2) Kromatinde sıkışma
- 3) Hücrede parçalanma
- 4) Fagositos şeklinde özetlenebilir

2.6.1. Apoptozun başlatılması (Sinyal Üretici Yollar)

Hücrenin apoptoza gidebilmesi için ilk önce, ilgili genetik mekanizmayı harekete geçirecek bir sinyalle karşılaşması gerekir. Bu sinyal hücre içinden; DNA hasarı, hücre içi kalsiyum düzeyinin artışı, hücre içi pH azalışı gibi faktörler hücre içi sinyale sebep olurken, büyüme faktörlerinin ve çevresel yaşam sinyallerinin yetersizliği, iskemi, toksinler, radyasyon gibi faktörler de hücre dışı sinyale sebep olur (Öztürk 2002) .

Hücrelerde pozitif uyarıların kesilmesi ve negatif uyarıların artması ile hücrede apoptoz başlar. Negatif uyarıların alınması; TNF ve Fas ligandı (FasL) gibi hücre yüzey reseptörlerine bağlanan ölüm reseptörleri ile UV, x-ışınları, kemoterapi ajanları gibi DNA hasarına neden olan etkenler ile meydana gelir. Pozitif uyarıların kesilmesi ise; büyüme faktörlerinin ve lenfositler için interlekin (IL) 2'nin ve IL7, IL5, IL4'ün eksikliğine bağlı olarak oluşur (Schwartzman and Cidlowski 1993).

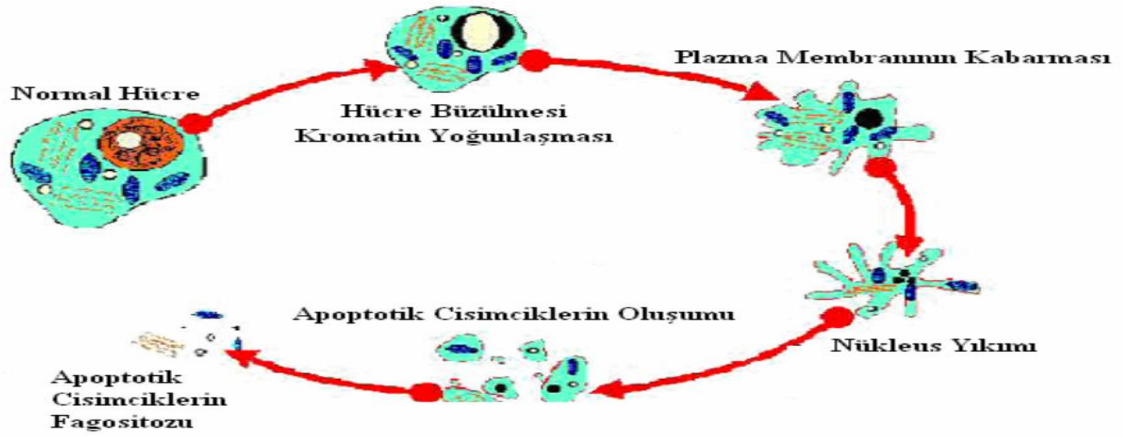
2.6.2. Apoptozun tetiklenmesi

Ölüm reseptörleri hücre zarı içine tutunmuş, bir ucu hücre dışına, bir ucu hücre içine bakan, hücre içi tarafında prokaspaz 8'in aktiflenmesini sağlayan bir ölüm bölgesi (death domain) bulunan reseptörlerdir. Başlatıcı kaspaz denen aktif kaspaz 8, inaktif durumdaki proenzimler olan kaspaz 3, kaspaz 6 ve kaspaz 7 nin bir zincir biçiminde aktiflenmesine yol açar. Aktiflenen tüm kaspazlar hücre makromoleküllerini parçalayarak tipik apoptoz morfolojisinin oluşumuna yol açarlar. Kaspaz 8, Bcl-2 ailesi proteinlerinden biri olan Bid'in de proteolitik olarak aktifleşmesine yol açar. Bid, mitokondriden sitokrom c, bazı başka proteinlerin (SMAC) ve kalsiyumun serbestlemesine yol açar. Böylece ölüm reseptörleri yolu mitokondriyal yolu da aktiflemiş olur (Solakoğlu 2013).

2.6.3. Hücre içi apoptotik yollar

Mitokondri, hücre içinde ATP üretiminin kaynağı olmasının yanı sıra, hücre içi ya da dışı yollardan gelen ölüm sinyallerinin üzerinde birleştiği bir organeldir. Temel olarak mitokondrideki solunum zincirinde yer alan bir enzim olan sitokrom c, sitoplazmada inaktif monomerler halinde bulunan Apaf-1 (apoptotik proteaz aktive eden faktör) molekülüne bağlanarak apoptozom adı verilen yapının oluşumunu sağlar. Apoptozom, kaspaz 9'u aktive etmek üzere keser, kaspaz 9 diğer kaspazları proteolitik bir zincir halinde aktifleştirerek apoptozun gerçekleşmesini sağlar. Hücrede antiapoptotik aile üyeleri olan Bcl-2, Bcl-x, yine aynı ailenin üyeleri olan Bad, Bim, Bmf, Bid ve BH-3 proteinleri gibi proapoptotik proteinler tarafından baskılanır. Bu da uygulamacı kaspazların aktivasyonu ve apoptozla sonuçlanır. Kaspazlar inhibitör apoptoz proteinleri (İAP) denen bir grup protein tarafından baskılanır (Koçyiğit ve Çevik 2011).

Endoplazmik retikulum (ER)' da, apoptotik süreci başlatabilen organellerden diğeridir. Protein katlanmasında temel bir işlev yapan ER de, protein katlanması işlevi bozulduğunda, katlanmamış proteinlerin yol açtığı bir stres ortaya çıkar. Bu stresin aşırı olması ya da uzaması, proteaz ve kinazların doğrudan aktivasyonu ve hücre içi kalsiyumun artışıyla mitokondriyal yolu aktive eden bir etki oluşturur. Kalsiyum önemli bir apoptotik düzenleyicidir. Çalışmalar ER den salınan kalsiyumun mitokondride düzeyinin arttığını ve bunun da mitokondriyal apoptotik yolu uyardığını düşündürmektedir. p53, DNA gardiyanı da denen ve bugüne dek üzerinde en çok çalışılan tümör supresör proteinlerden biridir. p53 sitoplazmada bulunan ve DNA'nın ya da hücrenin ağır biçimde hasar görmesi durumunda, DNA'da belli genlerin aktivasyonuna, böylece yapımlarının artmasına (Bax, Apaf-1, Fas), belli genlerin de baskılanmasına (BcL-2, BcL-X) yol açarak apoptozu tetikleyen bir transkripsiyon faktörüdür (Solakoğlu 2013).



Şekil 2.3 Apoptoz sürecinde hücredeki değişiklikler (Anonim, 2013)

Yukarıda belirtilen yollarla aktiflenen kaspazlar hücre iskeletinin bileşenleri olan aktin, miyozin gibi proteinleri keserek, apoptozun ilk döneminde gözlenen morfolojik bulgular olan hücrenin küçülmesine ve yapıştığı ortamdaki ayrılmasına yol açar. Kaspazlar çekirdeği parçalar, endojen DNazlar ise DNA'yı 200 ya da 200'ün katları baz çifti parçalar halinde keser (Taylor, Cullen, Martin 2008). Mitokondri zar potansiyelinin bozulmasının hemen ardından normal hücrede çift tabakalı hücre zarının dış katında bulunmayan bir fosfolipid olan fosfatidilserin dış yaprağa geçer ve oksitlenir. Bu değişim apoptotik hücrelerin makrofajlar ya da komşu hücreler tarafından fagosite edilmesi için bir sinyal oluşturur. Zarla sarılı apoptotik cisimlerin fagositozuyla apoptotik süreç tamamlanmış olur (Solakoğlu 2013).

2.7. Apoptoz Ve Diabet İlişkisi

İnsüline bağlı diabetes mellitus %90' dan daha büyük ölçüde, pankreasa ait adacıkların içindeki insülin üreten β hücrelerinin T hücrelerine saldırarak doğal bağışıklığın bir sonucu olarak onları öldürmesiyle sonuçlanmaktadır. Diabetin ilerleyen safhalarında, β adacıkları hücreleri bağışıklık sistemindeki farklı saldırılar sonucu ölürler. Perforin ve granzimler gibi araçlar, CD95 ligand ve tümör nekroz factor- α , ya da sitokinler ve serbest-radikaller β hücreleri apoptozisine sebep olarak gösterilir (Herr *et al* 1967)

2.8. Bitki Ekstraktları

İnsanlık tarihi boyunca birçok hastalık (şeker hastalığı, sarılık, nefes darlığı vb.) bitkiler kullanılarak tedavi edilmeye çalışılmış ve çalışılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), dünyada yaklaşık 4 milyar insanın sağlık sorunlarını ilk etapta bitkisel droglarla gidermeye çalıştıklarını bildirmektedir (dünya nüfusunun % 80'i). Ayrıca, gelişmiş ülkelerde reçeteli ilaçların yaklaşık % 25'ini bitkisel kökenli etken maddeler (vimbilastin, rezerpin, kinin, aspirin vb.) oluşturmaktadır (Farnsworth *et al.*, 1985). Özellikle 1990'lı yıllardan sonra, tıbbi ve aromatik bitkilerin yeni kullanım alanlarının

bulunması, doğal ürünlere olan talebin artması; bu bitkilerin kullanım hacmini her geçen gün arttırmaktadır. Günümüzde tıbbi bitkiler piyasasının yıllık yaklaşık 60 milyar dolarlık bir rakama sahip olduğu tahmin edilmektedir (Kumar, 2009).

2.8.1. Diabetes mellitus'da bitki ekstraktları

Doğal kaynakların diyabet tedavisinde kullanılması ve bu kaynaklardan hareketle yeni ilaç moleküllerinin geliştirilmesi çalışmaları 20. yüzyılın ilk çeyreğinde başlamıştır. Galega officinalis bitkisi üzerinde yapılan ilk çalışmalarda bitkinin hipoglisemik etkili guanidin türevi bileşiklerce zengin olduğu bulunmuştur. Guanidin türevlerinin, klinik denemelerde ortaya çıkan toksisiteleri nedeniyle toksisitesi daha düşük olan alkali diguanidinler sentezlenmiştir ve 1920'li yıllarda tüm Avrupa'da Sintalin A ve B, oral antidiyabetik ilaçlar olarak kullanılmaya başlanmıştır. İnsülinin tedavi alanına girmesiyle diguanidinlerin kullanımını azalsa da bugün türevlerinden biri olan metformin tedavide halen kullanılmaktadır. Günümüzde 400'den fazla bitki ve 120'den fazla doğal kaynaklı ürünün yanı sıra birçok vitamin ve mineral diyabet hastaları tarafından tedaviye destek amacıyla kullanılmaktadır. Literatürde diyabet tedavisinde kullanılan bitkiler ve diğer gıda destekleri ile ilgili yapılmış 30.000'den fazla araştırma bulunmaktadır.(Çıkladilmez 2013)

2.8.2. Plantago major (Sinirli Ot)

Diyabet tedavisinde yeni alternatif ürünlerin belirlenmesi sürecinde eser elementler ve pek çok doğal bitkinin diyabete olan etkisi çalışılmaktadır. *Pl. Major* (Sinirli ot), çok yıllık bir bitkidir. Kır yollarında, çimenli tarla kıyılarında, nemli arazilerde, bahçe ve parkların çimleri arasında, pratik olarak dünyanın her bölgesinde yetişir. Dünyanın bir çok ülkesinde salata olarak yenilen bir bitkidir. Beta-karoten, kalsiyum ve askorbik asit (C vitamini), allantion, apigenin, aucubin, baicalein, linoleicacid, oleanolicacid, sorbitol ve tannin içerir. Kurutulmuş olgun tohumları % 30' a varan oranlarda müsilaj maddeler içerir. Diyetlerde kullanılan çözünebilir

doğal bir liftir ve mükemmel bir yardımcıdır. Bitkinin antibiyotik etkisi bilimsel olarak kanıtlanmıştır. Sinirliot genellikle solunum organları hastalıklarında kullanılmaktadır. Yemeklerden yarım veya 1 saat önce alındığında tokluk hissi vererek açlığı azaltan, sindirimi artıran ve kilo vermenize yardımcı olan (zayıflatıcı) bu bitki kandaki yüksek kolesterol ve trigliserid seviyesini düşürmek için kullanılır ve kan şekerini ayarlar. Yapılan araştırmalar sinirli ot tohumlarının yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterolü (HDL-Faydalı kolesterol) düzeylerini etkilemeden toplam kolesterol düzeyini düşürebildiğini göstermiştir. (Url-2 2010)

2.9. Amaç

Son yıllarda diyabet tedavisinde yeni alternatif ürünlerin belirlenmesi sürecinde eser elementler ve pek çok doğal bitkinin diyabete olan etkisi çalışılmaktadır. Bu çalışmada; deneysel olarak diabet oluşturulan ratlarda *Pl. major'un* diabet üzerine olan etkisinin biyokimyasal, oksidatif durum ve apoptotik belirteçler ile gösterilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda kan glikoz, insülin, trigliserit, HbA1c, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL), düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), lipid profili (TAC), tiyobarbitürat reaktif maddeler (TBARS), kaspaz-3 ve kaspaz-8 enzim aktivite düzeyleri belirlenmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Deney hayvanı materyali

Bu çalışmada 21-22 haftalık 30 adet erkek Winstar cinsi albino rat kullanıldı. Ratlar 1 hafta boyunca rat yemi ile ad libitum olarak beslendi. Bu sürenin sonunda glukometre ile kuyruk kanı alınarak başlangıç açlık kan şekerleri ve vücut ağırlıkları hassas tartıyla ölçüldü. Bitki ekstraktı aktarlardan temin edildi.

Daha sonra ratlar 6 gruba ayrılarak farklı uygulamalara maruz bırakıldı.

1. Kontrol grubu, 6 rattan oluşturuldu ve 4 haftalık deneme boyunca standart yem ve suyla beslendi.

2. *Pl.major* verilecek grup da 6 rattan oluşturuldu ve 4 haftalık deneme boyunca standart yemle beslenerek, günlük tüketecekleri su miktarı hesaplandıktan sonra rat başına 100 mg/kg ticari *Pl. major* ekstraktı olacak şekilde içme sularına günlük olarak eklendi.

3. Diyabet grubu 6 rattan oluşacaktır. Bu gruptaki hayvanlara diyabet oluşturulmak üzere pH 4,5'deki 0,1 M sitrat tamponu içinde eritilen streptozotosin'in (STZ) 65 mg/kg olacak şekilde tek doz intraperitoneal (i.p.) enjekte edildi. Enjeksiyondan 7 gün sonra kuyruk veninden ölçülen kan glikoz düzeyi 300 mg/dl ve üzeri olan ratlar diyabetik olarak kabul edilerek sadece diyabet olan hayvanlarla çalışmaya devam edildi.

4. Diyabet+ *Pl. major* grubu ise 6 rattan oluştu. Bu gruptaki hayvanlara diyabet oluşturulmak üzere pH 4,5 deki 0,1 M sitrat tamponu içinde eritilen streptozotosin'in (STZ) 65 mg/kg olacak şekilde tek doz intraperitoneal (i.p.) enjekte edildi. Enjeksiyondan 7 gün sonra kuyruk veninden ölçülen kan glikoz düzeyi 300 mg/dl ve

üzeri olan ratlar diyabetik olarak kabul edilerek sadece diyabet olan hayvanlarla çalışmaya devam edildi. Diabet olan ratlar 4 hafta boyunca hergün standart yemle beslendi ve günlük tüketecekleri su miktarı hesaplanarak rat başına 100 mg/kg *Pl. major* ekstraktı olacak şekilde içme sularına bitki ekstresi günlük olarak eklendi.

5. Diyabet+ insülin grubu 6 rattan oluştu. İnsülin alan diyabetik ratlar (3 mg/kg dozunda 4 hafta boyunca intraperitoneal enjeksiyon) tek dozda hergün subkutan uygulandı. Ratlar haftalık kan glukoz tayini ile takip edildi.

4 haftalık çalışma periyodunun sonunda, 12 saatlik açlığı takiben, ratlar Etik Kurulun onay verdiği şekilde yapılacak olan genel anestezisi altında kalplerinden kanları alınacaktır. *Pl. major*'ün diyabete olan etkisinin gösterilmesi amacı ile HbA1c analizi için heparinli tüplere, glikoz, insülin, lipid profili ve kaspaz 3 analizleri için kan örnekleri antikoagülsüz tüplere alındı. Kan örnekleri 2500 rpm de santrifüj edilerek serum ve plazma örnekleri elde edildi. Elde edilecek olan serum ve plazma örnekleri – 20 °C'de analizleri yapılana kadar saklanacaktır.

Ratlar 3 gün su ve standart rat yemi ile adaptasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda glukometre (One Touch Lifescan, America) ile başlangıç açlık kan şekerleri değerleri ölçüldü, vücut ağırlıkları tartıldı. Daha sonra ratlar her grupta 6 hayvan olacak şekilde 5 gruba ayrıldı.

Çalışmada şeker hastalığının oluşumu; ratların kuyruk veninden alınan kan örneklerinde glikoz düzeyinin glukometre (One Touch Lifescan, America) kullanılarak ölçülmesi ile belirlendi. 4 haftalık çalışma periyodunun sonunda, 12 saatlik açlığı takiben, genel anestezisi altında serum tüplerine kan alındı. Alınan kanlar 2500 rpm'de 10 dk. santrifüj edilerek, serumları çıkarıldı. Elde edilen serum örnekleri – 80 °C'de analizleri yapılana kadar saklandı.

Çalışmada kan glikoz, HbA1c ve lipid profili düzeylerinin analizinde spektrometrik yöntemler kullanıldı. İnsülin düzeyleri ise ELİSA ile belirlendi.

3.2. Yöntem

3.2.1. Glikoz düzeyinin ölçümü

Kan glikoz düzeylerinin ölçümü, enzimatik kolorimetrik yöntem kullanılarak yapıldı. Serum örnekleri Roche Moduler Sistem otoanalizöründe Roche Diagnostic firmasının reaktifi kullanılarak çalışıldı. Glikoz düzeyinin ölçümü; glikozun, glikoz oksidaz enzimi katalizörlüğü ile glikonik asit ve H₂O₂'ye okside edilmesi esasına dayanır. H₂O₂ kromojen peroksidaz enziminin etkisi ile renkli bir bileşiğe oksitlenir. Bu bileşik H₂SO₄ etkisi ile kalıcı kırmızı renk alır. Ölçüm 540 nm'de kolorimetrik olarak yapılır.

3.2.2. HbA1c hesaplama yöntemi

Kan HbA1c düzeylerinin ölçümü, immunotürbidimetrik yöntem kullanılarak yapıldı. Tam kan örnekleri Roche Moduler Sistem otoanalizöründe Roche Diagnostic firmasının reaktifi kullanılarak çalışıldı.

3.2.3. İnsülin analizi

Serum insülin düzeyi analizi ticari rat kiti (İnsülin Coat-A-Count kit, Diagnostic Products, Los Angeles, CA, USA) kullanılarak ELİSA ile ölçülmüştür.

3.2.4. Trigliserid ölçüm yöntemi

Trigliserid ölçümü, enzimatik kolorimetrik yöntem kullanılarak yapıldı. Serum örnekleri Roche Moduler Sistem otoanalizöründe Roche Diagnostic firmasının reaktifi kullanılarak çalışıldı.

Trigliserid düzeyinin ölçümü, lipoprotein lipaz tarafından trigliseridlerin gliserol ve yağ asitlerine dönüşümü izleyen, gliserol kinaz, gliserol fosfat oksidaz ve peroksidaz enzimlerinin katalizlediği reaksiyonlar sonucunda gerçekleşir. Hidrojen peroksit, peroksidaz enziminin etkisiyle 4-aminofenazon ve 4-klorofenol ile etkileşerek pembe bir ürün oluşturur. Rengin yoğunluğu trigliserid konsantrasyonuyla doğru orantılıdır ve spektrofotometrik olarak 505 nm'de belirlenir.

3.2.5. Total kolesterol ölçüm yöntemi

Total Kolesterol ölçümü, enzimatik kolorimetrik yöntem kullanılarak yapıldı. Serum örnekleri Roche Moduler Sistem otoanalizöründe Roche Diagnostic firmasının reaktifi kullanılarak çalışıldı.

Total kolesterol düzeyi, kolesterol esteraz ve kolesterol oksidaz kullanılarak enzimatik olarak belirlenir. Kolesterol esterleri, kolesterol esteraz enzimi etkisiyle serbest kolesterol ve yağ asitlerine ayrılır. Kolesterol, kolesterol oksidaz enziminin etkisiyle kolest-4-en-3-on ve hidrojen peroksit'e çevrilir. Hidrojen peroksit, peroksidaz enziminin etkisiyle 4-aminofenazon ve fenol ile etkileşerek pembe renkli bir ürün oluşturur. Rengin yoğunluğu kolesterol konsantrasyonuyla doğru orantılıdır ve spektrofotometrik olarak 505 nm'de belirlenir.

3.2.6. HDL ölçüm yöntemi

HDL ölçümü, enzimatik kolorimetrik yöntem kullanılarak yapıldı. Serum örnekleri Roche Sistem otoanalizöründe Roche Diagnostic firmasının reaktifi kullanılarak çalışıldı.

HDL düzeyi, polietilenglikol (PEG) kolesterol esteraz ve PEG kolesterol oksidaz kullanılarak enzimatik olarak belirlenir. PEG ile modifiye edilmiş kolesterol esteraz ve kolesterol oksidaz lipoprotein fraksiyonlarına karşı selektif katalitik aktivite gösterir. Kolesterol esterleri, PEG kolesterol esteraz enzimi etkisiyle serbest kolesterol ve yağ asitlerine ayrılır. Kolesterol, kolesterol oksidaz enziminin etkisiyle D4-Kolestenon ve hidrojen peroksida çevrilir. Hidrojen peroksit, peroksidaz enziminin etkisiyle 4-aminofenazon ve N-(2-hidroksi-3-sülfopropil)-3,5-dimetoksianilin (HSDA) ile etkileşerek pembe mavi renkte bir bileşik oluşturur. Rengin yoğunluğu HDL konsantrasyonuyla direkt orantılıdır ve spektrofotometrik olarak 600 nm’de belirlenir.

3.2.7. LDL hesaplama yöntemi

Serum LDL düzeyleri Friedewald formülü ile hesaplandı.
 $LDL = \text{Total Kolesterol} - [(\text{HDL}) + (\text{Trigliserid}/5)]$

3.2.8 Tiyobarbitürik asit türevleri (TBARS) tayin yöntemi

Tiyobarbitürik asit türevlerinin kan örneklerinde ölçümü için Oxiselect™ TBARS (Cat. No. STA 330, Cell Biolabs, USA) tayin kiti kullanıldı. Örnekler önce 95 °C de TBA ile inkübe edildi. İnkübasyondan sonra Eliza okuyucu (µ Quant, BİO-Tek, USA) ile 532 nm.’de numunelerdeki malondialdehit (MDA) konsantrasyonu okundu. Sonuçlar nmol/ml olarak hesaplandı (Yagi,1984)

3.2.9 Total serum antioksidan kapasite (TAC)

Serum TAC ölçümü ticari TAC kiti (Rel Assay, Gaziantep, Türkiye) kullanılarak yapıldı. Kit, Fenton reaksiyonundan kaynaklanan serbest oksijen radikallerinin varlığı altında, sodyum benzoattan tiyobarbütirik asit türevlerinin oluşumunu inhibe eden numune kapasitesinin ölçülmesi prensibine dayanmaktadır. Reaksiyon sonucunda ve renk gelişiminin inhibisyonunun spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile TAC değerleri belirlendi. (Karacevic D. *et al.* 2001)

3.2.10 Kaspaz enzim (3 ve 8) tayin yöntemleri

Serum örneklerinde Kaspaz 3 (Cat No. YHB0311Ra, YH Biosearch Laboratory, China) ve Kaspaz 8 (Cat No. YHB124 Ra, YH Biosearch Laboratory, China) aktivite tayini için biyotin çift antikör sandviç teknolojisine dayanan ratlara özgü Elisa kitleri kullanıldı. Numunelerdeki Kaspaz aktivite düzeyleri 450 nm.'de Eliza okuyucu (μ Quant, BİO-Tek, USA) ile belirlendi. Sonuçlar ng/L olarak hesaplandı.

3.2.11. Kullanılan istatistik yöntemler

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde “SPSS 17.0” paket programı kullanıldı. Gruplar arasındaki istatistiksel farklar student t test kullanılarak değerlendirildi. Elde edilen sonuçlar $X \pm S_e$ olarak verildi. $P < 0,05$ ve altı istatistiksel olarak önemli kabul edilir.

4. BULGULAR

Deneysel olarak streptozotosin ile diyabet oluşturulan ratlarda, *Plantago major*'ün kan glikoz, insülin, HbA1c, kaspaz 3, kaspaz 8 ve lipid profili üzerine olan etkilerinin araştırılması amaçlanan bu çalışmada, 21 günlük deneme süresi boyunca kullanılan deney hayvanları haftalık olarak tartılarak, deney hayvanlarının haftalık beden ağırlığı düzeyleri Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Deneme gruplarındaki ratların haftalık beden ağırlığı düzeyleri

Beden ağırlıkları (g)	Kontrol Grubu n=6	<i>Pl. major</i> Grubu n=6	Diyabet Grubu n=6	Diyabet + <i>Pl. major</i> Grubu n=6	Diyabet + İnsülin Grubu n=6
0. Gün	289±14	282±14	290±12	269±10	273±13
7. Gün	300±11 ^a	310±11 ^a	264±13 ^{b*}	259±15 ^{b*}	272±14 ^b
14. gün	300±10 ^a	318±10 ^{a*}	269±15 ^{b*}	275±11 ^{b¶}	259±16 ^{b*}
21.gün	333±12 ^{a*}	330±12 ^{a*}	280±10 ^{b¶}	284±14 ^{b¶}	251±12 ^{c*}

^{a, b, c}: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan gruplar önemlidir

^{*,¶}: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar önemlidir

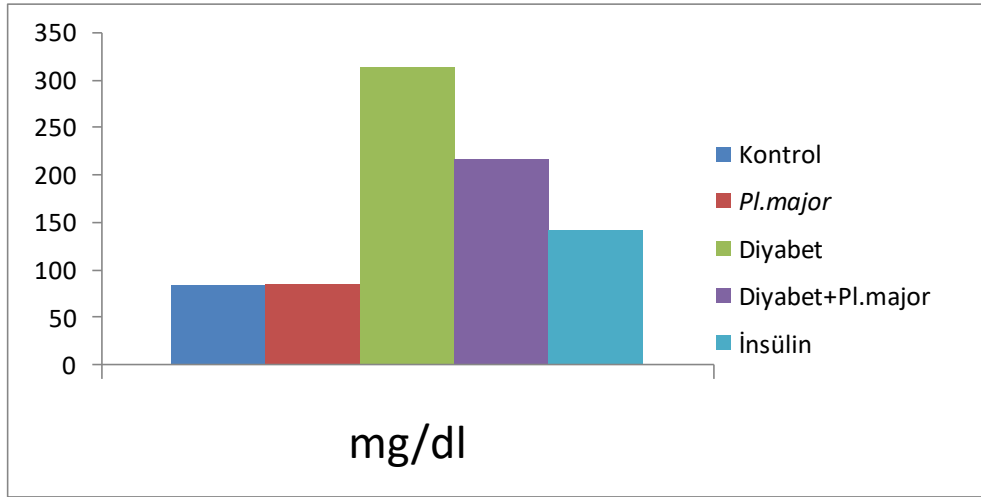
Çalışmada 21 günlük deneme süresinin sonunda, diyabet grubu ve diyabet+insülin grubunda ratların beden ağırlıklarında azalma olduğu belirlenmiştir. Diyabet+insülin grubunda bulunan ratların beden ağırlıklarındaki azalma, diyabet grubuna göre anlamlı derecede ($p<0.05$) yüksek bulunmuştur. Diyabet grubu ve diyabet+insülin grubundan farklı olarak, kontrol, *Pl. major* ve *Pl. major*+Diyabet gruplarında ise deneme süresi sonunda beden ağırlık artışı gözlenmiştir. Kontrol ve *Pl.major* grupları arasında beden ağırlık artışı bakımından istatistiksel bir fark bulunamamasına karşı; bu iki grup ile Diyabet+*Pl. major* grubuna göre beden ağırlığında ki artış anlamlı derecede ($p<0.05$) yüksek bulunmuştur.

Çizelge 4.2 Deneme gruplarındaki ratların kan glikoz, HbA1c, insülin, Kaspaz-3, Kaspaz-8, TBARS, TAC ve lipid profil düzeyleri

Parametreler	Kontrol Grubu n=7	<i>Pl. major</i> Grubu n=7	Diyabet Grubu n=7	Diyabet+ <i>Pl. major</i> Grubu n=7	Diyabet+ İnsülin Grubu n=7
Kan Glikoz Düzeyi (mg/dL)	83.4±9.31 ^a	85.1±7.45 ^a	314.5 ±40.2 ^b	216.9±25.3 ^c	141.5±28.4 ^d
HbA1c(mg/dL)	1.5±0.06 ^a	1.6±0.05 ^a	3.8±0.12 ^b	2.6±0.07 ^c	2.9±0.11 ^c
İnsülin (µU/mL)	28.53±2.61 ^a	26.49±3.05 ^a	14.28±1.23 ^b	22.34±3.52 ^c	17.45±5.34 ^b
Trigliserid (mg/dL)	87.6±8.12 ^a	92.4±7.35 ^a	173.8±21.83 ^b	135.3±15.12 ^c	150.6±22.3 ^c
Kolesterol (mg/dL)	65.4±19 ^a	64.7±11.4 ^a	115.6±28.7 ^b	82.1±15.9 ^c	87.3±19.4 ^c
LDL (mg/dL)	32.6±3.5 ^a	35.2±4.1 ^a	71.6±5.8 ^b	49.9±3.8 ^c	45.3±5.7 ^c
HDL (mg/dL)	43.4±3.14 ^a	46.9±5.23 ^a	22.1±3.78 ^b	35.9±4.21 ^c	32.5±5.0 ^c
TBARS (µmol/L)	12.9±5.14 ^a	13.7±3.62 ^a	32.6±8.13 ^b	24.2±5.28 ^c	29.1±6.21 ^b
TAC (mmol/L) (0.75±0.08 ^a	0.72±0.06 ^a	0.45±0.07 ^b	0.61±0.03 ^c	0.48±0.06 ^b
Kaspaz-3(ng/L)	6.48±1.45 ^a	7.02±1.22 ^a	12.37±2.5 ^b	8.16±1.23 ^c	9.07±2.1 ^c
Kaspaz-8 (ng/L)	11.15±4.12 ^a	12.57±5.36 ^a	29.34±7.43 ^b	17.69±5.57 ^c	18.24±4.41 ^c

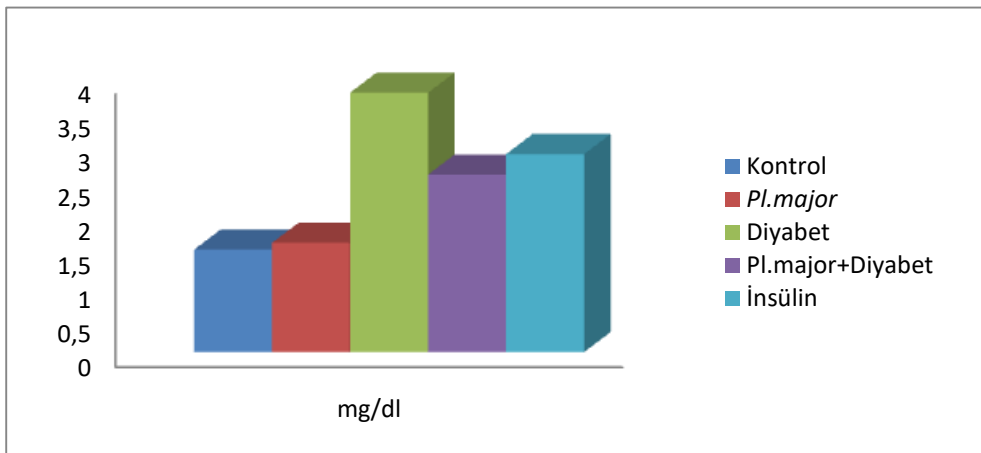
^{a, b, c}: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan gruplar önemlidir.

Yapılan bu çalışmada kan glikoz düzeyleri; kontrol grubunda ortalama 83.4 mg/dL, *Pl.major* grubunda ortalama 85.1 mg/dL olarak ölçülürken, diyabet grubunda ortalama 314.5 mg/dL, diyabet+ *Pl.major* grubunda ortalama 216.9 mg/dL ve diyabet+insülin grubunda 141.5 mg/dL olarak ölçülmüştür. Diyabet+ *Pl.major* grubunun kan glikoz sonuçları diyabet grubundaki ratlara göre daha düşük ($p<0.05$) bulunmuştur. Diyabet ve Diyabet+ *Pl.major* grubunun kan glikoz sonuçları kontrol grubundan, istatistiksel olarak $p<0,001$ önem düzeyinde yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.2, Şekil 4.1). İnsülin grubunun kan glikoz değerleri ise diyabet ve diyabet + *Pl.major* gruplarından daha düşük ($p<0.001$) bulunmuştur.(Şekil 4.1)



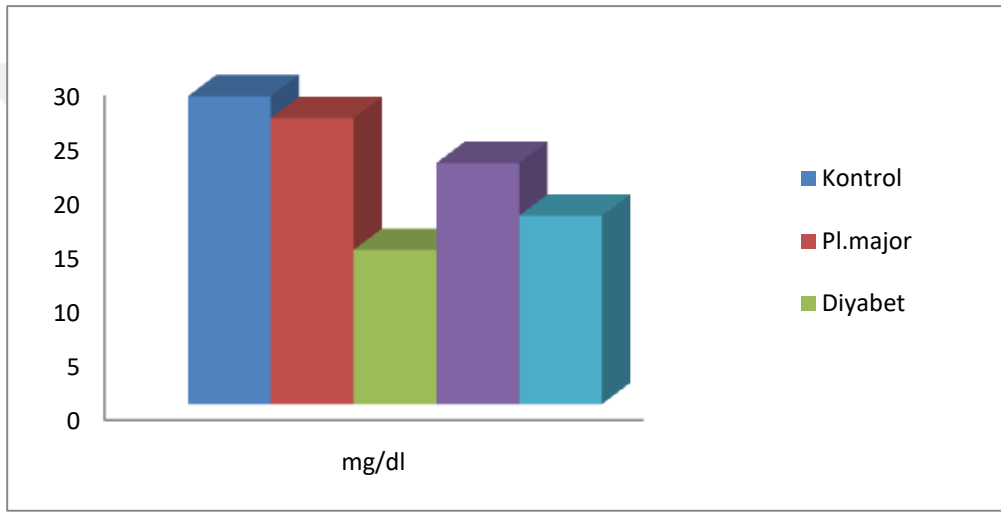
Şekil 4.1 Deneme gruplarındaki ratların kan glikoz düzeyleri

Çalışmada HbA1c düzeyi ise; kontrol grubunda ortalama 1.5 mg/dL, *Pl.major* grubunda ortalama 1.6 mg/dL olarak ölçülürken, diyabet grubunda ortalama 3.8 mg/dL ve diyabet+ *Pl.major* grubunda ortalama 2.6 mg/dL ve diyabet+ insülin grubunda ortalama 2.6 mg/dL olarak ölçülmüştür. Diyabet+ *Pl.major* grubunun HbA1c sonuçları diyabet grubundaki ratlara göre daha düşük bulunmuştur. Diyabet+ *Pl.major* grubunun HbA1c sonuçları kontrol grubundan, istatistiksel olarak $p < 0,001$ önem düzeyinde yüksek bulunmuştur. İnsülin grubunun kan HbA1c değerleri ise diyabet grubuna göre düşük bulunurken ($p < 0.01$), diyabet +*Pl. major* grubu ile anlamlı bir fark bulunmamıştır. (Şekil 4.2)



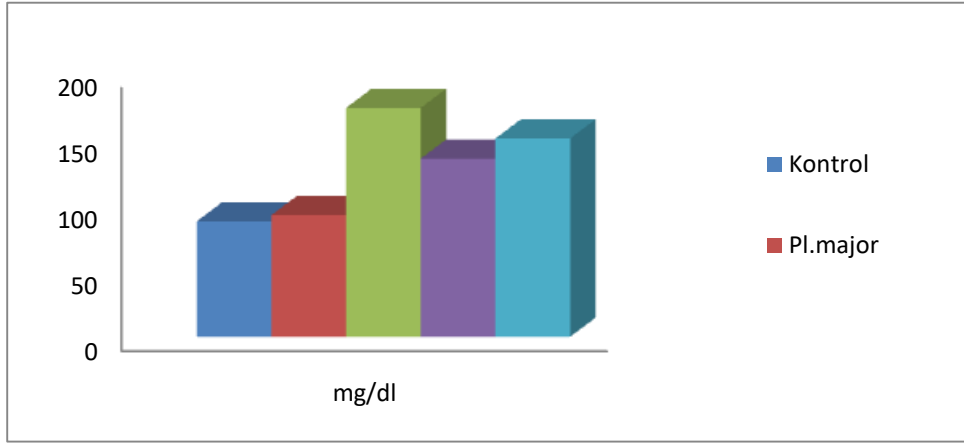
Şekil 4.2 Deneme gruplarındaki ratların HbA1c düzeyleri

Çalışmada deneme gruplarının insülin düzeyleri; kontrol grubunda ortalama 28.53 $\mu\text{U}/\text{mL}$, *Pl.major* grubunda ortalama 26.49 $\mu\text{U}/\text{mL}$ olarak ölçülürken, diyabet grubunda ortalama 14.28 $\mu\text{U}/\text{mL}$, insülin grubunda ortalama 17.45 $\mu\text{U}/\text{mL}$ ve diyabet+*Pl.major* grubunda ortalama 22.34 $\mu\text{U}/\text{mL}$ olarak ölçülmüştür. Diyabet+ *Pl.major* grubunun insülin sonuçları diyabet grubu ile insülin grubuna göre daha yüksek ($p<0.01$) bulunmuştur. Diyabet+ *Pl.major* grubunun insülin sonuçları kontrol grubundan, düşük bulunmuştur. En yüksek insülin değerleri kontrol ve *Pl. major* gruplarında belirlenmiştir. (Şekil 4.3)



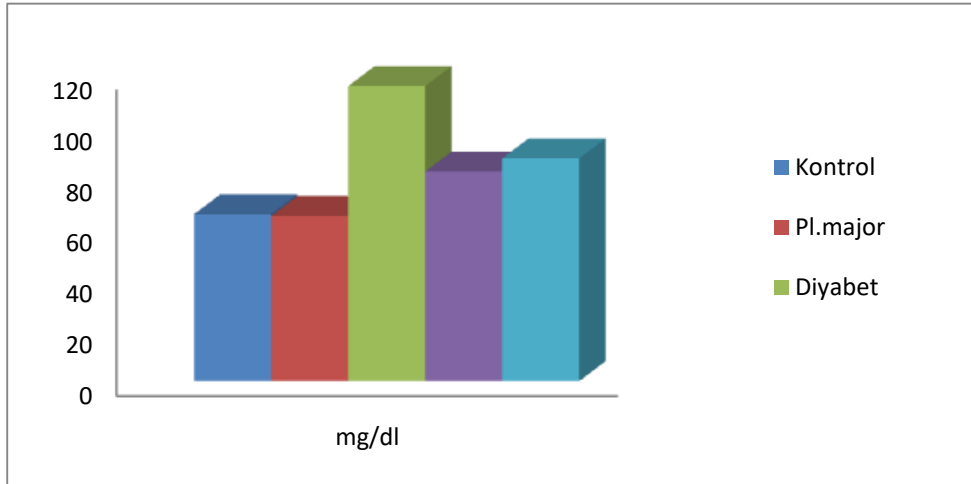
Şekil 4.3 Deneme gruplarındaki ratların insülin düzeyleri

Trigliserid düzeyi; kontrol grubunda ortalama 87.6 mg/dL, pl.major grubunda ortalama 92.4 mg/dL olarak ölçülürken, diyabet grubunda ortalama 173.8 mg/dL, insülin grubunda 150.6 mg/dL ve diyabet+*Pl.major* grubunda ortalama 135.3 mg/dL olarak ölçülmüştür. Çalışmada Diyabetli ratlarda serum trigliserit düzeyi diğer çalışma gruplarından anlamlı derecede ($p<0.01$) yüksek bulunmuştur. *Diyabet+Pl.major* grubu ile insülin grubunun serum trigliserid sonuçları ise diyabet grubundaki ratlara göre düşüktür. *Diyabet+ Pl.major* grubu ile insülin grubunun serum trigliserid düzeyleri arasında önemli bir fark bulunmamıştır (Şekil 4.4).



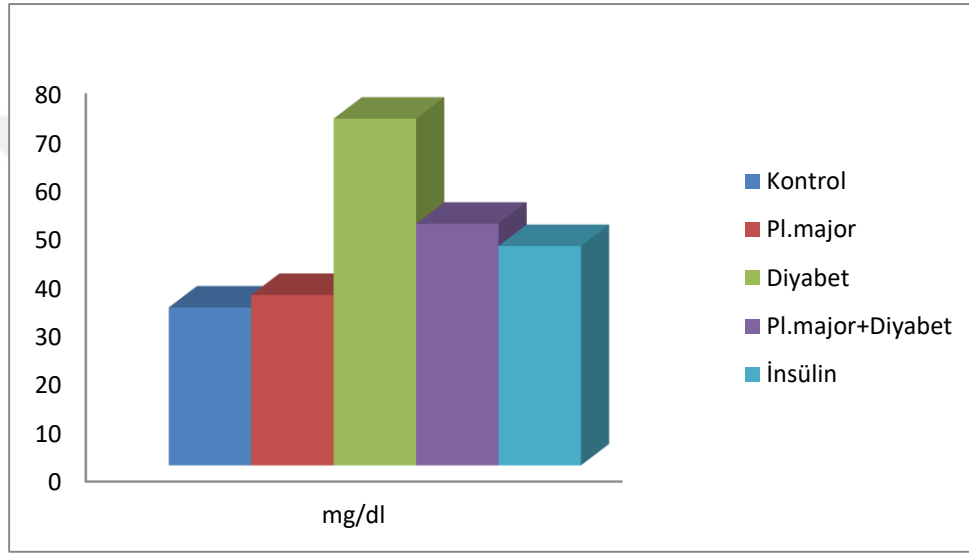
Şekil 4.4 Deneme gruplarındaki ratların serum trigliserit düzeyleri

Total kolesterol düzeyi; kontrol grubunda ortalama 65.4 mg/dL, *Pl.major* grubunda ortalama 64.7 mg/dL olarak ölçülürken, diyabet grubunda ortalama 115.6 mg/dL, insülin grubunda 87.3 mg/dL ve diyabet+*Pl.major* grubunda ortalama 82.1 mg/dL olarak ölçülmüştür. Diyabet+*Pl.major* grubu ve insülin grubunun serum total kolesterol sonuçları diyabet grubundaki ratlara göre daha düşük ($p < 0.05$) bulunurken, Diyabet+*Pl.major* grubu ile insülin grubunun serum total kolesterol düzeyleri arasında önemli bir fark bulunmamıştır. (Şekil 4.5)



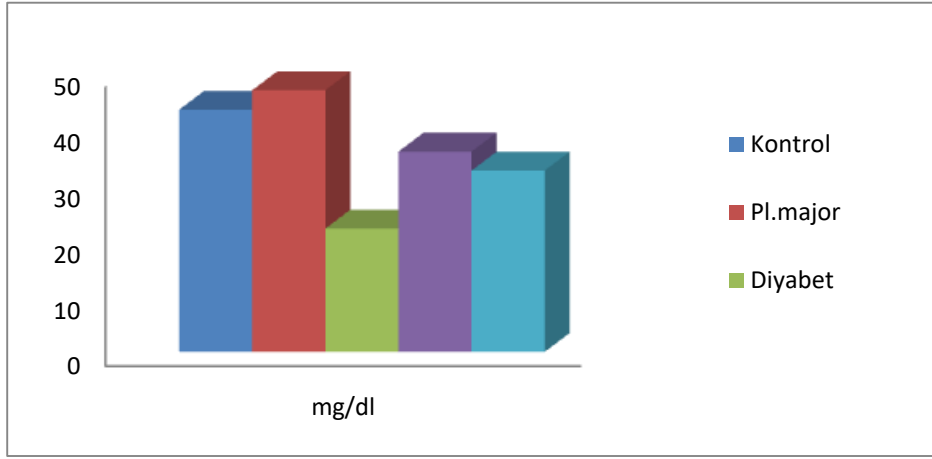
Şekil 4.5 Deneme gruplarındaki ratların serum total kolesterol düzeyleri

Kan LDL düzeyi; kontrol grubunda ortalama 32.6 mg/dL, *Pl.major* grubunda ortalama 35.2 mg/dL olarak ölçülürken, diyabet grubunda ortalama 71.6 mg/dL, insülin grubunda 45.3 mg/dL ve diyabet+ *Pl.major* grubunda ortalama 49.9 mg/dL olarak ölçülmüştür. Diyabet+ *Pl.major* grubunun LDL sonuçları diyabet grubundaki ratlara göre anlamlı derecede düşük ($p<0.001$) bulunmuştur. Diyabet+ *Pl.major* grubunun LDL sonuçları kontrol grubundan, istatistiksel olarak $p<0,01$ önem düzeyinde yüksek bulunmuştur (Şekil 4.6).



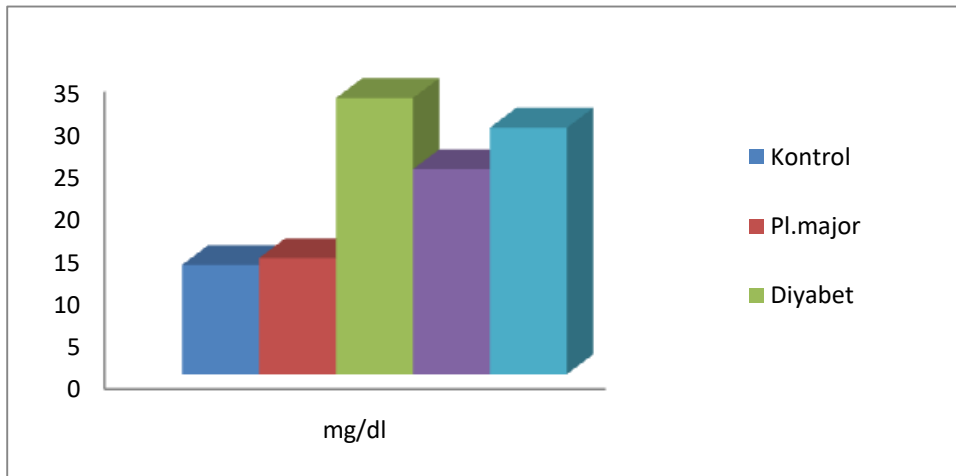
Şekil 4.6 Deneme gruplarındaki ratların serum LDL düzeyleri

Yapılan biyokimyasal analizler sonucunda kan serum HDL düzeyi ise; kontrol grubunda ortalama 43.4 mg/dL, *Pl.major* grubunda ortalama 46.9 mg/dL olarak ölçülürken, diyabet grubunda ortalama 22,1 mg/dL, diyabet+ *Pl.major* grubunda ortalama 35.9 mg/dL ve insülin grubunda ortalama 32.5 mg/dL olarak ölçülmüştür. Diyabet+ *Pl.major* grubunun serum HDL sonuçları diyabet grubundaki ratlara göre istatistiksel olarak $p<0,01$ önem düzeyinde yüksek bulunmuş, kontrol ve *Pl.major* seviyelerinden ise düşük ($p<0.05$) bulunmuştur (Şekil 4.7).



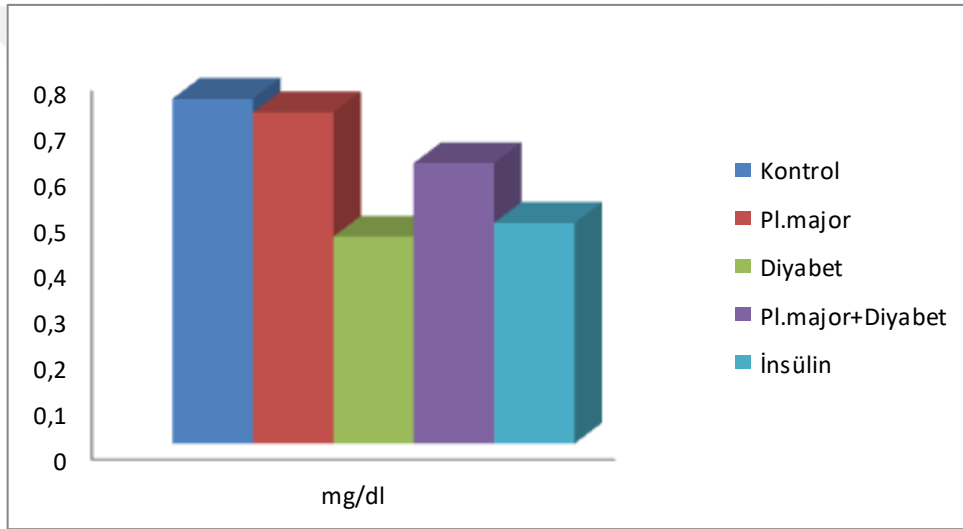
Şekil 4.7 Deneme gruplarındaki ratların serum HDL düzeyleri

Yapılan biyokimyasal analizler sonucunda kan serum TBARS düzeyi ise; kontrol grubunda ortalama 12.9 $\mu\text{mol/L}$, *Pl.major* grubunda ortalama 13.7 $\mu\text{mol/L}$ olarak ölçülürken, diyabet grubunda ortalama 32.6 $\mu\text{mol/L}$, diyabet+ *Pl.major* grubunda ortalama 24.2 $\mu\text{mol/L}$ ve insülin grubunda ortalama 29.1 $\mu\text{mol/L}$ olarak ölçülmüştür. Diyabet+ *Pl.major* grubunun kan serum TBARS sonuçları diyabet grubundaki ratlara göre istatistiksel olarak $p < 0,001$ düzeyinde düşük bulunmuştur. Diyabet ve Diyabet+ *Pl.major* grubunun TBARS sonuçları kontrol grubuna göre yüksek ($P < 0.001$) bulunmuştur. İnsülin grubu ile diyabet grubu TBARS sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmezken, diyabet+ *Pl.major* grubuna göre insülin grubu TBARS değerleri yüksek ($p < 0.05$) bulunmuştur (Şekil 4.8)



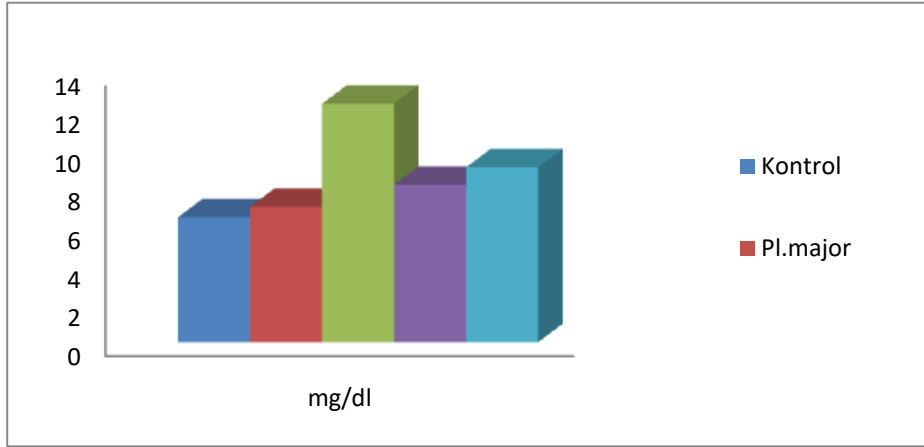
Şekil 4.8 Deneme gruplarındaki ratların serum TBARS düzeyleri

Yapılan biyokimyasal analizler sonucunda kan serum TAC düzeyi ise; kontrol grubunda ortalama 0.75 mmol/L , *Pl.major* grubunda ortalama 0.72 mmol/L olarak ölçülürken, diyabet grubunda ortalama 0.45 mmol/L , diyabet+ *Pl.major* grubunda ortalama 0.61 mmol/L, insülin grubunda ortalama 0.48 mmol/L olarak ölçülmüştür. Diyabet+ *Pl.major* grubunun serum TAC düzeyleri diyabet grubundaki ratlara göre istatistiksel olarak yüksek ($p<0,001$) bulunmuştur. Diyabet ve Diyabet+ *Pl.major* grubunun serum TAC düzeyleri ise kontrol grubuna göre düşüktür. İnsülin grubu ile diyabet grubu TAC düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmezken, diyabet+ *Pl.major* grubuna göre insülin grubu TAC değerleri düşük ($p<0,001$) bulunmuştur (Şekil 4.9).



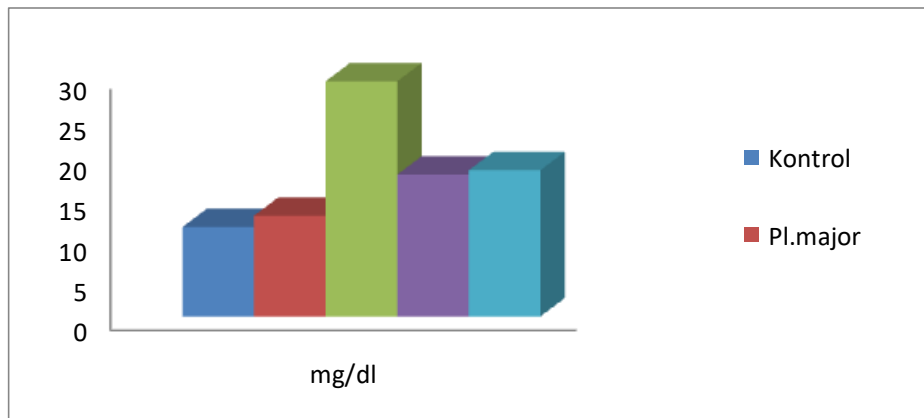
Şekil 4.9 Deneme gruplarındaki ratların serum TAC düzeyleri

Yapılan biyokimyasal analizler sonucunda serum kaspaz-3 düzeyi ise; kontrol grubunda ortalama 6.48 ng/L , *Pl.major* grubunda ortalama 7.02 ng/L olarak ölçülürken, diyabet grubunda ortalama 12.37 ng/L , diyabet+ *Pl.major* grubunda ortalama 8.16 ng/L olarak ölçülürken, insülin grubunda ortalama 9.07 ng/L olarak ölçülmüştür. Diyabet+ *Pl.major* grubunun kaspaz-3 sonuçları diyabet grubundaki ratlara göre istatistiksel olarak $p<0,01$ düzeyinde düşük bulunmuştur. Diyabet ve Diyabet+ *Pl.major* grubunun kaspaz-3 aktivite düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak $p<0,01$ düzeyinde yüksektir. İnsülin grubu ile diyabet+ *Pl.major* grubu kaspaz-3 aktivite düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Şekil 4.10).



Şekil 4.10 Deneme gruplarındaki ratların serum kaspaz-3 düzeyleri

Yapılan biyokimyasal analizler sonucunda kan serum kaspaz-8 aktivite düzeyi ise; kontrol grubunda ortalama 11.15 ng/L , *Pl.major* grubunda ortalama 12.57 ng/L olarak ölçülürken, diyabet grubunda ortalama 29.34 ng/L , diyabet+ *Pl.major* grubunda ortalama 17.69 ng/L, insülin grubunda ortalama 18.24 ng/L olarak ölçülmüştür. Diyabet+ *Pl.major* grubunun kaspaz-8 aktivite sonuçları diyabet grubundaki ratlara göre istatistiksel olarak $p < 0,001$ düzeyinde düşük bulunmuştur. Diyabet ve Diyabet+ *Pl.major* grubunun serum kaspaz-8 aktivite düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek ($p < 0,05$) iken, insülin grubu serum kaspaz-8 aktivite düzeyleri ile diyabet+ *Pl.major* grubu arasında anlamlı bir fark belirlenmemiştir (Şekil 4.11)



Şekil 4.11 Deneme gruplarındaki ratların serum kaspaz-8 düzeyleri

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Plantago major Türkiye meralarında ve dünyanın çoğu bölgesinde yaygın olarak yetişen bir bitkidir ve *Plantago* türlerinin antitümöral, antienflamatuvar, antifungal, antibakteriyel, analjezik, antispazmotik, antiviral ve karaciğeri koruyucu etkileri tanımlanmıştır (Stewart 1996, Moore *et al* 2006). Diyabet tedavisinde yeni alternatif ürünlerin belirlenmesine katkı sağlamak amacı ile yapılan bu çalışmada, STZ ile deneysel olarak diyabet oluşturulan ratlarda *Plantago major*'ün etkisi incelenmiştir.

Çalışmada, deney gruplarındaki ratların haftalık beden ağırlıkları, Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi, 21 günlük deneme süresi sonunda diyabet grubunda ve diyabet+ *Pl.major* grubunda, kontrol ve *Pl.major* grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. DM'un katabolik yolları situmule etmesinin bir göstergesi olarak beden ağırlığının azaldığı ve bu bağlamda, insülin hormonunun beden ağırlığındaki azalmayı engellediği veya düzelttiği bilinmektedir (Pfaffman *et al.* 1980). Karaciğer ve kaslardaki glikojen depolarının tüketilmesi ve insülin yetersizliğine bağlı olarak glikoz oksidasyonunun bozulması, karbonhidrat olmayan kaynakların kullanımını zorunlu kılar. Böylece yağ ve protein yıkımı artar. Diyabette görülen zayıflamanın temel nedeni, hücrelerin glikozu yeterince kullanamamasıdır (Hughes, 2010). Yapılan çalışmadan elde edilen veriler, *Plantago major*'ün diyabetli ratların canlı ağırlığını, diyabetin lipolitik etkilerine karşı yeterli düzeyde olmasa da koruduğunu düşündürmektedir.

Ayrıca çalışmada diyabetli ratlar ile *Pl. major* takviyesi verilen ratlarda diyabet belirteçlerinin düzeyleri de belirlenmiştir. Çalışmada *Pl.major* ekstraktı verilen diyabetli ratların kan glikoz ($p<0.05$) ve insülin ($p<0,001$) düzeyleri diyabet grubundaki ratlara göre düşük bulunurken, HbA1c düzeyleri diyabet grubundaki ratlara göre anlamlı derecede düşük ($p<0.01$) bulunmuştur (Çizelge 4.2). Günümüzde HbA1c'nin diyabetlilerde glisemik kontrolü göstermesi ile birlikte diyabetik komplikasyon gelişme riskini ve diyabetik bakımın kalitesini yansıttığı kabul edilmektedir (Herman *et al*, 2010). Çalışmada *Pl.major* takviyesi yapılan diyabetli ratlarda serum glikoz, HbA1c ve insülin düzeylerinde belirlenen değişimlerin *Pl.major*'ün pankreas hücrelerinden insülin

stimülasyonunu ve hücrelerde reseptör düzeyinde insülin etkinliğini arttırmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Ayrıca bu çalışmada deneysel olarak diyabet oluşturulan ratlarda *Pl.major*'un lipid profili düzeylerine olan etkisi de araştırılmıştır. Diyabette en sık gözlenen lipid metabolizması bozukluğu, trigliserid düzeylerinde artma ve HDL düzeylerinde azalmadır (Shahi *et al* 2011, Turk, 2011).

Diyabetli hastalarda hiperkolesterolemi ve hiperlipidemi gibi plazma lipid profili değişikliklerinden başlıca lipoprotein lipaz ve hepatik lipaz enzim aktiviteleri sorumludur (Bingöl vd. 2010). Çalışmamızda STZ ile diyabet oluşturulan ratlarda serum trigliserid ve total kolesterol düzeyleri, kontrol grubu ve *Pl.major* grubuna göre anlamlı derecede ($p<0,001$) yüksek bulunmuştur. Ayrıca *Pl. major* verilen diyabetli ratlarda serum total kolesterol ve trigliserit düzeyleri diyabet grubundan, istatistiksel olarak $p<0,001$ önem düzeyinde düşük bulunmuştur. Diyabet+*Pl.major* grubu ile insülin grubunun serum trigliserid ve kolesterol sonuçları ise diyabet grubundaki ratlara göre düşüktür. Diyabet+ *Pl.major* grubu ile insülin grubunun serum trigliserid ve kolesterol düzeyleri arasında önemli bir fark bulunmamıştır (Çizelge 4.2). Diyabet grubu trigliserit ve kolesterol düzeylerinde görülen bu artış, diyabette meydana gelen insülin eksikliği veya duyarsızlığına bağlı olarak, dolaşımda fazla miktarda serbest yağ asidi bulunmasına bağlıdır. Ayrıca çalışmada diyabet+*Pl.major* grubunda serum trigliserit ve kolesterol düzeylerinin diyabet grubuna göre daha düşük bulunması, *Pl.major*'un insülin benzeri etki göstererek lipoprotein lipaz enzim aktivitesini arttırmasına ve HMG-CoA redüktaz enzimini baskılaması ile ilişkili olabilir (Elberry *et al* 2015).

LDL plazmada bulunan başlıca kolesterol taşıyıcı lipoproteindir (Stein ve Myers 1994). HDL ise, kolesterolün çeşitli organ ve dokulardan karaciğere taşınmasından sorumludur. HDL yapımında hepatik trigliserid lipaz aktivitesi önemlidir. İnsülin, lipoprotein lipaz aktivitesini artırdığı gibi hepatik trigliserid lipaz aktivitesini de artırır

(Adamu *et al.*, 2008). İnsülin yetmezliği ve diyabetle ilgili yapılan çalışmalarda serum LDL miktarı artarken, HDL miktarının azaldığı bildirilmiştir (Çomoğlu vd. 2001, Mooradian 2009). Yapılan çalışmalara benzer olarak, bu çalışmada da 21 günlük deney periyodunun sonunda diyabet grubunun serum LDL düzeyleri kontrol grubu, *Pl.major* grubu ve diyabet+*Pl.major* grubuna göre yüksek bulunurken, HDL düzeyleri düşük bulunmuştur (Çizelge 4.2). *Pl.major*+diyabet grubunda belirlenen düşük LDL ve yüksek HDL düzeyleri, aynı grupta belirlenen düşük total kolesterol ve trigliserit değerleri ile de ilişkili olarak, *Pl. major*'un lipoprotein lipaz ve hepatik lipaz enzimi aktivitelerini arttırmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. HDL düzeyinin artması ile, LDL'nin perifer dokulardan alınması arttırılarak, trigliserit seviyesini de düzenlemiş olur.

Yüksek glukoza hücrel yanıtlar çok çeşitlidir. Normalde iyi çalışan glukoz metabolizması, hiperglisemi gibi stres durumlarında, aşırı serbest radikal üretimine ve oksidatif strese neden olur. Oksidatif stres çeşitli hücre tiplerinin programlanmış hücre ölümü olarak bilinen apoptozuna ve nekrotik hücre ölümüne yol açarak hücre kaybına neden olur (Allen 2005, Gökşin 2009). Kaspazlar çeşitli uyarılar sonucu indüklenen apoptozu hem regüle eden hem de meydana getiren bir proteaz ailesidir (Sefa ve ark. 2015). Bu nedenle bu çalışmada *Pl. major*'un diyabette oksidatif durum ve apoptoz üzerine olan etkilerini belirlemek amacıyla serum TBARS, TAC ve Kaspaz enzim aktivite tayinleri de gerçekleştirilmiştir.

Oksidatif stresin çeşitli metabolik hastalığın patogenezinde önemli role sahip olduğu bildirilmiştir (Tsofack et al 2014). Serbest oksijen radikalleri lipid peroksidasyonuna sebep olur ve lipid peoksidasyonunun son ürünü bir aldehit olan MDA'dır (Lykkesfeldt ve Svendsen, 2007). MDA'nın belirlenmesi lipid peroksidasyon dercesinin ve serbest oksijen radikallerinin indirekt yoldan tespitine olanak sağlar. Son yıllarda MDA lipid peroksidasyonun bir belirteci gibi kullanılarak lipid peroksidasyonun çeşitli hastalıklarda oynadığı rolü belirlemede önemlidir (Rezaei ve Naghadeh, 2006).

Çalışmada yapılan biyokimyasal analizler sonucunda Diyabet+ *Pl.major* grubunun kan serum TBARS sonuçları diyabet grubundaki ratlara göre istatistiksel olarak $p<0,001$ düzeyinde düşük bulunmuştur. İnsülin grubu serum TBARS sonuçları ile diyabet grubu arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır. (Elena Dozio 2010).

Yapılan biyokimyasal analizler sonucunda Diyabet+ *Pl.major* grubunun kaspaz-3 sonuçları diyabet grubundaki ratlara göre istatistiksel olarak $p<0,01$ düzeyinde düşük bulunmuştur. Diyabet ve Diyabet+ *Pl.major* grubunun kaspaz-3 aktivite düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak $p<0,01$ düzeyinde yüksektir. İnsülin grubu ile diyabet+ *Pl.major* grubu kaspaz-3 aktivite düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Yapılan analizler sonucunda Diyabet+ *Pl.major* grubunun kaspaz-8 aktivite sonuçları diyabet grubundaki ratlara göre istatistiksel olarak $p<0,001$ düzeyinde düşük bulunmuştur. Diyabet ve Diyabet+ *Pl.major* grubunun serum kaspaz-8 aktivite düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek ($p<0.05$) iken, insülin grubu serum kaspaz-8 aktivite düzeyleri ile diyabet+ *Pl.major* grubu arasında anlamlı bir fark belirlenmemiştir

Bu çalışmada diyabetli ratların TAC düzeyleri diğer çalışma gruplarından anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Ayrıca *Pl. major* takviyesi verilen diyabet grubunun serum TAC sonuçları, diyabetli ratlar ve insülin uygulanan ratlara göre istatistiksel olarak $p<0,001$ düzeyinde yüksek bulunmuştur. İnsülin uygulanan ratların serum TAC düzeyleri ise diyabet grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark göstermemiştir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarla birçok hastalıkta oksidan ve anti-oksidan sistemler arasındaki dengesizliğe bağlı olarak reaktif oksijen türlerinin üretiminin arttığı, yani oksidatif stresin meydana geldiği belirlenmiştir (Ece vd 2007). Oksidatif stres, diyabet

ve diyabetin daha sonraki komplikasyonlarının patogenezinde önemli görev alır (Akkuş 1995). Bu çalışmada diabetli ratlarda belirlenen TBARS düzeylerindeki artış ve TAC düzeylerindeki azalmanın sebebi, ratlarda yüksek kan glukoz düzeylerine bağlı olarak lipid peroksidasyonu ve oksidatif stres hasarının meydana gelmesidir. Yani artan TBARS ve azalan TAC konsantrasyonu, diabetli ratlarda oksidatif stresin belirtisidir (Kılıç vd 2015). Ayrıca yapılan çalışmalarda yüksek glukozun apoptotik sinyalde çeşitli safhaları etkilediği belirlenmiştir. Bu durumun oksidatif stresin meydana gelmesi ile proapoptotik Bcl-2 ailesi proteinlerinin aktifleştiği ve bu durumun kaspaz enzim aktivitesini arttırarak hücre ölümüne neden olduğu bildirilmiştir (Allen 2005).

Çalışmada *Pl. major* takviyesi uygulanması ile diabetli ratlarda yüksek olan TBARS, kaspaz 3 ve kaspaz 8 düzeylerinin düştüğü ve düşük olan TAC düzeylerinin yükseldiği belirlenmiştir. Bu durum *Pl. major* takviyesinin pankreas hücrelerinden insülin stimülasyonu ve hücrelerde reseptör düzeyinde insülin etkinliğini arttırmasına bağlı olarak oksidatif stresi azaltması ve buna bağlı olarak apoptotik süreci geriletmesine bağlı olabilir.

SONUÇ

Bitki ekstraktlarının insülin ile olan ilişkisi son yıllarda en çok araştırılan konuların başında gelmektedir. Birçok çalışmada bitki ekstraktlarının insülin ve dolayısıyla insülin direnci ve diyabet ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir(Rojop, J. et al 2012). Bitkiler her zaman için önemli bir ilaç kaynağı olmuştur ve günümüzde kullanılan ilaçların büyük bir kısmı doğrudan veya dolaylı olarak bitkisel kaynaklardan elde edilmektedir. Diyabet tedavisinde insülin ve çeşitli sentetik anti-diyabet ilaçlar kullanılmaktadır (Irudayaraj *et al* 2012).

Plantago major yapısında pek çok kimyasal maddeyi içermektedir.Karbohidratlar, Lipitler, alkaloidler, kafeik asit ve türevleri ,Flavonoidler, İridoid glikozitleri terpenoidler , bazı vitaminler ve organik asitlerdir. Yapısındaki birçok madde birbiriyle sinerjik olarak etkileşmekte bunun sonucu olarak pek çok etki göstermektedir. Ancak bu etkiler içinde yeterli derece çalışmalarla ispatlanmış olan antiinflamatuvar etkinliğidir (Anonim, 2016.).Bu çalışma ile; diyabetli ratlarda *Pl.major* uygulamasının insülin benzeri etki göstererek kan glikoz düzeyini düşürdüğü, lipid profilini değiştirdiği ve oksidatif stresi ve dolayısı ile apoptozu önlediği belirlenmiştir. Çalışmadan elde edilen verilerin ışığında; *Plantago major*'ün ileriki yıllarda insülin direnci ve diyabet tedavisinde kullanılabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Akgül, E., İlhan, N., Halifeoğlu, İ. 1999. Tip II Diabetes mellitusta lipid peroksidasyonu ve eritrosit antioksidan enzim aktiviteleri. *Türk Biyokimya Dergisi*, 3; 28-33.
- Akkuş, İ., 1995 Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza yayınları.
- Alhaider, AA., Korashy, HM., Sayed-Ahmed, MM., Mobark, M., Kfoury, H., Mansour, M.A. 2011. Metformin attenuates streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats through modulation of oxidative stress genes expression. *Chem. Biol. Interact.*, 192;233–242
- Allen D, Yaqoob MM, Harwood SM. 2005. Mechanisms of high glucose-induced apoptosis and its relationship to diabetic complications. *Journal of Nutritional Biochemistry*; 16; 705-713.
- Altunkaynak, B., Özbek Z. E. 2008. Programlanmış Hücre Ölümü: Apoptoz Nedir? *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 6 (2); 93 -104
- Arvind, K., Pradeep, R., Deepa, R. and Mohan, V. 2002. Diabetes and coronary artery
- Aslan, M., Orhan, N., 2010. Diyabet tedavisinde kullanılan bitkisel ürünler ve gıda destekleri, *MİSED*, 27; 23-24.,
- Babujanarthanam R., Kavitha, P., Mahadeva Rao, US., Pandian, MR. 2011. Quercitrin a bioflavonoid improves the antioxidant status in streptozotocin: induced diabetic rat tissues. *Mol. Cell Biochem.*, 358; 121–129.
- Baynes, JW. 1991. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes*, 40; 405–412.
- Bingöl, N. T., Karlı, M.A., Aldemir, R., Yılmaz, O., Türel, İ. 2010. YYU Veteriner Fakültesi Dergisi, , 21 (1), 49 - 53 ORJİNAL MAKALE ISSN: 1017-8422; e-ISSN: 1308-3651
- Cavallo, F., Gerber, M., Marubini, E., 1991. Zinc and copper in breast cancer, a joint study
- Cengiz, M., Cengiz, S. 2000. Tip 2 diyabetli hastalarda C vitamini uygulamasının eritrosit glutatyon ve HbA1C düzeyleri üzerine etkisi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi* 31; 211-215
- Ceriello, A., Giugliano, D., Quatraro, A., Dello, Russo P., Torello, R. 1988. A preliminary note on inhibiting effect of α -tocopherol on protein glycation. *Diabet Metab*, 14; 40-52
- Chausmer, A.B. 1998. Zinc, insulin and diabetes. *J Am Coll Nutr.* 17; 109-115.
- Cheesman, KH, Slater, TF. 1993. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull*: 49; 481-493
- Cooper, GM., Hausman, RE. *The Cell: A Molecular Approach*. U.S.A., Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, 541-589. Chapter 13 Cell Signaling
- Craig, WJ. 1999. Health-promoting properties of common herbs. *Am. J. Clin. Nutr.*, 70; 491–499.
- Çelik, S., Şen, S., Hazman, Ö. 201. Endoplasmik Retikulum Stresine Cevap Yolakları ve Tip 2 Diyabet Patogenezinde Endoplasmik Retikulum Stres Aracılı Beta Hücre Apoptosisinin Rolü *Kocatepe Tıp Dergisi Kocatepe Medical Journal* 16:227
- Çaparuşağı, N., Owayolu, A. 2006. Diyabetik Ayak ve Bakımı. Atatürk Üniversitesi Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi, Cilt: 9 Sayı: 2.

- Çomoğlu, S., Yardımcı, S. ve Okçu, Z. 2001. Tip 2 diabetik duysal polinoropatisi olan hastaların plazma lipid profil değişiklikleri. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi, Cilt 21(5), 345-348 s.
- Çıkladilmez Ş., 2013. Diyabet Tedavisinde Kullanılan Bitkiler Ve Bitkisel Ürünler. Farmasötik Botanik Anabilim Dalı Bitirme Ödevi.
- David, B.M., 2005. Eser Elementler. In Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler. 568-83 s. Palme Yayıncılık, Ankara.
- Dinççağ, N. 2011. Diabetes Mellitus Tanı ve Tedavisinde Güncel Durum. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı, İstanbul. İç Hastalıkları Dergisi; 18; 181-223
- Elberry, A.A., Harraz, F.M., Ghareib, S.A., Nagy, A.A., 2015. Sattar, E.A. International journal of diabetes mellitus. 3; 37-44.
- Elena Dozio E, Massimiliano Ruscica b,1, Luca Passafaro. The natural antioxidant alpha-lipoic acid induces p27Kip1-dependent cell cycle arrest and apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells. European Journal of Pharmacology 641 (2010) 29–34
- Farnsworth, N. R., Akerev, O. Bingel, A.S. 1985. The Bulletin of WHO., 63; 9865-9871.
- Fons, F., Gargadennec, A., Gueiffier, A., Roussel, J. L. and Andary, C. (1998). Effects of cinnamic acid on polyphenol production in *Plantago lanceolata*. *Phytochemistry*, 49, 697-702 Erişim 12 Temmuz 2012, Science Direct.
- Gannog W.F. 1995. Tıbbi Fizyoloji. Ceviren: Dogan, A. Baris Kitapevi, İstanbul.
- Garber, A.J. 2005. Pharmacologic modifications of hormones to improve their the rapeutic potential for diabetes management. *Diabetes Obes. Metab.*, 7; 666-674 pp.
- Gmieniczek A, Hopkala H, Wojtowicz Z, Nieradko M. 2001. Differences in antioxidant status in skeletal muscle tissue in experimental diabetes. *Clin Chim Acta*; 314; 39-45
- Güner, A., 2005. Diabetik hastaların diabetik ayak ile ilgili bilgi ve tutumlarının irdelenmesi ve HbA1c'nin diabetik ayak ile ilişkisi", Uzmanlık Tezi Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Aile Hekimliği, 82 s.
- Harput, U. S., Genc, Y. and Saracoglu, I. (2012). Cytotoxic and antioxidative activities of *Plantago lagopus* L. and characterization of its bioactive compounds. *66 Food and Chemical Toxicology*, 50, 1554-1559 Erişim 10 Temmuz 2012, Science Direct
- Hatemi, H.H. 1991. Diabetik noropati. *Klinik Gelisim*, Cilt 4; 1592-1598 s.
- Hatemi, H.H. 1996. Diabetes mellitus tarihçesi. *Aktüel Tıp Derg.*; 7; 497-499 s.
- Herman WH, Fajans SS. 2010. Hemoglobin A1c for the diagnosis of diabetes: practical considerations. *Pol Arch Med Wewn.*; 120; 37-40.
- Hughes P, Heritage, J (2010). Antibiotic Growth Promoters in Food Animals. http://www.fao.org/docrep/article/agrippa/555_en.htm, Erişim tarihi.04.02.2010.
- Inoguchi T, Li P, Umeda F, Yu HY, Kakimoto M, Imamura M, Aoki T, Etoh T, Hashimoto T, Naruse M, Sano H, Utsumi H, Nawata H. 2000. High glucose level and free acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase c dependent activation of NAD(P)H oxidase in cultured vascular cells. *Diabetes*; 49; 1939-1945.

- Irudayaraj, S.S., Sunil, C., Duraipandiyan, V., Ignacimuthu, S. 2012. Antidiabetic and antioxidant activities of *Toddalia asiatica* (L.) Lam. leaves in streptozotocin induced diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.*, 143:515–523.
- Karaevic D., Karaevic G., Djordjevic V., Andrejevic S., Covic V. (2001) "Metod for the measurement of antioxidant activity in human fluids. " *Jclin Pathol*, 54, 356-361.
- Karayalçın, F.C. 2007. Unilateral diyabetik ayak ülseri gelişiminde polinöropatinin etkisi, Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilimdalı, 77 s.
- Keeton, W.T., Gould, J.L. 1999. *Biological Science*, I,II; Genel Biyoloji (A.Demirsoy, Çev.), Palme Yayıncılık, Ankara.
- Kılıç, A., Erdoğan, S., Yorulmaz, A., Doğan, S., Ergin, M., Artüz, F., Erel, Ö. 2015. *Turkderm - Arch Turk Dermatol Venerology* 49:(Supplement 1):7-12
- Kılıçdağı, T. 2008. Diabetes mellitusta metabolik parametreler ve maküla ödemi üzerine Kobla, H.V., Volpe, S.L., 2000. Chromium, exercise and body composition. *Crit Rev Food Sci Nutr* . 40; 291-308 pp.
- Koenig RJ, Peterson CM, Kilo C, Cerami A, Williamson JR. 1976. Hemoglobin A1c as an indicator of the degree of glucose intolerance in diabetes. *Diabetes.*; 25; 230-232.
- Kumar, S.A. 2009. *Plants-based Medicines in India*. <http://pib.nic.in/feature/feyr2000/fmay2000/f240520006.html>. Erişim Tarihi: 06.06.2010
- Langenstroer P, Pieper GM. 1992. Regulation of spontaneous EDRF release in diabetic rat aorta by oxygen free radical. *Am J Physiol*; 263; 257-265
- Leal R.F, Lourdes M, Ayrizono S. Detection of epithelial apoptosis in pelvic ileal pouches for ulcerative colitis and familial adenomatous polyposis. *Journal of Translational Medicine* 2010, 8:11
- Lenzen S. 2008. The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*. 51;216-26 pp.
- Mooradian, A.D. 2009. Dyslipidemia in type 2 diabetes mellitus. *Nature Clinical Practice Endocrinology and Metabolism*, Vol. 5; 150-159 pp.
- Moore G., Sanford P., Wiley T., 2006. *Perennial pastures for Western Australia*, Department of Agriculture and Food Western Australia, Bulletin 4690, Perth.
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwell V.W. 1996. *Harper's Biochemistry*. 24th Ed., Connecticut, Appleton and Lange.
- Mythili, M.D., Vyas R., Akila, G. and Gunesebaran, S. 2004. Effect of streptozotocin on the ultrastructure of rat pancreatic islets. *Microsc. Res. Tech.*, 63; 274-281 pp.
- Nayak B., S. Anad Bhaktha, G. 2005. Relationship between Sialic acid and metabolic variables in Indian type 2 diabetic patients; *Lipids in Health and Disease*, 4:15 Nobel Tıp Kitapevi, 47-81 s.
- Özvaran, M. K. 2004. Malign mezotelyomada gen tedavisi. *Toraks Dergisi*, 5 (2), 110-115.
- Palumbo, P.J. 1998. Metformin: effect on cardiovascular risk factor in patients with non- insulin dependent diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and its Complications*, Vol. 12; 110-119 pp.

- Pamukkale üniversitesi tıp fakültesi anatomi anabilim dalı sıçanlarda streptozotosin ile oluşturulan deneysel diyabetin uzaysal öğrenme ve hippocampus nöron sayısına etkisi uzmanlık tezi dr. Gökşin nilüfer yonguç 2009
- Pfaffman, M.A., Hilman, R. and Darby, A. 1980. Contractile and relaxing activity of arterial smooth muscle from streptozotocin-diabetic rats. *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology*, Vol. 30, 283- 299 pp.
- Rees, D.A. and Alcolado, J.C. 2005. Animal models of diabetes mellitus. *Diabet Med.*; 22; 359-70 pp..
- Rojop, J., Esther, I., Zagoya, J.C.D., Castillo, J.L.B., Osorio, P.H.M., Rodriguez, A.E.C., Zarate, C.A.L., 2012. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 12;236
- Rolo, P., Palmeira, Mc. 2006. Diabetes and mitochondrial function role of hyperglycemia and oxidative stress, *Toxicology and applied pharmacology*; 212; 167-178 .
- Shahi, M.M., Haidari F., Shiri M.R. 2011. Comparison of effect of resveratrol and vanadium on diabetes related dyslipidemia and hyperglycemia in streptozotocin induced diabetic rats. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 1(2), 81-86 pp.
- Sodeman, W.A. 1992. Sodeman's Pathologic Physiology mechanisms of disease. Çevirenleri: V. Cesur, N. Kemal, 1. Baskı Hekimler Birliği Vakfı, Türkiye Klinikleri Yayınevi, Cild 2, Ankara.
- Stewart AV., 1996. Plantain (*Plantago lanceolata*) – a potential pasture species. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*, 58, 77-86.
- Tagliabue M, Pinach S, Bisceglie CDI, Brocato L, Cassader M, Bertagna A, Manieri C, Pescarmona GP. 2005. Glutathione levels in patients with erectile dysfunction, with or without diabetes mellitus. *Int J Andrology*. 28; 156-162.
- Toprak, H., 2006. Tip II diyabetli hastalarda karotis ve brakial arterlerdeki aterosklerozun ve buna etki eden faktörlerin ve karaciğerdeki yağlanmanın bu hastalardaki ateroskleroz üzerine etkisinin B-mod ve renkli doppler us ile değerlendirilmesi, Uzmanlık tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı İstanbul Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Radyoloji Kliniği, 61 s.
- Tsofack, N., Benoit, M.Z., Jonas, K., Aleksandra, T., Desire, D.D.P., Pierre, K. And Theophile, D. 2014. Antidiabetic and antioxidant effects of *Annona Muricata* aqueous extract on streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 3 February 2014, p. 784-790.
- Turk, J. *Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongre Özet Kitabı*, 2011; 36 (4) ; 329–333.
- Watkins, P.J., Drury, P.L., Howell, S.L. 1996. *Diabetes and its a managenant* 5th ed. Blackwell Co., 3 pp.
- World Health Organization 1985. *Experts reports*, Genova. Erişim Tarihi: 05 Temmuz 2007.
- Yalçın, S.G. 2004. Yeni tespit tip 2 diabetes mellituslu hastalarda pankreas beta hücre
- Yashino, G., Hirano, T., Kazumi, T. 1996. *Dyslipidemia in diabetes mellitus*.
- Yeğin, A., Tomris, Ö. 1996. Nonenzimatik glikasyon reaksiyonları. *Biyokimya Dergisi*; 21,59-72 s.
- Yenigün, M. 1995. *Diabetes Mellitus: Fizyopatolojisi, Heryönüyle Diabetes Mellitus*,

Yılmaz, B. 1999. Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi. Feryal Matbaacılık, Ankara.
Yılmaz, M.T. 1997. Editörden. Galenos Aylık Sağlık Meslek Derg.; 1,3 s.
Anonim, 2013. Web sitesi. http://www.zaman.com.tr/gundem_turkiyede-diyabetli-hasta-sayisi-her-yil-yuzde-17-artiyor_2166333.html. Erişim tarihi: 12.11.2013
Anonim, 2016 Web sitesi <http://tibbivearomatikbitkiler.blogcu.com/sinirli-ot-plantago-major/5930101> Erişim Tarihi: 08.08.2016
Url-1 ; www.mustafaaltinisik.org.uk/s-Apoptoz.ppt
Url-2; <http://dogakesif.blogspot.com.tr/2010/12/genis-ve-dar-yaprakl-sinirli-otlar.html>



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı :Yasin DURSUN

Doğum Yeri :Genç

Doğum Tarihi :03.03.1986

Medeni Hali :Evli

Yabancı Dili :İngilizce

Adres :Pamuklar mah. sivas cad. 26/17 Yenimahalle/ANKARA

Tel :0505 612 23 18

E-posta :yasindursun1@gmail.com

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise :Bingöl Anadolu Öğretmen Lisesi

Lisans :Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Öğretmenliği

Yüksek Lisans :Çankırı Karatekin Üniversitesi Kimya A.B.D

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

2012-2015 Dahi Eğitim Danışmanlık

2015-2016 Pınar Eğitim Kurumları

2016-..... Pek Akademi