



Tıp Fakültesi

T.C.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**STREPTOZOTOCİN İLE İNDÜKLENMİŞ DİYABETİK RAT MODELİNDE
HİDROKSİTİROZOLÜN PANKREAS BETA HÜCRELERİNDEKİ PI3K/AKT
YOLAĞI, İNSÜLİN VE GLUT-2 EKSPRESYONU ÜZERİNE ETKİLERİ**

DR.EMRAH ŞEFLEK

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL-2024



Tıp Fakültesi

T.C.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**STREPTOZOTOCİN İLE İNDÜKLENMİŞ DİYABETİK RAT MODELİNDE
HİDROKSİTİROZOLÜN PANKREAS BETA HÜCRELERİNDEKİ PI3K/AKT
YOLAĞI, İNSÜLİN VE GLUT-2 EKSPRESYONU ÜZERİNE ETKİLERİ**

DR.EMRAH ŞEFLEK

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. FERİHA ERCAN

EŞ-DANIŞMAN

Dr. Öğr. Ü. KAYIHAN KARAÇOR

İSTANBUL-2024

ÖNSÖZ

Bu tez çalışması, planlama aşamasından yazımına kadar olan tüm süreçlerde etik kurallara uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Bu tezde yer alan bilgilerin akademik ve etik değerlere göre elde edildiğini beyan ederim. Ayrıca, tezde kullanılan bilgi ve yorumların kaynaklarına uygun bir şekilde atıfta bulunulmuş ve kaynaklar listesinde belirtilmiştir. Tezin hazırlanması sürecinde patent ve telif haklarına aykırı bir davranışta bulunulmamıştır."

02.05.2024

Dr. Emrah ŞEFLEK

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini paylaşan, tez çalışmasının yapımında ve yürütülmesinde desteklerini esirgemeyen kıymetli hocalarım ve tez danışmanlarım Prof.Dr. Feriha ERCAN ve Dr.Öğr.Ü. Kayıhan KARAÇOR'a, uzmanlık eğitimimdeki katkılarından dolayı Prof.Dr. Meryem ÇAM'a ve Doç.Dr.Hakan SOYLU'ya; tez çalışmamda destek ve yardımlarıyla her zaman yanımda olan ve benim için birer arkadaş, dost ve hatta kardeş olan, hayatım boyunca hayatımda yer tutacak ve hep hatırlanacak sevgili Doç.Dr. Ersin BEYAZÇİÇEK ve Dr.Öğr.Ü. Özge BEYAZÇİÇEK'e teşekkür etmeyi bir borç bilirim. Sevgili dünyalar tatlısı güzel kardeşim Eren Burak İŞGÖREN'e de her yorulduğumda bana güzel muhabbetiyle eşlik edip güzel zamanlar geçirmemi ve stresimi atmamı sağladığı için ayrıca teşekkür ederim. Bölümün yüksek lisans öğrencileri Zeynep Sare KOLOĞLU ve Selcan ATAŞ'a güler yüzleri ve yardımseverlikleri için ayrıca teşekkür ederim.

Aldığım her kararda destekleri ve sonsuz sevgileri için hayatta en büyük şansım olan canım annem Saliha ŞEFLEK ve bugünleri göremese de benle hep gurur duyacağını bildiğim canım babam Mehmet Ali ŞEFLEK'e bana emek verip beni türlü yokluklar içinde bugünlere getirdikleri için teşekkürlerimi sunuyorum, bu süreçte onun yokluğuyla sınıandığımız bize büyük bir acı ve keder bırakan sevgili Ablam Eda EKİNCİ'yle mutluluğumu paylaşmayı çokça isteyip paylaşamazsam da onun herşeyi gördüğüne eminim, bir gün tekrar buluşana kadar şimdilik bulunduğun yerde huzur içinde olmanı dilerim.

Tez sürecimde desteği ve anlayışı ile hep yanımda olan bana çokça müsamaha gösteren ve yükümü paylaşan değerli eşim Esra ŞEFLEK'e ve varlığıyla yüzümü her durumda güldüren, varlıklarıyla bu dünyadaki en güzel mücevherlerim ve en değerli varlıklarım olan canım çocuklarım biricik oğlum Deniz Kerem ŞEFLEK ve biricik kızım Esmanur Zeynep ŞEFLEK'e teşekkür ediyorum.

Dr. EMRAH ŞEFLEK

MAYIS- 2024

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
TEŞEKKÜR.....	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ÖZET.....	x
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Pankreasın Anatomisi	3
2.2. Pankreasın Embriyolojik Gelişimi.....	4
2.3. Pankreasın Histolojisi	5
2.3.1. Ekzokrin Pankreas.....	6
2.3.2. Endokrin Pankreas	6
2.3.2.1. Langerhans Adacık Hücre Tipleri.....	7
2.3.3. Adacık Aktivitesinin Regülasyonu	7
2.4. Pankreasın Fizyolojisi.....	8
2.4.1. İnsülin Hormonu	9
2.4.1.1. İnsülinin Kimyasal Özellikleri ve Sentezi.....	11
2.4.1.2. İnsülinin Hedef Hücrelerdeki Etkisi	12
2.4.1.3. İnsülinin Karbonhidrat Metabolizması Üzerindeki Etkisi.....	12
2.4.1.4. İnsülinin Yağ ve Protein Metabolizması Üzerine Etkileri	12
2.4.1.6. İnsülin Sekresyon Mekanizması.....	13
2.4.2. Glukagon Hormonu.....	13
2.4.3. Somatostatin Hormonu.....	15
2.5. Diyabetes Mellitus	16

2.5.1 Diyabet Epidemiyolojisi.....	17
2.5.2. Diyabetes Mellitus Tipleri.....	18
2.5.2.1 Tip1 Diyabetes Mellitus	18
2.5.2.2 Tip2 Diyabetes Mellitus	18
2.5.2.3 Gestasyonel Diyabetes Mellitus	19
2.5.2.4 Olgunlukta Başlayan Genç Diyabet Formları	19
2.5.3. Diyabetes Mellitus'un Komplikasyonları ve Patogenezi.....	19
2.5.3.1 Mikrovasküler Komplikasyonlar:.....	21
2.5.3.2 Makrovasküler Komplikasyonlar:	21
2.5.3.3 DM'nin Komplikasyonlarının Patogenezi.....	21
2.5.3.3.1 Poliol Yolu	22
2.5.3.3.2 AGE Öncüllerinin Hücre içi Üretimi	22
2.5.3.3.4 Protein Kinaz-C'nin Etkinleştirilmesi.....	22
2.5.3.3.5 Artan Heksozamin Yolu Aktivitesi.....	22
2.5.3.3.6 Birleşik Bir Mekanizma.....	23
2.6. Streptozotosin (STZ).....	26
2.6.1 STZ'nin Sentezi	27
2.6.2. STZ'ye Bağlı DNA Hasarı ve Serbest Radikaller.....	28
2.7. HT, Yapısı ve Özellikleri.....	29
2.8. PI3K.....	33
2.9. Protein Kinaz B.....	34
2.10. PI3K/AKT Yolağı.....	35
2.11. GLUT-2	37
3.GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	38

3.1. Deney Hayvanları	38
3.2. Maddeler ve Dozları	38
3.3. Cerrahi Prosedür	38
3.4. Diyabet Modeli, Deney Grupları ve Maddelerin Veriliş Yolları	38
3.5. İzlenen Yol.....	39
3.5.1. Rutin Parafin Takibi	39
3.6. Hematoksilen-Eozin Boyama Prosedürü	40
3.7. İmmünohistokimya Tekniğinin Uygulanması	40
3.7.1. İmmünohistokimya Protokolü.....	40
3.8. Işık Mikroskopik İnceleme	42
3.9. İstatistiksel Analizler	42
4. BULGULAR	43
4.1. Deneklerin Kan Glikoz Ölçümleri	43
4.2. Grupların Vücut Ağırlığı Değişimleri.....	45
4.3. Hematoksilen-Eozin Boyama Bulguları	45
4.4. İmmünohistokimyasal Değerlendirme.....	51
4.3.1. İnsülin İmmünohistokimyasal Boyama.....	52
4.3.2. PI3K İmmünohistokimyasal Boyama	58
4.3.3. pAKT İmmünohistokimyasal Boyama	64
4.3.4. GLUT-2 İmmünohistokimyasal Boyama.....	70
4.4. İmmünohistokimyasal Analiz	76
4.4.1. Anti-İnsülin Antikoru ile İmmünohistokimyasal Analiz	76
4.4.2. Anti-PI3K Antikoru ile İmmünohistokimyasal Analiz	77
4.4.3. Anti-pAKT Antikoru ile İmmünohistokimyasal Analiz	78
4.4.4. Anti-GLUT-2 Antikoru ile İmmünohistokimyasal Analiz.....	79
5. TARTIŞMA	80
6. SONUÇLAR	86
7. KAYNAKLAR.....	87
8. EKLER.....	115
Ek 1. İntihal Raporu.....	115

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. Pankreasın anatomisi	3
Şekil 2. 2. Pankreas hücrelerinin farklılaşması sırasındaki genler ve soy ilişkileri	5
Şekil 2. 3. İnsülin etki mekanizmasının şekilsel özeti	10
Şekil 2. 4. İnsan, domuz, sığır ve koyun insülinin amino asit dizileri.	11
Şekil 2. 5. Dünyada diyabet	17
Şekil 2. 6. Diyabetik komplikasyonlara katkıda bulunan ana alanların şematik olarak gözden geçirilmesi.....	20
Şekil 2. 7. Mitokondriyal aşırı süperoksit üretimi, GAPDH'yi inhibe ederek dört ana hiperglisemik hasar yolunu aktive eder	24
Şekil 2. 8. İnsülin direnci, FFA akışını ve oksidasyonunu artırarak makrovasküler endotelial hücrelerde mitokondriyal ROS'un aşırı üretimine neden olur	25
Şekil 2. 9 Hipergliseminin neden olduğu hücresel hasarın birleşik mekanizmasının unsurlarını gösteren şematik bir özet.....	26
Şekil 2. 10. Her ve arkadaşları tarafından belirlenen STZ'nin yapısı.	27
Şekil 2. 11. Tirozol, hydroxytyrosol (HT) ve oleuropeinin kimyasal yapısının şematik gösterimi	30
Şekil 2. 12. HT'nin kullanımının ve sağlık açısından faydalarının grafiksel özeti	31
Şekil 2. 13. HT'nin hücresel sinyal kaskadları üzerindeki etkileri.	33

Şekil 2. 14 PI3K/AKT yolu. PI3K, AKT'yi aktive eder ve AKT, apoptotik, metabolizmayla hücre döngüsünde ilerleme ve çeşitli hücresel fonksiyonların düzenlenmesinde rol oynayan aşağı yöndeki substratları fosforile eder.	36
Şekil :4.1 Grupların kan glikoz düzeyi değişimi. ($P<0,001$)	43
Şekil :4.3 Tüm grupların pankreas dokusunun H&E boyaması (400x-100x).....	46
Şekil :4.4 Kontrol Grubu H&E boyama, normal langerhans adacığı (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)	47
Şekil :4.5 HT Grubu H&E boyama, normal langerhans adacığı (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)	48
Şekil :4.6 STZ Grubu H&E boyama (400x) (Kırmızı oklar: Langerhans adacıklarında hücre kaybı ve vakuoler sitoplazmalı hücreler. Siyah ok: dejeneratif hücreler(piknotik çekirdek)).....	49
Şekil :4.7 STZ+HT Grubu H&E boyama(400x) (Kırmızı ok: vakuoler sitoplazmalı hücreler Siyah ok: dejeneratif hücreler(piknotik çekirdek)).....	50
Şekil :4.8 Anti-insülin Antikoru ile pozitif ve negatif boyama (400x)	52
Şekil :4.9 Anti-İnsülin Antikoru ile Kontrol grubunun immünohistokimyasal boyaması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi))	54
Şekil :4.10 Anti-İnsülin Antikoru ile HT grubunun immünohistokimyasal boyaması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)	55
Şekil :4.11 Anti-İnsülin Antikoru ile STZ grubunun immünohistokimyasal boyaması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi).....	56
Şekil :4.12 Anti-İnsülin Antikoru ile STZ+HT grubunun immünohistokimyasal boyanması	57

Şekil :4.13 Grupların anti-PI3K Antikoru ile pozitif ve kontrol negatif boyanması (400x).	58
Şekil :4.14 Anti-PI3K Antikoru ile pozitif, Kontrol grubunun immünohistokimyasal boyaması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)	60
Şekil :4.15 Anti-PI3K Antikoru ile pozitif, HT grubunun immünohistokimyasal boyanması (400x)(Kırmızı ok: β hücresi).....	61
Şekil :4.16 Anti-PI3K Antikoru ile pozitif ,STZ grubunun immünohistokimyasal boyaması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)	62
Şekil :4.17 Anti-PI3K Antikoru ile pozitif, STZ+HT grubunun immünohistokimyasal boyaması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)	63
Şekil :4.18 Anti-pAKT Antikoru ile grupların pozitif ve kontrol negatif boyanması (400x)	64
Şekil :4.19 Anti-pAKT Antikoru ile pozitif Kontrol grubunun immünohistokimyasal boyaması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)	66
Şekil :4.20 Anti-pAKT Antikoru ile pozitif HT grubunun immünohistokimyasal boyaması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi).....	67
Şekil :4.21 Anti-pAKT Antikoru ile pozitif STZ grubunun immünohistokimyasal boyanması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)	68
Şekil :4.22 Anti-pAKT Antikoru ile pozitif STZ+HT grubunun immünohistokimyasal boyanması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)	69
Şekil :4.23 Grupların anti-GLUT-2 Antikoru ile pozitif ve kontrol negatif boyaması (400x)	70
Şekil :4.24 Anti-GLUT-2 Antikoru ile pozitif Kontrol grubunun immünohistokimyasal boyaması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)	72

Şekil :4.25 Anti-GLUT-2 Antikoru ile pozitif HT grubunun immünohistokimyasal boyanması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)	73
Şekil :4.26 Anti-GLUT-2 Antikoru ile pozitif STZ grubunun immünohistokimyasal boyanması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)	74
Şekil :4.27 Anti-GLUT-2 Antikoru ile pozitif STZ+HT grubunun immünohistokimyasal boyanması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)	75
Şekil :4.28 Pankreastaki Langerhans adacığının anti-İnsülin antikoru ile immünohistokimyasal boyanma yoğunluğu.	76
Şekil :4.29 Pankreastaki Langerhans adacığının anti-PI3K antikoru ile immünohistokimyasal boyanma yoğunluğu.....	77
Şekil :4.30 Pankreastaki Langerhans adacığının anti-pAKT antikoru ile immünohistokimyasal boyanma yoğunluğu.....	78
Şekil : 4.31 Pankreastaki Langerhans adacığının anti-GLUT-2 antikoru ile immünohistokimyasal boyanma yoğunluğu.....	79

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2. 1. Glukagonun dokular üzerindeki etkileri 14

Tablo 2. 2. Glukagon salgılanmasını etkileyen faktörler 15

Tablo 3. 1. Deney grupları, maddeler ve veriliş yolları . **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

Tablo 4 1 Deney gruplarının kan glikoz değerleri 44

SİMGELER VE KISALTMALAR

AGE: İleri glikasyon son ürünleri

pAKT: Protein Kinase B

DM: Diyabetes Mellitus

DNA: Deoksiribonükleik asit

DR: Diyabetik Rat

Eph: Efrin

EVOO: Extra Virgin Olive Oil (Sızma zeytinyağı)

FFA: Serbest yağ asitleri

FGF-2: Fibroblast growth factor 2

GAPDH: Gliseraldehit-3 fosfat dehidrojenaz

GDM: Gestasyonel Diyabetes mellitus

GLUT-2: Glucose Transporter 2

GPCR: G-protein bağlı reseptör

GSIS: Glikoz ile uyarılan insülin sekresyonu

H&E: Hematoksilen ve Eozin boyama

HT: Hidroksitirozol

IADPSG/WHO: Dünya sağlık örgütü diyabet ve gebelik çalışma grubu

IR: İnsulin reseptörü

IRS1 ve 2: İnsülin reseptör substrat 1 ve 2

İ.P.: İntraperitoneal

LDH: Laktat dehidrojenaz

MnSOD: Manganez süperoksit dismutaz

MODY: Olgunlukta başlayan genç diyabet

N-CAM: Nöral hücre adezyon molekülü

NO: Nitrik Oksit

NOAEL: Gözlemlenmeyen yan etki düzeyi

OOPC: Olive Oil Polyphenol Council (Zeytinyağı Polifenolleri)

PARP: Poli (ADP-Riboz) polimeraz

PDK1: Fosfoinositide bağımlı protein kinaz-1

PDX1: Pankreatik ve Duodenal Homeobox 1

PI: Fosfatidilinositol

PI3K: Phosphoinositide 3-Kinase

PIP2: Fosfatidilinositol 4,5 bifosfat

PIP3: Fosfatidilinositol 3,4,5 trifosfat

PKC: Protein kinaz C

PP: Pankreatik polipeptit

PTEN: Fosfataz ve tensin analogu

RNA: Ribonükleik asit

ROS: Reaktif oksijen türleri

RTK: Reseptör tirozin kinaz

SDF-1: Stromal hücre kaynaklı faktör-1

Shh: Sonic hedgehog

STZ: Streptozotosin

T1DM: Tip 1 Diyabetes mellitus

T2DM: Tip 2 Diyabetes mellitus

TBARS: Tiyobarbitürik asit reaktif maddeler

UCP-1: Ayırma proteini 1

α : Alfa

β : Beta

γ : Gama

ÖZET

Diyabetes Mellitus (DM) yüksek kan glikozuyla seyreden ve tedavi edilmediğinde ciddi morbidite ve mortaliteye neden olan metabolik bir hastalıktır. DM dünyada milyonlarca kişiyi etkilemekte ve tedavisi için ciddi ekonomik bütçeler ayrılmaktadır. Diyabetin ve buna bağlı komplikasyonların tedavisi için birçok tedavi yöntemi denenmektedir. Hidroksitirozol (HT), zeytin yapraklarında ve zeytinyağında bulunabilen oleuropeinin ürünü, iyi bir biyoyararlanıma sahip, toksisitesinin olmamasıyla ön plana çıkan doğal-güçlü fenolik bir antioksidandır. Diyabet komplikasyonlarında antidiyabetik özellikleri ortaya konmuş hidroksitirozol, diyabetin tedavisinde de bir seçenek olarak düşünülebilir. Bu bağlamda çalışmamızda Streptozotosin (STZ) ile indüklenmiş diyabetik rat modelinde HT'nin pankreas β hücrelerindeki Phosphoinositide 3-Kinase/ Protein Kinase B (PI3K/AKT) yolağı, insülin ve glucose transporter-2 (GLUT-2) ekspresyonu üzerine etkilerini araştırdık. Bu çalışmada 28 adet erkek Wistar cinsi rat kullanılmıştır. Hayvanlar; Kontrol, HT, STZ ve STZ+HT olmak üzere rastgele dört gruba ayrılmış olup, intraperitoneal (i.p.) tek doz (55 mg/kg) STZ ile diyabet indüklenmiştir. HT ve STZ+HT grubuna 1 ay boyunca i.p. olarak HT (10 mg/kg/gün) enjeksiyonu yapılmıştır. STZ grubu hayvanlarda yüksek kan şekere ek olarak vücut ağırlığı düşmüş, idrar yapma ve su içme davranışında artış gözlenmiştir. STZ+HT grubu ratlarda diyabet gelişse de kan glikoz düzeyleri istatistiksel anlam içermeyecek şekilde bir miktar azalmıştır. STZ grubuna kıyasla STZ+HT grubunda pankreas dokusu Langerhans adacıkları β hücrelerinde insülin, GLUT-2, PI3K ve AKT ekspresyonunda anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. Bu durum da bize HT'nin antihiperglisemik etkisinin pankreatik dokuda Langerhans adacıklarında PI3K/AKT yolağı üzerinden GLUT-2 ve insülin ekspresyonunu artırarak göstermiş olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Diyabetes Mellitus, Streptozotosin, Hidroksitirozol, İnsülin, PI3K, AKT, GLUT-2

ABSTRACT

Diabetes Mellitus (DM) is a metabolic disease that progresses with high blood glucose and causes serious morbidity and mortality if left untreated. DM affects millions of people in the world and serious economic budgets are allocated for its treatment. Many treatment methods are being tried for the treatment of diabetes and its related complications. Hydroxytyrosol (HT), the product of oleuropein that can be found in olive leaves and olive oil, is a natural-potent phenolic antioxidant with good bioavailability and lack of toxicity. Hydroxytyrosol, whose antidiabetic properties have been demonstrated in diabetic complications, can also be considered as an option in the treatment of diabetes. In this context, in our study, we investigated the effects of HT on the Phosphoinositide 3-Kinase/Protein Kinase B (PI3K/AKT) pathway, insulin and Glucose Transporter-2 (GLUT-2) expression in pancreatic β cells in the Streptozotocin (STZ)-induced diabetic rat model. In this study, 28 male Wistar rats were used. Animals were randomly divided for four groups as; Control, HT, STZ and STZ+HT, and diabetes was induced with a single intraperitoneal (i.p.) dose (55 mg/kg) of STZ. HT (10 mg/kg/day) were given to the i.p. to HT and STZ+HT groups for 1 month. In addition to elevated blood sugar, decreased body weight and an increase in urination and drinking water behavior was observed in STZ group animals. Although diabetes developed in the STZ+HT group rats, blood glucose levels decreased slightly without statistical significance. Compared to the STZ group, there was a significant increase in insulin, GLUT-2, PI3K and AKT expression in pancreatic tissue islets of Langerhans β cells in the STZ+HT group. This suggests that HT exerts its antihyperglycemic effect by increasing GLUT-2 and insulin expression via PI3K/Akt pathway in islets of Langerhans in pancreatic tissue.

Keywords: Diabetes Mellitus, Streptozotocin, Hydroxytyrosol, Insulin, PI3K, pAKT, GLUT2

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Diyabet, metabolik hastalıklardan biri olup, insülin üretimindeki bozukluklar veya insülin etkilerine direnç gibi nedenlerle ortaya çıkan hiperglisemi ile karakterizedir. Kronik hipergliseminin uzun süreli etkileri, gözler, böbrekler, sinirler, kalp ve kan damarları gibi çeşitli organlarda hasar, işlev bozukluğu ve yetmezliğe yol açabilir. Diyabetin gelişiminde, pankreasın β hücrelerinin otoimmün yıkımı ve buna bağlı olarak insülin eksikliği ile başlayan, ardından insülin etkisine dirençle sonuçlanan çeşitli patojenik süreçler rol oynar [1].

Uluslararası Diyabet Federasyonunun 2021 atlasına göre diabetes mellitus (DM yıllar içinde morbidite ve mortaliteye yol açarak milyonlarca kişiyi etkileyecek ve ciddi ekonomik kayıplara sebep olacaktır [2].

Otoimmün diyabet olarak da bilinen tip 1 DM (T1DM), pankreas β hücre kaybına bağlı insülin eksikliği ile karakterize, hiperglisemiye yol açan kronik bir hastalıktır. Semptomatik başlangıç yaşı genellikle çocukluk veya ergenlik döneminde olsa da bazen belirtiler çok daha geç gelişebilir. T1DM'nin etiyolojisi tam olarak anlaşılamamış olsa da, hastalığın patogenezinin T hücre aracılı β hücrelerinin yıkımını içerdiği düşünülmektedir [3]. T1DM, tüm DM vakalarının yaklaşık %5 ila %10'unu oluşturur [1], ve genellikle çocukluk çağında teşhis edilir [4], [5].

Sızma zeytinyağının (EVOO) çözünür fraksiyonu esas olarak fenolik asitler de dahil olmak üzere fenolik bileşikler (OOPC'ler) içerir, EVOO 'nun fenolik bileşiklerinden biri olan Hidroksitirozol (HT) [6], anti-aterojenik, kardiyoprotektif, antikanser, nöroprotektif, lipid düzenleyici, anti-obezite, anti-mikrobiyal, anti-viral, osteoprotektif, anti-inflamatuvar ve anti-diyabetik etkiler göstermektedir [7]. HT'nin insülin duyarlılığını arttırdığı ve uygun insülin sinyalinin geri kazandığı gösterilmiştir [8].

Phosphoinositide 3-Kinase/Protein Kinase B (PI3K/AKT)'ler, sinyalleşmeyi ve hücre içi veziküler trafiği düzenlemek için hücre içi inositol lipidlerini fosforile eden bir lipid kinaz ailesidir. İnsanlarda, fosfatidilinositol-3-kinazlar (PI3K), üç sınıfa ayrılan sekiz üyeden

oluşur. Tüm PI3K'lar, inositol halkasının 3. pozisyonunda fosfatidilinositollerin (PI) fosforilasyonu olan benzer bir reaksiyonu katalize eder. Bununla birlikte, farklı substratlara, ürünlere ve işlevlere sahiptirler [9][10][11]. Glikoz homeostazını sağlamak için insülin fonksiyonu ve salgısı arasında sıkı bir koordinasyon gereklidir. PI3K yolu, insülinin metabolik etkilerini iletmekte kritik bir rol oynar. Bu yolun ana etkileyicisi Protein Kinase B (AKT)'dir ve fosforile edilmiş formuyla birçok hedefin aktivitesini düzenler [12].

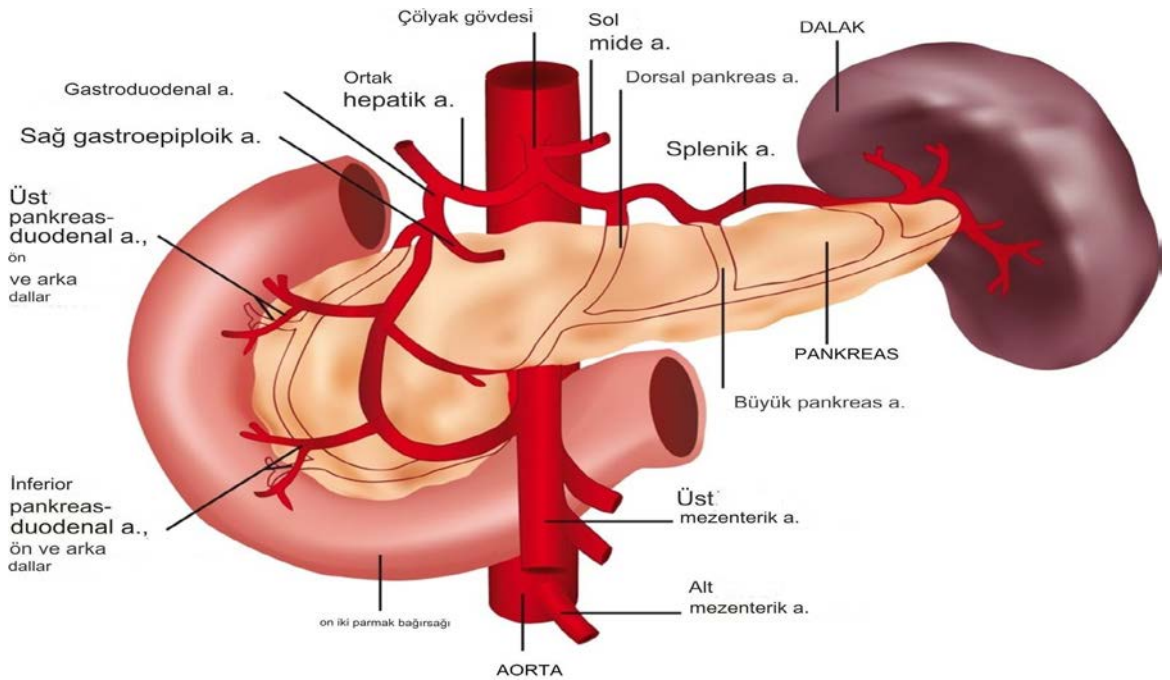
GLUT-2, karaciğer, pankreas β hücreleri, böbrek ve bağırsakta ifade edilen yüksek K_m değerine sahip ve glikoza karşı nispeten düşük afinitesi ile ayırt edilen kolaylaştırıcı bir glikoz taşıyıcısıdır [13], [14], [15], [16], [17], [18]. Pankreas β hücrelerinde eksprese edilen kolaylaştırıcı glikoz taşıyıcı izoform olan GLUT-2'nin, glikoz ile uyarılan insülin sekresyonunda rol oynadığına inanılmaktadır [18].

Çalışmada STZ indüklü diyabette HT'nin hiperglisemiye düşürücü ve pankreas langerhans adacıkları β hücrelerindeki tedavi edici etkisini PI3K/AKT yolağı üzerinden gerçekleştirip gerçekleştirmediğini araştırdık. Bu sebeple çalışmada HT'nin STZ indüklü diyabetik rat modeli üzerindeki etkisi, immünohistokimyasal yöntemle PI3K/AKT yolağı üzerinden GLUT-2 ve insülin ekspresyonu gösterilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pankreasın Anatomisi

Yetişkin bir insanın pankreası ortalama 72 cm³ hacme sahiptir (**Şekil 2.1**) [19]. 12 ile 20 cm uzunluğunda, 3 ile 5 cm yüksekliğinde ve 1 ile 3 cm genişliğindedir [20]. Pankreas, arka karın duvarında bulunan, uzun, yumuşak, düz, lobüle ve sarımsı bir bezdir. Retroperitoneal bir organdır ve ince bir kapsüle sahiptir. Baş, boyun, gövde ve kuyruk olmak üzere dört bölüme ayrılabilir. Pankreasın başı ve boynu orta çizginin sağında hafifçe uzanırken, kuyruk orta çizginin solundadır. Pankreasın gövdesi sola doğru geçer ve kuyrukla sürekli hale gelmek için hafifçe yukarı doğru eğilir. Sağdan sola doğru geçerken, pankreasın gövdesi aort ve vertebral kolonun önünde, yaklaşık olarak birinci lomber vertebra seviyesinde transpilorik düzlemde kemerlenir[21]. Pankreasın başı ve boynu süperior ve inferior pankreatikoduodenal arterler tarafından beslenir. Pankreasın başı ve boynu superior ve inferior pankreatikoduodenal venlere boşalır [21].



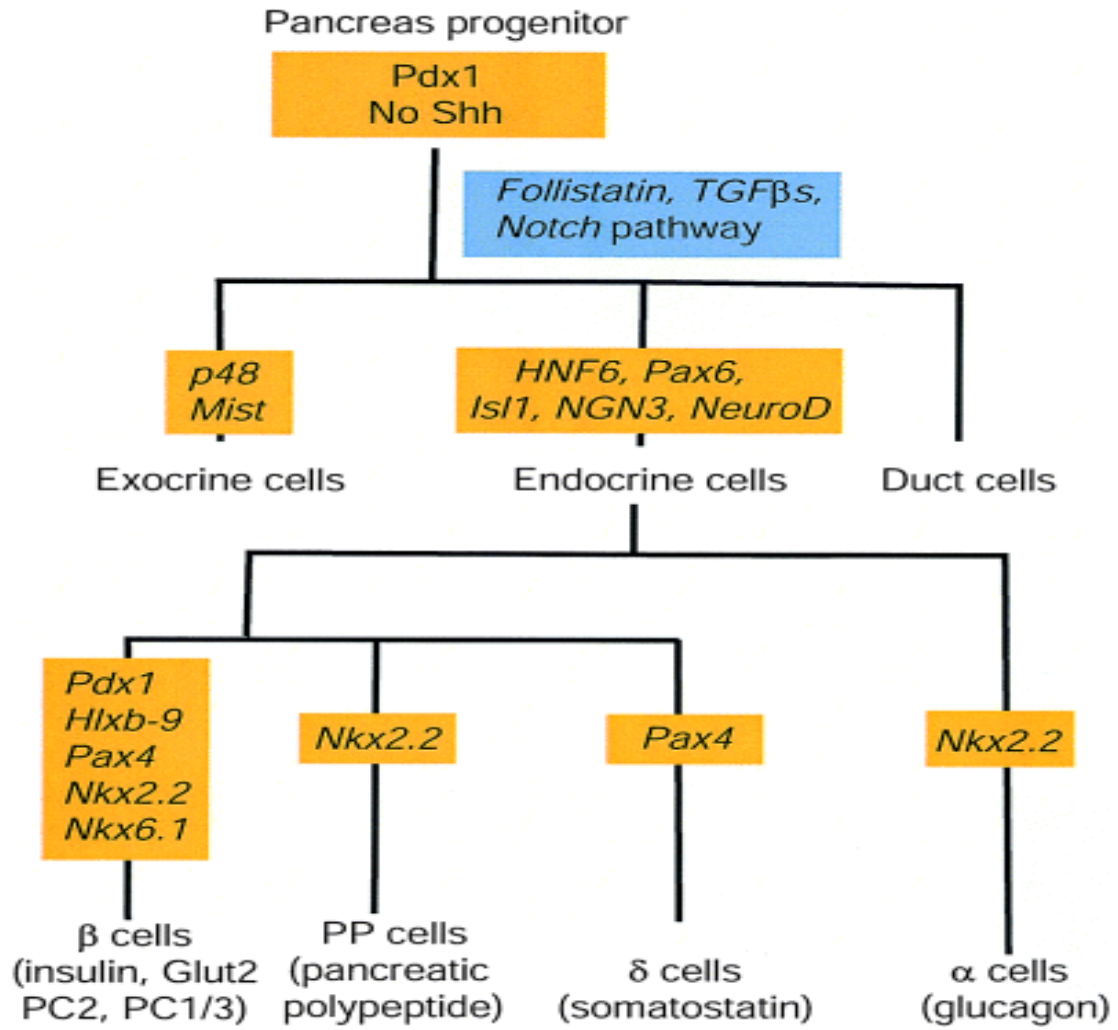
Şekil 2. 1. Pankreasın anatomisi [19]

Pankreas kanalı (Wirsung kanalı) bezin kuyruğundan kaynaklanır, tüm organ boyunca uzanarak ortak safra kanalıyla birleşir. Bu birleşme hepatopankreatik ampulla (Vater'in ampullası) olarak adlandırılır ve majör duodenal papilla üzerinde bulunur. Patent aksesuar pankreas kanalı (Santorini kanalı) popülasyonun %41-52,5'inde bulunabilir [22]. Bu kanal çoğunlukla duodenal minör papilla aracılığıyla duodenuma veya vakaların %30'unda pankreatik kanala akar [23].

2.2. Pankreasın Embriyolojik Gelişimi

Pankreas, mezenterin tabakaları arasında gelişir ve endodermal hücrelerin dorsal ve ventral pankreatik tomurcuklarından oluşur. Bu tomurcuklar, önbarsağın kaudal kısmından türetilir. Pankreasın büyük bir kısmı, ilk ortaya çıkan ve ventral tomurcuğun hafif bir mesafede kraniyalinde gelişen daha büyük dorsal pankreatik tomurcuğundan türetilir. Daha küçük olan ventral pankreas tomurcuğu, safra kanalının onikiparmak bağırsağına giriş noktasına yakın bir yerde gelişir ve ventral mezenterin tabakaları arasında büyür. Onikiparmak bağırsağı sağa döndükçe ve C şeklini aldıkça, tomurcuk safra kanalıyla birlikte dorsale taşınır. Kısa bir süre sonra dorsal pankreatik tomurcuğun arkasında onunla birleşir. Ventral pankreatik tomurcuk, pankreasın başının bir kısmını ve uncinate bölgesini oluşturur. Mide, duodenum ve ventral mezenteri döndükçe, pankreas dorsal karın duvarı boyunca yer almaya başlar (retroperitoneal bir konumda). Pankreatik tomurcuklar birleştikçe, kanalları anastomoz yapar veya birbirine açılır. Pankreatik kanal, ventral tomurcuğun kanalı ve dorsal tomurcuğun kanalının distal kısmından oluşur. Dorsal tomurcuğun kanalının proksimal kısmı genellikle ikincil bir pankreatik kanal olarak kalır ve ana duktusa yaklaşık olarak 2 cm kraniyalde yer alan minör papillaya açılır. İki kanal sıkça birbirleriyle iletişim kurar. Yaklaşık olarak insanların %9'unda pankreatik kanallar birleşmez ve sonuç olarak iki kanal oluşur [24]

Moleküler çalışmalar, ventral pankreasın Pankreatik ve Duodenal Homeobox-1 (PDX1) transkripsiyon faktörünün ifade edildiği duodenumun ventral bölgesindeki bir çift yönlü hücre popülasyonundan geliştiğini göstermektedir. Gelişmekte olan kalp tarafından salgılanan fibroblast büyüme faktörü-2 (Fibroblast growth factor- 2,FGF-2-)'nin rol oynadığı bir mekanizmanın gelişimde katkı sağladığı varsayılmaktadır. Dorsal pankreatik tomurcuğun oluşumu, notokord ilişkili endoderimde Sonic hedgehog (Shh) ifadesini bloke eden aktivin ve FGF-2 salgıladığı duruma bağlıdır [24].



Şekil 2. 2. Pankreas hücrelerinin farklılaşması sırasındaki genler ve soy ilişkileri [25]

2.3. Pankreasın Histolojisi

Pankreasın parankimi (temel hücresel doku), pankreatik tomurcukların endodermindeki hücrelerden kaynaklanır. Fetal dönemin erken aşamasında, pankreatik asinilerin (asinler bezlerin sekretuar kısımları), ucundaki hücre kümelerinden gelişmeye başlar. Pankreatik adacıklar, tüplerden ayrılan ve asinusların arasında bulunan hücre gruplarından gelişir. Son çalışmalar, mezoderimde ifade edilen, stromal hücre kaynaklı faktör 1 (SDF-1) kemokininin, tüplerin oluşumunu ve dallanmasını kontrol ettiğini göstermektedir. Pankreatik adacıkların endokrin hücrelerinin diferansiyasyonu için nörojenin-3 transkripsiyon faktörünün ifadesi gereklidir [24].

İnsülin salgılaması fetal dönemin erken aşamasında (10 haftada) başlar. Glukagon ve somatostatin içeren hücreler, insülini salgılayan beta hücrelerinin diferansiyasyonundan önce gelişir. Glukagon, 15. haftada fetal plazmada tespit edilmiştir [24].

Annede DM varlığında, fetal pankreasta insülini salgılayan β hücreleri sürekli olarak yüksek glikoz seviyelerine maruz kalır. Sonuç olarak, bu hücreler insülin salgılama hızını artırmak için hipertrofiye uğrar [24].

2.3.1. Ekzokrin Pankreas

Pankreas endokrin ve ekzokrin olmak üzere 2 kısımdan oluşan kompleks bir bezdir. Konik şekilli asinüsü oluşturan ekzokrin hücreler enzim üretirler ve merkezi bir lümenin etrafında düzenlenmişlerdir. Pankreasın lobülleri, kılcacık damarlar içeren bağ dokusu ile ayrılan asinüslerden oluşur. Ara kanallar, asinüsü intralobüler kanallarla birleştirir. Bu kanalın proksimal kısmı tek katlı yassı epitel ile, distal kısmı tek katlı kübik epitel ile kaplıdır. Büyük interlobüler kanallar ile ana kanallar çok katlı prizmatik epitel ile kaplıdır ve mukoza üreten hücreler içerir [26][27].

Pankreas, bir anatomik yapıya entegre edilmiş iki bölümden oluşur. Pankreasın ekzokrin bileşeni, su, bikarbonat iyonları (alkali reaksiyonunu belirleyen), tripsinojen, kimotripsinojen, karboksipeptidazlar, elastaz, lipaz dahil olmak üzere çeşitli enzimler içeren pankreas suyunu (günde yaklaşık 1200-1500 ml) salgılar. Fosfolipaz A, amilaz, deoksiribonükleaz ve ribonükleaz ve pankreas suyu, pankreas kanalları yoluyla duodenuma atılır [28][29].

2.3.2. Endokrin Pankreas

Pankreasın endokrin bileşeni, beş farklı hücre tipinden oluşur ve bu hücreler farklı hormonlar üretir. β hücreleri insülin, Alfa (α) hücreleri glukagon, delta (δ) hücreleri somatostatin, PP (gama - γ -) hücreleri pankreatik polipeptit ve epsilon (ϵ) hücreleri ghrelin salgılanmasında rol alır. Bu hormonlar, salgılandıkları organlara ve dokulara kan dolaşımı aracılığıyla taşınır. Bu endokrin hücre kümeleri, ilk olarak Langerhans tarafından 1869'da tanımlanmıştır ve günümüzde genellikle Langerhans adacıkları olarak adlandırılmaktadır. Bu adacıklar çoğunlukla küresel yapıdadır, düz veya uzun da olabilirler. Adacıkların çapları 50 μ m ile 500 μ m arasında değişir, en fazla ölçülebilen adacıklar ise genellikle 100-200 μ m çapındadır. Sıklıkla adacıklar pankreas gövdesinde ve pankreasın kuyruğunda bulunur. Bir insan pankreasında, pankreas kütesinin yaklaşık %1'ini oluşturan yaklaşık 2 milyon adacık bulunmaktadır [30], [31], [32][33][34][35], [36].

2.3.2.1. Langerhans Adacık Hücre Tipleri

Pankreas adacıkları, pankreasın asiner dokusuna gömülü, mini organlar olarak işlev gören ve pankreas kütlesinin sadece %1-2'sini oluşturan ayırık, küresel hücre kümeleridir. Adacıklar beş tip hormon salgılayan endokrin hücre içerir. İnsülin salgılayan β hücresi en bol olanıdır, bunu glukagon salgılayan α hücresi, ardından somatostatin salgılayan δ hücresi izler. Daha nadir görülen iki hücre tipi, pankreatik polipeptit (PP- γ - hücreleri) ve ghrelin (ϵ hücreleri) salgılayan hücrelerdir [37].

2.3.3. Adacık Aktivitesinin Regülasyonu

Adacık endokrin hücreleri tarafından salgılanan hormonlar, besin metabolizmasını düzenler, özellikle de glikoz homeostazını düzenler. Hormonları kan dolaşımına salmadan önce, endokrin hücreler çeşitli sinyalleri algılar ve entegre eder, bunlar arasında glikoz, hormonlar, nörotransmitterler ve diğer besinler bulunur [38], [39], [40], [41].

Endokrin hücre etkileşimleri, kritik öneme sahip olup, hücre adezyon moleküllerini (örneğin, N-CAM, kaderinler), boşluk bağlantılarını ve efrin (Eph) reseptörlerini ve ligandlarını içeren endokrin hücreler arasındaki bağlantıları içerir. Hücre adezyon molekülleri, adacık mimarisinin gelişimi açısından önemlidir; örneğin, nöral hücre adezyon molekülünün (N-CAM) bloke edilmesi, endokrin hücre tiplerinin düzgün bir şekilde ayrılmasını önler ve hem insülin hem de glukagon sekresyonunda anormalliklere yol açar [42], [43], [44].

Gelişim sürecinde, E-kaderin β hücre agregasyonu ve adacık oluşumu için gereklidir ve uygun adacıklarda glikoz algılama ve insülin sekresyonu için önemlidir [45], [46], [47].

Gap junction, hücrelerin sitoplazmasını birbirine bağlar ve β hücrelerinde sitoplazmik kalsiyum da dahil olmak üzere iyon ve metabolitlerin değişimine izin verir. Bu kalsiyum değişimi, β hücreleri arasında kalsiyum salınımlarını senkronize etmek ve normal biyosentez, depolama ve insülin salınımını sürdürmek için gereklidir; boşluk bağlantı proteinlerinin kaybı, pulsatil glikoz ile uyarılan insülin salınımını bozar [48], [49], [50], [51], [52].

Eph'ler, Eph ligandlarını bağladıktan sonra sinyal vermeyi başlatan reseptör tirozin kinazlardır[53].

Pankreas β hücreleri, her iki Eph sınıfını (A ve B) eksprese eder ve EphA sinyali hem yüksek hem de düşük glikozda insülin sekresyonunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynar [54], [55] .

Bu endokrin hücre bağlantılarının çoğu adacık mimarisinin gelişiminde ve normal β hücresi fonksiyonunun korunmasında hayati rol oynarken, çoğunlukla β hücre proliferasyonunda rol oynadıklarına dair çok az kanıt vardır. Bunun bir istisnası, farelerde β hücre sağkalımına ve proliferasyonuna aracılık ettiği gösterilen E-kaderindir [56].

Benzer şekilde, başka bir yerde gözden geçirilen adacık endokrin hücreleri arasındaki parakrin ve otokrin sinyal [57], [58], öncelikle endokrin hücre fonksiyonunu modüle etmeye yarar. Bununla birlikte, bazı durumlarda adacık hücreleri arasında sinyal molekülleri olarak görev yapan nörotransmitterler ve nöropeptitler, β hücre kütesini de düzenler [37].

2.4. Pankreasın Fizyolojisi

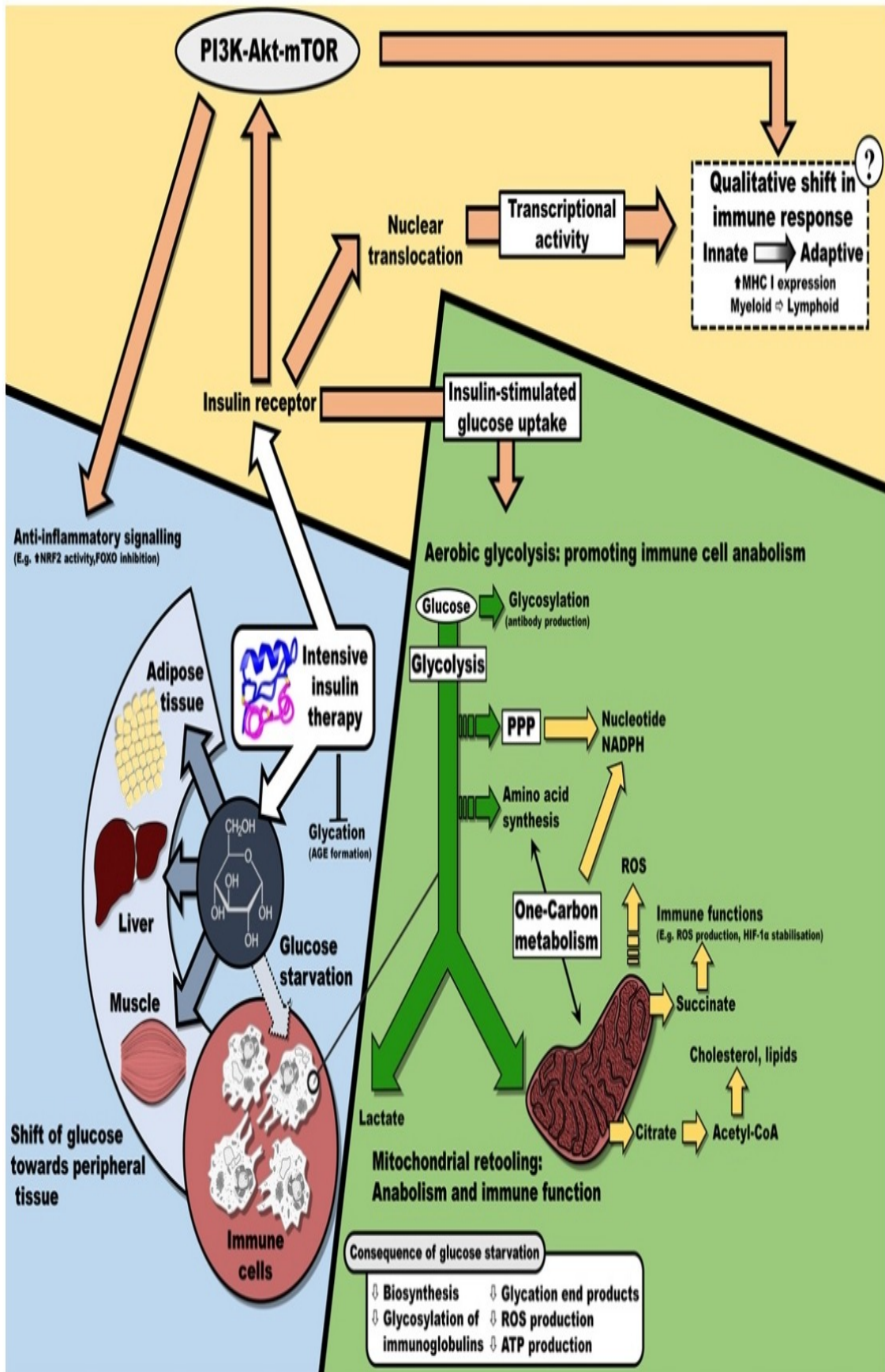
Pankreas, sindirim ve emilim ile enerji substratlarının kullanımı ve depolanması açısından merkezi bir rol oynar. Pankreas, ekzokrin ve endokrin pankreas olmak üzere yapısal olarak farklı ama işlevsel olarak bütünleşmiş iki bezli sistemden oluşur. Bu sistemlerin her ikisi de ilkel bağırsağın bir uzantısından kaynaklanır. Ekzokrin pankreas salgısı, özellikle çok sayıda gastrointestinal peptid hormonu şeklindeki nöral ve hormonal sinyaller tarafından modüle edilir. Adacık hücreleri, ekzokrin asinüsler içinde dağılmıştır. Adacıklara yakın olan asinüslere peri-insüler asinüsler denir ve bunlar, adacıklardan uzak olan tele-insüler asinüslerden daha büyük boyutlu hücrelerden, daha büyük çekirdeklerden ve daha bol zimojen granüllerinden oluşur. Adacık hücrelerinin bazı salgı ürünleri, örneğin insülin, doğrudan asiner hücrelerle etkileşime girer ve böylece asiner fonksiyonu düzenler. Peri-insüler asinüslerin özel morfolojisi, bölgedeki yüksek insülin konsantrasyonlarının varlığıyla yansıtılır. Pankreasın endokrin ve ekzokrin bileşenleri arasında yakın bir etkileşim vardır. Bu bağlamda, insülin-asiner ekseninin bir kavramı önerilmiştir; bu kavramın adacık peptidleri tarafından asiner hücre fonksiyonunun fizyolojik düzenlenmesine katılan adacık-asiner portal sistemi ile ilgili olduğu ileri sürülmüştür. İnsülin-asiner ekseninin etkileri, pankreatik ekzokrin salgısının düzenlenmesi gibi ekzokrin-endokrin fonksiyonlar üzerinde görülebilir. Bu

bağlamda, pankreatik ekzokrin salgısının düzenlenmesi, pankreatik adacık β -hücreleri tarafından salınan peptid hormon insüline bağlıdır. [59]

2.4.1. İnsülin Hormonu

İnsülinin etkileri ortaya konduktan sonra birçok araştırmacı insülini hayvan pankreasından izole etmeye çalışmıştır. Uzun uğraşlar sonucunda insülini izole etmeyi başaran araştırmacılar genç bir diyabet hastasına insülini başarıyla uygulamıştır [60].

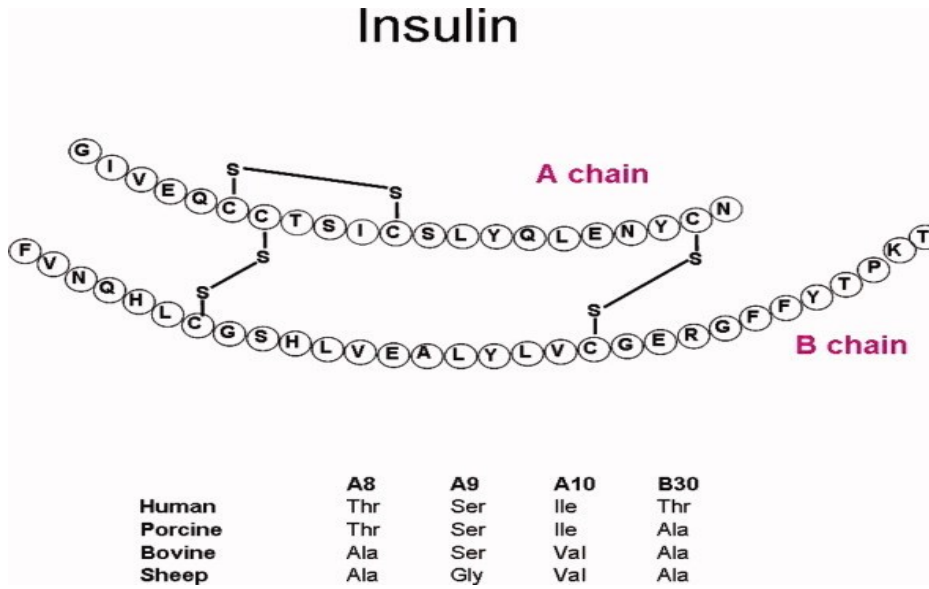
İnsülin, çeşitli durumlarda ortaya çıkan hipergliseminin tedavisinde, Tip I ve II diyabet ile gestasyonel diyabet gibi durumlarda ve ayrıca ciddi inflamatuvar reaksiyonlardan sonra meydana gelen hiperglisemide vazgeçilmez bir rol oynar. Bununla birlikte, insülin reseptörleri, glikoz homeostazında yer almayan bir dizi hücre üzerinde de eksprese edilir. İnsülinin kan şekerini düşürme yeteneği, onu dünya genelinde yüz milyonlarca insan tarafından her yıl en yaygın olarak kullanılan hormonlardan biri haline getirmiştir (**Şekil 2.3**) [61], [62].



Şekil 2. 3. İnsülin etki mekanizmasının şekilsel özeti [61, 62]

2.4.1.1. İnsülinin Kimyasal Özellikleri ve Sentezi

İnsülinin kimyasal geçmişi, uygun bir şekilde üç döneme ayrılabilir. İlk dönem, 1954'te Sanger ve meslektaşları tarafından birincil dizi tayini ile sonuçlanana kadar 30 yıldan biraz fazla sürdü [63]. İkinci dönem, yerli insan insülininin kimyasal sentezi, yarı sentezi ve biyosentezindeki ilk başarılar için metodolojinin geliştirilmesine tanık oldu. Bu temel üzerine üçüncü ve mevcut araştırma dönemi, yapısal optimizasyona odaklanmış ve enjekte edilebilir uygulamaya alternatifler ortaya çıkarmıştır. Son birkaç on yılda insülin kimyası ve farmakolojisi alanında önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. rDNA tabanlı biyosentez, neredeyse sınırsız miktarda ve yüksek saflıkta insülin üretimini mümkün kılmıştır. (Şekil 2.4) [64][65],



Şekil 2. 4. İnsan, domuz, sığır ve koyun insülinin amino asit dizileri [66].

Pankreatik β hücrelerinde sentezlenen polipeptit yapılı insülin, memeli vücudunda birçok önemli fonksiyona sahiptir. Hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanabilir. Reseptörler, hücre zarlarında disülfid bağlarıyla birbirine bağlanan dört alt birimden oluşur. Bu alt birimlerden hücre zarında yer alan iki tanesi δ , diğer ikisi ise hücre yüzeyi dışında yer alan α olarak adlandırılır. İnsülin, ilk alfa alt birimlerine bağlanmasıyla sitoplazmayı genişleten β alt birimlerinin otofosforilasyonuna yol açar ve dönüştürücü aktif protein kinazını indükler [67].

2.4.1.2. İnsülinin Hedef Hücrelerdeki Etkisi

- **Glikoz Alımı:** İnsülin, hücrelerin yüzeyinde bulunan glikoz taşıyıcılarına etki ederek hücrelere glikozun alınmasını uyarır. Bu, kan dolaşımındaki glikoz seviyelerini düşürmeye yardımcı olur. Ayrıca, insülin aynı zamanda yeni glikoz üretimini de inhibe eder [68].
- **Glikojen Sentezi:** İnsülin, karaciğer ve kas hücrelerinde glikojen sentezini teşvik eder. Glikojen, glikozun depolanabilen bir formudur. Bu sayede vücut, enerji gereksinimlerini karşılamak için glikozu depo edebilir [68].
- **Glikoz Kullanımı:** İnsülin, hücre içindeki glikozun glikoliz adı verilen süreçle parçalanmasını teşvik eder. Bu, hücrelerin enerji üretimi için glikozu kullanmalarını sağlar [68].

İnsülinin yetersiz salgılanması veya vücuttaki hücrelerin insülini etkili bir şekilde kullanamaması, kan şekerinin yükselmesine ve DM olarak bilinen bir durumun ortaya çıkmasına neden olabilir. İnsülin aynı zamanda merkezi sinir sistemi (CNS) fonksiyonları ile de ilişkilendirilmiş olup, insülin eksikliği Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklarla ilişkilendirilebilir. İnsülinin bu çeşitli etkileri, vücudun enerji dengesi ve glikoz metabolizmasının düzenlenmesi gibi önemli rollere sahip olduğunu gösterir [68].

2.4.1.3. İnsülinin Karbonhidrat Metabolizması Üzerindeki Etkisi

İnsülin, beyin dışındaki hemen hemen tüm dokularda hücrelere glikozun kolayca alınmasını hızlandırarak kan şekerini düşürür. Bu nedenle insülin, kan şekerinin azalmasına katkı sağlar [67].

2.4.1.4. İnsülinin Yağ ve Protein Metabolizması Üzerine Etkileri

İnsülin, karaciğer ve yağ dokularında lipolizi önlediği gibi lipogenezi de uyarır [67]. İnsülin, yağ hücrelerinde gliserol sentezini artırır ve lipaz adı verilen enzimin aktivitesini inhibe eder. Bu, yağ depolanmasını ve yağ asitlerinin serbest bırakılmasını sınırlar [68].

İnsülin, hücrelere amino asit girişini artırır. Bu, protein sentezi için gerekli olan amino asitlerin hücrelere taşınmasına yardımcı olur. Ayrıca, insülin aynı zamanda protein katabolizmasını, yani protein parçalanmasını da inhibe eder [68].

2.4.1.6. İnsülin Sekresyon Mekanizması

İnsülin aracılı sinyal iletim mekanizması, diğer büyüme faktörleri gibi hedef hücre reseptörleri tarafından başlatılır. İnsülin reseptör kompleksi, hücre içine alınmak üzere endositoz yoluyla taşınır. Bu kompleksi ayıran lizozom enzimleri bulunur ve ardından reseptörlere iletilir. Hücre zarının tekrar kullanılması ve hücre içinde kalan insülinin tirozin kinaz aktivasyonunu sağlamak için ekzositoz gerçekleşir. İnsülin yolunun içeriğinde fosfatidilinositol 3,4,5 trifosfat efektörleri ile fosfatidilinositol 3,4,5 trifosfat reseptörleri bulunur. İnsülin yolu, klasik protein tirozin kinaz reseptörlerinden farklıdır, çünkü her zaman dimerleşir, ancak yalnızca insülin (agonist) bağlandığında etkinleşir. Fosfatidilinositol 3-kinazın doğrudan kullanılması yerine, ilk olarak insülin reseptörü tarafından bu substratlar kullanılır, bu substratlar arasında özellikle Insulin Receptor Substrate 1 (IRS-1) bulunur. IRS-1, insülin reseptörünün hücre içi katalitik bölümü tarafından çeşitli tirozin kalıntıları üzerine fosforile edilir ve bu fosforile edilmiş tirozin kalıntıları, çeşitli proteinleri etkinleştirir. Fosfatidilinositol 3-kinaz daha sonra fosfatidilinositol 4,5 bifosfatın fosfolipid bağımlı kinaz 1'i aktive ettiği fosfatidilinositol 3,4,5 trifosfata dönüşümünü katalize eder. Aktive olan tirozin kinaz, önce hücre içinde c-AMP miktarının artmasına ve ardından IRS-1 protein miktarının artmasına neden olur. Hücre içinde insülinin işlevinden sorumlu olan tirozin, serin ve treonin kalıntıları tarafından IRS-1 proteini aracılığıyla insülin fosforile edilir. IRS-1 aynı zamanda birçok proteini aktive eder. İnsülin bağımlı dokularda, fosfatidilinositol 3,4,5 trifosfatın artması ile membrandan glikoz taşınması, IRS-1 ve IP-3-kinaz yoluyla gerçekleştirilebilir. İnsülin, GLUT translokasyonunun sitoplazmik yer değiştirmesine aracılık eder ve bu işlevin sağlam olmasını sağlar [67].

2.4.2. Glukagon Hormonu

Glukagon, endokrin pankreas ve üst gastrointestinal sistemdeki Langerhans adacıklarındaki α hücreleri tarafından salgılanan bir hormondur [69]. 1923'te keşfedilmiştir. Bağırsak peristaltizmini inhibe eden, ketogenez, glikojenoliz, glukoneogenez ve lipolizi uyaran 29 amino asitli bir polipeptittir (**Tablo:2.1**) [70], [71], [72].

Glukagon ayrıca miyokard dokusu için pozitif inotropik ve kronotropiktir, ancak bu son etkilerin önemi normal fizyolojik konsantrasyonlarda bilinmemektedir [70].

Tablo 2. 1. Glukagonun dokular üzerindeki etkileri [73]

Metabolik	Hormonal	Belirli organlar
Glikojenoliz	İnsülin sekresyonunun artması	Pozitif miyokardiyal inotropi ve kronotropi
Glukoneogenez	Artmış katekolamin sekresyonu	Gastrointestinal düz kas gevşemesi
Lipoliz		Biliyer düz kas gevşemesi
Proteoliz		İdrar düz kas gevşemesi
Ketogenez		Artan glomerüler filtrasyon hızı

Glukagon esas olarak transmembran reseptörlerinden ikisi A ile B olmak üzere yedi transmembran reseptörüne etki eder. Bu da G proteini ikinci haberci sisteminin aktivasyonuna yol açarak siklik Adenozin Monofosfat (cAMP) üretiminin artmasına neden olur [70], [71], [72]. Diğer bir etki mekanizması, inositol trifosfat, iyonize kalsiyum ve diaçilgliserolün hücre içi üretimidir. Bunun önemi tam olarak bilinmemektedir [72].

Glukagon, dolaşımdaki glikoz düşük olduğunda dolaşıma salınır. Glukagonun ana fizyolojik rolü, hepatik glikoz çıkışını uyarmak ve böylece kan şekerini arttırmaktır. Bu, invivo glikoz homeostazının korunmasında insüline karşı ana karşı düzenleyici mekanizmadır. Tip 1 diyabetin patofizyolojisi, insülin sekresyonunun glukagon tarafından uyarılmasına rağmen, insülin eksikliğidir [70].

Glukagon ayrıca proteinlerin, trigliseritlerin parçalanmasını ve keton cisimlerinin sentezini teşvik eder. Bu metabolik etkiler tamamen glukagon konsantrasyonuna bağlı değil, glukagon ve insülin arasındaki hormonal dengeye bağlıdır [72].

cAMP konsantrasyonundaki artışların, glukagonun inotropik etkilerinden kısmen sorumlu olduğu düşünülmektedir, ancak kardiyak miyositler üzerinde farklı bir glukagon reseptörünün bulunduğu varsayılmaktadır [74], [75]. İnsan çalışmaları, glukagonun kardiyak indekste, ortalama arter basıncında ve kalp hızında bir artışa yol açtığını göstermektedir, ancak infüze edildiğinde glukagonun sol ventrikül ucu diyastolik basıncı veya sistemik vasküler direnç üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı bulunmuştur [76].

Glukagon, alt yemek borusundan kalın bağırsağa kadar bağırsak düz kasını ve ortak safra kanalı ve üreterlerdeki düz kasları gevşetir. Çeşitli kimyasal, nöral ve hormonal maddeler glukagon salgılanmasını etkileyebilir (**Tablo 2.2**) [73].

Tablo 2. 2. Glukagon salgılanmasını etkileyen faktörler [73].

Salgıyı teşvik edenler	Sekresyonu inhibe edenler
Amino asitler	Glikoz
Katekolaminler	Somatostatin
Sempatik sinir stimülasyonu	Serbest yağ asitleri
Kortizol	Ketonlar
Büyüme hormonu	

2.4.3. Somatostatin Hormonu

Somatostatin, başlangıçta spesifik hipotalamik nöronların ürünü olarak tanımlanmıştır, ancak daha sonra Langerhans adacıklarındaki hücrelerde de bulunduğu gösterilmiştir. Ayrıca bağırsaktan önemli miktarlarda somatostatin salgılanır; somatostatin çoğunlukla bu şekilde salgılanır. Somatostatin aynı zamanda miyenterik ve submüköz nöral pleksustaki belirli bir nöron tipi tarafından üretilir. Somatostatin üreten sinir lifleri; genitoüriner sistem, kalp, göz, tiroid, timus ve deri gibi farklı dokularda bulunmaktadır. Ayrıca, merkezi sinir sisteminde de yaygın olarak bulunurlar [76], [77], [78], [79], [80], [81], [82].

Somatostatinin büyüme hormonu, pankreastan insülin ve glukagon, mideden ise gastrin salınımını engellediği bulunmuştur. Somatostatin tarafından birçok düzenleyici peptid hormon inhibe edilse de, bazı peptid hormonlar; örneğin luteinizan hormon ve folikül uyarıcı hormon gibi, somatostatinden fizyolojik olarak etkilenmez [83], [84], [85], [86][87] [88], [89], [90].

Somatostatin sadece peptid hormon salınımını engellemekle kalmaz, aynı zamanda sıklıkla hedef dokuyu da inhibe eder. Bu nedenle somatostatin, gastrin salınımını ve bağımsız olarak mide asidi salgılanmasını bloke eder. Bu inhibe edici etkiler oldukça güçlüdür; örneğin, insanda somatostatin, her bilinen uyarana yanıt olarak insülin salınımını engelleyebilir ve hastayı geçici bir şekilde insüline bağımlı hale getirebilir [87].

Bu yaygın ve güçlü inhibitör peptidin fizyolojik görevleri açıkça dokudan dokuya değişir ve son derece çeşitlidir. Somatostatin yemekten sonra kanda artarak insülin ve mide asidi salgısını yaklaşık üçte bir oranında azaltabilir [91], [92], [93], [94], [95], [96], [97].

İntraserebroventriküler somatostatin enjeksiyonu, adrenokortikotropin salınımını inhibe eder, adrenalde adrenalin üretimini artırır ve belirli uyarıcılara yanıt olarak hiperglisemiye engelleyebilir [77],[98], [99], [100].

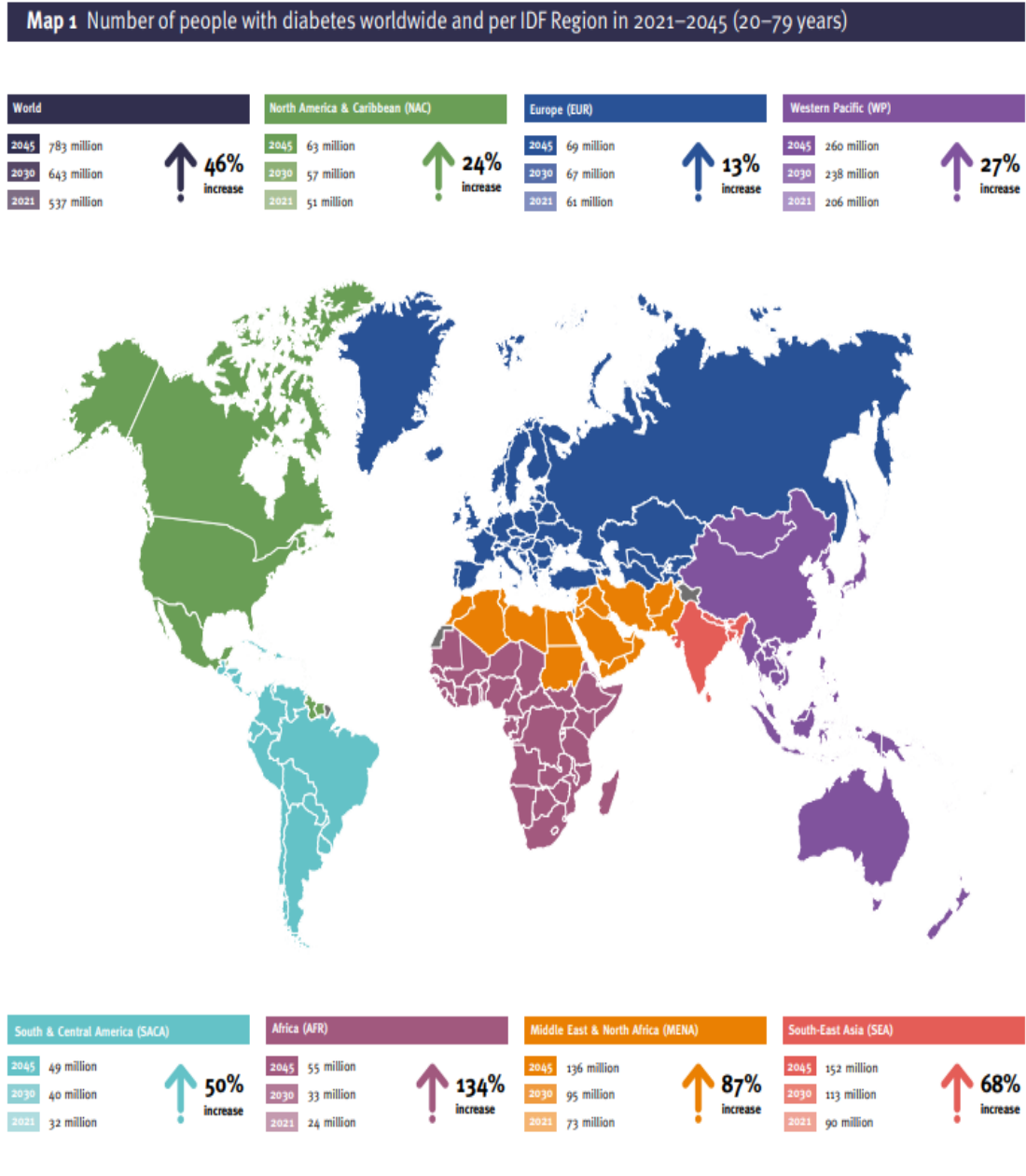
2.5. Diyabetes Mellitus

Diabetes mellitus (DM), temel olarak yüksek kan şekeri seviyelerinden kaynaklanan mikro ve makrovasküler sorunlara yol açan bir dizi metabolik hastalığı ifade eder [101]. DM, temel olarak T1DM, T2DM, Gestasyonel DM ve Olgunlukta Başlayan Genç Diyabet (MODY) formları olmak üzere dört ana sınıf altında toplanabilir [102].

Uluslararası Diyabet Federasyonunun 2021 verilerine göre, dünya genelinde 20-79 yaş arası yetişkinlerin 537 milyonu diyabetle mücadele etmekte ve bu sayının 2030 yılına gelindiğinde 643 milyona ve 2045 yılına kadar 784 milyona yükselmesi beklenmektedir. Diyabet teşhisi konmuş olan kişilerin büyük bir çoğunluğu (%81), orta ve düşük gelirli ülkelerde yaşamaktadır. Son 15 yılda, diyabet, küresel sağlık harcamalarında yılda %336'lık bir artışla neredeyse dört katına çıkmıştır [103].

2.5.1 Diyabet Epidemiyolojisi

Uluslararası Diyabet Federasyonunun 2021 atlasına göre; dünya genelinde 20-79 yaş arası yetişkinlerin 537 milyonu diyabetle mücadele etmektedir, yani her 10 yetişkinden 1'i bu hastalıkla karşı karşıyadır. 2030 yılına gelindiğinde diyabetli insan sayısının 643 milyona (her 9 yetişkinden 1'i) ve 2045 yılına kadar 784 milyona (her 8 yetişkinden 1'i) yükseleceği tahmin edilmektedir (Şekil 2.5) .



Şekil 2. 5. Dünyada diyabet [103]

Diyabetli bireylerin 5'te 4'ü (%81), düşük ve orta gelirli ülkelerde yaşamaktadır. 2021 yılında diyabet, 6,7 milyon ölüme sebep olmuştur, yani her 5 saniyede 1 kişi hayatını kaybetmiştir. Diyabetle yaşayan yetişkinlerin tahmini %44'üne (240 milyon kişi) henüz bir tanı konulmamış durumda ve bunların da hemen hemen diyabetli bireylerin 5'te 4'ü (%81) düşük ve orta gelirli, %90'ı düşük veya orta gelirli ülkelerde yaşamaktadır. Diyabet, 2021 yılında küresel sağlık harcamalarında tahmini 966 milyar ABD dolarına mal olmuştur, ki bu son 15 yılda %336'lık bir artışı temsil ediyor. Dünya genelinde 541 milyon yetişkin veya her 10 yetişkinden 1'i bozulmuş glikoz toleransına sahiptir, bu durum tip 2 diyabet riskini artırmaktadır. Diyabetli yetişkinlerin %68'i, diyabetin en fazla görüldüğü 10 ülkede yaşamaktadır [103].

2.5.2. Diyabetes Mellitus Tipleri

2.5.2.1 Tip1 Diyabetes Mellitus

Tip1 Diyabetes Mellitus (T1DM), pankreasın β hücrelerinin otoimmün bir süreç sonucunda hasar görmesi ve insülin üretme yeteneğinin kaybına neden olan bir endokrin hastalıktır [104]. β hücrelerinin yaklaşık %70'i kaybolduğunda veya işlevsiz hale geldiğinde semptomlar belirmeye başlar. Uluslararası Diyabet Federasyonunun 2022 atlasına göre, tip 1 diyabetli bireylerin dünya genelinde yaklaşık beşte biri (1,9 milyon) düşük ve orta gelirli ülkelerde yaşamaktadır. 2022'de toplam T1DM nüfusunun (8,75 milyon) tahmini olarak 1.52 milyonu (%17.0) 20 yaşın altında, 5.56 milyonu (%64.0) 20-59 yaş aralığında ve 1.67 milyonu (%19.9) 60 yaş ve üstü yaş gruplarında bulunmaktadır [2], [105].

2.5.2.2 Tip2 Diyabetes Mellitus

Tip2 Diyabetes Mellitus (T2DM), insülin direnci ve pankreasın β hücrelerindeki işlev bozukluğuna bağlı olarak ilerleyici insülin üretim kaybı ile karakterize edilen bir diyabet türüdür. Diyabetin süresi, yetersiz kontrolü, glisemik dalgalanma, cinsiyet, diğer eşlik eden hastalıklar ve önceki risk faktörleri, mikrovasküler (örneğin, retinopati, nöropati ve böbrek hastalığı) ve makrovasküler (örneğin, kalp hastalığı, inme ve periferik damar hastalığı) komplikasyonlarının riskini artırır. Bu komplikasyonlar hem sosyoekonomik yük getirebilir hem de yaşam kalitesini olumsuz etkileyebilir [106][107][108][109][110].

2.5.2.3 Gestasyonel Diyabetes Mellitus

Gestasyonel Diyabetes Mellitus (GDM), Dünya Sağlık Örgütü Uluslararası Diyabet ve Gebelik Çalışma Grupları Birliği (IADPSG/WHO) kriterlerine göre 75 gram oral glikoz tolerans testi sırasında ortaya çıkan bir hiperglisemi durumudur (açlık plazma glikozu ≥ 5.1 mmol/L, 1. saat ≥ 10 mmol/L, 2. saat ≥ 8.5 mmol/L) ve genellikle ilk kez hamilelik sırasında teşhis edilir. GDM, gebeliğin en yaygın tıbbi komplikasyonlarından biridir ve uygun tedavi edilmezse hem anne hem de çocuk için ciddi sağlık sorunlarına neden olabilir [111]. GDM'li annelerde, gestasyonel hipertansiyon, preeklampsi riski artabilir. Yine bu annelerde gebeliğin sezaryen ile sonlandırılma ihtimali yüksektir [112]

2.5.2.4 Olgunlukta Başlayan Genç Diyabet Formları

Olgunlukta Başlayan Genç Diyabet MODY, otozomal dominant kalıtım ile karakterize edilen, genellikle 25 yaşın altında başlayan bir diyabet türüdür. Bu hastalık, endojen insülin üretimini sürdürebilen ve otoimmün belirtileri olmayan monogenik diyabet formlarına özgüdür [113].

2.5.3. Diyabetes Mellitus'un Komplikasyonları ve Patogenezi

Diyabet tedavisinin yanı sıra, küçük ve büyük damarları etkileyen ciddi komplikasyonların tedavi edilmesi gerekliliği giderek daha açık hale gelmektedir. Bu komplikasyonlar, hem tip 1 hem de tip 2 diyabetli bireyler arasında yaygındır. Öne çıkan mikrovasküler komplikasyonlar arasında böbrek hastalığı, körlük ve amputasyonlar bulunmaktadır, ancak mevcut tedaviler yalnızca hastalığın ilerlemesini yavaşlatabilir. Diyabet komplikasyonlarına karşı klinik çalışmalarda test edilen birçok yeni tedavi bulunmasına rağmen, genellikle hayal kırıklığı yaratan sonuçlar elde edilmiştir. Aslında, bu komplikasyonlardaki patolojik olmayan, koruyucu olan yolların tam olarak belirlenmesi gerekmektedir. Ayrıca, görünüşte bağımsız olan bazı yolların, birbirleriyle etkileşime girerek patolojiyi şiddetlendirebileceği gözlemlenmiştir. İlginç bir şekilde, bu yolların bazıları yalnızca komplikasyonlarda değil, aynı zamanda diyabetin gelişiminde de önemli bir rol oynayabilir (**Şekil 2.6**) [114].

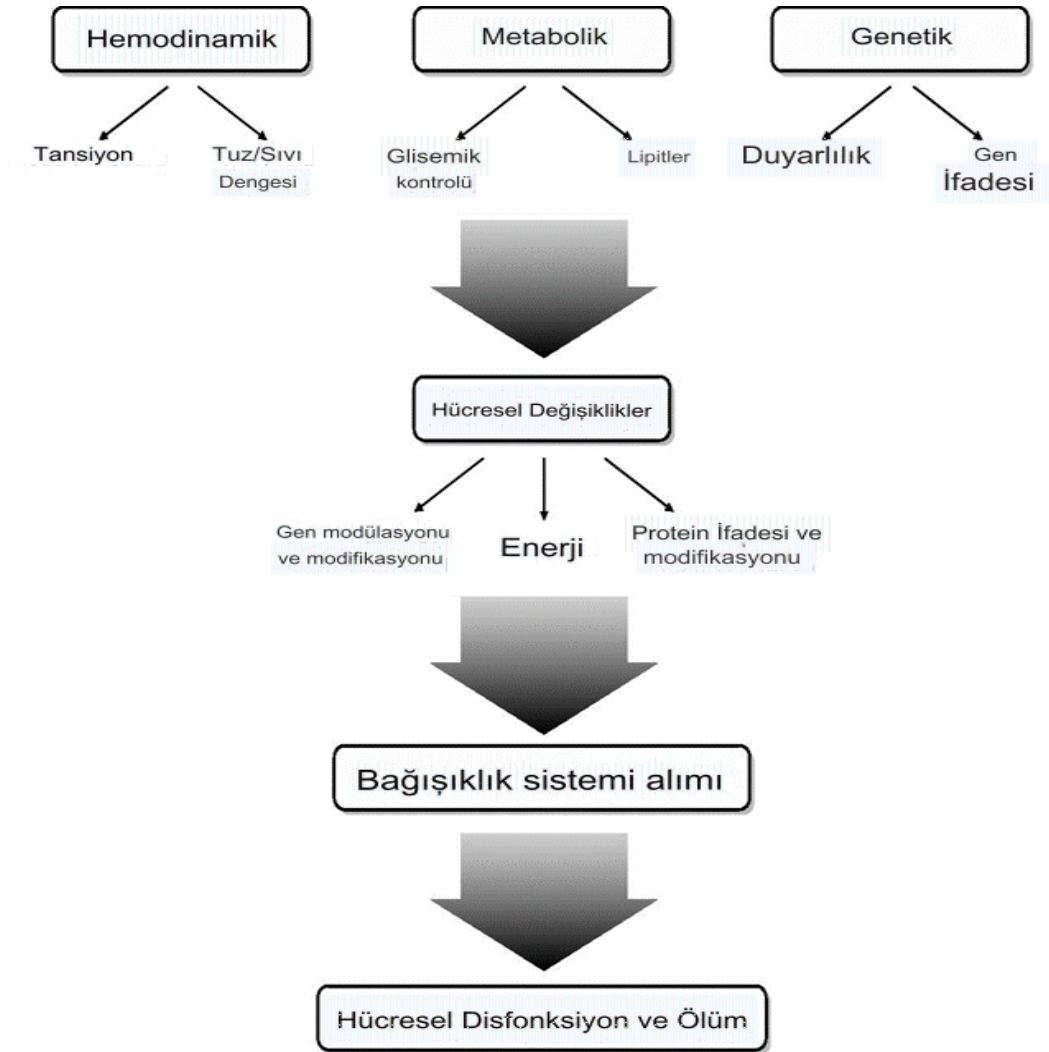
Diyabet, bir dizi komplikasyonla ilişkilidir, bazıları ölümcül sonuçlar doğurabilir. Bunlar arasında şunlar yer alır:

Hiperglisemiye Bağlı Diyabetik Ketoasidoz: Kan şekerinin aşırı yükselmesi sonucu ortaya çıkar. Diyabetik Ketoasidoz (DKA), ciddi ve yaşamı tehdit eden bir durumdur [114].

Hipoglisemiye Bağlı Koma: Kan şekerinin aşırı düşmesi sonucu bilinç kaybına ve komaya yol açabilir [114].

Bu akut metabolik komplikasyonlar, kan şekeri seviyelerinin kronik olarak yüksek olmasından kaynaklanan hasarların bir sonucu olarak ortaya çıkar.

Diyabet, komplikasyonları "mikrovasküler hastalık" ve "makrovasküler hastalık" olarak iki ana kategoriye ayrılır [114].



Şekil 2. 6. Diyabetik komplikasyonlara katkıda bulunan ana alanların şematik olarak gözden geçirilmesi[114].

2.5.3.1 Mikrovasküler Komplikasyonlar:

Retinopati: Göz hastalığına yol açar ve görme kaybına neden olabilir [114].

Nefropati: Böbrek hastalığına işaret eder ve böbrek fonksiyonlarının bozulmasına katkıda bulunabilir [114].

Nöropati: Sinir hasarıyla sonuçlanır ve çeşitli sinirsel problemlere neden olabilir [114].

2.5.3.2 Makrovasküler Komplikasyonlar:

Miyokard Enfarktüsü: Kalp krizi riskini artırır ve kardiyovasküler hastalıklara yol açabilir.

Serebrovasküler Hastalık (Felç): Felç riskini artırır ve beyin fonksiyonlarına zarar verebilir. Ayrıca, diyabetle ilişkilendirilen komplikasyonlar içinde depresyon, demans ve cinsel işlevlerde bozukluklar da yer almaktadır. Bu komplikasyonlar, diyabetin yaşam kalitesi üzerinde olumsuz etkileri olabileceği için önemlidir [114].

2.5.3.3 DM'nin Komplikasyonlarının Patogenezi

Hiperglisemiye bağlı hasarın sadece birkaç hücre tipinde meydana gelmesinin nedeni, çoğu hücrenin hiperglisemiye maruz kaldıklarında hücre içinde glikoz taşınmasını etkili bir şekilde düşürememeleridir, bu da iç glikoz konsantrasyonlarının sabit kalmasına neden olur. Bu nedenle diyabet, glikoz taşıma hızı hızla düşmeyen endotel hücreleri ve mezengial hücreler gibi seçici hücrelere zarar verir, bu da yüksek glikoz seviyelerine yol açar. Bu durum önemlidir, çünkü komplikasyonların nedenlerini anlamak için açıklamanın bu hücrelerde değil, içlerinde gerçekleşen mekanizmaları içermesi gerektiğini göstermektedir. Diyabetle ilgili keşfedilen ilk mekanizma, periferik sinirlerde açıklanan poliol yolunun artan aktivitesi ve poliol yolunda artan akış olduğu bulunmuştur. Bunun ardından, yaklaşık 10 yıl sonra, 1970'lerin sonlarında, bulmacanın ikinci bir parçası ortaya çıkmıştır: Bunun ileri glikasyon son ürünlerinin (AGE'ler) artan oluşumu olduğu keşfedilmiştir. 1980'lerin sonunda ve 1990'ların başında bulmacanın üçüncü bir parçası keşfedilmiştir: Hiperglisemiye bağlı olarak Protein Kinaz C (PKC) izoformlarının aktivasyonu bulunmuştur. Son olarak, 1990'ların sonlarında bulmacanın dördüncü bir parçası keşfedilmiştir: Bu da artan heksozamin yolunun aktivitesi ve bu nedenle proteinlerin aşırı modifikasyonunun, N-asetilglikozamin tarafından gerçekleştiğini ortaya koymuştur [115][116][117][118].

2.5.3.3.1 Poliol Yolu

Poliol yolu, diyabetin neden olduğu sinir hasarında rol oynayan bir metabolik yoldur. Bu yolda aldoz redüktaz, glikozu sorbitole indirger. Sorbitol hücre içinden su çeker ve oksidatif stres artar. Aldoz redüktaz inhibitörlerinin bu hasarı önleyebileceği bulunmuştur [115].

2.5.3.3.2 AGE Öncüllerinin Hücre içi Üretimi

AGE öncüllerinin hücelere zarar verdiği düşünölen üç mekanizma vardır. İlk mekanizma, hücre içi proteinlerin, özellikle gen transkripsiyonunu düzenleyen proteinler gibi, hücre içinde modifiye edilmesini içerir. İkinci mekanizma, AGE öncüllerinin hücre dışına sızdığını ve yakındaki hücre dışı matris moleküllerini değiştirdiğini ve bu değişikliklerin sinyal iletimini etkileyerek hücre sel işlev bozukluğuna neden olduğunu içerir. Üçüncü mekanizma, bu AGE öncüllerinin hücre dışına sızdığını ve dolaşan proteinleri değiştirdiğini içerir. Bu değiştirilmiş dolaşan proteinler daha sonra AGE reseptörlerine bağlanarak inflamatuvar sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin üretimine neden olur, bu da vasküler patolojiye yol açabilir. Hayvan çalışmaları, AGE'lerin farmakolojik inhibisyonunun, deneysel diyabetik retinopatinin geç dönemdeki yapısal değişikliklerini engelleyebileceğini göstermektedir. Özetle, AGE öncülleri hücelere zarar verirken genetik, hücre sel ve dolaşımdaki proteinlerin modifikasyonu yoluyla etki edebilirler. Bu mekanizmalar, diyabetik retinopati gibi vasküler komplikasyonların ilerlemesine katkıda bulunabilir [115][119], [120][121][122][123].

2.5.3.3.4 Protein Kinaz-C'nin Etkinleştirilmesi

Hiperglisemi, diaçilgliserolün sentezini artırarak protein kinaz-C (PKC) izoformlarını aktive eder. PKC'nin aktivasyonu, vazodilatör nitrik oksit (NO) üretimini azaltırken vazokonstriktör endotelin-1'i artırır. Ayrıca, bu süreç dönüştürücü büyüme faktörü-β ve plazminojen aktivatör inhibitörü-1 gibi faktörlerin artmasına yol açar. Bu mekanizma hipergliseminin vasküler sistemde olumsuz etkilere yol açmasına neden olur ve diyabetik komplikasyonları tetikler [115].

2.5.3.3.5 Artan Heksozamin Yolu Aktivitesi

N-asetilglikozaminin aşırı modifikasyonu, gen ifadesinde patolojik değişikliklere neden olabilir. Özellikle, transkripsiyon faktörü Sp1'in artan modifikasyonu, transforme edici

büyüme faktörü- β 1 ve plazminojen aktivatör inhibitörü-1'in ekspresyonunu artırabilir. Bu durum, diyabetik damarlar için olumsuz sonuçlar doğurur ve diyabetik komplikasyonların gelişiminde hem glomerüler hücre gen ifadesi hem de diğer anormalliklerde rol oynayabilir [115].

2.5.3.3.6 Birleşik Bir Mekanizma

Hiperglisemiden zarar gören tüm hücre tiplerinde ortak olan özelliğin, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminin artması olduğu keşfedildi [124][125],[115]

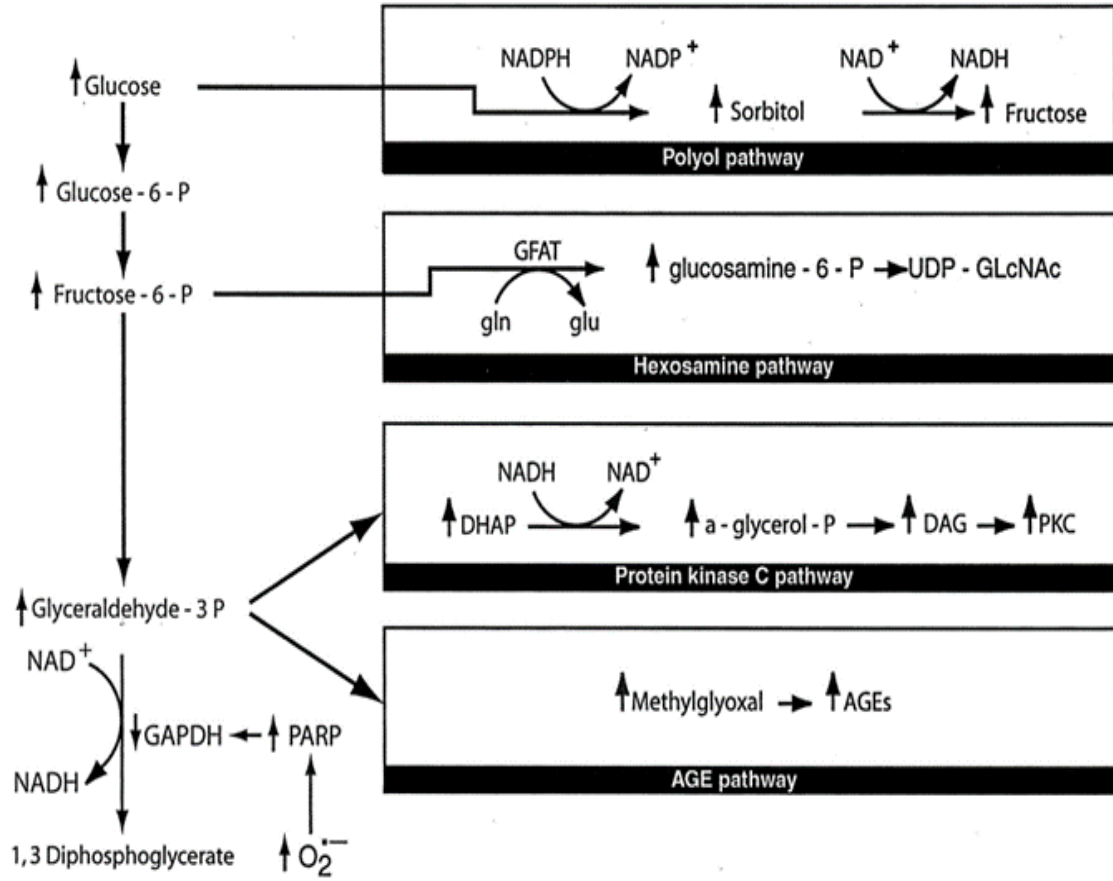
Hipergliseminin neden olduğu mitokondriyal süperoksit üretimi, gliseraldehid-3 fosfat dehidrojenazı (GAPDH) inhibe ederek dört zarar verici yolu aktive eder. GAPDH aktivitesinin hiperglisemi ile inhibisyonu, mitokondriyal süperoksitin aşırı üretimi ayırma proteini-1(UCP-1) veya mangan süperoksit dismutaz (MnSOD) tarafından önlendiğinde meydana gelmez [124].

Hipergliseminin neden olduğu mitokondriyal süperoksitler, poli (ADP-riboz) polimerazı (PARP) aktive ederek GAPDH inhibe ederler [126].

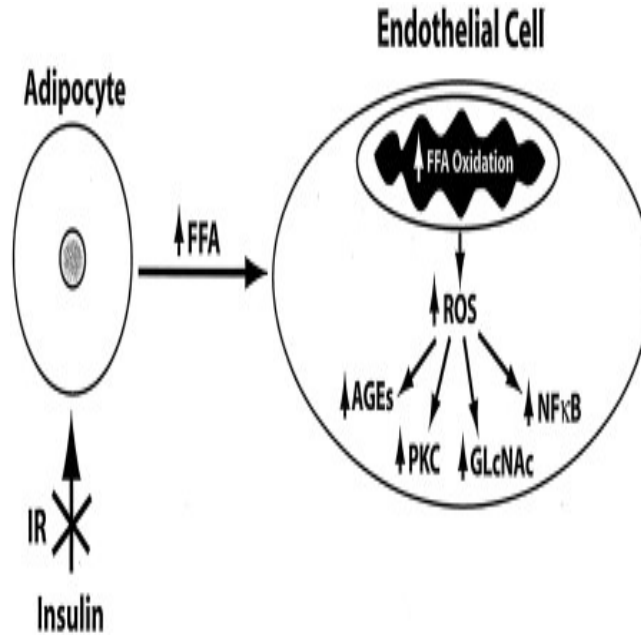
Artan hücre içi glikoza bağlı mitokondriyal serbest radikallerin DNA iplikçiklerinde kırılmalara neden olduğu ve dolayısıyla yalnızca çekirdekte bulunan PARP'ı aktive ettiği bulunmuştur. Her iki hiperglisemi kaynaklı süreç de UCP-1 veya MnSOD tarafından önenebilir [126].

Elde edilen veriler, hipergliseminin diyabetik makrovasküler hastalığın başlıca belirleyicisi olmadığını göstermektedir. Mikrovasküler hastalık açısından, HbA1c %5,5 ile %9,5 arasındayken risk yaklaşık 10 kat artar. Ancak aynı HbA1c aralığında makrovasküler riskin yaklaşık iki kat kadar arttığı bulunmuştur [127].

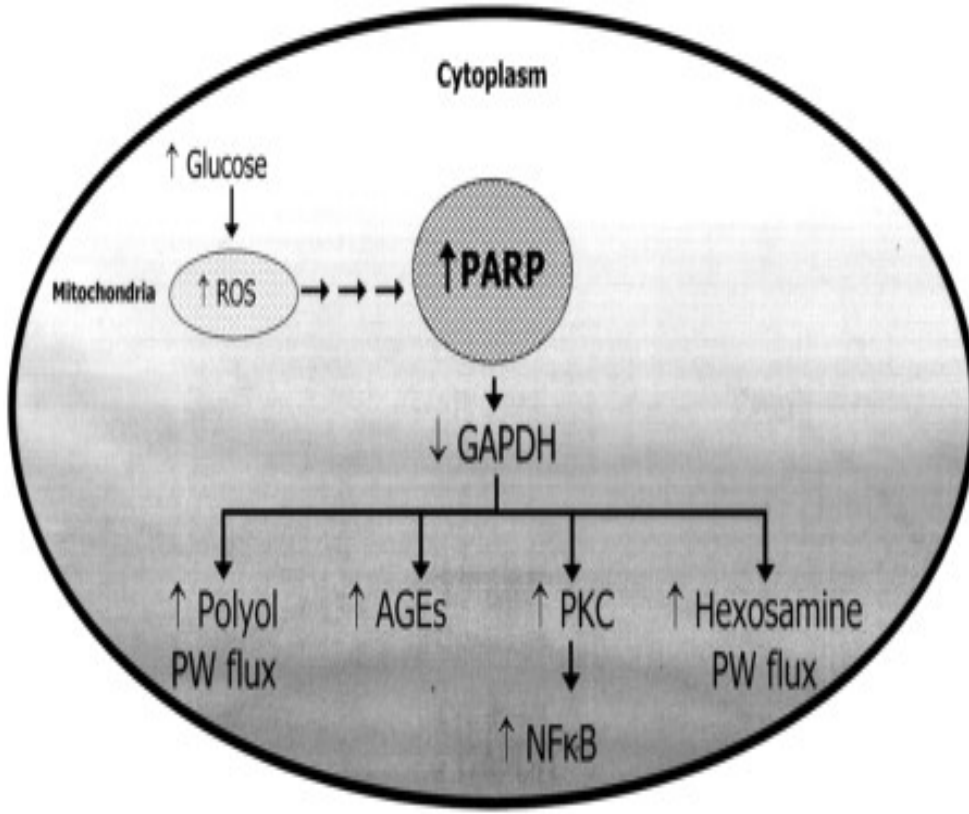
Hem yağ asitlerinin beta-oksidasyonu hem de serbest yağ asitlerinin (FFA) oksidasyonu, glikoz oksidasyonunda kullanılan aynı elektron taşıyıcılarını üretirler. Bu nedenle, artan FFA oksidasyonu, mitokondriyal reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimine yol açar. Bu durum, hipergliseminin neden olduğu ROS artışı ile benzer zararlı yolları aktive eder, bunlar arasında AGE'ler, PKC, heksozamin yolu (GlcNAc) ve NF κ B bulunur. İnsüline dirençli diyabetik olmayan hayvan modellerinde, FFA'nın serbest bırakılmasının veya arteriyel endotelde FFA oksidasyonunun inhibisyonu, ROS üretiminin artmasını ve bunun zararlı etkilerini önlemeye yardımcı olabilir. Bu bulgular, diyabetik makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonların patogenezinde önemli bir birleştirici mekanizmanın rolünü desteklemektedir (**Şekil 2.7- Şekil 2.9**) [115].



Şekil 2. 7. Mitokondriyal aşırı süperoksit üretimi, GAPDH'yi inhibe ederek dört ana hiperglisemik hasar yolunu aktive eder [115].



Şekil 2. 8. İnsülin direnci, FFA akışını ve oksidasyonunu artırarak makrovasküler endotelyal hücrelerde mitokondriyal ROS'un aşırı üretimine neden olur [98].



Şekil 2. 9 Hipergliseminin neden olduğu hücresel hasarın birleşik mekanizmasının unsurlarını gösteren şematik bir özet[115]

2.6. Streptozotosin (STZ)

STZ, *Streptomyces achromogenes* türünden izole edilen tek işlevli bir nitrosoüre türevidir. Geniş bir antibiyotik aktivitesine sahip olmasının yanı sıra antineoplastik özelliklere sahiptir ve genellikle pankreas β hücrelerine zarar vererek deney hayvanlarında DM oluşturmak için kullanılır. STZ, DNA'ya doğrudan metilasyon yapabilen güçlü bir alkilleyici ajandır ve oldukça genotoksiktir. Bu genotoksik etkiler, DNA ipliklerinin kırılmasına, alkali-kararsız bölgelerin oluşmasına, plansız DNA sentezine, DNA eklentilerine, kromozomların değişimine, mikronükleusların oluşumuna ve kardeş kromatid değişimlerine yol açabilir. Ayrıca, STZ'nin bakteri tahlillerinde ve ökaryotik hücrelerde mutajenik etkilere sahip olduğu bilinmektedir [128].

STZ aynı zamanda kanserojen bir bileşiktir ve tek bir uygulama ile sıçanlarda böbrek, karaciğer ve pankreas tümörlerinin gelişimine yol açabilir. Bir dizi kanıt, STZ'nin serbest radikallerin oluşumuna neden olduğunu ve bu serbest radikallerin DNA ve

kromozom hasarına yol açtığını göstermektedir. STZ, antineoplastik (tümör önleyici) bir ajandır ve bu nedenle genotoksik etkileri üzerine yapılan araştırmalar önem taşır [128].

STZ, genotoksik ve kanserojen özelliklere sahiptir. Bu nedenle, dikkatle kullanılmalı ve etkileri üzerinde araştırmalar yapılmalıdır [128].

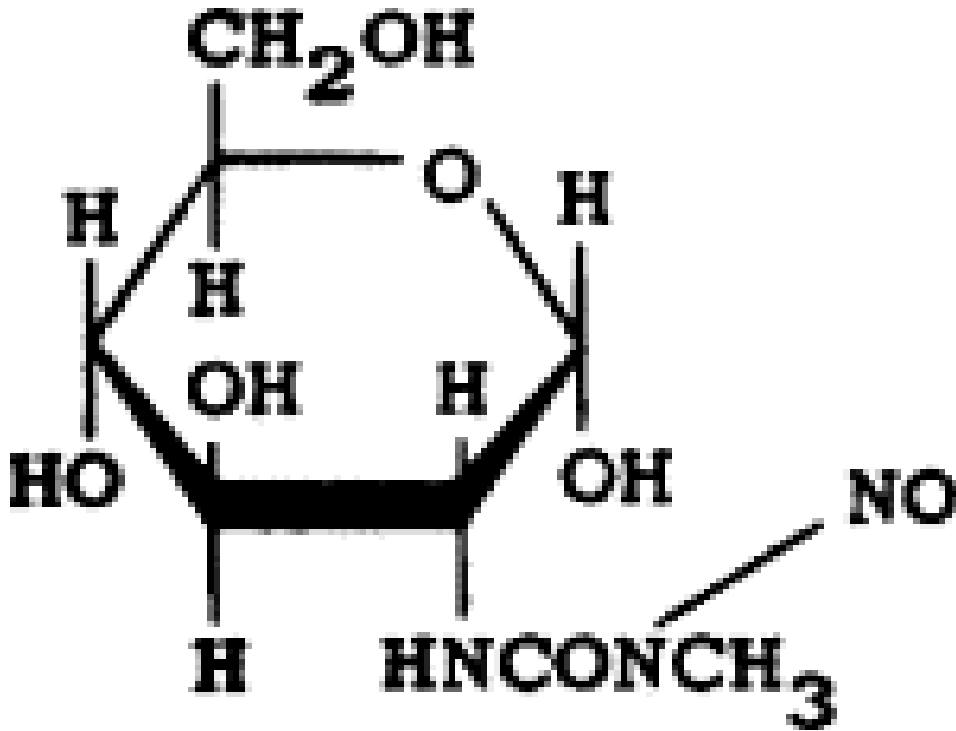
2.6.1 STZ'nin Sentezi

STZ, üç farklı yöntemle sentezlenir:

- 1-Tetra-O-asetil glikozamin hidroklorür kullanarak,
- 2-D-glikozamin ve N-nitrozometil karbamil-azid kullanarak,
- 3-D-glikozaminden N-metilüre dönüşümü ile.

Moleküler yapısı Herr ve diğerleri tarafından tanımlanan bir 2-deoksi-D-glikoz molekülüne benzemekte olup C2'de bir N-metil-N-nitrosoüre grubu ile değiştirilmiştir.

Bu yapı şekilde (şekil 2.10) gösterilmiştir [129][130][131].



Şekil 2. 10. Her ve arkadaşları tarafından belirlenen STZ'nin yapısı[129].

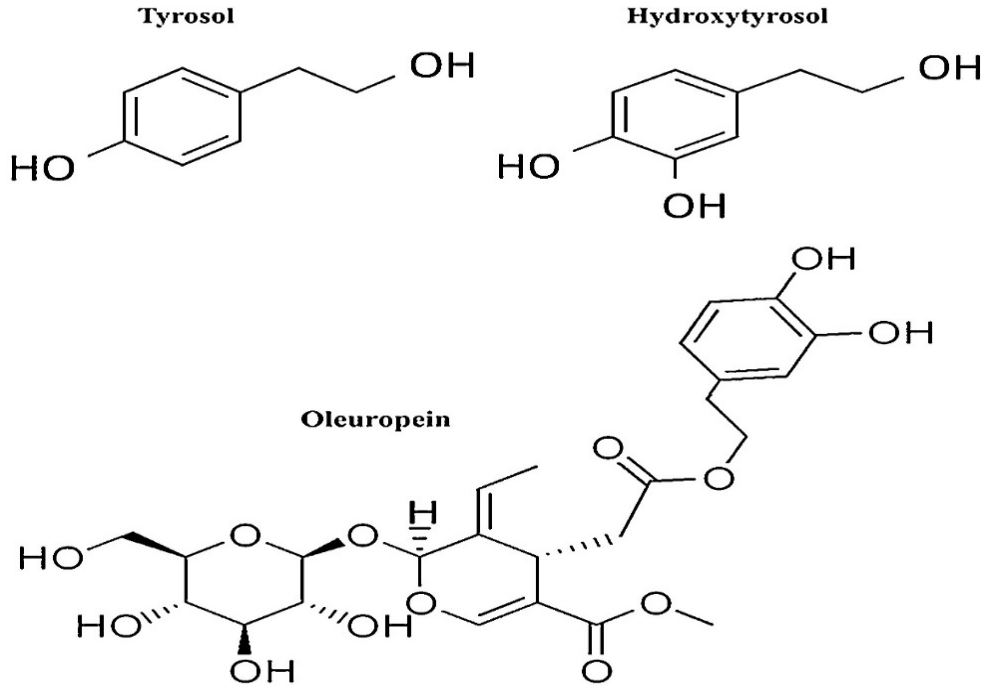
2.6.2. STZ'ye Bağlı DNA Hasarı ve Serbest Radikaller

Her ne kadar STZ tarafından üretilen sitotoksitenin DNA alkilasyonuna bağlı olduğu genel olarak kabul edilse de çeşitli kanıtlar serbest radikallerin STZ'nin neden olduğu DNA hasarı ve sitotoksiste mekanizmasında önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Her şeyden önce, STZ'nin pankreas β hücrelerinin ksantin oksidaz sistemi tarafından O_2^- radikal oluşumunu arttırdığı ve H_2O_2 oluşumunu uyardığı ve izole sıçan pankreas adacıklarında DNA parçalanmasına neden olduğu bulunmuştur. Bu son etkiler 0,1 mM'lik bir konsantrasyonda belirgin ve 1 mM STZ'de maksimum olduğu görülmüştür. Ayrıca Ohkuwa ve ark., diyabetik ratlarda STZ tarafından OH^- radikallerinin oluştuğunu göstermiştir; Bedoya ve ark. rat pankreatik adacık hücrelerinde STZ (kültürden önce 30 dakika süreyle 0,55 mM) tarafından indüklenen DNA hasarının (çift iplik kopmaları), N-monometil-arginin (nitrik oksit sentazın indüklenebilir formunu inhibe eden) veya nikotinamid tarafından önlenebileceğini göstermiştir (Bir serbest radikal temizleyici). Son kanıtlar NO'nun STZ'nin DNA hasarı üretiminde de rol oynadığını göstermektedir. Aslında Kroncke ve arkadaşları, STZ'nin hücre metabolizasyonu sırasında NO oluşumunun rat pankreas adacık hücresi DNA hasarına katkıda bulunduğunu göstermiştir. Bu NO oluşumu NO sentaz (NOS) aktivitesine bağlı değildir çünkü hepatositlerde STZ varlığında NO oluşumu NOS inhibitörü NG-metil-l-arginin tarafından bloke edilmez. Ayrıca, STZ veya NO donörü nitroprussid tarafından indüklenen erken DNA ipliği kırılmalarının her ikisi de hücre içi NO temizleyicinin varlığında önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. Çok yakın zamanda Chen ve arkadaşları, pankreas β hücresinde metallothioneinin (uyarılabilir bir antioksidan protein) aşırı ekspresyonunun STZ kaynaklı DNA hasarını ve diyabeti azalttığını bulmuştur. Ayrıca, süperoksit dismutaz (SOD), yapay SOD, bakır (II) (3,5-diizopropilsalisilat) 2, hidroksil radikal temizleyici dimetilüre ve E vitamini dahil olmak üzere çeşitli serbest radikal temizleyicilerin, hayvanları STZ'nin diyabetojenik etkilerinden koruduğu bulunmuştur. Tüm bu verilere rağmen, STZ'nin neden olduğu DNA hasarında serbest radikallerin rol oynamayabileceğini öne süren birkaç rapor bulunmaktadır. Gerçekte ekzojen SOD veya katalazın (CAT) STZ'nin neden olduğu DNA kırılmalarını engellemediği rapor edilmiştir. Ayrıca, 1999'da Murata ve arkadaşları, reaktif oksijen türleri veya NO temizleyicilerinin, bir insan hücre hattında STZ tarafından DNA hasarının indüklenmesini engellemediğini bulmuşlardır. Öte yandan, hasar indüksiyonunun, sodyum asetat ve sodyum klorür tarafından inhibe edildiği görülmüştür; bu, metilasyon

ajanlarının, sodyum katyonu yoluyla DNA'nın reaktivitesini azaltabileceği görülmüştür . Yukarıdaki anlaşmazlıkların nedenleri açık değildir. Kullanılan farklı deneysel yaklaşımlardan kaynaklanabilirler. Bununla birlikte, serbest radikal temizleyicilerin STZ'nin neden olduğu DNA hasarı ve sitotoksiste üzerindeki etkisine ilişkin bugüne kadar yapılan çalışmaların çoğu, bu antibiyotiğin genotoksik etkisine serbest radikallerin aracılık ettiği fikrini açıkça desteklemektedir. Özetle, STZ'nin genotoksik etkileri hakkındaki bilgiler, bu bileşiğin, DNA bazları üzerindeki spesifik bölgelerin alkilasyonu yoluyla DNA hasarını indüklediğini ve STZ metabolizasyonu sırasında üretilen serbest radikallerin, STZ'nin DNA hasarı ve sitotoksiste mekanizmasında önemli bir rol oynadığını göstermektedir. STZ tarafından üretilen DNA lezyonları, çift ve tek sarmallı kırılmaları, kovalent eklentileri ve alkaliye duyarlı bölgeleri içerir. STZ'nin neden olduğu şiddetli DNA hasarı, apoptoz veya nekroz nedeniyle hücre ölümüyle sonuçlanır. Ayrıca STZ'nin alkile edici etkisinden kaynaklanan DNA iplikçik kırılmaları kromozomal yeniden düzenlemelere yol açabilir.[128] ,[132], [133], [134], [135], [136], [137], [138], [139], [140], [141], [142], [143], [144].

2.7. HT, Yapısı ve Özellikleri

HT, in vitro antioksidan özelliklere sahip bir fenolik fitokimyasaldır. Zeytin yapraklarında ve yağında bulunabilen doğal bir bileşiktir. HT'nin ana besin kaynağı sızma zeytinyağıdır. Biyoyararlanımı, kimyasal özellikleri ve kolay formülasyonunun yanı sıra toksisitesi olmaması nedeniyle HT, nutrasötik ve gıda endüstrileri tarafından mükemmel bir gıda takviyesi olarak kabul edilir [145]. HT, zeytin yapraklarından ve yağından ekstrakte edilebilir, serbest formda stabildir ve dokulara kolayca nüfuz eder. Kimyasal formül $C_8H_{10}O_3$ 'tür ve aromatik halkadaki meta-pozisyonundaki fazladan bir hidroksil grubu haricinde tirosol ile aynıdır. HT, zeytinlerin olgunlaşması sırasında oleuropeinin hidrolizinden türetilir (**Şekil 2.11**) [146]. Lipidlerde çözünür , ancak suda da az çözünür. Basit bir fenol veya asetat veya sekoiridoid türevleri olarak mevcut olabilir.



Şekil 2. 11. Tirozol, hydroxytyrosol (HT) ve oleuropeinin kimyasal yapısının şematik gösterimi [146].

HT, antiinflamatuvar, antiaterojenik ve antitrombotik yeteneklere sahiptir. Invitro araştırmaları, HT'nin antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve aynı zamanda endotel disfonksiyonunu düzeltebildiği, lipid ve hemostatik profilleri geliştirebildiği, ayrıca antiinflamatuvar özelliklere sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bu nedenle nöroprotektif, kardiyoprotektif ve hücresel döngü düzenleyici proteinler ve gen ekspresyonu üzerinde etki edebilir, bu da ona anti-kanser özellikler kazandırabilir [147][147][148][149][150]. Biyoyararlanım çalışmaları, alımdan sonra zeytinyağından HT emiliminin doza bağlı olduğunu ve önemli biyolojik etkilere sahip olduğunu ortaya koymuştur [150].

Mide koşullarında hidrolizle konjuge edilen HT, tirozol ve formlarının ince bağırsakta dönüşümünün ince bağırsakta meydana geldiğini ve serbest HT ve tirozolün serum seviyelerinde artışla sonuçlandığını tespit etmiştir. Benzer şekilde oleuropein, kolon mikroflorası tarafından hızla HT'ye indirgenir [151]

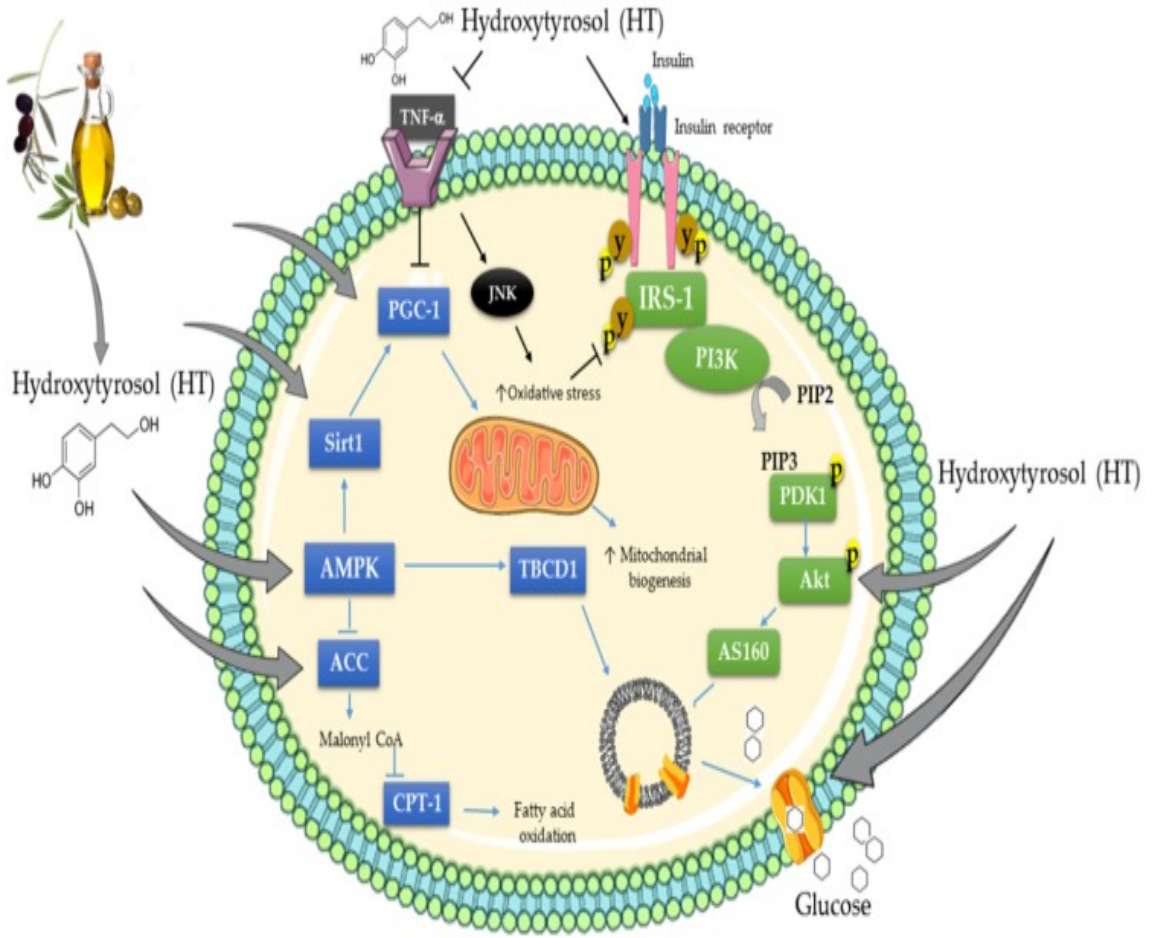
HT, fare modellerinde dahi yüksek dozlarda kullanıldığında herhangi bir yan etkisi olmayan olağanüstü bir güvenlik profiline sahiptir. Toksikolojik değerlendirme ve invitro genotoksisite çalışmaları, HT'nin uzun süreli tüketim için uygun bir bileşik olduğunu, Gözlemlenmeyen Yan Etki Düzeyi (NOAEL) sınıflandırmasına sahip,

mutajenik olmayan ve genotoksik olmayan bir madde olduğunu belirlemiştir. Tüm bu önemli biyolojik özelliklerinden dolayı, HT şu anda en yoğun araştırılan doğal fenol bileşenlerinden biridir. HT'nin güvenlik profili, onu besin takviyeleri ve gıda endüstrileri için mükemmel bir seçenek haline getirmektedir [152][153][154][155].



Şekil 2. 12. HT'nin kullanımının ve sağlık açısından faydalarının grafiksel özeti [156].

HT, çeşitli hücre tiplerinde olumlu etkilere sahip bir bileşiktir. İskelet kasları üzerinde yapılan çalışmalar, HT'nin glikoz alımını artırıcı etkilere sahip olduğunu ve mitokondriyal biyogenezin desteklenmesi ve oksidatif stresin azaltılması gibi kas sağlığını artırıcı mekanizmalara katkıda bulunabileceğini göstermektedir. Adipositler üzerindeki araştırmalar, HT'nin adipositlerin dönüşümünü azalttığını, mitokondriyal kapasiteyi artırdığını ve lipid birikimini azalttığını ortaya koymuştur. Ayrıca, HT'nin hepatositler üzerindeki etkileri üzerine yapılan çalışmalar, karaciğerdeki oksidatif stresi azalttığını ve lipid sentezini düzenlediğini göstermektedir. Bu, karaciğer sağlığının korunmasına katkı sağlayabilir. Pankreas hücreleriyle ilgili araştırmalar, HT'nin insülin sekresyonunu artırıcı etkilere sahip olabileceğini ve β hücre hasarını önlemede potansiyel bir rol oynayabileceğini öne sürmektedir. Bu da, DM ile metabolik sendrom tedavisinde HT'nin potansiyel bir fayda sağlayabileceğini düşündürmektedir. STZ ile indüklenmiş Diyabetle ilgili yapılan bir çalışmada Pankreasta HT tedavisinin antioksidan enzimler SOD, CAT, GSH ve GPX'in aktivitelerini artırdığını ve zararlı ileri glikasyon son ürünlerinin (AGE) oluşumunu azalttığını göstermiştir. Yine bu çalışmada pankreas hücrelerinin daha düşük seviyelerde TBARS ve laktat dehidrojenaz (LDH) aktivitesi gösterdiği bulunmuştur. Genel olarak HT, diyabetik ratlar üzerinde hipoglisemik ve hipolipidemik etkiye sahipken, oksidatif hasara karşı koruma sağlar [157].



Şekil 2. 13. HT'nin hücresel sinyal kaskadları üzerindeki etkileri[158].

Sonuç olarak, HT'nin farklı hücre tipleri üzerindeki olumlu etkileri, diyabet veya metabolik sendromun tedavisinde potansiyel bir strateji olarak daha fazla araştırmayı hak etmektedir [159].

2.8. PI3K

PI3K'ler, ökaryotik hücre zarının bir bileşeni olan fosfatidilinositolü fosforile eden bir lipit kinaz ailesidir. PI3K'ler, sekans homolojisi ve lipit substrat tercihlerine göre sınıflandırılırlar, özellikle sınıf I, II ve III olarak bilinirler. Sınıf I PI3K, bu aile içinde en ayrıntılı şekilde araştırılan sınıftır. Sınıf I PI3K, bir heterodimerdir ve moleküler yapıdaki farklılıklar nedeniyle sınıf IA ve sınıf IB olarak iki alt gruba ayrılır. Birçok faktör, PI3K aktivasyonunu başlatır, bunlar arasında büyüme faktörleri, sitokinler ve hormonlar bulunur. Bu ligandlar, reseptör tirozin kinazları (RTK) ve G-protein bağlı reseptörleri (GPCR) aktive eder ve böylece PI3K'nin aktivasyonunu başlatır. RTK'ler,

sınıf I PI3K'leri plazma zarına çeker ve p85 ve p110'un inaktivasyon fonksiyonunu hafifletir, bu da PI3K'yi aktive eder. Öte yandan, GPCR'ler, Ga veya G $\beta\gamma$ alt birimleri aracılığıyla PI3K'lerle doğrudan etkileşime girer. Ayrıca, hem RTK'ler hem de GPCR'ler Ras'ı etkinleştirerek daha sonra PI3K'yi aktive eder [160], [161], [162], [163].

Aktive edilmiş Sınıf I PI3K, hücre içi membranlar üzerinde bulunan fosfatidilinositol 4,5-bifosfat (PIP2) substratını fosforile ederek hücre içi membranlarda fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfat (PIP3) oluşturur. Ardından, bu PIP3, sinyal proteinlerini toplamak için AKT gibi hücresel sinyal proteinlerini etkiler. Sınıf II PI3K'ler, PIP2'yi sentezlemek için PIP'i substrat olarak kullanır. PI3K'nın ana negatif düzenleyicisi olan fosfataz ve tensin homologu (PTEN), PIP2'yi oluşturmak için PIP3'ü fosforile eder. Bu mekanizmalar, PI3K'nin önemli işlevlerini düzenler ve hücresel sinyalleşmeyi etkiler [164], [165], [166].

PI3K aktivitesi, çeşitli onkogenler ve büyüme faktörü reseptörleri tarafından uyarılır ve yüksek PI3K sinyali, kanserin ayırt edici özelliği olarak kabul edilir. Pek çok PI3K yolu hedefli terapi, onkoloji denemelerinde test edilmiştir ve bu, belirli kan kanserlerinin tedavisi için bir izoform seçici inhibitörün (idealisib) ve gelişimin farklı aşamalarındaki diğer çeşitli ajanların onayıyla sonuçlanmıştır [167], [168].

2.9. Protein Kinaz B

Protein kinaz B (AKT) üç alan içerir: pleckstrin homologisi (PH), orta kinaz ve düzenleyici karboksi terminal alanı; PH alanı, membran AKT translokasyonunu düzenler. Serin/treonin kalıntılarındaki farklılıklara göre AKT'ler üç izoforma (AKT1, AKT2 ve AKT3) ayrılır. AKT1 her yerde eksprese edilir, AKT2 esas olarak iskelet kasında ve yağ dokusuyla karaciğer gibi insüline duyarlı dokularda eksprese edilir ve AKT3 testislerde ve beyinde eksprese edilir. AKT, iki önemli fosforilasyon süreci yoluyla aktive edilir. İlk olarak, kinaz alanındaki treonin 308'in fosfoinositide bağımlı protein kinaz 1 (PDK1) tarafından fosforilasyonu, aktivasyon sürecini başlatır, ardından mTOR kompleksi 2 (mTORC2) aracılığıyla karboksi terminali düzenleyici alanındaki serin 473'te fosforilasyon PI3K'ya bağımlı bir mekanizma tarafından, AKT'yi tamamen etkinleştirir. AKT2 (T309 ve S474) ve AKT3'te (T305 ve S472) karşılık gelen kalıntılarda benzer fosforilasyon olayları gözlenir. AKT'nin maksimum aktivasyonu için her iki kalıntının fosforilasyonu gereklidir. Protein fosfataz 2A (PP2A) ile PH bölgesiyle lösin açısından zengin tekrar protein fosfatazları (PHLPP1 ve PHLPP2), sırasıyla AKT

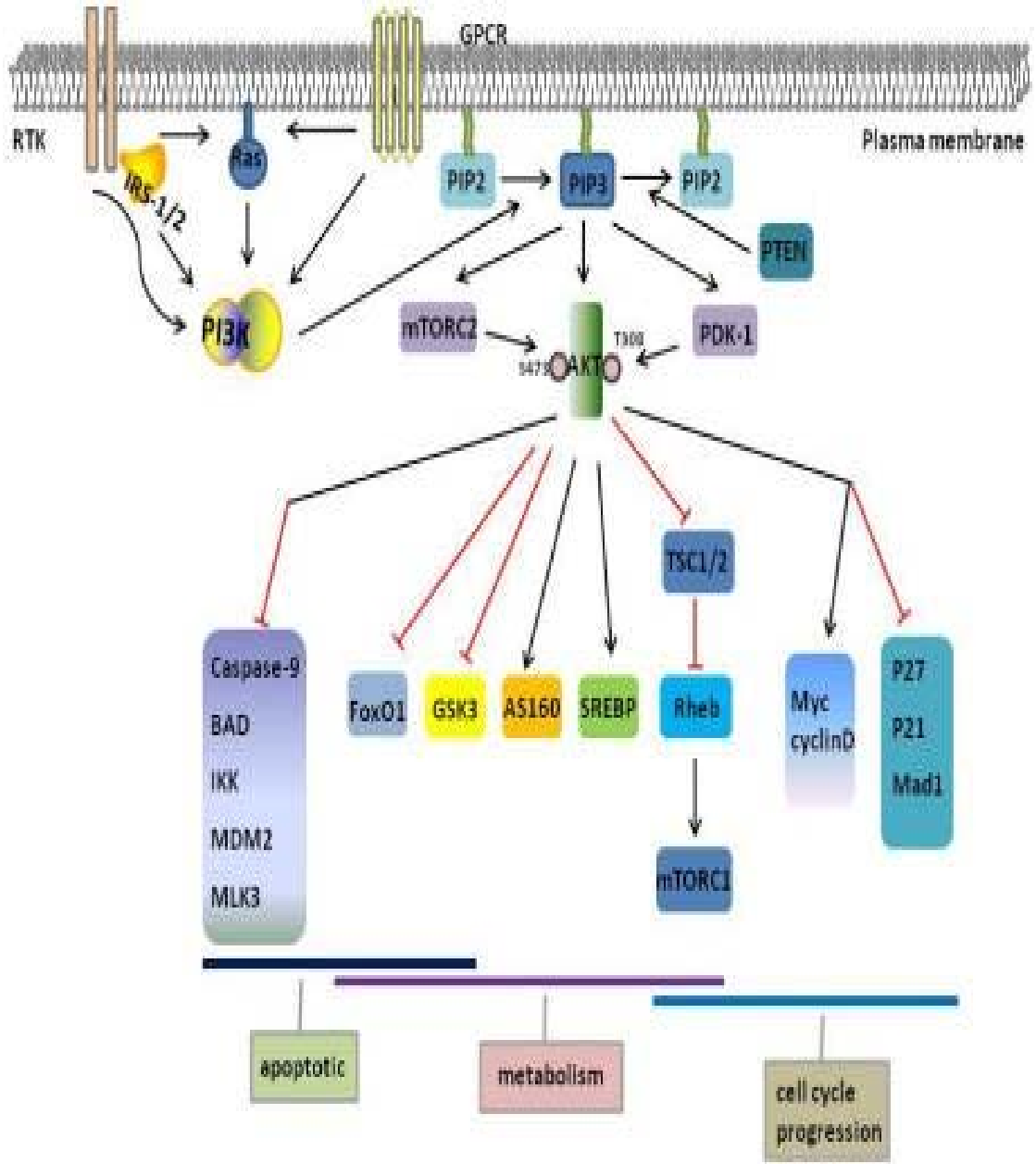
T308 ve S473'ü defosforile ederek AKT'nin inaktivasyonuna yol açar. Son zamanlarda PIP3 ve PIP2 içeren endomembranların da AKT aktivasyonuna doğrudan katkıda bulunduğu gösterilmiştir [163][169], [170], [171], [172], [173], [174], [175], [176], [177], [178].

Her ne kadar çeşitli çalışmalar AKT aktivasyonunda PI3K için mutlak bir gereklilik bildirirse de AKT aktivasyonunun PI3K'dan bağımsız bir mekanizma tarafından aracılık ettiği de öne sürülmüştür. Ancak araştırmacılar, üretken PI3K sinyallemede yoksulluğunda fonksiyonel AKT aktivasyonunun gerçekleşip gerçekleşmediğini kesin olarak tespit edemediler ve bu nedenle bu konu daha fazla çalışma gerektirmektedir [163], [179].

2.10. PI3K/AKT Yolağı

Kanıtlara göre, PI3K/AKT sinyal yolu, özellikleri nedeniyle normal metabolizma için gereklidir ve bu yoldaki dengesizlik, obezite ve tip 2 diyabet gelişimine yol açmaktadır. Vücudun çeşitli dokularında hasar gören PI3K/AKT yolu, insülin direnci sonucu obeziteye ve tip 2 diyabete yol açmakta, insülin direnci ise PI3K/AKT yolunu şiddetlendirerek bir kısır döngü oluşturmaktadır [180].

İnsülinin pankreas hücrelerinde esas olarak PI3K/AKT sinyalleme yoluyla önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Pankreatik β hücrelerinde insülin sinyalini bozan IRS2 (insülin reseptörü substratı 2) veya IR (insülin reseptörü)'nin β hücresine spesifik nakavt edilmesi, pankreas insülin içeriğini, β hücre kütlelerini ve glikozla uyarılan insülin sekresyonunu azaltır ve ardından T2DM'ye benzer bir fenotipin gelişmesini sağlar. PI3K/AKT yolunun aktivasyonu, pankreas β hücrelerinden insülin salgılanmasını teşvik eder. Pankreas β hücrelerinde AKT'nin aşırı ekspresyonu ve yapısal aktivasyonu, FoxO1, GSK3 ve mTOR1 gibi AKT'nin aşağı akışındaki sinyal ara maddelerinin aracılık ettiği β hücre kütlelerinde, proliferasyonunda ve hücre boyutunda bir artışa neden olur ve bu da AKT'nin rolü için daha fazla kanıt sağlar. Buna karşılık, AKT aktivitesini %80 oranında azaltan β hücrelerinde ölü bir kinaz mutantının aşırı ekspresyonu, insülin sekresyonunun eksikliğiyle sonuçlanır. Ek olarak PI3K/AKT yolu, pankreas β hücrelerinde bol miktarda eksprese edilen ve FFA kaynaklı β hücre apoptozunu destekleyen FoxO1'i inhibe ederek pankreas β hücrelerinde lipotoksisteyi önler (Şekil 2. 14) [181], [182], [183], [184], [185], [186], [187], [188], [189].



Şekil 2. 14 PI3K/AKT yolu. PI3K, AKT'yi aktive eder ve AKT, apoptotik, metabolizmayla hücre döngüsünde ilerleme ve çeşitli hücresel fonksiyonların düzenlenmesinde rol oynayan aşağı yöndeki substratları fosforile eder[189].

PI3K/AKT sinyal yolu, hücrelerin büyümesini, özelleşmesini ve enerji metabolizmasını kontrol ederek, hücrelerin ölümünü yönetir. Bu yol, hücrelerin yapılarını yeniden düzenlemelerine, apoptoz ve kanser hücrelerinin yaşamını sürdürmelerine olanak sağlar. Bu nedenle PI3K/AKT sinyal yolu obezite, diyabet ve kanser gibi çeşitli hastalıklarla ilişkilidir [189].

2.11. GLUT-2

GLUT'ları kodlayan SLC2A genleri tarafından oluşturulan kolaylaştırılmış difüzyon glikoz taşıyıcıları ailesi, 14 farklı izoform içermektedir. Bu izoformlar, çeşitli amino asit dizilerine, substrat özelliklerine, kinetik özelliklere ve farklı dokular ile hücresel lokalizasyonlara sahiptir. GLUT proteinleri ~500 amino asit kalıntısından oluşur, tek bir N-bağlı oligosakkarite sahiptir ve 12 zar kapsayan alana sahiptir [190]

GLUT2 ilk kez sıçan ve insan karaciğeri Slc2a2/SLC2A2 geninin cDNA klonlaması ile karakterize edilmiştir [191].

GLUT2, hepatositlerin ana glikoz taşıyıcısıdır [192]. Bunun yanında, bağırsak, böbrek, pankreas adacık β hücrelerinde ve ayrıca merkezi sinir sisteminde, nöronlarda, astrositlerde ve tanisitlerde eksprese edilmiştir [193].

GLUT2, glikoz taşıyıcıları arasında düşük bir görünür glikoz affinitesine sahip ($K_m \sim 17$ mM) benzersiz bir özelliktedir. Ayrıca, galaktoz ($K_m \sim 92$ mM), mannoz ($K_m \sim 125$ mM) ve fruktoz ($K_m \sim 76$ mM) gibi düşük affiniteli diğer şekerleri taşıyabilir. Yine, glikozamin için çok yüksek bir affinite göstermektedir ($K_m 0.8$ mM) [194].

Kemirgen pankreas β hücrelerinde GLUT2, başlıca glikoz taşıyıcısı iken, insan adacıklarında GLUT1 ve GLUT3 de bu durum ifade edilmektedir [195][196].

GLUT2'nin ekspresyonu, β hücrelerindeki glikoz ve lipidler tarafından düzenlenir ve glukolipotoksisite (yüksek glikoz ve serbest yağ asidi konsantrasyonları) yüzey ekspresyonunu azaltır [197][198].

Hem fare hem de insan β hücrelerinde, GLUT2'nin hücre yüzeyi ekspresyonu, belirli bir N-bağlı glikan yapısına bağlanan bir hücre yüzeyi lektini olan galektin 9 ile etkileşimine bağlıdır [199].

GLUT2 ana glikoz taşıyıcısıdır ve genetik inaktivasyonu, glikoz alımını ve glikozla uyarılan insülin sekresyonunu (GSIS) baskıladığı ortaya konmuştur [200].

3.GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1.Deney Hayvanları

Çalışma için kullanılacak olan hayvanlar Düzce Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi (DUDAM)’nden temin edilmiştir. Araştırmada, laboratuvarında 25 ± 3 °C oda sıcaklığında, 60 ± 5 nem seviyesinde, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık döngüsünde, beslenme ve su tüketimi serbest bırakılan, 2-6 aylık ve 330 ± 70 gram ağırlığındaki 28 adet erkek Wistar türü sıçanlar ile başlanmış, 1 adet sıçanın ölmesiyle çalışma 27 adet sıçan ile tamamlanmıştır.

Bu deneysel çalışma Düzce Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu’nun 14.03.2023 tarih ve 2023/03/01 karar nolu onayı alınarak gerçekleştirilmiştir.

3.2. Maddeler ve Dozları

Çalışmada, diyabet oluşturmak için kullanılan STZ, 55mg/kg i.p. tek doz uygulanmıştır. Distile su içerisinde çözödürölen HT 10 mg/kg dozunda intraperitoneal (i.p.) olarak 30 gün uygulanmıştır. Anestezik olarak 90 mg/kg ketamin ile 10 mg/kg ksilazin i.p. olarak kullanılmıştır.

3.3. Cerrahi Prosedür

Hayvanların anesteziden sonra pankreatektomi için karın bölgesi tıraş edilmiştir. Daha sonra karın derisi yukarıdan aşağıya orta hat boyunca bistüri ile kesilmiştir. Daha sonra abdomen ve torasik bileşkesinde bulunan pankreas dikkatlice çıkarılmıştır.

3.4. Diyabet Modeli, Deney Grupları ve Maddelerin Veriliş Yolları

Sıçanlar, tablodaki şekilde 4 gruba ayrılmıştır (**Tablo 3.1**). İlk grup (Kontrol) STZ ve HT ile muamele edilmeden (n=5) kontrol grubu olarak belirlenmiştir. 2. Gruba (STZ grubu) diyabet oluşturmak için STZ (Sigma-S0130) i.p. tek doz uygulanmıştır (n=9, STZ:55mg/kg). 3. Gruba (HT grubu) her gün (saat:10:00-12:00 arası) i.p. 10mg/kg HT (Cayman-70604) uygulanmıştır (n=5). 4. gruba (STZ+HT grubu) tek doz i.p. 55mg/kg STZ ve 30 gün boyunca her gün (saat:10:00-12:00 arası) i.p. 10mg/kg HT uygulanmıştır (n=9).

Tablo.3 1. Deney Grupları, Maddeler ve Veriliş Yolları

Grup No	Grup Adı	Verilen Maddeler	Verilen Miktar	Veriliş şekli	Hayvan Sayısı
1.	Kontrol Grubu	Salin	1 ml/kg	i.p.	5
2.	Diyabet Kontrol	Streptozotosin (tek doz)	55 mg/kg	i.p.	9
3.	HT Kontrol	Hidroksitirozol (30 gün)	10 mg/kg	i.p.	5
4.	HT + STZ	Hidroksitirozol (30 gün) + Streptozotosin (tek doz)	10 mg/kg ve 55 mg/kg	i.p.	9

3.5.İzlenen Yol

Deney başlangıcında diyabet oluşturmak için, hayvan ağırlıklarına göre steril distile su içinde hazırlanan STZ zeltisi sıçanlara tek doz i.p. 55 mg/kg verilmiştir. Diyabet oluşturulurken, sıçanlar 12 saat boyunca a bırakılmıştır. Enjeksiyondan önce sıçanların vücut ağırlığı llmştır. Kan glukoz değerleri deney başlangıcında kuyruk ucundan alınan kan ile ACCU-CHEK® Performa Nano cihazı kullanılarak llmştır. STZ enjeksiyonundan 2 gün sonra kan glikoz seviyelerine tekrar bakılarak, kan değeri ≥ 250 mg/dl olan sıçanlara diyabet teşhisi konulmuştur.

1 ay boyunca 08.00 ile 12.00 saatleri arasında HT ve STZ+HT gruplarına **Tablo 3.1’de** gösterilen şekilde 10 mg/kg dozunda i.p. HT [5 ml steril distile suda (dH₂O) toplam 1 gram HT çözünerek stoklanmıştır. Stok HT’den günlük 45 mg (225 μ l) zelti alınarak üstüne 8775 μ l dH₂O (9000 μ l) eklenmiştir)] uygulanmıştır.

3.5.1. Rutin Parafin Takibi

Belirlenen günde sıçanlar sakrifiye edildikten sonra alınan pankreas dokuları % 10’luk formaldehitte yaklaşık 24 saat fikse edilmiştir. Daha sonra trimlenen dokular kasetlere yerleştirilmiştir. Dokular takip prosedürüne uygun olarak %70, %80, %90 ve %96’lık

alkollerde uygun sürelerde dehidrate edildikten sonra asetonda 45 dakika bekletilmiştir, daha sonra ksilende önce 10 ve daha sonra 20 dakika bekletilerek şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Dokular 75 °C etüvdeki sıvı parafin içerisine alınarak 1 saat bekletilmiş ve daha sonra dokular bloklanmıştır.

3.6.Hematoksilen-Eozin Boyama Prosedürü

Rutin değerlendirme için Hematoksilen-Eozin (H&E) boyasıyla kesitler boyanmıştır.

Boyama öncesi kesitler etüv içerisinde 75°C'de 45 dakika bekletildi.

Lamlar ilk olarak ksilende 30 dakika boyunca bekletildi.

Bu süre bitiminde lamlar sırasıyla %96, %80 ve %70'lik etil alkollerden geçirildikten sonra çeşme suyunda yıkandı.

Daha sonra Harris hematoksilende lamlar 2 dakika boyunca bekletilerek bu sürenin sonunda çeşme suyu olan kapta 10 defa daldırılarak yıkandı.

Bu aşamadan sonra asit alkole 1 defa daldırılıp daha sonra tekrar çeşme suyunda yıkandı.

Yıkanan lamlar amonyaklı suya 1 defa daldırılıp tekrar çeşme suyunda yıkandı.

Yıkanan lamlar daha sonra %70'lik alkole 10 defa daldırılarak alkolik eozin boyasına alındı ve burada 30 saniye bekletildi. Eozin boyasında bekleyen lamlar daha sonra çeşme suyunda yıkandı.

Yıkanan lamlar sırayla %70, %80 ve %96'lık etil alkollerde 10'ar kez daldırıldıktan sonra 75 derece sıcaklıktaki etüvde 2 dakika bekletilip kurumaları sağlandı. Daha sonra ksilende 10 dakika bekletildikten sonra lamların üzerleri entellan damlatılarak lamelle kapatıldı.

3.7. İmmünohistokimya Tekniğinin Uygulanması

Pankreas dokusu Langerhans adacıklarında immünohistokimyasal teknik uygulanarak PI3K, AKT, GLUT-2 ve İnsülinin ekspresyonlarının hücresel dağılımlarına bakıldı.

3.7.1. İmmünohistokimya Protokolü

Çalışmamızda, HT'nin etkisini detaylı değerlendirmek için İnsülin (Anti-insulin-Invitrogen #PA5-120784), PI3K (Anti-PIK3R1- St John's Laboratory STJ90925), pAKT (Anti-43 pAKT1- St John's Laboratory STJ91024) ve GLUT-2 (SLC2A2) (Anti-SLC2A2- St John's Laboratory STJ111885) antikorları ile immünohistokimyasal inceleme yapılmıştır.

1. 56°C'lik etüvde 1 gece bekletilen kesitleri sabah deparafinize etmek için ikişer kez 10'ar dakika ksilollere tutuldu. Daha sonra %100, %90, %80 ve %70'lik alkol serilerinden 5'er dakika geçirilerek dokular dehidrate edildi.
 2. Kesitler distile suda çalkalandı ve fosfatlı tuz tamponunda (PBS; pH: 7.2-7.4) üç kez 5'er dakika yıkandı.
 3. Antijenik maskelenmenin giderilmesi amacıyla, kesitler 0.01 M sitrat tamponuna (pH:6.0) konularak mikrodalgada 2 kez 5'er dakika 700 Watt'ta kaynatıldı daha sonra 20-30 dakika odada normal ısıya gelmesi beklendi..
 4. Hidrofobik PAP PEN ile lamdaki dokuların etrafı çizildi, Daha sonra distile suda yıkandı ve ardından PBS'de 5 dakikalık süre ile 3 kez yıkandı.
- PBS hazırlama: 16 gram Sodyum Klorür (N9), 2,85 gram Di Sodyum Hidrojen Fosfat (N49) ve 2 litre distile su içinde 0,8 gram Potasyum Dihidrofosfat pH'sinin 7,2-7,4 arasında olmasına dikkat edilerek çözüldü.
5. Daha sonra kesitler Endojen peroksidaz aktivitesinin giderilebilmesi için %3'lük hidrojen peroksit (63 ml Methanol + 7 ml Hidrojen Peroksit.) bulunan şalede 15 dakika bekletildi.
 6. Daha sonra lamlar distile suda çalkalanarak PBS'te 5 er dakikadan 3 kez yıkanarak bloklama serumu ile 7 dakika boyunca muamele edilerek bekletildi.
 7. Bu sırada primer antikörler ; Anti-phospo-AKT1 1:100, Anti-phospo-PIK3R1 1:100, Anti-SLC2A2 1:100 ve Anti-insulin 1:100 oranlarında PBS ile sulandırılarak hazırlandı. Kesitlerdeki dokuları kaplayacak şekilde damlatılan, PI3K, AKT, GLUT-2 ve İnsülin primer antikörleri ile dokular +4°C'de bir gece inkübe edildi. Kontrollere PBS damlatıldı.
 8. Ertesi sabah dokular PBS ile beşer dakika üç kez yıkandı. Daha sonra sırasıyla, 30 dakika boyunca sekonder antikör ve HRP-konjuge streptavidin ile oda sıcaklığında nemine dikkat edilerek inkübe edildi.Daha sonra PBS ile 5'er dakika olacak şekilde 3 kez yıkandı.
 9. Dokular mikroskop altında boyanma yoğunluğuna göre 3 - 5 dakika arasında Di Amino Benzidin (DAB) kromojenine maruz bırakıldı ve musluk suyunda yıkandı.
 10. Dokuların 1 dk boyunca Mayer hematoksilen ile zıt boyaması yapılmış ve entellan ile kapatılmıştır.

3.8. Işık Mikroskopik İnceleme

Parafin bloklardan Leica RM2245 mikrotomla, Feather marka metal mikrotom bıçaklarıyla 4 mikron çapında kesitler alınmış ve genel histolojik değerlendirme için Hematoksilen-Eozin (H&E) ile boyanmıştır. Boyanan kesitler Olympus BX50 mikroskobu ile değerlendirilmiş ve bu değerlendirme sırasında Zeiss Axiocam ICc 5 kamera kullanılarak fotoğrafları çekilmiştir.

Farklı deney gruplarında PI3K, AKT, GLUT-2 ve İnsülin proteinlerinin immünohistokimyasal bulguları Olympus BX50 mikroskobu ile görüntülenmiş ve Zeiss Axiocam ICc 5 kamera kullanılarak fotoğraflanan dokular, ImageJ programı ile değerlendirilmiştir.

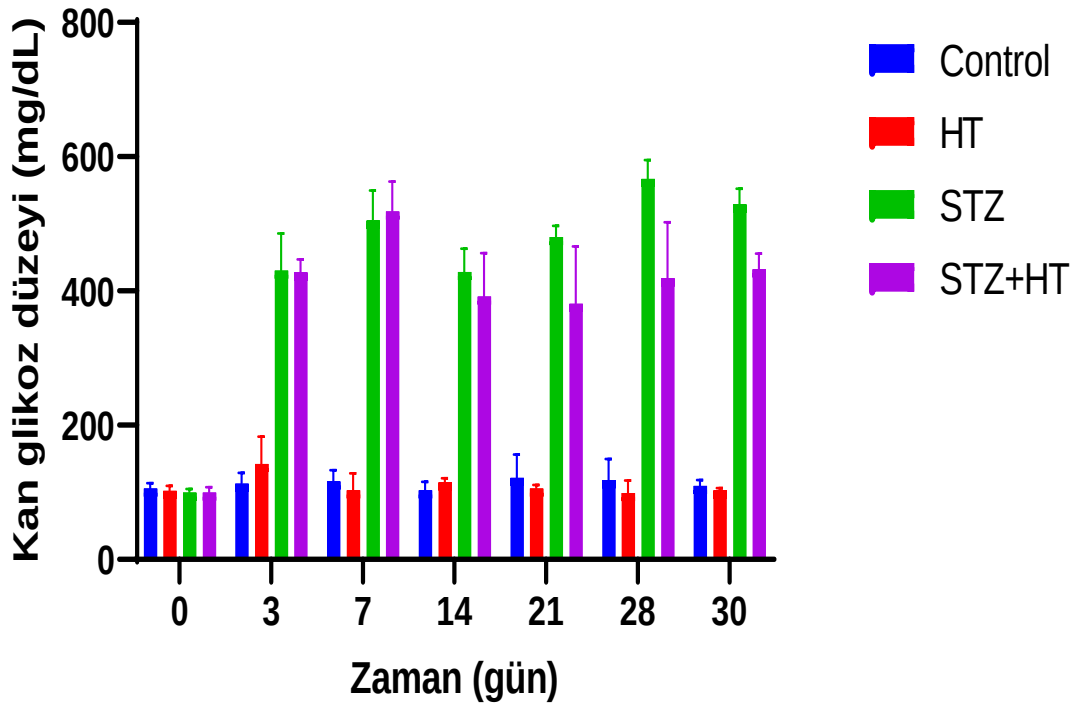
3.9. İstatistiksel Analizler

Kan glikoz seviyesi ölçümlerinin ve ağırlık değişimlerinin gruplar arası farklılıkları two way ANOVA (Tukey's multiple comparisons test) testi ile incelenmiştir. Elde edilen verilerin gruplar arası karşılaştırmalarında One Way ANOVA (post hoc: Tukey test) kullanılmıştır.

İstatistiksel anlamlılık düzeyi için $P < 0.05$ kabul edilmiştir. Analizlerde ise GraphPad Prism 9 programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Deneklerin Kan Glikoz Ölçümleri



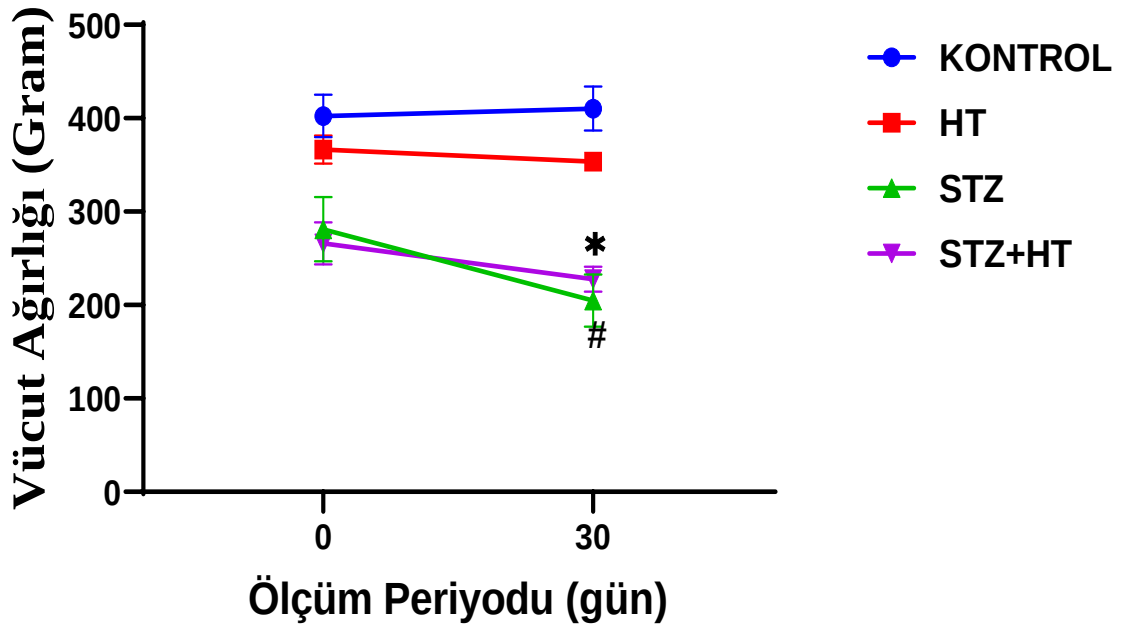
Şekil :4.1 Grupların kan glikoz düzeyi değişimi. ($P<0,001$)

Tüm grupların kan glikoz seviyesine düzenli olarak bakıldı (0, 3, 7, 14, 21, 28 ve 30. günlerde). Kontrol ve HT gruplarında, kan glikoz seviyelerinde deney sonuna kadar belirgin bir fark gözlenmezken, STZ grubunda yüksek glikoz seviyeleri gözlemlendi ve STZ grubunda kontrol ve HT grubuna göre anlamlı bir fark gözlemlendi ($P<0,001$). STZ-HT grubunda STZ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük kan glikoz düzeyi vardı ($P<0,001$). HT tedavisi ile kan glikoz düzeyinin anlamlı bir şekilde düştüğü görüldü ($p<0,001$) (**Tablo 4.1**).

Tablo 4.1 Deney Gruplarının Kan Glikoz Değerleri

Gruplar	Gün	Ortalama	SD	Min	Maks	P
Kontrol	0	105,7	7,9589	95	118	=0,210
HT		102,3	7,6601	93	116	
STZ		99,6	5,5216	94	113	
STZ+HT		99,6	7,7917	90	117	
Kontrol	3	112,8	16,4641	91	142	<0,001
HT		142	40,81122	98	211	
STZ		430,1	55,36435	372	525	
STZ+HT		427,5	19,70477	405	460	
Kontrol	7	116,4	16,51397	94	132	<0,001
HT		103,3	25,07788	58	133	
STZ		505,1	44,60306	450	549	
STZ+HT		518	45,24992	460	573	
Kontrol	14	97	12,45436	90	124	<0,001
HT		115,3	5,945119	108	124	
STZ		428,6	34,67372	382	482	
STZ+HT		391,6	64,5208	300	493	
Kontrol	21	121,8	34,66282	93	186	<0,001
HT		105,8	5,432413	95	111	
STZ		480,1	16,74283	457	503	
STZ+HT		381,3	85,23308	285	529	
Kontrol	28	118,6	30,85162	94	174	<0,001
HT		99,2	18,29268	82	134	
STZ		567,3	27,89683	527	597	
STZ+HT		418,8	83,52086	270	512	
Kontrol	30	109,6	8,707596	98	122	<0,001
HT		102,8	3,489667	99	108	
STZ		528,8	23,7056	499	565	
STZ+HT		432,4	23,59473	402	465	

4.2. Grupların Vücut Ağırlığı Değişimleri

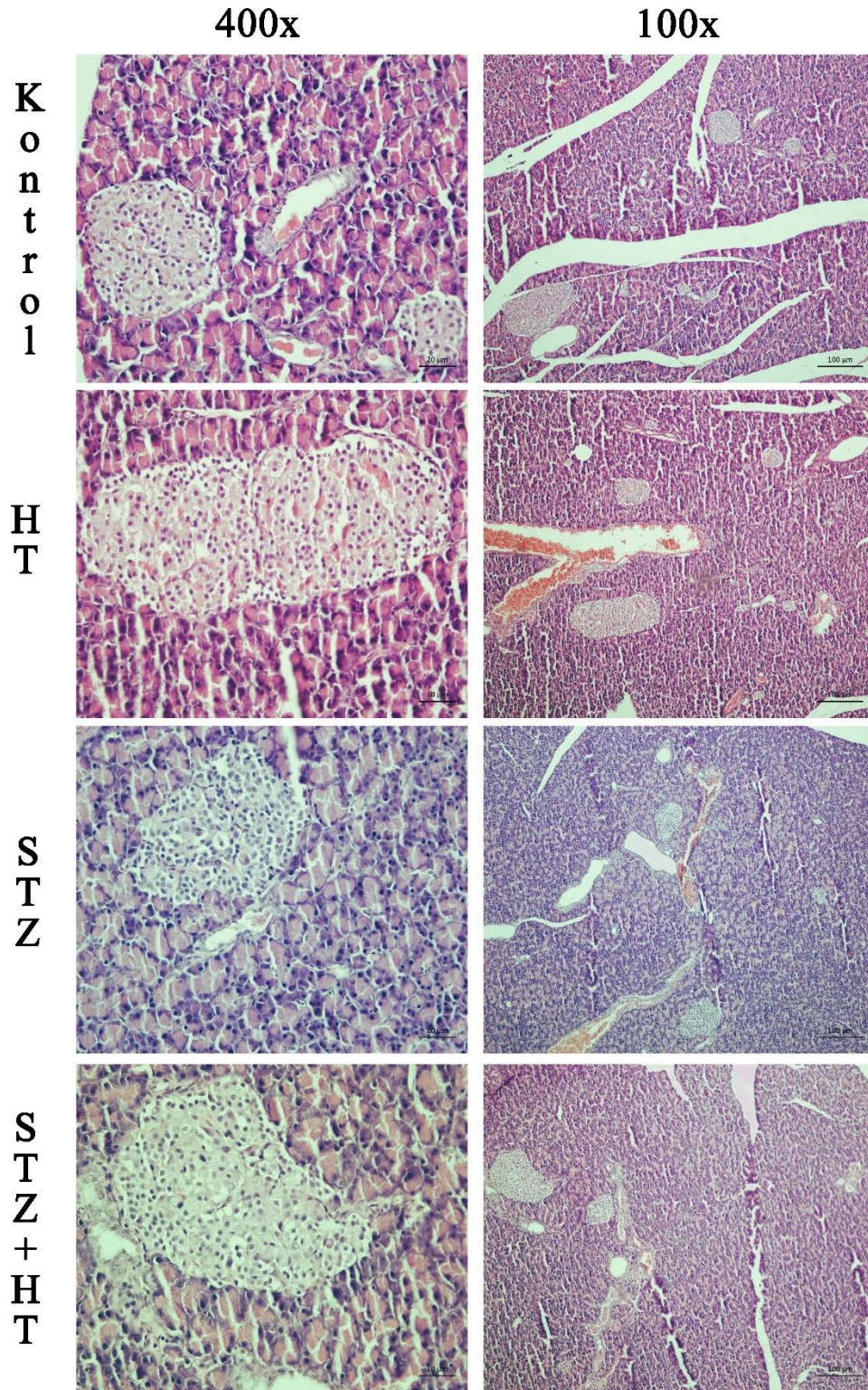


Şekil :4.2 Grupların vücut ağırlığı değişimi.(Kontrol (p=0,974), HT (p=0,853), STZ (p<0,001), STZ+HT (p=0,004))

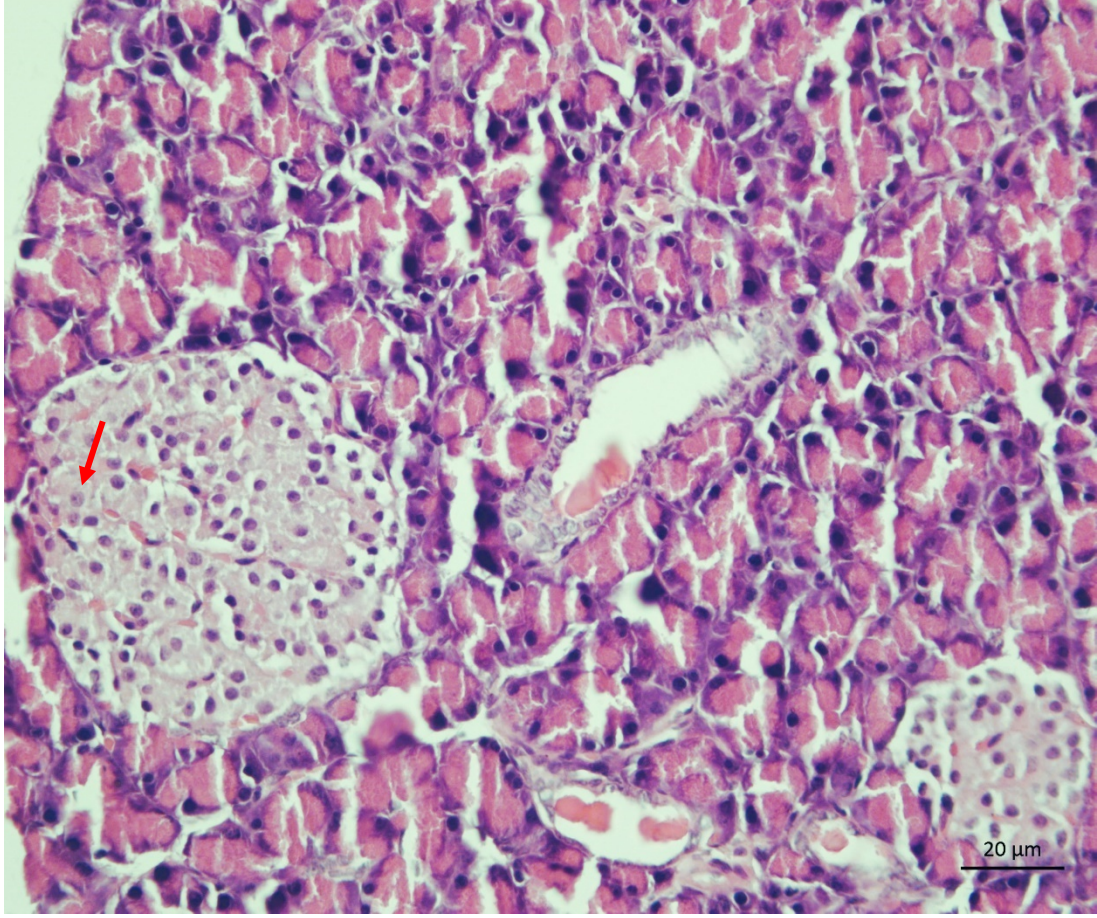
Grupların ağırlıkları yapılan ölçümler sonucunda, Kontrol (p=0,974) ve HT (p=0,853) gruplarında anlamlı bir değişiklik göstermezken, STZ (p<0,001) grubunda düşüşün anlamlı olduğu görüldü. STZ+HT grubunda ise ağırlıktaki düşüş STZ grubuna göre daha azdı (p=0,004) (Şekil 4.2).

4.3. Hematoksilen-Eozin Boyama Bulguları

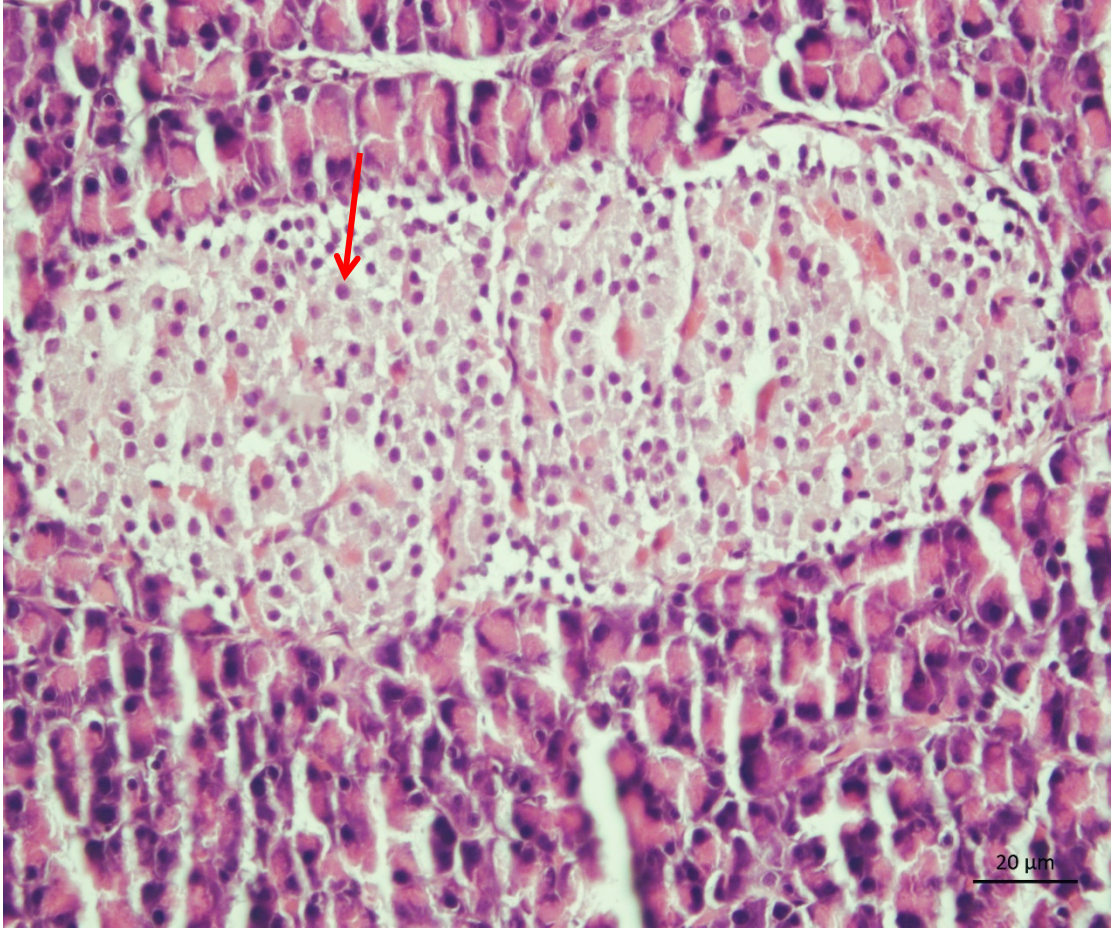
Pankreas ve Langerhans adacıklarının genel morfolojisini incelemek amacıyla, %10'luk formaldehit solüsyonunda fiksasyonu gerçekleştirilen doku kesitlerine H&E boyası uygulandı. Pankreatik asiner hücreler koyu renklerle boyanırken, Langerhans adacıkları açık renkli olarak belirginleşti. Langerhans adacıklarının sınırları tüm gruplarda düzenli bir şekilde belirlendi. H&E boyama yöntemiyle β hücreleri özel olarak seçilip, gösterildi. STZ grubunda dejeneratif ve nekrotik değişiklikler gözlemlendi. Langerhans adacıklarında hücre kaybıyla birlikte hücrelerin büzüştüğü ve bozulduğu tespit edildi. Dejeneratif ve nekrotik hücrelerde hidropik dejenerasyon ve degranülasyon oluşurken, piknotik nükleuslu hücrelerde sitoplazmik vakouülasyon ve koyu eozinofilik stoplazma gözlemlendi. STZ+HT grubunda ise STZ grubuna kıyasla dejenerasyon ve nekrotik değişiklikler daha azdı. (Şekil 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7).



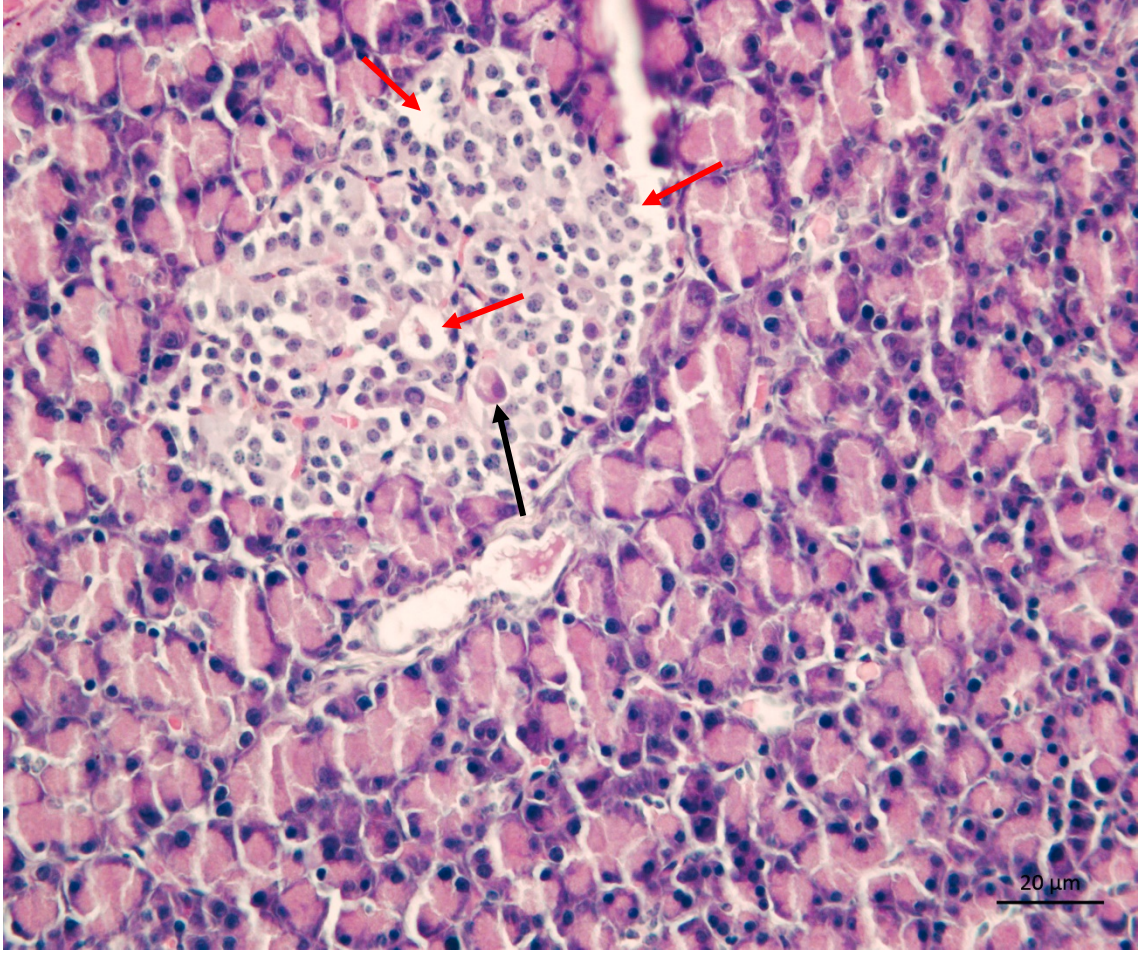
Şekil :4.3 Tüm grupların pankreas dokusunun H&E boyaması (400x-100x)



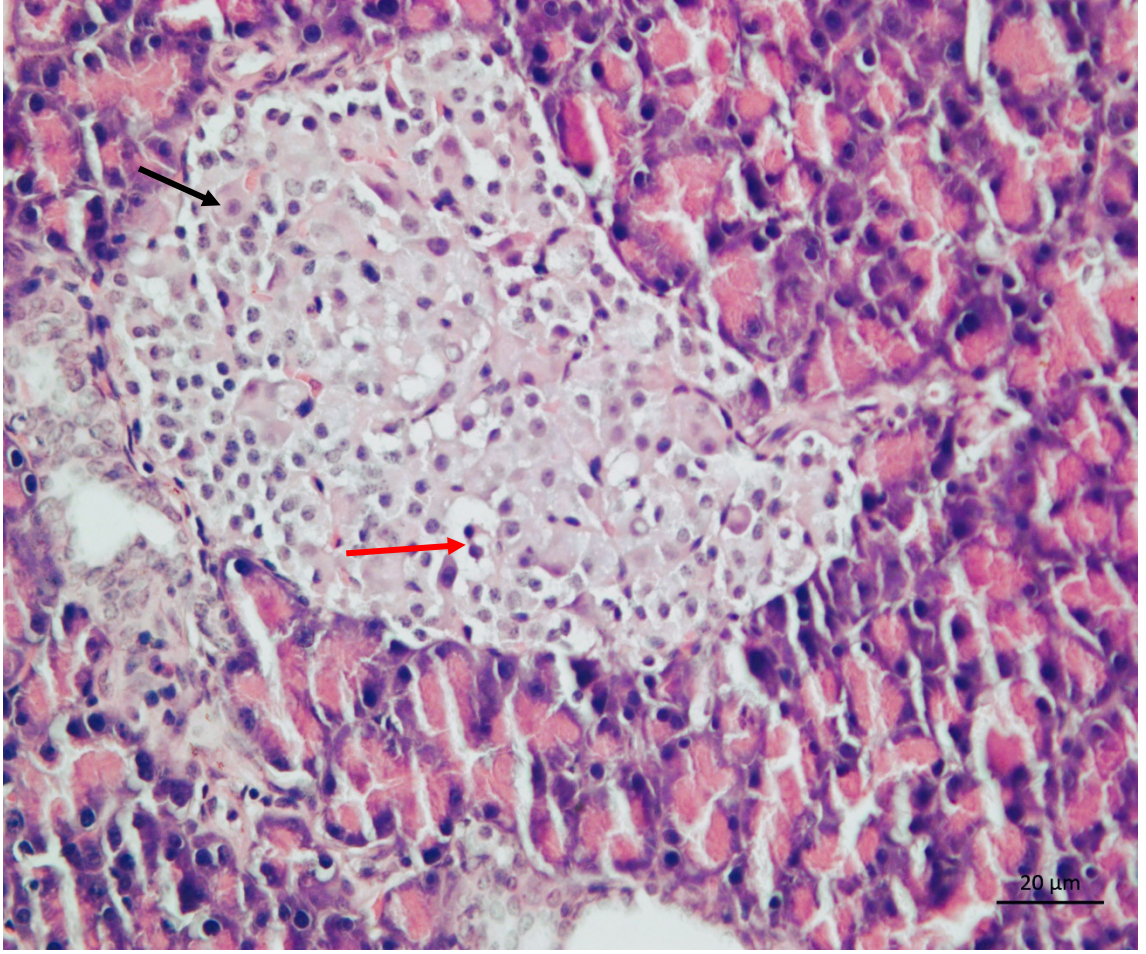
Şekil :4.4 Kontrol Grubu H&E boyama, normal langerhans adacığı (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)



Şekil :4.5 HT Grubu H&E boyama, normal langerhans adacığı (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)



Şekil :4.6 STZ Grubu H&E boyama (400x) (Kırmızı oklar: Langerhans adacıklarında hücre kaybı ve vakuoler sitoplazmalı hücreler. Siyah ok: dejeneratif hücreler(piknotik çekirdek))

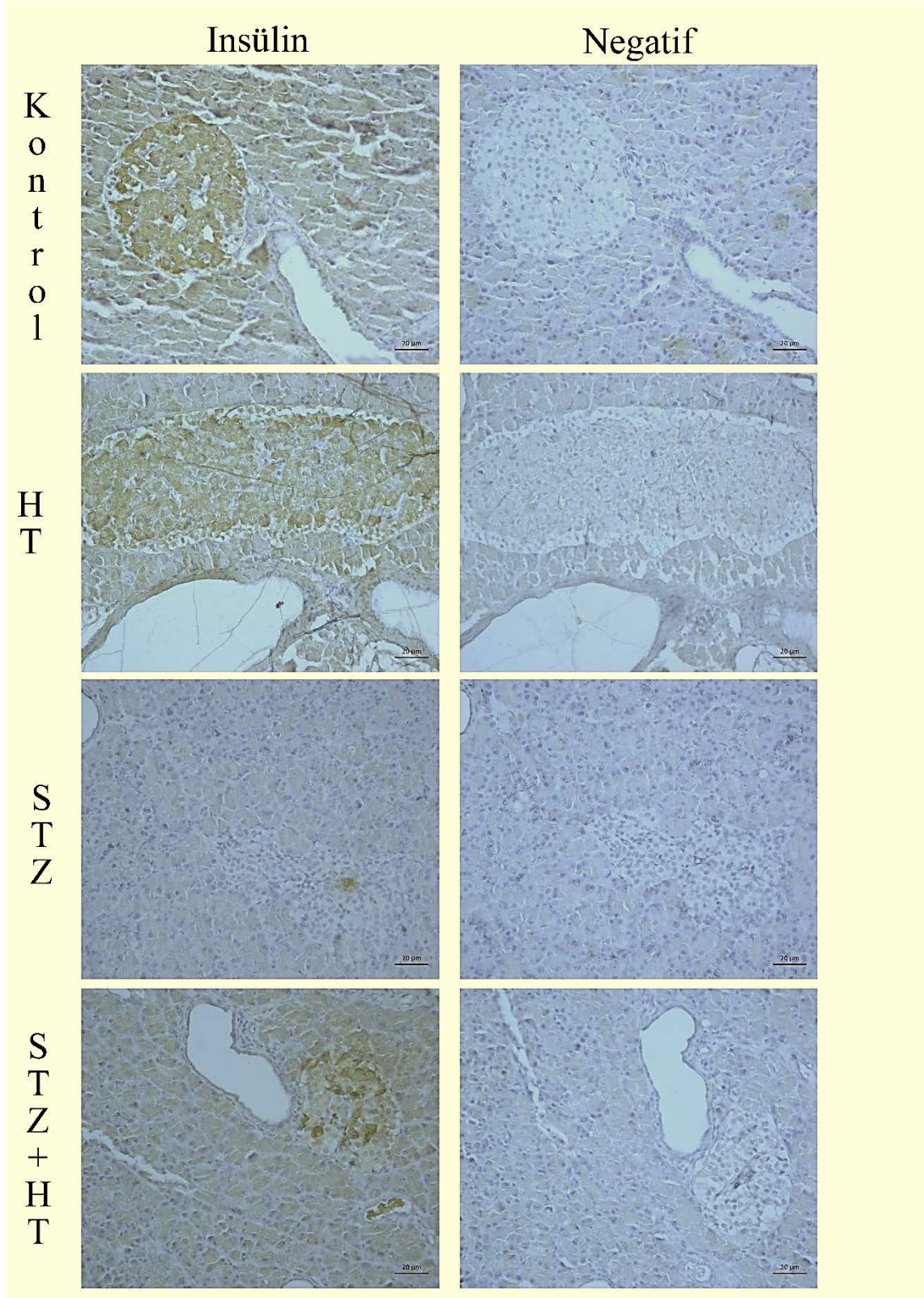


Şekil :4.7 STZ+HT Grubu H&E boyama(400x) (Kırmızı ok: vakuoler sitoplazmalı hücreler Siyah ok: dejeneratif hücreler(piknotik çekirdek))

4.4. İmmünohistokimyasal Değerlendirme

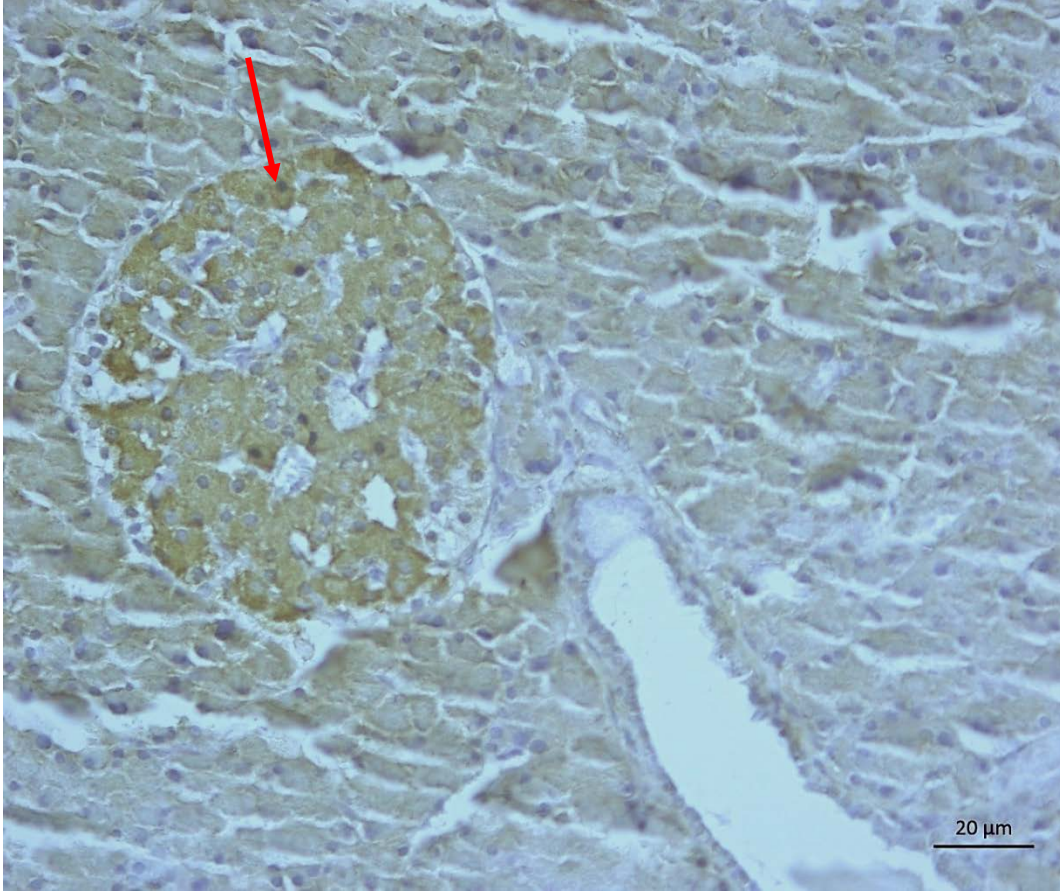
Tüm grupların pankreaslarında; Anti-insülin, Anti-PI3K, Anti-pAKT ve Anti-GLUT-2 antikorları ile immünohistokimyasal boyama yapıldı. Kontrol ve HT grupları arasında anlamlı farklılık gözlenmedi. STZ ve STZ+HT gruplarında tüm antikorlarda ekspresyonda azalma tespit edildi. Kontrol ve HT grupları, STZ ve STZ+HT gruplarıyla kıyaslandığında Langerhans adacıklarındaki β hücrelerinde ekspresyonun belirgin derecede yoğun olduğu görüldü. STZ grubu ile kıyaslandığı zaman STZ+HT grubunda ekspresyonun artmış olduğu gözlemlendi.(Şekil 4.8, Şekil 4.13, Şekil 4.18, Şekil 4.23).

4.3.1. İnsülin İmmünohistokimyasal Boyama

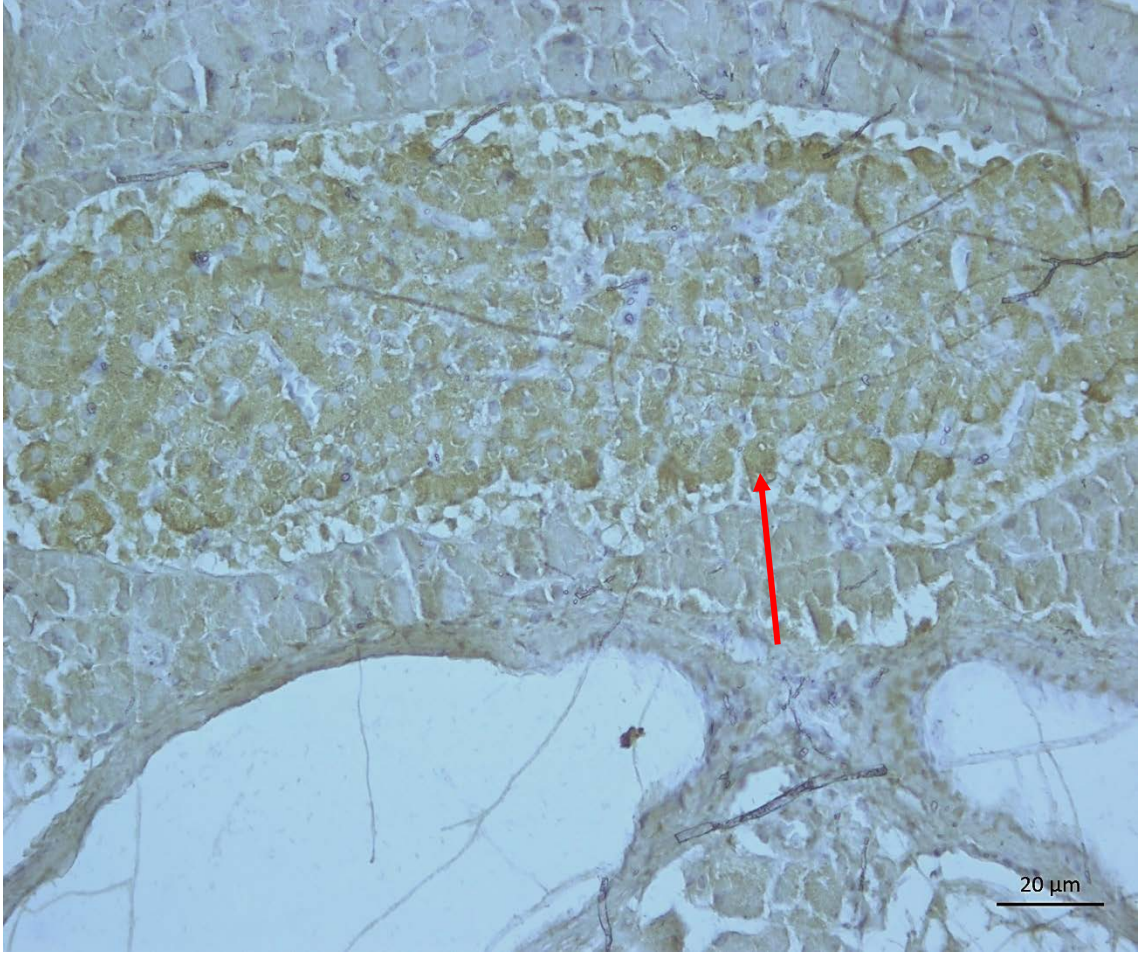


Şekil :4.8 Anti-insülin Antikoru ile pozitif ve negatif boyama (400x)

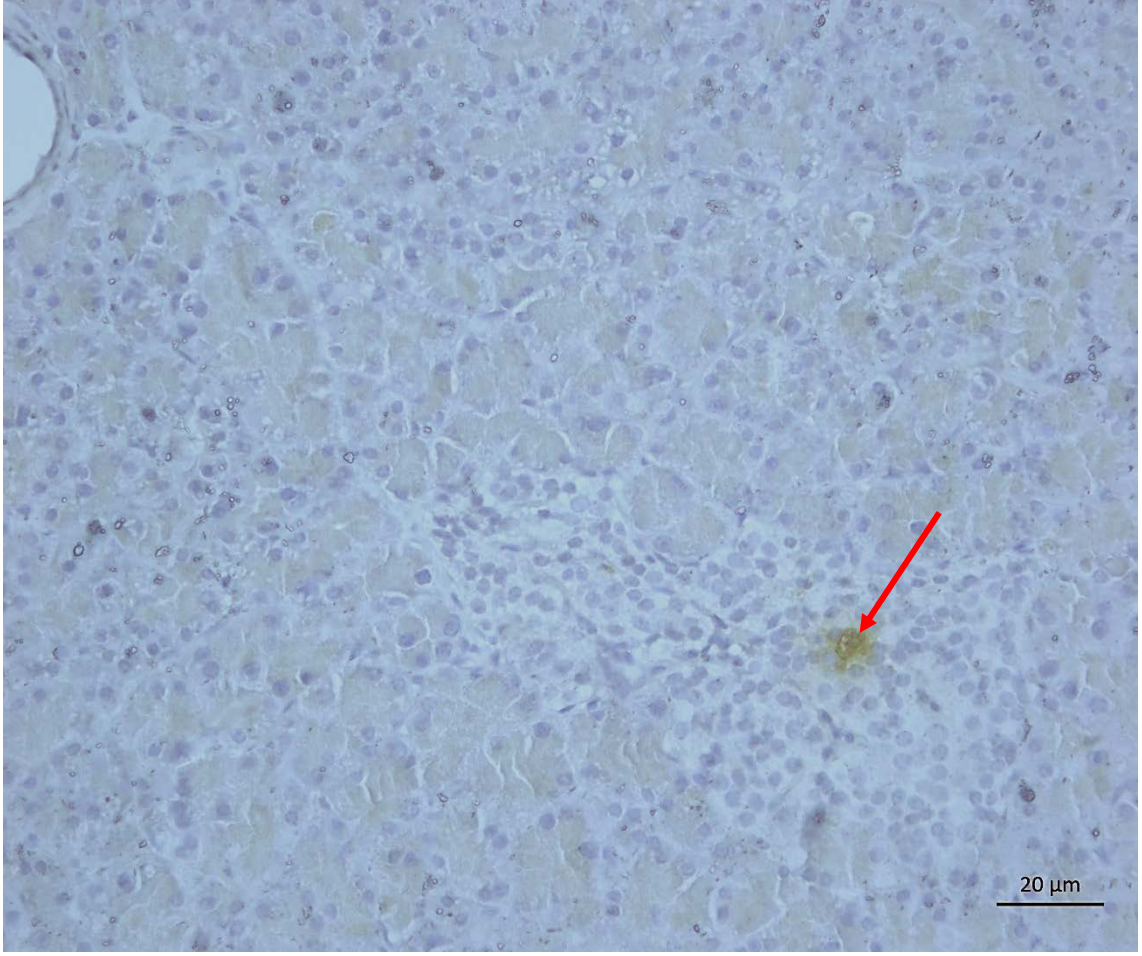
Tüm gruptaki deneklerin pankreas dokusu Anti-İnsülin antikoruna ile immünohistokimyasal boyama sonrası incelenerek analiz edildi. Anti-İnsülin Antikoru ile yapılan incelemede; insülin sekresyonunun gerçekleştiği Langerhans adacığı β hücrelerinde ekspresyon tespit edildi. Kontrol ve HT gruplarında β hücrelerinde yoğun ekspresyon mevcut iken STZ ve STZ+HT gruplarında STZ' de daha fazla olmak üzere ekspresyonda azalma gözlemlendi. Diyabetik gruplara Hidroksitirozol uygulanması ile ekspresyonundaki değişim **Şekil 4.8'de** gösterilmiştir. Kontrol ve HT grupları arasında ekspresyon açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p=0.189$). STZ grubu; HT ve Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında ekspresyonda istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu görüldü ($p<0.001$). STZ grubu STZ+HT grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak ekspresyonda anlamlı bir azalma görüldü ($p=0,014$), STZ+HT grubu ile Kontrol ve HT grupları karşılaştırıldığında STZ+HT grubunda ekspresyonda istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma görüldü ($p<0.001$) (**Şekil 4.28**).



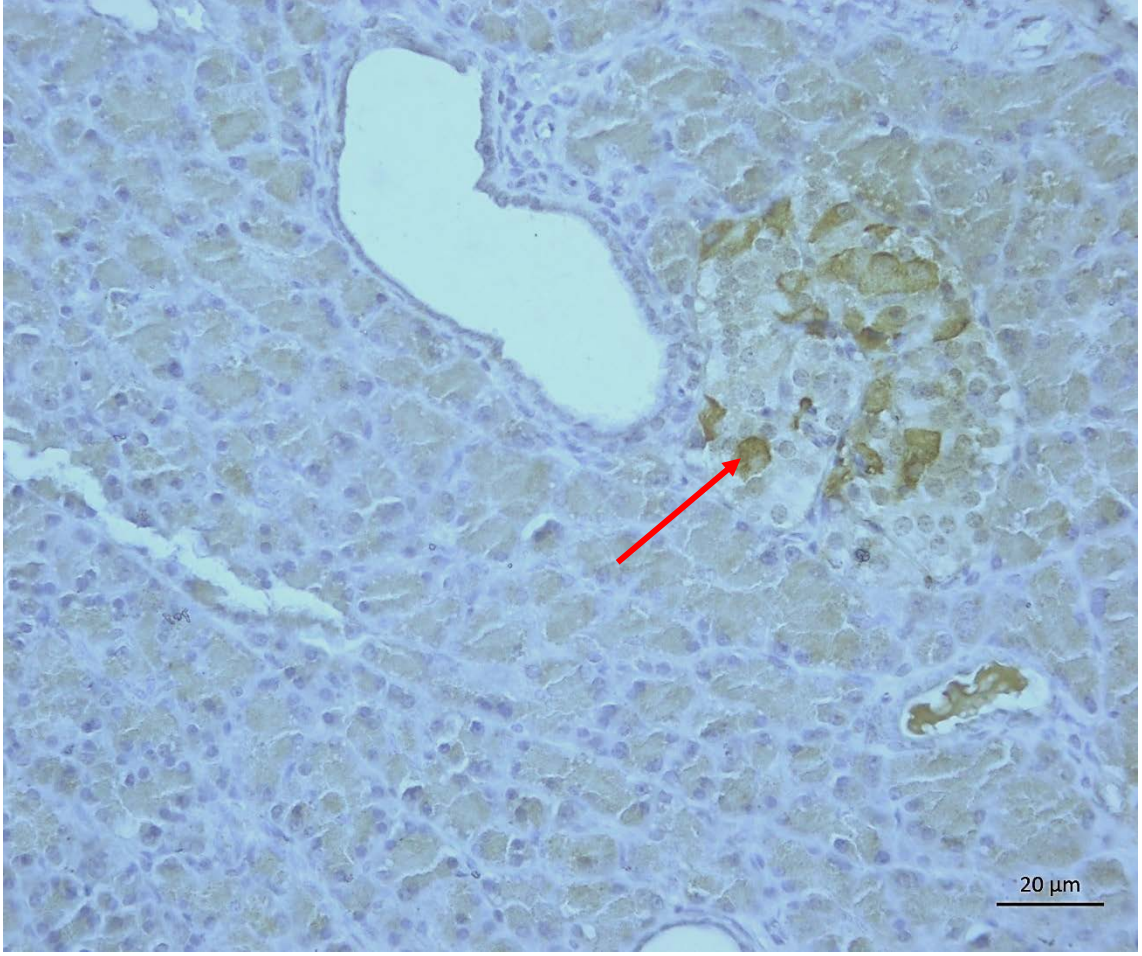
Şekil :4.9 Anti-İnsülin Antikoru ile Kontrol grubunun immünohistokimyasal boyaması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi))



Şekil :4.10 Anti-İnsülin Antikoru ile HT grubunun immünohistokimyasal boyaması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)

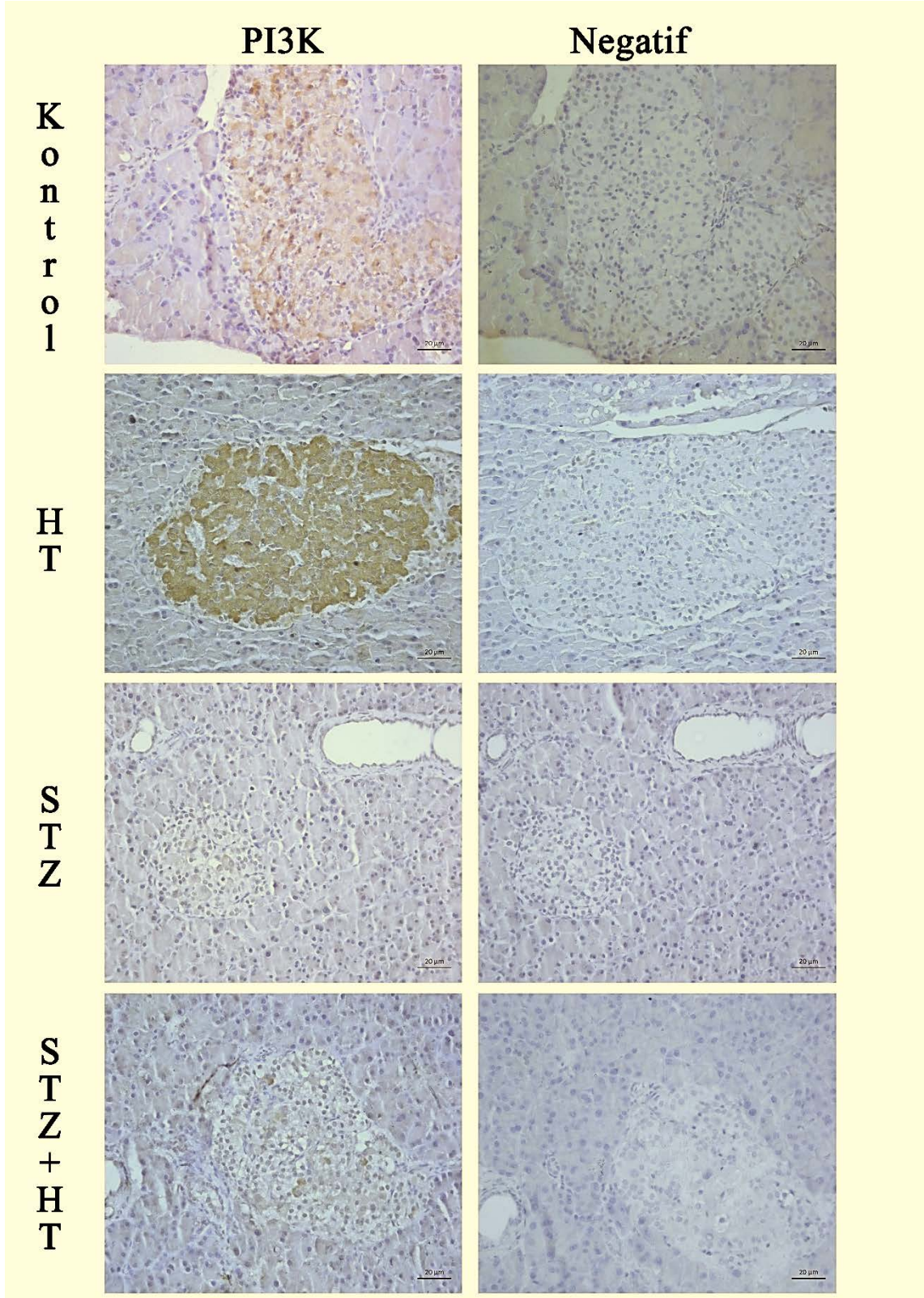


Şekil :4.11 Anti-İnsülin Antikoru ile STZ grubunun immünohistokimyasal boyaması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)



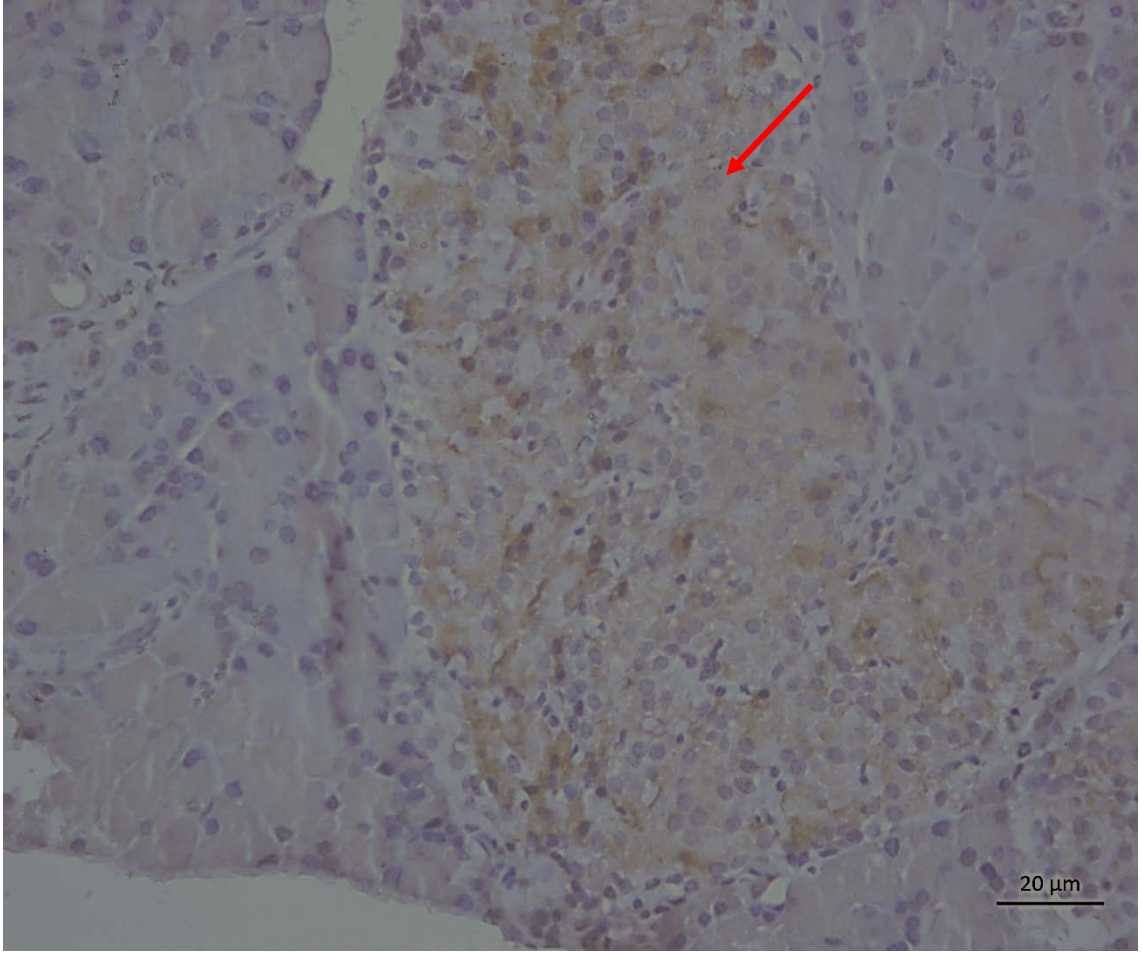
Şekil :4.12 Anti-İnsülin Antikoru ile STZ+HT grubunun immünohistokimyasal boyanması

4.3.2. PI3K İmmünohistokimyasal Boyama

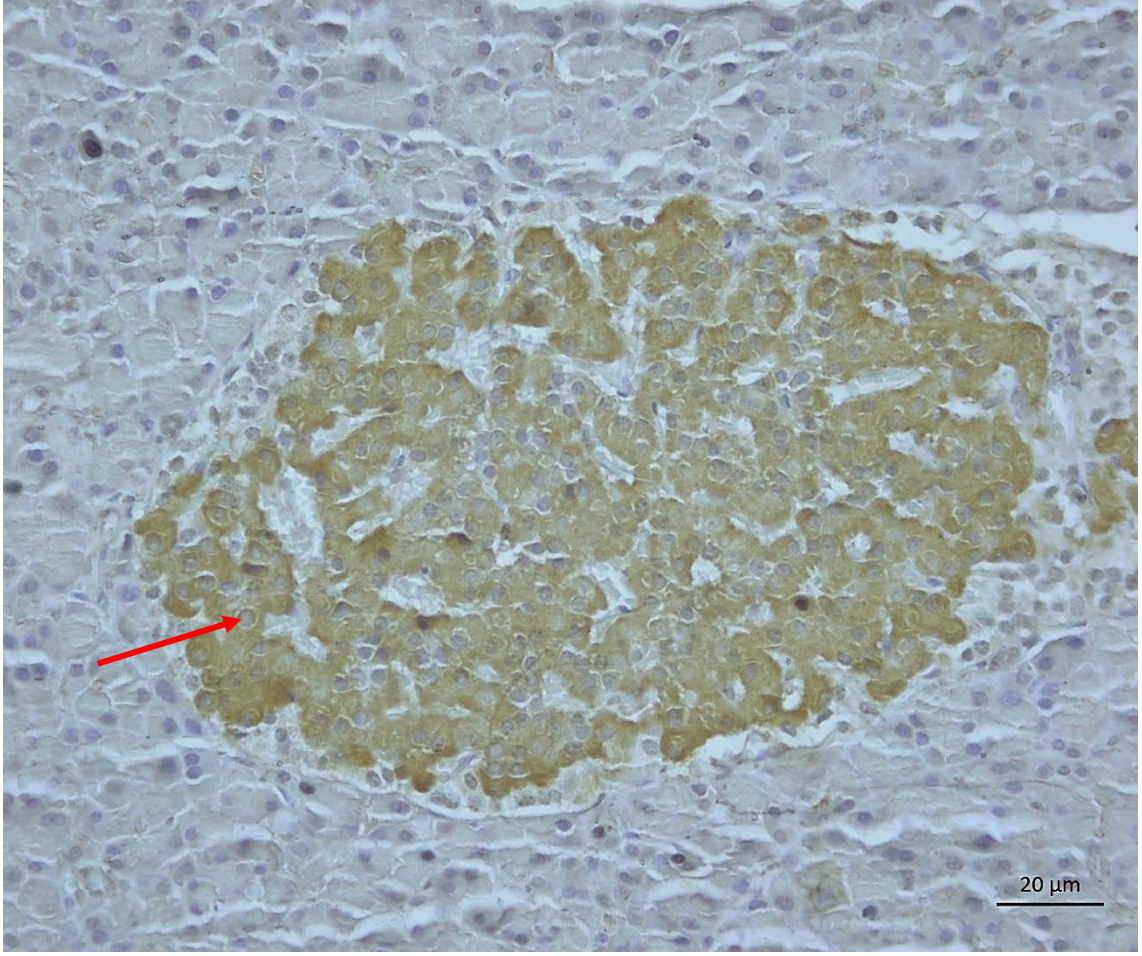


Şekil :4.13 Grupların anti-PI3K Antikoru ile pozitif ve kontrol negatif boyanması (400x)

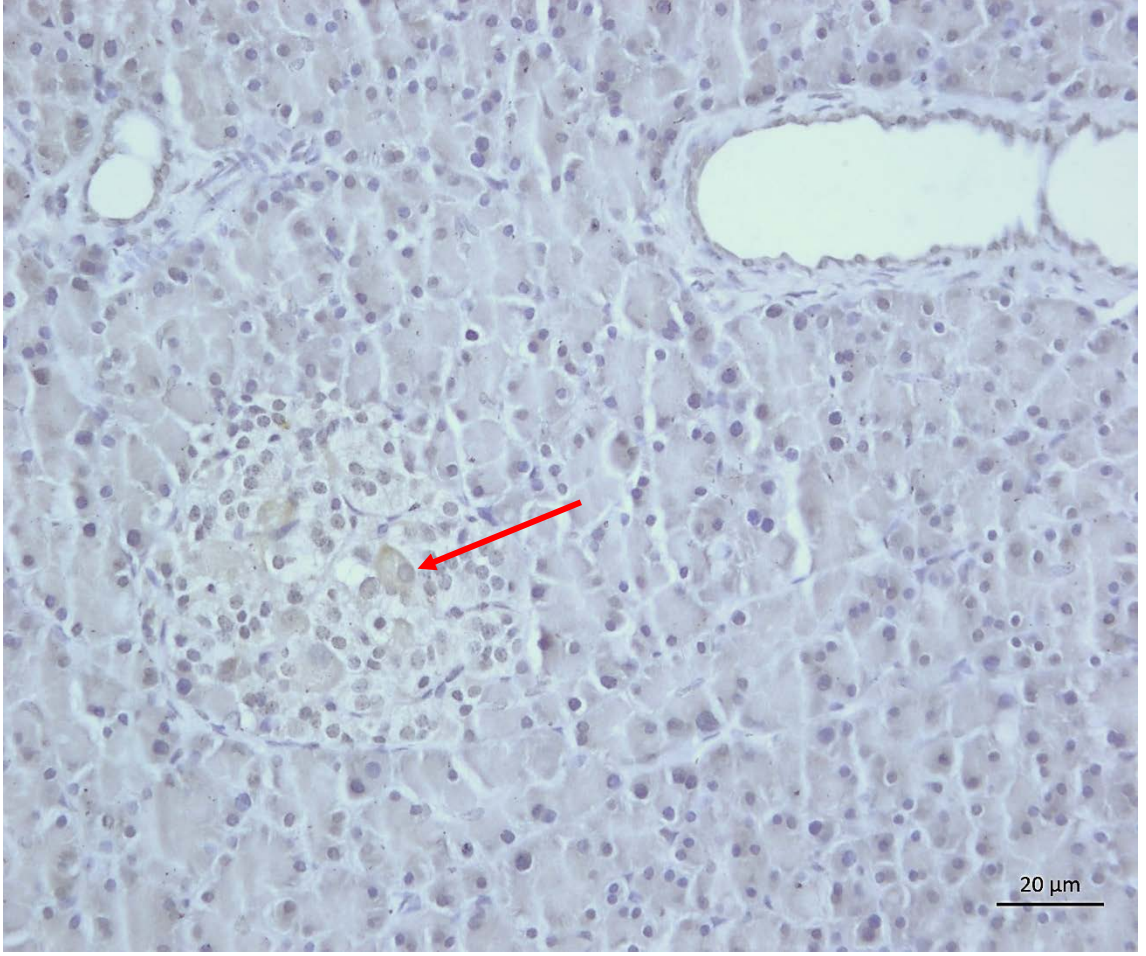
Tüm gruptaki deneklerin pankreas dokusu Anti-PI3K antikoru ile immünohistokimyasal boyama sonrası incelenerek analiz edildi. Anti-PI3K Antikoru ile yapılan incelemede; PI3K sekresyonunun Langerhans adacığı β hücrelerinde olduğu görülmektedir. Kontrol ve HT gruplarında β hücrelerinde yoğun ekspresyon mevcut iken STZ VE STZ+HT gruplarında STZ’de daha fazla olmak üzere ekspresyonda azalma gözlemlendi. Diyabetik gruplara Hidroksitirozol uygulanması ile ekspresyonundaki değişim **Şekil 4.13’te** gösterilmiştir. Kontrol ve HT grupları arasında ekspresyon açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p=0.180$). STZ grubu; HT ve Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında ekspresyonda istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu görüldü ($p<0.001$). STZ grubu STZ+HT grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak ekspresyonda anlamlı bir azalma görüldü ($p= 0,016$), STZ+HT grubu ile Kontrol ve HT grupları karşılaştırıldığında STZ+HT grubunda ekspresyonda istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma görüldü ($p<0.001$) (**Şekil 4.29**).



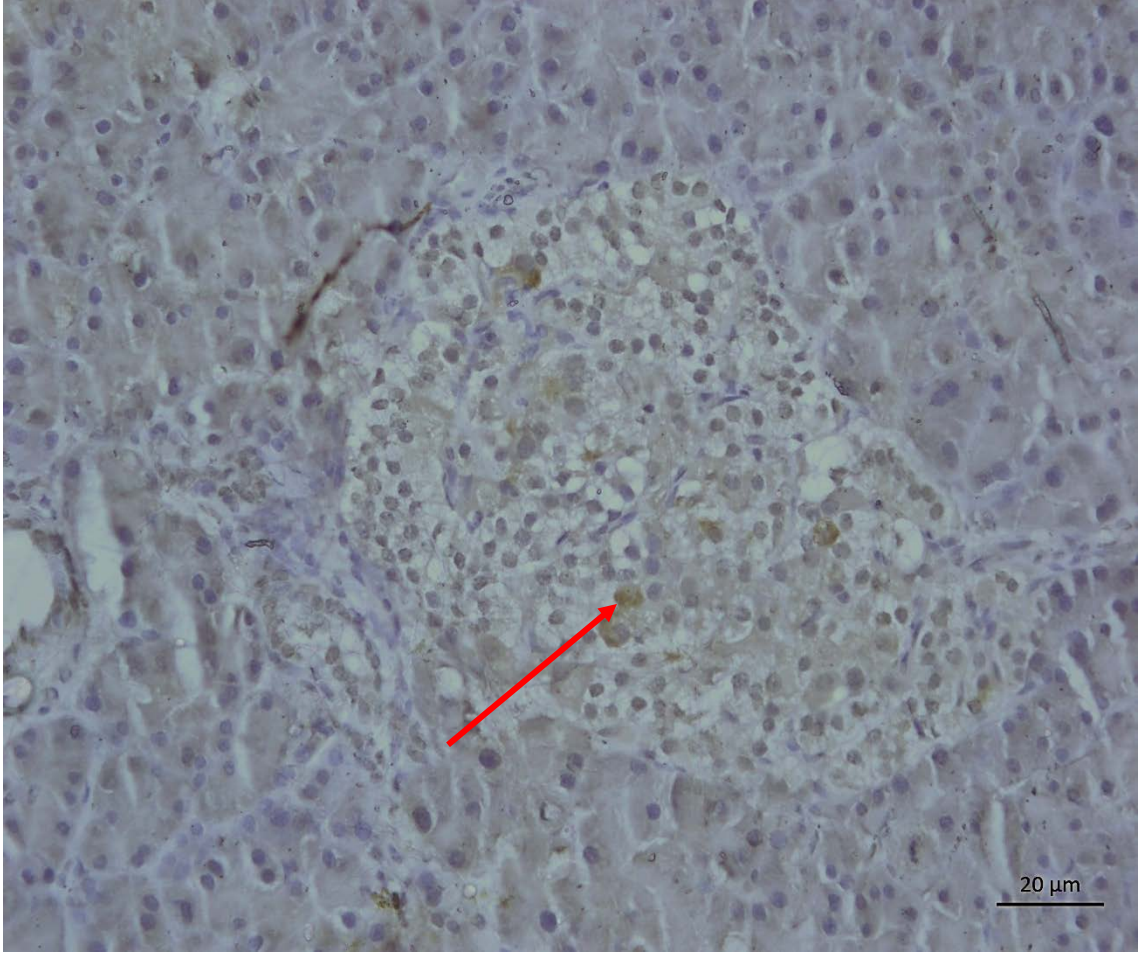
Şekil :4.14 Anti-PI3K Antikoru ile pozitif, Kontrol grubunun immünohistokimyasal boyaması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)



Şekil :4.15 Anti-PI3K Antikoru ile pozitif, HT grubunun immünohistokimyasal boyanması (400x)(Kırmızı ok: β hücresi)

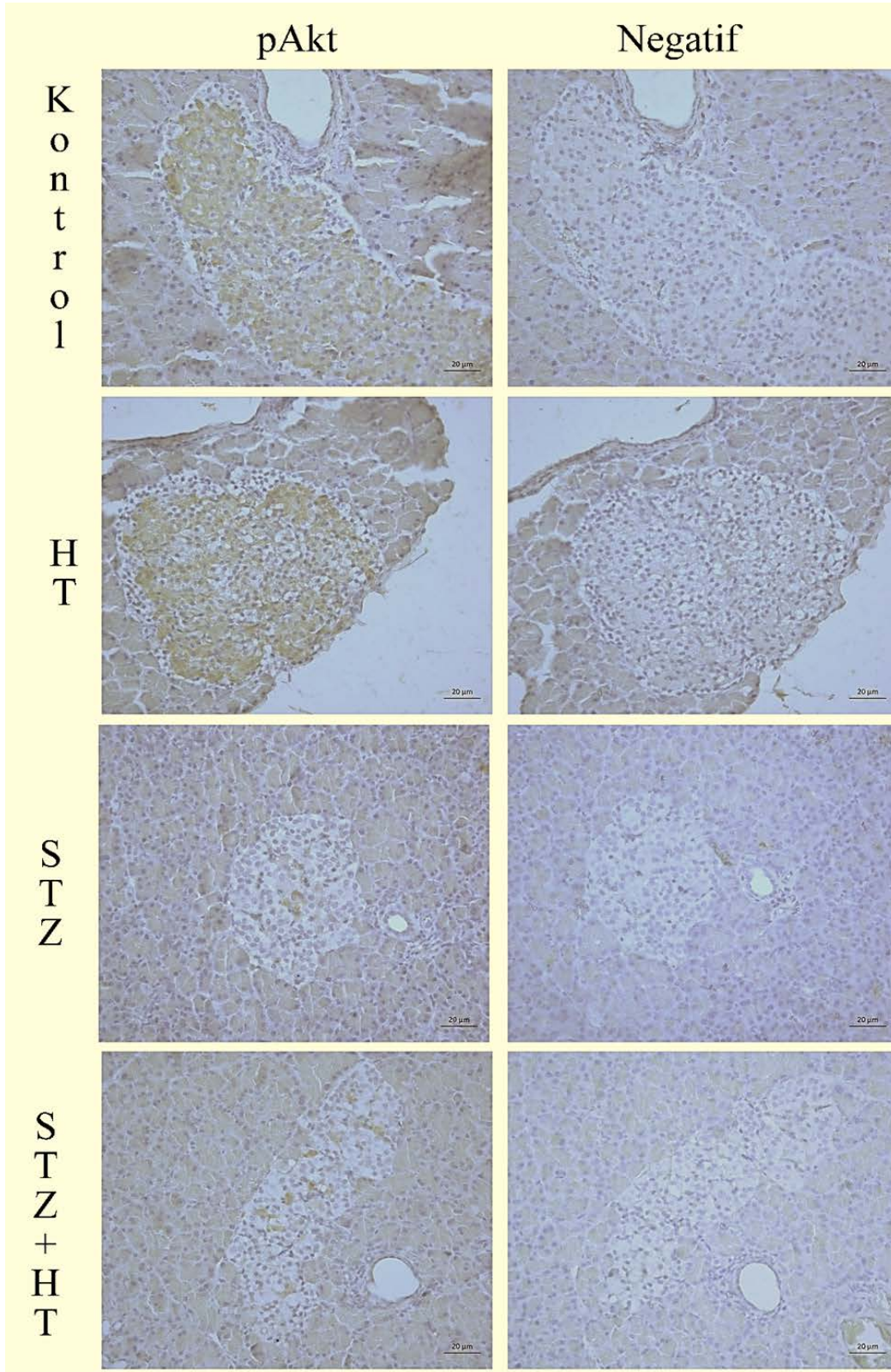


Şekil :4.16 Anti-PI3K Antikoru ile pozitif ,STZ grubunun immünohistokimyasal boyaması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)



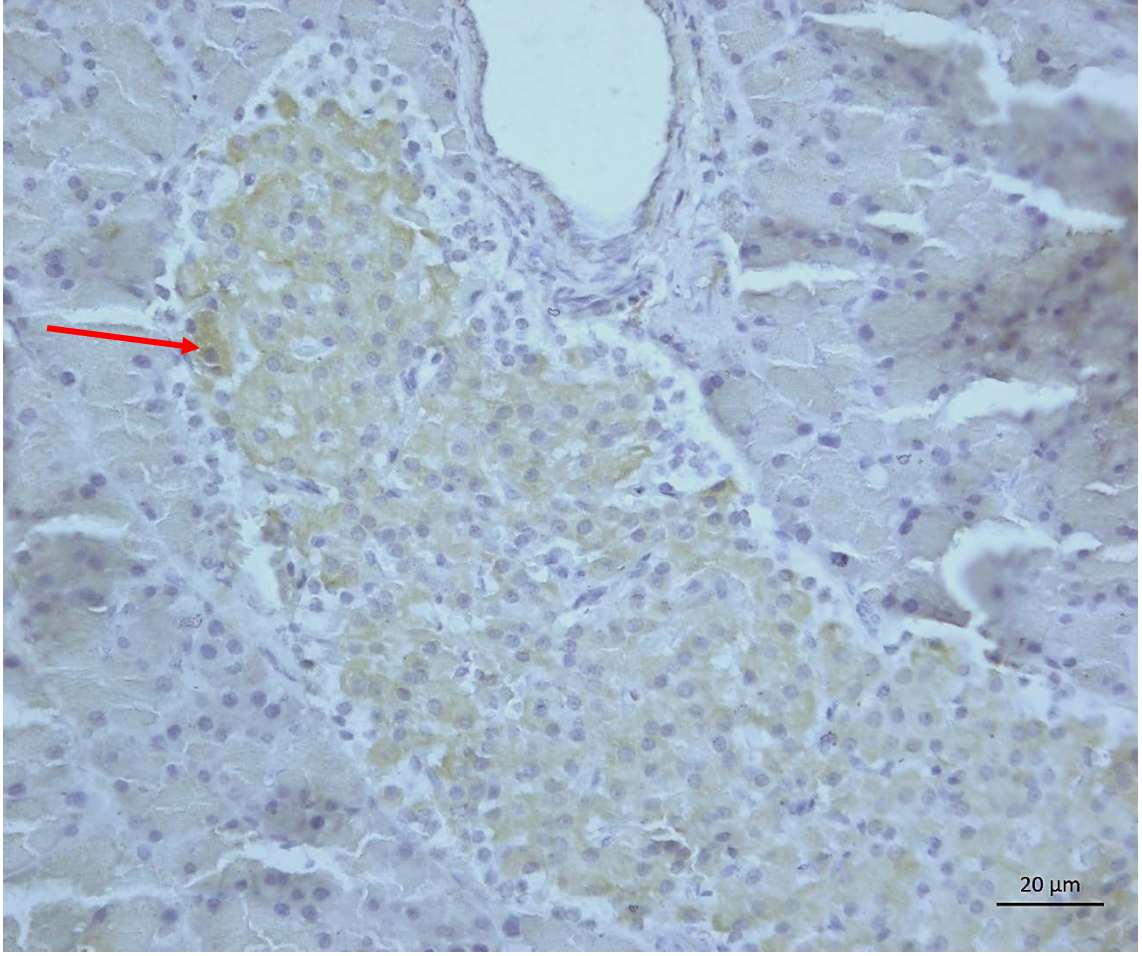
Şekil :4.17 Anti-PI3K Antikoru ile pozitif, STZ+HT grubunun immünohistokimyasal boyaması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)

4.3.3. pAKT İmmünohistokimyasal Boyama

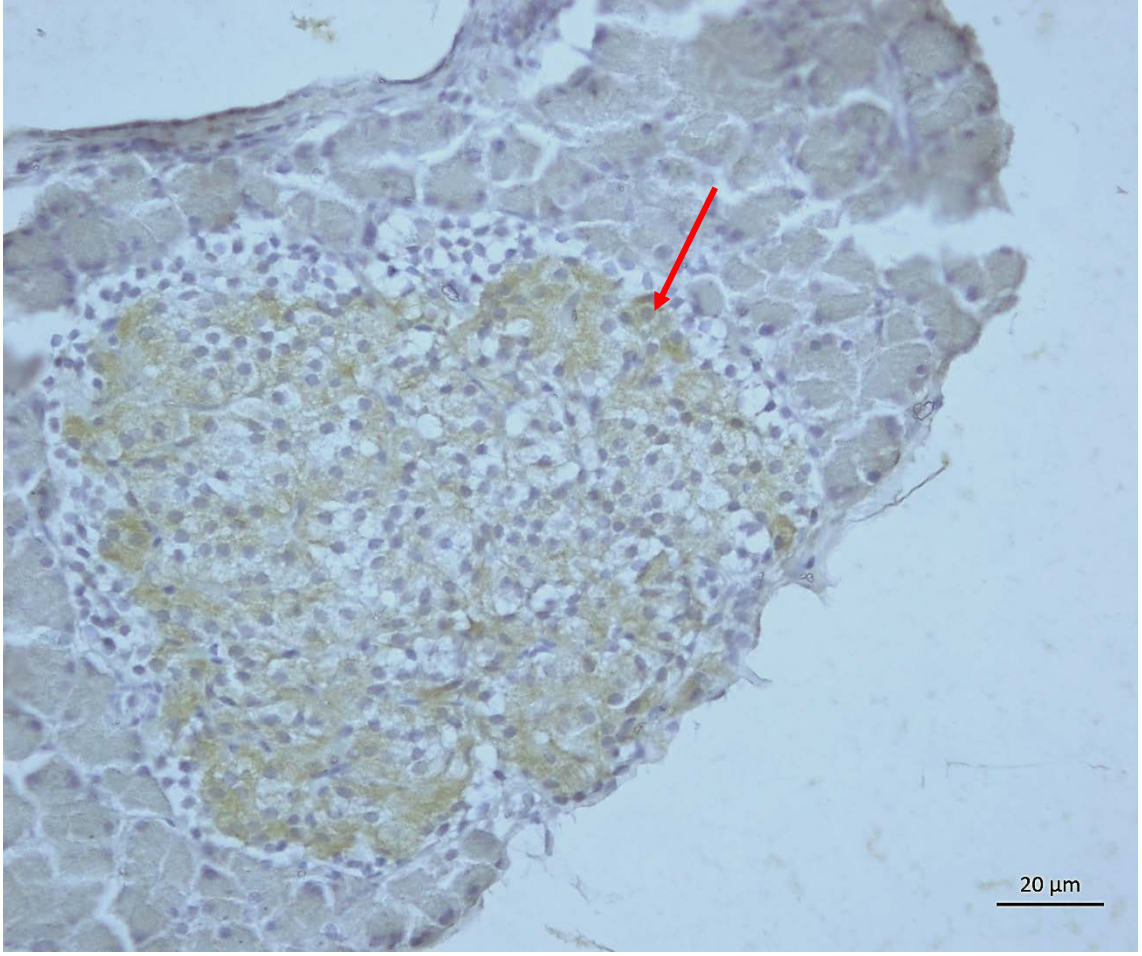


Şekil :4.18 Anti-pAKT Antikoru ile grupların pozitif ve kontrol negatif boyanması (400x)

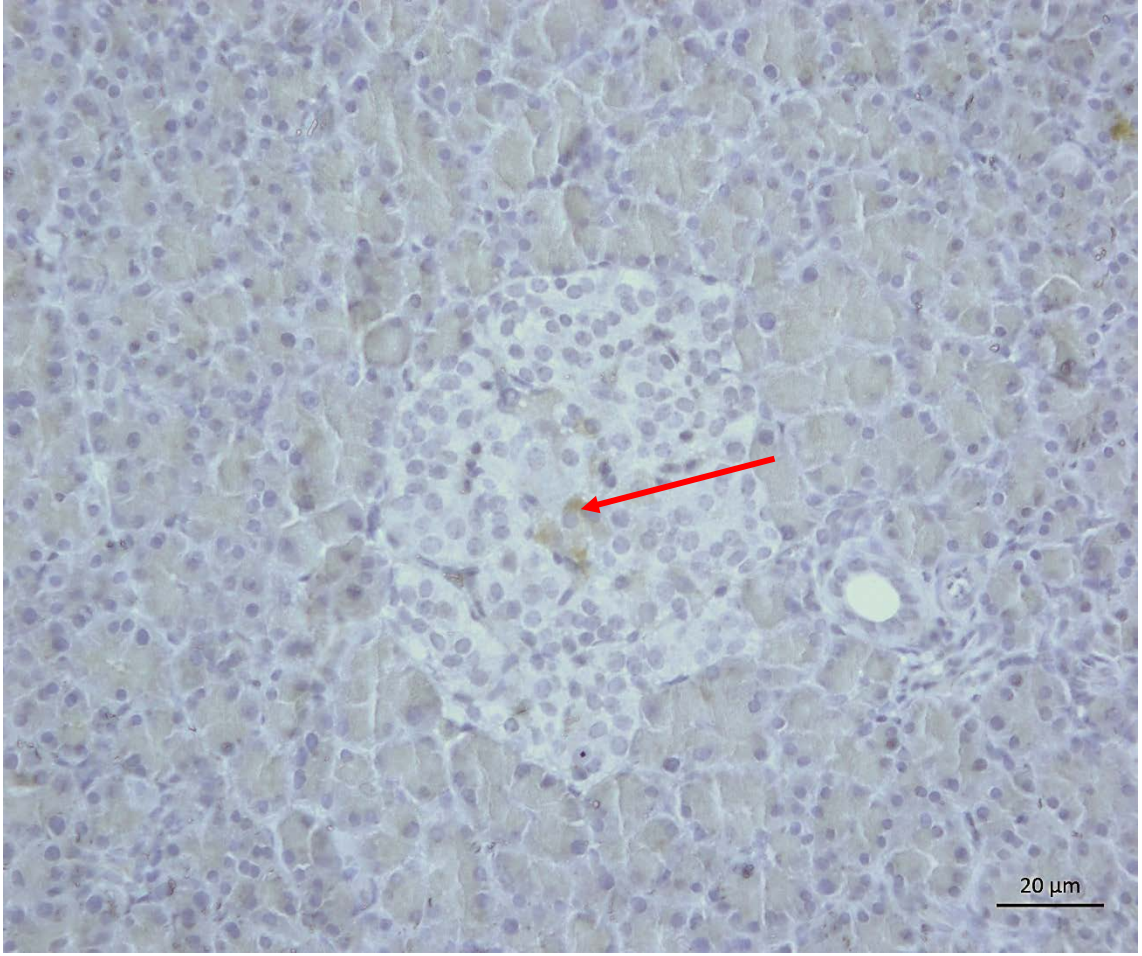
Tüm gruptaki deneklerin pankreas dokusu Anti-pAKT antikoruna ile immünohistokimyasal boyama sonrası incelenerek analiz edildi. Anti-pAKT Antikoru ile yapılan incelemede; pAKT sekresyonunun Langerhans adacığı β hücrelerinde olduğu görülmektedir. Kontrol ve HT gruplarında β hücrelerinde yoğun ekspresyon mevcut iken STZ VE STZ+HT gruplarında STZ’de daha fazla olmak üzere ekspresyonda azalma gözlemlendi. Diyabetik gruplara Hidroksitirozol uygulanması ile ekspresyonundaki değişim **Şekil 4.18’de** gösterilmiştir. Kontrol ve HT grupları arasında ekspresyon açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p=0,9044$). STZ grubu; HT ve Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında ekspresyonda istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu görüldü ($p<0.001$). STZ grubu STZ+HT grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak ekspresyonda anlamlı bir azalma görüldü ($p<0,001$), STZ+HT grubu ile Kontrol ve HT grupları karşılaştırıldığında STZ+HT grubunda ekspresyonda istatistiksel olarak anlamlı azalma bulundu ($p<0.001$) (**Şekil 4.30**).



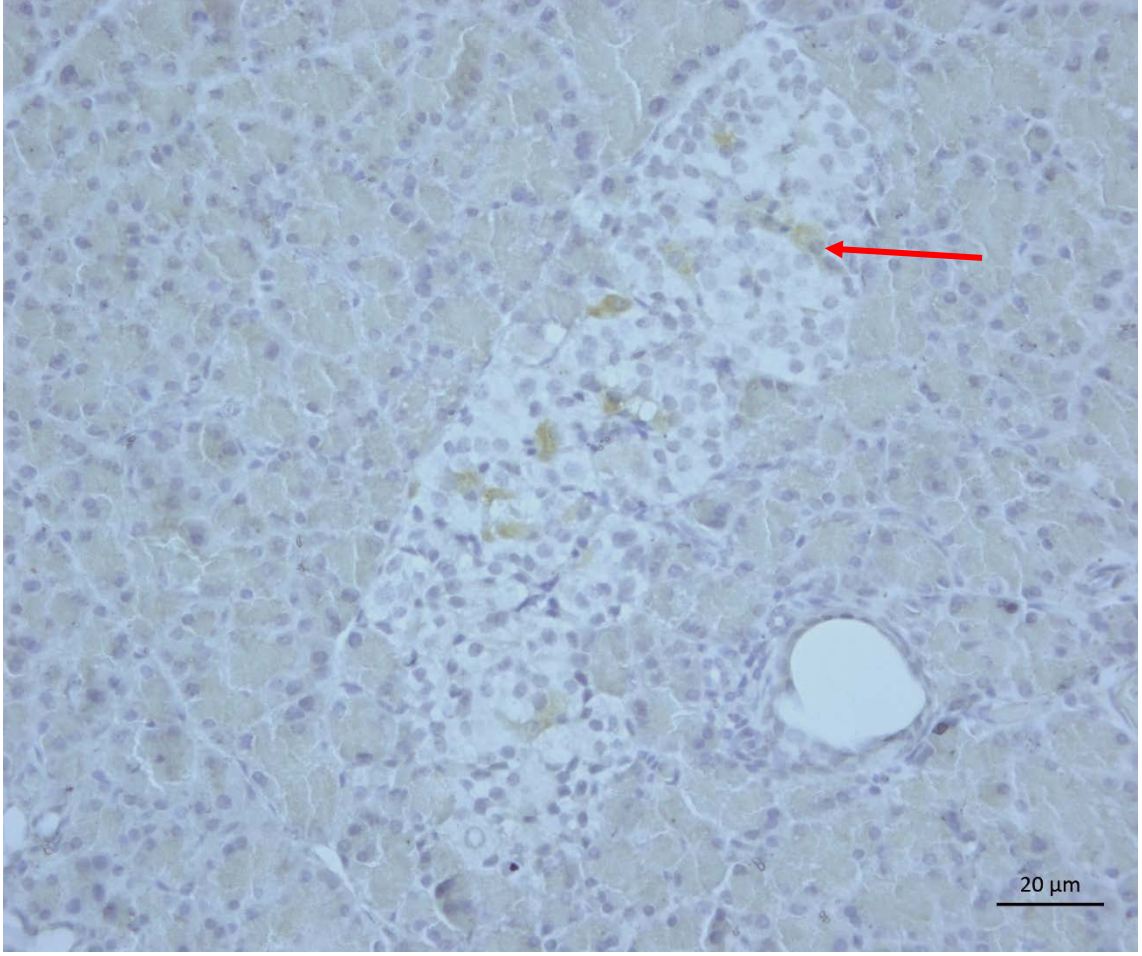
Şekil :4.19 Anti-pAKT Antikoru ile pozitif Kontrol grubunun immünohistokimyasal boyaması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)



Şekil :4.20 Anti-pAKT Antikoru ile pozitif HT grubunun immünohistokimyasal boyaması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)

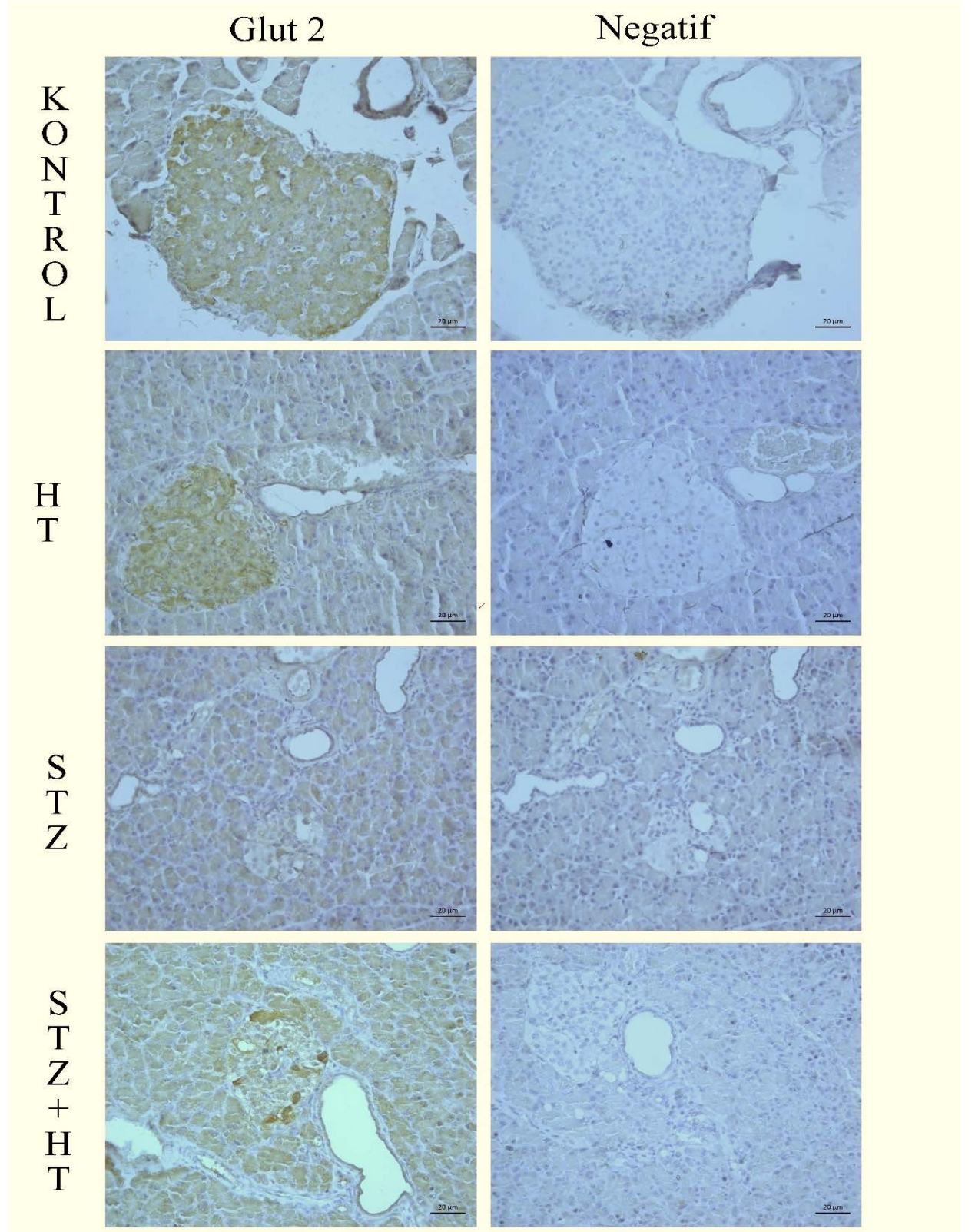


Şekil :4.21 Anti-pAKT Antikoru ile pozitif STZ grubunun immünohistokimyasal boyanması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)



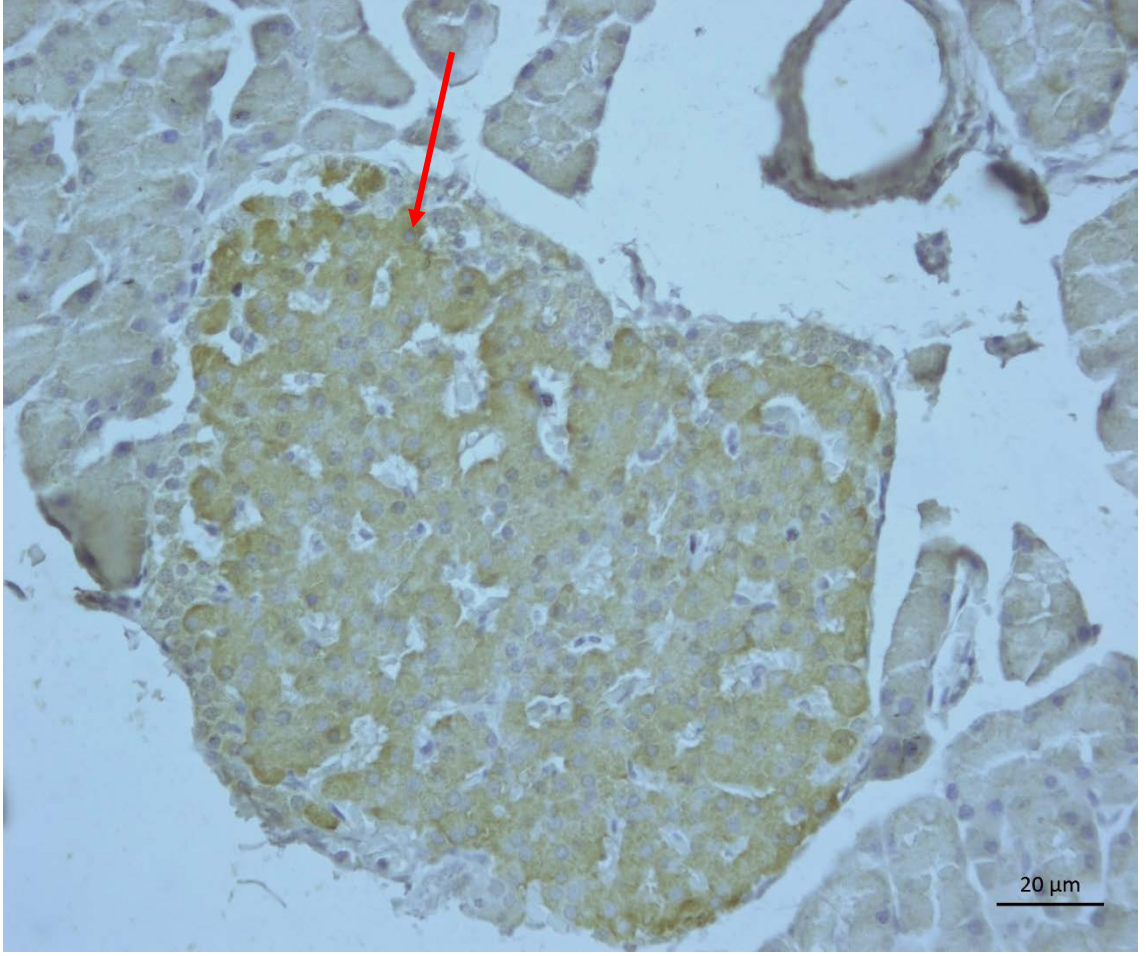
Şekil :4.22 Anti-pAKTAntikoru ile pozitif STZ+HT grubunun immünohistokimyasal boyanması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)

4.3.4. GLUT-2 İmmünohistokimyasal Boyama

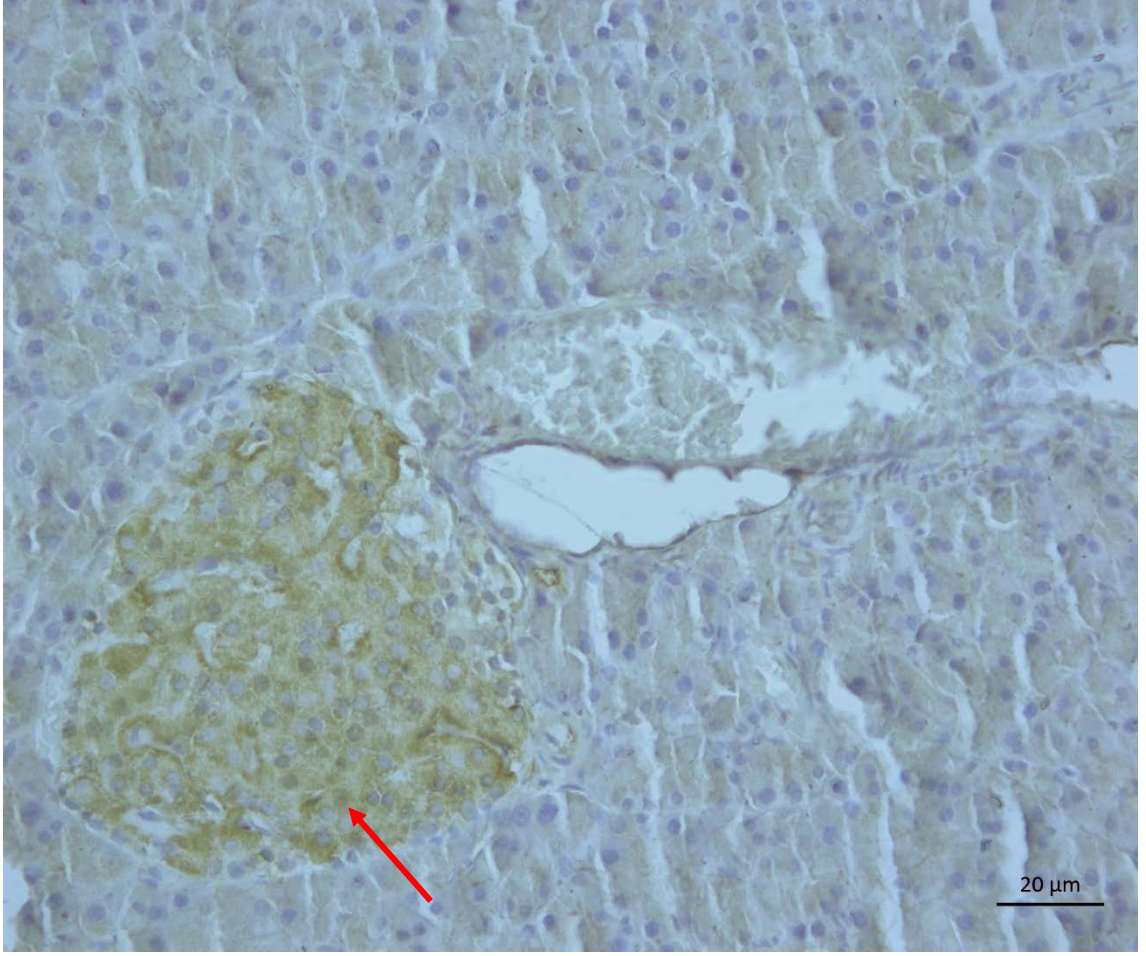


Şekil :4.23 Grupların anti-GLUT-2 Antikoru ile pozitif ve kontrol negatif boyaması (400x)

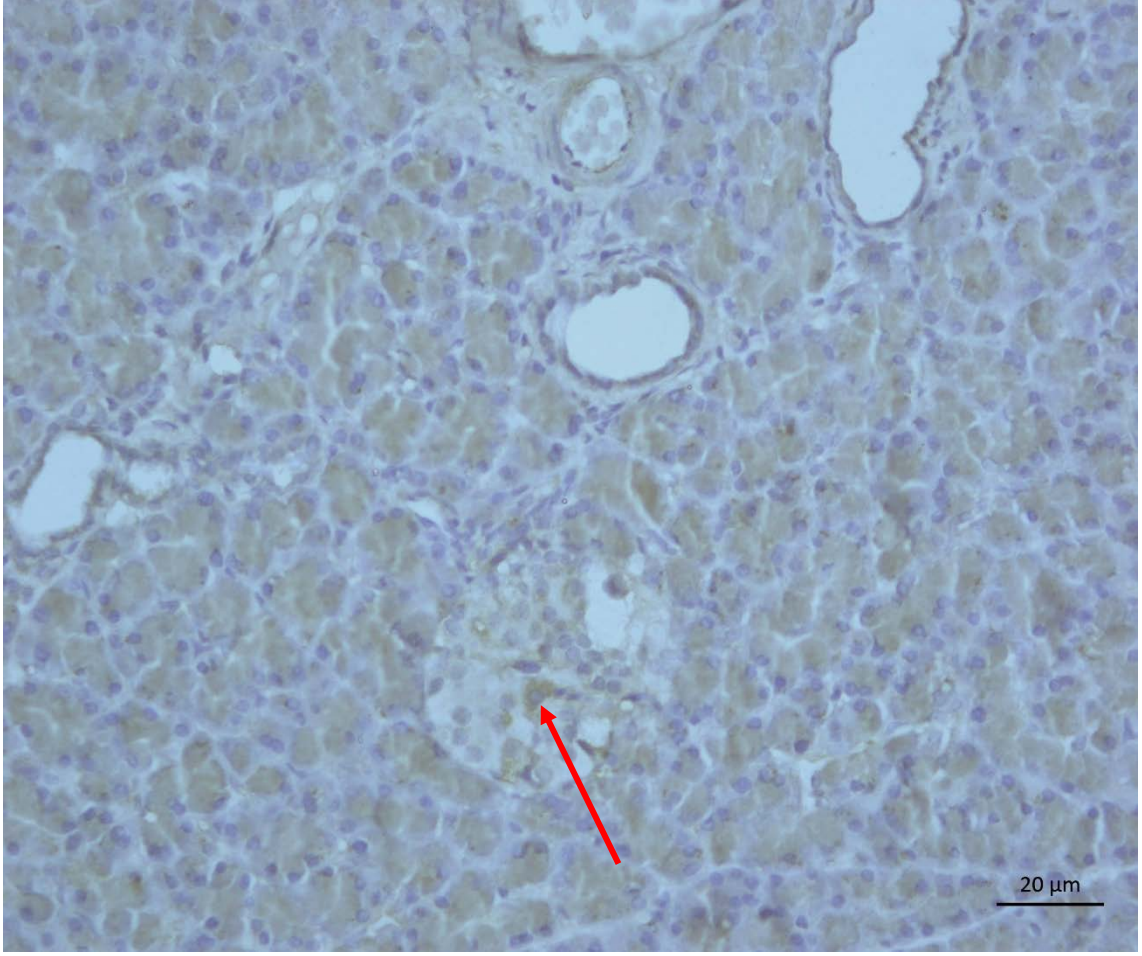
Tüm gruptaki deneklerin pankreas dokusu Anti-GLUT-2 antikoru ile immünohistokimyasal boyama sonrası incelenerek analiz edildi. Anti-GLUT-2 Antikoru ile yapılan incelemede; GLUT-2 sekresyonunun Langerhans adacığ β hücrelerinde olduğu görülmektedir. Kontrol ve HT gruplarında β hücrelerinde yoğun ekspresyon mevcut iken STZ VE STZ+HT gruplarında STZ' de daha fazla olmak üzere ekspresyonda azalma gözlemlendi. Diyabetik gruplara Hidroksitirozol uygulanması ile ekspresyonundaki değişim **Şekil 4.23'te** gösterilmiştir. Kontrol ve HT grupları arasında ekspresyon açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p= 0,603$). STZ grubu; HT ve Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında ekspresyonda istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu görüldü ($p<0.001$). STZ grubu STZ+HT grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak ekspresyonda anlamlı bir azalma görüldü ($p= 0,036$), STZ+HT grubu ile Kontrol ve HT grupları karşılaştırıldığında STZ+HT grubunda ekspresyonda istatistiksel olarak anlamlı azalma bulundu ($p<0.001$) (**Şekil 4.31**).



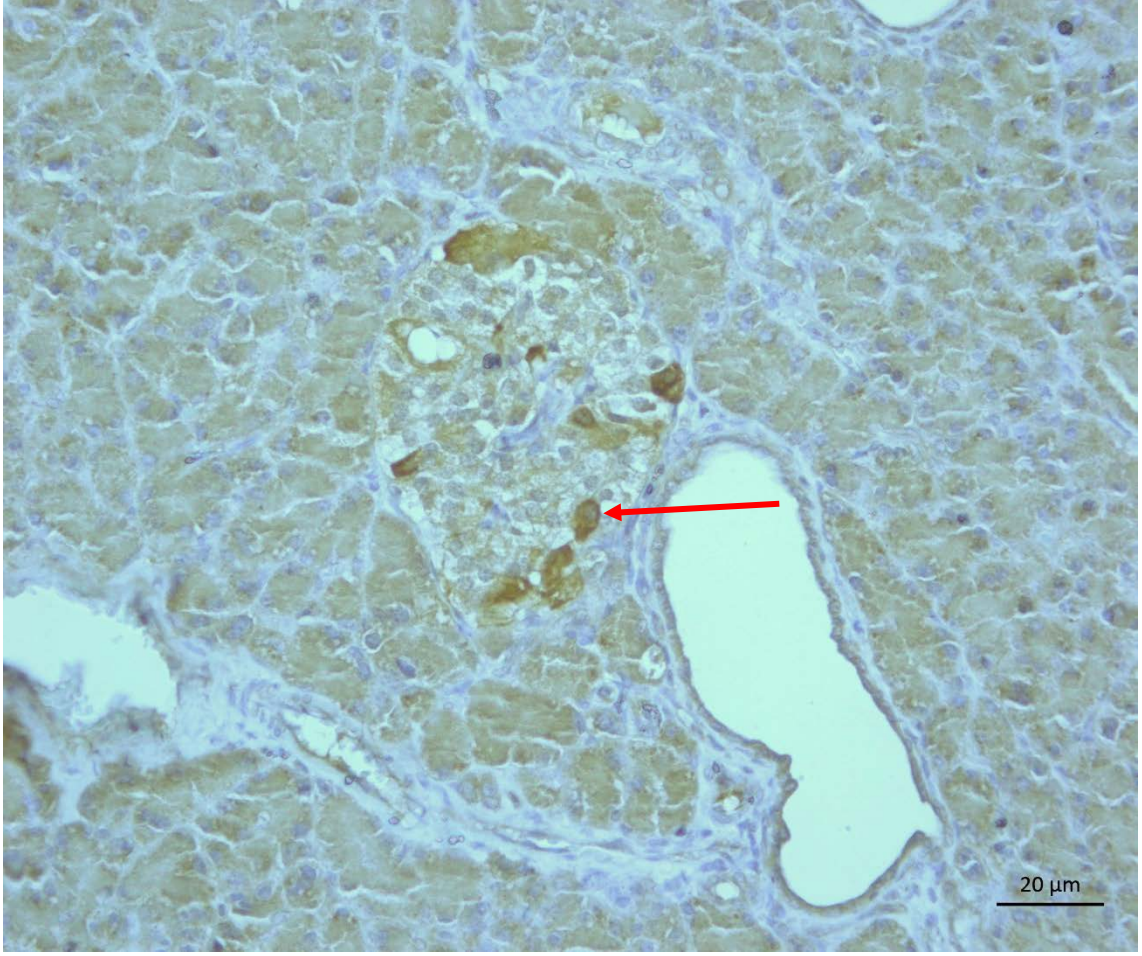
Şekil :4.24 Anti-GLUT-2 Antikoru ile pozitif Kontrol grubunun immünohistokimyasal boyaması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)



Şekil :4.25 Anti-GLUT-2 Antikoru ile pozitif HT grubunun immünohistokimyasal boyanması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)



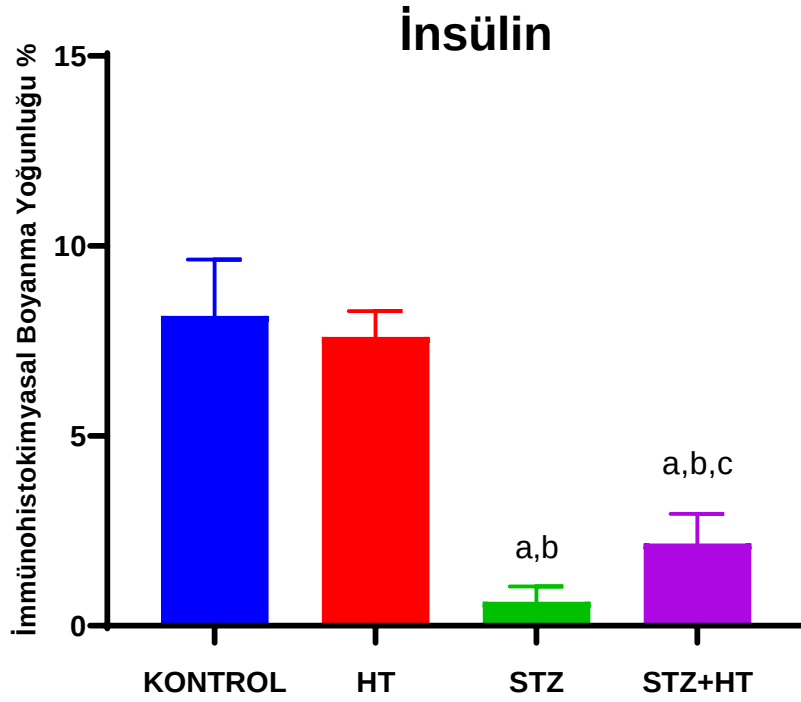
Şekil :4.26 Anti-GLUT-2 Antikoru ile pozitif STZ grubunun immünohistokimyasal boyanması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)



Şekil :4.27 Anti-GLUT-2 Antikoru ile pozitif STZ+HT grubunun immünohistokimyasal boyanması (400x) (Kırmızı ok: β hücresi)

4.4. İmmünohistokimyasal Analiz

4.4.1. Anti-İnsülin Antikoru ile İmmünohistokimyasal Analiz



a: Kontrole göre anlamlılığı gösterir

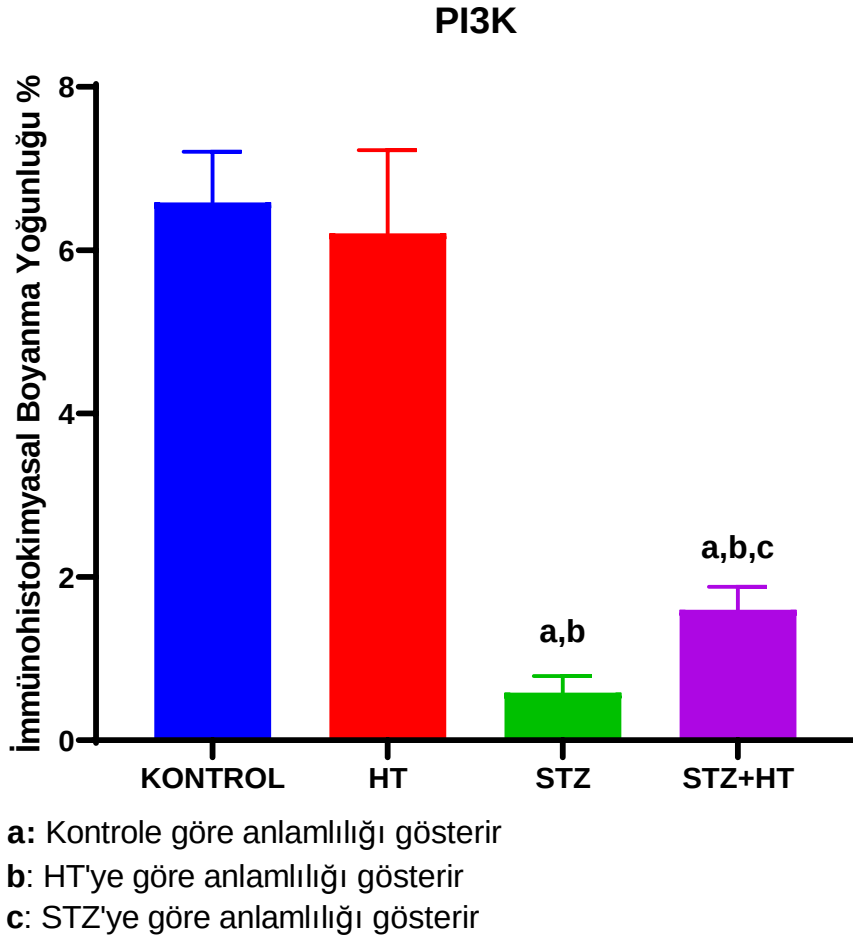
b: HT'ye göre anlamlılığı gösterir

c: STZ'ye göre anlamlılığı gösterir

Şekil :4.28 Pankreastaki Langerhans adacığının anti-İnsülin antikoru ile immünohistokimyasal boyanma yoğunluğu. ($P<0,05$)

Grafikte kontrol ile HT grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmezken, STZ ile Kontrol ve STZ ile HT grupları arasında anlamlı fark görüldü. Yine grafikte STZ+HT ile Kontrol, STZ+HT ile HT ve STZ+HT ile STZ grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark görüldü ($P<0,05$) (Şekil 4.28).

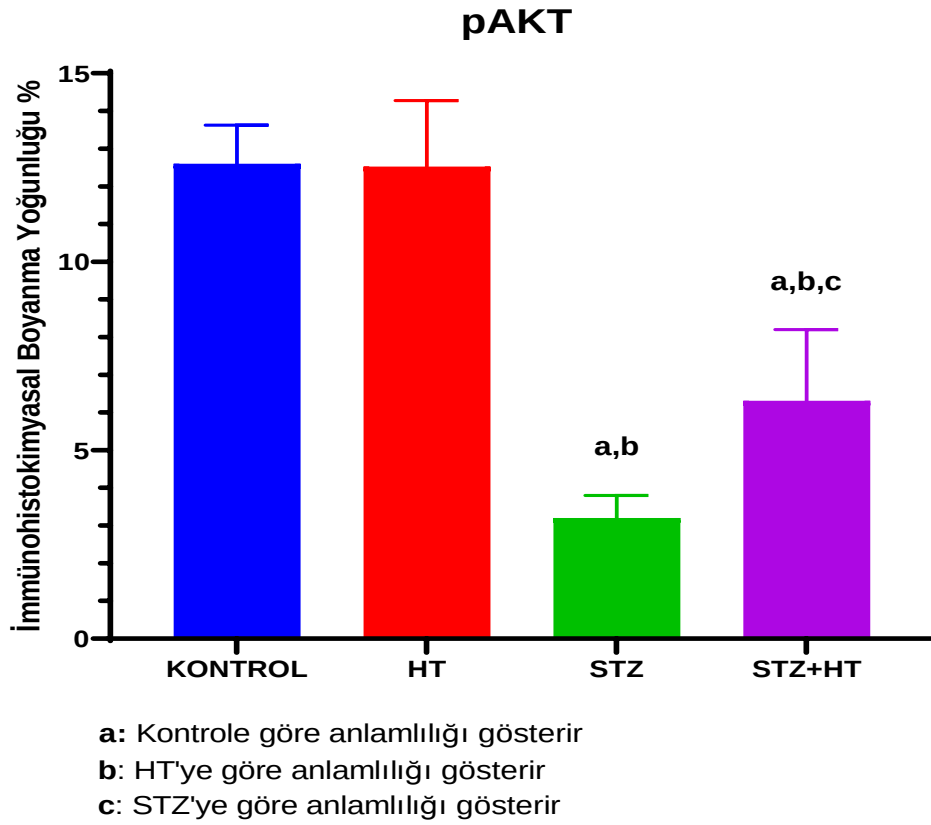
4.4.2. Anti-PI3K Antikoru ile İmmünohistokimyasal Analiz



Şekil :4.29 Pankreastaki Langerhans adacığının anti-PI3K antikoru ile immünohistokimyasal boyanma yoğunluğu. ($P<0,05$)

Grafikte Kontrol ile HT grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözükmezken, STZ ile Kontrol ve STZ ile HT grupları arasında anlamlı fark görüldü. Yine grafikte STZ+HT ile Kontrol, STZ+HT ile HT ve STZ+HT ile STZ grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($P<0,05$) (Şekil 4.29).

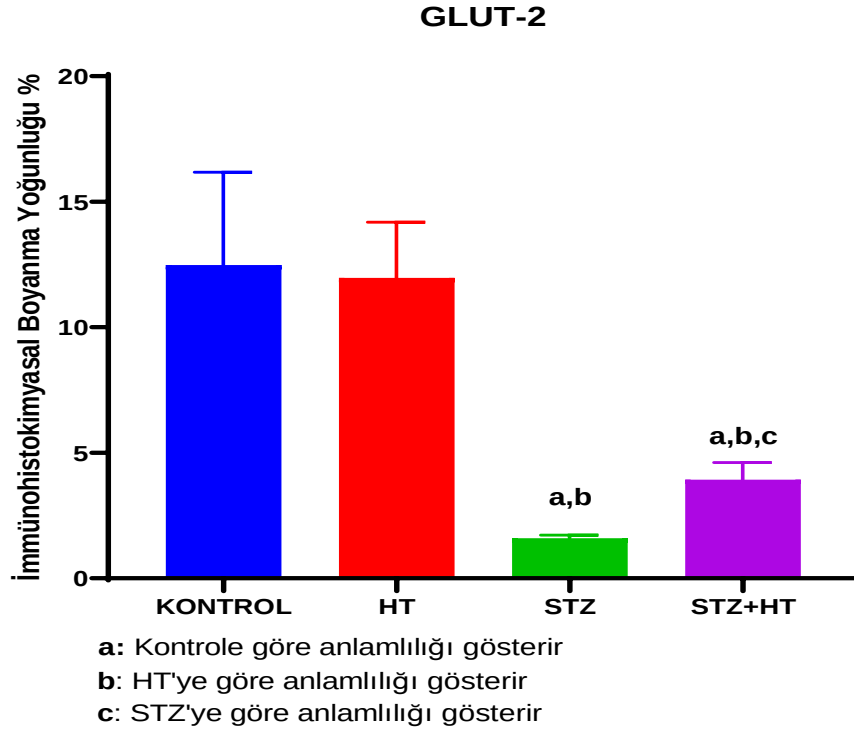
4.4.3. Anti-pAKT Antikoru ile İmmünohistokimyasal Analiz



Şekil :4.30 Pankreastaki Langerhans adacığının anti-pAKT antikoru ile immünohistokimyasal boyanma yoğunluğu. ($P<0,05$)

Grafikte Kontrol ile HT grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmezken, STZ ile Kontrol ve STZ ile HT grupları arasında anlamlı fark görüldü. Yine grafikte STZ+HT ile Kontrol, STZ+HT ile HT ve STZ+HT ile STZ grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($P<0,05$) (Şekil 4.30).

4.4.4. Anti-GLUT-2 Antikoru ile İmmünohistokimyasal Analiz



Şekil : 4.31 Pankreastaki Langerhans adacığının anti-GLUT-2 antikoru ile immünohistokimyasal boyanma yoğunluğu. ($P<0,05$)

Grafikte Kontrol ile HT grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmezken, STZ ile Kontrol ve STZ ile HT grupları arasında anlamlı fark görüldü. Yine grafikte STZ+HT ile Kontrol, STZ+HT ile HT ve STZ+HT ile STZ grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark görüldü ($P<0,05$) (Şekil 4.31).

5. TARTIŞMA

Temel olarak 4 tip altında sınıflandırılan DM, kan glikoz seviyesinde artış olan, yani hiperglisemi ile karakterize edilen bir grup metabolik hastalığı ifade eder. Ciddi hiperglisemi, poliüri, polidipsi, yorgunluk, performans düşüklüğü, açıklanamayan kilo kaybı, görme bozuklukları ve enfeksiyonlara yatkınlık gibi klasik belirtilere neden olabilir. Ayrıca, ketoasidoz veya ketoasidoz olmayan hiperosmolar sendrom gibi durumlarla, komaya kadar varan ciddi sonuçlar doğurabilir. Kronik hiperglisemi, insülin salınımı veya etkisinin bozulmasına yol açar ve uzun vadeli hasarlarla ve çeşitli dokuların ve organların fonksiyon bozukluklarıyla (gözler, böbrekler, sinirler, kalp ve damarlar) bağlantılıdır [201].

HT, zeytinyağında en yüksek konsantrasyonda bulunan fenoldür ve aynı zamanda vücuttaki oleuropein metabolizmasının bir ürünüdür [202],[203]. Son yirmi yılda, HT üzerinde yapılan çalışmalardan elde edilen kanıtlar HT'nin antioksidan özelliklere sahip olduğunu, glikoz ve lipid homeostazını etkilediğini ve diyabete karşı koruma sağlayabileceğini göstermektedir [158], [204], [205], [206], [207][208].

PI3K/AKT sinyali, büyüme ve glikoz homeostazı, lipid metabolizması, protein sentezi ve hücre proliferasyonu ve hayatta kalması gibi süreçler sırasında büyüme faktörü sinyallerine aracılık ederek hücre fizyolojisinde merkezi görevler alır [209]. Vücudun çeşitli dokularında hasar gören PI3K/AKT yolu, insülin direnci sonucu obezite ve tip 2 diyabete yol açar ve buna karşılık insülin direnci, PI3K/AKT yolunu şiddetlendirerek bir kısır döngü oluşturur [210].

Pankreas, temel olarak dört tip hücreden oluşur; bunlardan pankreatik β hücreleri, kan glikoz konsantrasyonuna yanıt olarak insülin üreterek ve salgılayarak glikoz homeostazını sürdürmede hayati rol oynar. İnsülin, PI3K/AKT yolağı aracılığıyla β hücre fonksiyonunu ve insülin salınımını düzenler [211][210].

Glikoz taşıma proteinlerinin (GLUT) keşfi, glikoz un taşınmasının memeli hücrelerinde, bu proteinlere glikozun bağlanmasıyla düzenlendiğini gösterir, bu sayede glikoz, kolaylaştırılmış difüzyon ile hücrelere giriş çıkış yapar. Şu ana kadar altıdan fazla GLUT tanımlanmıştır. GLUT-2 özellikle karaciğer, böbrek, ince bağırsaklar ve pankreas beta hücrelerinde bulunur [211], [212], [213], [214]. Pankreas β hücrelerinde GLUT-2,

insülin sekresyonunun artmasına neden olan glikoz seviyelerindeki küçük değişiklikleri algılayan bir glikoz sensörü görevi görür [215].

Khaled Hamden ve ekibinin (2009) yaptığı çalışmada, saflaştırılmış HT'nin alloksan kaynaklı diyabetik ratlarda oksidatif stres ve hiperglisemi üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. 180-200 g ağırlığındaki erkek wistar sıçanları kullanılarak yapılan çalışmada; sıçanlara normal salin içinde alloksan monohidrat ile i.p. tek dozla [(NaCl% 150.0 tamponunda (pH 9) (7 mg / kg vücut ağırlığı)] hiperglisemi geliştirilmiştir. Sıçanlar, kontrol, HT ve diğer tedavi grupları olmak üzere 5 farklı gruba ayrılmıştır. Saflaştırılmış hidroksitirozol i.p. 20 mg/kg vücut ağırlığı dozunda uygulanmıştır. 2 aylık tedaviden sonra yapılan kan glikoz ölçümlerinde kontrol ve HT gruplarında belirgin bir fark görülmezken, alloksan verilen ratlarda yüksek glikoz seviyeleri tespit edilmiştir. HT tedavisi, kan glikoz seviyelerinde anlamlı bir düşüşe neden olmuştur. HT tedavisi alan ratlarda hepatik toksisite göstergeleri olan TBARS, bilirubin ve yağ kistlerinde azalma gözlemlenmiştir. Karaciğer ve böbrekte hepatik glikojen, dolaşımdaki yüksek yoğunluklu lipoprotein ve antioksidan enzimlerin (SOD, CAT ve GPX) HT tedavisiyle arttığı görülmüştür. Özellikle sıçan pankreas dokusunun HT ile tedavisinin, insülin sekresyonunda hiperglisemiye bağlı düşüşü azalttığı görülmüştür. Bu, HT'nin hiperglisemik durumlarda pankreasta insülin sekresyonunu artırabileceğini gösterir [216].

Jemai ve ark. (2009) tarafından, Oleuropein ve HT'nin antidiyabetik ve antioksidatif etkilerini test etmek amacıyla tasarlanan çalışmada, Wistar ırkı sıçanlarında diyabet, alloksanın intraperitoneal enjeksiyonları ile indüklenmiştir. Serum glikoz, kolesterol, hepatik glikojen, TBARS, hepatik ve serum antioksidan sistem bileşenleri detaylı olarak incelenmiştir. Diyabetik sıçanlarda hiperglisemi, hiperkolesterolemi, artmış lipid peroksidasyonu ve azalmış antioksidan enzim aktiviteleri gözlemlenmiştir. Her iki bileşiğin (oleuropein ve HT) 8 ve 16 mg/kg vücut ağırlığına denk gelen dozlarının 4 hafta boyunca uygulanması, serum glikoz ve kolesterol düzeylerinde önemli ölçüde azalma sağlamış ve antioksidan bozulmaları düzeltmiştir [217].

Khaled Hamden ve ekibinin (2009) yaptığı çalışma ile Jemai ve arkadaşları (2009) tarafından alloksanla oluşturdukları diyabet modelinde ulaştıkları sonuçlar,[216], [217] çalışmamıza benzer olsa da HT ile antidiyabetik etkilere HT'nin daha yüksek dozlarında ulaştıkları görülmüştür. Bunun muhtemel sebebi alloksan ile indüklenen diyabetin

oluşturduğu hasarın STZ indüklü diyabetten daha yıkıcı olması olabilir, STZ ve alloxan indüklü diyabet arasındaki farklılığa başka çalışmalarla bakmak gerekebilir. Bunun yanında çalışmamızda farklı olarak diyabette HT'nin etkisine PI3K/AKT yolağı üzerinden bakılmıştır. Yine çalışmamızda farklı olarak insülin ve Glut-2 ekspresyonlarının değişimine bakılmıştır .

Hamden ve ark. (2010) tarafından yapılan başka bir çalışmada, HT'nin bağırsak disakkaridazları ve lipaz aktiviteleri üzerindeki etkisi ile diyabetik ratlarda pankreas toksisitesi üzerindeki inhibitör etkisi incelenmiştir. Erkek Wistar sıçanlarına i.p STZ (150 mg/kg) ve nikotinamid (1000 mg/kg) enjeksiyonları uygulanarak diyabet oluşturulmuştur. Diyabet gelişen sıçanlar, 20 mg/kg HT ile 2 ay boyunca tedavi edilmiştir. HT tedavisi, kan şekeri, LDL-kolesterol ve plazma trigliseritlerini düşürdüğü, HDL-kolesterol düzeyini ise artırdığı görülmüştür. HT ile yapılan tedavi antioksidan enzim aktivitelerini artırmış, zararlı AGE oluşumunu azaltmıştır. Pankreas hücreleri, düşük seviyelerde TBARS ve LDH aktivitesi göstermiştir. Bu bulgular, HT'nin anti-diyabetik ve hipokolesterolemik ilaçların geliştirilmesinde potansiyel terapötik ajan olarak kullanılabileceği fikrini desteklemektedir [157].

Ristagno ve ark. (2012), erkek sprague-dawley sıçanlarında 6 hafta boyunca 10 ve 100 mg/kg'lık dozlarda intragastrik gavaj ile günlük HT uygulamadan önce intraperitoneal STZ (60 mg / kg) enjeksiyonu ile diyabeti indüklemişlerdir. Yapılan araştırmada, HT'nin plazma TBARS düzeylerindeki hiperglisemiye bağlı artışları inhibe ettiği ve aynı zamanda sinir iletim hızı, termal nozisepsiyon ve Na/K-ATPaz aktivitesindeki bozulmaları önlediği belirlenmiştir. Bu çalışmada, HT'nin diyabetin neden olduğu periferik nöropatiyi azaltabileceği sonucuna varılmıştır [218].

López-Villodres ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada, diyabet 50 mg / kg enjekte edilen STZ ile indüklenmeden önce erkek Wistar sıçanlarına 7 gün boyunca günlük 0.5, 1, 2.5, 5 ve 10 mg / kg dozlarında oral HT verilmiştir. Diyabet indüksiyonundan sonra iki ay HT tedavisine devam edilmiştir. HT ile tedavi, tedavi edilmeyen diyabetik gruba kıyasla kan glikozunu düşürdüğü, oksidatif ve nitrozatif stresleri, inflamatuvar belirteçleri, trombosit agregasyonunu ve aort duvarındaki hasarı azalttığı görülmüştür. Böylece çalışmada HT'nin diyabetin neden olduğu vaskülopati veya kan damarı iltihabını azaltabileceği sonucuna varılmıştır [219].

Reyes ve ark. (2017), 5 grup sıçan üzerinde deneysel DM'de HT'nin nöroprotektif etkisini araştırdıkları çalışmada intravenöz STZ (50 mg / kg) ile diyabeti indüklemeden önce 7 gün boyunca 1, 5 ve 10 mg / kg'lık dozlarda gavaj yoluyla erkek Wistar sıçanlarına HT uygulamıştır. Diyabet indüksiyonunu takiben 2 ay boyunca HT tedavilerine devam edilmiştir. Bu deneylerde 10 mg/kg'lık dozun en iyi etkiyi gösterdiği ortaya konmuştur. Lipid peroksidasyonu, nitrozatif stres, hücre ölümü ve beyin iltihabı belirteçlerinde azalma (IL-1 β ve prostaglandin E⁺⁺²) HT'nin hipergliseminin şiddetini azaltarak diyabete karşı nöroprotektif etki ortaya koyabileceğini göstermiştir [220].

José Antonio González-Correa ve ark. (2018) tarafından yapılan deneysel diyabetik retinopatide HT'nin nöroprotektif etkisi: kardiyovasküler biyobelirteçlerle ilişkisi başlıklı çalışmalarında, Kontrol, STZ, HT (1 mg / kg / gün)+ Diyabetik Rat (DR), HT (5 mg / kg / gün)+DR olmak üzere hayvanları dört grup altında incelemiştir. HT ile tedavi, diyabete neden olmadan 7 gün önce başlanmış ve 2 ay boyunca sürdürülmüştür. Yapılan çalışmayla özellikle 5 mg/kg/gün HT dozunun retinal ganglion hücre sayısını anlamlı olarak etkilediğini göstermiştir. Sonuç olarak, HT'nin kan glikozunu düşürerek diyabetik retinopati üzerinde nöroprotektif etkisi olduğu ve bu etkinin bazı kardiyovasküler biyobelirteçlerdeki değişikliklerle anlamlı olarak ilişkilendiği bulunmuştur [221].

Weirong Wang ve arkadaşları (2019) tarafından yapılan çalışmada, STZ ile indüklenmiş diyabet modelinde, 4 hafta boyunca intragastrik gavaj ile HT (77 mg/kg/gün) uygulanması, plazma glikoz düzeylerini ve oksidatif stres belirteçlerini NO, malondialdehiti azaltırken, torasik aort ve insan umbilikal ven endotel hücrelerinde serum SOD ve SIRT1 ekspresyon düzeylerini artırdığı bulunmuştur. Bu çalışma, HT'nin oksidatif stresi azaltma ve hiperglisemi ve hiperlipidemiye hafifletme kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir [222].

DM'nin, hiperglisemiyle oksidatif stresi tetiklediğine ve insülin fonksiyon bozukluğuna katkıda bulunduğuna inanılan insülin direnci ile karakterize metabolik bir hastalık olduğu düşünülmektedir [223]. Diyabete bağlı oksidatif stres kaynaklı birçok komplikasyonun tedavisinde, HT gibi antioksidatif etki gösterdiği kanıtlanmış maddelerin tedaviye destek olabileceği yapılan birçok çalışmayla ortaya konmuştur. Bu çalışmaların çoğu HT'nin diyabet özelinde antidiyabetik, antioksidatif ve

hiperglisemiye karşı etkinlik göstererek birçok diyabetik komplikasyon üzerinde olumlu etkiler ortaya koyabileceği bulunmuştur [157], [218], [219], [220], [221], [222].

Her ne kadar çalışmamız özel bir DM komplikasyonuna odaklanmış olmasa da; Pankreas β hücrelerinde HT'nin koruyucu etkisini ortaya koyarak, bu çalışmalara paralel şekilde DM komplikasyonlarına karşı HT'nin koruyuculuğuna katkıda bulunmaya çalıştık. Bunun yanında farklı olarak HT'nin antidiyabetik etkisini PI3K/pAKT yolağı üzerinden Glut-2 ve insülin ekspresyonunu artırarak ortaya koyduğunu bulduk. Bu zamana kadarki literatür de HT'nin PI3K/pAKT yolağı üzerinden DM üzerindeki etkisini ortaya koyan çalışmalara rastlanmamıştır. Bu yönüyle çalışmamız HT'nin antidiyabetik etkinliğinin hangi yolak üzerinden olduğu hakkında fikir verici olarak kabul edilebilir.

Ningning Wang ve arkadaşları (2018) tarafından yürütülen çalışmada, diyetle bağlı obezite farelerinde HT (10 hafta boyunca 20 mg / kg / gün) uygulanması, açlık glikozu ve insülin direncinin (IR) düşmesine ve yağ ile iskelet kası dokusunda GLUT4 ekspresyonunun artmasına neden olmuştur. Yağ dokusunda insülin sinyalinin modülasyonu, IRS-1'in serin fosforilasyonunun azalması ve HT ile artan Akt fosforilasyonu ile gösterilmiştir. Bununla birlikte, HT'nin karaciğerde hepatik steatozu, lipid birikimini ve SREBP-1 mRNA ekspresyonunu inhibe ettiği bulunmuştur; ayrıca yağ dokusunda endoplazmik retikulum stresi göstergelerini azalttığı görülmüştür. İn vitro çalışmalar, HT takviyesinin ER stresini azalttığını ve bu sayede aşağı akış JNK / IRS yolunu kurtardığını doğrulamıştır. Bu bulgular, HT'nin kronik inflamasyonu ve IR'yi iyileştirdiğini, ER stresinin yararlı modülasyonu ile obezitede hepatik steatozu azalttığını düşündürmektedir [224].

Ningning Wang ve arkadaşlarının (2018) ortaya koyduğu çalışmada[224] Glut-4 ün yağ ve iskelet kası üzerindeki artan ekspresyonunun araştırılmış olması HT'nin antidiyabetik etkinliğini araştırdığımız literatürde GLUT kullanılmış olduğunu gördüğümüz tek çalışmaydı. Farklı olarak çalışmamızda GLUT-2'nin pankreas dokusu Langerhans adacıkları β hücreleri üzerindeki etkisini araştırdık ve GLUT'ların HT diyabet ilişkisi içinde kullanılmasına katkıda bulunmaya çalıştık, GLUT'ların HT diyabet ilişkisi içinde daha sık kullanılmasının HT'nin antidiyabetik etkisinin anlaşılması için faydalı olacağı düşüncesindeyiz. Yine bu çalışmada insülin sinyalinin modülasyonu artan Akt fosforilasyonu ile yağ dokusunda gösterilmiştir, çalışmamızda ise farklı olarak hem pankreas Langerhans adacıklarını hem de Akt'nin yanında PI3K'yı

da kullanarak insülinin ve GLUT-2'nin ekspresyonu üzerinden bunu anlamaya çalıştık. Bu yönüyle çalışmamız insülinin ana üretim yeri pankreas β hücreleri üzerine spesifikleşti. PI3K/Akt sinyal yolunu kullanarak HT'nin pankreas üzerindeki antidiyabetik ve koruyucu etkisini histolojik ve immünohistokimyasal olarak mümkün olduğunca fazla kanıtla ortaya koymaya çalıştık.

Nicola Marrano ve arkadaşları (2021) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, EVOO polifenollerinin β hücre fonksiyonu ve sağkalım üzerindeki etkileri araştırılmıştır. [225]

Bu çalışmada, çeşitli fenolik bileşiklerin (PC), özellikle HT, tirosol, apigenin, vanilik asit, vanilin, oleuropein, p-kumarik asit, ferulik asit ve sinapik asitlerin β hücre fonksiyonu ve sağkalım üzerindeki etkileri incelenmiştir. INS-1E hücreleri, ana EVOO PC'lerine 10 μ M konsantrasyonunda 24 saat maruz bırakılmıştır. Bu koşullarda, sağkalım, insülin biyosentezi, glikoz ile uyarılan insülin sekresyonu (GSIS) ve hücre içi sinyal aktivasyonu (protein kinaz B (AKT) ve cAMP yanıt elemanı bağlayıcı protein (CREB) değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgulara göre, HT, tirosol ve apigenin, β hücre proliferasyonunu ve insülin biyosentezini artırmıştır. Çalışma ayrıca, HT, tirosol ve apigenin kombinasyonunun insan pankreas adacıklarında glikoz ile uyarılan insülin sekresyonunu (GSIS) desteklediğini göstermiştir. Bu sonuçlar, HT, tirosol ve apigenin'in β hücre sağlığını destekleyebileceğini, bu da EVOO'nun veya bu bileşiklerle zenginleştirilmiş takviyelerin T2DM hastalarında insülin sekresyonunu artırabileceğini ve glisemik kontrolü destekleyebileceğini düşündürmektedir [225].

Nicola Marrano ve arkadaşlarının (2021) yaptığı bu çalışma pankreas β hücrelerinde AKT ile hücre içi sinyal aktivasyonunun β hücre fonksiyonu ve sağkalım üzerindeki etkileri PI3K ile çalışmamızda benzer şekilde incelenmiştir.[225]. Bizim çalışmamızda farklı olarak PI3K, AKT ile değerlendirilmiştir. Yine çalışmamızdan farklı olarak bu çalışmada pankreas adacıklarında glikoz ile uyarılan insülin sekresyonunu (GSIS) sadece HT ile değil EVOO'nun birçok bileşeniyle desteklediğini ortaya koymuşlardır. Oysa biz çalışmamızda bunu sadece HT ile ortaya koyarak, beta hücre fonksiyonu ve sağkalım üzerindeki etkinin temelde HT ile olabileceğini düşündük. Yine de daha fazla çalışmayla EVOO bileşenleri arasındaki etkinin karşılaştırıldığı çalışmalarla bu düşüncemizin desteklenmesi gerekir.

6. SONUÇLAR

Çalışmamızda STZ ile indüklenmiş DM'de HT'nin hiperglisemiye düşürücü etkisinin pankreasın Langerhans adacıklarında PI3K/AKT yolağı üzerinden yaptığı ortaya konmuştur. STZ ile indüklenmiş DM'de HT uygulanması ile pankreas β hücrelerinde GLUT-2 ve insülin proteininin ekspresyonunda artış immünohistokimyasal olarak ortaya konmuştur. Yaptığımız çalışmada tip 1 DM'de HT'nin GLUT-2 ve insülin sekresyonunu pankreas Langerhans adacıklarında PI3K/AKT yolağıyla artırdığını bulduk. Tip 1 DM ve buna bağlı komplikasyonların, HT'nin antihiperglisemik etkisinden yararlanarak mevcut tedavilere ek olarak kullanılabileceği; bu sayede diyabet komplikasyonlarına bağlı gelişebilecek morbidite ve mortaliteye karşı koruyucu olabileceği öngörülmektedir. Mevcut sonuçların yapılacak invitro ve invivo deneysel çalışmalar ile desteklenmesi önerilmektedir.

7. KAYNAKLAR

- [1] A. D. Association, “Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus,” *Diabetes Care*, vol. 34, no. Suppl 1, p. S62, Jan. 2011, doi: 10.2337/DC11-S062.
- [2] “IDF ATLAS REPORTS,” 2022.
- [3] A. Katsarou *et al.*, “Type 1 diabetes mellitus,” *Nat Rev Dis Primers*, vol. 3, Mar. 2017, doi: 10.1038/NRDP.2017.16.
- [4] M. Orellana-Donoso *et al.*, “Effectiveness of alpha-lipoic acid in patients with neuropathic pain associated with type I and type II diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis,” *Medicine*, vol. 102, no. 44, p. e35368, Nov. 2023, doi: 10.1097/MD.00000000000035368.
- [5] R. Henríquez-Tejo and R. Cartes-Velásquez, “[Psychosocial impact of type 1 diabetes mellitus in children, adolescents and their families. Literature review],” *Rev Chil Pediatr*, vol. 89, no. 3, pp. 391–398, May 2018, doi: 10.4067/S0370-41062018005000507.
- [6] A. del Saz-Lara, M. C. López de las Hazas, F. Visioli, and A. Dávalos, “Nutri-Epigenetic Effects of Phenolic Compounds from Extra Virgin Olive Oil: A Systematic Review,” *Advances in Nutrition*, vol. 13, no. 5, p. 2039, Sep. 2022, doi: 10.1093/ADVANCES/NMAC067.
- [7] A. K. Marković, J. Torić, M. Barbarić, and C. J. Brala, “Hydroxytyrosol, Tyrosol and Derivatives and Their Potential Effects on Human Health,” *Molecules*, vol. 24, no. 10, 2019, doi: 10.3390/MOLECULES24102001.

- [8] M. C. Crespo, J. Tomé-Carneiro, C. Pintado, A. Dávalos, F. Visioli, and E. Burgos-Ramos, “Hydroxytyrosol restores proper insulin signaling in an astrocytic model of Alzheimer’s disease,” *BioFactors*, vol. 43, no. 4, pp. 540–548, Jul. 2017, doi: 10.1002/BIOF.1356.
- [9] B. Vanhaesebroeck, J. Guillermet-Guibert, M. Graupera, and B. Bilanges, “The emerging mechanisms of isoform-specific PI3K signalling,” *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2010 11:5, vol. 11, no. 5, pp. 329–341, Apr. 2010, doi: 10.1038/nrm2882.
- [10] B. Bilanges, Y. Posor, and B. Vanhaesebroeck, “PI3K isoforms in cell signalling and vesicle trafficking,” *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2019 20:9, vol. 20, no. 9, pp. 515–534, May 2019, doi: 10.1038/s41580-019-0129-z.
- [11] B. Thibault, F. Ramos-Delgado, and J. Guillermet-Guibert, “Targeting Class I-II-III PI3Ks in Cancer Therapy: Recent Advances in Tumor Biology and Preclinical Research,” *Cancers (Basel)*, vol. 15, no. 3, Feb. 2023, doi: 10.3390/CANCERS15030784.
- [12] S. Alsadat Hosseini Khorami, A. Movahedi, A. Huzwah, and A. Mutalib Mohd Sokhini, “(PI3K/AKT pathway in modulating glucose homeostasis and its alteration in Diabetes),” *ANNALS OF MEDICAL AND BIOMEDICAL SCIENCES*, vol. 1, no. 2, pp. 46–55, 2015.
- [13] M. I. Arbuckle, S. Kane, L. M. Porter, M. J. Seatter, and G. W. Gould, “Structure-function analysis of liver-type (GLUT2) and brain-type (GLUT3) glucose transporters: expression of chimeric transporters in *Xenopus* oocytes suggests an important role for putative transmembrane helix 7 in determining substrate selectivity,” *Biochemistry*, vol. 35, no. 51, pp. 16519–16527, Dec. 1996, doi: 10.1021/BI962210N.
- [14] J. H. Johnson, C. B. Newgard, J. L. Milburn, H. F. Lodish, and B. Thorenst, “The high K_m glucose transporter of islets of Langerhans is functionally similar to the low affinity transporter of liver and has an identical primary sequence.,” *Journal*

- of Biological Chemistry*, vol. 265, no. 12, pp. 6548–6551, Apr. 1990, doi: 10.1016/S0021-9258(19)39181-1.
- [15] M. A. Permutt, L. Koranyi, K. Keller, P. E. Lacy, D. W. Scharp, and M. Mueckler, “Cloning and functional expression of a human pancreatic islet glucose-transporter cDNA,” *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 86, no. 22, pp. 8688–8692, 1989, doi: 10.1073/PNAS.86.22.8688.
 - [16] B. Thorens, H. K. Sarkar, H. R. Kaback, and H. F. Lodish, “Cloning and functional expression in bacteria of a novel glucose transporter present in liver, intestine, kidney, and beta-pancreatic islet cells,” *Cell*, vol. 55, no. 2, pp. 281–290, Oct. 1988, doi: 10.1016/0092-8674(88)90051-7.
 - [17] H. Fukumoto *et al.*, “Sequence, tissue distribution, and chromosomal localization of mRNA encoding a human glucose transporter-like protein,” *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 85, no. 15, pp. 5434–5438, 1988, doi: 10.1073/PNAS.85.15.5434.
 - [18] M. Mueckler, M. Kruse, M. Strube, A. C. Riggs, K. C. Chiu, and M. A. Permutt, “A mutation in the Glut2 glucose transporter gene of a diabetic patient abolishes transport activity,” *Journal of Biological Chemistry*, vol. 269, no. 27, pp. 17765–17767, Jul. 1994, doi: 10.1016/s0021-9258(17)32372-4.
 - [19] B. M. Henry, B. Skinningsrud, K. Saganiak, P. A. Pękala, J. A. Walocha, and K. A. Tomaszewski, “Development of the human pancreas and its vasculature — An integrated review covering anatomical, embryological, histological, and molecular aspects,” *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger*, vol. 221, pp. 115–124, Jan. 2019, doi: 10.1016/J.AANAT.2018.09.008.
 - [20] “Quinlan: Pankreasın anatomisi ve embriyolojisi - Google Akademik.” Accessed: Sep. 19, 2023. [Online]. Available: [https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Anatomy and embryology of the pancreas&publication_year=1991&author=R.M. Quinlan](https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Anatomy+and+embryology+of+the+pancreas&publication_year=1991&author=R.M.+Quinlan)
 - [21] V. Mahadevan, “Anatomy of the pancreas and spleen,” *Surgery (Oxford)*, vol. 37, no. 6, pp. 297–301, Jun. 2019, doi: 10.1016/J.MPSUR.2019.04.008.

- [22] L. Prasanna, K. Rajagopal, ... H. T.-J. of C. and, and undefined 2015, "Accessory pancreatic duct patterns and their clinical implications," *ncbi.nlm.nih.gov* LC Prasanna, KV Rajagopal, HR Thomas, KMR Bhat *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR*, 2015 • *ncbi.nlm.nih.gov*.
- [23] L. Van Hoe, B. C.-R. of the Pancreas, and undefined 1999, "The pancreas: normal radiological anatomy and variants," *Springer* L Van Hoe, B Claikens *Radiology of the Pancreas*, 1999 • *Springer*.
- [24] Keith L. Moore, *The Developing Human Clinically oriented Embryology*, 10th ed. Philadelphia, 2016.
- [25] K. A. Johansson and A. Grapin-Botton, "Development and diseases of the pancreas," *Clin Genet*, vol. 62, no. 1, pp. 14–23, Jul. 2002, doi: 10.1034/J.1399-0004.2002.620102.X.
- [26] "Dubois: Ekzokrin ve endokrin pankreas: Embriyoloji... - Google Akademik." Accessed: Sep. 25, 2023. [Online]. Available: [https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=The exocrine and endocrine pancreas%3A embryology and histology&publication_year=1999&author=P.M. Dubois](https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=The+exocrine+and+endocrine+pancreas%3A+embryology+and+histology&publication_year=1999&author=P.M.+Dubois)
- [27] P. M. Dubois, "The Exocrine and Endocrine Pancreas: Embryology and Histology," pp. 1–8, 1999, doi: 10.1007/978-3-642-58380-3_1.
- [28] A. C. Guyton, "Tıbbi fizyoloji ders kitabı," 2006.
- [29] P. H. Bernard, "Physiology of the Exocrine Pancreas," pp. 9–19, 1994, doi: 10.1007/978-3-642-97487-8_2.
- [30] P. D.-R. of the Pancreas and undefined 1994, "Ekzokrin ve endokrin pankreas: Embriyoloji ve histoloji," *Springer* Başbakan Dubois Pankreas Radyolojisi, 1994 • *Springer*, Accessed: Sep. 25, 2023. [Online]. Available: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-58380-3_1

- [31] P. L.-G. Lange and undefined 1869, “Beitrage zur mikroskopischen anatomie der bauchspeicheldruse, inaugural disseration,” *cir.nii.ac.jp*, Accessed: Sep. 25, 2023. [Online]. Available: <https://cir.nii.ac.jp/crid/1570854175582054784>
- [32] “Langerhans: Beitrage zur mikroskopischen anatomie... - Google Akademik.” Accessed: Sep. 25, 2023. [Online]. Available: https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Beitr%C3%A4ge%20zur%20mikroskopischen%20Anatomie%20der%20Bauchspeicheldr%C3%BCse%3A%20Inaugural-Dissertation&publication_year=1869&author=P.%20Langerhans
- [33] “Zimmermann: Die Bauchspeicheldrüse, Pankreas - Google Akademik.” Accessed: Sep. 25, 2023. [Online]. Available: https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Die%20Bauchspeicheldr%C3%BCse%2C%20Pankreas&publication_year=1927&author=K.%20Zimmermann
- [34] P. Buchwald *et al.*, “Quantitative assessment of islet cell products: Estimating the accuracy of the existing protocol and accounting for islet size distribution,” *Cell Transplant*, vol. 18, no. 10–11, pp. 1223–1235, 2009, doi: 10.3727/096368909X476968.
- [35] T. T.-P. international and undefined 2002, “New markers for pancreatic islets and islet cell tumors,” *Wiley Online LibraryT TomitaPathology international*, 2002•*Wiley Online Library*, vol. 52, pp. 425–432, 2002, doi: 10.1046/j.1320-5463.2002.01368.x.
- [36] B. M. Henry, B. Skinningsrud, K. Saganiak, P. A. Pękala, J. A. Walocha, and K. A. Tomaszewski, “Development of the human pancreas and its vasculature — An integrated review covering anatomical, embryological, histological, and molecular aspects,” *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger*, vol. 221, pp. 115–124, Jan. 2019, doi: 10.1016/J.AANAT.2018.09.008.
- [37] K. I. Aamodt and A. C. Powers, “Signals in the pancreatic islet microenvironment influence β cell proliferation,” *Diabetes Obes Metab*, vol. 19, no. Suppl 1, p. 124, Sep. 2017, doi: 10.1111/DOM.13031.

- [38] C. J. Nolan and M. Prentki, "The islet beta-cell: fuel responsive and vulnerable," *Trends Endocrinol Metab*, vol. 19, no. 8, pp. 285–291, Oct. 2008, doi: 10.1016/J.TEM.2008.07.006.
- [39] W. Kim and J. M. Egan, "The Role of Incretins in Glucose Homeostasis and Diabetes Treatment," *Pharmacol Rev*, vol. 60, no. 4, p. 470, Dec. 2008, doi: 10.1124/PR.108.000604.
- [40] S. L. Aronoff, K. Berkowitz, B. Shreiner, and L. Want, "Glucose Metabolism and Regulation: Beyond Insulin and Glucagon," *Diabetes Spectrum*, vol. 17, no. 3, pp. 183–190, Jul. 2004, doi: 10.2337/DIASPECT.17.3.183.
- [41] B. Ahrén, "Autonomic regulation of islet hormone secretion - Implications for health and disease," *Diabetologia*, vol. 43, no. 4, pp. 393–410, 2000, doi: 10.1007/S001250051322/METRICS.
- [42] C. S. Olofsson *et al.*, "Impaired Insulin Exocytosis in Neural Cell Adhesion Molecule–/– Mice Due to Defective Reorganization of the Submembrane F-Actin Network," *Endocrinology*, vol. 150, no. 7, p. 3067, Jul. 2009, doi: 10.1210/EN.2008-0475.
- [43] V. Cirulli, D. Baetens, U. Rutishauser, P. A. Halban, L. Orci, and D. G. Rouiller, "Expression of neural cell adhesion molecule (N-CAM) in rat islets and its role in islet cell type segregation," *J Cell Sci*, vol. 107 (Pt 6), no. 6, pp. 1429–1436, Jun. 1994, doi: 10.1242/JCS.107.6.1429.
- [44] F. Esni, I. B. Täljedal, A. K. Perl, H. Cremer, G. Christofori, and H. Semb, "Neural Cell Adhesion Molecule (N-CAM) Is Required for Cell Type Segregation and Normal Ultrastructure in Pancreatic Islets," *J Cell Biol*, vol. 144, no. 2, p. 325, Jan. 1999, doi: 10.1083/JCB.144.2.325.
- [45] F. Jaques *et al.*, "Dual Effect of Cell-Cell Contact Disruption on Cytosolic Calcium and Insulin Secretion," *Endocrinology*, vol. 149, no. 5, pp. 2494–2505, May 2008, doi: 10.1210/EN.2007-0974.

- [46] D. Bosco, D. G. Rouiller, and P. A. Halban, "Differential expression of E-cadherin at the surface of rat beta-cells as a marker of functional heterogeneity," *J Endocrinol*, vol. 194, no. 1, pp. 21–29, Jul. 2007, doi: 10.1677/JOE-06-0169.
- [47] U. Dahl, A. Sjödin, and H. Semb, "Cadherins regulate aggregation of pancreatic beta-cells in vivo," *Development*, vol. 122, no. 9, pp. 2895–2902, 1996, doi: 10.1242/DEV.122.9.2895.
- [48] W. H. Evans, E. De Vuyst, and L. Leybaert, "The gap junction cellular internet: connexin hemichannels enter the signalling limelight," *Biochem J*, vol. 397, no. 1, pp. 1–14, Jul. 2006, doi: 10.1042/BJ20060175.
- [49] M. A. Ravier *et al.*, "Loss of connexin36 channels alters beta-cell coupling, islet synchronization of glucose-induced Ca²⁺ and insulin oscillations, and basal insulin release," *Diabetes*, vol. 54, no. 6, pp. 1798–1807, Jun. 2005, doi: 10.2337/DIABETES.54.6.1798.
- [50] A. Charollais *et al.*, "Junctional communication of pancreatic β cells contributes to the control of insulin secretion and glucose tolerance," *Journal of Clinical Investigation*, vol. 106, no. 2, p. 235, Jul. 2000, doi: 10.1172/JCI9398.
- [51] V. Serre-Beinier *et al.*, "Cx36 preferentially connects beta-cells within pancreatic islets," *Diabetes*, vol. 49, no. 5, pp. 727–734, 2000, doi: 10.2337/DIABETES.49.5.727.
- [52] S. Bavamian *et al.*, "Islet-cell-to-cell communication as basis for normal insulin secretion," *Diabetes Obes Metab*, vol. 9 Suppl 2, no. SUPPL. 2, pp. 118–132, 2007, doi: 10.1111/J.1463-1326.2007.00780.X.
- [53] E. B. Pasquale, "Eph-ephrin bidirectional signaling in physiology and disease," *Cell*, vol. 133, no. 1, pp. 38–52, Apr. 2008, doi: 10.1016/J.CELL.2008.03.011.
- [54] I. Konstantinova *et al.*, "EphA-Ephrin-A-mediated beta cell communication regulates insulin secretion from pancreatic islets," *Cell*, vol. 129, no. 2, pp. 359–370, Apr. 2007, doi: 10.1016/J.CELL.2007.02.044.

- [55] M. Brissova *et al.*, “Pancreatic islet production of vascular endothelial growth factor--a is essential for islet vascularization, revascularization, and function,” *Diabetes*, vol. 55, no. 11, pp. 2974–2985, Nov. 2006, doi: 10.2337/DB06-0690.
- [56] N. Wakae-Takada, S. Xuan, K. Watanabe, P. Meda, and R. L. Leibel, “Molecular basis for the regulation of islet beta cell mass in mice: the role of E-cadherin,” *Diabetologia*, vol. 56, no. 4, p. 856, Apr. 2013, doi: 10.1007/S00125-012-2824-6.
- [57] E. S. Di Cairano *et al.*, “Neurotransmitters and Neuropeptides: New Players in the Control of Islet of Langerhans’ Cell Mass and Function,” *J Cell Physiol*, vol. 231, no. 4, pp. 756–767, Apr. 2016, doi: 10.1002/JCP.25176.
- [58] A. Caicedo, “PARACRINE AND AUTOCRINE INTERACTIONS IN THE HUMAN ISLET: MORE THAN MEETS THE EYE,” *Semin Cell Dev Biol*, vol. 24, no. 1, p. 11, 2013, doi: 10.1016/J.SEMCDB.2012.09.007.
- [59] P. S. Leung, “Physiology of the pancreas,” *Adv Exp Med Biol*, vol. 690, pp. 13–27, 2010, doi: 10.1007/978-90-481-9060-7_2/COVER.
- [60] D. T. Karamitsos, “The story of insulin discovery,” *Diabetes Res Clin Pract*, vol. 93, no. SUPPL. 1, pp. S2–S8, Aug. 2011, doi: 10.1016/S0168-8227(11)70007-9.
- [61] G. van Niekerk, C. Christowitz, D. Conradie, and A. M. Engelbrecht, “Insulin as an immunomodulatory hormone,” *Cytokine Growth Factor Rev*, vol. 52, pp. 34–44, Apr. 2020, doi: 10.1016/J.CYTOGFR.2019.11.006.
- [62] “İmmünomodülatör hormon olarak insülin - ScienceDirect.” Accessed: Oct. 26, 2023. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359610119300644?via%3Dihub>
- [63] A. P. RYLE, F. SANGER, L. F. SMITH, and R. KITAI, “The disulphide bonds of insulin,” *Biochem J*, vol. 60, no. 4, pp. 541–556, 1955, doi: 10.1042/BJ0600541.
- [64] I. S. Johnson, “Human insulin from recombinant DNA technology,” *Science*, vol. 219, no. 4585, pp. 632–637, 1983, doi: 10.1126/SCIENCE.6337396.

- [65] G. Bruno, F. Merletti, A. Vuolo, E. Pisu, M. Giorio, and G. Pagano, "Sex differences in incidence of IDDM in age-group 15-29 yr. Higher risk in males in Province of Turin, Italy," *Diabetes Care*, vol. 16, no. 1, pp. 133–136, 1993, doi: 10.2337/DIACARE.16.1.133.
- [66] J. P. Mayer, F. Zhang, and R. D. DiMarchi, "Insulin structure and function," *Peptide Science*, vol. 88, no. 5, pp. 687–713, Jan. 2007, doi: 10.1002/BIP.20734.
- [67] D. Ünal, A. Kara, S. Aksak, B. Z. Altunkaynak, S. Yıldırım, and G. Tarihi, "Insulin hormone 310 Dicle Tıp Derg," *Dicle Med J www.diclemedj.org Cilt*, vol. 39, no. 2, pp. 310–315, 2012, doi: 10.5798/diclemedj.0921.2012.02.0149.
- [68] "Ross Histology Text and Atlas 6th txtbk," *HISTOLOGY A TEXT AND ATLAS*, vol. SIXTH, pp. 651–651, 2011.
- [69] W. Ganong, "Tıbbi fizyolojinin gözden geçirilmesi," *Kan ve lenf akımının dinamiği*, 1995, Accessed: Nov. 22, 2023. [Online]. Available: <https://cir.nii.ac.jp/crid/1570009749769022336>
- [70] C. P. Jr, "Acil serviste glukagonun faydası," *Acil Tıp Dergisi*, 1993, Accessed: Nov. 22, 2023. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S073646799390519D>
- [71] K. HALL-BOYER and P. H. ZALOGA..., "Glukagon: hormon mu yoksa terapötik ajan mı?," *Yoğun bakım ...*, 1984, Accessed: Nov. 22, 2023. [Online]. Available: https://journals.lww.com/ccmjjournal/Abstract/1984/07000/Glucagon__Hormone_or_therapeutic_agent_.8.aspx
- [72] "Gilman: Goodman ve Gilman'ın Farmakolojik... - Google Akademik." Accessed: Nov. 22, 2023. [Online]. Available: https://scholar.google.com/scholar_lookup?hl=en&publication_year=2001&author=SN+Davis&author=DK+Granner&author=JG+Hardman&author=LE+Limbird&author=AG+Gilman&title=Goodman+and+Gilman%27s+The+Pharmacological+Basis+of+Therapeutics

- [73] M. A. Downes, "Glucagon," *Emerg Med (N Y)*, vol. 15, no. 5–6, pp. 480–485, Oct. 2003, doi: 10.1046/J.1442-2026.2003.00506.X.
- [74] "Goldfrank: Goldfrank'in toksikolojik acil durumları - Google Akademik." Accessed: Nov. 22, 2023. [Online]. Available: https://scholar.google.com/scholar_lookup?hl=en&publication_year=2002%3B&pages=758-61&author=MA+Howland&author=LR+Goldfrank&author=NE+Flomenbaum&author=NA+Lewin&author=MA+Howland&author=RS+Hoffman&author=LS+Nelson&title=Goldfrank's+Toxicologic+Emergencies
- [75] L. Goldfrank and R. Hoffman, "Goldfrank'in toksikolojik acil durumları," 2006, Accessed: Nov. 22, 2023. [Online]. Available: [https://www.annemergmed.com/article/S0196-0644\(06\)02600-X/abstract](https://www.annemergmed.com/article/S0196-0644(06)02600-X/abstract)
- [76] S. W. Klein, J. E. Morch, and W. A. Mahon, "Cardiovascular effects of glucagon in man.," *Can Med Assoc J*, vol. 98, no. 25, pp. 1161–1164, Jun. 1968, doi: 10.1056/nejm196807042790103.
- [77] S. R. Bloom and J. M. Polak, "Regular Review Somatostatin," *BRITISH MEDICAL JOURNAL VOLUME*, vol. 295, 1987.
- [78] Y. C. Patel and S. Reichlin, "Somatostatin in hypothalamus, extrahypothalamic brain, and peripheral tissues of the rat," *Endocrinology*, vol. 102, no. 2, pp. 523–530, 1978, doi: 10.1210/ENDO-102-2-523.
- [79] J. M. Polak and S. R. Bloom, "Somatostatin localization in tissues," *Scand J Gastroenterol Suppl*, vol. 119, no. S119, pp. 11–21, 1986, doi: 10.3109/00365528609087427.
- [80] J. R. Keast, J. B. Furness, and M. Costa, "Somatostatin in human enteric nerves. Distribution and characterization," *Cell Tissue Res*, vol. 237, no. 2, pp. 299–308, Aug. 1984, doi: 10.1007/BF00217149.

- [81] A. Arimura, H. Sato, A. Dupont, N. Nishi, and A. V. Schally, "Somatostatin: abundance of immunoreactive hormone in rat stomach and pancreas," *Science*, vol. 189, no. 4207, pp. 1007–1009, 1975, doi: 10.1126/SCIENCE.56779.
- [82] J. M. Polak, L. Grimelius, A. G. E. Pearse, S. R. Bloom, and A. Arimura, "Growth-hormone release-inhibiting hormone in gastrointestinal and pancreatic D cells," *Lancet*, vol. 1, no. 7918, pp. 1220–1222, May 1975, doi: 10.1016/S0140-6736(75)92198-4.
- [83] J. E. Gerich *et al.*, "Inhibition of pancreatic glucagon responses to arginine by somatostatin in normal man and in insulin-dependent diabetics," *Diabetes*, vol. 23, no. 11, pp. 876–880, 1974, doi: 10.2337/DIAB.23.11.876.
- [84] K. G. M. M. Alberti *et al.*, "Inhibition of insulin secretion by somatostatin," *Lancet*, vol. 2, no. 7841, pp. 1299–1301, Dec. 1973, doi: 10.1016/S0140-6736(73)92873-0.
- [85] F. P. Alford *et al.*, "Glucagon control of fasting glucose in man," *Lancet*, vol. 2, no. 7887, pp. 974–977, Oct. 1974, doi: 10.1016/S0140-6736(74)92071-6.
- [86] C. H. Mortimer *et al.*, "Effects of growth-hormone release-inhibiting hormone on circulating glucagon, insulin, and growth hormone in normal, diabetic, acromegalic, and hypopituitary patients," *Lancet*, vol. 1, no. 7860, pp. 697–701, Apr. 1974, doi: 10.1016/S0140-6736(74)92903-1.
- [87] S. R. Bloom *et al.*, "Inhibition of gastrin and gastric-acid secretion by growth-hormone release-inhibiting hormone," *Lancet*, vol. 2, no. 7889, pp. 1106–1109, Nov. 1974, doi: 10.1016/S0140-6736(74)90869-1.
- [88] S. Reichlin, "Somatostatin," *N Engl J Med*, vol. 309, no. 24, pp. 1495–1501, Dec. 1983, doi: 10.1056/NEJM198312153092406.
- [89] R. S., "Somatostatin (second of two parts)," *N Engl J Med*, vol. 309, no. 25, pp. 1556–63, Dec. 1983, doi: 10.1056/NEJM198312223092506.

- [90] L. MR, "Endogenous somatostatin and the gut," *Gut*, vol. 27, no. 4, pp. 457–467, 1986, doi: 10.1136/GUT.27.4.457.
- [91] M. R. Brown, L. A. Fisher, P. E. Sawchenko, L. W. Swanson, and W. W. Vale, "Biological effects of cysteamine: relationship to somatostatin depletion," *Regul Pept*, vol. 5, no. 2, pp. 163–179, 1983, doi: 10.1016/0167-0115(83)90124-6.
- [92] L. M. Lichtenberger, "Importance of food in the regulation of gastrin release and formation," *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, vol. 6, no. 6, 1982, doi: 10.1152/ajpgi.1982.243.6.g429.
- [93] V. Schusdziarra, J. Lawecki, H. H. Ditschuneit, B. Lukas, V. Maier, and E. F. Pfeiffer, "Effect of low-dose somatostatin infusion on pancreatic and gastric endocrine function in lean and obese nondiabetic human subjects," *Diabetes*, vol. 34, no. 6, pp. 595–601, 1985, doi: 10.2337/DIAB.34.6.595.
- [94] F. B. Loud, J. J. Holst, E. Egense, B. Petersen, and J. Christiansen, "Is somatostatin a humoral regulator of the endocrine pancreas and gastric acid secretion in man?," *Gut*, vol. 26, no. 5, pp. 445–449, 1985, doi: 10.1136/GUT.26.5.445.
- [95] D. J. O'Shaughnessy *et al.*, "Somatostatin-14 modulates postprandial glucose levels and release of gastrointestinal and pancreatic hormones," *Digestion*, vol. 31, no. 4, pp. 234–242, 1985, doi: 10.1159/000199205.
- [96] T. J. Colturi, R. H. Unger, and M. Feldman, "Role of circulating somatostatin in regulation of gastric acid secretion, gastrin release, and islet cell function. Studies in healthy subjects and duodenal ulcer patients," *J Clin Invest*, vol. 74, no. 2, pp. 417–423, 1984, doi: 10.1172/JCI111437.
- [97] P. G. BURHOL, I. LYGREN, T. G. JENSSEN, J. FLORHOLMEN, and R. JORDE, "Somatostatin release and plasma molecular somatostatin components in man," *Acta Physiol Scand*, vol. 121, no. 3, pp. 223–228, 1984, doi: 10.1111/J.1748-1716.1984.TB07450.X.

- [98] Z. Wiesenfeld-Hallin, "Substance P and somatostatin modulate spinal cord excitability via physiologically different sensory pathways," *Brain Res*, vol. 372, no. 1, pp. 172–175, Apr. 1986, doi: 10.1016/0006-8993(86)91473-3.
- [99] A. Tessler, B. T. Himes, J. Gruber-Bollinger, and S. Reichlin, "Characterization of forms of immunoreactive somatostatin in sensory neuron and normal and deafferented spinal cord," *Brain Res*, vol. 370, no. 2, pp. 232–240, Apr. 1986, doi: 10.1016/0006-8993(86)90478-6.
- [100] J. M. Polak and S. R. Bloom, "Somatostatin localization in tissues," *Scand J Gastroenterol Suppl*, vol. 119, no. S119, pp. 11–21, 1986, doi: 10.3109/00365528609087427.
- [101] J. Harreiter and M. Roden, "Diabetes mellitus—Definition, classification, diagnosis, screening and prevention (Update 2019)," *Wien Klin Wochenschr*, vol. 131, no. 1, pp. 6–15, May 2019, doi: 10.1007/S00508-019-1450-4/TABLES/5.
- [102] "2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2018," *Diabetes Care*, vol. 41, no. Supplement_1, pp. S13–S27, Jan. 2018, doi: 10.2337/dc18-S002.
- [103] "IDF Diabetes Atlas | Tenth Edition." Accessed: Jan. 06, 2023. [Online]. Available: <https://diabetesatlas.org/>
- [104] F. Z. Syed, "Type 1 Diabetes Mellitus," <https://doi.org/10.7326/AITC202203150>, vol. 175, no. 3, pp. ITC34–ITC48, Mar. 2022, doi: 10.7326/AITC202203150.
- [105] J. A. Vanderniet, A. J. Jenkins, and K. C. Donaghue, "Epidemiology of Type 1 Diabetes," *Curr Cardiol Rep*, vol. 24, no. 10, pp. 1455–1465, Oct. 2022, doi: 10.1007/S11886-022-01762-W/TABLES/2.
- [106] E. Ahmad, S. Lim, R. Lamptey, D. R. Webb, and M. J. Davies, "Type 2 diabetes," *The Lancet*, vol. 400, no. 10365, pp. 1803–1820, Nov. 2022, doi: 10.1016/S0140-6736(22)01655-5.

- [107] M. Teliti, G. Cogni, L. Sacchi, and A. Dagliati, “Tek merkezli bir hasta kohortunda tip 2 diyabetin mikrovasküler komplikasyonlarının gelişimi için risk faktörleri,” *Diyabet ve*, vol. 15, no. 5, pp. 424–432, Sep. 2018, doi: 10.1177/1479164118780808.
- [108] M. Kosiborod *et al.*, “Vascular complications in patients with type 2 diabetes: Prevalence and associated factors in 38 countries (the DISCOVER study program),” *Cardiovasc Diabetol*, vol. 17, no. 1, Nov. 2018, doi: 10.1186/S12933-018-0787-8.
- [109] E. Scott, A. Januszewski, and R. O’Connell, “Tip 2 diyabette uzun vadeli glisemik değişkenlik ve vasküler komplikasyonlar: FIELD çalışmasının post hoc analizi,” *The Journal of*, 2020, Accessed: Jan. 09, 2023. [Online]. Available: <https://sci-hub.do/https://academic.oup.com/jcem/article-abstract/105/10/e3638/5885040>
- [110] H. Shao, S. Yang, V. Fonseca, C. Stoecker, and L. Shi, “Estimating Quality of Life Decrements Due to Diabetes Complications in the United States: The Health Utility Index (HUI) Diabetes Complication Equation,” *Pharmacoeconomics*, vol. 37, no. 7, pp. 921–929, Jul. 2019, doi: 10.1007/S40273-019-00775-8.
- [111] T. A. Buchanan and A. H. Xiang, “Gestational diabetes mellitus,” *J Clin Invest*, vol. 115, no. 3, pp. 485–491, Mar. 2005, doi: 10.1172/JCI24531.
- [112] A. J. Kondracki, M. J. Valente, B. Ibrahimou, Z. Bursac, and C. J. Anthony Kondracki, “Gebelik öncesi vücut kitle indeksine göre erken, tam ve geç term gebelik yaşı için büyük risk: Gestasyonel diyabet durumuna göre aracılık,” *Pediatric ve*, vol. 36, no. 4, pp. 566–576, Jul. 2022, doi: 10.1111/ppe.12809.
- [113] M. Tosur and L. H. Philipson, “Precision diabetes: Lessons learned from maturity-onset diabetes of the young (MODY),” *J Diabetes Investig*, vol. 13, no. 9, p. 1465, Sep. 2022, doi: 10.1111/JDI.13860.
- [114] J. M. Forbes and M. E. Cooper, “Mechanisms of Diabetic Complications,” *Physiol Rev*, vol. 93, no. 1, pp. 137–188, Jan. 2013, doi: 10.1152/physrev.00045.2011.

- [115] M. Brownlee, “The Pathobiology of Diabetic ComplicationsA Unifying Mechanism,” *Diabetes*, vol. 54, no. 6, pp. 1615–1625, Jun. 2005, doi: 10.2337/DIABETES.54.6.1615.
- [116] “Kaiser N, Sasson S, Feener EP, Boukobza-Vardi N, Higashi S, Moller DE, Davidheiser S, Przybylski RJ, King GL: Differential regulation of glucose transport and transporters by glucose in vascular endothelial and smooth muscle cells. *Diabetes* 42: 80–89, 1993”.
- [117] “Heilig CW, Concepcion LA, Riser BL, Freytag SO, Zhu M, Cortes P: Overexpression of glucose transporters in rat mesangial cells cultured in a normal glucose milieu mimics the diabetic phenotype. *J Clin Invest* 96: 1802–1814, 1995,” *Heilig CW, Concepcion LA, Riser BL, Freytag SO, Zhu M, Cortes P*, vol. 96, pp. 1802–1814, 1995.
- [118] K. H. Gabbay, L. O. Merola, and R. A. Field, “Sorbitol Pathway: Presence in Nerve and Cord with Substrate Accumulation in Diabetes,” *Science (1979)*, vol. 151, no. 3707, pp. 209–210, Jan. 1966, doi: 10.1126/SCIENCE.151.3707.209.
- [119] A. C. McLellan, P. J. Thornalley, J. Benn, and P. H. Sonksen, “Glyoxalase system in clinical diabetes mellitus and correlation with diabetic complications,” *Clin Sci (Lond)*, vol. 87, no. 1, pp. 21–29, 1994, doi: 10.1042/CS0870021.
- [120] A. C. McLellan, P. J. Thornalley, J. Benn, and P. H. Sonksen, “Glyoxalase System in Clinical Diabetes Mellitus and Correlation with Diabetic Complications,” *Clin Sci*, vol. 87, no. 1, pp. 21–29, Jul. 1994, doi: 10.1042/CS0870021.
- [121] M. S. F. K. G. K. B. M. Hammes HP, “Aminoguanidine treatment inhibits the development of experimental diabetic retinopathy,” *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 88, pp. 11555–11557, 1990.
- [122] Y. M. Li *et al.*, “Molecular identity and cellular distribution of advanced glycation endproduct receptors: relationship of p60 to OST-48 and p90 to 80K-H membrane proteins.,” *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 93, no. 20, p. 11047, Oct. 1996, doi: 10.1073/PNAS.93.20.11047.

- [123] H. Vlassara, M. Brownlee, K. R. Manogue, C. A. Dinarello, and A. Pasagian, “Cachectin/TNF and IL-1 Induced by Glucose-Modified Proteins: Role in Normal Tissue Remodeling,” *Science (1979)*, vol. 240, no. 4858, pp. 1546–1548, 1988, doi: 10.1126/SCIENCE.3259727.
- [124] X. L. Du *et al.*, “Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation,” *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 97, no. 22, p. 12222, Oct. 2000, doi: 10.1073/PNAS.97.22.12222.
- [125] T. Nishikawa *et al.*, “Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage,” *Nature* 2000 404:6779, vol. 404, no. 6779, pp. 787–790, Apr. 2000, doi: 10.1038/35008121.
- [126] X. Du *et al.*, “Inhibition of GAPDH activity by poly(ADP-ribose) polymerase activates three major pathways of hyperglycemic damage in endothelial cells,” *Journal of Clinical Investigation*, vol. 112, no. 7, pp. 1049–1057, 2003, doi: 10.1172/JCI18127.
- [127] R. Turner, “Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33),” *The Lancet*, vol. 352, no. 9131, pp. 837–853, Sep. 1998, doi: 10.1016/S0140-6736(98)07019-6.
- [128] A. D. Bolzán and M. S. Bianchi, “Genotoxicity of Streptozotocin,” *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, vol. 512, no. 2–3, pp. 121–134, Dec. 2002, doi: 10.1016/S1383-5742(02)00044-3.
- [129] R. R. Herr, H. K. Jahnke, and A. D. Argoudelis, “The Structure of Streptozotocin,” *J Am Chem Soc*, vol. 89, no. 18, pp. 4808–4809, Aug. 1967, doi: 10.1021/JA00994A053/ASSET/JA00994A053.FP.PNG_V03.
- [130] E. Hardegger, A. Meier, and A. Stoos, “Eine präparative Synthese von Streptozotocin,” *Helv Chim Acta*, vol. 52, no. 8, pp. 2555–2560, 1969, doi: 10.1002/HLCA.19690520837.

- [131] E. J. Hessler and H. K. Jahnke, "Improved Synthesis of Streptozotocin," *Journal of Organic Chemistry*, vol. 35, no. 1, pp. 245–246, Jan. 1970, doi: 10.1021/JO00826A053/ASSET/JO00826A053.FP.PNG_V03.
- [132] A. E. Slonim, M. L. Surber, D. L. Page, R. A. Sharp, and I. M. Burr, "Modification of chemically induced diabetes in rats by vitamin E. Supplementation minimizes and depletion enhances development of diabetes.," *J Clin Invest*, vol. 71, no. 5, pp. 1282–1288, May 1983, doi: 10.1172/JCI110878.
- [133] S. Sandler and A. Andersson, "The partial protective effect of the hydroxyl radical scavenger dimethyl urea on streptozotocin-induced diabetes in the mouse in vivo and in vitro," *Diabetologia*, vol. 23, no. 4, pp. 374–378, Oct. 1982, doi: 10.1007/BF00253747/METRICS.
- [134] S. E. Gandy, M. G. Buse, J. R. J. Sorenson, and R. K. Crouch, "Attenuation of streptozotocin diabetes with superoxide dismutase-like copper(II)(3,5-diisopropylsalicylate)₂ in the rat," *Diabetologia*, vol. 24, no. 6, pp. 437–440, Jun. 1983, doi: 10.1007/BF00257343/METRICS.
- [135] M. J. Robbins, R. A. Sharp, A. E. Slonim, and I. M. Burr, "Protection against streptozotocin-induced diabetes by superoxide dismutase," *Diabetologia*, vol. 18, no. 1, pp. 55–58, Jan. 1980, doi: 10.1007/BF01228303/METRICS.
- [136] H. Chen, E. C. Carlson, L. Pellet, J. T. Moritz, and P. N. Epstein, "Overexpression of Metallothionein in Pancreatic β -Cells Reduces Streptozotocin-Induced DNA Damage and Diabetes," *Diabetes*, vol. 50, no. 9, pp. 2040–2046, Sep. 2001, doi: 10.2337/DIABETES.50.9.2040.
- [137] K. D. Kroncke, K. Fehsel, V. Kolb-Bachofen, A. Sommer, and M. L. Rodriguez, "Nitric Oxide Generation during Cellular Metabolization of the Diabetogenic N-Methyl-N-Nitroso-Urea Streptozotocin Contributes to Islet Cell DNA Damage," *Biol Chem Hoppe Seyler*, vol. 376, no. 3, pp. 179–186, Jan. 1995, doi: 10.1515/BCHM3.1995.376.3.179/MACHINEREADABLECITATION/RIS.
- [138] F. J. Bedoya, F. Solano, and M. Lucas, "N-monomethyl-arginine and nicotinamide prevent streptozotocin-induced double strand DNA break formation

- in pancreatic rat islets,” *Experientia*, vol. 52, no. 4, pp. 344–347, Apr. 1996, doi: 10.1007/BF01919538/METRICS.
- [139] T. Ohkuwa, Y. Sato, and M. Naoi, “Hydroxyl radical formation in diabetic rats induced by streptozotocin,” *Life Sci*, vol. 56, no. 21, pp. 1789–1798, Apr. 1995, doi: 10.1016/0024-3205(95)00150-5.
- [140] N. Takasu, I. Komiya, T. Asawa, Y. Nagasawa, and T. Yamada, “Streptozocin- and Alloxan-Induced H₂O₂ Generation and DNA Fragmentation in Pancreatic Islets: H₂O₂ as Mediator for DNA Fragmentation,” *Diabetes*, vol. 40, no. 9, pp. 1141–1145, Sep. 1991, doi: 10.2337/DIAB.40.9.1141.
- [141] J. Kawada, “[New hypotheses for the mechanisms of streptozotocin and alloxan inducing diabetes mellitus],” *Yakugaku Zasshi*, vol. 112, no. 11, pp. 773–791, 1992, doi: 10.1248/YAKUSHI1947.112.11_773.
- [142] M. Nukatsuka, H. Sakurai, Y. Yoshimura, M. Nishida, and J. Kawada, “Enhancement by streptozotocin of O–2 radical generation by the xanthine oxidase system of pancreatic β -cells,” *FEBS Lett*, vol. 239, no. 2, pp. 295–298, Nov. 1988, doi: 10.1016/0014-5793(88)80938-4.
- [143] R. A. Bennett and A. E. Pegg, “Alkylation of DNA in rat tissues following administration of streptozotocin,” *Cancer Res*, vol. 41, no. 7, pp. 2786–2790.
- [144] H. Tjalve, “Streptozotocin: Distribution, metabolism and mechanisms of action,” *Ups J Med Sci*, vol. 88, no. SUPPL. 39, pp. 145–157.
- [145] M. Bertelli *et al.*, “Hydroxytyrosol: A natural compound with promising pharmacological activities,” *J Biotechnol*, vol. 309, pp. 29–33, Feb. 2020, doi: 10.1016/J.JBIOTEC.2019.12.016.
- [146] A. Bonetti, S. Venturini, A. Ena, and C. Faraloni, “Innovative method for recovery and valorization of hydroxytyrosol from olive mill wastewaters,” *Water Science and Technology*, vol. 74, no. 1, pp. 73–86, Jul. 2016, doi: 10.2166/WST.2016.181.

- [147] B. Stefanon and M. Colitti, “Original Research: Hydroxytyrosol, an ingredient of olive oil, reduces triglyceride accumulation and promotes lipolysis in human primary visceral adipocytes during differentiation,” <https://doi.org/10.1177/1535370216654226>, vol. 241, no. 16, pp. 1796–1802, Jun. 2016, doi: 10.1177/1535370216654226.
- [148] S. Schaffer, M. Podstawa, F. Visioli, P. Bogani, W. E. Müller, and G. P. Eckert, “Hydroxytyrosol-Rich Olive Mill Wastewater Extract Protects Brain Cells in Vitro and ex Vivo,” *J Agric Food Chem*, vol. 55, no. 13, pp. 5043–5049, Jun. 2007, doi: 10.1021/JF0703710.
- [149] F. Visioli, S. Grande, P. Bogani, and C. Galli, “The role of antioxidants in the Mediterranean diets: Focus on cancer,” *European Journal of Cancer Prevention*, vol. 13, no. 4, pp. 337–343, Aug. 2004, doi: 10.1097/01.CEJ.0000137513.71845.F6.
- [150] G. Serreli and M. Deiana, “Biological Relevance of Extra Virgin Olive Oil Polyphenols Metabolites,” *Antioxidants 2018, Vol. 7, Page 170*, vol. 7, no. 12, p. 170, Nov. 2018, doi: 10.3390/ANTIOX7120170.
- [151] G. Corona *et al.*, “The fate of olive oil polyphenols in the gastrointestinal tract: Implications of gastric and colonic microflora-dependent biotransformation,” *Free Radic Res*, vol. 40, no. 6, pp. 647–658, Jun. 2006, doi: 10.1080/10715760500373000.
- [152] T. Hu, X. W. He, J. G. Jiang, and X. L. Xu, “Hydroxytyrosol and its potential therapeutic effects,” *J Agric Food Chem*, vol. 62, no. 7, pp. 1449–1455, Feb. 2014, doi: 10.1021/JF405820V/ASSET/IMAGES/MEDIUM/JF-2013-05820V_0003.GIF.
- [153] D. Auñón-Calles, L. Canut, and F. Visioli, “Toxicological evaluation of pure hydroxytyrosol,” *Food and Chemical Toxicology*, vol. 55, pp. 498–504, May 2013, doi: 10.1016/J.FCT.2013.01.030.

- [154] D. Auñón-Calles, E. Giordano, S. Bohnenberger, and F. Visioli, “Hydroxytyrosol is not genotoxic in vitro,” *Pharmacol Res*, vol. 74, pp. 87–93, Aug. 2013, doi: 10.1016/J.PHRS.2013.06.002.
- [155] M. S. Christian *et al.*, “The Toxicity Profile of Hydrolyzed Aqueous Olive Pulp Extract,” *Drug Chem Toxicol*, vol. 27, no. 4, pp. 309–330, 2004, doi: 10.1081/DCT-200039714.
- [156] L. Martínez, G. Ros, and G. Nieto, “Hydroxytyrosol: Health Benefits and Use as Functional Ingredient in Meat,” *Medicines 2018, Vol. 5, Page 13*, vol. 5, no. 1, p. 13, Jan. 2018, doi: 10.3390/MEDICINES5010013.
- [157] K. Hamden *et al.*, “Inhibitory action of purified hydroxytyrosol from stored olive mill waste on intestinal disaccharidases and lipase activities and pancreatic toxicity in diabetic rats,” *Food Science and Biotechnology 2010 19:2*, vol. 19, no. 2, pp. 439–447, Apr. 2010, doi: 10.1007/S10068-010-0062-6.
- [158] F. Vlavcheski, M. Young, and E. Tsiani, “Antidiabetic Effects of Hydroxytyrosol: In Vitro and In Vivo Evidence,” *Antioxidants*, vol. 8, no. 6, Jun. 2019, doi: 10.3390/ANTIOX8060188.
- [159] F. Vlavcheski, M. Young, and E. Tsiani, “Antidiabetic Effects of Hydroxytyrosol: In Vitro and In Vivo Evidence,” *Antioxidants*, vol. 8, no. 6, Jun. 2019, doi: 10.3390/ANTIOX8060188.
- [160] B. Vanhaesebroeck, J. Guillermet-Guibert, M. Graupera, and B. Bilanges, “The emerging mechanisms of isoform-specific PI3K signalling,” *Nat Rev Mol Cell Biol*, vol. 11, no. 5, pp. 329–341, May 2010, doi: 10.1038/NRM2882.
- [161] S. D. Castillo, B. Vanhaesebroeck, and N. J. Sebire, “Phosphoinositide 3-kinase: a new kid on the block in vascular anomalies,” *J Pathol*, vol. 240, no. 4, pp. 387–396, Dec. 2016, doi: 10.1002/PATH.4802.
- [162] J. E. Burke and R. L. Williams, “Synergy in activating class I PI3Ks,” *Trends Biochem Sci*, vol. 40, no. 2, pp. 88–100, Feb. 2015, doi: 10.1016/J.TIBS.2014.12.003.

- [163] X. Huang, G. Liu, J. Guo, and Z. Q. Su, “The PI3K/AKT pathway in obesity and type 2 diabetes,” *Int J Biol Sci*, vol. 14, no. 11, p. 1483, Aug. 2018, doi: 10.7150/IJBS.27173.
- [164] T. F. Franke, D. R. Kaplan, L. C. Cantley, and A. Toker, “Direct regulation of the Akt proto-oncogene product by phosphatidylinositol-3,4-bisphosphate,” *Science*, vol. 275, no. 5300, pp. 665–668, Jan. 1997, doi: 10.1126/SCIENCE.275.5300.665.
- [165] J. Zhang, X. H. Yu, Y. G. Yan, C. Wang, and W. J. Wang, “PI3K/Akt signaling in osteosarcoma,” *Clin Chim Acta*, vol. 444, pp. 182–192, Apr. 2015, doi: 10.1016/J.CCA.2014.12.041.
- [166] P. T. Hawkins and L. R. Stephens, “Emerging evidence of signalling roles for PI(3,4)P₂ in Class I and II PI3K-regulated pathways,” *Biochem Soc Trans*, vol. 44, no. 1, pp. 307–314, Feb. 2016, doi: 10.1042/BST20150248.
- [167] D. A. Fruman, H. Chiu, B. D. Hopkins, S. Bagrodia, L. C. Cantley, and R. T. Abraham, “The PI3K pathway in human disease,” *Cell*, vol. 170, no. 4, p. 605, Aug. 2017, doi: 10.1016/J.CELL.2017.07.029.
- [168] “The PI3K pathway in human disease - PMC.” Accessed: Nov. 03, 2023. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5726441/>
- [169] L. Braccini *et al.*, “PI3K-C2 γ is a Rab5 effector selectively controlling endosomal Akt2 activation downstream of insulin signalling,” *Nat Commun*, vol. 6, Jun. 2015, doi: 10.1038/NCOMMS8400.
- [170] N. Jethwa *et al.*, “Endomembrane PtdIns(3,4,5)P₃ activates the PI3K-Akt pathway,” *J Cell Sci*, vol. 128, no. 18, pp. 3456–3465, 2015, doi: 10.1242/JCS.172775.
- [171] T. Gao, F. Furnari, and A. C. Newton, “PHLPP: a phosphatase that directly dephosphorylates Akt, promotes apoptosis, and suppresses tumor growth,” *Mol Cell*, vol. 18, no. 1, pp. 13–24, Apr. 2005, doi: 10.1016/J.MOLCEL.2005.03.008.

- [172] M. Andjelković, T. Jakubowicz, P. Cron, X. F. Ming, J. W. Han, and B. A. Hemmings, “Activation and phosphorylation of a pleckstrin homology domain containing protein kinase (RAC-PK/PKB) promoted by serum and protein phosphatase inhibitors,” *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 93, no. 12, pp. 5699–5704, Jun. 1996, doi: 10.1073/PNAS.93.12.5699.
- [173] B. D. Manning and A. Toker, “AKT/PKB Signaling: Navigating the Network,” *Cell*, vol. 169, no. 3, pp. 381–405, Apr. 2017, doi: 10.1016/J.CELL.2017.04.001.
- [174] P. Liu *et al.*, “PtdIns(3,4,5)P3-Dependent Activation of the mTORC2 Kinase Complex,” *Cancer Discov*, vol. 5, no. 11, pp. 1194–11209, Nov. 2015, doi: 10.1158/2159-8290.CD-15-0460.
- [175] D. D. Sarbassov, D. A. Guertin, S. M. Ali, and D. M. Sabatini, “Phosphorylation and regulation of Akt/PKB by the rictor-mTOR complex,” *Science*, vol. 307, no. 5712, pp. 1098–1101, Feb. 2005, doi: 10.1126/SCIENCE.1106148.
- [176] D. R. Alessi *et al.*, “Characterization of a 3-phosphoinositide-dependent protein kinase which phosphorylates and activates protein kinase Balph α ,” *Curr Biol*, vol. 7, no. 4, pp. 261–269, 1997, doi: 10.1016/S0960-9822(06)00122-9.
- [177] J. R. Krycer, L. J. Sharpe, W. Luu, and A. J. Brown, “The Akt-SREBP nexus: cell signaling meets lipid metabolism,” *Trends Endocrinol Metab*, vol. 21, no. 5, pp. 268–276, May 2010, doi: 10.1016/J.TEM.2010.01.001.
- [178] P. Abeyrathna and Y. Su, “The critical role of Akt in cardiovascular function,” *Vascul Pharmacol*, vol. 74, pp. 38–48, Nov. 2015, doi: 10.1016/J.VPH.2015.05.008.
- [179] K. Mahajan and N. P. Mahajan, “PI3K-independent AKT activation in cancers: a treasure trove for novel therapeutics,” *J Cell Physiol*, vol. 227, no. 9, pp. 3178–3184, Sep. 2012, doi: 10.1002/JCP.24065.
- [180] X. Huang, G. Liu, J. Guo, and Z. Q. Su, “The PI3K/AKT pathway in obesity and type 2 diabetes,” *Int J Biol Sci*, vol. 14, no. 11, p. 1483, Aug. 2018, doi: 10.7150/IJBS.27173.

- [181] H. W. Wang, M. Mizuta, Y. Saitoh, K. Noma, H. Ueno, and M. Nakazato, "Glucagon-like peptide-1 and candesartan additively improve glucolipotoxicity in pancreatic β -cells," *Metabolism*, vol. 60, no. 8, pp. 1081–1089, Aug. 2011, doi: 10.1016/J.METABOL.2010.11.004.
- [182] W. Wang *et al.*, "Inhibition of Foxo1 mediates protective effects of ghrelin against lipotoxicity in MIN6 pancreatic beta-cells," *Peptides (N.Y.)*, vol. 31, no. 2, pp. 307–314, Feb. 2010, doi: 10.1016/J.PEPTIDES.2009.11.011.
- [183] E. Bernal-Mizrachi *et al.*, "Defective insulin secretion and increased susceptibility to experimental diabetes are induced by reduced Akt activity in pancreatic islet beta cells," *J Clin Invest*, vol. 114, no. 7, pp. 928–936, Oct. 2004, doi: 10.1172/JCI20016.
- [184] E. Bernal-Mizrachi, W. Wen, S. Stahlhut, C. M. Welling, and M. A. Permutt, "Islet beta cell expression of constitutively active Akt1/PKB alpha induces striking hypertrophy, hyperplasia, and hyperinsulinemia," *J Clin Invest*, vol. 108, no. 11, pp. 1631–1638, Dec. 2001, doi: 10.1172/JCI13785.
- [185] S. Georgia and A. Bhushan, "Beta cell replication is the primary mechanism for maintaining postnatal beta cell mass," *J Clin Invest*, vol. 114, no. 7, pp. 963–968, 2004, doi: 10.1172/JCI22098.
- [186] Y. Dor, J. Brown, O. I. Martinez, and D. A. Melton, "Adult pancreatic beta-cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation," *Nature*, vol. 429, no. 6987, pp. 41–46, May 2004, doi: 10.1038/NATURE02520.
- [187] R. N. Kulkarni, J. C. Brüning, J. N. Winnay, C. Postic, M. A. Magnuson, and C. Ronald Kahn, "Tissue-specific knockout of the insulin receptor in pancreatic beta cells creates an insulin secretory defect similar to that in type 2 diabetes," *Cell*, vol. 96, no. 3, pp. 329–339, Feb. 1999, doi: 10.1016/S0092-8674(00)80546-2.
- [188] N. Kubota *et al.*, "Disruption of insulin receptor substrate 2 causes type 2 diabetes because of liver insulin resistance and lack of compensatory beta-cell hyperplasia," *Diabetes*, vol. 49, no. 11, pp. 1880–1889, 2000, doi: 10.2337/DIABETES.49.11.1880.

- [189] X. Huang, G. Liu, J. Guo, and Z. Q. Su, “The PI3K/AKT pathway in obesity and type 2 diabetes,” *Int J Biol Sci*, vol. 14, no. 11, p. 1483, Aug. 2018, doi: 10.7150/IJBS.27173.
- [190] M. Mueckler and B. Thorens, “The SLC2 (GLUT) family of membrane transporters,” *Mol Aspects Med*, vol. 34, no. 2–3, pp. 121–138, Apr. 2013, doi: 10.1016/J.MAM.2012.07.001.
- [191] T. Kayano *et al.*, “Evidence for a family of human glucose transporter-like proteins. Sequence and gene localization of a protein expressed in fetal skeletal muscle and other tissues.,” *Journal of Biological Chemistry*, vol. 263, no. 30, pp. 15245–15248, Oct. 1988, doi: 10.1016/S0021-9258(19)37577-5.
- [192] B. Thorens, Z.-Q. Cheng, D. Brown, and H. F. Lodish, “Liver glucose transporter: a basolateral protein in hepatocytes and intestine and kidney cells,” <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1990.259.6.1-a>, vol. 259, no. 6, pp. 1–1, Dec. 1990, doi: 10.1152/AJPCELL.1990.259.6.1-A.
- [193] B. Thorens, “GLUT2, glucose sensing and glucose homeostasis,” *Diabetologia* 2014 58:2, vol. 58, no. 2, pp. 221–232, Nov. 2014, doi: 10.1007/S00125-014-3451-1.
- [194] M. Uldry, M. Ibberson, M. Hosokawa, and B. Thorens, “GLUT2 is a high affinity glucosamine transporter,” *FEBS Lett*, vol. 524, no. 1–3, pp. 199–203, Jul. 2002, doi: 10.1016/S0014-5793(02)03058-2.
- [195] A. De Vos *et al.*, “Human and rat beta cells differ in glucose transporter but not in glucokinase gene expression,” *Journal of Clinical Investigation*, vol. 96, no. 5, pp. 2489–2495, Nov. 1995, doi: 10.1172/JCI118308.
- [196] B. Thorens, H. K. Sarkar, H. R. Kaback, and H. F. Lodish, “Cloning and functional expression in bacteria of a novel glucose transporter present in liver, intestine, kidney, and β -pancreatic islet cells,” *Cell*, vol. 55, no. 2, pp. 281–290, Oct. 1988, doi: 10.1016/0092-8674(88)90051-7.

- [197] S. Gremlich, C. Bonny, G. Waeber, and B. Thorens, “Fatty Acids Decrease IDX-1 Expression in Rat Pancreatic Islets and Reduce GLUT2, Glucokinase, Insulin, and Somatostatin Levels,” *Journal of Biological Chemistry*, vol. 272, no. 48, pp. 30261–30269, Nov. 1997, doi: 10.1074/JBC.272.48.30261.
- [198] M. K. Reimer and B. Ahrén, “Altered β -cell distribution of pdx-1 and GLUT-2 after a short-term challenge with a high-fat diet in C57BL/6J mice,” *Diabetes*, vol. 51, no. SUPPL, pp. S138–S143, Jan. 2002, doi: 10.2337/diabetes.51.2007.s138.
- [199] K. Ohtsubo, M. Z. Chen, J. M. Olefsky, and J. D. Marth, “Pathway to diabetes through attenuation of pancreatic beta cell glycosylation and glucose transport,” *Nature Medicine* 2011 17:9, vol. 17, no. 9, pp. 1067–1075, Aug. 2011, doi: 10.1038/nm.2414.
- [200] B. Thorens, “GLUT2, glucose sensing and glucose homeostasis,” *Diabetologia* 2014 58:2, vol. 58, no. 2, pp. 221–232, Nov. 2014, doi: 10.1007/S00125-014-3451-1.
- [201] J. Harreiter and M. Roden, “Diabetes mellitus – Definition, Klassifikation, Diagnose, Screening und Prävention (Update 2023),” *Wien Klin Wochenschr*, vol. 135, no. Suppl 1, p. 7, Jan. 2023, doi: 10.1007/S00508-022-02122-Y.
- [202] M. N. Vissers, P. L. Zock, A. J. C. Roodenburg, R. Leenen, and M. B. Katan, “Olive oil phenols are absorbed in humans,” *J Nutr*, vol. 132, no. 3, pp. 409–417, 2002, doi: 10.1093/JN/132.3.409.
- [203] G. Montedoro, M. Servili, M. Baldioli, and E. Miniati, “Simple and Hydrolyzable Phenolic Compounds in Virgin Olive Oil. 1. Their Extraction, Separation, and Quantitative and Semiquantitative Evaluation by HPLC,” *J Agric Food Chem*, vol. 40, no. 9, pp. 1571–1576, Sep. 1992, doi: 10.1021/JF00021A019/ASSET/JF00021A019.FP.PNG_V03.
- [204] T. A. Wani *et al.*, “Olive oil and its principal bioactive compound: Hydroxytyrosol – A review of the recent literature,” *Trends Food Sci Technol*, vol. 77, pp. 77–90, Jul. 2018, doi: 10.1016/J.TIFS.2018.05.001.

- [205] A. Umeno, M. Horie, K. Murotomi, Y. Nakajima, and Y. Yoshida, “Antioxidative and Antidiabetic Effects of Natural Polyphenols and Isoflavones,” *Molecules*, vol. 21, no. 6, Jun. 2016, doi: 10.3390/MOLECULES21060708.
- [206] S. Granados-Principal, J. L. Quiles, C. L. Ramirez-Tortosa, P. Sanchez-Rovira, and M. C. Ramirez-Tortosa, “Hydroxytyrosol: from laboratory investigations to future clinical trials,” *Nutr Rev*, vol. 68, no. 4, pp. 191–206, Apr. 2010, doi: 10.1111/J.1753-4887.2010.00278.X.
- [207] A. Alkhatib, C. Tsang, and J. Tuomilehto, “Olive Oil Nutraceuticals in the Prevention and Management of Diabetes: From Molecules to Lifestyle,” *Int J Mol Sci*, vol. 19, no. 7, Jul. 2018, doi: 10.3390/IJMS19072024.
- [208] J. Peyrol, C. Riva, and M. J. Amiot, “Hydroxytyrosol in the Prevention of the Metabolic Syndrome and Related Disorders,” *Nutrients*, vol. 9, no. 3, Mar. 2017, doi: 10.3390/NU9030306.
- [209] P. Abeyrathna and Y. Su, “The critical role of Akt in cardiovascular function,” *Vascul Pharmacol*, vol. 74, pp. 38–48, Nov. 2015, doi: 10.1016/J.VPH.2015.05.008.
- [210] X. Huang, G. Liu, J. Guo, and Z. Q. Su, “The PI3K/AKT pathway in obesity and type 2 diabetes,” *Int J Biol Sci*, vol. 14, no. 11, p. 1483, Aug. 2018, doi: 10.7150/IJBS.27173.
- [211] J. Zhang and F. Liu, “Tissue-specific insulin signaling in the regulation of metabolism and aging,” *IUBMB Life*, vol. 66, no. 7, pp. 485–495, 2014, doi: 10.1002/IUB.1293.
- [212] W. T. Garvey, “Glucose Transport and NIDDM,” *Diabetes Care*, vol. 15, no. 3, pp. 396–417, Mar. 1992, doi: 10.2337/DIACARE.15.3.396.
- [213] G. I. Bell *et al.*, “Molecular biology of mammalian glucose transporters,” *Diabetes Care*, vol. 13, no. 3, pp. 198–208, 1990, doi: 10.2337/DIACARE.13.3.198.

- [214] B. Thorens, H. K. Sarkar, H. R. Kaback, and H. F. Lodish, "Cloning and functional expression in bacteria of a novel glucose transporter present in liver, intestine, kidney, and β -pancreatic islet cells," *Cell*, vol. 55, no. 2, pp. 281–290, Oct. 1988, doi: 10.1016/0092-8674(88)90051-7.
- [215] A. L. Ogilvy-Stuart and K. Beardsall, "Pathophysiology and Management of Disorders of Carbohydrate Metabolism and Neonatal Diabetes," *Maternal-Fetal and Neonatal Endocrinology: Physiology, Pathophysiology, and Clinical Management*, pp. 783–803, Jan. 2020, doi: 10.1016/B978-0-12-814823-5.00046-5.
- [216] K. Hamden, N. Allouche, M. Damak, and A. Elfeki, "Hypoglycemic and antioxidant effects of phenolic extracts and purified hydroxytyrosol from olive mill waste in vitro and in rats," *Chem Biol Interact*, vol. 180, no. 3, pp. 421–432, Aug. 2009, doi: 10.1016/J.CBI.2009.04.002.
- [217] H. Jemai, A. E. L. Feki, and S. Sayadi, "Antidiabetic and Antioxidant Effects of Hydroxytyrosol and Oleuropein from Olive Leaves in Alloxan-Diabetic Rats," *J Agric Food Chem*, vol. 57, no. 19, pp. 8798–8804, 2009, doi: 10.1021/JF901280R.
- [218] G. Ristagno *et al.*, "Hydroxytyrosol attenuates peripheral neuropathy in streptozotocin-induced diabetes in rats," *J Agric Food Chem*, vol. 60, no. 23, pp. 5859–5865, Jun. 2012, doi: 10.1021/JF2049323/ASSET/IMAGES/MEDIUM/JF-2011-049323_0006.GIF.
- [219] J. A. López-Villodres *et al.*, "Effects of hydroxytyrosol on cardiovascular biomarkers in experimental diabetes mellitus," *J Nutr Biochem*, vol. 37, pp. 94–100, Nov. 2016, doi: 10.1016/J.JNUTBIO.2016.07.015.
- [220] J. J. Reyes *et al.*, "Neuroprotective Effect of Hydroxytyrosol in Experimental Diabetes Mellitus," *J Agric Food Chem*, vol. 65, no. 22, pp. 4378–4383, Jun. 2017, doi: 10.1021/ACS.JAFC.6B02945/ASSET/IMAGES/MEDIUM/JF-2016-02945R_0003.GIF.

- [221] J. A. González-Correa *et al.*, “Neuroprotective Effect of Hydroxytyrosol in Experimental Diabetic Retinopathy: Relationship with Cardiovascular Biomarkers,” *J Agric Food Chem*, vol. 66, no. 3, pp. 637–644, Jan. 2018, doi: 10.1021/ACS.JAFC.7B05063/ASSET/IMAGES/MEDIUM/JF-2017-05063V_0005.GIF.
- [222] W. Wang *et al.*, “Hydroxytyrosol NO regulates oxidative stress and NO production through SIRT1 in diabetic mice and vascular endothelial cells,” *Phytomedicine*, vol. 52, pp. 206–215, Jan. 2019, doi: 10.1016/J.PHYMED.2018.09.208.
- [223] S. Ibrahim, ... N. A.-D.-J. of M. and, and undefined 2023, “Comparative analysis of antioxidant status in diabetic patients with and without insulin resistance,” *ncbi.nlm.nih.govSL Ibrahim, NKJ Al-Dawah, MA Al-BarqaawiJournal of Medicine and Life, 2023•ncbi.nlm.nih.gov*, Accessed: Dec. 19, 2023. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10719787/>
- [224] N. Wang, Y. Liu, Y. Ma, and D. Wen, “Hydroxytyrosol ameliorates insulin resistance by modulating endoplasmic reticulum stress and prevents hepatic steatosis in diet-induced obesity mice,” *J Nutr Biochem*, vol. 57, pp. 180–188, Jul. 2018, doi: 10.1016/J.JNUTBIO.2018.03.018.
- [225] N. Marrano *et al.*, “Effects of Extra Virgin Olive Oil Polyphenols on Beta-Cell Function and Survival,” *Plants 2021, Vol. 10, Page 286*, vol. 10, no. 2, p. 286, Feb. 2021, doi: 10.3390/PLANTS10020286.

8. EKLER

Ek 1. İntihal Raporu

