

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

STREPTOZOTOSİN ile DİYABET OLUŞTURULMUŞ ve
METFORMİN-İNSÜLİN ile DİYABET TEDAVİSİ GÖREN
RATLARDA, OLEUROPEİNİN HİPERGLİSEMİ, TOTAL OKSİDAN
VE TOTAL ANTİOKSİDAN KAPASİTE ÜZERİNE ETKİLERİ

Hülya DAĞDELEN
Fizyoloji Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman
Doç. Dr. Nadide Nabil KAMILOĞLU

2011-KARS

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

STREPTOZOTOSİN ile DİYABET OLUŞTURULMUŞ ve
METFORMİN-İNSÜLİN ile DİYABET TEDAVİSİ GÖREN
RATLARDA, OLEUROPEİNİN HİPERGLİSEMİ, TOTAL
OKSİDAN VE TOTAL ANTİOKSİDAN KAPASİTE ÜZERİNE
ETKİLERİ

Hülya DAĞDELEN
Fizyoloji Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman
Doç. Dr. Nadide Nabil KAMILOĞLU

Bu çalışma KAÜ Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Fonu tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 2011-VF-27

2011-KARS

KAFKAS ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans programı çerçevesinde Hülya DAĞDELEN tarafından hazırlanmış olan “**Streptozotosin ile Diyabet Oluşturulmuş ve Metformin-İnsülin ile Diyabet Tedavisi Gören Ratlarda, Oleuropeinin Hiperglisemi, Total Oksidan ve Total Antioksidan Kapasite Üzerine Etkileri**” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonucunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca **oy birliği** ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:

Adı Soyadı

İmza

Başkan : Doç. Dr. Nadide Nabil KAMILOĞLU



Üye : Yard. Doç. Dr. Aysel GÜVEN



Üye : Yard. Doç. Dr. Oğuz MERHAN



Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Mehmet ÇİTİL

İÇİNDEKİLER	<u>Sayfa no</u>
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	I
TABLolar DİZİNİ	III
ŞEKİLLER DİZİNİ	IV
GRAFİKLER DİZİNİ	V
ÖNSÖZ	VI
1. GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER	1
1.1. Diyabetin Tarihçesi	1
1.2. Diyabetin Sınıflandırılması	2
1.2.1. Tip-1 Diyabetes Mellitus	6
1.2.2. Tip-2 Diyabetes Mellitus	6
1.2.3. Malnutrisyonla İlişkili Diyabetes Mellitus	9
1.2.4. Gestasyonel Diyabet	9
1.3. İnsülin Sentez ve Salınımı	9
1.4. Diyabetin Tanısı ve Tanı Kriterleri	14
1.4.1. Etiyopatogenez	15
1.4.2. Tip 2 Diyabetes Mellitus Tanısı	15
1.5. Deney Hayvanlarında Diyabetin Oluşturulması	16
1.5.1. Streptozotosin	18

1.5.2.	Deneysel Tip 1 ve Tip 2 Diyabet Modellerinin Oluşturulması	19
1.6.	Diyabet Tedavi Yöntemleri ve Metformin	19
1.6.1.	Diyabette Tedavi Maksadıyla Kullanılan İlaçlar	24
1.6.2.	Diyabetes Mellitusun Kombine Tedavisi	27
1.6.3.	İnsülin Endikasyonları	27
1.7.	Diyabet Mellitus ve Oksidatif Stres	28
1.8.	Oleuropein	28
1.8.1.	Diyabet ve Oleuropein	31
2.	MATERYAL ve METOT	34
2.4.	MATERYAL	34
2.1.2.	Çalışmada Kullanılan Aletler	34
2.1.3.	Çalışmada Kullanılan Sarf Malzemeleri	35
2.2.	METOT	36
2.2.1.	Uygulanan Genel Metot	36
2.2.2.	Kan Örneklerinin Alınması	37
2.2.3.	Glukoz Düzeylerinin Saptanması	37
2.2.4.	Biyokimyasal Analizler	38
2.2.4.1.	Plazma Antioksidan ve Oksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi	38
2.2.4.2.	Total Antioksidan Kapasitelerinin (TAK) Belirlenmesi	38
2.2.4.3.	Total Oksidan Kapasitelerinin (TOK) Belirlenmesi	39

2.2.5. İstatistiki Hesaplamalar	40
3. BULGULAR	41
3.1. Gruplar Arasındaki Plazma Glukoz Düzeyleri	41
3.2. Gruplar Arasındaki Canlı Ağırlıklarında Belirlenen Değişimler	42
3.3. Gruplar Arasındaki Plazma Total Antioksidan Kapasiteleri	43
3.4. Gruplar Arasındaki Plazma Total Oksidan Kapasiteleri	45
3.5. Gruplar Arasındaki Karaciğer Total Antioksidan Kapasiteleri	46
3.6. Gruplar Arasındaki Karaciğer Total Oksidan Kapasiteleri	47
4. TARTIŞMA ve SONUÇ	48
5. ÖZET	53
6. ABSTRACT	55
7. KAYNAKLAR	57
8. ÖZGEÇMİŞ	68

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

DM	: Diyabetes Mellitus
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ADA	: Amerikan Diyabet Birliği
IDDM	: İnsüline Bağımlı Diyabetes Mellitus
NIDDM	: İnsüline Bağımlı Olmayan Diyabetes Mellitus
AKS	: Açlık Kan Şekeri
IGT, BGT	: Bozulmuş Glukoz Tolerans
IFG	: Bozulmuş Açlık Glukozu
OGTT	: Oral Glukoz Tolerans Testi
LDL	: Düşük Molekül Ağırlıklı Lipoprotein
HDL	: Yüksek Molekül Ağırlıklı Lipoprotein
VLDL	: Çok Düşük Molekül Ağırlıklı Lipoprotein
NO	: Nitrik Oksit
Na	: Sodyum
NaCl	: Sodyum Klorür
STZ	: Streptozotosin
ATP	: Adenozintrifosfat
O₂	: Oksijen Molekülü
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleid Fosfat
TAK	: Total Antioksidan Kapasite
TOK	: Total Oksidan Kapasite
i.p	: İntraperitonel

OAD	: Oral Atidiabetik Ajanlar
UKPDS	: The Uk Prospective Diabetes Study
IDF	: Dünya Diabet Federasyonu
BKİ	: Beden Kitle İndeksi
SYA	: Serbest Yağ Asitleri
LPL	: Lipoprotein Lipaz
PAI-1	: Plazminojen Aktivatör İnhibitörü-1
IR	: İnsülin Rezistanı
Cbl	: Casitas B-Lineage Lymphoma Docking
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
Gab1	: Grb2-Associated Binding Protein 1
GLUT	: Kolaylaştırılmış Glukoz Taşıyıcıları
GPx	: Glutatyon Peroksidaz
Grb2	: Growth Factor Receptor-Bound Protein 2
IRS	: İnsülin Reseptör Substrat
MEK	: MAP/Erk Kinase
PDK	: Protein Bağımlı Kinaz
PI3K	: Fosfoinositol 3 Kinaz
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RAS	: Protooncogene G-Binding Protein
Std.	: Standart
MAPK	: Mitogen-Activated Protein Kinase
µl	: Mikrolitre

TABLolar DİZİNİ

		<u>Sayfa no</u>
Tablo 1.	WHO Kriterlerine Göre OGTT (Oral Glukoz Tolerans Testi) Yorumu	16
Tablo 1.2.	Diyabette Yaşam Şeklinin Düzenlenmesi	22
Tablo 1.3.	Metformin İçeren İlaçlar ve mg Olarak Metformin İçeriği	24
Tablo 1.4.	Zeytinin Bazı Fiziksel Özellikleri.	30
Tablo 1.4.1.	Zeytinin Bileşimi	31
Tablo 2.	Deney ve Kontrol Gruplarının İsimlendirilmesi ve Yapılan Uygulamalar	37
Tablo 3.1.	Kontrol ve Deneme Grubundaki Ratlarda Belirlenen Günlere Göre Kan Şeker Düzeyleri (Mg/Dl)	41
Tablo 3.2.	Grupların Canlı Ağılıklarında Belirlenen Değişimler (G)	43
Tablo 3.3.	Plazma Total Antioksidan Kapasitelerinde Belirlenen Değişimler (Mmol Trolox Equiv./L)	44
Tablo 3.4.	Grupların Plazma Total Oksidan Kapasiteleri ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equv./L)	45
Tablo 3.5.	Grupların Karaciğer Total Antioksidan Kapasitelerinde Belirlenen Değişimler (Mmol Trolox Equiv./L)	46
Tablo 3.6.	Grupların Karaciğer Total Oksidan Kapasitelerinde ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equv./L)	47

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa no</u>
Şekil 1. İnsülinin Yapısı	10
Şekil 1.1. İnsülinin Glukoz Metabolizması Üzerindeki Etki Zincirleri	12
Şekil 1.2. İnsülin Hormonunun, Protein Sentezini Uyarıcı Moleküller Mekanizmaları	13
Şekil 2. Diyabetin Yaş Gruplarına Göre Dağılımı	14
Şekil 3. Streptozotosin'in Biyokimyasal Yapısı	18
Şekil 4. Diyabette Genel Tedavi Stratejisi	21
Şekil 5. Oleuropein ve Hidroliz Ürünleri	29
Şekil 5.1. Oleuropeinin Yapısı	29

GRAFİKLER DİZİNİ

		<u>Sayfa no</u>
Grafik 3.1	Grupların kan glukoz değerlerinde belirlenen değişimler (mg/dl)	42
Grafik 3.2	Grupların canlı ağırlık değerlerinde belirlenen değişimler (g)	43
Grafik 3.3.	Plazma Total Antioksidan Kapasitelerinde Belirlenen Değişimler (mmolTrolox Equiv./L)	44
Grafik 3.4.	Grupların Plazma Total Oksidan Kapasitelerinde ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equv./L)	45
Grafik 3.5.	Grupların Karaciğer Dokusu Total Antioksidan Kapasiteleri (mmolTrolox Equiv./L)	46
Grafik 3.6.	Grupların Karaciğer Total Oksidan Kapasiteleri ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equv./L)	47

ÖNSÖZ

Diyabet insülinin hem salgısında hem de etkisindeki bozukluk sonucu oluşan hiperglisemi ile seyreden kronik metabolik bir bozukluk olduğu gibi, aynı zamanda da artmış bir oksidatif stres durumunu (106, 117). Diyabetin, lipid ve protein oksidasyonu ile, artmış serbest radikallerin lipidler, proteinler ve nükleik asitlerle etkileşerek membran bütünlüğünün kaybına, proteinlerde yapısal veya fonksiyonel değişikliklere ve genetik mutasyonlara yol açtığı bildirilmektedir (106). Son yıllarda diyabetik hastalarda oksidatif stres ve serbest radikallerin negatif etkilerinin azaltılmasında flavonoidler ve polifenoller gibi vitamin olmayan antioksidanların kullanılması araştırmacılar tarafından ilgi görmektedir (8, 65). Bu maksatla kullanılan fenolik bileşiklerden biri olan oleuropeinin, diyabette hiperglisemi ve oksidan-antioksidan sistem üzerine etkileri hala araştırmalara zemin oluşturmaktadır (99). Diyabetin etiyojisi ve patogenezinin giderek daha iyi anlaşılmasıyla, hastalığın sınıflaması da sürekli yenilenmektedir. DM'nin tüm tiplerinde temel özellik hiperglisemi olmakla birlikte, hiperglisemiye neden olan fizyopatolojik mekanizma farklıdır. Diyabetin bazı formlarında mutlak insülin eksikliği veya bozuk insülin salgılanmasına neden olan genetik bir kusur varken, diğer bazı tiplerinde temel özellik insüline karşı bir direnç olmasıdır (42, 78, 81). Tip 2 DM heterojen bir hastalık grubu olup, genellikle değişik düzeylerde insülin direnci, insülin salgılanmasında azalma ve glukoz yapımında artma ile karakterize bozuklukları kapsar. Diyabet olgularının %90'ından fazlasını oluşturan metabolik bir hastalıktır. İnsülin etkisi veya salgılanmasındaki farklı genetik ve metabolik bozukluklar, ortak özelliği hiperglisemi olan tip 2 DM'ye neden olur. Şişmanlık, yaş ve hareketsizlik tip 2 diyabetin gelişmesinin sebeplerindendir (24, 101). 1998 yılında, Masiello ve ark. insan tip 2 diyabete bir çok yönden benzer olan yeni bir sıçan tip 2 diyabet modeli tanımlamışlardır. Bu yeni model de (nikotinamid + streptozotolin) çalışmalarda sıklıkla kullanılmaya başlamıştır (29, 30). Bu modelde; 60 mg/kg STZ (i.p) enjeksiyonundan 15 dk önce 290 mg/kg NA (i.p) enjekte edilir. STZ ve NA miktarları yapılan çalışmalarda farklılıklar göstermiştir. Diyabetin oluşturulmasından

3-5 hafta sonra deneye başlanabilir. Bu model insan tip 2 diyabetinin karakteristiklerini gerek histolojik ve gerekse metabolik olarak taklit etmektedir (76, 77). STZ-indüklü diyabet oluşturma, hücrel hasardaki diyabetik komplikasyonların çalışılması için oldukça uygun deneysel bir modeldir. Oksidatif stresin artmasıyla oluşan metabolizmadaki anormallikler ve hiperglisemi sonucunda diyabet ve komplikasyonlarının oluştuğu kabul edilir. Serbest radikallerin aşırı üretimi, kronik hipergliseminin primer nedenidir. Serbest radikallerin anormal yüksek seviyeleri ve aynı anda antioksidan savunma mekanizmasının kötüye gitmesi; insülin rezistansının gelişimine, lipid peroksidasyonunun artmasına ve hücrel organellerin hasarına sebep olabilir. Serbest radikaller sadece lipid ve proteinlere zarar vermez aynı zamanda DNA'daki oksidatif hasarın da nedenidir (13, 19).

Son zamanlarda diyabet tedavisi için, tedavi edici ajanların (oral hipoglisemik ilaçlar) yan tesirlerinden dolayı bitkisel ilaçlara yönelişte artış söz konusudur. Geleneksel şifalı bitki ekstraktlarının bir çoğu diyabet tedavisinde kullanılır. Bu bitkilerden biri olan zeytin yaprağı ekstrası (oleuropein) diyabet için kullanılan bitkilerden biridir. Oleuropein zeytin yaprağı ekstrasından elde edilen bitkisel fenolik bir bileşiktir (99). Bu bileşik elenolik asitin hidroksile ve glikozile edilmiş tyrosol esterlerindedir. Oleuropeinin ve onun metabolik hidroksitrozollerinin kuvvetli antioksidan etkiye sahip olduğu bilinmektedir (100). Zeytin yaprağı ve ürünleri, içerisindeki bu fenolik bileşikler sebebiyle, sağlıklı diyet elemanları olarak tanımlanmaktadır (107, 108). Diğer taraftan, oleuropein türevlerinin immun sistemi destekleyici etkilerinden de bahsedilmektedir. Zeytin yaprağı çayının dolayısıyla oleuropeinin organizmanın doğal bağışıklık sistemi cevap oluşturuncaya kadar mikroorganizmaları yavaşlatıcı etkiye sahip olduğu ve düzenli kullanıldığında antimikrobiyal ve antioksidan etkileri sayesinde hastalıklardan korunmada ve tedavide kullanılabileceği bildirilmektedir (100, 109). Yapılan çalışmalarda zeytin yaprağının etken maddesi oleuropeinin, hipoglisemik etki gösterdiği ve yüksek kan şekeri seviyesinde düşüşe neden olduğu bildirilmektedir (49, 50, 109).

Antioksidanlar, serbest radikaller denilen vücudumuzdaki zararlı maddeleri etkisiz hale getirmeleri ve hücrenin tahrip edilmesini engellemeleri bakımından son derece önemli maddelerdir. Aslında organizmamız, doğuştan elde ettiği antioksidan enzimleri sayesinde, kendi kendini koruyabilecek durumdadır. Ancak bu servet tükenmez değildir. Bu nedenle bedenin, dışarıdan antioksidan özelliği olan kimyasalları içeren besin maddeleri ile desteklenmesinin ve bu maksatla kullanılabilir nitelikli antioksidanlardan polifenollerin önemi araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (100). Zeytin, zeytin yağı ve zeytin yaprağı ekstratı içerisinde bulunan polifenoller hücrelerin oksidasyonuna direnç gösterdiği ve yaşlanmayı geciktirdiği kanıtlanmıştır (49, 100, 109).

Bu çalışmada, streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş ve metformin-insülin ile diyabet tedavisi gören ratlarda, oleuropeinin hiperglisemi, oksidan-antioksidan düzeyleri üzerine etkilerini araştırmak amaçlanmıştır.

Bu tez konusunun belirlenmesinde ve tezin yürütülmesinde bana her zaman yön ve destek veren, danışman hocam Doç.Dr. Nadide Nabil KAMILOĞLU'na, çalışmamın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Prof.Dr. Ebru BARDAŞ BEYTUT'a, laboratuvar çalışmalarına verdiği destekler için Doç.Dr. Onur ATAKİŞİ'ye, çalışmam süresince ilgi ve yardımlarını esirgemeyen Yrd.Doç. Oğuz MERHAN'a, Evren KOÇ'a , Hamit USLU'ya, Gözde ATİLA' ya, Yeliz KOLAY'a, ve eğitimim boyunca maddi-manevi desteklerini esirgemeyen babam Dursun DAĞDELEN'e ve annem Gülsade DAĞDELEN'e sonsuz teşekkür ederim.

1. GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER

1.1. Diyabetin Tarihçesi

Diyabet hastalığı antik çağlardan beri ciddi bir sağlık problemi olarak fark edilmiştir. Eski kayıtlar Milattan önce (M.Ö.) 1550'li yıllarda Mısır'da yazılmış bir papirüste bulunmuştur. Bu papirüste, Diyabet hastalığına benzer, çok idrara çıkma ile seyreden bir durumdan bahsedilmektedir. Çin literatüründe de idrar yoluyla kaybolan şekerden bahsedilmektedir (83). Hindular da Ayur Veda'da böcek, sinek ve karıncaların bazı insanların idrarının yapıldığı yere toplandığını kaydetmişlerdir. Günümüzde tıp literatüründe kullanılan, Diabetes ve Mellitus kelimeleri Yunanca akıp gitmek anlamına gelen dia+betes ve bal kadar tatlı anlamına gelen mellitus kelimelerinden türetilmiştir (1). Diabetes kelimesi ilk kez Anadolu topraklarında, Kapadokya'da M.S. 2. yüzyılda Arateus tarafından kullanılmıştır. Arateus şeker hastalığını idrar miktarında artma, aşırı susama ve kilo kaybının olduğu bir hastalık olarak tanımlamıştır (70). İbni Sina milattan sonra (M.S.) 1000'li yıllarda şeker hastalığının herediter karakterini, damar komplikasyonlarını ve idrarının bal tadında olduğunu söyleyerek şeker hastalığını günümüz tanımlamasına yakın bir şekilde tarif etmiştir. 1674'te Th. Willis idrarda şeker varlığını göstermiştir. 1860 da Langerhans pankreasta hormon salgılayan adacıkları tarif etmiş, 1875 de Claud Bernard "diabetik fonksiyon" denen arka beyin fonksiyonu ile glikozüri oluşumunu ortaya koymuştur (12). Hastalığın pankreas ile ilgisi 1889 yılında Minkowski'nin pankreatektomi yaptığı bir köpeğin diyabetik oluşu ile anlaşılmıştır. 1908 G.L. Zuelzer'in pankreas ekstresi ile diyabet tedavisi ve 1918 yılında Romanya'dan J. Paulesco'nun pankreas ekstreleri ile diyabet tedavisine ait çalışmaları diyabete yeni yönler kazandırmıştır. 1921'de Toronto'da Banting ve Best'in insülini bulmalarıyla hastalığın patogenezinin aydınlatılmasında çok önemli bir çağ başlamıştır (12, 21).

1.2. Diyabetin Sınıflandırılması

Diyabetes mellitus çok geniş bir spektrumunu içine alan ve birçok değişik tipi olan metabolik bir sendromdur (106, 117). Bu tiplerin oluşmasında genetik, çevresel faktörler ve hayat tarzının rolü vardır. Diyabetin etiyojisi ve patogenezinin giderek daha iyi anlaşılmasıyla, hastalığın sınıflanması da sürekli yenilenmektedir. Diyabetin tüm tiplerinde temel özellik hiperglisemi olmakla birlikte, hiperglisemiye neden olan fizyopatolojik mekanizma farklıdır. Hastalığın gelişmesinde ana neden pankreatik beta-hücrelerinden, insülin salgılanma fonksiyonundaki bozukluktur. Diyabetin bazı formlarında mutlak insülin eksikliği veya bozuk insülin salgılanmasına neden olan genetik bir kusur varken, diğer bazı tiplerinde temel özellik insüline karşı bir direnç olmasıdır (78, 81). 1875 de A.Bouchardat diyabeti, diabete maigre (zayıf diyabet), diabete gras (şişman diyabet) diye sınıflarken, 1910 yıllarında “Juvenil Onset-Genç” ve “Maturity Onset- Eriskin” diyabet diye başlangıç yaşına göre bir sınıflama yapılmıştır. 1936 da Himsword insülin tedavisine cevaplarına göre “Insulin Resistant” ve “Insulin Sensitive” diye bir ayırım tarif etmiştir. 1976 da A.Gudworth Tip I ve Tip II olarak isimlendirmenin daha uygun olacağını ileri sürmüş fakat Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) bu kadar çeşitli sınıflama kavramların anlaşmazlıklara neden olacağını düşünerek 1980 yılında Dünya Diyabet Federasyonu (IDF) ile birlikte oluşturduğu uzman komitesince şeker hastalığının sınıflamasını şu şekilde yapmış ve bütün dünya ülkelerine bildirmiştir (12).

Diyabetes Mellitusda DSÖ Sınıflaması

A-Klinik Sınıflama

I-Diyabetes Mellitus (DM)

- 1- Tip 1, İnsülin gereksinmesi olan diyabet (IDDM)
- 2- Tip 2, İnsülin gereksinmesi olmayan diyabet (NIDDM)
 - a) Şişman olmayan
 - b) Şişman
- 3- Malnütrisyon Diyabeti
- 4- Gebelik Diyabeti (gestasyonel diyabet)
- 5- Diğer tip diyabetler (Pankreatit, Cushing, Akromegali seyrinde veya iyatrojenik bir nedene bağlı, genetik bazı sendromlarla beraber olan diyabet, insülin reseptör anomalileri ile olan diyabet).

II- Glukoz Tolerans Bozukluğu (IGT)

- a) Şişman olmayan
- b) Şişman

B- İstatistiksel Risk Grupları

- Glukoz toleransı daha önce bozuk olanlar
- Glukoz toleransında potansiyel bozukluk olanlar

Günümüzde DM sınıflaması, önceki diyabet sınıflamalarından bazı farklılıklar gösterir. Birincisi, insülin bağımlı diyabetes mellitus (IDDM) ve insülin bağımlı olmayan diyabetes mellitus (NIDDM) terimlerinin kullanımı artık önerilmemektedir. Bu terimler Tip 1 diyabetli hastalarda mutlak insülin ihtiyacı olması, buna karşılık Tip 2 diyabetlilerde buna gerek olmayışı esasına dayanılarak kullanılmaktaydı. Ancak, birçok Tip 2 DM'li hastada glisemiye kontrol altına almak için eninde sonunda insülin kullanmak gerektiğinden, insüline bağımlı olmayan kavramı sorun oluşturmaktadır (78). Yeni sınıflamada ikinci bir farklılık, hasta yaşının artık sınıflamada bir ölçüt olarak kullanılmamasıdır. Her ne kadar Tip 1 diyabet

çoğunlukla 30 yaşın altında ortaya çıkarsa da, otoimmün beta hücre harabiyeti herhangi bir yaşta oluşabilmektedir. Aslında, 30 yaşından sonra diyabet gelişen hastaların %5-10'unda Tip 1 diyabet bulunduğu tahmin edilmektedir. Benzer şekilde, Tip 2 diyabet genellikle ileri yaşta ortaya çıkmakla birlikte, özellikle obezlerde olmak üzere, çocukluk döneminde oluşabilmektedir. Bu nedenlerle, 1997 IDF Kongresinde DSÖ ve Amerikan Diyabet Birliği (ADA) yeni bir sınıflandırma önermişlerdir (12).

Dünya sağlık örgütüne göre sınıflama şöyledir ;

A- Primer Diyabetes Mellitus

- 1. İnsüline Bağımlı Diyabetes Mellitus (Tip 1 DM)**
- 2. İnsüline Bağımlı Olmayan DM (Tip 2 DM)**
 - a. Metabolik Sendrom**
 - b. MODY (Gençlerin erişkin tip diyabeti)**
 - c. LADA (Erişkinin latent otoimmün diyabeti)**
 - d. Malnutrisyonla ilişkili DM**
 - Fibrokalküloz pankreatopati
 - Protein yetersizliğine bağlı DM

B- Sekonder DM

C- Gestasyonel DM

D- Bozulmuş Glukoz Toleransı

E- Sınıflandırılmayanlar

Diyabetteki kronik hipergliseminin çeşitli organların uzun dönemde hasar görmesi, fonksiyon kaybı ve yetersizlik gelişmesiyle ilişkili olduğu bildirilmektedir. Diyabete oluşum nedenlerinin çok çeşitli olması sebebiyle, ADA daha çok etiyolojik ağırlıklı bir sınıflandırma yapmış ve terminolojide bazı değişiklikler önermiştir (98). DM'nin etiyolojik sınıflaması;

Diyabetes mellitusun etiyolojik sınıflaması (7, 98)

I. Tip 1 Diyabet

- A. İmmun aracılıklı
- B. İdiyopatik

II. Tip 2 Diyabet

III. Diğer Spesifik Tipler

- A. β -hücre işlevinin genetik defekti
- B. İnsülin etkisinde genetik defekti
- C. Ekzokrin pankreas hastalıkları
 - a) Pankreatit
 - b) Pankreatektomi
- D. Endokrin hastalıklar
 - a) Cushing Sendromu
 - b) Akromegali
- E. İlaçlar veya kimyasallar
- F. İnfeksiyonlar
- G. İmmun aracılıklı diyabetin nadir formları
- H. Diyabetle ilişkili diğer genetik hastalıklar
 - a) Down Sendromu
 - b) Klienfelter Sendromu
 - c) Turner Sendromu

IV. Gestasyonel Diyabetes Mellitus

Dünya’da 2000 yılında 151 milyon, Türkiye’de Türkiye Diyabet Epidemiyoli Çalışma Grubu’nun (TÜRDEP) yaptığı çalışma ile 2.6 milyon diyabetli olduğu rapor edilmiştir (85).

1.2.1. Tip-1 Diyabetes Mellitus

Diyabetin İnsüline bağımlı (IDDM) veya genç tipi (juvenile onset) diyabet olarak bildirilen formudur. Bu tip diyabet, total veya kısmi insülin yetmezliği olarak da tanımlanmaktadır. Tüm diyabet vakalarının yaklaşık % 7-10 kadarını kapsar ve yaşamın her döneminde görülebilir. Ağırıklı olarak 30 yaşın altında ortaya çıkar, 10-15 yaş grubunda görülme oranı daha yüksektir. Hastalığın ilk döneminden itibaren, insülin azlığı veya yokluğu ile kendini gösterir (78). Polidipsi, poliüre, zayıflama ve ketoasidoz gibi klasik diyabet semptomları gösterir. Hiperglisemi ve ketoasidoz oluşumunu engellemek için insülin tedavisine gereksinim gösteren diyabet tipidir. Bu tipte pankreasın insülin salgılayan β hücrelerinin virütik enfeksiyonlar veya otoimmünitedeki değişimlerden dolayı tahrip olduğu gösterilmiştir (11, 57).

1.2.2. Tip-2 Diyabetes Mellitus

İnsüline bağımlı olmayan (NIDDM) veya erişkin tipi (Maturity onset) diyabet olarak anlatılmaktadır. Bu tip diyabetin obezite ve kalıtımla ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu hastalıkların başlıca karakteristikleri; insülinin sentez, salgı ve depolanmasında bir bozukluk olmadığı halde periferik dokularda insüline karşı rezistans söz konusu olmasıdır. İnsülin rezistansı; hedef hücrelerde insülin reseptör sayısının azalması veya hücre içinde postreseptör düzeyde insülin etkinliğinin azalması ile direnç gelişmesi ile tanımlanabilir (11). Tip 2 diyabet, diyabet olgularının %90'ından fazlasını oluşturan metabolik bir hastalıktır. Glukoza cevaptaki zayıflık reseptör bozukluğuna bağlı olarak glukozu tanıma veya algılamadaki bozukluktan kaynaklanmaktadır. Diğer taraftan insülin direnci sonucu gelişen hiperglisemi hastalığın patojenik tablosunu ortaya koyar. Tip 2 diyabet çoğunlukla belirtisiz ve bulgusuz uzun yıllar tanı konmadan süre gelmekte ve bu süre içerisinde metabolik bozukluklar değişik dokuları yıpratmaktadır. Bu nedenle Tip 2 diyabetin erken tanısının konması maksadıyla yapılan bozulmuş açlık glukozu ve glukoz tolerans bozukluğunu belirleme testleri son derece önem taşımaktadır (78).

Yapılan araştırmalar Tip 2 diyabet hastalarının yaklaşık %80'inde orta derecede bir obezite bulgusu saptanmıştır. Bu neden ile obezliğin insülin reseptör miktarını azaltarak Tip 2 diyabet formunun oluşumunda ana risk faktörü olarak rol oynadığı düşünölmektedir. Bununla birlikte Tip 2 diyabetin birçok formunun oluşumunda kalıtsal etkilerden de bahsedilmektedir.

Tip 2 diyabetin oluşumundan genel olarak 3 faktör sorumlu tutulmaktadır. Bunlar;

- A. İnsülin Direnci
- B. Bozulmuş İnsülin Salgılanması
- C. Bozulmuş Glukoz Toleransı

A. İnsülin Direnci

İnsülin direnci, vücuttaki dokuların insülin etkisine karşı duyarlılıklarında azalma olması durumudur. Obezite, dislipidemi ve hipertansiyon ile güçlü bir şekilde ilişkilidir (46). İnsülin direnci prereseptör (anormal insülin ya da anti-insülin antikoları), reseptör (azalmış reseptör sayısı ya da insülin bağlanmasında azalma) ya da postreseptör (anormal sinyal iletimi) düzeyinde olabilir. Kombinasyonlar da olasıdır. Bazı insülin direnci formlarında moleküler bozukluğın doğası bilinmekle birlikte çoğunda tanımlanamamıştır (46, 88). Şişman nondiyabetik hastalar ve NIDDM'li (insülin bağımsız diyabet) hastalar insülin etkisine rezistansı düşöndüren, dolaşımdaki normal insülin düzeylerine azalmış biyolojik cevabı göstermektedirler. Rezistansı oluşturan iki mekanizma, reseptör down regölasyonundan dolayı reseptör sayısındaki azalma ve henüz açıkça anlaşılamamış olan reseptör sonrası anomalilerdir. İnsülin rezistansına sahip birçok insanda hastalık gelişmemesi β hücre disfonksiyonunun diyabet gelişiminde kritik bir role sahip olduğunu düşöndürmektedir (25, 57, 88).

B. Bozulmuş İnsülin Salgılanması

Yetersiz insülin sekresyonu NIDDM gelişmesinde önemlidir. Çünkü sağlıklı β - hücreleri insülin rezistansını kompanse edebilirler. Major defekt glukoza bağlı insülin salınımının kaybı ve arjinine bağlı insülin salınma fonksiyonundaki kayıptır. β hücre defektinin primer veya insülin rezistansına sekonder olup olmadığı bilinmemektedir (57). Şişman erişkinlerde; insülin rezistansı, açlık ve postprandial (yemek sonrası) insülin konsantrasyonlarında artma ve insülin reseptörlerinin sayısında azalma sıklıkla görülmektedir. İnsülin reseptör sayısındaki azalmanın, reseptörlerde down regülasyon oluşturan insülin seviye artışı nedeniyle olduğu düşünülmektedir. Kilo kaybı ve egzersiz bu anormalliklerin hepsini tersine çevirebilmektedir (57).

Bu hastalıkta genetik faktörler de güçlü bir role sahiptir. Monozigotik ikizlerden birinde diyabet görüldüğü takdirde % 90 oranında diğer kardeşte de diyabete rastlanılmaktadır. Bununla beraber NIDDM'nin HLA ile zayıf bir ilişkisinin olduğu tespit edilmiştir. NIDDM'nin patogenezi tam olarak bilinmemektedir. Etiyolojisi muhtemelen multifaktöriyel gibi gözükmemektedir ve tek bir nedenin gösterilmesi zordur (25, 88).

C. Bozulmuş Glukoz Toleransı

Bozulmuş toleranslı kişilerin plazma glukoz konsantrasyonları normal değerler ile diyabet için tanı koydurucu olan değerler arasında seyrederek. Bu gibi bireylerin plazma glukoz konsantrasyonları belli bir zaman periyodundan sonra aşikar diyabete doğru ilerler. Ancak büyük bir kısmında aynı kalır. Bazılarında ise glukoz konsantrasyonları normale döner (57, 88).

Bozulmuş glukoz toleransı sadece oral glukoz tolerans testi (OGTT) ile belirlenir. Bozulmuş glukoz toleransı, OGTT'de 2. saatteki plazma glukoz konsantrasyonunun 126-200 mg/dL (7-11,1 mmol/L) arasında olmasıyla belirlenir (25, 88).

1.2.3. Malnutrisyonla İlişkili Diyabetes Mellitus

Bu klinik alt grup tropikal ve gelişmekte olan ülkelerde genç erişkinler arasında görülür. Farklı klinik özellikleri, seyri ve belli bölgelerde çok fazla sayıda vakaların olması sınıflandırmada diyabete ayrı bir sınıfın girmesine yol açmıştır (25, 57).

Klinik çalışmalar bu alt grup için en az 2 alt sınıfı öne sürmektedir:

A. Fibrocalculous pankreatik diyabet

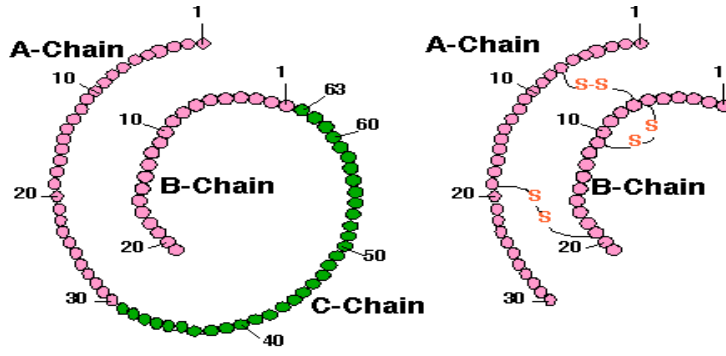
B. Protein yetersiz pankreatik diyabet

1.2.4. Gestasyonel Diyabet

Gestasyonel diyabet, hamilelerin yaklaşık % 2'sinde olur. Eğer bu durum belirlenmezse perinatal morbidite ve mortalite riski artar. Daha önemlisi bu gibi hastaların sonraki yıllarda diyabetin gelişimi için artmış riske sahip oldukları bilinmektedir. Gestasyonel diyabetli kişilerin doğumdan sonra glukoz düzeyleri genellikle normale döner veya bozulmuş glukoz toleransına sahip olurlar ya da diyabet oluşur (25, 57).

1.3. İnsülin Sentez ve Salınımı

İnsülin'in 1920'lerde bulunuşu, diyabet tedavisinde bir kilometre taşı olmuş ve o tarihten beri bu alanda kullanılabilecek ve insülinin yerini tutabilecek daha iyi bir tedavi aracı ortaya çıkmamıştır. İlk yıllarda hayvan pankreaslarından direkt ekstraksiyon yoluyla elde edilen insülin son 10 yılda rekombinant DNA teknolojisiyle *Escherischia coli* ve ekmek mayası gibi kolay üreyen mikroorganizmaların genetik materyaline insan insülinini kodlayan genlerin sokulmasıyla daha bol, ucuz ve saf olarak üretilmekteyse de insülin halen pahalı bir tedavi aracıdır (12).



Şekil 1. İnsülin'in yapısı

1921 yılında Banting ve Best tarafından insülinin pankreastan ekstre edilmesi ve 1922 yılında diyabetik ketoasidoz komasında olan Leonard Thompson isimli bir hastaya verilmesi ile ilk defa diyabet tedavisinde kullanılması çok önemli bir keşif olarak dünya tarihinde yerini almıştır (78). İnsülin, pankreasın Langerhans adacıkları hücreleri tarafından üretilen, iki sülfid bağıyla (disülfid bağı) birleşmiş A ve B polipeptid zincirinden oluşan 51 aminoasitlik bir proteindir (25, 105). İnsülin, pankreasta inaktif tek zincirli preproinsülin şeklinde sentezlenir. Preproinsülinin amino ucunda bulunan “sinyal dizisi” preproinsülinin salgı veziküllerine geçişini yönlendirir. Sinyal dizisinin proteolitik olarak uzaklaştırılması ve üç disülfid bağına oluşumuyla proinsülin meydana gelir ve pankreatik hücrelerdeki salgı granüllerinde depolanır. Artmış kan glukozu insülin salgılanmasını tetiklediği zaman, proinsülin özgül proteazlarla aktif insüline dönüştürülür. Proteazlar olgun insülin molekülünü oluşturmak için iki peptid bağına parçalar. İnsülin karaciğerde ve az miktarda böbreklerde bulunan insülinaz enzimi ile yıkılır. İnsülinin plazma yarı ömrü yaklaşık 6 dakikadır. Bu kısa etki süresi, hormonun dolaşımdaki düzeylerinde hızlı değişikliklere olanak sağlar (104). Tüm doku hücrelerinin plazma zarlarında insülin reseptörleri bulunur. İnsülin reseptörü, birbirine eş iki alfa zinciri ve yine birbirine eş iki beta zincirinden oluşan bir heterotetramer protein şeklindedir. Alfa zincirleri birbirlerine disülfid molekülleri ile bağlanmıştır. Her alfa zinciri de birer beta zincirine disülfid molekülleri ile bağlıdır; yalnız beta zincirleri plazma zarına bağlı ve bir bölümü sitoplazma içerisindedir. İnsülin, hücre içerisine girmeden alfa zincirlerine bağlanınca, beta zincirlerinin hücre sitoplazmasına ulaşan kısımlarındaki

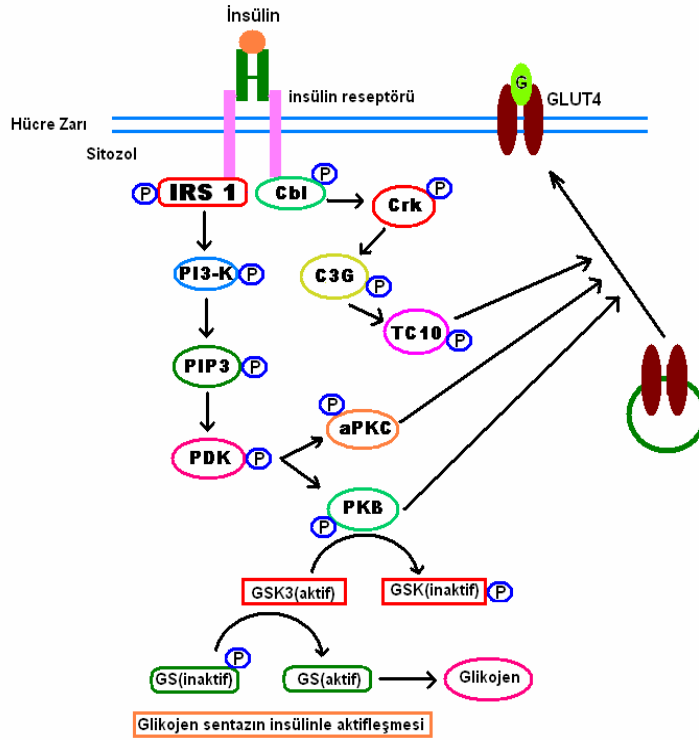
tirozin moleküllerinin bazılarına bağlı fosfat moleküllerinin yer değiştirmesi (trans otoposforilasyon) sonucu reseptörün 'kinaz' görevi uyarılır. Bu özelliğinden ötürü insülin reseptörü 'reseptör tirozin kinaz' sınıfı bir molekül sayılır. İnsülinin bağlanması ile uyarılan reseptör, hücre içerisinde bulunan bir takım proteinlerdeki tirozinlere fosfat bağlanmasına yol açar (78). İnsülin hücre içerisindeki etkilerini oluşturmak için dört önemli proteindeki tirozin fosforilasyon olayını kullanır (38, 78). Bu dört kilit protein şunlardır:

- 1) İnsülin reseptör substrat proteinleri IRS1, IRS2, IRS3 ve IRS4,
- 2) Cbl (Casitas B-lineage lymphoma docking, transcription protein),
- 3) Gab1 (Grb2-associated binding protein 1),
- 4) Shc (Src homology-2 domain-containing protein).

Tirozin fosforilasyon olayı ile uyarılan bu proteinler, Src homolog 2 (SH2) molekülleri taşıyan başka özel proteinlerle bağlantı kurup onların tirozin fosforilasyonuna yol açar ve insülinin etkisinin ortaya çıkmasını sağlarlar. İnsülin etkisini bu proteinleri kullanarak 2 farklı yolda oluşturur. Bu önemli yollardan biri, insülinin glukoz metabolizması üzerindeki etkilerini oluşturan yol; diğeri ise MAP kinazın uyarılması ile gerçekleşen yoldur (23, 78).

Metabolik yol; insülinin bağlanması ile uyarılan reseptörün, IRS proteinleri ile ilişki kuran 'fosfoinozitol 3 kinaz (PI₃-K)' proteinini uyarması ile gerçekleşen olayları içermektedir. PI₃-K, hücre zarında bulunan fosfoinozitid lipidlere daha fazla fosfat bağlanmasını sağlayarak, 'fosfotidil inozitol 3,4,5 bifosfat (PIP₃)' gelişmesine yol açar. PIP₃, 'protein kinase B' veya Akt olarak tanınan (Akt/PKB) bir kinazı ve protein kinaz C isoformlarından oluşan bir protein kinaz zincirini uyarır. Akt/PKB ve aPKC, glukozun metabolizması, glikojen sentezi, lipid sentezi ve protein sentezi ile sonuçlanan insülin etkilerini geliştirir ve bu mekanizmalarla ilgili genlerin uyarılmasına yol açar. Bu yönün karaciğer dokusu içerisindeki etkisi, glukozun

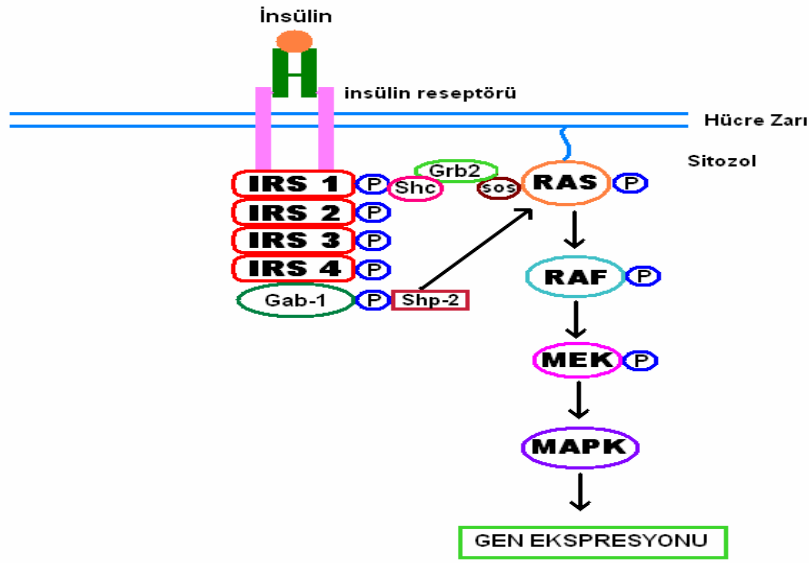
glikojene çevrilerek depolanması, glikojenolizin ve glukoneojenezisin engellenmesi ve sonuçta glukozun kana karışmasının azalmasıdır (Şekil 1.1.) (104). Diğer yandan yine, IRS yönünde uyarılan Akt/PKB ve aPKC ve Cbl yönünde uyarılan proteinler, birlikte GLUT4'ü (glukoz taşıyıcısı) hücre içerisinden hücre zarına taşıyarak GLUT4'ün glukozu hücre dışından hücre içerisine taşımalarını sağlarlar (Şekil 1.2.) (78, 82).



Şekil 1.1. İnsülinin glukoz metabolizması üzerindeki etki zincirleri. [**IRS1**: İnsülin reseptör substrat, **PI3-K**: Fosfoinositol 3 kinaz, **PIP3**: Fosfotidil inositol 3, 4,5 bifosfat, **PDK**: Protein bağımlı kinaz, **PKB**: Protein kinaz B, **PKC**: Protein kinaz C, **GSK**: Glikojen sentaz kinaz, **GS**: Glikojen sentaz, : Casitas B-lineage lymphoma docking, transkripsiyon protein, **GLUT4**: Glukoz taşıyıcısı]

Diğer yol olan MAP kinazın uyarıldığı yol; yine insülinin bağlanması ile uyarılan reseptörün, IRS proteinleri ile ilişki kuran Gab1 ve Shc yönlerini içermektedir. Aktifleşen IRS'ler Gab-1 ve Grb2 (growth factor receptor-bound protein 2)

proteinlerinin aktifleşmesini sağlarlar. Aktifleşen Gab-1 proteini, Shp-2 (SH2-bölgesi taşıyan protein) aracılığı ile; Grb2 proteini ise SOS aracılığı ile RAS'ı aktifleştirirler. Aktifleşen RAS (protooncogene G-binding protein); RAF, MEK (MAP/Erk kinase), MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) yollarını kullanarak metabolizma ile ilgili olan genlerin uyarılmasına böylelikle değişik dokularda bir takım proteinlerin bileşimine yol açarlar (Şekil 1.2.) (78, 118).

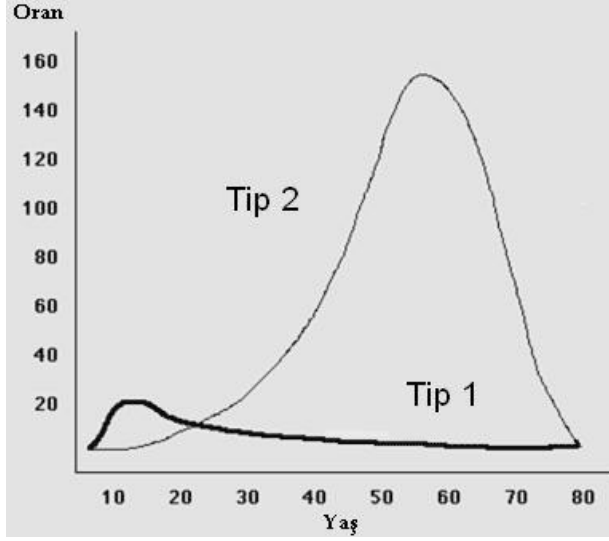


Şekil 1.2. İnsülin hormonunun, protein sentezini uyaran moleküler mekanizmaları [IRS: İnsülin reseptör substrat, Gab-1: Grb2-associated binding protein 1, Shp-2: SH2-bölgesi taşıyan protein, Grb2: Growth factor receptor-bound protein 2, Shc: Src homology-2 domaincontaining protein, RAS: Protooncogene G-binding protein, MAPK: Mitogen-Activated Protein Kinase, MEK: MAP/Erk kinaz]

Sonuç olarak, karbonhidrat metabolizması ve beslenme homeostazında insülin en etkin olan önemli bir hormondur. Bunun salgılanması ve hedef organların buna cevabı ve cevabın algılanmasındaki bozukluklar diyabetik durumu ortaya çıkarmaktadır. Yine zıt yönde düzenleyici etkisi olan hormonlarda görülen bir takım aksaklıklar sekonder olarak etki yapıp, metabolik bozukluğun oluşumunu hazırlar ve hızlandırır (12).

1.4. Diyabetin Tanısı ve Tanı Kriterleri

Tip 2 DM; diyabetlilerin yaklaşık %90-95'ini oluşturan daha önceden insülin bağımlı olmayan diyabet ya da erişkin tip diyabet de denen, insülin direnci ve genellikle rölatif insülin yetmezliği olan hastaları tarifler (4).



Şekil 1.2. Diyabetin Yaş Gruplarına Göre Dağılımı (102)

Tip-II DM “obez” olarak ve “nonobez” olarak alt gruplara ayrılır, bu ayrılık muhtemelen etiyolojik mekanizmalardaki altta yatan farklılıkları yansıtır. Obezlerdeki glukoz intoleransında, insülinin etkisine doku rezistansı daha önemli rol oynarken; obez olmayanlarda insülin sekresyonundaki bozukluk daha belirgindir. Ancak iki mekanizma da aslında bu iki alt grupta mevcuttur (60).

Tip-II DM Patogenezi

Normal glukoz dengesi, insüline karşı olan doku duyarlılığı ile insülin sekresyonu arasındaki iyi dengelenmiş dinamik ilişkiye bağlıdır. Ciddi IR (insülin rezistansı) durumlarında bile, normal bir pankreas beta-hücresi, insülinin etkisindeki defektleri kapatacak kadar yeterli insülin miktarını salgılayabilir. Yani, tip-II DM gelişimi için

hem insülin salınımı hemde insülin etkilerinde defekt olması şarttır. Ancak hangi bozukluğun primer olduğu tartışmalıdır (38, 82, 118).

1.4.1. Etiyopatogenez

Tip 2 diyabetik hastalarda iki tane patolojik defekt vardır. Bunlar anormal insülin sekresyonu ve insülinin hedef dokulardaki direncidir. Bunlardan hangisinin primer olduğu bilinmemektedir. Klinik süreçte genel olarak üç faz tanımlanır. Birinci fazda insülin direncine rağmen plazma glukozu halen normaldir. Çünkü insülin seviyesi artmıştır. İkinci fazda insülin direnci daha da kötüleşir, artmış insülin konsantrasyonuna rağmen postprandial hiperglisemi gelişir. Üçüncü fazda insülin direnci değişmez fakat insülin sekresyonu azalır, açlık hiperglisemisi ve aşikar diyabet ortaya çıkar. Üçüncü fazdaki insülin salınımındaki zamanla azalma altta yatan genetik defekte veya beta hücrelerindeki metabolik toksisiteye bağlı olabilir. Yüksek glikoz seviyesi (glukotoksisite) veya doku seviyesindeki artmış yağ asitleri (lipotoksisite) insülin sekresyonunu olumsuz etkiler (46). Tip 2 DM gelişme riski yaş, obesite ve fiziksel aktivitenin azlığı ile artar. Ayrıca, Tip 2 DM gelişiminde güçlü bir genetik predispozisyon vardır (4).

1.4.2. Tip 2 Diyabetes Mellitus Tanısı

Diyabetes Mellitus tanı kriterleri şu şekilde belirlenmiştir (5):

1. Açlık plazma glukozu 126 mg/dl (7.0 mmol/l) olması. Açlık en az 8 saatlik gece boyunca kalori alınmaması olarak tanımlanır.
2. Oral glukoz tolerans testi sırasında 2. saat plazma glukozu 200 mg/dl (11.1 mmol/l) olması. Test DSÖ tarafından tarif edildiği şekilde, 300 ml su içinde çözülmüş 75 gr anhidroz glukoz ile gece boyu açlık sonrası yapılır.
3. Diyabet semptomları ile birlikte herhangi bir andaki plazma glukoz konsantrasyonu 200 mg/dl (11.1 mmol/l) olması. Herhangi bir an, son yenen yemekten bağımsız olarak günün herhangi bir saati olarak tanımlanır. DM'un klasik semptomları poliüri, polidipsi ve açıklanamayan kilo kaybını içerir.

Bozulmuş açlık glukozu ise;

Açlık plazma glukozu 110 ve 125 mg/dl arasındadır.

Bozulmuş glukoz toleransında ise aşağıdaki 2 kriterle karşılaşılmalıdır;

A. Açlık plazma glukozu 126 mg/dl'den düşük

B. 2. saat OGTT plazma glukozu 140 ile 199 mg/dl arasında bulunması.

Tablo.1. DSÖ kriterlerine göre OGTT (Oral Glukoz Tolerans Testi) yorumu

Kan Glukoz Düzeyi mg/dl	Normal Glukoz Toleransı (NGT)	Bozulmuş Glukoz Toleransı (IGT)	Diyabetik (DM)
Açlık	< 110	< 140	≥ 140 **
2 saatlik	< 140	140 - 199	≥ 200

**Açlık kan glukoz düzeyi en az bir hafta ara ile iki kez 140 mg/dl veya üzerinde bulunursa diyabet tanısı kesinleşir, bu durumda OGTT yapılmalıdır (112).

1.5. Deneysel Hayvanlarında Diyabetin Oluşturulması

Deneysel hayvanlarında diyabetin oluşturulması amacıyla, alloxan, streptozotosin(STZ), 2,4-dinitrofenol diazoksit, siproheptadin gibi kimyasallardan yararlanılmaktadır (28, 29). Alloxan; 2,4,5,6-tetra oksidimidin yapısında bir siklik üre analogudur. Monohidrat formu sık kullanılır. Aktivite çalışmalarında diyabet oluşturmak amacıyla 40- 150 mg/kg dozlarda subkutan, intraperitoneal, intravenöz yolla verilir. Alloxan ile kronik diyabet oluştururken deneysel hayvanlarında hipoglisemiye bağlı ölümleri önlemek için alloxan verilmesinden 4-6 saat sonra glukoz çözeltisi verilir. Takip eden 24 saat boyunca glukoz çözeltisiyle beslenmesi

sağlanır. Kan glukoz konsantrasyonu değerleri 5-8. günlerde ölçülür 150 mg/dl ve üzeri diyabetik grup olarak kabul edilir (28, 29, 79). Alloksan, pH=3'ün altında normal koşullarda oda ısısında solüsyon içerisinde stabil, pH=7'de ise asit dönüşümü önlemek için 4°C'de saklanmalıdır. Seçici olarak pankreatik β hücrelerinde yıkıma neden olur ve uzun süreli diyabet oluşturur. Transporte olabilen şekerler alloksanı bloke edemez. Glukoz transportu ile ilgili bölgelere etkili olacağı düşünülür. Glukoreseptör bölgesinde etkili olabilir. İnorganik fosfatların mitokondrial transport sistemini inhibe eder. İntrasellüler pH düşer ve hücre ölümü görülür. Alloksan da STZ gibi proinsülin sentezini önlemektedir (28, 79).

Masiello ve ark. (1998), insan Tip II diyabete birçok yönden benzer olan yeni bir sıçan Tip 2 diyabet modeli tanımlamışlardır. Bu keşiften sonra, Nikotinamid+Streptozotzin'den oluşan bu yeni model, çalışmalarda sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır (28, 29, 79).

Deneysel diyabet modelleri şu şekilde sınıflandırılabilir;

Genetik Diyabetik Suslar

- Obez hiperglisemik-insülin rezistan ob/ob fare
- Spontan diyabetik BB/ Edinburg sıçan

Kimyasal

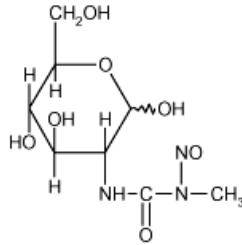
- Streptozotzin (STZ) (65 mg/ kg, iv, ip)
- Alloksan (100 mg/kg, iv)
- Neonatal STZ (65 mg/kg, i.p.)
- NA (Niacinamid, nikotinamid) (290 mg/kg) + STZ (60 mg/kg)

Cerrahi

- Total/ parsiyal pankreasın çıkarılması .

1.5.1. Streptozotosin

Katı halde yapısındaki glukoz molekülünün konumuna göre α ve β izomerlerinin karışımı şeklindedir. Katı halde stabil değildir ve dondurulmuş olarak saklanması gerekir, ışıktan korunmalıdır. Optimum stabilitesi için pH 4-4.5 olmalıdır. Streptozotosin pankreas β hücrelerine direk etkisiyle toksiktir. Yapısında bulunan bir glukoz molekülü sayesinde plazma membranındaki glukoz taşıyıcılarına bağlanır, molekül; nitrozoüre bölümünden ayrılır ve hücre içine girerek toksisite gösterir, glukozla uyarılan insülin salıverilmesini bloke eder (102, 105). Ancak pankreas β hücrelerine etkisi, daha çok intrasellülerdir. Streptozotosinin hücre içindeki temel etki yeri nükleer DNA'dır. Hücre içinde streptozotosin dekompozisyona uğrar, bu sırada oldukça reaktif karbonyum iyonları oluşur ve bu iyonlar DNA bazlarının alkilasyonuna neden olduğu için, olayı DNA tamir dönemi izler. Bu sırada çekirdek enzimi olan poli(ADP_{riboz}) sentetaz aşırı miktarda aktive olur. Bu enzimin hücresel aktivitesi sırasında NAD⁺ fazla kullanıldığından, hücredeki NAD⁺ depoları boşalır, NAD⁺ tükenmesi hücre ölümüne neden olur (33, 102, 103).



Şekil 1.3. Streptozotosin'in biyokimyasal yapısı

1.5.2. Deneysel Tip 1 ve Tip 2 Diyabet Modellerinin Oluşturulması

Deneysel maksatla diyabet oluşturmak için kullanılan birden fazla metot vardır. Streptozotosinin tek başına kullanılmasının dışında aşağıda gösterilen şekillerde de diyabet oluşturulmaktadır:

- Neonatal STZ (65 mg/kg, i.p.)
- NA (Niacinamid, nikotinamid) (290 mg/kg)+STZ (60 mg/kg)
- Pankreasın parsiyal olarak çıkarılması (79, 95).

STZ, ilk kez 1960 yılında *Streptomyces achramogenes* adlı bir mantardan elde edilmiş olup, antibiyotik olarak kullanılırken diyabetojenik özelliği ortaya çıkmıştır. 2-deoxy-D-glucose'un N-nitroso-N-methylurea türevi olan STZ'nin molekül ağırlığı 265, kapalı formülü $C_8H_{15}N_3O_7$ 'dir (33, 102, 103). STZ insülin salgılayan hücrelerine toksik etkisi nedeniyle diyabet modelleri oluşturmak amacıyla araştırmalarda kullanılan kimyasal bir ajan olarak değerlendirilmiştir. Diyabetojenik bir madde olduğundan STZ farklı dozlarda ve uygulama biçimlerinde kullanıldığında değişik diyabet modelleri oluşturulabilmektedir.

Tek doz streptozotozinin (STZ) (50-80 mg/kg) intraperitoneal veya intravenöz yolla uygulanmasıyla gerçekleştirilen diyabetin, 3 gün gibi kısa bir sürede diyabet oluşturmasına rağmen vasküler bozuklukların görülebilmesi için 2-12 hafta beklenilmesi gerekmektedir (41, 103).

1.6. DİYABET TEDAVİ YÖNTEMLERİ ve METFORMİN

Tip 2 diyabetes mellituslu hastalarda tedavi planlama sürecinde aşağıdaki durumlar göz önünde bulundurulmalıdır.

Başlangıçta bütün metabolik ve metabolik olmayan risk faktörleri değerlendirilmeli ve komplikasyonları araştırılmalıdır.

- 1- Hastalıkları düşük risk ve yüksek risk gruplarına ayırma faydalı olabilir.
- 2- Tüm hastalarda temel tedavi önlemleri alınmalıdır (eğitim, egzersiz, diyet ve izlem planı).
- 3- Yüksek riskli hastalarda hiperglisemi tedavisi yanında spesifik önlemlerde alınmalıdır (AKB ve lipid kontrolü).
- 4- Temel tedavi önlemleri (non-farmakolojik tedavi) ile uygun metabolik kontrol sağlanamazsa oral antidiyabetik ajanlara, insüline veya kombine tedaviye geçilmelidir.
- 5- Halen kullanılan tedavi rejimi ile uygun glisemik kontrol sağlanamazsa adım-adım diğer tedavi rejimlerine geçilmelidir.

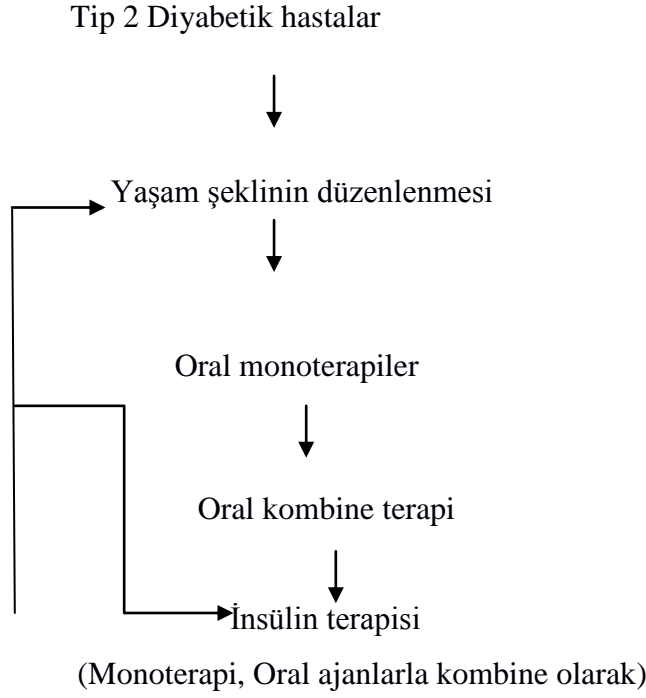
Diyabetes mellitus tedavisinde temel hedefler aşağıdaki biçimde olacak şekilde ayarlanmaktadır:

- AKŞ (Açlık Kan Şekeri) : 79-121 mg/dl
- 2 saatte PPPG (Post-prandiyal plazma glukoz) : 140-160 mg/dl
- HbA1c : < %7,5

Bu tedavi süreçlerindeki her adımda hastaya bireysel olarak yaklaşılmalı, tedavi hedeflerine ulaşılmada hastanın spesifik gereksinimleri ve yetenekleri göz önünde bulundurulmalıdır (91).

Tip 2 Diyabetes mellituslu hastaların tedavisi aşağıdaki anormallikleri kapsamalıdır;

- 1- Hiperglisemi
- 2- Obezite
- 3- Dislipidemi
- 4- Hipertansiyon
- 5-Diyabetin akut ve kronik komplikasyonları
- 6-Trombosit agregasyonu ve hiperkoagülabilite artış



Şekil 1.4. Diyabette genel tedavi stratejisi (91)

Tip 2 Diyabetes mellitus’da hiperglisemi tedavisi dört safhaya dayandırılabilir (Şekil 1.4).

1. Yaşam şeklinin düzenlenmesi.
2. Eğer yaşam şeklinin düzenlenmesi glisemik kontrolü sağlamada ve sürdürmede başarılı olamazsa oral monoterapiye geçilmelidir.
3. Eğer oral monoterapide başarılı olamazsa oral kombine tedavi uygulanmalıdır.
4. Oral kombine tedavide istenilen glisemik hedef elde edilemezse veya başlangıçta hiperglisemi şiddetli (>300 mg/dl) ise insüline geçilmelidir.

Yaşam şeklinin düzenlenmesinde diyet ve egzersiz başlangıç tedavi olarak 1-3 aya kadar ve daha sonra ilaç ya da insülin tedavisinin bir parçası olarak önem taşır (Şekil 4). Her hasta için besin tercihleri, yaşam şekli, fizik aktivite düzeyi, beden kitle indeksi (BKİ), glisemik kontrol, kan basıncı ve lipidler göz önüne alınarak kişisel diyet rejimi için plan yapılmalıdır. Oral antidiyabetik ajanlarla (OAD) tedavi, 1-3

aylık ya da uzun bir süre yaşam şeklinin düzenlenmesinden sonra glisemik kontrol sağlanamayan hastalara uygulanır (91).

Diyabetes mellitus tanısı konulmuş hastalarda kronik komplikasyon olarak oluşan hiper tansiyon ve dislipideminin tedavisi ve önlenmesi maksadıyla çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Kan basıncı hedef değerlerine ulaşabilmek için, genellikle iki ve daha fazla antihipertansif ilaç kullanımı ve yaşam biçimi ile davranış terapisi de önerilmektedir. Doymuş yağ ve kolesterol içeriği düşük diyet, kilo verme ve artmış fizik egzersizi içeren yaşam biçimi değişikliklerine odaklanan yaklaşımın, diyabetik hastalarda lipid profilini de iyileştireceği gösterilmiştir. Klinik kardiyovasküler hastalığı olan, düşük HDL kolesterol ve normale yakın LDL kolesterollü hastalara Fibrat verilerek, trigliseridlerin düşürülmesi ve HDL kolesterolün yükseltilmesi ile kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde bir azalma olduğu gösterilmiştir. Lipid hedeflerine ulaşabilmek için Statinlerle birlikte Fibratların ya da Niasinin kombinasyonunun kullanılabilceği bildirilmiştir. Akut MI, inme, geçici iskemik atak, bypass geçiren ve periferik damar hastalığı olan tip 2 diyabetik hastalara sekonder olarak korumak amacıyla, günlük 75-162 mg aspirin önerilmektedir.

Tıp 2 diyabetik hastalarda			
Diyet	Alkol Alımı Önerilmez, az miktarda alıma izin verilebilir	Fiziksel Egzersiz Şiddetli komplikasyonları olan hastalarda nisbi kontrendikasyon	Sigara Bütün hastalara bırakması önerilir
1-3 ay sonra glisemik kontrol			
Oral monoterapi			

Tablo 1.2. Diyabette yaşam şeklinin düzenlenmesi (91)

A. Tıbbi Beslenme Tedavisi ve Egzersiz

Her hasta, tedavi hedeflerine ulaşabilmek için, diyabette Tıbbi Beslenme Tedavisi(TBT) konusunda uzman olması tercih edilen bir diyetisyen tarafından hazırlanmış, bireyselleştirilmiş TBT almalıdır. Diyetle alınan karbonhidratın hem cinsi, hem de miktarı kan şekeri düzeyini etkilemektedir. Diyetle alınan toplam karbonhidrat miktarının izlenmesi, glisemik kontrolün sağlanmasında anahtar rolünü sürdürmektedir. Bunu sağlamak için, değişim tablolarının ya da karbonhidrat sayımının yanı sıra, "glisemik indeks/glisemik yük" oranının kullanımı da faydalı olabilir. Total karbonhidrat miktarı <130 mg/gün olan düşük karbonhidratlı diyetlerin diyabet tedavisinde kullanımı önerilmemektedir. Diyabetik ya da diyabet gelişme riski olan tüm obez bireylere kilo vermeleri önerilir. Kilo verilmesinde öncelikli yaklaşım, enerji alımının azaltılması ve fizik aktivitede artmayı içeren yaşam biçimi değişikliklerinin sağlanmasıdır. Fizik aktivite ile ilgili olarak başlangıçta yapılan öneriler, hastanın istekliliği göz önüne alınarak yapılmalıdır. Haftada üç gün yapılan orta tempoda yürüyüş(1 saat / gün) ya da koşu (30 dak/gün) ya da aerobik egzersiz (30-45 dakika/gün) aktivitelerinden birisine ulaşma hedefi aşama aşama gerçekleştirilmelidir (91).

B. Aşılar

Yaşı altı aydan büyük tüm diyabetik hastalara, her yıl bir kez olmak üzere grip aşısı yaptırılmaları istenmektedir. Tüm diyabetiklerin yaşamları boyunca bir kez olsun pnömokok aşısı yaptırılmaları önerilmektedir. 65 yaş ve üzerinde olup aşısının üzerinden 5 yıldan fazla geçen hastalara, nefrotik sendrom gelişen hastalara, kronik böbrek yetmezliği gelişenlere aşının yeniden yaptırılması uygun görülmektedir (91).

1.6.1. Diyabette Tedavi Maksadıyla Kullanılan İlaçlar

A. Sulfonilüreler

1950'li yıllarda beri kullanılan Tip 2 DM tedavisinin temel taşıını teşkil eden ilaç gruplarıdır. Oral Antidiyabetik Ajanlar(OAD) kullanan hastaların takriben %70-75 ni sulfonilüreler oluşturur. Bu grup ilaçlar pankreas beta hücrelerinden insülin sekresyonunu stimüle ederek etkinlik gösterirler (insülin sekretagogları). Sulfonilüreler genellikle iyi tolere edilir en sık görülen yan etkileri hipoglisemi ve kilo almadır. Obez hastalarda ilk tercih edilecek ilaç değildirler. Düşük dozda başlayarak en yüksek doza kadar çıkılmalıdır. Öğünlerden önce günde 2-3 kez kullanılmalıdır (27, 48, 73).

B. Metformin

Metformin tüm geçerli diyabet tedavi klavuzlarında ilk basamak tedavi ilacıdır. 1957'den beri diyabet tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. Glisemik kontrolden bağımsız makrovasküler komplikasyonları engelleyici özelliği vardır. Kontrendike olan durumlar dışında her diyabetik metformin kullanmalıdır. İnsülin duyarlılığını artıran güvenli bir ajandır. AKŞ'yi 78 mg/dl, A1c'yi %2 azaltmaktadır (86, 114). Kombinasyon tedavilerinde ilk tercih edilmesi gerektirir. İnsülin tedavisine metformin eklenmesi ile total insülin dozunda %36'luk azalma sağlamaktadır. Çok önemli bir özelliğide hiperlipidemiye önlemesidir. LDL ve VLDL kolesterol konsantrasyonu düşerken HDL konsantrasyonu yükselir (86).

Tablo 1.3. Metformin içeren ilaçlar ve mg olarak metformin içeriği.

İlaçlar	Glucophage Glukofen Matofin	Glifor Diaformin	Glukofen retard Gluformin retard
Metformin içeriği	500-850-1000 mg	850-1000 mg	850 mg

Metformin kullanımı bazen çeşitli yan etkilere sebep olmaktadır. Bunlardan başlıcaları, bulantı, karında huzursuzluk hissi, anoreksi, ishal, metalik tat hissi, B12 ve folik asit emiliminde azalma ve laktik asidoz gibi etkilerdir (yılda 1 kez B12 ölçümü yapılmalı). Bunların dışında renal fonksiyon bozukluğu, hepatik fonksiyon bozukluğu, kardivasküler kollaps, ketonemi ve ketonüri, periferik damar hastalığı gibi başka etkileride vardır.

Biguanid grubu ilaçlardandır. Sulfonilüer gibi uzun yıllardan beri kullanılmaktadır. Karaciğer ve iskelet kası ile adipoz doku gibi periferik dokunun insüline sensitivitesini arttırarak glisemik kontrolü düzenlerler. Böylece en önemli etkisi karaciğerden glukoz yapımının azaltılmasıdır. Genellikle iyi tolere edilmesine karşın yüksek dozlar mide-barsak sisteminde yan etkilere sebep olabilir. İnsülin rezistansını azaltarak açlık kan glukozu'nu ve HbA1c'yi düşürür. Hipoglisemiye genellikle neden olmaz. Metformin, kardiyovasküler olanlarda faydalı etkilere sahiptir. Kilo almayı önleyebilir ve böylece obez Tip 2 DM' lilerde ilk tercih edilecek ilaçtır. Hiperlipidemik hastalarda trigliserid ve LDL-K da azalmalara neden olarak lipid profilini düzeltebilir. Ayrıca PA1-1' i düşürdüğü ve fibrinolizisi arttırarak vasküler fonksiyonda iyileşme sağladığı gösterilmiştir.

C. Alfa-glukosidaz inhibitörleri (Akarboz)

Kompleks karbohidratların bağırsaktan absorpsiyonu geciktiren ilaçlardır. Enterositlerde bulunan alfa glukosidaz enzimlerinin kompetitif inhibitörleridir. Özellikle post-prandiyal hiperglisemide etkilidirler. Kompleks karbonhidratların parçalanmasını sağlayan enzimleri inhibe ettiklerinden glukoz emilmesinin etkilemezler. Genellikle hipoglisemi yapmazlar. Monoterapi olarak sulfonilürler ve metforminden daha az etkilidirler. En önemli yan etkileri gastrointeistinal sistem üzerinedir (şişkinlik, gaz, diyare gibi). Düşük dozla başlayıp 1-2 hafta aralarla arttırılmalıdır. Öğünlerle birlikte verilmelidir. Etkin dozları 300 mg/gün (max. 900 mg/gün) dır (27, 73).

D. Thiazolidinedionlar

Periferik dokularda insülin rezistansını azaltarak etkinlik gösterirler. İnsülin “Sensitizer” ismi de verilir. Bu grup ilaçlar nüklear reseptör olan “Peroksisome proliferator-activated reseptor (PPAR)’la bağlanarak etkinlik gösterirler. Bu grubun ilk prototip ilacı olan troglitazon ciddi hepatotoksisite ve ölümlere yol açması nedeniyle 2000 yılında klinik kullanımdan çekilmiştir. Bu grubun diğer ajanları olan rosiglitazon ve pioglitazon tedavide kullanılmaktadır. Bugüne kadar bu ajanlarla ilgili çok ciddi hepatotoksisite ve ölümler bildirilmemiş ise de potansiyel olarak hepatotoksisite yapabilecekleri göz önünde bulundurulmalıdır Bu ajanların serbest yağ asitlerini azalttığı, LDK-K’yı artırdığı, kilo almaya neden olabildiği, genellikle hipoglisemi yapmadığı, ödem yaptığı için kalp yetmezliğinde kullanılmaması gerektiği ileri sürülmektedir (27, 73).

E. Meglitidler (Glinidler)

Prandiyal gliseminin kontrolü için yeni ajanlar olarak ortaya çıkarılan repaglinid (benzoik asit türevi) ve nateglinid (fenilalanin türevi) sulfonilülere yapısında olmayan fakat sulfonilüre reseptörlerine bağlanarak aynı şekilde insülin sekresyonunu artıran ilaçlardır. Kısa etkili olmaları nedeniyle öğünler ve gece arasında daha az oranda hipoglisemi ortaya çıkabilir. Özellikle post-prandiyal hiperglisemide etkilidirler. Sulfonilüre gibi kilo almaya neden olabilirler. Nateglinid daha kısa etkilidir. Bu yeni ilaç grubu hem monoterapi de ve hem de metformin ile kombine olarak kullanılabilir. En uzun süreli tip 2 DM çalışması olan “The UK Prospective Diabetes Study”UKPDS’de tip 2 DM nin ilerleyici bir hastalık olduğu, 3 yıllık OAD monoterapisinden sonra hastaların %50 den daha fazlasında optimal glisemik kontrolün bozulduğu (HbA1c>%7) görülmüştür. Hem tip 2 DM’nin patogenezinde ilerlemeler ve hem de UKPDS sonuçları günümüzde her ne kadar tip 2 DM için ideal bir tedavi modeli olmasa da erken kombine tedavinin faydalı olduğu görüşü kabul edilmektedir (27, 48).

1.6.2. Diyabetes Mellitusun Kombine tedavisi

Tip 2 DM'li ve maksimum sulfonilüre dozuna rağmen glisemik kontrolün sağlanamadığı hastalara diğer Oral antidiabetik ajanlar (OAD) eklenmelidir. Bu maksatla çeşitli kombinasyonlar yapılır (27, 73). Başlıcaları şunlardır:

1. **Sulfonilüre + Metformin:** Bu kombinasyon tip 2 DM'nin patogenezi göz önünde tutulursa faydalı ve en sık kullanılan bir yöntemdir. Bu şekilde kullanımında belirgin kilo alma olmadığı gibi glisemik kontrolde düzelmektedir. Metformin+ Sulfonilüre kombine kullanımının dışında Metforminle başlayan başka kombinasyonlar da kullanılmaktadır. Bunlar, Metformin+Tiazolidinedion, Metformin+Meglitinid, Metformin+Alfa-glukosidaz inhibitörleri gibi kombinasyonlardır.
2. **Sulfonilüre + Tiazolidinedion:** Sulfonilüre ile birlikte rosiglitazon veya pioglitazon kullanan hastalarda sulfonilüre monoterapisine göre AKŞ de ortalama 25-45 mg/dl' lik, HbA1c' de %0,6-1,0 'lık bir azalma, HDL-K ve LDK-K ' da artma olduğu saptanmıştır.
3. **Sulfonilüre + Alfa-Glukosidaz İnhibitörü:** Sulfonilürelere akarboz eklendiğinde özellikle post prandiyal hiperglisemide belirgin azalma olduğu gösterilmiştir.

1.6.3. İnsülin Endikasyonları

İnsülinin endike olarak kullanıldığı durumlar için araştırmacılar çeşitli temel sebepler ortaya koymaktadır. Bu sebeplerden başlıcaları; Tip 1 DM ve LADA olguları, hiperglisemik aciller (DKA, HHD), diyet ile kontrol altına alınmayan GDM, bazı durumlarda tip 2 DM 'dir. Tip 2 DM'de, OAD ile iyi metabolik kontrol sağlanamayan durumlarda, aşırı kilo kaybında, ağır hiperglisemik semptomlarda, diyabetik komalarda insülin kullanımının gerekliliği bildirilmektedir.

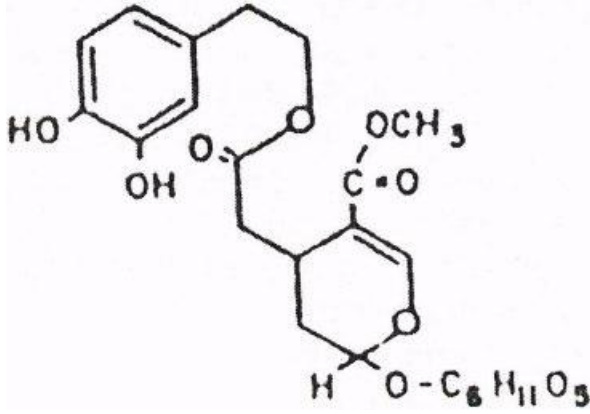
İnsülinin kullanımında doz ayarlaması pek çok şekilde yapılabilmekle birlikte yeni kullanılmaya başlanıldığında, tek başına bazal insülin kullanılıyorsa, 0.2-0,5 IU/kg/gün insülin dozu kabul edilebilir bir düzey sayılmaktadır (73).

1.7. Diyabet Mellitus ve Oksidatif Stres

Son yıllarda yapılan çalışmalar, artmış serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun, birçok hastalığın patogeneğinde rol aldığını göstermektedir. Miyokard enfarktüsü gibi kardiyolojik hastalıklar, nörolojik hastalıklar, astım, diyabetes mellitus, romatoid artrit gibi romatolojik hastalıklar, kanser ve yaşlanma dahil birçok hastalığın oksidatif stres ile ilişkisi gösterilmiştir (13). Diyabetes mellitus, günümüz insanının yaşam şartlarından dolayı tüm dünyada hızla yayılan, yüksek mortalite ve morbidite riski taşıyan bir hastalıktır. Yapılan çalışmalarda (7, 9, 13) deneysel olarak diyabet oluşturulan sıçanlarda ve diyabetik hastalarda serbest oksijen radikallerini ve lipid peroksidasyonun önemli derecede arttığı ve oksidatif stresin diyabet etiolojisinde ve ilerlemede rolü olduğu bildirilmiştir. Bunlara ilave olarak, uzamış oksidatif stresin ve antioksidan kapasitede görülen değişikliklerin, diyabetin kronik komplikasyonlarının ortaya çıkışı ile de ilişkili olabileceği araştırmacılar tarafından vurgulanmaktadır (3).

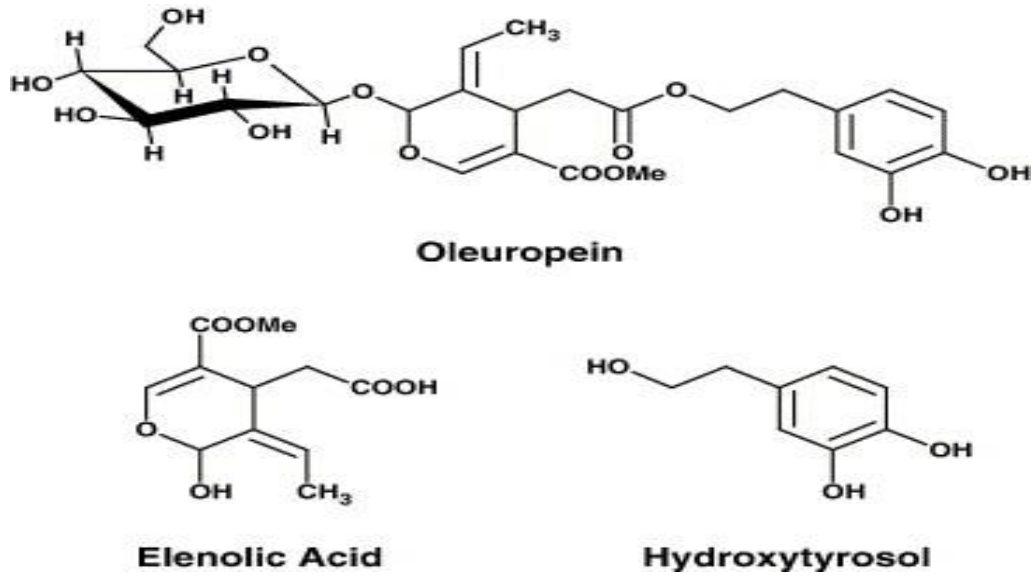
1.8. Oleuropein

Zeytin ağacı, bilimsel olarak *Olea europaea* şeklinde adlandırılır ve ürünleri fenolik içeriğinden dolayı sağlıklı beslenmenin önemli bir parçası olarak bilinir (97, 99). Ayrıca bu bitkinin, İspanya, İtalya, Fransa, Yunanistan, İsrail, Fas, Tunus, Türkiye gibi ülkelerde halk arasında diüretik, hipotansif, hipoglisemik ya da ateş düşürücü ilaç olarak kullanıldığı belirtilmiştir (32). Oleuropein ve oleacein, zeytin yaprak ekstraktında bulunan secoiridoid grubundan aktif birer bileşendir.



Şekil 1.5. Oleuropeinin yapısı (32)

Oleuropeinin hidrolizi üzerine, elenolik asit ve 3, 4-dihydroxy-phenylethanol (hydroxytyrosol) olarak isimlendirilen metabolitler oluşabilir. Oleuropein, geniş bir farmakolojik aralığa sahiptir ve anti-aritmik, spazmolitik, immun-uyarıcı, hipotensif ve antiinflamatuvar etkileri yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Önceleri, oleuropeinin diyabetik sıçanlarda antihiperглиsemik etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca, oleuropeinin antioksidan özelliğine ilişkin, diyabette oksidatif stresi hafifletmek gibi bazı yararlı özelliklerinin olduğu da bilinmektedir (32, 97).



Şekil 1.5.1. Oleuropein ve hidroliz ürünleri.

Meyve etinin bileşenleri (Tablo 1.4.), bir çeşitten diğer çeşide önemli şekilde değişiklik gösterir. Ayrıca, aynı çeşitte bile, kültürel uygulamalar, toprak karakteristikleri, iklimsel olaylar, hasat ve meyve olgunluk durumu gibi diğer bazı faktörler nedeniyle zeytinin kesin bileşimini vermek zordur (50).

Tablo 1.4. Zeytinin bazı fiziksel özellikleri.

Dane Ağırlığı	2-12 g.
Meyve Kabuğu	% 1,5 – 3.5
Çekirdek Oranı	% 13 - 30
Et Oranı	% 66 - 85

Zeytin meyvesinin temel bileşikleri şunlardır: Su, yağlı maddeler, basit şekerler, diğer karbonhidratlar, proteinler, pektinler, organik asitler, taninler, oleuropein, renk maddeleri, vitaminler, inorganik maddeler. Meyve etinin başlıca kısımları su ve yağdır. Genellikle aynı olgunluk derecesinde bunlar birbirleriyle ters orantılıdır. Yani bir çeşidin yağ içeriği yükseldikçe su içeriği düşmektedir. Meyve etinde bulunan başlıca şekerler glukoz, fruktoz ve sakkarozdur (16, 50). Çeşide göre heksozların dağılımı değişir. Mannitol ve polisakkaritler fermente olabilir maddeler olarak da önemli yer tutar (16, 2). (Tablo 1.4.1.)

Tablo 1.4.1. Zeytinin bileşimi (2)

Zeytinin Bileşimi	%
Su	50 - 70
Yağ	15 - 30
Protein	1 - 3
Lif	1 - 3
Kül	1 - 5
Şeker	2 - 6

Zeytin etinin bir diğer önemli maddesi de danelerde acılığı veren oleuropein olup; flavon glikozit madde özelliğinde bir bileşik olarak tanımlanır, iştah açıcı özelliği bulunmaktadır (97).

1.8.1. Diyabet ve Oleuropein

Diyabetes mellitus günümüz insanının yaşam şartlarından dolayı tüm dünyada hızla yayılan, yüksek mortalite ve morbidite riski taşıyan bir hastalıktır (55). Diyabetes mellitus, mutlak ya da bağıl insülin eksikliği ya da insülin direnci nedeniyle ortaya çıkan ve karbonhidrat, lipid ve protein metabolizması bozukluğu ile karakterize, endokrin ve metabolik bir hastalıktır. Diyabetes mellitus yaşam boyu sürekli izlem ve tedavi gerektiren, akut ve kronik komplikasyonları nedeniyle hastanın yaşam kalitesini düşüren kronik metabolik bir hastalıktır. Hastalığın seyri sırasında hipoglisemi, ketoasidoz, hiperglisemik hiperosmolar nonketotik koma gibi akut venefropati, nöropati ateroskleroz gibi kronik komplikasyonlar gelişmekte ve dünyada her yıl binlerce kişi diyabet komplikasyonlarından ölmektedir (96). Diyabetteki kronik hipergliseminin çeşitli organların uzun dönemde hasar görmesi, fonksiyon kaybı ve yetersizlik gelişmesiyle ilişkili olduğu bildirilmektedir.

Antioksidanlar, intraselluler ve ekstraselluler olmak üzere iki farklı ortamda bulunurlar. Oksidan hasara ilk yanıtı veren intraselluler enzimatik sistem olup bunlar bakır-çinko- superoksid dismutaz (CuZnSOD), glutatyon peroksidaz (GPX), katalaz (CAT) ve glutatyon redüktazdır (GR) (54, 55). Nonenzimatik glikolizasyon (NEG) ve oksidatif hasar biyolojik makro moleküllerde postsentetik modifikasyonlar ile uzun dönem komplikasyonlara neden olur. Burada özellikle uzun yarı ömürlü ekstrasellüler proteinlerin etkilendiği görülür. Bu proteinlerden zengin olan yapılardaki değişiklikler ile katarakt, ateroskleroz, nefropati gelişir(17). Alloxan (ALX) ve streptozosin (STZ) kimyasal diyabet yapıcı etkilerini serbest radikaller yoluyla gösterirler. Bu maddelerin diyabetojenik etkilerine karşı superoksid dismutaz (SOD)'nin koruyucu rol oynadığı gösterilmiştir (18, 113). Bazı araştırmalarda lipid peroksidasyonun diyabetik retinopatideki rolü saptanmıştır (17, 64).

Diyabetin (Diyabetes mellitus) tedavisi amacıyla tıbbi bitkilerin kullanımı Ebers papirüslerinden edinilen bilgilere göre M.Ö. 1550 yıllarına kadar gitmektedir (Pushparaj P, Tan CH). Dünyanın pek çok yerinde çeşitli bitkiler, diyabetin tedavisi için geleneksel yöntemlerle kullanılmaktadır. Kullanılan bu geleneksel bitki tedavilerinin bir kısmı bilimsel çevrelerce dikkate alınmakta ve WHO bu alandaki çalışmaları desteklemektedir (112). Modern tıpta diyabetin tedavisinde insülin ve oral antidiyabetikler kullanılsa da özellikle gelişmekte olan ülkelere bu ilaçların sağlanması, saklanması, uygulanması, ilaçların yan etkileri gibi nedenlerden dolayı alternatif olarak yeni, doğal veya sentetik antidiyabetik ilaç arayışlarına yönelim başlamıştır (72). Ülkemizde de çeşitli bölgelerde diyabet tedavisi için geleneksel bitki tedavilerine başvurulduğu bilinmektedir (22, 44).

Zeytin, başlıca oleuropein, verbaskosit, ligrosit ve flavonollerin glikozit türevleri ile flavonlar, antosiyaninler ve glikozitleri ve fenolik asitleri içermektedir (2). Fenolik bileşikler, zeytin kalitesini birçok yolla etkileyebilmektedir. Örneğin; oleuropein gibi bazı özel fenoller renk, tat ve lezzet gibi duyuşal özellikleri etkilemektedir. Zeytinin önemli acılık maddesi oleuropeindir. Zeytinde oluşun ve acılığa katkıda bulunan diğere fenolik bileşikler; glikozitler, salidroside, nuezhenid ve nuezhenid oleosidi ve

tirozol ve elenolik asit glikozit uçlarını içeren bileşenlerdir (49, 107). Aktan ve Kalkan (1999), farklı zeytin çeşitleri üzerinde yaptıkları çalışmalarla fenolik maddelerden bazılarının tek bir çeşitte bulunabileceğini ve bazı fenolik maddelerin miktarından da çeşide göre farklılıklar olduğunu göstermişlerdir. Zeytinin temel fenolik glikoziti olan oleuropeinin çeşide göre değiştiğini ve yağlık bir çeşit olan Ayvalık çeşidinde oleuropein miktarının diğer çeşitlere oranla daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Diyabette zeytin yağı, tekli doymamış yağ asitlerinin, kan şekerlerini düşürücü bir etkisinin olduğu, pek çok çalışmayla kanıtlanmıştır (107, 109). Zeytin yağının diyabetli hastalarda kandaki şeker oranını % 12 oranında azalttığı tespit edilmiştir. Çoklu doymamış yağlarda (omega 6), şeker hastalığına karşı mücadelede koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir (49, 107). Kandaki insülin oranının düşmesini kolaylaştırdığı, kan şekerini, pankreas tarafından salgılanan, insülini düzenlediği belirtilmektedir. Ayrıca zeytin yağının içerdiği, oleik asitin pankreas enzimlerinin çalışmasını uyardığı bildirilmiştir (49, 109).

2.MATERYAL ve METOT

2.1. MATERYAL

Bu çalışmada, Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden temin edilen 10-12 aylık ve 200-250 g ağırlığında 40 adet erişkin erkek Sprague–Dawley rat kullanıldı. Hayvanlar deney süresi boyunca normal oda ısısında (20-25 °C), 12/12 saat gece/gündüz periyodunda bulunduruldu ve *ad libitum* olarak beslendi.

2.1.2. Çalışmada Kullanılan Aletler

- Spektrofotometre (PowerWave XS, BioTek, Instruments, USA)
- Vorteks (Velp scientifica, ZX³, Italy)
- Etüv (Labart, DHG-9140A, South Korea)
- Homojenizatör
- Soğutmalı santrifüj (Helius, Germany)
- Glukometre (On-Call Plus)
- Çalkalayıcı (Heidolph promax 2020, Germany)
- Hassas terazi (Precisa, 205A SCS, Switzerland)
- Ph metre (Orion, 420 A, USA)
- Derin dondurucu (Arçelik, 2560, Türkiye)
- Buzdolabı (Arçelik, Türkiye)
- Ayarlanabilir Otomatik pipetler (0,5-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl, Ependorf, Varipette, Germany)

2.1.3. Çalışmada Kullanılan Sarf Malzemeleri

- Streptozotosin (50 mg, Sigma)
- Oleuropein (250 ml, Biolive)
- Metformin (Diaformin, 1000 mg)
- İnsülin (Humulin-M 70/30 100 Iµ)
- Diethyl eter (Sigma- aldrich HİNDİSTAN)
- Hayvan kafesi
- Rat yemi
- KH_2PO_4 (Merck)
- Na_2HPO_4 (Merck)
- Vakumlu ve EDTA'lı kan alma tüpleri ve iğneleri (MN -2138M)
- 1.5 ml'lik ependorf mikro santrifüj tüpleri
- Otomatik pipet uçları
- 10 ml'lik cam ve polyetilen santrifüj tüpleri
- TAS (Total Antioksidan Status) Kiti (Rel Assay Diagnostics, Clinical Chemistry Solutions, Gaziantep, Türkiye)
- TOS (Total Oksidan Status) Kiti (Rel Assay Diagnostics, Clinical Chemistry Solutions, Gaziantep, Türkiye)

2.2. METOT

Her grupta 8 adet rat bulunan 5 grup oluşturuldu, deney ve kontrol gruplarını oluşturan hayvan materyali Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünün rat ünitesinden temin edildi. Çalışmayla ilgili olarak Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan çalışma izni alındı (Karar Sayı No: 2010-44).

2.2.1. Uygulanan Genel Metot

Ratlar 5 gruba ayrılarak her grupta 8 hayvan bulunacak şekilde 4 deney ve 1 kontrol grubundan oluşturuldu. Diyabet oluşturmak için pH 4.5 sitrat tamponu ile hazırlanan streptozotosin (STZ) uygulandı. Deney gruplarında streptozotosin ile diyabet oluşturmak amacıyla tek doz STZ 50 mg/kg intraperitoneal (i.p) olarak verildi. Kontrol grubuna ise, i.p %0,09 NaCl solüsyonu enjekte edildi. STZ uygulandıktan sonra 72. saatte kuyruktan alınan kan glukoz seviyeleri ölçüldü ve 180-200 mg/dl'nin üzerindeki değerler diyabetik olarak kabul edildi. 72. saatte alınan kan örneklerinde diyabet geliştiği tespit edilenlerden uygulanan genel prosedür Tablo 3.1'de gösterildiği biçimde yapıldı. Metformin ve insülin i.p olarak, oleuropein içme suyunun içerisinde, 96. saatten sonra deney sonuna kadar her gün, saat 16.00-17.00 arası verildi.

Tablo 2. Deney ve kontrol gruplarının isimlendirilmesi ve yapılan uygulamalar.

GRUPLAR		
Kontrol	n=8	%0,09 NaCl solüsyonu i.p uygulandı
Grup1 Diyabet Grubu	n=8	pH =4.5 sitrat tamponu içinde 50 mg/kg STZ i.p uygulandı
Grup2 Diyabet + Metformin + İnsülin	n=8	50 mg/kg STZ + 100 mg/kg MET + 4 IU /kg insülin i.p uygulandı
Grup3 Diyabet + Metformin + İnsülin+ Oleuropein	n=8	50 mg/kg STZ + 100 mg/kg MET + 4 IU /kg insülin i.p olarak ve 30 mg/kg oleuropein oral uygulandı
Grup4 Diyabet + Oleuropein	n=8	50 mg/kg STZ i.p olarak ve 30 mg/kg oleuropein oral uygulandı

2.2.2. Kan Örneklerinin Alınması

Deney sonunda, eter anestezi altında batın ön duvarı insizyonla açılıp diyaframdan kalbe ulaşarak punksiyonla kanları alınarak sakrifiye edildi. Alınan kan örnekleri hiperglisemi, total antioksidan kapasite (TAK) ve total oksidan kapasite (TOK) meydana gelen değişikliği belirlemek için kullanıldı.

2.2.3. Glikoz Düzeylerinin Saptanması

Deney ve kontrol gruplarında, streptozotosin verilmeden önce, verildikten 72 saat sonra, 10. günde ve hayvanlar dekapite edilmeden önce glukoz değerleri kuyruk veninden alınan kan ile On-call plus marka glukometrede strip ile ölçüldü. Yapılan ölçüm sonucunda 180 -200 mg/ dl ve üzeri diyabet olarak kabul edildi.

2.2.4. Biyokimyasal Analizler

2.2.4.1. Plazma Antioksidan ve Oksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi

Plazma ve dokulardaki antioksidan ve oksidan miktarı Total Antioksidant Status (TAS) Assay Kit ve Total Oksidant Status (TOS) Assay Kit (Rel Assay Diagnostics, Clinical Chemistry Solutions, Gaziantep, Türkiye) kullanılarak ölçüldü (43).

2.2.4.2. Total Antioksidan Kapasitelerinin (TAK) Belirlenmesi

Kullanılan Reaktif ve Standartlar

Reaktif 1: Test tamponu

Reaktif 2: Renklendirilmiş ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)] radikal solüsyonu

Standart 1: 0.0 mmol Trolox Equiv./L) solüsyonu

Standart 2: 1.0 mmol Trolox Equiv./L) solüsyonu

Metot

	Absorbans 1 (660 nm)	Absorbans 2 (660 nm)
Std1	500 µl reaktif 1 + 30 µl standart 1 Standart 1'in ilk absorbansı	Std1 + 75 µl reaktif 2 Oda ısısında 10 dakika ya da 37 °C'de 5 dakika inkübasyon
Std 2	500 µl reaktif 1 + 30 µl standart 2 Standart 2'nin ilk absorbansı	Std 2 + 75 µl reaktif 2 Oda ısısında 10 dakika ya da 37 °C'de 5 dakika inkübasyon
Örn 1	500 µl reaktif 1 + 30 µl örnek Örneğin ilk absorbansı	Ör 1 + 75 µl reaktif 2 Oda ısısında 10 dakika ya da 37 °C'de 5 dakika inkübasyon

Sonuçların Hesaplanması

$$\text{Sonuç} = \frac{[(\Delta\text{Abs Std1}) - (\Delta\text{Abs Örnekte})]}{[(\Delta\text{Abs Std1}) - (\Delta\text{Abs Std2})]} \times 20$$

Δ Standart 1'in absorpsansı = (Std 1'in ikinci absorpsansı - Std 1'in ilk absorpsansı)

Δ Standart 2'nin absorpsansı = (Std 2'in ikinci absorpsansı - Std 2'in ilk absorpsansı)

Δ Örneğin absorpsansı = (Örneğin ikinci absorpsansı - Örneğin ilk absorpsansı)

2.2.4.3. Total Oksidan Kapasitelerinin (TOK) Belirlenmesi

Kullanılan Reaktif ve Standartlar

Reaktif 1: Test tamponu

Reaktif 2: Prokromojen solüsyonu

Standart 1: Kör solüsyonu (deiyonize su)

Standart 2: Stabilize edilmiş standart stok solüsyonu (SSSS) (800 mM H₂O₂Equiv./L)

Metot

	Absorbans 1 (530 nm)	Absorbans 2 (530 nm)
Std 2	500 µl reaktif 1 + 75 µl standart 2 Standart 2'nin ilk absorpsansı	Std 2 + 25 µl reaktif 2 Oda ısısında 10 dakika ya da 37 °C'de 5 dakika inkübasyon
Örn 1	500 µl reaktif 1 + 75 µl örnek Örneğin ilk absorpsansı	Ör 1 + 25 µl reaktif 2 Oda ısısında 10 dakika ya da 37 °C'de 5 dakika inkübasyon

Sonuçların Hesaplanması

$$\text{Sonuç} = [(\Delta\text{Abs Örne}) / (\Delta\text{Abs Std2})] \times 20 \text{ (Std 2 değeri)}$$

$$\Delta\text{Abs Örne} = \text{Örneğin ikinci absorbanı} - \text{örneğin ilk absorbanı}$$

$$\Delta\text{Abs Std2} = \text{Standart 2'nin ikinci absorbanı} - \text{standart 2'nin ilk absorbanı}$$

$$\text{Std 2 değeri} = 20 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2\text{Equiv./L}$$

2.2.5. İstatistik Hesaplamalar

İstatistik hesaplamalarda One-Way Anova Testi kullanılarak deneme gruplarının kontrol gruplarına göre değişimleri kıyaslanmıştır. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma ($X \pm SD$) olarak belirlendi ve $p < 0.05$ istatistiksel farklılığı gösterdi.

Tüm hesaplamalar SPSS (16.0-2010) paket programı kullanılarak yapıldı.

3. BULGULAR

3.1. Gruplar Arasındaki Plazma Glukoz Düzeyleri

Grupların plazma glukoz düzeylerinde belirlenen değişimler Tablo 3.1 ve Grafik 3.1’de gösterilmiştir.

Kan glukoz değerlerinde belirlenen değişimler gruplara göre karşılaştırıldığında 0. günde gruplar arasında bir farklılık tespit edilmedi. Streptozotosin uygulandıktan sonraki 3. günde kontrol grubu ile deneme grupları arasında kan glukoz değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). G1 ve G2 gruplarının glukoz düzeyleri kontrol grubuna göre 10. günde (sırasıyla $p<0.01$, $p<0.001$) ve G1, G2 ve G4 gruplarının glukoz düzeyleri kontrol grubuna göre 21. günde (sırasıyla $p<0.001$, $p<0.05$ ve $p<0,01$) istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.

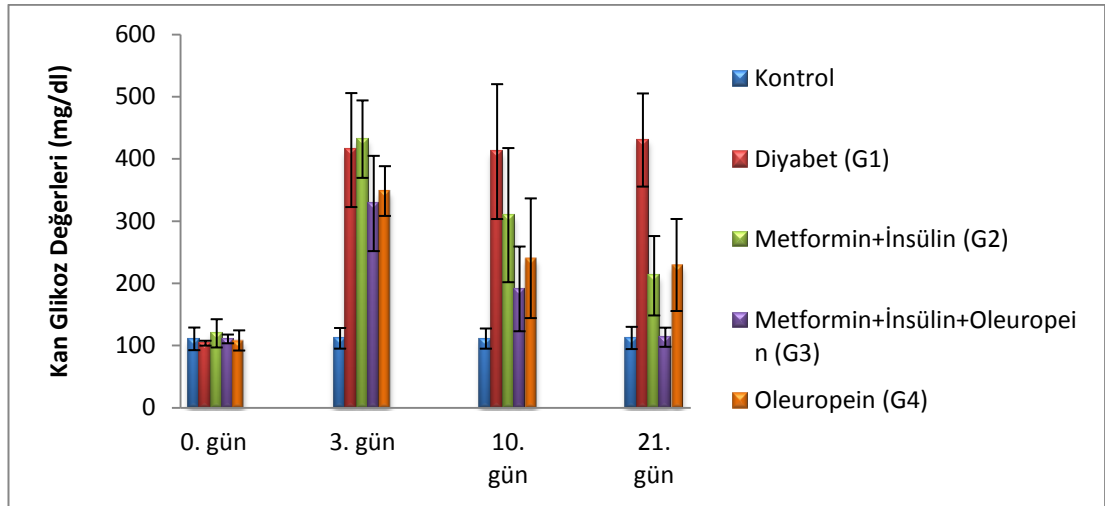
Tablo 3.1. Kontrol ve deneme grubundaki ratlarda belirlenen günlere göre kan şeker düzeyleri (mg/dl).

	Kontrol (n=8)	Diyabet-G1 (n=8)	Metformin İnsülin-G2 (n=8)	Metformin İnsülin Oleuropein- G3 (n=8)	Oleuropein-G4 (n=8)
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
0. gün	110.71± 8.18 ^a	103.71±3.95 ^a	119.57± 22.71 ^a	110.57±7.04 ^a	108.14 ±16.21 ^a
3. gün	111.57±16.59 ^d	414.14±91.6 ^{bc}	431.71± 62.26 ^b	328.29±76.56 ^c	348.29±39.98 ^{bc}
10. gün	111.14±16.21 ^g	411.71±108.37 ^c	309.57±107.83 ^{ef}	191±68.08 ^{fg}	240.29±96.2 ^{fg}
21. gün	112.14±17.86 ^k	430.29±74.88 ^h	212.14±63.84 ^j	113.29±15.39 ^k	229.43±73.96 ^l

^{bc-d}, ^{c-d}: $p<0.001$, ^{b-d}: $p<0.01$, ^{b-bc}, ^{bc-c}, ^{b-c}: $p>0.05$

^{e-g}: $p<0.001$, ^{ef-g}, ^{e-fg}: $p<0.01$, ^{fg-g}, ^{ef-fg}, ^{e-ef}: $p>0.05$

^{h-k}, ^{h-l}, ^{h-j}: $p<0.001$, ^{l-k}: $p<0.01$, ^{j-k}: $p<0.05$, ^{l-j}: $p>0.05$



bc-d, c-d: p<0.001, b-d: p<0.01, b-bc, bc-c, b-c: p>0.05

e-g: p<0.001, ef-g, e-fg: p<0.01, fg-g, ef-fg, e-ef: p>0.05

h-k, h-l, h-j: p<0.001, l-k: p<0.01, j-k: p<0.05, l-j: p>0.05

Grafik 3.1. Grupların kan glukoz değerlerinde belirlenen değişimler (mg/dl).

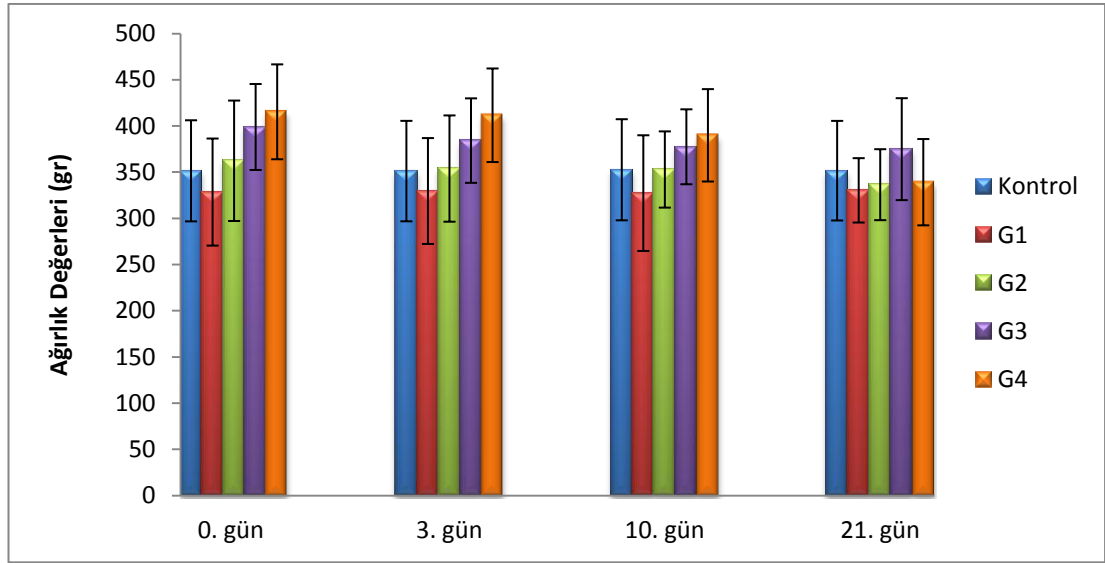
3.2. Gruplar Arasındaki Canlı Ağırlıklarında Belirlenen Değişimler

Grupların canlı ağırlıklarında belirlenen değişimler Tablo 3.2 ve Grafik 3.2’de gösterilmiştir.

Grupların belirlenen zaman diliminde canlı ağırlıkları karşılaştırıldığında kontrol grubu ile deneme grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık belirlenmemiştir.

Tablo 3.2. Grupların canlı ağırlıklarında belirlenen değişimler (g).

	Kontrol (n=8)	Diyabet-G1 (n=8)	Metformin İnsülin-G2 (n=8)	Metformin İnsülin Oleuropein-G3 (n=8)	Oleuropein-G4 (n=8)
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
0. gün	351.43 ± 54.69	328.43 ± 57.95	362.29 ± 65.16	398.86 ± 46.53	415.29 ± 51.34
3. gün	351.14 ± 54.36	329.57 ± 57.29	353.86 ± 57.51	384.14 ± 45.73	411.57 ± 50.63
10. gün	352.57 ± 54.71	327.29 ± 62.61	352.86 ± 41.25	377.43 ± 40.55	389.86 ± 49.99
21. gün	351.57 ± 53.89	330.29 ± 34.84	336.43 ± 38.41	374.86 ± 55.16	339.14 ± 46.70



p>0.05

Grafik 3.2. Grupların canlı ağırlık değerlerinde belirlenen değişimler (g).

3.3. Gruplar Arasındaki Plazma Total Antioksidan Kapasiteleri

Grupların plazma total antioksidan düzeylerinde belirlenen değişimler Tablo 3.3 ve Grafik 3.3'te gösterilmiştir.

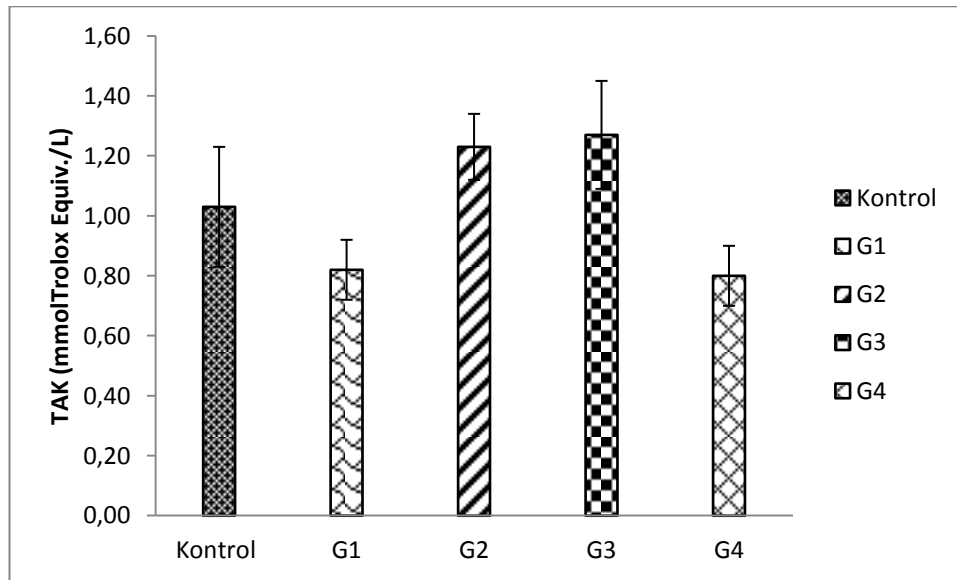
Plazma total antioksidan kapasiteleri gruplara göre kıyaslama yapıldığında, G1 grubunun TAK kapasiteleri deneme gruplarıyla kıyaslandığında, G2 ve G3 grubunun

TAK kapasitelerinin istatistiksel olarak daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$). G1 ve G4 arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık tespit edilmedi. Plazma total antioksidan düzeyleri kontrol grubu ile deneme gurupları arasında kıyaslama yapıldığında G3 grubunun TAK kapasitelerinin, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). G4 grubunun TAK kapasitelerinin ise kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenmiştir.

Tablo 3.3. Plazma Total Antioksidan Kapasitelerinde Belirlenen Değişimler (mmolTrolox Equiv./L).

Kontrol (n=8)	Diyabet-G1 (n=8)	Metformin İnsülin-G2 (n=8)	Metformin İnsülin Oleuropein-G3 (n=8)	Oleuropein-G4 (n=8)
$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
1.03 ± 0.20^{bc}	0.82 ± 0.10^{cd}	1.23 ± 0.11^{ab}	1.27 ± 0.18^a	0.80 ± 0.10^d

ab-d, a-d, ab-cd, a-cd: $p<0.001$, bc-d, a-bc: $p<0.05$, bc-cd, ab-bc, cd-d, a-ab: $p>0.05$



ab-d, a-d, ab-cd, a-cd: $p<0.001$, bc-d, a-bc: $p<0.05$, bc-cd, ab-bc, cd-d, a-ab: $p>0.05$

Grafik 3.3. Plazma Total Antioksidan Kapasitelerinde Belirlenen Değişimler (mmolTrolox Equiv./L)

3.4. Gruplar Arasındaki Plazma Total Oksidan Kapasiteleri

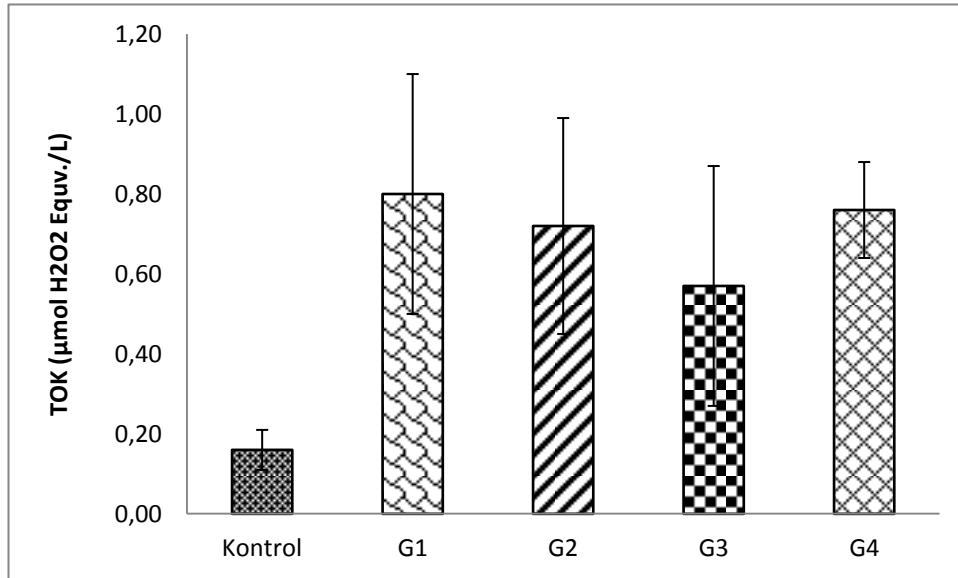
Grupların plazma total oksidan kapasitelerinde belirlenen değişimler Tablo 3.4 ve Grafik 3.4'de gösterilmiştir.

Plazma Total Oksidan kapasiteleri gruplara göre kıyaslandığında G1 grubunun ($p<0.001$), G2 grubunun ($p<0.01$) ve G3 grubunun ($p<0.05$), TOK kapasitelerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek olduğu belirlenmiştir. Deneme grupları G1 grubuyla karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık tespit edilmedi.

Tablo 3.4. Grupların Plazma Total Oksidan Kapasiteleri ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equv./L).

Kontrol (n=10)	Diyabet-G1 (n=10)	Metformin İnsülin-G2 (n=10)	Metformin İnsülin Oleuropein-G3 (n=10)	Oleuropein-G4 (n=10)
$\bar{X} \pm \text{SD}$	$\bar{X} \pm \text{SD}$	$\bar{X} \pm \text{SD}$	$\bar{X} \pm \text{SD}$	$\bar{X} \pm \text{SD}$
0.16 ± 0.05^d	0.80 ± 0.30^a	0.72 ± 0.27^{ab}	0.57 ± 0.30^{ac}	0.76 ± 0.12^a

^{a-d}, $p<0.001$, ^{ab-d}: $p<0.01$, ^{ac-d}: $p<0.05$, ^{a-ab}, ^{a-ac}, ^{ab-ac}: $p>0.05$



^{a-d}, $p<0.001$, ^{ab-d}: $p<0.01$, ^{ac-d}: $p<0.05$, ^{a-ab}, ^{a-ac}, ^{ab-ac}: $p>0.05$

Grafik 3.4. Grupların Plazma Total Oksidan Kapasiteleri($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equv./L).

3.5.Gruplar Arasındaki Karaciğer Total Antioksidan Kapasiteleri

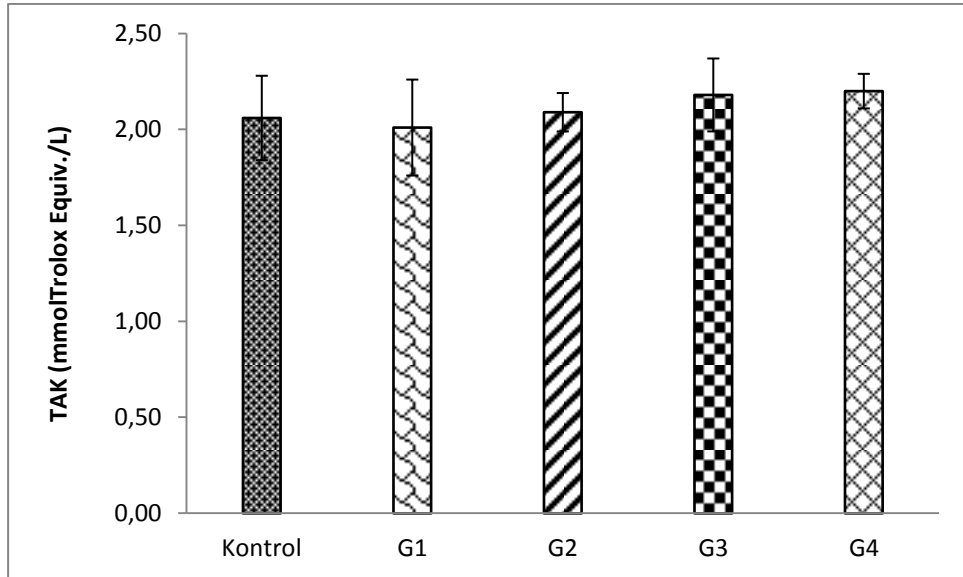
Grupların karaciğer total antioksidan kapasitelerinde belirlenen değişimler Tablo 3.5 ve Grafik 3.5’de gösterilmiştir.

Karaciğer total antioksidan kapasiteleri gruplara göre kıyaslama yapıldığında, deneme gruplarının TAK kapasiteleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir.

Tablo 3.5. Grupların Karaciğer Total Antioksidan Kapasitelerinde Belirlenen Değişimler (mmolTrolox Equiv./L).

Kontrol (n=8)	Diyabet-G1 (n=8)	Metformin İnsülin-G2 (n=8)	Metformin İnsülin Oleuropein-G3 (n=8)	Oleuropein-G4 (n=8)
$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
2.06 ± 0.22^a	2.01 ± 0.25^a	2.09 ± 0.10^a	2.18 ± 0.19^a	2.20 ± 0.09^a

p>0.05



p>0.05

Grafik 3.5. Grupların Karaciğer Dokusu Total Antioksidan Kapasiteleri (mmolTrolox Equiv./L).

3.6.Gruplar Arasındaki Karaciğer Total Oksidan Kapasiteleri

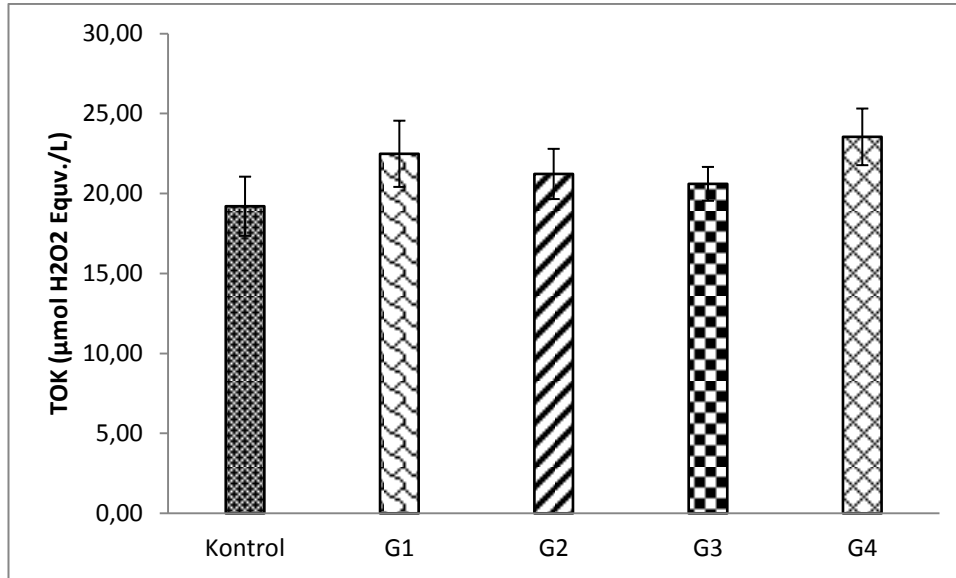
Grupların karaciğer total oksidan kapasitelerinde belirlenen değişimler Tablo 3.6 ve Grafik 3.6’de gösterilmiştir.

Karaciğer Total Oksidan Kapasiteleri gruplara göre kıyaslandığında G2 grubu ile G4 gurubunun TOK kapasiteleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek olduğu (sırasıyla $p<0.01$, $p<0.001$) belirlenmiştir. G1 ile deneme grupları arasında TOK kapasitelerinin istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir.

Tablo 3.6. Grupların Karaciğer Total Oksidan Kapasiteleri($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equv./L).

Kontrol (n=8)	Diyabet-G1 (n=8)	Metformin İnsülin-G2 (n=8)	Metformin İnsülin Oleuropein-G3 (n=8)	Oleuropein-G4 (n=8)
$\bar{X} \pm \text{SD}$	$\bar{X} \pm \text{SD}$	$\bar{X} \pm \text{SD}$	$\bar{X} \pm \text{SD}$	$\bar{X} \pm \text{SD}$
19.20 ± 1.85^c	22.48 ± 2.07^{ab}	21.22 ± 1.57^{abc}	20.60 ± 1.06^{bc}	23.54 ± 1.77^a

a-c: $p<0.001$, ab-c: $p<0.01$, a-bc: $p<0.05$, abc-c, bc-c, a-ab, a-abc, ab-abc, ab-bc, abc-bc: $p>0.05$



a-c: $p<0.001$, ab-c: $p<0.01$, a-bc: $p<0.05$, abc-c, bc-c, a-ab, a-abc, ab-abc, ab-bc, abc-bc: $p>0.05$

Grafik 3.6. Grupların Karaciğer Total Oksidan Kapasiteleri ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equv./L).

4.TARTIŞMA ve SONUÇ

Diyabete bağlı komplikasyonlar halen dünyada en önemli morbidite ve mortalite nedenleri arasındadır. Tip 2 diyabet ciddi ve ilerleyici bir hastalık olmasının yanı sıra, bu hastalığın seyrinde görülebilen komplikasyonlarıyla büyük bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır (116). Diyabete bağlı retinopati, nöropati, mikro ve makrovasküler hastalıklar önemli morbidite kaynaklarıdır. Diyabetik nefropati, diyabetin seyrinde sık görülen bir komplikasyondur, hem Tip 1, hem Tip 2 diyabet için önemlidir ve ikisinde de kronik böbrek yetersizliğine neden olur (103).

Vcttaki glukoz-insülin etkileşiminde kandan hücreye glukoz girişinde insülin anahtar görevi görmektedir. Diyabetiklerde insülin eksikliği sonucu kan glukoz düzeyi yükselmekte ve çeşitli komplikasyonlara sebep olmaktadır. Bu komplikasyonları önlemek amacıyla insüline bağlı diyabette (tip 1) kan şekeri düzeyini normal glisemik değer olan 70-110 mg/dl aralığında tutmak için insülin desteği sağlanmalıdır. Tip 1 diyabette sürekli insülin tedavisine ihtiyaç duyulurken, tip 2 diyabette başlangıçta oral anti diyabetikler, ilerleyen zamanda beraberinde insülin tedavisi uygulanmaktadır. Metformin tüm geçerli diyabet tedavilerinde, glisemik kontrolden bağımsız makrovasküler komplikasyonları engelleyici özelliği olan ilk basamak tedavi seçeneği olarak kullanılır. İnsülin duyarlılığını artıran güvenli bir ajandır. Yüksek açlık kan şekerini 78 mg/dl kadar düşürür (86). İnsülin tedavisine metformin eklenmesi total insülin dozunda %36'lık azalma sağlaması nedeniyle, kombinasyon tedavilerinde tercih edilmektedir.

Diyabette zeytin yaprağı ekstraktının içinde bulunan tekli doymamış yağ asitlerinin, kan şekerlerini düşürücü etkisinin olduğu pek çok çalışmayla kanıtlanmıştır (64). Zeytin yağının, diyabetli hastalarda kandaki şeker oranını % 12 oranında azalttığı tespit edilmiştir (107). Oleuropeinin kan şekerinin düşmesini kolaylaştırdığı ve pankreas tarafından salgılanan insülini uyardığı belirtilmektedir. Ayrıca zeytin yağının içerdiği, oleik asitin pankreas enzimlerinin çalışmasını düzenlediği bildirilmiştir (108). Yaptığımız çalışmada oleuropein tek başına kan glukoz

düzeylerini etkilemediği ancak metformin ve insülinle birlikte kullanıldığında kan glukoz düzeylerini düşürme etkisinin daha yüksek olduğu belirlenirken, canlı ağırlıklarının değişmeden kalmasını sağlamıştır.

Deney hayvanlarına streptozotosin uygulanması ile oluşturulan diyabetes mellitusda streptozotosinin etkisiyle pankreasın tahribatına bağlı olarak çeşitli biyokimyasal değişiklikler meydana gelmektedir (113). Kan glukozundaki artış; metabolize glukoz için karaciğer veya perifer dokuların bozulmasının ve karaciğer ile böbrekte glukoneogenezin aktivasyonunun başlıca sonucudur. Oksidatif stresin diyabette doku hasarına neden olduğu ve bu hasarın ara mekanizmalarla protein glukasyonu ve proteinlerin in-aktivasyonu ile oluşan lipid peroksidasyonu sonucu retinopati, nefropati ve koroner kalp hastalığına neden olduğu bildirilmektedir (113). Tip 1 ve Tip 2 Diyabet hastalarının artmış glukoprotein düzeyi, bozulmuş glukoz oto-oksidasyonu ve anormal antioksidan dengeye sahip olduğu tespit edilmiştir (75).

Tip 2 diyabetes mellitusun gelişiminde ve insülin direncinin patogenezinde düşük dereceli kronik inflamasyon ve anormal immün cevabın anahtar role sahip olduğuna dair oldukça kuvvetli veriler mevcuttur (75). Kronik inflamasyon sonucu oluşan reaktif moleküllerin miktar artışıyla oluşan oksidatif stresin pankreasta β -hücresi yıkımına ve insülin azalmasına neden olduğu ve oluşan DNA hasarıyla birlikte diyabeti kuvvetlendirdiği bildirilmiştir (75). Sheetz ve King (2002) ile Aslan ve ark.(2007) serbest radikallerin uyardığı oksidatif strese bağlı gen ekspresyonunun ile lipid peroksidasyonunun çeşitli diyabetik komplikasyonlardan sorumlu olduğunu tespit etmiştir.

Diyabette oluşan makro ve mikro vasküler komplikasyonlarının gelişiminde oksidatif stresin artışının önemli bir role sahip olduğu bilinmektedir. Plazma lipid profilinde meydana gelen değişikliklerin diyabetik hastalarda arterosklerotik anormalliklerin gelişimini neden olmaktadır. İnsülin direncinin varlığında hormona duyarlı lipaz aktivitesinin ortadan kalkmasıyla birlikte serbest yağ asitlerinin yağ dokudan karaciğere akışında artış şekillenir ve serbest yağ asitleri süperoksit anyonu gibi

serbest radikallerin oluşumunu arttırmaları. Serbest radikallerin artışı lipid protein ve nükleik asitlerle etkileşim halindeki membran bütünlüğünün bozulmasına sebep olur. Diğer taraftan pek çok enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri bu reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerine karşı koruyucu bir rol oynar. Ancak aşırı miktarlarda serbest radikaller yapımı ve azalan antioksidan diyabette oksidatif stresin oluşumundan sorumludur (Evans ve ark. 2002). Tabak ve ark. (2011) Diyabetes mellitusta hiperglisemik koşullar altında oksidan, anti-oksidan dengenin oksidanların artışı yönünde değiştiğini göstermiştir. Pan ve ark. (2008) diyabette şiddetli lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve oksidatif DNA hasarı olduğunu göstermiştir. Ayrıca aynı çalışmada oksidatif stresin diyabetik retinopatinin önemli bir risk faktörü olduğu da gösterilmiştir. Abou-Seif ve Youssef (2004) diyabetteki pankreatik ve vasküler komplikasyonların patogenezinin glikasyon ürünlerinin ve protein oksidasyon ürünü olan serbest radikallerin artışının sorumlu olduğunu bildirmiştir. Yaptığımız çalışmada, streptozotosinle diyabet oluşturulmuş ratların plazma ve karaciğer total antioksidan kapasitelerinde bir farklılık belirlenmezken, plazma ve karaciğer TOK kapasitelerinin belirgin derecede yüksek olduğunu tespit ettik.

Tip 2 diyabetli hastaların çoğu optimum glisemik kontrolün sağlanması için birden fazla antihiperglisemik ilaçla tedaviye gereksinim duymaktadır. Bu maksatla kullanılan çeşitli ilaç kombinasyonları da vardır. Metforminle birlikte insülin kullanılan tedavi seçeneğinin bugün sık başvuru alan ve her iki ilaç içinde dozu düşüren bir metot olduğu söylenmektedir (35, 91). Metforminin biguanid grubu oral anti-diyabetik olarak, hastalarda hiperglisemiyi azalttığı fakat, hipoglisemi yapmadığı ve hiperlipidemiyi önlediği bildirilmiştir (35, 91). Yapılan bir çalışmada, metformin uygulamasının LDL ve VLDL kolesterol konsantrasyonunu düşürürken, HDL konsantrasyonu yükselttiği tespit edilmiştir (35). Yine, metformin ile yapılan hayvan çalışmalarında metforminin karaciğer hastalığını düzelttiği, hepatomegali, steatozis ve aminotransferaz anormalliklerini geriletmediği gösterilmiştir (35). Stepensky ve ark. (2001) diyabetik ratlarda metforminin glukoz düzeyini düşürücü etkisinin oldukça kuvvetli olduğunu göstermiştir. Yine benzer şekilde Lee ve Kwon

(2004) plazma metformin düzeyi ile kan glukoz düzeyindeki düşüşün birbirine bağlı olduğunu ve metforminin iyi bir anti-diyabetik olduğunu göstermiştir. Bu araştırmada, 500 mg metforminin insülin sensitivitesini önemli derecede düzelttiği ve karaciğer büyüklüğünü %20 azalttığı gösterilmiştir. Li ve ark. (2011) Tip 2 diyabet gelişimini engellemede metformin kullanımının, obeziteye bağlı hiperinsülinemi ve insülin direncini azaltarak β -hücre fonksiyonlarını düzelttiğini göstermişlerdir. Farah ve ark. (2008) metformin uygulamasının diyabete bağlı protein oksidasyon ürünlerinin azalmasıyla birlikte serbest radikal oluşumunda etkinlik gösteren inflamatuvar etkilerin ortadan kaldırılmasında önemli etkilere sahip olduğunu göstermiştir. Xie ve ark. (2008) diyabette oluşan süperoksit anyonlarının metformin uygulamasıyla birlikte DNA oksidasyonunu engelleyici bir rol oynadığını da göstermiştir. Diğer taraftan Lhommeau ve ark. (2011) insülin'in singlet O_2 ve reaktif oksijen türlerinin deaktivasyonunda önemli bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Montes, Cortes DH. ve ark. (2010) in vitro insülin uygulanmasının diyabetlilerde oksidatif stres, serbest radikal oluşumunu baskılayıcı ve antioksidan sistem destekleyici rol oynadığını bildirmiştir. Son yıllarda yapılan araştırmalar metforminle birlikte insülin kullanımının bunun tek başına kullanımına göre daha üstün tedavi seçeneği sunduğunu göstermektedir (90). Metforminle birlikte insülin gibi bazı kombinasyonlarının kullanımının gastrointestinal sistem, karaciğer ve böbrek gibi bazı doku ve organlarda görülen aktivite azalışını düzelttiğini bildirmektedir. Diğer taraftan, metforminin Tip 2 diyabette kullanımının gastrointestinal sistem kanserlerinin etkisini de azalttığı belirlenmiştir (Shyuan ve ark. 2011). Yaptığımız çalışmada iyi bir anti-oksidan ve stres giderici olarak, metformin ve insülinin birlikte kullanımının plazma ve karaciğer antioksidan kapasitelerinin kontrol grubuyla aynı kalmasını sağladığı belirlenmiştir.

Davie ve ark. (1992); Sinclair ve ark. (1992), diyabette kullanılan çeşitli antioksidan bileşiklerin serbest radikal tutucu özellikleri dolayısıyla, glikasyon inhibitörleri olarak çalışmaları sayesinde, dokularda oluşan hasara karşı koruyucu oldukları düşünülmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarla, flavonoidler ve polifenoller gibi vitamin olmayan anti-oksidanların kullanımının, diyabet hastalarında serbest

radikal oluşumunu ve oksidatif stresi engellediği gösterilmiştir (109). Zeytin ağacı ve zeytin ürünlerinin içerdiği fenolik bileşiklerin doku koruyucusu olarak önemli biyokimyasal etkilere sahip olduğu kabul edilmektedir (108). Zeytin yaprağı ekstraktında bulunan aktif fenolik bir bileşik olan oleuropein oldukça iyi bir H₂O₂ tutucusudur (97). Polifenol antioksidanların, kardiyovasküler sistemde diyabet sonucu oluşan doku hasarlarını azaltıcı niteliklerinin, ROS tutucu etkileri ile LDL kolesterol oluşumunu baskılamaları sayesinde olduğu bildirilmektedir. Al-Azzawie ve Alhamdani (2006) oleuropeinin diyabetle uyarılan hiperglisemi ve oksidatif stresi baskılayan ve diyabetik komplikasyonları önlemede yardımcı olan önemli bir fenolik bileşik olduğunu göstermiştir. Singh ve ark. (2008) zeytin yaprağı ekstratından elde edilen polifenollerden oleuropeinin, oksidatif metabolizmalardan H₂O₂ durdurucu etkisiyle trombosit aktivasyonunu da önleyici bir anti-oksidan olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda oleuropeinin tek başına uygulanmasının plazma ve karaciğer TAK kapasitelerinde beklenen değişikliği oluşturmadığı gözlemlenmiştir. Ancak metformin, insülin ve oleuropeinin bir arada kullanımının plazma anti-oksidan kapasitelerini önemli düzeyde yükselttiğini belirledik. Bu sonuç, oleuropeinin bir antioksidan olarak diyabette tek başına kullanımının yeterli etkiyi oluşturmayacağını göstermektedir.

Sonuç olarak oleuropeinin tek başına kullanımının kan glukoz düzeyini, canlı ağırlığı ve plazma ile karaciğer TAK ve TOK kapasitelerini etkilemediği, ancak diyabette yükselen oksidasyona karşılık, metformin ve insülinle birlikte kullanımının anti-oksidan sisteme destek olduğu ve serbest radikal tutucu etkiyi kuvvetlendirdiği düşünülmektedir.

5. ÖZET

STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ VE METFORMİN-İNSÜLİN İLE DİYABET TEDAVİSİ GÖREN RATLARDA, OLEUROPEİNİN HİPERGLİSEMİ, TOTAL OKSİDAN VE TOTAL ANTİOKSİDAN DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Bu çalışmada, streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş ve metformin-insülin ile diyabet tedavisi gören ratlarda, oleuropeinin hiperglisemi, oksidan-antioksidan düzeyleri üzerine etkilerini araştırmak amaçlandı. Bu maksatla, 10-12 aylık, 200-250 gr ağırlığında 40 adet erişkin erkek Sprague Dawley ratlar kullanıldı. Ratlar her grupta 8 hayvan bulunacak şekilde 4 deney ve 1 kontrol grubu olmak üzere 5 gruba ayrıldı. Deney gruplarında diyabet oluşturmak maksadıyla, pH 4.5 sitrat tamponu ile hazırlanan 50 mg/kg streptozotosin (STZ) tek doz intraperitoneal (i.p) olarak verildi. Kontrol grubuna ise sadece i.p olarak 0.09% NaCl uygulandı. STZ uygulandıktan sonra 72. saatte kuyruktan alınan kan glukoz seviyeleri ölçüldü ve 180-200 mg/dl'nin üzerindeki değerler diyabetik olarak kabul edildi. 72. saatte alınan kan örneklerinde diyabet geliştiği tespit edilenlerden Grup 1, Grup 2, Grup 3 ve Grup 4 diyabet grubu olarak değerlendirildi. Grup 1'deki ratlara 50 mg/kg STZ (G1) ip, Grup 2'deki ratlara 50 mg/kg STZ + 100 mg/kg Metformin + 4 IU /kg insülin (G2) ip, Grup 3'deki ratlara 50 mg/kg STZ +100 mg/kg Metformin + 4 IU /kg insülin ip olarak ve 30 mg/kg oleuropein oral olarak ve Grup 4'deki ratlara 50 mg/kg STZ ip olarak ve 30 mg/kg oleuropein (G4) oral olarak uygulandı. Deney sonunda, eter anestezisi altında ratların batin ön duvarı insizyonla açılarak diyaframdan kalbe ulaşıldı ve punksiyonla kanları alınarak sakrifiye edildi. Kan numuneleri EDTA'lı tüplerde ve doku numuneleri ise naylon poşetlerde -20⁰C'de saklandı. Alınan kan örnekleri hiperglisemi, total antioksidan kapasite(TAK) ve total oksidan kapasite(TOK) meydana gelen değişikliği belirlemek için kullanıldı.

Streptozotosin uygulandıktan sonraki 3. günde kontrol grubu ile deneme grupları arasında kan glukoz değerleri istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek

bulunmuştur ($p<0.001$). G1 ve G2 gruplarının glukoz düzeyleri kontrol grubuna göre 10. günde (sırasıyla $p<0.01$, $p<0.001$) ve G1, G2 ve G4 gruplarının glukoz düzeyleri kontrol grubuna göre 21. günde (sırasıyla $p<0.001$, $p<0.05$ ve $p<0,01$) istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. Grupların canlı ağırlıkları karşılaştırıldığında kontrol grubu ile deneme grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık belirlenmemiştir. Plazma total antioksidan kapasiteleri gruplara göre kıyaslama yapıldığında, G1 grubunun TAK kapasiteleri deneme gruplarıyla kıyaslandığında, G2 ve G3 grubunun TAK kapasitelerinin istatistiksel olarak daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$). Plazma total antioksidan kapasiteleri kontrol grubu ile deneme gurupları arasında kıyaslama yapıldığında G3 grubunun TAK kapasitelerinin, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). G4 grubunun TAK kapasitelerinin ise kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenmiştir. Plazma Total Oksidan Kapasiteleri gruplara göre kıyaslandığında G1 ($p<0.001$), G2 ($p<0.01$) ve G3 ($p<0.05$) grubunun TOK'leri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek olduğu belirlenmiştir. Karaciğer total antioksidan kapasitelerinin gruplara göre kıyaslama yapıldığında, deneme gruplarının TAK kapasitelerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir. Karaciğer Total Oksidan Kapasiteleri gruplara göre kıyaslandığında G2 grubu ile G4 gurubunun TOK'lerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek olduğu (sırasıyla $p<0.01$, $p<0.001$) belirlenmiştir.

Sonuç olarak oleuropeinin tek başına kullanımının kan glukoz düzeyini, canlı ağırlığı ve plazma ile karaciğer TAK ve TOK kapasitelerini etkilemediği, ancak diyabette yükselen oksidasyona karşılık, metformin ve insülinle birlikte kullanımının antioksidan sisteme destek olduğu ve serbest radikal tutucu etkiyi kuvvetlendirdiği düşünülmektedir.

6. ABSTRACT

EFFECTS OF OLEUROPEIN, METFORMIN AND INSULIN TREATMENT ON HYPERGLYCEMIA, TOTAL ANTIOXIDANT AND OXIDANT LEVELS IN STREPTOZOTOCIN-DIABETIC RATS

In this study, it was aimed to investigate the effects of oleuropein on hyperglycemia and oxidant-antioxidant levels in metformin-insulin treated streptozotocin-diabetic rats. For this purpose, 40 Sprague-Dawley rats were used. Animals were divided into 5 groups in which 4 experiment and 1 control. In each group had 8 rats. Streptozotocin (STZ) was used to create a diabetes that prepared with citrate buffer in pH 4.5. A single dose of 50 mg/kg STZ has been given intraperitoneally (ip) to the study groups in order to create diabetes. Only 0.09% NaCl solution was injected ip to the control group. Blood glucose levels were measured 72th h after the application of STZ, 180-200 mg/dl and over were considered to diabetic. Experimental groups were designed as Group 1, Group 2, Group 3 and Group 4 those are considered as diabetes group which identified the development of diabetes at the 72th h in taken blood samples. 50 mg/kg STZ ip was given to the Group 1, 50 mg/kg STZ + 100 mg/kg Metformin + 4 IU/kg insulin ip was given to the Group 2, 50 mg/kg STZ ip and 30 mg/kg oleuropein orally was given to the Group 4 and 50 mg/kg STZ + 100 mg/kg Metformin + 4 IU/kg insulin ip and 30 mg/kg orally oleuropein was given to the Group 3 were administered. At the end of the experiment, rats were sacrificed by taking blood to the heart from diaphragm opening the front wall of the abdomen by incision under ether anesthesia. Blood samples were taken to the EDTA tubes and tissue samples were saved in plastic kops in -20^oC. Blood samples was used to determine the changes that occur in hyperglycemia, total oxidant and antioxidant status.

Blood glucose values were statistically significant higher between the control and experimental groups 3 days after Streptozotocin application ($p < 0.001$).

Blood glucose values were statistically significant higher in the G1, G2 group than the control on 10th day (respectively $p < 0.01$, $p < 0.001$) and this level also higher in the G1, G2, G4 group than the control on 21th day (respectively $p < 0.001$, $p < 0.05$, $p < 0.01$). When compared to body weights of groups, a statistically significant difference wasn't observed between the control and the trial groups. When the TAS levels of G1 compared to the trial groups, it was determined that G2 and G3 group TAS levels were statistically higher than G1 ($p < 0.001$). If antioxidant levels were compared according to groups, it was found that plasma TAS levels of G3 group were statistically higher than the control group ($p < 0.05$). TAS levels of G4 group, were determined to be low compared to the control group. When plasma total oxidant levels were compared according to groups, it was determined that the G1 ($p < 0.001$), G2 ($p < 0.01$) and G3 ($p < 0.05$) group had significantly higher levels of the TOS than the control group. The total antioxidant levels in the liver of the experimental groups were determined to be statistically insignificant according to the control group. Total oxidant levels in the liver compared according to the groups, it was detected that the TOS levels of the G2 and G4 group were significantly higher than the control group (respectively $p < 0.01$, $p < 0.001$).

In conclusion, The use of oleuropein alone was not affected on the blood glucose level, the live weight, the plasma and the liver TAS and TOS levels, but the use of metformin, insulin as antidiabetic with oleuropein as an antioxidant and free radical scavenger according to the rising oxidation in diabetes were supported and strengthen the system. It was said that administration of the metformine, insulin and oleuropein on streptozotocin-diabetic rats have protective role on hyperglycemia and oxidant-antioxidant levels.

7. KAYNAKLAR

1. Ahmed, AM., History of Diabetes Mellitus, Saudi Med J, 23(4): 373-8, 2002.
2. Aktan, N., Kalkan, H., Sofralık Zeytin Teknolojisi. Ege Üniversitesi, İzmir, 122 s. 1999.
3. Alberti, K.G.M., Zimmet, PZ., For the World Health Organization Consultation, Definition, Diagnosis and Classification of DM provisional report of WHO Colsultation. Diabetic Med.;15:539-553,1998.
4. American Diabetes Association: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus; Diabetes Care, Volume 28, suppl 1, 37-42; 2005.
5. American Diabetes Association: Report of the Expert Commitee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care.20: 1183-1201,1997.
6. Andreoli TE., Carpenter CJ., Smith LH., Plum F., Cecil Essentials of Medicine, Ed, Yalçın A., 2. Baskı, Yüce Yayınları, İstanbul 1991.
7. Araz M., Diabetes Mellitus. Braunwald E., Fauci AS., Kasper DL., Hauser SL., Longo DL., Jameson JL: Harrison's Principles of Internal Medicine, 15. basım çevrisi, çeviri editörü: Sağlıkker Y., Nobel Tıp Kitabevi, 2004, s: 2109-2141.
8. Asgary, S., Naderi, G.A., Sarraf Zadegan, N., Vakili, R., The inhibitory effects of pure flavonoids on in vitro protein glycosylation. Journal of Herbal Pharmacotherapy 2, 47– 55. 2002.
9. Aslan M., Orhan DD., Orhan N., Sezik E., Yeşilada E., In vivo antidiabetic and antioxidant potential of Helichrysum plicantaum ssp. Plicatum capitulum in streptozotocin-induced-diabetic rats. J Ethnopharmacol; 109: 54–59, 2007.
10. Atalay M., Laaksonen DE., Diabetes, oxidative stres and phsical exercise. Journal of Sports Science and Medicine; 1:1-14. 2002.
11. Avcı A., Diyabet oluşturulmuş ratlarda böbrek antioksidan savunma sistemi ve E vitaminin etkileri. Ankara Üni. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara, 56s. 2001.

12. Bağrıaçık, N., Diabet ve Metabolizma Hastalıkları, Türk Diabet ve Obezite Vakfı Yayınları, 1, 57-73 ve 120-143 s. 1999.
13. Bakirel T., Bakirel U., stner Keleş O., Güneş lgen S. and Yardibi H., In vivo assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan-diabetic rabbits, *Journal of Ethnopharmacology*, 116, 64-73 p. 2008.
14. Başaraner H., Streptozotosin ile deneysel diabet oluşturulmuş sıçanların çeşitli doku antioksidan sistemlerine, vitamin E, Vitamin C ve selenyumun etkileri. İstanbul ni. Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 67s.,1999.
15. Başkal N. Diyabet tedavisinde yeni açılımlar. *Endokrinolojide Diyalog*;4:215-22, 2007.
16. Başoğlu F., Yemeklik Yağ Teknolojisi. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notları No: 91, Bursa. 249 s., 2002.
17. Baynes JW., Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes*; 40: 405, 1991.
18. Belce, A., Kokoilu, E., Superoksid Dismutaz ve Diyabet. *Klinik Gelişim*; 7: 2979-81, 1994.
19. Bhor, V.M., Raghuram, N. and Sivakami, S., Oxidative damage and altered antioxidant enzyme activities in the small intestine of streptozotocin-induced diabetic rats, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 36, 89-97 p, 2004.
20. Blasiak, J., Arabski, M., Krupa, R., Wozniak, K., Zadrozny, M., Kasznicki, J., Zurawska, M. and Drzewoski, J., DNA damage and repair in type 2 diabetes mellitus, *Mutation Research*, 554, 297-304 p, 2004.
21. Bostancı, N., şeker Hastalđı, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahiliye, 2. Baskı. 1999.
22. Bozan, B., Koşar, M., Tunalıer Z., Değirmenci, İ., stner, C., Başaran, A., Başer, KHC: şeker hastalđında kullanıldığı bilinen bazı bitkilerin kan aminoasit düzeylerine etkisinin yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile belirlenmesi. XI. BİHAT, Ankara, Bildiri kitabı. Ed: Coşkun M, Ankara Üniv Ecz Fak Yay No: 75: 369-378. 1997.

23. Broca, C., Breil, V., Cruciani-Guglielmacci, C., Manteghetti, M., Rouault, C., Derouet, M., Rizkalla, S., Pau, B., Petit, P., Ribes, G., Ktorza, A., Gross, R., Reach, G. and Taouis, M., Insulinotropic agent ID-1101 (4-hydroxyisoleucine) activates insulin signaling in rat, *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 287, 463-471 p, 2004.
24. Buchanan, T.A., Pancreatic beta-cell loss and preservation in type 2 diabetes, *Clinical Therapeutics*, 25, 32-46 p. 2003.
25. Burtis, C.A. and Ashwood, E.R., *Klinik Kimyada Temel İlkeler*, Palme Yayıncılık, Besinci Baskıdan Çeviri. 2005.
26. Büyükbacı, A. ve El, S.N., Determination of in vitro antidiabetic effects, antioxidant activities and phenol contents of some herbal teas, *Plant Foods Hum Nutr*, 63, 27-33 p. 2008.
27. Campbell İW., Need for intensive, early glycaemic control in patients with type 2 diabetes. *The British Journal of Cardiology*; 7: 625-631. 2000.
28. Chang, K.C., Tseng, C.D., Chou, T.F., Cho, Y.L., Chi, T.C., Su, M.J. and Tseng, Y.Z., Arterial stiffening and cardiac hypertrophy in a new rat model of type 2 diabetes, *European Journal of Clinical Investigation*, 36, 1-7 p. 2006.
29. Chang, K.C., Tseng, C.D., Wu, M.S., Liang, J.T., Tsai, M.S., Cho, Y.L. and Tseng, Y.Z., Aminoguanidine prevents arterial stiffening in new rat model of type 2 diabetes, *European Journal of Clinical Investigation*, 36, 528-535 p. 2006.
30. Chiasson, J.L., Gomis, R., Hanefeld, M., Josse, R.G., Karasik, A., Laakso, M., The STOP-NIDDM Trial: an international study on the efficacy of an alpha-glucosidase inhibitor to prevent type 2 diabetes in a population with impaired glucose tolerance: rationale, design, and preliminary screening data. *Study to Prevent Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus*, *Diabetes Care*. 1998 Oct;21(10):1720-5. 1998.
31. Chronic insulin treatment of diabetes does not fully normalize alterations in the retinal transcriptome :Georgina V. Bixler, Heather D. VanGuilder, Robert M. Brucklacher, Scot R. Kimball, Sarah K. Bronson And Willard M. Freeman : Bixler ve *BMC Medical Genomics*, 4:40., 2011.

32. Cıafardını, G. and B.A., Zullo, β -Glucosidase Activity in Olive Brine during the Microbiological Debitting Process. *Advances in Food Science*, 22, 69–76. 2000.
33. Coşkun, Ö., Kanter, M., Korkmaz, A. and Oter, S., Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and β -cell damage in rat pancreas, *Pharmacological Research*, 51, 117-123 p, 2005.
34. Cunningham FG: Diabetes. In: Cunningham FG, Mac Donald PC, Gant NF, et al: Eds. *Williams Obstetrics 21' th ed.* Appleton & Lange :567-618, 2001.
35. Cusi, K., and DeFronzo, R. A., "Metformin: a review of its metabolic effects," *Diabetes Rev.*, vol. 6, no. 2, pp. 89-131, 1998.
36. Çelik, S. ve Yılmaz, Ö., Diyabetik ratlarda vitamin E'nin serum lipitleri ve lipit peroksidasyonu üzerine etkisi, *Tr. J. Biology*, 23, 39-46, 1999.
37. Davie, S.J., Gould, B.J., Yudkin, J.S., Effect of vitamin C on glycosylation of proteins. *Diabetes* 41, 167–173, 1992.
38. DeFronzo Ra. Pharmacologic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Ann.Intern Med.*131:281-303,1999.
39. DeFronzo RA., Classification and diagnosis diabetes mellitus. In: *Current Management of Diabetes Mellitus.* DeFronzo RA.,ed. Mosby, 1-4,1998.
40. Değirmenci, İ., Kalender, S., Üstüner, M.C., Kalender, Y., Güneş, H.V., Ünal, N. and Başaran, A.,The effects of acarbose and *Rumex patientia* on liver ultrastructure in streptozotocin-induced diabetic (type II) rats, *Drugs Exptl. Clin. Res.* XXVIII, 6, 229-234 p, 2002.
41. Değirmenci, İ., Üstüner, M.C., Kalender, Y., Kalender, S. and Güneş, H.V., The effects of acarbose and *Rumex patientia* L. on ultrastructural and biochemical changes of pancreatic β -cells in streptozotocin-induced diabetic rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 97, 555-559 p, 2005.
42. Emanuelli, B., Glondu, M., Filloux, C., Peraldi, P. and Obberghen, E.V., The potential role of SOCS-3 in the interleukin-induced desensitization of insulin signaling in pancreatic β -cells, *Diabetes*, 53, 97-103 p, 2004.

43. Erel O.: A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem*, 37, 277-285, 2004.
44. Erol, M.K., Tuzlacı, E.: Eğirdir (Isparta) yöresinin geleneksel halk ilacı olarak kullanılan bitkileri. XI. BİHAT, Ankara, Bildiri kitabı. Ed: Coşkun M., Ankara Üniv Ecz Fak Yay No: 75: 466-475, 22-24 Mayıs 1997.
45. Farah, R., Revital, Shurtz-Swirski and Lapin O., Intensification of oxidative stress and inflammation in type 2 diabetes despite antihyperglycemic treatment. 2008.
46. Foster, DW., Diabetes Mellitus In: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD., Martin JB., Kasper DL., Hauser SL., Longo DL. (ed). *Harrison's Principles of Internal Medicine* 14th ed. Volume 2, 2060-2080, 1998.
47. Frazee, E., Donner CC, Swislocki AL, Chiou YA, Chen YD, Reaven GM. Ambient plasma free fatty acid concentrations in noninsulin independent diabetes mellitus : evidence for insulin resistance . *J Clin Endocrinol Metab*;61:807-811, 1985.
48. Fuchtenbusch M., Sandl E., Schatz H., Clinical efficacy of new thiazolidinediones and glinides in the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*; 108: 151-163, 2000.
49. Galli, C., ve Visioli, F., Antioxidant and Other Activities of Phenolics in Olives/Olive Oil, Typical Components of the Mediterranean Diet. *Lipids*, 34 (Supplement): s. 23-26. 1999.
50. Garrido-Fernandez, A., M.J., Fernandez-Diez Ve M.R., Adams., *Table Olives: Production and Processing*. Chapman & Hall, London, 495 s., 1997.
51. Geiss, L., Centers for disease control and preventions division of diabetes translation: *Diabetes surveillance*, 1997.
52. Golubnitschaja, O., Moenkemann, H., Trog, D.B., Bloom, H.J. and De Vriese, A.S., Activation of genes inducing cell-cycle arrest and of increased DNA repair in the hearts of rats with early streptozotocin-induced diabetes mellitus, *Med Sci Monit*, 12(2), 68-74 p, 2006.

53. Guillen, C., Navarro, P., Robledo, M., Valverde, A.M. and Benito, M., Differential mitogenic signaling in insulin receptor deficient fetal pancreatic β -cells, *Endocrinology*, 147(4), 1959-1968 p, 2006.
54. Halliwell, B., Gutteridge, JMC., The Antioxidants of Human Extracellular Fluids. *Arch Biochem Biophys*; 280(1): 1-8, 1990.
55. Halliwell, B., Oxygen is poisonous: The nature and medical importance of oxygen radicals. *Med Lab Sci*; 41: 157-71, 1984.
56. Hatemi, H., Diabetes Mellitusun Tarihi. *Aktüel Tıp Dergisi*, 7: 497-499, 1996.
57. Huysal, K., Tip II Diabetlilerde eritrosit glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, katalaz aktiviteleri, hemoglobin glikozilasyonu ve lipid peroksidasyonunun incelenmesi. Atatürk Üni. Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Erzurum, 81s., 1999.
58. Karataş, F., Karatepe, M. and Üstündağ, B., Tip II Diabetes Mellitus'lu hastaların serumunda vitamin A ve E miktarlarının yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile tayini, *T Klin Tıp Bilimleri*, 20, 66-72 p, 2000.
59. Kayaalp, SO., Rasyonel Tedavi Yonunden Tıbbi Farmakoloji. 1993;Cilt:3; 2491- 2565.
60. Keen, H., Barnes, DJ., The diagnosis and classification of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance. In: *Textbook of Diabetes . Volume 1. Second Edition* Pickup JC., Williams G., eds. Oxford: Blackwell Science LTD., 2.1-2.10, 1997.
61. Kim, S.H., Hyun, S.H. and Choung, S.Y., 2005, Anti-diabetic effect of cinnamon extract on blood glucose in db/db mice, *Journal of Ethnopharmacology*, 1-5 p. *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care* 29:1 2006.
62. King, G.L. and Loeken, M.R., Hyperglycemia-induced oxidative stress in diabetic complications. *Histochem Cell Biol.*; 122:333-338, 2004.
63. King, H., Rewers, M., WHO Ad Hoc Diabetes Reporting Group: Global estimates for prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in adults. *Diabetes Care* 16: 157-177, 1983.

64. Kumar, RS., Anthrayose, CV., Iyer, KV., Vimala, B., Shashidhar, S., Lipid peroxidation and diabetic retinopathy. *Indian Med Sci*; 55(3): 133-8, 2001.
65. Lean, M.E., Noroozi, M., Kelly, I., Burns, J., Talwar, D., Sattar, N., Crozier, A., Dietary flavonols protect diabetic human lymphocytes against oxidative damage to DNA. *Diabetes* 48, 176– 181, 1999.
66. Lee, O.H., Lee, B.Y., Lee, J., Lee, H.B., Son, J.Y., Park, C.S., Shetty, K., Kim, Y.C., Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. *Bioresour. Technol.* 100, 6107–6113, 2009.
67. Lhommeau, I., Douillard, S., Bigot, E., Benoit, I., Krempf, M., Patrice, T., Serum resistance to singlet oxygen in patients with diabetes mellitus in comparison to healthy donors, 2011.
68. Li, X., Zhang, N., Li, Y., Shi, Y., Li, D., Xie, Y., Ming, J., Effects of Metformin and Rosiglitazone on Peripheral Insulin Resistance and β -Cell Function in Obesity: a Double-blind, Randomized, Controlled Study. *J Int Med Res.* ;39(2):358-65, 2011.
69. Liu, M., Liberzon, A., Won Kong, S., Lai, W.R., Park, P.J., Kohane, I.S. and Kasif, S., Network-based analysis of affected biological processes in type 2 diabetes models, *Plos Genetics*, 3, 6, 958-972 p, 2007.
70. MacFarlane, IA., Bliss, M., Jackson, JGL., Williams, G., The history of diabetes mellitus. In: *Textbook of Diabetes. Volume 1. Second Edition.* Pickup JC., Williams G., eds. Oxford: Blackwell Science Ltd., 1.1-1.21,1997.
71. Mahler, R.J. and Adler, M.L., Type 2 diabetes mellitus: update on diagnosis, pathophysiology, and treatment, *The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*, 84(4), 1165-1171 p, 2007.
72. Marles, RJ., Farnsworth, NR.: Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine* 2(2):137-189, 1995.
73. Miyazaki, Y., Glass, L., Triplitt, C., Effect of rosiglitazone on glucose and non esterified fatty acid metabolism in type II diabetic patients. *Diabetologia* 2001; 44:2210-2219.
74. Mosaad, A., Abou-Seif , Abd-Allah Youssef, The effects of atorvastatin and rosuvastatin on oxidative stress in diabetic patients, 346 (2004) 161–170.

75. Niwa, A., Tajiri, T., Higashino H.: Ipomoea batatas and Agarics blazei ameliorate diabetic disorders with therapeutic antioxidant potential in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 48(3): 194–202, 2011.
76. Novelli, M., Fabregat, M.E., Fernandez-Alvarez, J., Gomis, R. and Masiello, P., Metabolic and functional studies on isolated islets in a new rat model of type 2 diabetes, *Molecular and Cellular Endocrinology*, 175, 57-66 p, 2001.
77. Novelli, M., Pocai, A., Lajoix, A.D., Beffy, P., Bezi, D., Marchetti, P., Gross, R. And Masiello, P., , Alteration of β -cell constitutive NO synthase activity is involved in the abnormal insulin response to arginine in a new rat model of type 2 diabetes, *Molecular and Cellular Endocrinology*, 219, 77-82 p, 2004.
78. Özata, M. ve Yöner, A., *Endokrinoloji Metabolizma ve Diabet*, İstanbul Medikal Yayıncılık, 1. Baskı, 275-343 s. 2006.
79. Özyazgan, S., *Diyabetin vasküler etkileri: Sıçan aortu ve internal mammarian arter çalışmalarımızdan örnekler*, İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji A.B.D., 18-27 s.
80. Pignatelli, P., Pulcinelli, F.M., Lenti, L., Gazzaniga, P.P., Visioli, F., Hydrogen peroxide is involved in collagen-induced platelet activation. *Blood*;91:484-90, 1998.
81. Pirie, F.J., Omar, M., Motala, A.A. and Amod, A., The Genetics of non insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM) in Africa, *Int. J. Diab. Dev. Countries*, 16, 36-40 p, 1996.
82. Polonsky, K.S.: Lilly Lecture 1994. The β cell in diabetes:from molecular genetics to clinical research. *Diabetes*. 44:705-717,1995.
83. Pushparaj, P., Tan, CH., Tan, BKH.: Effects of Averrhoa bilimbi leaf extract on blood glucose and lipids in streptozotocin-diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 72:69-76, 2000.
84. Roche, E., Jones, J., Arribas, M.I., Leon-Quinto, T. and Soria, B., Role of small bioorganic molecules in stem cell differentiation to insulin-producing cells, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14, 6466-6474 p, 2006.
85. Satman, I., Yilmaz, T., Sengül, A., Salman, S., Salman, F., Uygur, S., et al. Populationbased study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results

- of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes Care*; 25(9):1551-6, 2002.
86. Schneider, J., Effects of metformin on dyslipoproteinemia in non-insulindependent diabetes mellitus. *Diabete Metab*;17(1 Pt 2):185-90, 1991.
 87. Sheetz, M.J., King, G.L., Molecular understanding of hyperglycemia's adverse effects for diabetic complications. *JAMA*; 288: 2579–2588, 2002.
 88. Shuman, C.R., 1988. Diabetes mellitus: Definition, Clasification and Diagosis. In: Galowa JA, Patwin JH, Shuman CR, eds. *Diabetes Mellitus. Ninth Edition*, Eli Lilly and Company.
 89. Sinclair, A.J., Girling, A.J., Gray, L., Lunec, J., Barnett, A.H., An investigation of the relationship between free radical activity and vitamin C metabolism in elderly diabetic subjects with retinopathy. *Gerontology* 38,268–274, 1992.
 90. Sliwinska, A., Blasiak, J. and Drzewoski, J., Effect of gliclazide on DNA damage in human peripheral blood lymphocytes and insulinoma mouse cells, *Chemico-Biological Interactions*, 162, 259-267 p, 2006.
 91. Standards of Medical Care in Diabetes , American Diabetes Association. *Diabetes Care* 28:(supplement 1) S4-36, 2005.
 92. Stepensky D., Friedman, M., Raz I. and Hoffman A., “Pharmacokinetic pharmacodynamic analysis of the glucose-lowering effect of metformin in diabetic rats reveals first-pass pharmacodynamic effect,” *Drug Metab. Dispos.*, vol. 30, no. 8, pp. 861, 2002
 93. Sun, L., Kwok, E., Gopaluni, B. and Vahidi O.; Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Modeling of Metformin for the Treatment of Type II Diabetes Mellitus: *The Open Biomedical Engineering Journal*, 5, 1-7, 2011.
 94. Szkudelski, T., The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res*;50:536-46,2001.
 95. Şimsek, C., *Stevia rebaudiana (Bertoni) ekstresi ve N-Nitro-L-Arginin (LNNA)' in, deneysel diyabet ve nitrik oksit sentaz üzerine etkileri*, Yüksek Lisans Tezi, ESOGÜ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 102 s., 2005.

96. Tekkeş, Y., Streptozotosin ile diabet oluşturulmuş farelerde aspirin ve E vitamininin dokularda lipid peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisinin araştırılması (tez). Kahramanmaraş: Sütçü İmam Üniversitesi Fen Edebiyat Fak; 2006.
97. Tetik, H.D., Sofralık Zeytin İşleme Teknikleri. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Yayın No: 53, 5.Baskı, Emre Basımevi, İzmir, 136 s., 2005.
98. The Expert Committee on the diagnosis and classification of DM :Diabetes Care:27(suppl.1):S5-S10, 2004.
99. Tsımidou, M., Blakes, G., And Boskou, D., Olive Oil. Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece. 2003.
100. Tsımidou, M., Polyphenols and quality of virgin olive oil in retrospect. Ital. J. Food Sci., 10, 99-116, 1998.
101. Tuğrul, A., Tip 2 diabetes mellitus, Sendrom, 19, 6, 88-93 s. Ünsal, N., 2007, Tip 1 Diyabetes Mellituslu çocuklarda ve adölesanlarda komplikasyonların ve otoimmün hastalıkların retrospektif değerlendirilmesi, İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Aile Hekimliği Uzmanlık Tezi. 2007.
102. U.S. Department Of Health And Human Services National Institutes of Health NIH Publication ; No. 06-3873. 2006.
103. Üstüner, M.C., Tip II diyabetli deney hayvanlarında akarboz ve Romex patientia L. (Labada)'nın etkileri, Yüksek Lisans Tezi, ESOGÜ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 1999.
104. Vardı, D.L. and Cox M.M., Lehninger Biyokimyanın İlkeleri, Palme Yayıncılık, 3. Baskıdan Çeviri. 2005.
105. Vardı, N., Uçar, M., Iraz, M. ve Öztürk, F., Deneysel diyabetin sıçan endokrin pankreasında oluşturduğu morfolojik değişiklikler, T Klin Tıp Bilimleri, 23, 27-32 s. 2003.
106. Vincent, AM, Russell JW, Low P, Feldman EL. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. Endocr Rev; 25(4):612-28, 2004.

107. Visioli, F., ve Galli C., Natural Antioxidants and Prevention of Coronary Heart Disease: The Potential Role of Olive Oil and Its Minor Constituents. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, 5 (4): s. 306-31., 1995.
108. Visioli, F., ve Galli C., Oleuropein Protects LDL from Oxidation. *Life Sciences*, 55 (24): s. 1965-1971, 1994.
109. Vlahov, G., Flavonoids in Three Olive (*Olea europaea*) Fruit Varieties During Maturation. *J. Sci. Food Agric.* 58: s. 157-159, 1992.
110. Walter , WM. Jr., Flemming, HP., Etchells, JL., Preparation of antimicrobial compounds by hydrolysis of oleuropein from green olives. *Appl Microbiol ;* 26: 773–776. PMID:4762396, 1973.
111. Watkins, PJ., Drury, PL., Howell SL: Diabetes and its management .5th ed. Blackwell Co, p:3. 1996.
112. WHO Expert Committee on Diabetes mellitus, Second Report. Technical Report Series 646. WHO, Geneva, p: 61, 1980.
113. Wolff, SP., Diabetes Mellitus and free radicals: Free radicals, transition metals and oxidative stress in the etiology of Diabetes Mellitus and complications. *British Medical Bulletin*; 49(3): 642-52. 1993.
114. Wood, MJ., Bailey, CJ., Making a case for inclusion of new oral anti-diabetic agents in drug formularies. *Pract Diab İnt*; 17: 141-146. 2000.
115. Xie, Z., Zhang, J., Wu, J., Viollet, B. and Ming-Hui Zou, Upregulation of Mitochondrial Uncoupling Protein-2 by the AMP-Activated Protein Kinase in Endothelial Cells Attenuates Oxidative Stress in Diabetes, 2008.
116. Yenigün, M., Her Yönü ile Diabetes Mellitus, Haseki Hastanesi Vakfı Yayını II, 8-80 s. 1995.
117. Yılmaz, C., Yılmaz MT., İmamoğlu S. Diabetes 2000: 13-26, 135-56, İstanbul 2000.
118. Yki-Jarvinen, H., Pathogenesis of non-insülin dependent diabetes mellitus. *Lancet.* 343:91-95,1994.

8. ÖZGEÇMİŞ

25. 11. 1985 yılında Manisa ilinin Soma ilçesinde doğdu. İlköğrenimini Somada, Turgutalp İlköğretim okulunda, Ortaokulu Canlar İlköğretim okulunda ve liseyi İzmir ilinin Dikili ilçesinde Dikili lisesi (fen-matematik bölümünü) bitirdi. 2005 yılında Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünü kazandı ve 2009 yılında bu bölümden mezun oldu. 2009 yılında Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünün açtığı Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yüksekisans programına başladı.