

T. C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULAN SIÇANLARDA
***Ferulago angulata (Schlecht) Boiss* UYGULAMASININ**
PARAOKSONAZ ENZİM AKTİVİTESİ ANTİOKSİDAN/OKSİDAN
DURUMU VE LİPOPROTEİN DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Shabnam ABBASZADE
TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
BİYOKİMYA BİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Tahir KAHRAMAN

İKİNCİ DANIŞMAN
Prof. Dr. Semiha DEDE

VAN-2017

T. C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULAN SIÇANLARDA
***Ferulago angulata (Schlecht) Boiss* UYGULAMASININ**
PARAOKSONAZ ENZİM AKTİVİTESİ ANTİOKSİDAN/OKSİDAN
DURUMU VE LİPOPROTEİN DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Shabnam ABBASZADE
TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
BİYOKİMYA BİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Tahir KAHRAMAN

İKİNCİ DANIŞMAN
Prof. Dr. Semiha DEDE


Bu araştırma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından TYL-2016-5248 nolu proje olarak desteklenmiştir.


VAN-2017

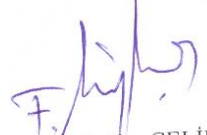
T. C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULAN SIÇANLARDA
Ferulago angulata (Schlecht) Boiss UYGULAMASININ
PARAOKSONAZ ENZİM AKTİVİTESİ ANTİOKSİDAN/OKSİDAN
DURUMU VE LİPOPROTEİN DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Shabnam ABBASZADE
TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
BİYOKİMYA BİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ


Prof. Dr. Yeter DEĞER
Jüri Başkanı


Doç. Dr. Tahir KAHRAMAN
Jüri Üyesi (Danışman)


Doç. Dr. Fatih Çağlar ÇELİKEZEN
Jüri Üyesi

TEZ KABUL TARİHİ
25/09/2017

III

TEŞEKKÜR

Tez çalıŐmalarımnda, çalıŐma sűrecinde her zaman tecrűbelerinden faydalandıĐım, benden hiçbir zaman desteĐini esirgemeyen deĐerli danıŐmanım Doç. Dr. Tahir KAHRAMAN'a, ikinci tez danıŐmanım Prof. Dr. Semiha DEDE'ye, çalıŐmamın çeŐitli aŐamalarında yardımlarda bulunan Yrd. Doç. Dr. Oruc ALLAHVERDİYEV'e, ŐĐr. Gűr. Dr. Mehmet BERKŐZ'e ve ArŐ. Gűr. Metin YILDIRIM'a, bitkilerin taksonomik çalıŐmalarında yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Abdullah DALAR'a ve doktor ŐĐrencisi Muzaffer MŐKKER'ye en içten teŐekkűrlerimi ve Őűkranlarımı sunarım.



İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
SİMGELER VE KISALTMALAR	VII
TABLolar LİSTESİ	VIII
ŞEKİLLER LİSTESİ	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Diyabet	3
2.1.1. Diyabetin tanı kriterleri	4
2.1.2. Diyabet tipleri	7
2.1.3. Diyabetin komplikasyonları	9
2.1.4. Diyabet ve oksidatif stres	11
2.1.5. Diyabet ve lipoproteinler	13
2.2. Paraoksonaz (PON) enzimi	17
2.2.1. Paraoksonaz (PON) enziminin substratları	19
2.2.2. Paraoksonaz (PON) enziminin biyokimyasal fonksiyonları	20
2.2.3. Paraoksonaz (PON) enzimi ve diyabet	24
2.2.4. Total Antioksidan Kapasite (TAS)	24
2.2.5. Total Oksidan Kapasite (TOS)	25
2.3. Apiacea familyası	26
2.3.1. <i>Ferulago angulata</i> (Schlecht) bitkisinin biyokimyasal etkileri	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM	28
3.1. Gereç	28
3.1.1. Deney hayvanları	28
3.1.2. Laboratuvar araç gereçleri ve kimyasal maddeler	28
3.2. Yöntem	29
3.2.1. <i>Ferulago angulata</i> (Schlecht.) Boiss bitkisinin ekstraktı eldesi, diyabet	

oluşturulması ve bitki ekstresinin deneme hayvanlarına uygulanması	29
3.2.2. Deneme gruplarının oluşturulması	30
3.2.3. Kan ve doku örneklerinin alınması	31
3.2.4. Böbrek dokusu homojenizasyon ve ekstraksiyonu	31
3.2.5. Biyokimyasal analizler.....	31
3.2.6. İstatistik analiz.....	35
4. BULGULAR	36
5. TARTIşMA VE SONUÇ	44
ÖZET	51
SUMMARY	52
KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİş.....	66
EKLER	67
EK 1. Etik Kurul Araştırma Onay Belgesi	67
EK 2. Etik Kurul Araştırma Kesin Sonuç Onay Belgesi	68

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADA	: Amerikan Diyabet Derneđi
DM	: Diyabetes mellitus
HbA1c	: Glikozile hemoglobin
HDL	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein
IDDM	: İnsüline bağımlı diyabet
LCAT	: Lesitin kolesterol asiltransferaz
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
MHC	: İnsanda uyumluluk kompleksi
MM-LDL	: Minimal modifiye LDL
OGTT	: Oral glukoz tolerans testi
8-OHdG	: 8-hidroksi deoksiguanazin
PON	: Paraoksonaz
PHLA	: Postheparin plazma lp aktivitesi
ROS	: Reaktif oksijen türleri
TAS	: Toplam antioksidan seviye
TOS	: Toplam oksidan seviye
T ₁ DM	: Tip 1 diyabetes mellitus
T ₂ DM	: Tip 2 diyabetes mellitus
TBARS	: Tiyobarbitürat reaktif maddeler
TG	: Trigliserit
VLDL	: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1. DM tanı kriterleri	4
Tablo 2. OGTT endikasyonları	5
Tablo 3. Sağlıklı bir bireyde kan şeker değerleri	6
Tablo 4. Deneme gruplarının serum glukoz, tam kan HbA1c, serum toplam kolesterol, trigliserid ve lipoprotein düzeyleri	36
Tablo 5. Deneme gruplarının, böbrek dokusu PON enzim aktivitesi ile toplam antioksidan/oksidan düzeyleri	38

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. T2 DM patofizyolojisinde yer alan hiperglisemi ve serbest yağ asitlerinin artışı	8
Şekil 2. Diyabetin makrovasküler komplikasyonları	11
Şekil 3. Serbest radikal oluşumu.....	12
Şekil 4. Paraoksonaz enziminin yapısı	18
Şekil 5. Paraoksonazın paraoksonu hidrolizi	19
Şekil 6. Paraoksonazın fenil asetatı hidrolizi	20
Şekil 7. Hücre membranında bulunan PON1'in HDL'ye transferi.....	23
Şekil 8. Apiacea familyası	26
Şekil 9. Deneme gruplarındaki ortalama serum glukoz düzeyleri	39
Şekil 10. Deneme gruplarındaki ortalama tam kan HbA1c düzeyleri	39
Şekil 11. Deneme gruplarındaki ortalama serum kolesterol düzeyleri	40
Şekil 12. Deneme gruplarındaki ortalama serum trigliserit düzeyleri	40
Şekil 13. Deneme gruplarındaki ortalama serum HDL-kolesterol düzeyleri	41
Şekil 14. Deneme gruplarındaki ortalama serum LDL-kolesterol düzeyleri	41
Şekil 15. Deneme gruplarındaki ortalama serum VLDL-kolesterol düzeyleri	42
Şekil 16. Deneme gruplarındaki ortalama böbrek dokusu TAS düzeyleri	42
Şekil 17. Deneme gruplarındaki ortalama böbrek dokusu TOS düzeyleri	43
Şekil 18. Deneme gruplarındaki ortalama böbrek dokusu PON aktiviteleri	43

1. GİRİŞ

Diyabetes mellitus (DM), toplumda en sık görülen kronik endokrin hastalıklardan biridir. Son yapılan çalışmalarda, Türkiye’de toplumun % 13,7’sinin diyabet hastası olduğu tespit edilmiştir (Anonim, 2011-2014). Diyabet hastalığının gelişiminde çevresel ve genetik faktörler başlıca rol oynar. DM, pankreasın beta hücreleri tarafından insülinin yetersiz üretiminden kaynaklanan insülin eksikliğine veya insülinin etkisiz kalması sonucu oluşan; birlikte karbonhidrat, protein ve yağ metabolizması düzensizliğinin eşlik ettiği hiperglisemi ile seyreden kronik metabolik bir hastalıktır. Klinik olarak poliüri, polidipsi, pruritis, polifaji, kilo kaybı gibi klasik semptomlar ve hastalığa özgü nöropati, retinopati gibi komplikasyonlar ile bilinir (Kirk ve ark., 2014).

İnsan paraoksonaz (PON) enzimi ile serum lipidlerinden özellikle trigliserit ve yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) düzeyleri arasındaki bağlantı olduğunu gösteren birçok araştırma vardır (Juretić ve ark., 2006; Maritim ve ark., 2003; Nevin ve ark., 1996). PON aktivitesinin diyabetik hastalarda azaldığı bilinmektedir (Abbott ve ark., 1995; Ferretti ve ark., 2004). Oral antidiyabetik ajanların bazı önemli yan etkileri olduğundan dolayı yeni antidiyabetik ajanların araştırılmasına ihtiyaç vardır (Cheng ve Fantus, 2005; Seghrouchni, 2002). PON enziminin, karaciğer, böbrek, ince barsak, genetik ve çevresel faktörlerden etkilendiği belirtilmiştir (Kurban ve ark., 2010). Paraoksonaz enzimi, ayrıca aktivite polimorfizmi göstermeyen, arilesteraz aktivitesine de sahiptir (Gülcü ve Gürsü, 2003).

Serbest radikallerin meydana getirdiği hasarı engellemeye çalışan antioksidanların bir kısmı enzim, bir kısmı ise enzim olmayan moleküllerden oluşmaktadır. Vücudun antioksidan/oksidan durumu antioksidan enzimlerin aktivitesi ve antioksidan/oksidan moleküllerin konsantrasyonu ayrı ayrı ölçülerek değerlendirilebilmekle birlikte, genel antioksidan/oksidan durumu toplam antioksidan durum (TAS) ve toplam oksidan durumun TOS) ölçümü ile tespit edilmektedir (Erel, 2005).

Günümüzde tıbbi bitkilerin geleneksel tıpta en yaygın olarak kullanılan ajanlar olduğu bilinmektedir. Yapılan geniş kapsamlı araştırmalara göre gelişmekte olan

ülkelerde insanların yaklaşık % 80'i bu tedavi yöntemlerini kullanmaktadır (Ekor, 2014). Bitkisel ilaçlar daha ekonomik ve daha az toksik olması sebebiyle modern ilaçlara alternatif olarak kullanılmaktadırlar (Ekor, 2014).

Ferulago angulata, Apiaceae ailesinin önemli bir türüdür. Geleneksel tıpta sakinleştirici, kuvvet verici, sindirim ve bağırsak kurdu tedavisinde; ayrıca kökleri Türkiye'de afrodisyak olarak kullanılmaktadır. Farklı çalışmalarda bu bitkinin antimikrobiyal (Taran ve ark., 2010), antioksidan, antibakteriyal, serum lipoprotein ve lipid peroksidasyonuna (Rafieian-Kopaei ve ark., 2014; Teixeira ve ark., 2013) bakılmıştır. Ayrıca, bir çalışmada hipoglisemik etkisinde tespit edilmiştir (Musavi ve ark., 2015).

Araştırmamız da, deneysel diyabet oluşturulan ve *Ferulago angulata L.* ekstraktı verilen sıçanların böbrek dokusunda; paraoksonaz aktivitesi, toplam antioksidan seviye (TAS), toplam oksidan seviye (TOS), serumda; glukoz, lipoprotein (HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, VLDL-kolesterol) toplam kolesterol, trigliserit ile tam kanda HgA1c düzeyleri araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diyabet

Küresel halk sorunu haline gelmiş DM prevalansı dünyada her geçen yıl artmaktadır (Can, 2000). Diyabet; pankreasın insülin salgısının eksikliği veya yokluğu sebebiyle yağ, protein ve karbonhidrat metabolizmaları ile vasküler yapıda bozukluklara neden olan endokrin bir hastalıktır (Çetinalp ve Yılmaz, 2002). Sosyal ve toplumsal bir hastalık gibi nitelendirilen diyabet yaşam boyu devam eden, oluşan akut veya kronik komplikasyonları ile bireyin yaşam standartını olumsuz etkileyen; mali değeri fazla olan bir hastalıktır (Çetinalp ve Kabalak, 2003; Yılmaz, 2002).

Hormonal bozukluk olarak tanımlanan diyabet, konjenital veya bağışıklık sisteminde oluşan patofizyolojik değişikliklere bağlı olarak meydana gelmektedir (Büyükdevrim, 1989; Garber, 1987). Diyabet, insülinin fonksiyonel eksikliği sonucu ortaya çıkan komplikasyonlar sebebiyle organ ve fonksiyon kayıplarına neden olarak yaşam çizelgesini ve kalitesini etkileyen iş gücü kayıplarıyla sosyo-ekonomik yükü ağır olan, uzun süreli metabolik ve endokrin bir hastalıktır (Akalin ve ark., 2000). Günümüzde diyabet, sağlık otoriteleri tarafından çok önemli derecede tehlikeli hastalık olarak bilinmektedir ve prevalansı zamanla artmaktadır (Bağrıaçık ve ark., 2003).

Yapılan birçok çalışmalarda lipid peroksidasyonunun ve serbest oksijen radikallerinin önemli derecede arttığının, diyabet etyolojisi ve gelişiminde oksidatif stresin rolü olduğu kabul edilmektedir (Niemann ve ark., 2017). Serbest radikaller, hücrelerin protein, karbonhidrat, lipid, ve DNA gibi tüm hayati bileşenlerini etkilemektedir (Pitkanen ve ark., 1992). Reaktif özelliğe sahip serbest radikaller, vücutta oldukça önemli miktarda üretilen dış yörüngelerinde bir veya birden fazla paylaşılmamış elektron taşıyan moleküllerdir (Yadav ve ark., 2015). Doymamış yağ asitlerinden bir hidrojen koparılması ile başlayan reaksiyon sonucu geride karbon atomunun üzerinde paylaşılmamış elektronda olur ve oluşan bu elektron konjuge dienleri meydana getirir, bu bileşiklerde oksijenle birleşerek peroksil radikallerini oluşturur. Son olarak endoperoksitler ve siklik peroksitlerin oluşması, peroksidasyon başladıktan sonra meydana gelir (Stringer ve ark., 1989). Yaşam süresi kısa olan, ancak düzensiz yapı sebebiyle çok reaktif olan serbest radikaller, faydalı biyomoleküllerin

fonksiyonlarının kayıp olmasına sebep olarak bütün hücre bileşenleri ile etkileşebilmektedir. Vücutta meydana gelen antioksidan savunma sistemleri serbest radikallerin oluşturduğu zararlı etkileri engellemektedir. Ancak bu sistemler, oksidatif stres kaynaklı veya etkili bazı hastalıklarda vücudun korunma görevini tamamen sağlayamadıkları için dışarıdan ilave antioksidan gerekebilmektedir (Lindblom ve ark., 2015).

2.1.1. Diyabetin tanı kriterleri

Amerikan Diyabet Birliği (ADA) tarafından uygulanan diyabet tanı kriterleri dünya çapında yaygın olarak tercih edilmekte, diyabet tanı kriteri değerleri Tablo 1’de verilmektedir.

Tablo 1. DM tanı kriterleri (ADA, 2005; ADA, 2008).

1	Hemoglobin A1c (HbA1c) düzeyinin erişkinlerde % 6.5'nin üzerinde olması
2	Açlık plazma glukozu (APG) \geq 126 mg/dL (7.0 mmol/L)
3	Semptomlar + rastgele plazma glukozu \geq 200 mg/dL (11.1 mmol/L). Diyabete özgü semptomlar poliüri, polidipsi ve açıklanamayan kilo kaybıdır.
4	Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT) 2.saat değeri; \geq 200 mg/dL (11.1 mmol/L). 75 g glukoz ile yapılan OGTT sırasında 2.saat glukoz değerinin \geq 200 mg/dL (11.1 mmol/L) olması koşulları aranmaktadır.

Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT): OGTT testi, 3 günlük normal diyet ve normal fiziksel aktiviteden sonra sabah saatlerinde yapılmaktadır. Test için kişinin gece (10-16 saat) aç kalması şarttır. Bir sonraki aşamada ise kişinin açlık kan şekeri (plazma glukoz düzeyi) örneği alınmaktadır. Uygulanan bu işlemden 5 dakika sonra kişiye, 250-300 mL suda eritilen 75 g glukoz ile hazırlanan çözelti içirilmektedir. Yapılan bu yükleme işlevinden iki saat sonrasında kişiden kan örnekleri (plazma glukoz düzeyi) alınmaktadır ve alınan bu kan örneklerinde, glukoz düzeyinin 200 mg/dL'den yüksek çıkması diyabet (DM) tanısının konması için yeterli oran olabilmektedir (ADA, 2006; ADA, 2009; Altuntaş, 2001; İmamoğlu, 2005).

DM için birçok sınıflandırma yapılmasına rağmen 1999 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) glisemi bozuklukları etiyojilerine göre diyabet sınıflandırılmasındaki farklılıkları önlemek amacıyla geçerli bir sınıflamayı kabul etmiştir. Bu klinik endikasyon sınıflama Tablo 2'de açıklanmıştır (İmamoğlu, 2005).

Tablo 2. OGTT endikasyonları (Xu ve ark., 2017).

1	Gestasyonel diyabet ve glikoz intoleransının araştırılması amacıyla
2	Obezite ve ailede diyabet öyküsü bulunan kişiler
3	Ailesinde gençlerin erişkin tipi diyabeti (MODY) tipi diyabetik olan kişiler
4	İri bebek doğuran kadınlar
5	Açıklanamayan nöropati, retinopati, erken ateroskleroz, koroner damar hastalığı ve periferik damar hastalığı olanlar
6	Operasyon, stres, travma, infarktüs, diyabetojenik ilaç kullanımı veya gebelik esnasında hiperglisemi ya da glukozüri saptanan vakalarda, bu olaylar geçtikten sonraki süreçte
7	Metabolik sendrom düşünülen vakalar
8	Reaktif hipoglisemiye uyan yakınmaları olan kişiler

Hemoglobin A1c (HbA1c) : Günümüzde tüm dünyadaki sağlık problemleri arasında diyabetes en önemlilerinden biridir. Diyabetik hastalarda morbidite ve mortaliteye neden olan mikro ve makrovasküler komplikasyonların gelişmesini ve ilerlemesini engellemek için glisemik kontrole ihtiyaç vardır (Krishnamurti ve Steeffes, 2001). Kan glukoz düzeyi ve glikozillenmiş proteinlerin ölçülmesi ile sağlanan glisemik kontrol, diyabetik olmayan kişilerde gün içinde 2 kat düşüp yükselme gösterirken, kontrolsüz diyabetlilerde ise 10 kata kadar değişim gösterir ve ölçüldüğü andaki glisemi düzeyini yansıtır ortalama glukoz düzeyi hakkında sonuç vermez (Saudek ve ark, 2005). Glikozillenmiş hemoglobin ve fruktozamin açlık-tokluk, gün-içi değişim, egzersiz yada kan glukozundaki geçici değişikliklerden etkilenmeden geriye dönük olarak kan glukoz düzeyi hakkında fikir veren değerlerdir (Thomas, 1998). İlk olarak 1960'lı yıllarda New York kan bankasında uzman olarak çalışan İranlı S. Rahbar tarafından diyabetik kişilerde anormal hemoglobinin varlığı tanımlanmıştır.

Hemoglobin A1c (HbA1c) aslında anormal bir hemoglobin değil, diyabetik hasta kanları hemoglobin elektroforezi ile ölçüldüğü zaman hemoglobin A₁ fraksiyonu daha yüksek oranda bulunur (Krishnamurti ve Steeffes, 2001).

Tablo 3. Sağlıklı bir bireyde kan şekeri değerleri (Chang ve ark., 2017).

HbA1c Değer %	Kan Şeker Düzeyi (mg/dL)	Kan Şeker Düzeyi (mmol/L)
5	97 (76-120)	5.4 (4.2-6.7)
6	126 (100-152)	7.0 (5.5-8.5)
7	154 (123-185)	8.6 (6.8-10.3)
8	183 (147-217)	10.2 (8.1-12.1)
9	212 (170-249)	11.8 (9.4-13.9)
10	240 (193-282)	13.4 (10.7-15.7)
11	269 (217-314)	14.9 (12.0-17.5)
12	298 (240-347)	16.5 (13.3-19.3)

HbA1c oluşma hızı eritrositler glukoza serbest geçiren olduğu için eritrositlerin dolaşımında var olduğu sürece dolaşımında olan glukoz konsantrasyonuna ve maruz kalma süresine bağlıdır (Krishnamurti ve Steeffes, 2001). HbA1c'nin 2-3 ay süresince maruz kalınan ortalama glukoz seviyesini gösterme nedeni eritrositlerin yaşam süresinin yaklaşık 2-3 ay olmasıdır (Saudek ve ark., 2005). Yalnız HbA1c'nin son haftalardaki glukoz düzeyleri ile daha yakın ilişkisi bilinmelidir. HbA1c'nin % 50'sini son 1 aydaki glukoz düzeyi oluştururken % 25'ini 60-120. günler, diğer % 25'ini 30-60. günler oluşturur (Zhou ve ark., 2015). HbA1c ilk 2 ayda kan glukozunda hızlı bir değişim olduğu için hızla değişir ancak 3. ayda ise daha kademeli bir değişim gösterir (Tietz, 1999).

2.1.2. Diyabet tipleri

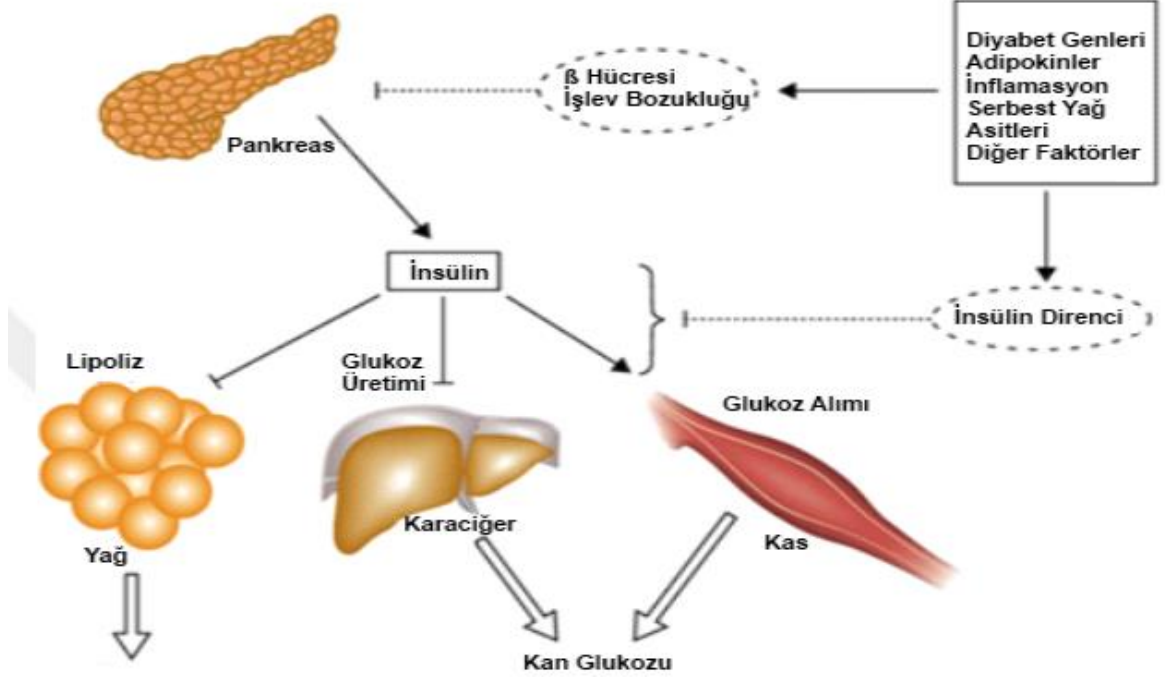
Tip I İnsüline bağımlı diyabet-1DDM: Yetersiz endojen insülin sekresyonu veya insülin yokluğu zamanı tip I diyabet oluşur (Büyükdevrim, 1989; Feldman, 1983; Garber, 1987). Bu diyabet formunda, insüline bağımlılık ortaya çıkar ve pankreasta ilerleyen beta hücre yıkımına neden olan bir sıra olay neticesinde meydana gelir. Genellikle bu hastalık çocukluk çağı ve genç erişkin yaşlarda otoimmün kaynaklı olarak gelişmektedir. Tip I diyabetli bireyler tüm diyabetiklerin yaklaşık % 5-10'unu oluşturur. Hastalığın başlama zamanı 30 yaşından öncedir. Diyabet belirtileri kilo kaybı, polidipsi, poliüri gibi diyabet bulgularını şiddetlidir. Ketoasidoz koması gibi hipoglisemi de, ketoasidoz akut komplikasyonların çok sık rastlanan diyabet tipidir (Durna, 2002).

Tip I diyabet olan annenin çocuğunda diyabet oluşma riski çok yüksektir. Yaklaşık olarak 25 yılda % 1-2 civarında artma olmuş, babanın diyabet olması ise bu riski üç kat artırır. Her iki ebeveynde hastalığın var olması riski artırır ve bu nadir karşılaşılan çiftlere genetik danışmanlık hizmeti verilmesi uygundur (Sacks ve ark., 2002).

Genel popülasyona göre diyabetli bireylerin kardeşlerinde tip I diyabet yaklaşık 15 kat daha fazla görülür (Risch, 1987). Birbirinden farklı çalışmalarda diyabetli babası olanlarda annenin diyabet olmasına nazaran diyabet riskinin daha yüksek olduğu farklı çalışmalarda görülmüştür (Gedik ve ark., 2008).

Tip 2 diyabet, T2 DM (NIDDM): Diyabetli hastaların yaklaşık % 90 oranında büyük bir kısmını tip II diyabet grubu oluşturmaktadır. Hastalığın prevalansı açısından bu diyabet formu etnik gruplar arasında büyük değişiklikler görülmektedir. Türkiye genelinde yapılan araştırmalarda farklı değerlere rastlanmanın birlikte sıra prevalansın % 1.8-2 oranında olduğu bilinmektedir. Tip II diyabetli hastaların genellikle orta yaşta ve büyük bir kısmı obez bir anatomik yapıya sahiptir (Ahmad ve ark., 2017). Bu hastalık probleminin önemli kısmı ise daha genç yaşlarda görülmesinin artışı hatta çocukluk çağında başlamasıdır (Dinççağ, 2004). Bu diyabet grubu insülin direnci ve/veya insülin salgılanma bozukluğu ile karakterize olunur. DM hastalığının bu grubu, karbonhidrat intoleransı ve açlık hiperglisemisi gibi glukoz metabolizması ile bağlantılı

bir bozukluk olarak da nitelendirilmektedir (Büyükdevrim, 1989; Garber, 1987; Kirk ve Bistner, 1985).



Şekil 1. Tip2 DM patofizyolojisinde yer alan hiperglisemi ve serbest yağ asitlerinin artışı (Stumvoll ve ark., 2005).

Tip II diyabette oral antidiyabetiklere, nörojenik uyarılara ve sekretine karşı insülin yanıtı bozulmamış olsa da, beta hücrelerinin kan şekerine yanıtı bozuktur. Erken insülin yanıtında bozukluk oluştuğu için, glukozu tanımakta, beta hücresi zorlanır (Ahmad ve ark., 2017) .

Diyabetin bu grubunu oluşturan hastalar ketozise karşı dirençlidirler. Tip II diyabet 40 yaşın üstünde insanlarda daha sık görüldüğü için ketozise dirençli DM veya yetişkin DM olarak da adlandırılmaktadır (Garber, 1987; Kirk ve Bistner, 1985).

Yapılan birçok diyabet çalışmalarında tip II diyabetik bireylerin ortalama % 80'inde orta dereceli bir obezite bulgusu meydana gelmiştir (Garber, 1987; Kirk ve Bistner, 1985). Bu sebepten dolayı tip II diyabet grubunun oluşumunda ana risk faktörü gibi rol oynayan obezite, insülin reseptör miktarını azaltmaktadır (Garber, 1987). Bundan başka Tip II diyabetin birçok formunun aktarımında, kalıtsal etkilerin olduğu bilinmektedir (Büyükdevrim, 1989).

Diyabetin bu formundaki kişilerde en azından iki ana patolojik defekt tanımlanmaktadır. İnsülinin periferik dokuları etkileme faktöründeki eksiklik bunlardan bir tanesidir. Bazı araştırmacılar tarafından primer patolojik olay olarak düşünülen bu bozukluk insülin direnci olarak adlandırılır. Patolojik defektin ikincisi ise beta hücre disfonksiyonudur. Bu durum pankreasın gerekli insülin üretmedeki yetersizliğinden dolayı, insülin direncini kompanse eder. Böylece hastalıkta mutlak insülin eksikliği gelişiminden önce insülinin göreceli yetersizliği oluşur. İnsülin sekresyonunda ve insülin direncindeki çevresel ve genetik faktörlerin kombinasyonundan 8 temel moleküler defektler meydana gelmektedir (Sacks, 2002).

2.1.3. Diyabetin komplikasyonları

Diyabetin akut komplikasyonları

Diyabetik ketoasidoz: İnsuline antagonist hormonlar (glukagon, kortizol katekolaminler ve büyüme hormonu) ile insülin arasındaki balansın, insülin aleyhine bozulması, diyabetin majör, akut ve hayati tehlikeye atan komplikasyonu olan diyabetik ketoasidozi meydana getirmektedir (Çetinalp ve Yılmaz, 2002). Hiperglisemi belirtileri ve bulgularının erken bilinmesi ile diyabetik ketoasidoz uygun tedavi ile önlenebilmektedir (Olgun, 2002).

Hiperglisemik hiperozmolar nonketotik koma: Artmış hiperglisemi, dehidratasyon ve artmış plazma ozmolaritesi ile seyreden ketoasidoz olmaksızın artmış plazma ozmolaritesi, aşırı hiperglisemi ve dehidratasyon olasılığı ketoasidoz dışında ortaya çıkar (Ennis ve ark., 1994; Olgun, 2002).

Hipoglisemi: Kan glukoz seviyyesinin 50 mg/dL'nin altına düşmesi ile meydana gelen hipoglisemi komplikasyonu çoğu diyabetik kişilerde, kan glukoz düzeyi 50 mg/dL'nin üzerinde de hipoglisemik belirtiler gelişebilir (Jackson, 2000; Olgun, 2002).

Diyabetin mikrovasküler komplikasyonları

Retinopati: Diyabetli kişilerin ortalama ömürlerinin uzaması sebebi ile diyabetik retinopatiyle ilişkili görme kayıpları, körlük sebepleri arasında çok önemli yeri vardır (Erşanlı, 2003). Türkiyede diyabet hastalarının % 30'unun birbirinden farklı diyabetik retinopati formlarına maruz kaldığı saptanmıştır (Menteş, 2004). Düzenli metabolik kontrol sayesinde retinopati gelişim süreci yavaşlatılmaktadır (Erşanlı, 2003).

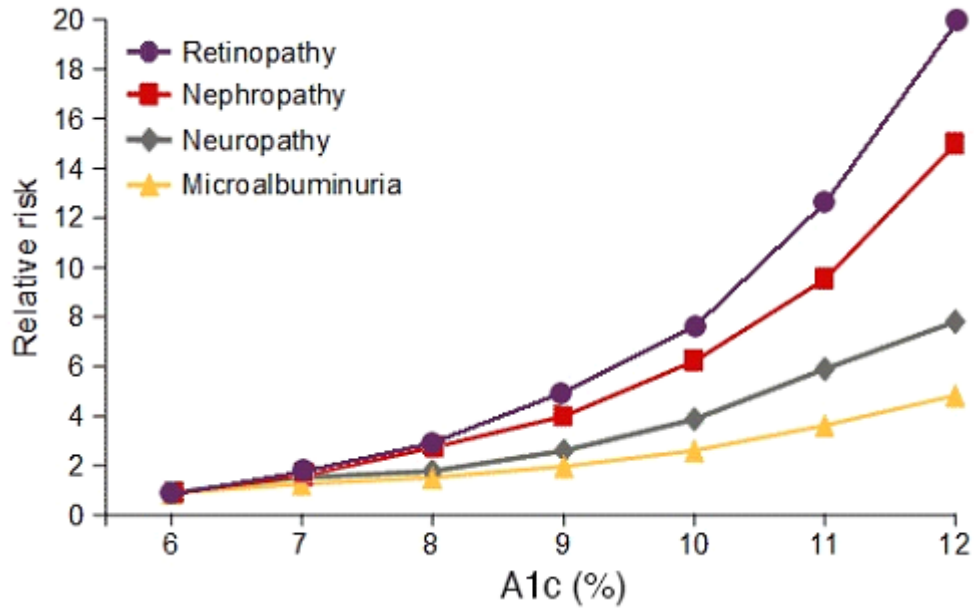
Nöropati: Yüksek kan şekeri veya salınan insülin yetersizliği direk ve indirek metabolik sonuçları arasındaki etkileşimlerin, çevresel ve tam açıklanmamış genetik faktörlere eklenmesi ile diyabete bağlı nöropatiler meydana gelmektedir (Sohn ve ark., 2017).

Nefropati: Diyabetik nefropati komplikasyonu diyabetik bireyde başka bir sebep olmadan idrarla 300 mg/gün veya 200 mg/gün fazla albüminin atılması olarak nitelendirilebilir (Yetkin, 2004; Yılmaz, 2002).

Diyabetik Ayak: Ampütasyon ve ayak ülserleri en önemli diyabetik ayak problemleri sonuçlarıdır. Yapılan bir çalışmada hasta eğitimi, ayak yaralarının korunma, ve multipl yönlü tedavi ile % 43-85 azaltılabileceği ön görülmektedir (Acker ve ark., 1999).

Diyabetin makrovasküler komplikasyonları

Diyabetik kişilerde periferik arteriyel, aterosklerotik kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalık grupları diyabetik makrovasküler komplikasyonları oluşturmaktadır (Bayraktar, 2004).

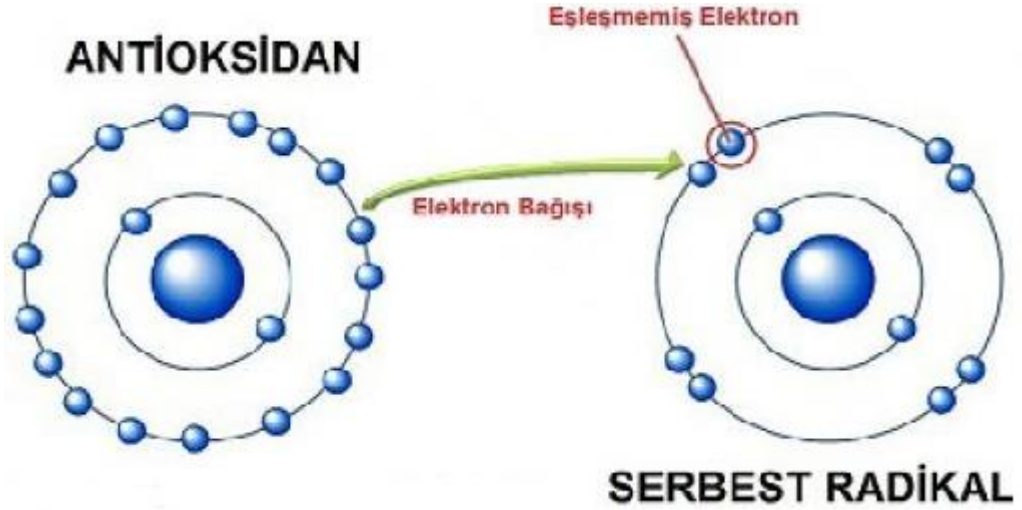


Şekil 2. Diyabetin makrovasküler komplikasyonları (Bayraktar, 2004).

2.1.4. Diyabet ve oksidatif stres

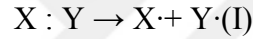
Oksidatif stres diyabet hastalığının erken ve geç dönem komplikasyonlarının patogenizinde önemli bir role sahiptir. Yapılan bir çok çalışmada enerji metabolizmasındaki değişikliklere bağlı metabolik stres, sorbitol yol aktivasyonu, nonenzimatik glikasyon, hipoksi ve iskemi-reperfüzyon sonucu antioksidan savunma sistemini değiştirdiği ve oluşan doku harabiyetinin serbest radikal oluşumunu artırdığı bilinmektedir (Altan ve ark., 2006).

Serbest radikaller, dış orbitalında eşlenmemiş elektron bulunduran ve genelde çok reaktif olan çiftleşmemiş elektronların var olduğu kimyasal bir ürün olup, hücre hasarına neden olmaktadır. Serbest radikallerin kimyasal olarak çok reaktif olmalarının nedeni, çiftleşmemiş elektronların molekülü kararsız yapmasıdır. Çok kısa aktiviteleri olsa da nükleik asit aktiviteleri çok kısa zamanlı olmasına rağmen protein, lipid, nükleik asit gibi makro moleküllerle etkileşmeleri hücre yapı ve fonksiyonlarında önemli farklılıklara neden olmaktadır (Cheeseman ve Slater, 1993). Serbest radikaller 3 yolla meydana gelirler (Akkuş, 1995; Bast ve ark., 1991; Cheeseman ve Slater, 1993).

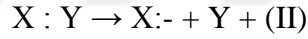


Şekil 3. Serbest radikal oluşumu (Altan ve ark., 2006).

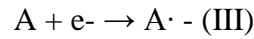
1. Kovalent bağlı normal molekülün hisslerinin her birinde ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi (homolitik ayrılma ile radikal oluşumu):



2. Normal molekülden sadece bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik ayrılması (heterolitik ayrılma ile iyon oluşumu):



3. Normal moleküle sadece bir elektronun ilave edilmesi veya transferi (elektron transferi ile radikal oluşması):



En büyük radikal kaynağı biyolojik sistemlerde oksijendir. Reaktif oksijen türlerinden serbest radikaller emele gelmektedir. Metabolik kaynaklı ve dış kaynaklı reaktif oksijen türleri vardır. Oksidasyon reaksiyonları, bazı enzimatik reaksiyonlar ve elektron transport sistemi metabolik kaynaklıdır ve UV ışınları, hava kirliliği, radyasyon, sigara, kanserojen maddeler ve ilaç yan etkileri dış kaynaklı enzimatik reaksiyonlardır (Aksoy, 2002; Gülçin ve ark., 2003).

2.1.5. Diyabet ve lipoproteinler

İnce bağırsak aracılığı ile üretilen şilomikronlar büyük partiküllerdir. Şilomikronlar eksojen kaynaklı (besin yolu ile alınan) trigliseridlerce çok zengin olup, protein, fosfolipid ve nispeten düşük düzeyde serbest kolesterol içerir. Spesifik apolipoproteinleri A-II, C-I, C-II, C-III, Apo B-48, AI, az miktarda ise Apo B-100, E-II, E-III dür (Sönmez, 2003).

Partikülleri şilomikronlardan daha küçük olan VLDL, % 22 kolesterol, % 52 trigliserid, % 18 fosfolipid, % 8 civarında protein içerir. VLDL'nin endojen olan trigliseridi karaciğerden kaynaklanır. Karaciğere artmış yağ asidi girişi, çeşitli metabolik durumlarda (Örn. diyabet) ya da açlığa sekonder olarak yağ asidlerinin adipoz dokudan mobilizasyona bağlı olarak veya lipolitik substratı arttıran yüksek yağlı diyetle ilişkili olarak meydana çıkar. Ayrıca, apolipoproteinleri Apo B-100, C-I, C-II, C-III, E-II, E-III, ayrıca daha az miktarda Apo A-I, A-II, B-48 dir (Betteridge, 1997; Sönmez, 2003).

Plazmadaki toplam lipoproteinlerin % 50'sini oluşturan LDL'nin % 80'i lipid, % 20'i protein içerir. LDL partikülü trigliseridce zengin partikülü olan lipoproteinlere oranla daha düşüktür. LDL'nin içerdiği lipid miktarının % 50'si kolesteroldür. Apo proteini ise başlıca Apo B-100'dür (Sönmez, 2003).

HDL, ilk kez 1963 yılında Kare Berg tarafından lipoprotein (a) tanımlanmıştır (Chen ve ark., 2017). 1987 yılında ise lipoproteinlerin (a) yapısı saptanmıştır. Lp (a) protein ve lipid içeriği bakımından LDL'ye çok benzeyen bir lipoproteindir. Ayrıca Lp apolipoprotein a (Apo a) olarak adlandırılan ve Apo B 100'e disülfid bağıyla ilişkili olan bir proteini içerir. LDL ve Lp (a) partikülleri birbirlerine ne kadar benzeseler de aralarında bir takım farklar mevcuttur (Browning ve ark., 2017).

İnsanda doku uyumluluk kompleksinden (MHC) sonra en polimorfik gen lokusu olan Apo a, 6. kromozom üzerinde lokalizedir. Plazma Lp (a) düzeyi değişikliklerinin % 90'ını kontrol eden apo a geni, plazminojenle belirgin bir homoloji gösterir ancak yapı olarak aynı değildir. Pıhtıların erimesine katılan plazminojen, fibrinolitik sistemin bir parçasıdır. Plazminojen, krinkıl adlı beş farklı tür yapıdan oluşmaktadır (Tip 1, 2, 3, 4

ve 5). Apolipoproteinde ise bu türlerden sadece tip 4 ve 5 krinkıl mevcuttur (Doğancı, 1997). Plazmasında moleküler ağırlığı 300-900 kD arasında değişiklik gösteren 34 farklı izoformu var olan apo A'nın proteini oldukça heterojendir. Moleküler ağırlığı büyük olan izoformlar, beyaz ırkta daha fazladır. Plazma lp (a) konsantrasyonu ile apo a izoformlarının çapı ters orantılıdır (Bryne ve Wild, 1994).

HDL molekülü, yaklaşık % 50 protein, % 50 lipid içeren ufak bir partiküldür. Fosfolipid miktar yönünden en önemli lipiddir (~% 30). 3 ana kaynaktan 1. karaciğer, 2. bağırsaktan gelişen HDL, direkt olarak küçük bir apo A-I içeren HDL partikülü sentez eder ve üçüncü olarak lipoliz sırasında şilomikronlardan ve VLDL' den gelen yüzey materyalinden HDL salgılanır. HDL partikülü büyüklüğüne ve yoğunluğuna göre iki ana alt gruba HDL II ve HDL III ayrılır (Betteridge, 1997).

DM hastalarında en yaygın görülen hipertrigliseridemi anomalisidir (Janghorbani ve ark., 2016; Howard ve ark., 1983). VLDL ve daha az sıklıkla şilomikronların birikmesiyle hipertrigliseridemi meydana gelmektedir (Thomas ve ark., 2017). Yeterli doku seviyesini korumak için lipoprotein lipaz enzimi, insülin varlığına gerek duyar. Vücudun her yerindeki kas ve yağ dokularındaki kapillerin endotelial hücre yüzünde lokalizedir ve aynı zamanda VLDL ve şilomikronlardan trigliseridin hidrolizinden sorumludur. Bu enzimle etkileştikten sonra, monogliseritler ve serbest yağ asitleri yağ hücrelerine ve yakın kas hücrelerine girmek için lipoproteinden serbestleştirirler ve VLDL, trigliseridi azalan şilomikronlar lipoprotein artıkları olarak kapiller duvarından dolaşıma girmek için bırakılırlar. İnsülin eksikliği, yağ dokusu ve plazma lipoprotein lipaz seviyyelerinde azalma ile sonuçlandığı için LPL'in yeterli aktivitesinin devamı için insüline ihtiyaç vardır. Post heparin plazma lipoprotein lipaz aktivitesinin indirek ölçümünde kullanılan aktivitedir (PHLA). PHLA Tip 1 DM hastalarda plazma trigliserid klirensindeki defekt ile uygun olarak azaldığı görülmektedir (Janghorbani ve ark., 2016).

Bu durum Tip 2 diyabetli hastalarda biraz farklıdır. Kronik olarak yetersiz diyabetik kontrolde hiperlipidemi gelişen bazı hastalarda PHLA'da azalma gözlenilmektedir. Tip 2 diyabetli hastaların çoğunda insülin eksikliği yoktur ve daha çok normal veya yüksek plazma insülin seviyelerine sahip oldukları bilinmektedir. Bu

kişilerde sıklıkla hafiften orta dereceye kadar hipertrigliseridemi gelişir, fakat plazma LPL aktivitesinde ise belli bir değişme meydana gelmez. Tip 2 DM hastalarda kısmen uzayan heparin infüzyonunun geç fazı süresince PHLA'da gizli anormallikler bildirilmiş ve aynı zamanda bunların gelişen diyabetik kontrol ile düzeldiği bulunmuştur (Howard ve ark., 1983).

VLDL-kolesterol: Hastada gözlenen trigliserid yüksekliği sadece VLDL'den oluşuyor ise hastanın diyeti kontrol altında tutulmalıdır. VLDL değerleri düşük kalorili, yağsız bir diyetle düşürülür. Diyabette yüksek kolesterol/trigliserid oranı, VLDL bileşimi, yüksek apo E/apo C oranı ve düşük apo AII/apo CIII oranı gösterirler. Diyet tedavisi bu olgulara VLDL ve lipid seviyeleri ile bileşimindeki kolesterol/trigliserid oranını azaltır. Apo C dağılımını diyabet etkilemez. Hipertrigliseridemik ve hafif şişman diyabetik kişilerde apo C ve kolesterol değerlerinde artma görülür (Duavy ve ark., 2017).

Bu bulguların çoğunda trigliseridlerin değeri aşırı olsa da kullanım yetersizliği vardır (Banadonna ve ark., 1990; Campos ve ark., 1992; Walten ve ark., 1984). Genetik çalışmalar hipertrigliseridemi ve diyabetin çoğunlukla birlikte görülmesine rağmen ailevi hipertrigliserideminin olgularında diyabet riskini yüksek saptamamıştır (Austin ve ark., 1990). VLDL'nin artmış sentezine bağlı oluşan hipertrigliseridemi en yaygın lipid anormalliği olup, genellikle tip IV gibi görünmektedir. Bunun sebebi, karaciğer trigliserid sentezi için büyük VLDL ve aşırı substrat gelmesi, partiküllerinin üretimidir. Lipaz aktivitesindeki azalma nedeniyle lipoprotein, trigliserid klirensinde olabilecek bozulmaya rağmen, LDL'ye dönüşen VLDL oranı azalmıştır ve LDL değerleri normaldir (Assmann ve Schulte, 1992; Austin ve ark., 1990; Barakat ve ark., 1990; Garber, 1987; Johnn ve Antonio, 1997; Tribble ve ark., 1992).

LDL-kolesterol: LDL metabolizmasındaki değişiklikler tip 2 DM'ta her üç basamağında içermektedir (Campos ve ark., 1992).

1. VLDL'nin sentez ve sekresyonunun artması,
2. VLDL'nin LDL'ye dönüşümünün hızlanması,
3. LDL'nin katabolizmasının yavaşlamasıdır.

İnsülin direnci sonucu ortaya çıkan göreceli insülin yetmezliğinde LDL katabolizması ve reseptör sayısı azalmış, yavaşlamıştır. LDL- apo B'nin nonenzimatik glikolizlenmesi LDL'nin katabolizmasını etkileyen bir diğer faktördür. LDL-Apo B LDL reseptörleri tarafından kolaylıkla tanınır, makrofajlar tarafından fagosite edilerek köpük hücreleri oluşur. LDL'nin serbest kolesterolünün artarak ateroskleroz riskini artırma nedeni, kolesterol ester transferaz aktivitesindeki azalma nedenidir (Stoler, 1988; Taskinen, 1992). Tip 2 diyabetik kişilerde özellikle VLDL akımının plazmaya doğru akımının hızlanması, LDL sentezini artırır. LDL'nin prekürsörü olan VLDL LDL'yi etkiler. Diyabetik kişilerde hiperlipidemi ve normolipidemilerde HDL ve LDL'nin içerdiği trigliserid miktarının yükseldiğini ve kolesterol miktarının düştüğünü araştırmaları esnasında görülmüştür (Barakat ve ark., 1990). LDL bileşimindeki trigliserid/kolesterol oranı ve HMG-CoA redüktaz üzerine oranı üzerine de insülinin etkileri vardır. Bu oranı insülinin fazlalığı veya eksikliği etkiler. Sonuç olarak da, damar duvarında LDL birikmesi oluşur ve LDL alımı azalır (Barakat ve ark., 1990; Johnn ve Antonio, 1997).

HDL-kolesterol: HDL-kolesterol insuline bağımlı olanlarda normal, tip 2 diyabet hastalarında ise HDL-kolesterol oranı daha düşük görülmektedir. Yaş ile serum HDL- kolesterolü arasında bir korelasyon olmamaktadır. Erkeklerde şişmanlık ile serum trigliserid düzeyi arasında ise korelasyon vardır. Ancak görülen bu korelasyon kadınlarda görülmemiştir. Her iki cinste de trigliserid ve HDL arasındaki ters korelasyon yapılan araştırmalarla gösterilmiştir. Obez ve yaşlı ağır hipertrigliseridemi olan diyabetik kişilerde HDL düzeyleri düşüktür. Aynı zamanda insuline bağımlı olmayan çok kontrolsüz tip 2 diyabet hastalarında hipertrigliseridemi ve bundan bağımsız olarak düşük HDL oranları görülür (Garber, 1987; Johnn ve Antonio, 1997). Ağır hipertrigliseridemili diyabetli kadın hastalarında apo A₁ düzeyi belirgin olarak düşüktür. HDL'nin önemli bir bölümünü bildiği gibi apo A₁ oluşturmaktadır. Yüksek HDL konsantrasyonlarının damar hastalık oluşumunda koruyucu etkileri olduğu yapılan birçok epidemiyolojik araştırmalarda görülmüştür (Moriyama ve Takahashi, 2017).

HDL-kolesterolün, alkol alımı ve fizik egzersiz ile arttığı, obezite oral kontraseptif kullanım, sigara ve kontrol edilmeyen diyabet ile azaldığı bilinir (Banadonna ve ark., 1990; Frohlich ve ark., 1998; Kiviterovich, 1998). Tip 2 diyabet

zamanı plazma HDL-kolesterol oranları düşmeye meyillidir, ancak diyabet tedavisi ile normal seviyeye yükselir. Tip 1 diyabet hastalarında ise HDL-kolesterol seviyeleri ağırlık, yaş ve cinsiyeti aynı olan normal kişilerle karşılaştırıldığı zaman normal ve artmış olarak görülmüştür. İnsulin tedavisi tip 1 DM hastalarında HDL-kolesterol oranlarını artırdığı bilinmektedir. HDL-kolesterol tip 2 DM' da tip 1'den daha fazla azalmasının sebebi, tip 2 diyabette mevcut olan hipertrigliseridemi ve obezite ile HDL-kolesterol miktarının ters orantılı olmasıdır. Kadında diyabette HDL-kolesteroldeki azalma daha belirgindir. Koroner ateroskleroz diyabetik kadınlarda görülme sıklığında artışa sebep olmaktadır (Bergman ve ark., 1986; Mattoch ve Salter, 1982; Rabkin ve ark., 1983).

2.2. Paraoksonaz enzimi

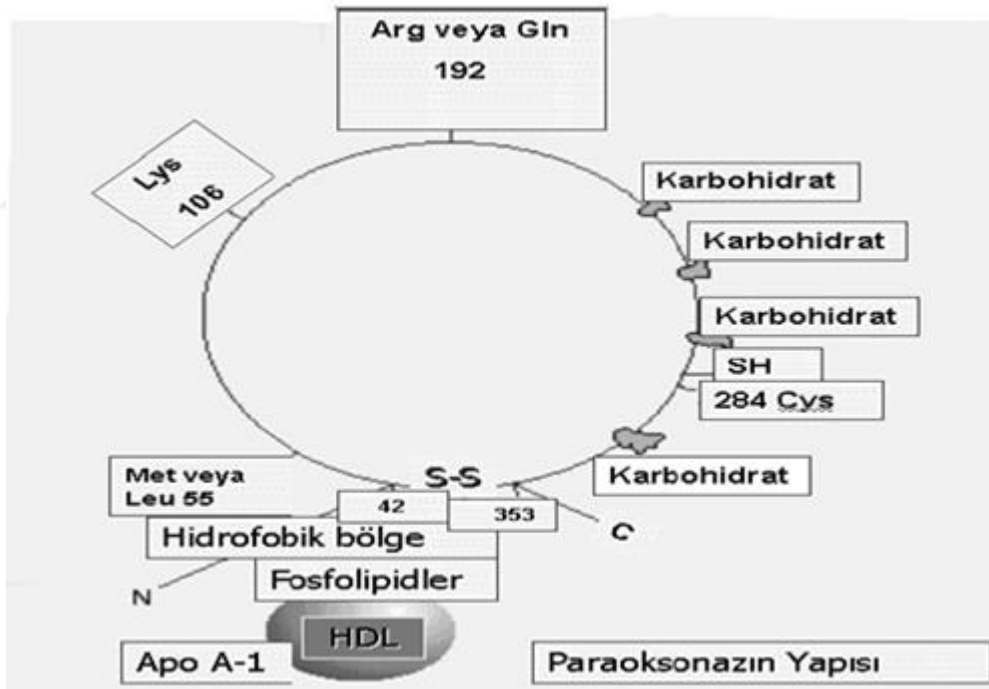
İnsan geni olan HUMPONA ile ilgili ve PON1, PON2, ve PON3 şeklinde 3 üyesi olan paraoksonaz enzimi, insanda 7. kromozomun uzun kolunda bulunur. Memeliler arasında PON1, PON2 ve PON3 genleri % 60 sekans benzerliği vardır. Enzimleri substrata özel hidrolaz olan PON ailesinin PON1, ilk bulunan ve üzerinde en çok çalışılan üyesidir (Deakin ve James, 2004). PON2 ve PON3'te lizin bulunmamasına karşın PON1'de lizin bulunur. PON1 ve PON3 sadece karaciğer ve plazmada bulunur, PON2 ise böbrek, kalp, karaciğerde ve testis dokularında özellikle endotel tabakasında bulunduğu ve aortik düz kas hücrelerinde de yerleştiği immünohistokimyasal yöntemle tespit edilmiştir (Rannello, 2017).

PON1, bir glikoprotein olup, insan serumundanda saflaştırılan minimum 43000 dalton ağırlığında olup, 354 amino asitten oluşur. Karbonhidrat üniteleri PON'un ağırlığının % 15,8'ini oluşturmaktadır ve farklı konumda proteine bağlı olarak bulunur (Rannello, 2017).

PON enzimi; ilk kez 1946'da Mazur (1946); tarafından hayvan dokusunda organofosfat bileşiklerini hidroliz edebilen bir enzim olduğu tespit edilmiş Aldridge (1946) ve bu enzimin bütirat, p-nitrofenil asetat ve propiyonatı hidroliz eden A-esteraz olarak 1953 yılında teşhis edilmiştir. HDL ile PON ilişkisi ilk kez insan serumunda yapılan bir araştırmada 1961'de Uriel (1961) tarafından gösterilmiştir. Mackness ve Halam (1985), yaptıkları çalışmalarda PON'un HDL üzerinde bulunduğunu, Mackness

ve Walker (1988); apoA-I'e bağımlı olarak aktivite gösterdiğini ve Mackness ve ark. (1991) ise, LDL üzerindeki lipid peroksit birikimini azalttığını tespit etmişlerdir. İmmuno affinite kromatografi çalışmaları toplam HDL'nin çok küçük bir bölümünü oluşturduğunu ve insan serum paraoksonazının HDL'nin yapısındaki apolipoprotein AI ve klusterin (apolipoprotein J) ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Mackness ve ark., 1991).

PON1'in amino asit bileşiminden oluşan yapısı incelendiğinde lösin içeriği yüksek olsa da, sisteini kringle yapısına sahip olacak kadar içermediği bilinmektedir. Buna rağmen 42. 284. ve 353. konumlarda yer alan sistein artıkları PON1'in yapısal ve fonksiyonel özelliklerine katkıda bulunduğu saptanmıştır. Polipeptid zincirinin siklik yapıda olmasına protein yapısında bulunan tek disülfid bağı neden olmaktadır (Başkol ve Köse, 2004).



Şekil 4. Paraoksonaz enziminin yapısı (Başkol ve Köse, 2004).

HDL yapısında yer alan PON1, karaciğerde sentezlenerek, dolaşıma verilir. PON1'in, HDL lipidlerine kolayca bağlanabilme nedeni, hidrofobik N-terminal bölgesidir. HDL alt birimleri PON1'i bağlar çünkü apolipoprotein A1 (Apo A1) ve

Apo23 J (klusterin) proteinleri içerdiği için, apo A1 ve apo J'nin bağlanmada rol oynayabileceği düşünülmektedir (Harel ve ark., 2007).

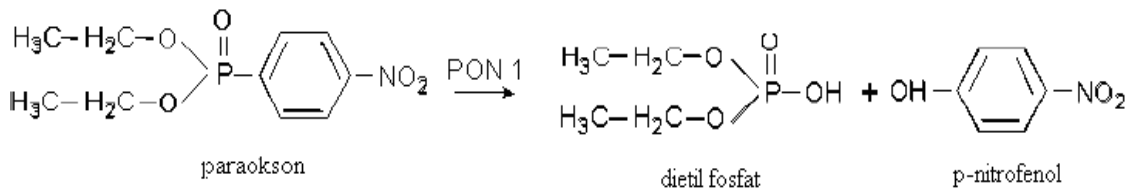
PON1, 6 yapraklı beta tabakasından oluşmuştur. 4 beta tabaka içerir her bir yaprak ve bu enzimin merkezinde var olan iki kalsiyum atomu katalitik ve yapı aktivitesini korumak içindir. Yapısal kalsiyum bunlardan bir tanesidir ve yapıdan uzaklaştırılması irreversibl denatürasyona sebep olmaktadır. Diğer kalsiyum ise katalitik etkinlikte görev almaktadır ve bir su molekülü ile fosfat iyonunun oksijeni ile etkileşmektedir (Harel ve ark., 2007)

PON enziminin HDL üzerinde antioksidan işlevi bulunmuştur. PON1'in LDL'deki lipid oksidasyonunu inhibe ettiği invitro çalışmalarda gösterilmiştir (Harel ve ark., 2007). Genetik ve çevresel faktörler PON serum düzeylerini etkilediği için, bunun sonucunda HDL'nin LDL'yi oksidasyondan koruma kapasitesini etkiler. Tip1 diyabetli bireylerde, HDL alt gruplarının dağılımında ve kompozisyonunda ve HDL kompozisyonunda farklılıklar görülmüştür (Srisurin, 2013). LDL'nin oksidasyondan korunma fonksiyonlarındaki azalmaya sebep HDL'deki bu değişikliklerdir (Fievet ve ark., 1992; Gowri ve ark., 1999).

2.2.1. PON enziminin substratları

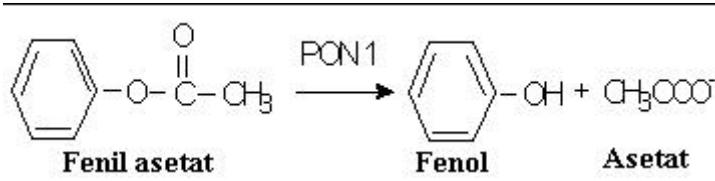
PON1 enziminin, fizyolojik substratları olarak gösterilen sinir gazı ajanları (somon ve sarin), aromatik esterler (fenilasetat) ve organofosfatlar (paraokson ve diazokson) PON1 tarafından hidrolize edilen bileşiklerdir (Shakeri ve ark., 2017).

Paroksonaz aktivitesini ölçmede ve aynı zamanda paroksonazın aril esteraz aktivitesini ölçmede en sık kullanılan substrat paroksondur (O, O-dietil-O-p-nitrofenil fosfat (Khalil ve ark., 2017).



Şekil 5. Paraoksonazın paraoksonu hidrolizi (Khalil ve ark., 2017).

Yalnız arilesteraz aktivitesini ölçmede fenil asetat substratı kullanılır. PON1 polimorfik dağılımı sebebiyle aynı substrata karşı farklı aktivite şeklinde olur (Başkol ve Köse, 2004; Shakeri ve ark., 2017).



Şekil 6. Paraoksonazın fenil asetatı hidrolizi (Başkol ve Köse, 2004; Shakeri ve ark., 2017).

PON1 kolesterol ester peroksitlerinde ve lipoprotein kaynaklı fosfolipid peroksitlerinde bulunan O ve P arasındaki ester bağına hidroliz ettiği bilinmektedir. Okside olmuş kolesterol esterleri ve lipoproteinlerin HDL bağımlı PON1 için fizyolojik substrat olduğu ön görülmektedir. İnsan arteriyel duvar hücre kültürlerinde uygulanan bir araştırmada PON1'in okside 1-palmitil-2-araşidonoil-sn-glisero-3-fosforilkolin üzerindeki fosfolipid türlerini hidroliz ettiği, bu sebeple de HDL'nin LDL'yi oksidasyondan muhafızaedici etkisinin paraokson hidroliz kapasitesinden bağımsız olduğu tespit edilmiştir (Cao, 1999; Mackness, 1998).

2.2.2. PON enziminin biyokimyasal fonksiyonları

Yapılan bir çok çalışmada, serum paraoksonaz enziminin, paraoksan ve aromatik karboksilik asit esterleri, somon, sarin, diazookson gibi organofosfat türevlerini detoksifiye ettiği gösterilmiştir (Perla-Kajan ve Jakubowski, 2012). Paraoksondaki O-P ester bağının hidrolizinden sorumlu olan esteraz paraoksonaz enzimidir. Son dönemlerde PON1'in ayrıca hidroliz ettiği diğer farmakolojik ajanlar siklik karbonat esterleri ve laktonaz olduğu görülmüştür (Arulkumar ve ark., 2017).

LDL'yi oksidasyondan koruyabilme yeteneğine sahip olan HDL'nin bu koruyucu rolü, çeşitli mekanizmalarla açıklanarak önem kazanmaktadır. Ayrıca, [PON1, LCAT, trombosit aktive edici faktör asetil hidrolaz (PAF-AH)] gibi HDL ile bağlantılı enzimlerin oksidatif değişiklere karşı lipoproteinleri savunduğuna

inanılmaktadır. LDL'yi, serbest radikallerin ve Cu iyonunun indüklediği oksidasyondan koruyan paraoksonaz enzimidir (Russo ve ark., 2016).

Minimal modifiye LDL (MM-LDL)'deki aktif lipidlerini yıkan ve bu şekilde arter duvarında var olan hücrelerde yangısal cevap oluşumuna karşı koruyucu etki gösterebilen, HDL yapısında bulunan PON1 enzimidir. Bununla birlikte paraoksonaz, spesifik okside fosfolipidleri ve okside LDL'deki kolesterol linoleat hidroperoksitleri hidroliz eder (Anand ve ark., 2016).

Paraoksonazın, HDL'yi oksidasyondan koruduğunu gösteren HDL'de lipid peroksit ve aldehit birikiminin % 95'e kadar azaldığı ve saflaştırılmış PON1'in HDL'ye eklenmesi ile doza bağımlı olarak oksidasyonun lag fazının uzadığı gösterilmiştir. Hücre yapısındaki lipidler ve lipoproteinler oksidatif stres altında lipid peroksidasyonuna uğramaktadır ve oluşan lipid peroksitlerinin aterosjenik etkilerini paraoksonaz nötralize eder, hücre membranlarına koruyucu etki gösterir (Anand ve ark., 2016).

Yapılan araştırmalarda LDL oksidasyonu esnasında PON1'in inaktive olduğuna ilişkin bulgular tespit edilmiştir (Bayrak ve ark., 2016; Ikhlef ve ark., 2016). LDL oksidasyonu esnasında PON1'in arilesteraz aktivitesi yaklaşık % 50 oranında azaldığını uygulanan araştırmalarda görmek mümkündür. Paraoksonaz enzimi, LDL'yi oksidasyona karşı korumaktadır ancak okside LDL oluşumu esnasında zamana bağlı olarak inaktive olmaktadır. Ancak bu durumun mekanizması henüz yeteri kadar açıklanamamıştır. Lipid peroksidasyonunun bazı ürünleri ile paraoksonazın serbest sülfidril grubu arasında bir ilişki olabileceği düşünülmektedir. Bu durum okside araşidonat içeren fosfolipidler ile PON1'in sistein 284. bölgesinde bulunan serbest sülfidril grubu ve okside LDL'deki okside kolesterol araşidonat arasındaki etkileşim ile ilişkili olabilir (Bayrak ve ark., 2006).

Oksidasyon esnasında oksidatif sistemdeki Cu^{1+}/Cu^{2+} iyonlarının, PON1'in kısmen inaktivasyonundan sorumlu olabileceği düşünülen, PON1'in paraoksonaz/arilesteraz aktivitesi için gerekli olan Ca iyonunun yerine geçmesidir. Ayrı bir araştırmada PON1'in güçlü inaktivatörü olarak H_2O_2 gösterilmiştir (Costa ve ark., 2015). Son dönemlerde LDL tarafından PON1 inaktivasyonu ve MMLDL'nin, apo

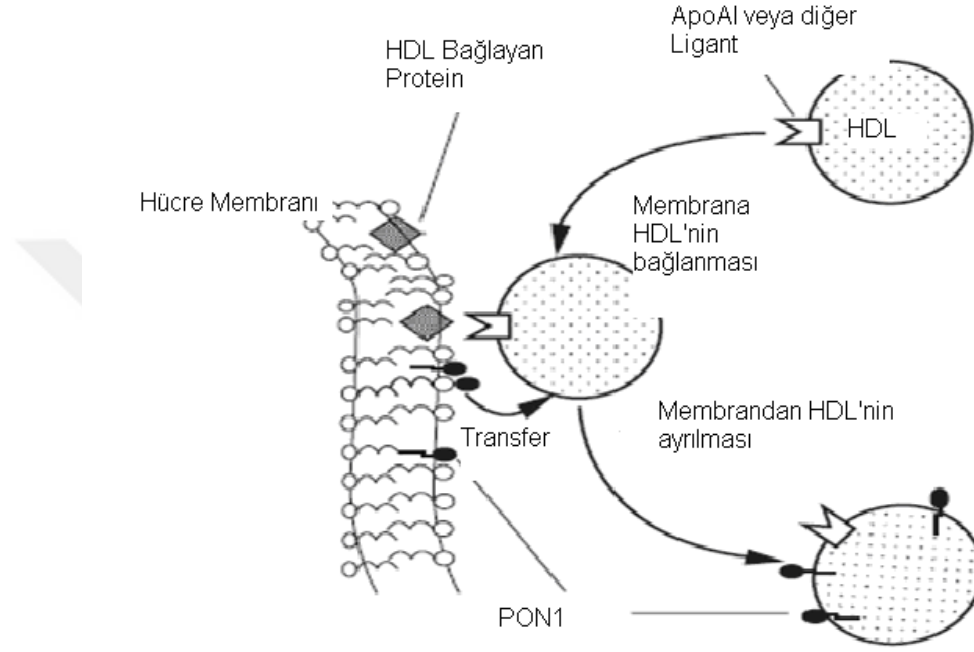
J/paraoksonaz oranının artmasına neden olmasının birbirleri ile ilişki olabileceği düşünülmektedir. Yapılan başka bir araştırmada karaciğerde okside fosfolipidlerle inhibisyon sırasında PON1 mRNA seviyelerinin azaldığı gösterilmiştir (Fridman ve ark., 2016). Bundan başka son yıllarda flavonoidlerin; HDL ilişkili enzim olan PON1'in aktivitesini koruduğu, LDL'nin hücre aracılı oksidasyonu inhibe ettiği ve LDL'nin endojen antioksidanlarının yıkımını engellediği gösterilmiştir (Fridman ve ark., 2016). Lipid peroksidasyonundan koruyucu antioksidan aktivitesi için Ca gerekli olmasada; paraoksonaz organofosfat hidrolizini gerçekleştirebilmek için Ca gereklidir (Srisurin, 2013).

Araştırmalarda PON1 ve PAF-AH aynı ortamda olduklarında MM-LDL'deki aktif lipidleri tek başlarına gösterdikleri etkinin toplamı bir etki ile yıktıkları görülmüştür (Fridman ve ark., 2016). LDL'nin Cu^{2+} iyonu ile uyarılmış oksidasyonunda PAF-AH; TBARS üzerine etkisi olmasa da, apo-B100 modifikasyonunu ve konjuge dien oluşumunu inhibe ettiği ortaya konulmuştur. Paraoksonaz enzimi, TBARS üretimi ile beraber lipid peroksit oluşumunu inhibe etmektedir. Paraoksonazın yokluğunda LCAT ve PAF-AH, LDL'yi oksidasyondan korumada önmlü bir etkisi yoktur. HDL de oksidasyona oksidatif stres altında maruz kalmaktadır. Lipid peroksitlerin serumdaki en önemli taşıyıcısı HDL-K'dır. LDL'de bulunanlara oranla HDL-K yapısındaki kolesterol ester hidroperoksitler daha hızlı fakat daha az reaktif hidroksitlere indirgenmektedir (Srisurin, 2013).

HDL'nin oksidatif modifikasyonu; ters yönde kolesterol taşıma fonksiyonunda bozulmalara neden olur. Paraoksonaz, ters kolesterol taşıma fonksiyonunun devamını sağlaması için HDL'yi oksidasyondan korur. Bu olay makrofajlarda kolesterol birikimini engelleyerek ateroskleroz gelişimini ve köpük hücre oluşumunu yavaşlatır (Srisurin, 2013; White and Anantharamaiah, 2017).

Kanda HDL ile birlikte bulunan PON1, karaciğerde sentezlenir ve kana salınır. İnsanda serum PON1 aktivitesi ve konsantrasyonu geniş bir aralığa sahiptir. Enzim aktivitesinin ve konsantrasyonunun PON1 geninin polimorfizmiyle birlikte yaşam biçimi, diyet ve farklı hastalıklardan etkilendiği gösterilmiştir (Ikhlef, 2016).

Birçok faktör, PON1 sekresyonunun mekanizmasını değiştirerek serum düzeyinin belirlenmesini sağladığı için bu mekanizma önemlidir. PON1, lipoproteinlerin eksikliğinde az miktarda salınır. PON1, fosfolipid miçel hücrelerden sekrete edilerek, HDL sekresyonu stimule eder, LDL ve ApoA1 etki göstermez (Ikhlef, 2016).



Şekil 7. Hücre membranında bulunan PON1'in HDL'ye transferi (Ikhlef, 2016).

HDL ile fosfolipidlerden ayrılabilen membrana bağlı PON1, fenilasetata etki gösterir. Bu etki, HDL'nin belirmesiyle ortadan kaybolur ve PON1'i hücre membranından HDL'nin ayırabildiğini gösterir. HDL ile indüklenmiş PON1 sekresyonu hem konsantrasyona hem de reseptöre bağımlıdır. En uygun alıcı HDL olsa da, tek başına fosfolipid kompleksi hücrelerden PON1 salınımını uyarma kapasitesine sahiptir. Aynı zamanda yalnızca fosfolipid içeren lipid kompleks salınım için kafi değildir. Bu olay için PON1 salgılanması LDL'nin yetersiz olma nedenini açıklamayı sağlar (Deakin ve James, 2014).

Hücre membranının dış yüzeyinde bulunduğu bilinen PON1, lipoproteinler vasıtasıyla HDL yaklaşınca HDL'ye geçtiği belirtilmiştir. HDL ile PON1 ilişkisini sağladığı, HDL için bir reseptör olarak daha önceden tanımlanan scavenger reseptör B₁

(SR-B₁)'in hipotezi ortaya çıkmıştır. HDL'nin hücre membranına bağlanarak, hücre ile lipoproteinler arasında materyal değişimini SR-B₁ gerçekleştirir. SR-B₁, fosfolipid komplekse bağlanma kapasitesine sahiptir ve aynı zamanda yüksek afinite ile HDL'ye gevşek bir bağla bağlanır. En sonunda PON1'in bol miktarda salındığı organın karaciğer olduğu tespit edilmiştir (Deakin ve James, 2004).

2.2.3. Paraoksonaz enzimi ve diyabet

Birçok çalışmada, tip 1 ve tip 2 diabette PON1 aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir (Mahmood, 2016; Saeed, 2016). Diabetik hastalarda PON1 aktivitesinin azalma nedeni olarak, oksidatif stresin artması sonucu antioksidan kapasitenin azalmasına bağlı olabileceği gösterilmiştir. Aktivite üzerindeki etkinin muhtemelen genotipten bağımsız olduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda PON 155L'nin diabetik retinopati ile ilişkili olduğu açıklanmıştır ve en fazla kardiyovasküler hastalığı olan diyabetiklerle PON 1192R ilişkilidir. L55M polimorfizmi ise pankreas hücre harabiyeti, artmış insülin rezistansı ve azalmış glukoz toleransı ile ilişkili olarak bulunmuştur. PON1'in azalma mekanizması diabetik kişilerde tam bilinmemektedir. Ancak artmış glukoz konsantrasyonu ile bağlantısı olabileceği düşünülebilir. Glikasyon, hem HDL üzerindeki lipid peroksidasyonun artırır hem de PON'u inaktive eder ve glike HDL oksidasyona da dirençsiz halde olur. Yüksek glukoz seviyesi olan kişilerde de PON1 aktivitesinin azaldığı açıklanmıştır (Deakin ve James, 2004; White ve Anantharamaiah, 2017).

2.2.4. Total Antioksidan Kapasite (TAS)

Normal fizyolojik koşullarda organizma, endojen veya eksojen nedenlerle oluşan serbest radikaller ve bunlara bağlı oluşan oksidatif stres ile mücadele eden karışık bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Vücudun oluşan oksidan durumlara karşı, indirgenme ayarını sürdürebilmesinde, plazma çok önemlidir. Çünkü plazma, antioksidanların vücudun tüm bölümlerine taşınmasını ve dağıtımını gerçekleştirir (Yao ve ark., 1998; Prior ve Cao, 1999; Erel, 2004).

Plazmada serbest demiri toplayan transferrin ve seruloplazmin gibi proteinler yanında serbest radikalleri kapan zincir kırıcı antioksidanlar da bulunmaktadır.

Albümin, ürik asit ve askorbik asit insan plazmasındaki total antioksidan durumun %85' inden fazlasını oluşturur. Bu fark kanda bilirubin, redükte glutatyon (GSH), flavinoidler, α -tokoferol ve β -karoten gibi antioksidan durumun komponentlerine nazaran albümin, ürik asit ve askorbik asitin seviyelerinin fazla olmasına bağlıdır. Plazmada antioksidanlar bir etkileşim içindedir. Bu etkileşimden dolayı bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla bir etki oluşmaktadır (Prior ve Cao, 1999; Ghisellia ve ark., 2000).

Total antioksidan kapasite (TAS) ölçümü, antioksidanların basit toplamından daha entegre bir parametre olarak, plazma ve vücut sıvılarında tüm antioksidanların mevcut kümülatif kapasitesini dikkate alır. Bilinen ve bilinmeyen antioksidanları ve bunların sinerjik etkileşim kapasitesini içeren oksidan ve antioksidan arasındaki in vivo hassas denge hakkında bir fikir verir. Plazma antioksidan kapasite ölçümü, redoks durumu, fizyolojik, çevresel ve beslenme faktörlerinin değerlendirilmesinde yardımcı olur (Ghisellia ve ark., 2000).

2.2.5. Total Oksidan Kapasite (TOS)

Oksidatif stres; vücudumuzda mevcut oksidan-antioksidan dengenin oksidanlar lehine bozulması sonucu meydana gelen patolojik bir durumdur (Demircan, 2013). Oksidatif stres, organizmada aktif oksijen ürünlerinin, tampon mekanizması olan antioksidanları ve antioksidan enzimlerini aşması ile meydana gelmektedir. Bu durum; aşırı reaktif oksijen ürünlerinin üretimi veya antioksidan mekanizmanın eksikliği sonucu oluşmaktadır. Bu reaktif oksijen ürünleri toksik özellikleri nedeniyle protein, lipid ve DNA'ya zarar vermektedir (Bowen ve ark., 2001).

Oksidatif stres ve oksidatif hasar, kanser, kardiovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok patofizyolojik sürecin erken evrelerinde önemli rol oynarlar (Word ve Peters, 1996).

Oksidatif stresin toplam değeri; total oksidatif stres veya total oksidan kapasite (TOS) olarak ifade edilir. Bu durum, aşırı reaktif oksijen ve / veya nitrojen türlerinin üretimi veya antioksidan tampon mekanizmasının eksikliği sonucu oluşur (Demircan, 2013).

2.3. Apiacea familyası

Umbellifereae (apiaceae) familyası botanikte çok yaygın bitki türlerinden biridir. Apiaceae ailesine ait bitki türleri tüm dünyaya yayılmıştır (Sodeifian ve ark., 2011). Bu ailede, 300-455 cins ve 3000-3750 tür vardır (Downie ve ark., 2000). Türkiye’de ise bu oran 99 cins ve 419 tür olarak bulunmaktadır. Apiaceae türleri bir, iki ve çok yıllık otsulardan veya çalı ya da çalılardan oluşmaktadır (Seçmen ve ark., 1998). Türlerin uzunca bölünmüş yaprakları ve küçük bileşik şemsiye şeklinde çiçekleri vardır. Kendine has meyveleri bu türü kolay tanıta bilmektedir (Downie ve ark., 2000). Günümüzde de kullanılan bir çok türü ve bitkiyi içeren Apiaceae familyası dünyanın ılıman bölgelerinde yetişmektedir (Fakim, 2006).

Sözü geçen bu bitkiler içerdiği zengin esansiyel yağ asitleri ile taşıdığı aromatik özellikler ile bilinmektedir (Fakim, 2006). Havuç, kereviz, yabani havuç ve maydanoz gibi birçok üyeleri mevcuttur (Christensen ve Brandt, 2006). Türlerin birçoğunun ilaç ve parfümeri sanayisinde kullanılması ile beraber gıda ve baharat olarak tüketilmesi göz önünde bulunmaktadır (Seçmen ve ark., 1998).



Şekil 8. Apiacea familyası (Sodeifian ve ark., 2011)

Doğada yaygın olarak bulunan ve Apiaceae familyasında önemli bir yeri olan bitkilerden biri de *Ferulago*dur (Sodeifian ve ark., 2011). Bu bitkinin var olan 30 türünün 16 tanesi endemiktir. Türkiye’de kişniş, kuzu başı, çakışır olarak adlandırılan *Ferulago* türleri antik zamanlardan bu yana baharat ve tatlandırıcı olarak kullanılması bilinmektedir. Bundan başka geleneksel tıpta sakinleştirici, kuvvet verici, sindirim için

ve bağırsak kurdu tedavisinde etkilidir; ayrıca kökleri Türkiye’de afrodisyak olarak kullanılmaktadır (Demirci ve ark., 2000).

2.3.1. *Ferulago angulata* (Schlecht.) bitkisinin biyokimyasal etkileri

Ferulago bitkisi, halk dilinde çakışır otu olarak bilinmektedir. Dünyada türlerinin 35 ile 40 arasında olduğu tespit edilmiştir (Sodeifian ve ark., 2011). 60- 150 cm boyunda, çok yıllık çalı olan *Ferulago angulata* bunlardan biridir. Türün sarı renkli, şemsiye şeklinde çiçekleri ve ince yaprakları vardır. Deniz seviyesinden 1900-3200 m yüksekte yetişir. *Ferulago angulata*, İran’ın batısında yetişir fakat Türkiye’nin doğusu, Irak’ın kuzeyi, Yunanistan, Sırbistan ve Makedonya’da da yetişmektedir (Asghari ve ark., 2012; ve Karimian ark., 2014).

Ferulago angulata tıbbi sakinleştirici, kuvvet verici, sindirme yardımcı ve afrodisyak etkilere sahiptir; ayrıca ülser, hemoroit, yılan ısırması, baş ağrısı ve asabiyete de iyi gelmektedir. Özellikle sindirim sistemi hastalıkları için oldukça etkili olup esansı parfümeri ve kozmetik endüstrisinde kullanılmaktadır. Bitkinin antioksidan ve antidiyabetik etkisi bilinmektedir (Asghari ve ark., 2012; Demirci ve ark., 2000).

Antikanser özelliği taşıyabileceği de farklı çalışmalarda görülmüştür (Karimian ve ark., 2014). Yapılan invitro çalışmalar, *Ferulago angulata* (Schlecht) Boiss bitkisinin bol miktarda A, C, ve E vitaminleri içermesi sonucu bitkinin önemli bir vitamin kaynağı olabileceği sonucuna varılmıştır Bitkinin antioksidan kapasitesinin de yüksek olduğu yapılan invitro çalışmalarda ortaya çıkarılmıştır (Ası, 1999; MacDonald ve ark., 2006). Bitkinin reaktif oksijen türlerinin inhibisyonunda da etkin olduğu, kararlı bir serbest radikal olan DPPH radikalini, hidrojen peroksit ve süperoksit radikallerini süpürdüğü ve biyolojik sistemlerde bilenen en reaktif tür olan hidroksil radikalini yüksek oranlarda inhibisyona uğratarak güçlü bir antioksidan ve antiradikal aktiviteye sahip olduğu ortaya konulmuştur (Ası, 1999). *Ferulago angulata*’nın bilinen 2 alt türü vardır. Bunlardan subsp. *angulata* (Schlecht) Türkiye, İran ve Irak’ta yaygındır. Subsp. *Carduchorum* ise Batı İran’da yetişen endemik bir türdür (Taran ve ark., 2010). *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss. bitkisi geleneksel olarak süt ürünlerinin içine, hoş bir tat vermek ve çürümesini önlemek amacıyla katılmaktadır (Azarbani ve ark., 2011; Demirci ve ark., 2000).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Deney hayvanları

Araştırmada, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Hayvan Denepleri Ünitesinden sağlanan 28 adet 250-300 g ağırlığında, erkek wistar albino sıçan kullanıldı. Bu amaçla, deney hayvanları dört gruba ayrıldı, her grupta 7 hayvan yer aldı.

Deney hayvanları, 12 saat ışık/karanlık periyodunda ve 18-22 °C' de muamele edildi. Sıçanlar; uygulama yapılmadan 10 gün önce adaptasyon amacıyla karantina altına alındı.

Araştırma, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu'nun 02/06/2016 tarih ve 2016/05 sayılı izni araştırma onayı ve 24/08/2017 tarih 2017/8 sayılı araştırma kesin sonuç onayı alınarak, etik kurul denetçileri gözetiminde etik kurul prensiplerine göre gerçekleştirildi.

3.1.2. Laboratuvar araç gereçleri ve kimyasal maddeler

- 1-Falkon tüp 10 mL, 15 mL
- 2-Otomatik pipet, pipet uçları
- 3- *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss bitkisi
- 4-Santrifüj tüpü
- 5-Ependorf tüp 1,5 ml
- 6-Non-steril eldiven
- 7-Glukometre ve strip kiti
- 8-Paraoksonaz (PON) test kiti (Rel assay)
- 9- Etanol absole
- 10-Toplam antioksidan seviye (TAS) test kiti (Rel assay)
- 11-Toplam oksidan seviye (TOS) test kiti (Rel assay)
- 12-Bovin serum albümin,
- 13-Bakır sülfat (pentahidrat)
- 14-Sodyum hidroksit

- 15-Sodyum karbonat
- 16-Sodyum potasyum tartarat
- 17-Fosfotungusto molibdik asit
- 18-Enjektör 5 mL,
- 19-İnsülin Enjektörü
- 20-Ketamin
- 21-Rompun
- 22-Homojenizatör (İKA)
- 23-Spektrofotometre (Analytik Jena)
- 24-Evaporatör (Analytik Jena)
- 25-Eliza cihazı (Anthos zenyth 200 rt)
- 26-Otomatik biyokimya analizörü (Cobas C311)

3.2. Yöntem

3.2.1. *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss bitkisinin ekstraktı eldesi, diyabet oluşturulması ve bitki ekstresinin deneme hayvanlarına uygulanması

Bu çalışmada kullanılan *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss. subsp. *carduchorum* (Boiss. & Hausskn.) Chamberlain. bitkisinin yaprak kısımları ve jetasyon dönemi dikkate alınarak Mayıs 2015 ayında C9 Van: Çatak, Konalga köyünün Tanrıverdi (Batkan) mezarı, step, 37° 50' 992" N, 43° 09' 828" E, 2200 m'den bitkinin doğru teşhisi ve çalışmaların aksamadan yürütülebilmesi için yeterli miktarda toplandı. Araziden toplanan bitkinin gövde ve yaprakları bez torbalar içinde, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Van Pharmacautical Herbarium (VPH)'una getirilerek Yrd. Doç. Dr. Abdullah Dalar ve Muzaffer Mükemre tarafından teşhis edildi. Farklı bitki türleri ile karışmasını önlemek amacıyla tek tek ayıklandı. Bitki numunesi Van Pharmaceutical Herbarium (VPH)'unda VPH20 herbaryum numarası adı altında kayıt altına alındı. Bitki örnekleri toz, kir, zararlılar ve kontaminasyonlardan uygun bir şekilde arındırıldı. Herbaryum hazırlık odasında serilen kurutma kağıtları üzerine yerleştirilen bitki materyalleri (yaprak) gölgede havayla kurutma yöntemi ile kurutuldu. Bitki materyallerinin kurutulmasında kullanılan kurutma kağıtları gün aşırı değiştirildi. 14-21 gün boyunca gölgede kurutulan bitki materyalleri kauçuk eldiven kullanılarak

küçük parçalara ayrıştırıldı. Bitkisel materyalin çözücü ile daha iyi bir şekilde etkileşmesini sağlayan geniş ekstraksiyon alanı elde etmek amacı için bitki parçacıkları, öğütücü yardımı ile toz materyal haline getirildi ve elde edilen toz bitki materyalleri plastik kaplara konulup, kapak parafilm ile kapatıldı. Bitki materyalleri analiz işlemlerine başlanana kadar, +4 °C’de saklandı.

Öğütülmüş bitki numunesinden (*Ferulago angulata*) 100 g tartılarak, bir cam behere konulmuş olup, 1 L ultra saf su ile ekstre edilerek, beherin üzeri alüminyum folyo ile kapatıldı. +4 °C’de, 2 saat süreyle çalkalayıcıda homojenize edilen karışım, daha sonra santrifüj cihazına yerleştirildi. Homojenize karışım 20 dakika boyunca, 10.000 rpm’de santrifüj edilerek, elde edilen supernatant vakum filtrasyon yardımı ile 0.45 µm’lik hidrofilik filtreden geçirildi, evaporatör yardımıyla +37 °C’de çözücünden arındırıldı. Supernatanttan arta kalan çökelti aynı ekstraksiyon işlemine tekrar tabi tutuldu. Elde edilen yoğunlaştırılmış ham su fraksiyonları, -51 °C sıcaklık ve 50 millitor basınç altında liyofilizatör cihazında 3 gün süreyle bekletildi. Elde edilen liyofilize saf su ekstresi analiz işlemlerine başlanana kadar, -20 °C’de saklandı. (Rafieian-Kopaei ve ark., 2014).

2. ve 4. gruptaki deneme hayvanlarına, diyabet oluşumu için tek doz intraperitoneal 0,1 M buffer sitrat (pH:4,5) içinde çözünen streptozotisin (40 mg / kg) uygulandı, 72 saat sonra serum glukoz düzeyi el glukometresi ile test edildi. Serum glukoz düzeyleri; > 270 mg/dL diyabet olarak kabul edildi (Grace ve ark., 2009).

Dört hafta süreyle, saat 8.00 de, gruplardaki bütün deneme hayvanlarının yemleri toplandı, 2 saat sonra 1. gruba (K) ve 2. gruba (D); her sabah 1mL distile su, 3. gruba (FA) ve 4. gruba (D+FA); 1mL *Ferulago angulata L.* ekstraktı (600 mg/kg dozunda distile suda çözdürülerek) gavaj yoluyla verildi (Rafieian-Kopaei ve ark., 2014).

3.2.2. Deneme gruplarının oluşturulması

Gruplar;

1. Grup: Kontrol grubu (K),
2. Grup: Diyabet grubu (D),
3. Grup: FA uygulanan (600 mg/kg) grubu (FA),

4. Grup: Diyabet + FA (600 mg/kg) uygulanan grubu (D+FA)

3.2.3. Kan ve doku örneklerinin alınması

Deneme sürecinde ve sonra anestezisi altında, sıçanların kalbinden EDTA'lı ve jelli tüplere, kan örnekleri alındı. Jelli tüplere alınan kan örnekleri santrifij edilerek serumları çıkarıldı. Çıkarılan serumlarda serum glukoz, lipoprotein, kolesterol ve trigliserid düzeyleri ve tüm kanda HbA1c düzeyi otoanalizörde ticari kit kullanılarak bakıldı.

Kan örnekleri alındıktan sonra aynı gün, böbrek dokusunda paraoksonaz enzim aktivitesi, TAS ve TOS ölçümleri, ticari kit kullanılarak spektrofotometre cihazında analiz edildi. Araştırmada deneme sonrası böbrek dokusu, deneme hayvanlarından anestezisi altında alındı ve usulüne göre; -20°C'de derin dondurucuda doku paraoksonaz, TAS/ TOS düzeyleri analiz aşamasına kadar saklandı.

3.2.4. Böbrek dokusu homojenizasyonu ve ekstraksiyonu

Derin dondurucuda saklanan böbrek dokuları, oda ısısına getirildi. Böbrek dokuları; % 10 tris-sodyum sukroz homojenizasyon çözeltisi ile homojenize edildi (Sedlak ve Lindsay, 1968).

3.2.5. Biyokimyasal analizler

Böbrek dokusu paraoksonaz aktivite, toplam antioksidan/oksidan seviye tayinleri: Böbrek dokularından elde edilen homojenatta, paraoksonaz (PON) enzim aktivitesi; rel assay ticari test kiti kullanılarak spektrofotometre cihazında, toplam antioksidan (TAS)/oksidan (TOS) seviye düzeyleri, rel assay ticari kiti kullanılarak monokromatörlü anthos zenyth 200 rt marka eliza cihazında analiz edildi (Erel, 2004; Erel, 2005).

Böbrek dokusu paraoksonaz (PON) aktivite tayini: Böbrek dokusu PON enzim aktivitesi, rel-assay enzim kiti ile UV-VİS spektrofotometre cihazında ölçüldü.

Prensip: Bu testte iki ardışık reaksiyon çok önemli rol oynamaktadır. Birinci reaksiyon, PON enzimi ve bu enzim için bir kofaktör olan kalsiyum iyonu için reaktif 1

arasında gerçekleşir. İkinci reaksiyon substrat çözeltisinden oluşan reaktif 2'nin ortama ilave edilmesiyle gerçekleşir. Son aşama ise PON enzim aktivitesiyle doğrudan orantılı absorbanı olan P-nitrofenolün oluşmasıdır.

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

Hesaplama

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

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

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

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

Böbrek dokusu toplam oksidan seviye (TOS) tayini: TOS aktivitesi, böbrek dokusunda ELISA yöntemi kullanılarak (Rel assay Türkiye) ticari kit (Ref; RL024, lot numarası; AL150570) ile ölçüldü.

Premsip: Örnekte demirli iyon-çelatlayıcı kompleksi, numunede bulunan oksidanlar tarafından ferrik iyonla oksidize olundu. Oksidasyon reaksiyonu, reaksiyon ortamında bol miktarda bulunan arttırıcı moleküller tarafından uzatıldı. Kromojenli renkli bir kompleks, asidik bir ortamda Demir iyonu ile oluşturuldu. ELISA ile ölçülen renk yoğunluğu, numunede bulunan oksidan moleküllerinin toplam miktarını temsil etdi. Deney, hidrojen peroksit H₂O₂ ile kalibre edildi ve sonuçlar litre başına mikromolar hidrojen peroksit eşdeğeri ile verildi (µmol H₂O₂ eşdeğeri / L).

Deney prosedürü: Her şeyden önce, 200 mikrolitre reaktif 1, ELISA plakasına iyi yerleştirildi ve standarttan 30 mikrolitre (veya numune) iyice ilave edildi. İlk emilim, ilk emilim noktası için 530 nm'de okundu. Daha sonra, 10 mikrolitre reaktif

2 kuyucuğa ilave edildi ve 10 nane oda sıcaklığında inkübe edildi. Sonra absorbanısı ikinci kez 530 nm'de okundu.

Hesaplama

Sonuç = (Δ Absorbans örneği / Δ Emilim standardı) X 10 (Standart konsantrasyon)

Numune absorbanısı = (Numunenin ikinci absorbanısı - Numunenin ilk absorbanısı)

Emilim standardı = (İkinci emici standart - Birinci emicilik)

Standart konsantrasyon = 10 μ mol / L.

Böbrek dokusu toplam oksidan seviye (TOS) tayini: TAS, böbrek dokusunda ELISA kullanılarak (Rel assay Türkiye) ticari kit (REF; RF0017, Lot numarası; MH15050A) ile aktivite tespit edilmiştir.

Prensip: Numunedeki antioksidanlar, koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikalini renksiz indirgenmiş ABTS formuna indirgemiştir. 660 nm'de absorbanıs değişikliği, numunenin toplam antioksidan seviyesiyle ilişkilidir. Test geleneksel olarak bir vitamin E analogu olan Trolox eşdeğeri olarak adlandırılan dengeli bir antioksidan standart solüsyon ile kalibre edildi.

Deneyin yapılışı: 200 mikrolitrelik reaktif 1 hücrelere yerleştirildi ve 12 mikrolitrelik standart (veya numune) ilave edildi. İlk emilme noktası için 660 nm'de başlangıç absorbanısını okundu. Hücreye 30 mikrolitrelik reaktif 2 eklendi ve oda sıcaklığında 10 dakika ya da 37 ° C'de 5 dakika inkübe edildi, 660 nm'de ikinci kez emicilik okundu. Sonuçlar hesaplandı.

Hesaplama

Sonuç = $[(\Delta$ Abs H₂O) - (Δ Abs numune)] / $[(\Delta$ Abs H₂O) - (Δ Abs Std)]

Δ AbsH₂O = (İkinci Abs - Birinci Abs)

Δ Abs standart = (İkinci Abs Std - Birinci emilim Std)

Δ Örnek absorbanısı = (İkinci Abs örnekleme - İlk Abs örnekleme)

Birim = μ mol / L

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

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

Tam kanda HbA1c ölçümü: Tüm kanda HbA1c ölçümü, kit kullanılarak saptandı.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Serum VLDL – kolesterol ölçümü: Serum örneklerinde VLDL – kolesterol ölçümü, aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$\text{VLDL-kolesterol} = \text{Serum triglisrit düzeyi} / 5 \text{ mg/dL.}$$

3.2.6. İstatistik analiz

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

4. BULGULAR

Deneysel diyabet oluşturulan sıçanlara *Ferulago angulata* B. ekstraktı uygulamasının, böbrek dokusu paraoksonaz (PON) enzim aktivitesi, toplam antioksidan/oksidan seviyesi ile serum glukoz, lipoprotein, kolesterol ve trigliserid ile tam kanda HbA1c düzeyleri araştırıldı. Araştırma deneme gruplarına ait serum glikoz, tam kanda HbA1c, total kolesterol, trigliserit, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, VLDL-kolesterol düzeyleri, Tablo 4’de verildi. Böbrek doku PON enzim aktivite ile toplam antioksidan/oksidan seviye düzeylerinin ortalamaları Tablo 5’de verildi.

Tablo 4. Deneme gruplarının serum glukoz, tam kan HbA1c, serum toplam kolesterol, trigliserid, lipoprotein düzeyleri

	Kontrol (K)	Diabetes (D)	<i>Ferulago angulata</i> (FA)	Diyabet+ <i>Ferulago angulata</i> (DFA)
Glukoz mg/dL	110±7	449±22 ^a	91±6	225± 16 ^{a,b}
HbA1c %	4,19±0,17	6,18±0,48 ^a	4,51± 0,18	4,31± 0,20 ^b
Kolesterol mg/dL	47,67± 2,03	60,33± 1,71 ^a	48,83± 1,49	51,71±1,22 ^b
Trigliserit mg/dL	47,50± 1,44	60,33±1,70 ^a	48,83± 1,493	51,71± 1,23 ^b
HDL-kolesterol mg/dL	39,50 ± 1,32	29,50± 1,54 ^c	34,67± 1,50	35,43± 0,97 ^d
LDL-kolesterol mg/dL	6,90± 0,25	11,77 ± 0,40 ^a	8,60± 0,57	9,00± 0,32 ^{a,b}
VLDL-kolesterol mg/dL	9,40± 1,89	15,00±4,70 ^a	9,60±2,10	10,20±2,80 ^b

^a Kontrol grubuna göre kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur (p<0,05)

^b Diyabet grubuna göre kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur (p<0,05)

^c Kontrol grubuna göre kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur (p<0,05)

^d Diyabet grubuna göre kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur (p<0,05)

Diyabet grubunda, serum glikoz düzeyi, kontrol grubuna göre önemli ölçüde artmıştır (p<0,05). *Ferulago angulata* ile tedavi edilen diyabet+*Ferulago angulata* grubu ile D grubu arasında glukoz seviyesinde anlamlı bir düşüş saptanmıştır.

Diyabet grubunda HbA1c düzeyi, kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttı ($p<0,05$). Diyabet+ *Ferulago angulata B.* grubu, diyabet ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistik farklılık saptandı ($p<0,05$). D grubu ile D+FA grubu arasında anlamlı düşüş gözlemlendi ($p<0,05$).

Diyabet grubu serum kolesterol seviyesinin, kontrol grubu ile karşılaştırılmasında, diyabet grubunda önemli bir artış gözlemlendi ($p<0,05$). Diyabet+ *Ferulago angulata B.* grubu serum kolesterol seviyesi, hem kontrol hemde diyabet grubu ile karşılaştırıldığında kolesterol seviyesinde önemli bir düşüş saptandı ($p<0,05$).

Kontrol grubu serum trigliserit seviyelerinin diyabet grubuyla karşılaştırıldığında önemli bir artış ($p<0,05$), *Ferulago angulata B.* ekstraktı verilen diyabet+ *Ferulago angulata B.* grubunda, diyabet grubuna göre istatistik düşüş saptandı ($p <0,05$).

Diyabet grubu serum HDL-kolesterol seviyelerinde, K grubuna göre düşüş ($p<0,05$), D+FA grubu ile D grubu karşılaştırıldığında D+FA grubunda anlamlı artış saptandı ($p<0,05$).

Diyabet grubu LDL-kolesterol seviyeleri, kontrol grubuna göre aritmetik bir artış ($p<0,05$), D+FA grubu LDL-kolesterol seviyeleri diyabet grubuna göre önemli bir azalma saptandı ($p < 0,05$).

Diyabet grubu serum VLDL-kolesterol seviyelerinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel artış, ($p<0,05$), D+FA grubu serum VLDL-kolesterol seviyeleri ile D grubu karşılaştırıldığında D+FA grubunda önemli bir düşüş saptandı ($p<0,05$).

Tablo 5'te verilen sonuçlara göre antioksidan kapasiteler (TAS), diyabetli grupta kontrole istatistik önemde azaldı ($p<0,05$). D grubu TAS ile D+FA grubu karşılaştırıldığında D grubunda anlamlı bir düşüş ($p<0,05$) saptandı. Diyabet grubu, TOS aktivitesi, K grubuna göre arttı ($p<0,05$). D+FA grubu TOS, D grubuna göre istatistik önemde azaldı ($p<0,05$).

Tablo 5. Deneme gruplarının, böbrek dokusu PON enzim aktivitesi ile toplam antioksidan/oksidan seviye düzeyleri

	Kontrol (K)	Diabetes (D)	<i>Ferulago angulata</i> (FA)	<i>Diyabet+ Ferulago angulata</i> (DFA)
TAS (Mmol trolox eqv. /g pro	3,11±0,11	2,33±0,13 ^a	3,08±0,10	3,06±0,15 ^b
TOS (Mmol trolox µmol H ₂ O ₂ /gr protein	6,40±0,16	7,53±0,19 ^c	5,94±0,14	5,98±0,12 ^d
PON U/g protein	9,88±0,15	6,33±0,36 ^a	9,80±0,33	10,46±0,22 ^b

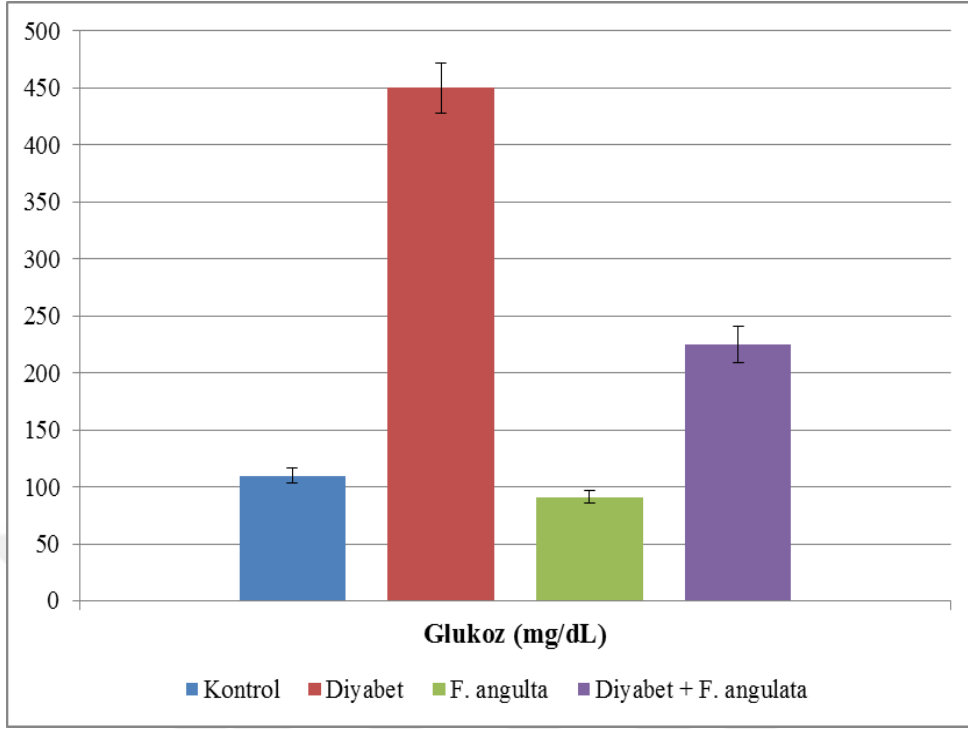
^a Kontrol grubuna göre kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur (p<0,05)

^b Diyabet grubuna göre kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur (p<0,05)

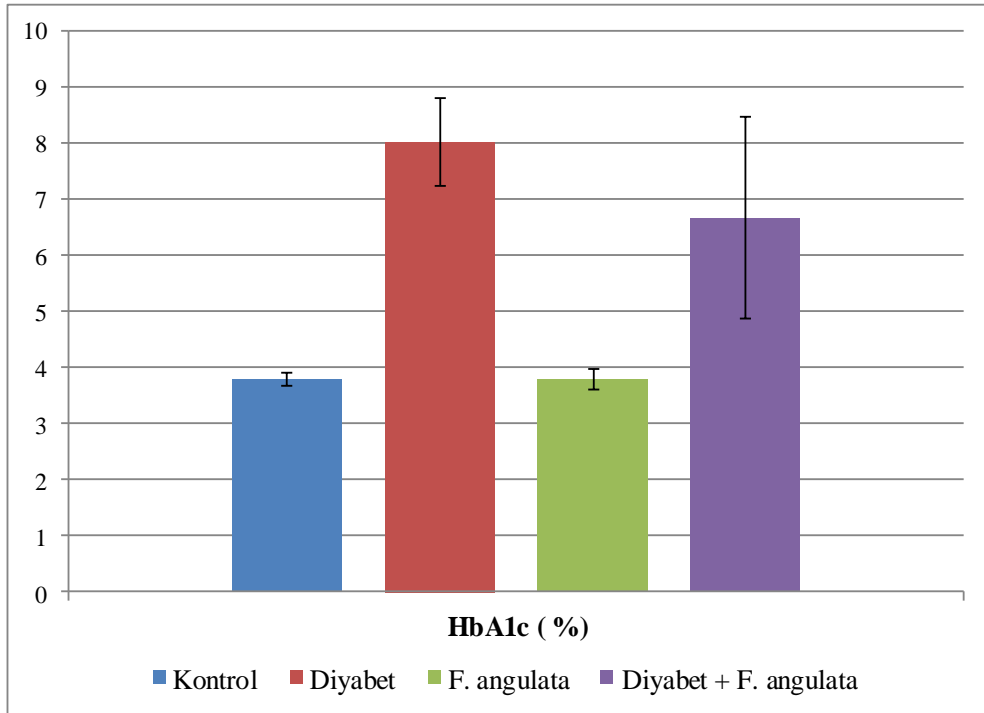
^c Kontrol grubuna göre kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur (p<0,05)

^d Diyabet grubuna göre kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur (p<0,05)

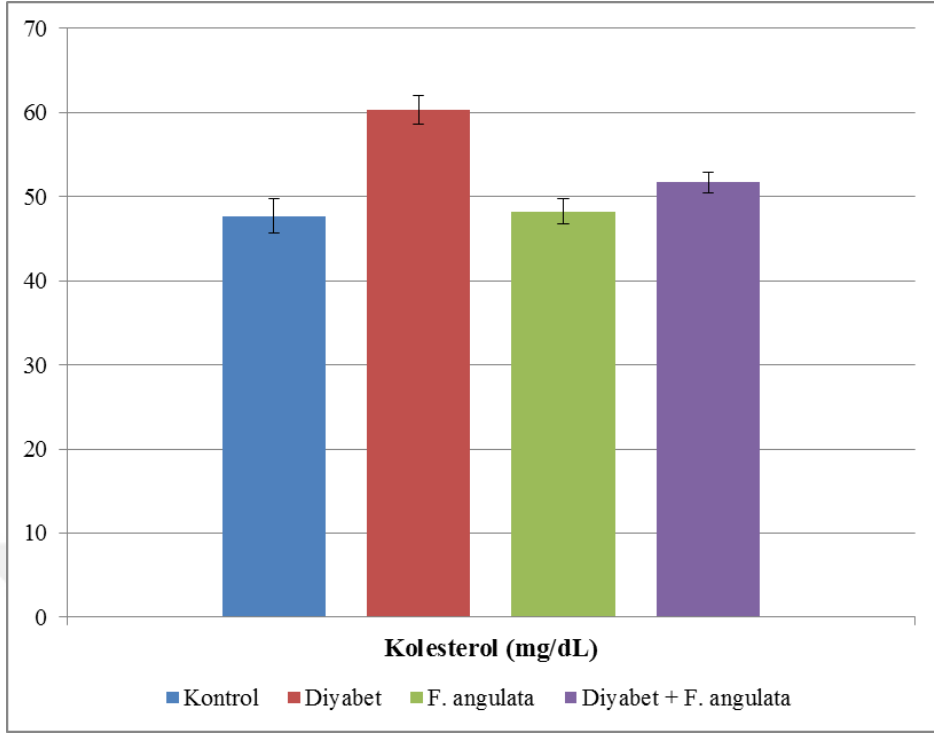
Diyabet grubu PON aktivitesi, kontrol ve D+FA grubu arasında istatistik anlamlılık vardır (p<0,05). Diyabet grubu PON aktivitesi diğer gruplara göre istatistik anlamda azalmıştır (p<0,05). D+FA grubu PON aktivitesi, D grubuna göre istatistik önemde artmıştır (p<0,05).



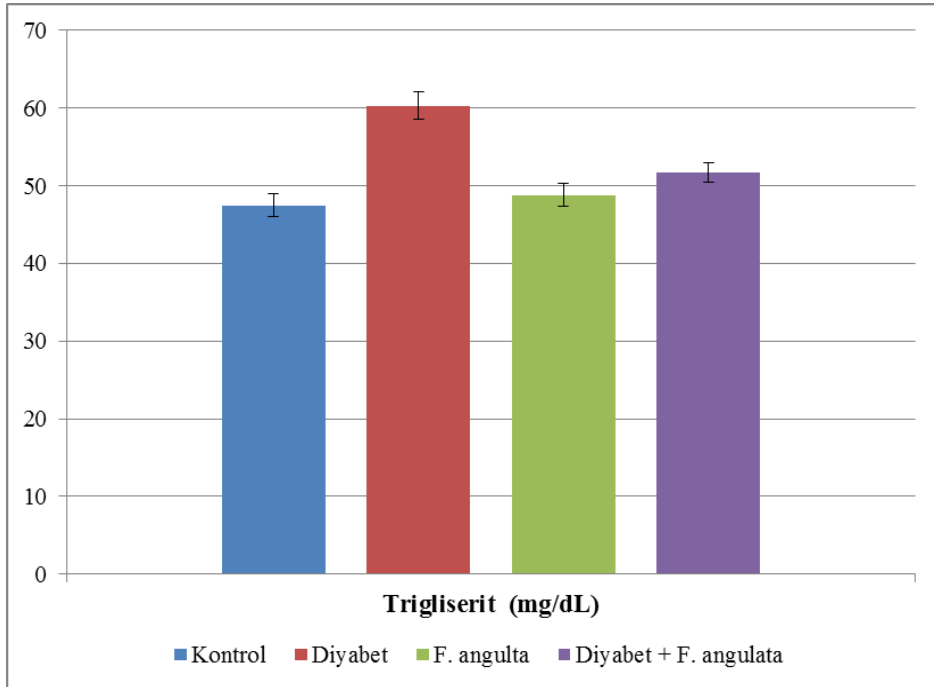
Şekil 9. Deneme gruplarındaki ortalama serum glukoz düzeyleri



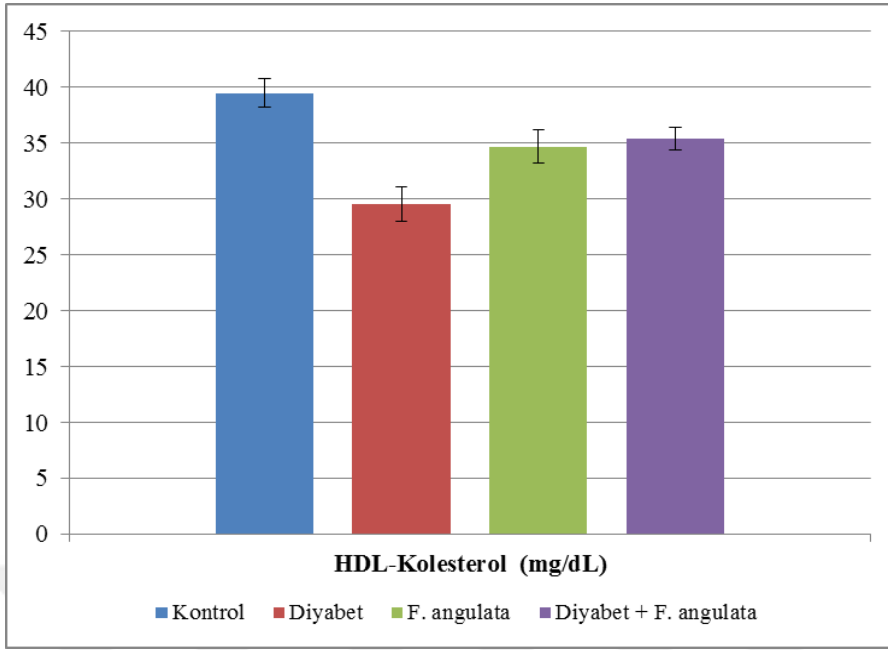
Şekil 10. Deneme gruplarındaki ortalama tam kan HbA1c düzeyleri



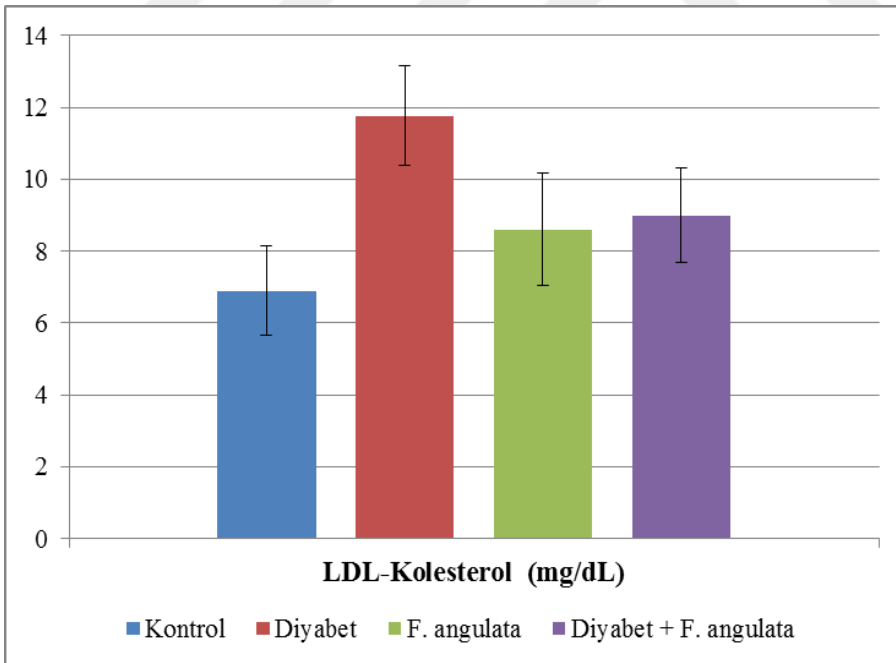
Şekil 11. Deneme gruplarındaki ortalama serum toplam kolesterol düzeyleri



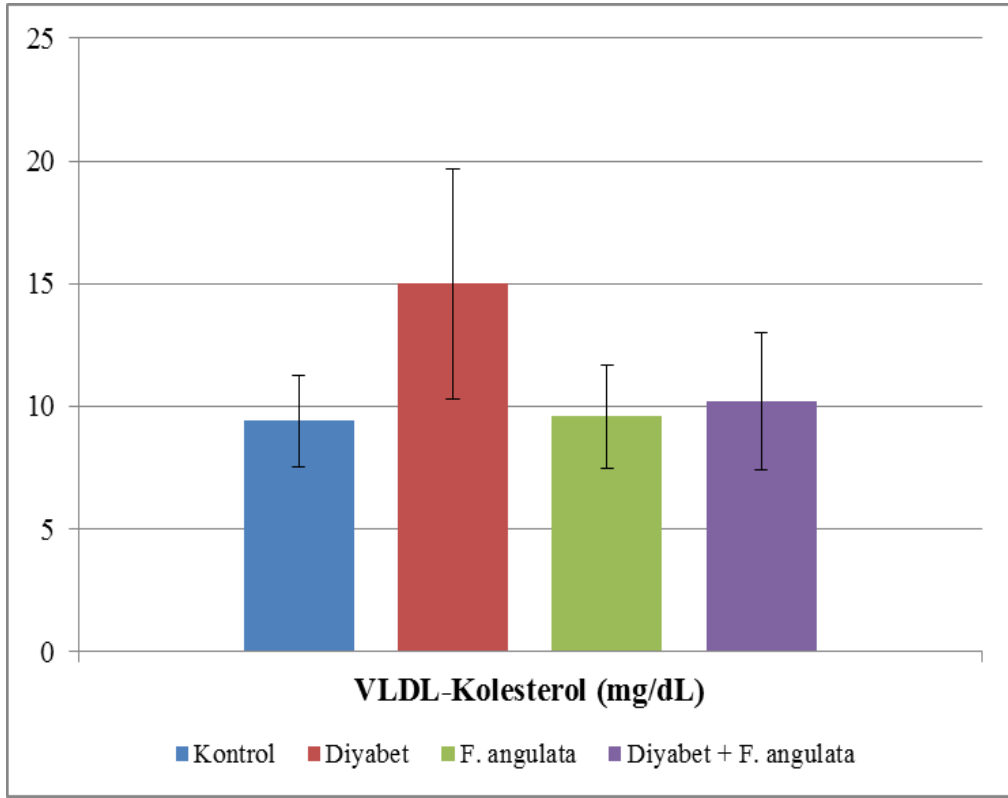
Şekil 12. Deneme gruplarındaki ortalama serum trigliserit düzeyleri



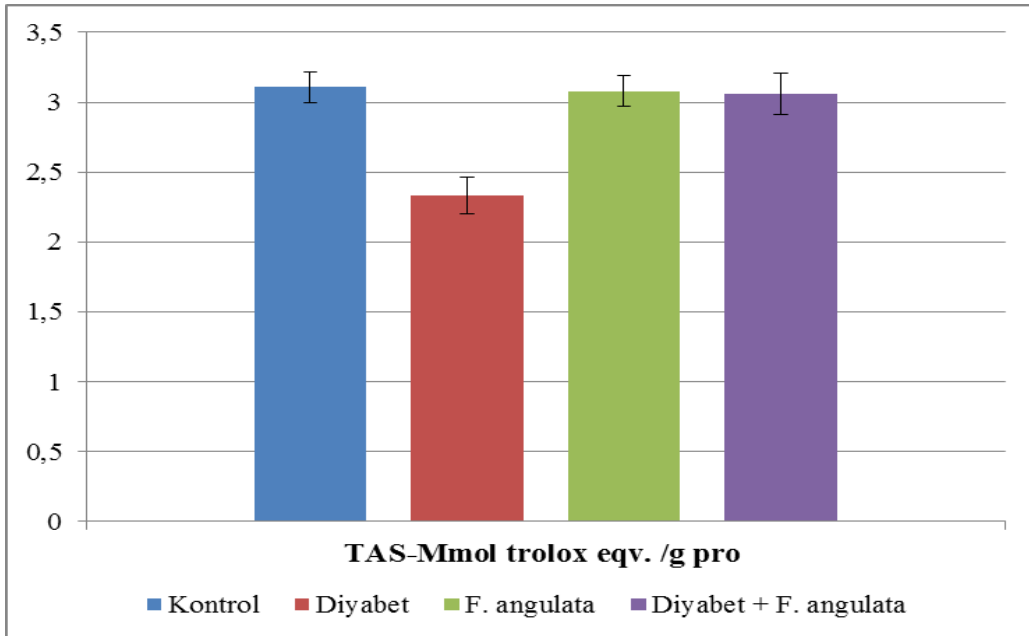
Şekil 13. Deneme gruplarındaki ortalama serum HDL-kolesterol düzeyleri



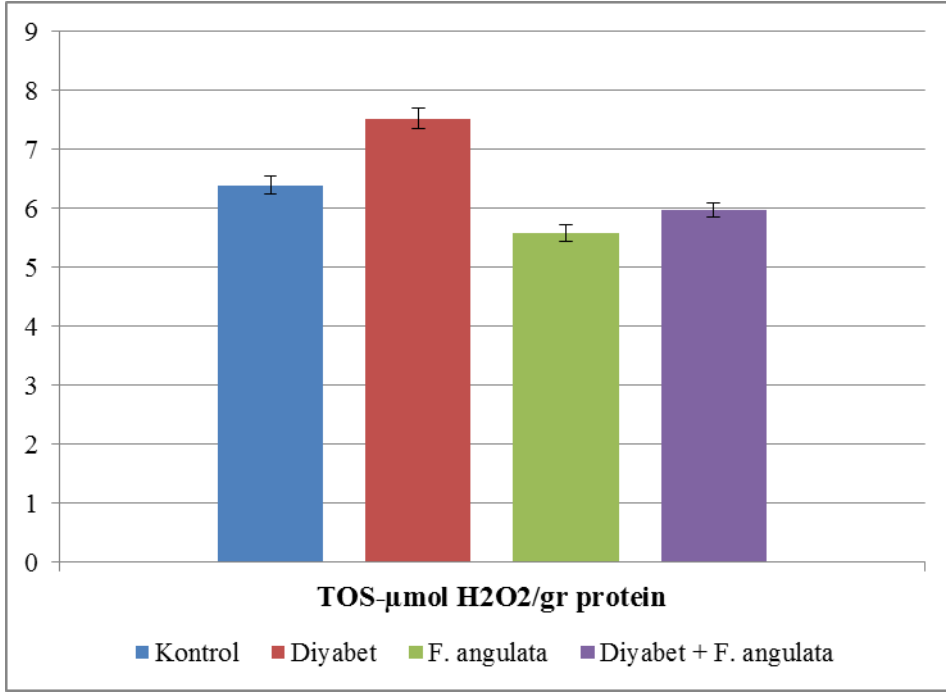
Şekil 14. Deneme gruplarındaki ortalama serum LDL-kolesterol düzeyleri



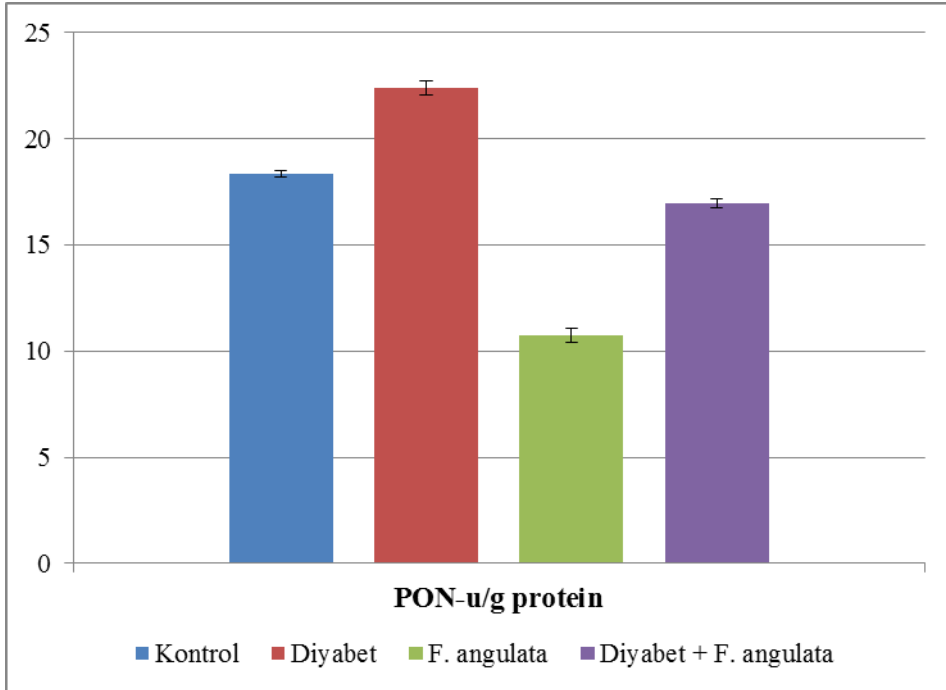
Şekil 15. Deneme gruplarındaki ortalama serum VLDL-kolesterol düzeyleri



Şekil 16. Deneme gruplarındaki ortalama böbrek dokusu ortalama TAS düzeyleri



Şekil 17. Deneme gruplarındaki ortalama böbrek dokusu TOS düzeyleri



Şekil 18. Deneme gruplarındaki ortalama böbrek dokusu PON enzim düzeyleri

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Karbonhidrat metabolizmasında komplikasyonlara neden olan DM hücrelerin, oksijenli solunumda glukoz kullanılmadığı için ortamda bir veya daha çok eşlenmemiş elektron içeren serbest radikallerin miktarı yükselir. Serbest radikallerin meydana gelmesi sonucunda membran lipidlerinin premeabilitesinin artması, peroksidasyonu, proteinlerin ve sülfhidril gruplarının oksitlenmesi ve çarpaz bağlanması ortaya çıkar, bu da DNA yapısında mutasyonlara ve neticede hücre ölümlerine sebep olmaktadır (Zadák ve ark., 2009). Bir ve ya birden fazla ortaklanmamış elektron içeren atom veya moleküller serbest radikaller olarak tanımlanır (McDowell ve ark., 2007; Zadák ve ark., 2009). Serbest radikaller vücuttaki metabolik ve biyokimyasal süreçlerde veya çevrede yer alan dış kaynaklara maruz kalınması neticesinde ortaya çıkar. Mitokondride oksijen ATP üretmek için kullanılır. Oksijenin büyük kısmı su oluşturmak için indirgenir ancak çok az bir kısmı tamamen indirgenemez ve oksijen ara ürünlerini ortaya çıkarır. Sonuç olarak dokularda normal fizyolojik metabolizma esnasında serbest radikal üretimi meydana gelir. ROT'un çevresel kaynakları ise UV ışıkları, radyasyon, sigara, kimyasal reaktifler, endüstriyel çözücüler, ilaçlar, etanol ve çevre kirliliğidir. Bu ilaçlar ve kimyasal madde biyolojik bileşiklerin direkt oksidasyonuna neden olarak, ROT'u ortaya çıkarır (Zadák ve ark., 2009).

Araştırmada serum glikoz düzeylerinde K grubu ile D grubu mukayese edildiği zaman, D grubunda anlamlı artış görülmüştür ($p<0,05$). D+FA grubu serum glukoz düzeyleri D grubuna göre istatistik önemde düşük saptanmıştır.

ADA'nın 2010 diyabet standardizasyonuna göre; HbA1c referans değeri ≥ 6.5 olarak kabul edilmiştir. HbA1c testi ancak Diabet Kontrol ve Komplikasyon Merkezi (DCCT)'nin onayladığı ve Ulusal Glikohemoglobin Standardizasyon Programının (NGSP) kullanıldığı laboratuvarlarda uygulanması durumunda kabul edilebilir (Sacks ve ark., 2002; ADA, 2003).

Araştırmada diyabet (D) grubu HbA1c değerlerinin; K grubu ile karşılaştırılmasında istatistik anlamlılıkta artış saptanmıştır ($p<0,05$), bunun aksine D+FA grubu HbA1c değerlerinin D grubu ile karşılaştırılmasında istatistik anlamlılıkta

azalma ortaya çıkmıştır ($p<0,05$). Çalışmada elde edilen serum glukoz ve HbA1c değerleri literatür verileriyle uyum içindedir.

İnsan vücudunda ROT ve RNT'nin sebep olduğu hücre hasarına karşı geliştirilmiş kompleks bir savunma sistemi mevcuttur. Özel enzimler olan GSH-Px, CAT, SOD enzimleri, C ve E vitaminleri, glutatyon ile beta karoten savunma mekanizmasını meydana getirmektedir (Heyland ve ark., 2005). Normal durumlarda ROT ve RNT'nin zararlı etkileri vücudun oluşan antioksidan savunma sistemi tarafından etkisiz hale getirilir. Oldukça reaktif olan serbest radikallere antioksidanlar kararlılık kazandırır ve bunun neticesinde fonksiyonel ve hücrenin yapısal tamlığı korunur. Bu sebepten antioksidanlar bağışıklık sistemi ve insan sağlığı için çok önemlidir (McDowell ve ark., 2007).

İnsan vücudunda serbest radikal üretimi ve bunlara karşı koruma sağlayan antioksidan savunma sistemi arasında hassas bir denge vardır. Serbest radikallerde bir artım veya antioksidan korumadaki bir eksiklik bu dengeye zarar verir ve oksidatif strese neden olur (McDowell ve ark., 2007). Bu sebeple ROT'nin zararlı etkisinin önüne geçmek için bütün canlı sistemlerde hücrelerin yeterli düzeyde antioksidan savunmaya ihtiyacı vardır (Abou-Zeina ve ark., 2013). Antioksidan savunma sistemi ise diyetle bulunan mineral, vitamin ve doğal antioksidanlar ile yakından bağlıdır (Zadák ve ark., 2009). Bazı doğal gıdalar, aktif antioksidan bileşikler olan lignanlar, isoflavonlar, izokateşinler, antosiyaninler, flavonoidler, flavonlar, kateşinler ve kumarinler ile antioksidan potansiyeli olduğu malum olan β -karoten ve α -tokoferol, C ve E vitaminleri bakımından zengindir (Jain ve ark., 2008). Bu diyetsel antioksidanlar hastalıklara karşı enfeksiyon ve duyarlılığa sebep olan patojenlere karşı dayanıklılık sağlarlar. Son dönemlerde sentetik ilaçların yan etkilerinden dolayı bitki ile tedavilerin kullanılma oranında ciddi bir yükseliş görülmektedir (Abou-Zeina ve ark., 2013).

Ferulago angulata bitkisi sindirim ağrıları, ülser tedavisi, hemoroit ve yılan ısırıklarında; bununla birlikte sakinleştirici olarak uzun yıllardan beri tedavi için kullanılan tıbbi bir bitkidir (McDowell ve ark., 2007; Abou-Zeina ve ark., 2013). Bu nedenle çalışmada, binlerce yıldan beri hem gıda maddesi olarak hem de içermiş oldukları doğal antioksidan bileşikler sebebiyle insan sağlığına olan olumlu etkilerinden

dolayı tedavi kullanılan *Ferulago angulata* türlerinden biri olan *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss. bitkisinin vitamin, mineral miktarları, toplam fenol, toplam flavonoid içeriği ve antioksidan kapasitesini aynı zamanda serbest radikalleri süpürerek göstermiş olduğu antiradikal aktivitesi kullanılarak diyabet oluşturulan sıçanlarda antioksidan savunma sistemi üzerine olan etkileri belirlenerek, bundan sonra yapılacak olan çalışmalara bir referans teşkil etmesi amaçlandı.

Diyabet, plazma lipoproteinlerde ve tüm lipoproteinerde bir çok kompleks ve birbiriyle ilişkili anormalitelerle tanımlanmaktadır (Krauss, 2004; Taskinen, 2002). Artmış kardiyovasküler risk ile diyabetik dislipidemi karışmış vakalardır. Diyabetik dislipideminin en önemli noktalarından birisi, VLDL-kolesterolün hepatik kiresindeki bozulma ve karaciğerde VLDL-kolesterol ile zengin trigliseritlerdeki artışıdır (Adiels ve ark., 2006).

VLDL-kolesterol iki sınıfa ayrılır; VLDL-2- kolesterol VLDL-1-kolesterol'den daha küçüktür ve diyabette seviyesi yükseldiğinden ötürü diyabetin belirleyici sınıfıdır. Bu araştırmada toplam VLDL-kolesterol düzeyi analiz edildi (Hiukka ve ark., 2005).

Çalışmada diyabet grubu kolesterol seviyesinin istatistik anlamlılıkta yükseldiği, *Ferulago angulata* Boiss verilmesi ile birlikte bu düzeylerin azaldığı tespit edildi ($p<0,05$).

Yapılan deneysel çalışmalarda diyabetin kolesterol seviyesini arttırdığı, bitki ekstratlarının uygulanması ile bu artışın düştüğü belirtilmiştir (Mahmood, 2016; Shinki, 2016; Shamsulddin, 2017). Bu çalışmaların sonuçları ile çalışmada elde edilen düzeyler uyum göstermektedir.

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

Diyabette LDL-kolesterol düzeyindeki artma özellikle trigliserit seviyesinde ve insülin direncinde yükselme ile indüklenir (Verges, 2005). HDL-kolesterol ile ilişkili

olan PON enziminin klinik rolü LDL-kolesterolün peroksidasyonunu önlemesidir. Bu enzimin seviyesindeki azalma enzim molekülünün HDL-kolesterol ile olan ilişkisinin kopmasından kaynaklanabilir (Abbott ve ark., 1995). Doğal olarak, PON enzimi, Apo A1 ve apolipoprotein J içeren HDL ile ilişkilidir (Ying, 2010). Enzim proteini, Apo A1 ve HDL arasında yitirilmiş ya da zayıf bir korelasyon olduğu göz önünde bulunmaktadır. Bundan başka, dolaşımdaki endojen inhibitörler ve/veya artmış PON glikolizasyonu sebebiyle diyabette enzimin büyük bir kısmı inaktiftir (Abbott ve ark., 1995).

Sunulan çalışmada *Ferulago angulata* Boiss bitkisi ile tedavi edilen D+FA grubu trigliserit, LDL ve VLDL düzeylerinde diyabet grubu değerlerine göre anlamlı düşüş ($p<0,05$), HDL seviyesinde ise istatistik bir artış belirlendi ($p<0,05$). Çalışmada bitki ekstresi verilen grup serum trigliserit, LDL ve serum VLDL düzeylerinde düşüş görülmesi, Shinki (2016) ve Shamsulddin (2017) çalışmalarında elde edilen sonuçlarla uyum içindedir.

Çeşitli deneylerde, bitkilerin PON enzim aktivite seviyesinde artışa sebep olduğu gösterilmiştir (Parsaeyan ve ark., 2012; Takaeidi ve ark., 2014; Yegin ve ark., 2013). Bu sebeple yüksek miktarda trigliserit kapsayan VLDL-kolesterolün varlığı LDL-kolesterol üretimi için önemlidir ve bu da diyabette hipertrigliseritemi ile bağlı LDL-kolesterol seviyesi artışını açıklayabilir (Krauss, 2004; Taskinen ve Borén, 2015). VLDL-kolesterol düzeyindeki yükseliş, metabolik davranışta ve patolojideki rollerinde farklı olan küçük yoğun LDL-kolesterol partiküllerinin oluşumuna da neden olmaktadır (Krauss, 2004). Genellikle, diyabette kolesterol artması kolesterolce zengin lipoproteinlerin artmış glikasyonundan kaynaklanmaktadır (Monnier ve ark., 1994). İnsülin direncinde ve T2 DM’de kolesterol sentezinin yükseldiği bilinmektedir. Bununla birlikte, bu artış obeziteden bağımsız olarak insülin direncine bağlıdır (Gylling ve ark., 2010).

Son yıllarda, birçok hastalığın patogenezinin artmış serbest radikal aktivitesiyle bağlantılı olduğu ortaya konmuş ve yaşlanmadan, kanser ve koroner kalp hastalıklarına kadar birçok durumun tedavisi için antioksidanların rolüne dikkat çekilmiştir (Cross ve

ark., 1987). Oksidatif stresin diyabet ve kardiyovasküler hastalıkların patogeneğinde ve ilerlemesinde önemli bir rolü bulunmaktadır (Dhalla ve ark., 2000).

Birçok oksidan ve antioksidan molekülün serum veya plazma düzeylerini belirleyen çeşitli analitik yöntemler mevcuttur (Tarpey ve ark., 2004). Ancak bu moleküllerin ayrı ayrı ölçülmesi hem zaman alıcı, hem de zordur. Ayrıca ekonomik yönden de zorlayıcıdır. Bu sebeple “total antioksidan durum” ya da “total oksidan durum” ölçümü bir örnekteki oksidan ve antioksidan moleküllerin ayrı ayrı ölçülmesinden daha pratiktir (Ghiselli ve ark.,2000; Erel, 2004; Erel, 2005).

Shinki (2016) yaptığı çalışmada silmarin ekstresi uyguladığı deneysel diyabetli sıçanlarda TAS düzeylerinde artış, TOS düzeylerinde azalma saptamış, çalışmada TAS ve TOS düzeyleri, Shinki'nin elde ettiği verilerle uyum içindedir (Shinki, 2016).

Shamsulddin (2017), zeytin yaprağı ekstresi uyguladığı diyabet oluşturulmuş sıçanlarda, TAS ve TOS seviyelerine etkisini araştırmış, diyabet grubunda TAS düzeyinde düşüş, TOS düzeyinde ise artış saptamıştır. Deneysel diyabet sonrası zeytin yaprağı uygulamasının TAS düzeyinde artışa, TOS düzeyinde azalmaya neden olduğunu saptanmıştır. Ortaya çıkan bu sonuçlar bizim sonuçlarımızla uyum içindedir. (Shamsulddin, 2017).

Çalışmadaki diyabet grubu sıçanlarda TAS değerleri K grubuyla karşılaştırılmasında anlamlı azalma gözlemlenmiş ($p<0,05$), D+FA grubunda anlamlı artış saptanmıştır ($p<0,05$). TOS değerlerinin gruplar arası mukayese edilmesinde K grubuna göre, D grubunda anlamlı artış ($p<0,05$), D grubuna göre, D+FA grubunda anlamlı azalma gözlemlenmiştir ($p<0,05$). Çalışmada elde edilen TAS ve TOS düzeyleri önceki yapılan çalışmalarla uyum göstermektedir.

Ferulago angulata daki biyoaktif bileşikler muhtemelen PON aktivitesinde artışa neden olmaktadır. Bu sonuçların bitkinin antioksidan mekanizmalarından kaynaklandığı düşünülebilir. Antosiyaninlerin, PON enzim aktivitesini düzeltmede önemli rollerinin olduğu görülmektedir ve bu özellikleri hiperkolesterolemik sıçanlarda kolesterol eflüks kapasitesinde artışa sebep olmuştur. Antosiyaninlerin lipid düzeylerini düşürme yeteneklerinin PON enzim aktivitesindeki artış ile HDL-kolesterol

fonksiyonuna ve aortik kolesterolün düşürülmesine yol açtığına göre, *Ferulago angulata* ekstresinin PON enzim aktivitesi üzerindeki uyarıcı etkisinin katkı sağlaması ile ilişkili olduğu ortaya konulmuştur (Farrell ve ark., 2015).

PON enzimi, LDL-kolesterolü oksidasyondan muhafaza eder ve hücre membran oksidasyonunu inhibe eder. Bu sebeple bu enzim, antiaterojenik bir enzim olarak bilinmekte, ateroskleroz oluşumuyla doğrudan ilişkili olduğu görülmektedir. PON1 enzimi, HDL-kolesterolün antioksidan aktivite etkisine pozitif etki sağlar. PON enzim aktivitesindeki eksiklik enflamatuvar temelli yaygın birçok hastalıkla bağlıdır, HDL-kolesterol fonksiyonunda bozulmaya sebep olmakta ve neticede enflamasyonu ve ateroskleroza ilerletmektedir (Mackness ve Mackness, 2015).

Saeed (2016) ve Mahmood (2016); deneysel diyabet oluşturdukları ve sonrasında intragastik yolla bitki ekstresi uyguladıkları sıçanlarda, diyabet grubunda serum PON enzim seviyelerinde azalma, deneysel diyabet sonrası bitki ekstresi ve yağ vermeleri sonrası PON enzim aktivitesinde artış saptamışlardır.

Daha önce yapılan bir çalışmada elde edilen sonuçlara göre, yaban mersini ekstresinin PON enzim aktivitesi üzerindeki uyarıcı etkisinin sağlık üzerinde göstermiş olduğu pozitif roller çok sayıda fizyolojik olaylarla açıklanabilir (Saeed, 2016). PON enzimi, LDL-kolesterolü oksidasyondan korur ve hücre membran oksidasyonunu inhibe eder. PON1 enzimi, HDL-kolesterolün antioksidan aktivite etkisine pozitif etki sağlar. PON enzim aktivitesindeki eksiklik enflamatuvar temelli yaygın birçok hastalıkla bağlıdır, HDL-kolesterol fonksiyonunda bozulmaya sebep olmakta ve sonuçta enflamasyonu ve ateroskleroza geliştirmektedir (Mackness ve Mackness, 2015).

Daha önce de gösterildiği gibi PON1 enzimi, özellikle aterogenezde başlıca rol oynadığı onaylanan lipid peroksitlerin oksidasyonunu önlediğinden, antioksidan savunma sistemi içinde yer almaktadır. *Ferulago angulata* ekstresinin, PON enziminin sağlık üzerindeki bütün pozitif etkilerini, PON enzim aktivitesini arttırarak, özellikle koroner arter hastalığı ile bağlı hastalıkların ilerlemesinde önleyici ve dislipidemiye düzelterek tedavi edici rollere sahip olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte bu sonuçlara rağmen daha ileri ve doğrulayıcı araştırmaların yapılmasının yararlı bilgiler elde edilmesi açısından gerekli olduğu kanaatindeyiz.

Sonuç olarak, çalışmada *Ferulago angulata* ekstresinin, hiperglisemiyi iyileştirdiği ve diyabetik dislipidemiği hafiflettiği ortaya konuldu. *Ferulago angulato* bitkisinin diyabetle birlikte gelişebilecek komplikasyonları önleyeceği, bununla ilgili farklı düzeylerde bitki ekstresinin uygulamasının daha yararlı sonuçların elde edilmesinde yararlı olacağı kanaatine varıldı.



ÖZET

ABBASZADE S, Deneysel Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda *Ferulago angulata* (Schlecht) Boiss Uygulamasının Paraoksonaz Enzim Aktivitesi Antioksidan/Oksidan Durumu ve Lipoprotein Düzeyleri Üzerine Etkisi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Eczacılık Bilimleri Anabilim Dalı Biyokimya Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van, 2017. Bu çalışmada; *Ferulago angulata* B. ekstresinin streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda böbrek dokusunda paraoksonaz (PON), toplam antioksidan-oksidan seviye, lipoprotein seviyeleri üzerindeki etkisinin araştırılması amaçlandı. Sıçanlar, kontrol (K), diyabet (D), *Ferulago angulato* ekstresi (FA), diyabet+*Ferulago angulato* ekstresi grubu (D+FA) olarak ayrıldı, her bir grupta 7 sıçan yer aldı. Diyabet oluşumu, D ve D+FA grubu sıçanlara tek doz streptozotosin (40 mg/kg) intaperitonal (i.p.) uygulandı. 3 gün sonra >270 mg/dl ve üstü glukoz düzeyine sahip sıçanlar diyabet olarak değerlendirildi. Yirmialtı gün süreyle K ve D grubuna, 1 mL distile su; FA ve D+FA grubuna, *F. angulata* ekstresi (600 mg/kg doz) distile suda çözündürülerek intragastrik gavaj yoluyla uygulandı. Çalışma sonunda tam kanda HbA1c serumda glukoz, lipoprotein, böbrek dokusunda paraoksonaz (PON), TAS, TOS analiz edildi. Glukoz ve glikolize hemoglobin (HbA1c) seviyelerinde D grubunda diğer gruplara göre istatistik önemde bir artış oldu. D+FA grubu glukoz ve HbA1c seviyeleri ile D grubunun karşılaştırılmasında istatistik önemde bir düşüş saptandı ($p<0.05$). D grubu serum kolesterol düzeyi, istatistik olarak yükseldi ($p<0.05$). D+FA grubu serum trigliserit düzeyi, diğer gruplara göre düştü ($p<0.05$). D grubu serum HDL-kolesterol düzeyi, istatistik anlamlılıkta azalırken, D+FA grubunda yükseldi ($p<0.05$). D grubu TAS düzeylerinde, D+FA grubu ile karşılaştırıldığında azalma, TOS düzeylerinde artış saptandı ($p<0,05$). D grubu paraoksonaz düzeyi, K grubuna göre düştü ($p<0.05$). D+FA grubu ekstre uygulaması sonrası önemli derecede arttı ($p<0,05$). Sonuçta, *F. angulata* ekstresinin hiperglisemiyi düzelttiği ve diyabetik dislipidemiyi hafiflettiği gösterildi. *Ferulago angulato* bitkisinin diyabetle birlikte gelişebilecek komplikasyonları önleyeceği, bununla ilgili farklı düzeylerde bitki ekstresinin uygulamasının daha yararlı sonuçların elde edilmesinde yararlı olacağı kanaatine varıldı.

Anahtar Sözcükler: Diyabet, *Ferulago angulata* (Schlecht) Boiss ekstresi, paraoksonaz, antioksidan/oksidan seviye, böbrek dokusu, lipoproteinler.

SUMMARY

ABBASZADE S, The Effect of *Ferulago angulata* (Schlecht) Boiss. Application on the Paraoxonase Enzymes Activities, Antioxidant / Oxidant Status and Lipoprotein Levels in Experimental Diabetic Rats. Van Yuzuncu Yil University, Health Science Institute, Department of Basic Pharmacy-Biochemistry, MSci Thesis, Van, 2017. The aim this study was to investigate the effect of *Ferulago angulata* B. (poppy, FA) extract on Paraoxonase Activity (PON), Total Antioxidant Capacity (TAC), Total Oxidant Status (TAS) and lipoprotein levels in the kidney tissues of streptozotocin induced diabetic rats. The rats were divided into 4 groups (7 rats in each group) as follows: Control (C), Diabetes (D), *Ferulago angulata* extract (FA), and Diabetes + *Ferulago angulata* extract (D+FA). In Groups D and D+FA, experimental diabetes was induced in the rats by injecting 45 mg/kg single dose of streptozotocin intraperitoneally (ip) and rats with glucose levels above 270 mg/dL after 3 days of injection were considered as diabetic. 1 mL distilled water to the Groups C and D, and *F. angulata* extract at a dose of 600 mg/kg/day to the Groups FA and D+FA were administered through intragastric gavage for a period of 26 days. For the evaluation, Glycated hemoglobin (HbA1c) in whole blood, glucose and lipoproteins in serum, and PON, TAC, TAS levels in kidney tissues were analyzed, respectively. While glucose and HbA1c levels were found to be increased significantly in the group D in comparison to the group C, a statistically significant decrease was observed for these parameters in group D+FA compared to group D ($p < 0.01$). Cholesterol levels was increased significantly in group D and decreased significantly in group D + FA groups ($p < 0.05$). Triglyceride levels were significantly increased in groups D ($p < 0,001$) and D + FA ($p < 0.01$). Serum HDL and cholesterol levels were decreased significantly in group D ($p < 0,001$), whereas they were increased in group D+FA ($p < 0.05$). Serum LDL-cholesterol and VLDL- cholesterol levels were increased in group D, and also there was a statistically significant increase in their levels in group D as compared to group D+FA ($p < 0.05$). In kidney tissues, a statistically significant decrease in PON in group D ($p < 0.001$) was observed in comparison with group C. Furthermore, a statistically significant increase ($p < 0.05$) was found in PON levels in group D+FA in comparison with group D. In kidney tissues, TAS levels were decreased in group D and increased in group D+FA ($p < 0,01$), and also a statistically significant increase in TOS levels in group D and a statistically significant decrease in group D+FA were observed. It can be concluded from this study that poppy extract improved hyperglycemia and alleviated diabetic dyslipidemia, which also exhibited inhibitory effects. As a result, it can be suggested that the extract of *Ferulago angulata* plant could prevent complications associated with diabetes mellitus, which can offer further advantages with different concentrations in this context.

Key Words: Diabetes, *Ferulago angulata* (Schlecht) Boiss ekstract, paraoxonase, total antioxidant/oxidant status, kidney tissue, lipoproteins

KAYNAKLAR

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

Abou-Zeina H.A.A, Ghazy A.A, EL-Bayoumy M.K, Dorgham S.M, Khairy E.A, Twfik H.I (2013). Effects of dietary antioxidants supplementation on cellular immune response and evaluation of their antimicrobial activity against some enteric pathogens in goats. *Global Veterinaria*, 11, 2, 145-154.

Acker K, Apelqvist J, Bakker K (1999). Diyabetik Ayağın Epidemiyolojisi, In: Acker K (Ed). Diyabetik Ayakta Uluslararası Konsensus, İstanbul Medikal Yayıncılık, İstanbul, 20-27.

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

Ahmad T, Ulhaq I, Mawani M, Islam N (2017). Microalbuminuria in type-2 diabetes mellitus; the tip of iceberg of diabetic complications. *Pak J Med Sci*, 33, 3, 519-523.

Akalın S, Aslan M, Başkal N (2000). Diyabetes Mellitus Tedavisinde Hasta Eğitiminin Önemi, In: Yılmaz C (Ed). Diabetes Mellitus, İstanbul, Gri Tasarım, İstanbul, 47-52.

Akkuş İ (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, 38, Kuzucular Ofset. Konya.

Aksoy Y (2002). Antioksidan mekanizmada glutatyonun rolü. *Klinik Tıp Bil*, 22, 442-448.

Aldridge WN (1953). Serum esterases. II. An enzyme hydrolysing diethyl pnitrophenyl phosphate (E600) and its identity with the A-esterase of mammalian sera. *Biochem J*, 53,11, 7-24.

Altan N, Dinçel AS, Koca C (2006). Diabetes mellitus and oxidative stress. *Turk J Biochem*, 31, 2, 51-56.

Altuntaş Y (2001). Diabetes Mellitusta Laboratuvar, Tanı Gözleme Testleri ve Metodları. In: Yenigün M (Ed). Her Yönüyle Diabetes Mellitus, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 63-67.

American Diabetes Association (ADA) (2003). Gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 26, 103-105.

American Diabetes Association (ADA) (2005). Diagnosis and classification of Care, diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 28, 37-42.

American Diabetes Association (ADA) (2006). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 29, 43-48.

American Diabetes Association (ADA) (2008). Clinical practice recommendations standarts of medical care, Position statement. *Diabetes Care*, 31, 12-54.

American Diabetes Association (ADA) (2009). Summary of Revisions Forth Clinical Praticce Recommendations. *Diabetes Care*, 32.

Anand BK, Bharathidevi SR, Sripriya S, Sen P, Prakash VJ, Bindu A, Viswanathan N, Angayarkanni N (2016). Serum paraoxonase activity in relation to lipid profile in age-related macular degeneration patients. *Exp Eye Res*, 152, 100-112.

Anonim (2011-2014). Türkiye Diyabet Önleme ve Kontrol Programı Eylem Planı. Ankara.

Arulkumar M1, Vijayan R, Penislusshiyam S, Sathishkumar P, Angayarkanni J, Palvannan T (2017). Alteration of paraoxonase, arylesterase and lactonase activities in people around fluoride endemic area of Tamil Nadu, India. *Clin Chim Acta*, 471, 206-215.

Asghari, J., Touli, C.K., Mazaheritehrani, M., Aghdasi, M., 2012. Comparison of the microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Ferulago angulata* (Schelcht.) Boiss. *European J Med Plants*, 2, 4, 324-334.

Ası T, (1999). Tablolarla Biyokimya Cilt 2. <http://veterinary.ankara.edu.tr/~fidanci>. Ankara Üniversitesi, Ankara. Erişim tarihi: 01/02/2015.

Assmann G, Schulte H (1992). Relation of high-density lipoprotein cholesterol and triglycerides to incidence of atherosclerotic coronary artery disease. *The Procarn Experience*, 70, 733-737.

Austin MA, King MC, Vranizan KM (1990). Atherogenic lipoprotein phenotype: A proposed genetic marker for coronary heart disease risk. *Circulation*, 82, 495-506.

Azarbani F, Saki Z, Zareei A, Mohammadi A (2014). Phenolic contents, antibacterial and antioxidant activities of flower, leaf and stem extracts of *Ferulago angulata* (Schlecht) Boiss. *Int J Pharm and Pharma Scien*, 6, 10, 123-125.

Bağrıaçık N, İpbüker A, Görpe U (2003). Post-Prandial Hipergliseminin Önemi ve Tedavisi. İçinde:Bağrıaçık N (Ed.). Diabet ve Obezite Eğitim Kursu Notları, İstanbul, 25-28.

Banadonna R, Groop L, Kraemer N, Defron Z (1990). Diabet ve Obezite Eğitim Kursu Notları, In: Bağrıaçık N (Ed). İstanbul, 25-28.

- Barakat A, Carpenter TW, Lendon VD (1990). Obesity and insulin resistance in man: A response study. *Metabolism*, 39, 452–459.
- Bast A, Haenen GR, Doelman CJ (1991). Oxidants and antioxidants: State of the art. *Am J Med*, 91, 2-13.
- Başkol G, Köse G (2004). Paraoksonaz: Biyokimyasal özellikleri, fonksiyonları ve klinik önemi. *Erciyes Tıp Derg*, 26, 2, 75-80.
- Bayrak A, Bayrak T, Bodur E, Kılınç K, Demirpençe E (2016). The effect of HDL-bound and free PON1 on copper-induced LDL oxidation. *Chem Biol Interact*, 25, 257, 141-146.
- Bayraktar F (2004). Diabetes mellitus: Sınıflandırma ve tanı kriterleri. *Galenos Tıp Derg*, 7, 8-20.
- Bergman M, Gidez Lewis, I, Eder H (1986). High density lipoprotein subclasses in diabetes. *The Am J Med*, 81, 488–492.
- Betteridge DJ (1997). Lipid disorders in diabetes mellitus. In: Diabetes Pickup J, Williams G (Ed), Blackwell Science, Victoria, USA, 2, 55. 1–55.
- Bowen RS, Moodley J, Dutton MF, Theron AJ (2001). Oxidative stress in pre-eclampsia. *Acta Obstetricia Gynecologica Scandinavica*, 80, 8, 719-725.
- Bryne CD, Wild SH (1994). Lipoprotein (a) in health and disease. *British J Pharma*, 48, 4, 206-211.
- Browning KL, Lind TK, Maric S, Malekhaat-Häffner S, Fredrikson GN, Bengtsson E, Malmsten M, Cárdenas M (2017). Human lipoproteins at model cell membranes: Effect of lipoprotein class on lipid exchange. *Sci Rep*, 7, 1, 74-78.
- Büyükdevrim AS (1989). Diabetes Mellitus T.C. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yayınları, I. Baskı. No:3. İstanbul.
- Can S (2000). Geriatrik toplulukta yüksek diyabet prevalansı. *Türk Diyabet Yıllığı*, 16, 103-106.
- Campos H, Genest JJ, Blijlevens E (1992). Low density lipoprotein particle size and coronary artery disease. *Atherosclerosis*, 12, 187–195.
- Cao H (1999). Paraoxonase protection of LDL against peroxidation. *J Lipid Res*, 40, 133-139.
- Chang GR, Chen WK, Hou PH, Mao FC (2017). Isoproterenol exacerbates hyperglycemia and modulates chromium distribution in mice fed with a high fat diet. *J Trace Elem Med Biol*, 44:315-321

Cheeseman KH, Slater TF (1993). An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, 49, 481-493.

Cheng AY, Fantus IG (2005). Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Canadian Medical Association*, 172, 2, 213-226.

Chen X, Duong MN, Psaltis PJ, Bursill CA, Nicholls SJ (2017). High-density lipoproteins attenuate high glucose-impaired endothelial cell signaling and functions: potential implications for improved vascular repair in diabetes. *Cardiovasc Diabetol*, 16,1,121.

Christensen, LP, Brandt, K (2006). Bioactive polyacetylenes in food plants of the apiaceae family: occurrence, bioactivity and analysis. *J Pharma Biomed Anal*, 41, 683-693.

Costa C, Gangemi S, Giambò F, Rapisarda V, Caccamo D, Fenga C (2015). Oxidative stress biomarkers and paraoxonase 1 polymorphism frequency in farmers occupationally exposed to pesticides. *Mol Med Rep*, 12, 4, 6353-6357.

Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL (1987). Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med*, 107, 4, 526-45.

Çetinalp Ş, Kabalak T (2003). Portabl insülin pompaları. *Aktüel Tıp Diyabet Forumu*, 8, 19-25.

Çetinalp Ş, Yılmaz C (2002). Diyabetes Mellitus İçin Genel Güncel Bilgiler. In: Yılmaz C (Ed). *Diyabet Hemşiresi El Kitabı*, Asya Tıp Yayıncılık, 13-43. İzmir.

Demircan E (2013). Romatoid artritte total antioksidan status (TAS), total oksidan status (TOS), iskemi modifiye albumin (ima) düzeylerinin hastalık aktivitesi ve insülin direnci ile ilişkisi. Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi.

Demirci F, Işcan G, Güven K, Kırimer N, Demirci B, Başer KHC (2000). Antimicrobial activities of *Ferulago* essential oils. *Zeitschrift für Naturforschung*, 55C, 11-12, 886-889.

Deakin S, James RW (2004). Genetic and enviromental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-I. *Clinical Science*, 31, 2, 51-56.

Dhalla NS, Temsah RM, Netticadan T (2000). Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *J Hypertens*,18, 6, 655-73.

Downie SR, Katz-Downie DS, Watson MF (2000). A phylogeny of the flowering plant family apiaceae based on chloroplast DNA *RPL16* and *RPOC1* intron sequences: towards a suprageneric classification of subfamily apioideae. *Am J Botany*, 87, 2, 273-292.

Dinççağ N (2004). Diyabet önlenbilir mi? *Galenos Tıp Derg*, 7, 37-43.

Doğancı S (1997). Lipoprotein (a): Yapısı, oluşumu ve metabolizması. Çukurova Üniversitesi. Kardiyoloji Kongre Kitapçığı. Adana.

Duavy SMP, Salazar GJT, Leite GO, Ecker A, Barbosa NV (2017). Effect of dietary supplementation with olive and sunflower oils on lipid profile and liver histology in rats fed high cholesterol diet. *Asian Pac J Trop Med*, 10, 6, 539-543.

Durna Z (2002). Diyabetin Sınıflandırılması ve Tanı Kriterleri. In: Erdoğan S (Ed). Diyabet Hemşireliği Temel Bilgiler. Tavaslı Matbacılık. İstanbul. 11-21.

Ekor M (2014). The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. *Front Pharmacol*, 10, 4, 177.

Ennis ED, Stahl EJ Von B, Kreisberg RA (1994). The hyperosmolar hyperglycemic syndrome. *Diabetes Rev*, 1, 115- 126.

Erel O (2004). A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem*, 37, 2, 112-119.

Erel O (2005) A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*, 38, 1103–1111.

Erşanlı D (2003). Diyabetik retinopati ve tedavisi. *Türk Diyabet Yıllığı*, 97-103.

Fakim AM (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Mol Aspects Med*, 27, 1-93.

Farrell N, Norris G, Lee S, Chun O, Blesso C (2015). Anthocyanin-rich black derberry extract improves markers of HDL function and reduces aortic cholesterol in hyperlipidemic mice. *Food Funct*, 6, 4, 1278-1287.

Feldman EC (1983). Diseases of Endocrin Pancreas. In: Ettinger SJ (Ed). Textbook of Veterinary Internal Medicine, Disease of The Dog and Cat, W.B. Saunders Company, 2 Press. 1615-1650. Philadelphia.

Ferretti G, Bacchetti T, Busni D, Rabini RA, Curatola G (2004). Protective effect of paraoxonase activity in high-density lipoproteins against erythrocyte membranes peroxidation: a comparison between healthy subjects and type 1 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab*, 89, 6, 2957-2962.

Fievet C, Theret N, Shojaee N, Duchateau P, Castro G, Ailhaud G, Drouin P, Fruchart JC (1992) Apolipoprotein A-I-containing particles and reverse cholesterol transport in IDDM. *Diabetes*, 41,10.

Fridman O, Gariglio L, Riviere S, Porcile R, Fuchs A, Potenzoni M (2016). Paraoxonase 1 gene polymorphisms and enzyme activities in coronary artery disease and its relationship to serum lipids and glycemia. *Arch Cardiol Mex*, 86, 4, 350-357.

Frohlich J, Fodor G, M Pherson R, Genest J, Langner N (1998). Rationale for and outline of the recommendations of the working group on hypercholesterolemia and other dyslipidemias. *Canadien J Cardiology*, 14, 17-21.

Garber AJ (1987). Diabetes Mellitus In: Internal Medicine. Boston and Toronto, Little Brown Company, 2. Press. 1997-2024. Boston.

Gedik VT, Çetinkalp Ş, Kabalak T, Yılmaz MT, İmamoğlu Ş, Çorakçı A, Tüzün M, Yeşil S (2008). Diabetes Mellitus. In: İç Hastalıkları. Erol Ç (Ed). Nobel Tıp Kitabevi. 1 Baskı. 3797-3822. Ankara.

Ghiselli A, Serafini M, Natella F, Scaccini C (2000). Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med*, 29, 11, 1106-14.

Gowri MS, Van Der Westhuyzen DR, Bridges SR, Anderson JW (1999). Decreased protection by HDL from poorly controlled type 2 diabetic subjects against LDL oxidation may be due to the abnormal composition of HDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 19, 2226–2233.

Grace M, Ribnicky D, Kuhn P, Poulev A, Logendra S, Yousef G (2009). Hypoglycemic activity of a novel anthocyanin-rich formulation from lowbush blueberry, *Vaccinium angustifolium* Aiton. *Phytomedicine*, 16, 5, 406-415.

Gülçin I, Oktay M, Kirecci E, Kufrevioglu OI (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83, 371-382.

Gülcü F ve Gürsü MF (2003). Paraoksonaz ve aril esteraz aktivite enzimlerinin standardizasyonu. *Turk Biyokimya Derg*, 28, 2, 45-49.

Gylling H, Hallikainen M, Pihlajamaki J, Simonen P, Kuusisto J, Laakso M, Miettinen T (2010). Insulin sensitivity regulates cholesterol metabolism to a greater extent than obesity: Lessons from the METSIM study. *The J Lipid Res*, 51, 8, 2422-2427.

Harel M, Brumshtein B, Meged R, Dvir H, Ravelli RBG, Mccarthy A (2007) 3-D structure of serum paraoxonase 1 shed light on its activity, sability, solubility and crystallizability. *Arh Hig Rada Toksikol*, 58, 347–53.

Heyland D.K., Dhaliwal R, Suchner U, Berger M.M (2005). Antioxidant nutrients: a systematic review of trace elements and vitamins in the critically ill patient. *Intensive Care Med.*, 31, 327-337.

- Howard BV, Reitman JS, Vasquez B and Z. Loren (1983). Very low density lipoprotein triglyceride metabolism in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes*, 32, 271–276.
- Hiukka A, Fruchart-Najib J, Leinonen E, Hilden H, Fruchart JC, Taskinen MR (2005). Alterations of lipids and apolipoprotein CIII in very low density lipoprotein subspecies in type 2 diabetes. *Diabetologia*, 48, 6, 1207-1221
- Ikhlef S, Berrougui H, Kamtchueng Simo O, Khalil A (2016). Paraoxonase 1-treated oxLDL promotes cholesterol efflux from macrophages by stimulating the PPAR γ -LXR α -ABCA1 pathway. *FEBS Lett*, 590, 11,1614-1629.
- İmamoğlu S (2005). Diabetes Mellitus. In: İç Hastalıkları. Dolar E (Ed). Nobel and Günes Tıp Kitabevi. 692-719. İstanbul.
- Jackson MA, Holland MR, Nicholas J, Lodwick R, Forster D, Macdonald IA (2000). Hemodialysis-induced hypoglycemia in diabetic patients, *Clin Nephrol*, 54, 1, 30-34.
- Jain PK, Ravichandran V, Sharma S, Agawal R K (2008). The antioxidant activity of some medicinal plants. *Turkish J Biology*, 32, 3, 197-202.
- Janghorbani M, Amini M, Aminorroaya A (2016). Low levels of high-density lipoprotein cholesterol do not predict the incidence of type 2 diabetes in an Iranian high-risk population: The İsfahan diabetes prevention study. *Rev Diabet Stud*, 13, 2-3, 187-196.
- Johnn AF, Antonio MG (1997). Dyslipidemia and Other Risk Faktor for Coronary Artery Disease. Braun Wald Heart Disease: A text book of Cardiovascular Medicine. WB Saunders Comp. 1126–1155. Philadelphia.
- Juretić D, Motejlkova A, Kunović B, Rekić B, Flegar-Mestrić Z, Vujić L, Mesić R, Lukac-Bajalo J, Simeon-Rudolf V (2006). Paraoxonase/arylesterase in serum of patients with type II diabetes mellitus. *Acta Pharm*, 56, 1, 59-68.
- Karimian H, Moghadamtousi SZ, Fadaeinasab M, Golbabapour S, Razavi M, Hajrezaie, M, Arya A, Abdullah MA, Mohan S, Ali HM, Noordin Mİ (2014). Ferulago angulata activates intrinsic pathway of apoptosis in MCF-7 cells associated with G1 cell cycle arrest via involvement of p21/p27. *Drug Design Develop Therapy*, 8, 1481-1497.
- Kirk JK, Arcury TA, Ip E, Bell RA, Saldana S, Nguyen HT, Quandt SA (2014). Diabetes symptoms and self-management behaviors in rural older adults. *Diabetes Res Clin Pract*, 107, 1, 54-60.
- Kirk RW, Bistner SI (1985). Handbook of Veterinary Procedures and Emergency Treatment. W. B. Saunders Company, 4.Press. 138-146, 664-670. Philadelphia.
- Kiviterovich POJR (1998). The antiantherogenic role of high density lipoprotein cholesterol. *Am J Cardiol*, 82, 130–148.

- Khalil A, Kamtchueng Simo O, Ikhlef S, Berrougui H (2017). The role of paraoxonase 1 in regulating HDL functionality during aging an. *J Physiol Pharmacol*, 95, 10, 1254, 1262.
- Krauss RM (2004). Lipids and lipoproteins in patients with type 2 diabetes. *Diabetes care*, 27, 6, 1496-1504.
- Krishnamurti U, Steeffes MW (2001). Glycohemoglobin: A primary predictor of the development or reversal of complications of diabetes mellitus. *Clin Chem*, 47, 1157-1165.
- Kurban S, Akpınar Z, Zehmetoğlu İ (2010). Multiple skleroz hastalarında serum paraoksonaz ve arilesteraz aktiviteleri ile oksidatif stresin araştırılması. *Genel Tıp Derg*, 20, 1, 13, 17.
- Lindblom R, Higgins G, Coughlan M, de Haan JB (2015). Targeting mitochondria and reactive oxygen species-driven pathogenesis in diabetic nephropathy.rev diabet. *Stud Spring-Summer*, 12, 1-2, 134-156.
- MacDonald-Wicks LK, Wood LG, Garg ML (2006). Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review. *J Sci Food Agric*, 86, 2046-2056.
- Mackness B (1998). Effect of the human serum paraoxonase 55 and 192 genetic polymorfizms. *FEBS Letter*, 423, 57-60.
- Mackness MI, Arrol S, Durrington PN (1991). Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. *FEBS Lett*, 286, 152-154.
- Mackness MI, Halam SD (1985). The seperation of sheep and human serum “a-esterase activity into the lipoprotein fraction by ultracentrifugation. *Comp Biochem Physiol B*, 82, 675-677.
- Mackness M, Mackness B (2015). Human paraoxonase-1 (PON1): Gene structure and expression, promiscuous activities and multiple physiological roles. *Gene*, 567, 1, 12-21.
- Mackness MI, Walker CH (1988). Multiple forms of sheep serum a-esterase activity associated with the high-density lipoprotein. *Biochem J*, 250, 539-545.
- Mahmood EA (2016). The effects of *Juniperus communis*(*Cupressaceae*) application on the serum paraoxonase activities and pancreatic enzymes activity and lipoproteins levels in experimental diabetic rats. Van YYU Institute of Health Science, Master Thesis, pp. 71, Van.

- Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB (2003). Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: A review. *J Biochem Mol Toxicol*, 17, 1, 24–38.
- Mattoch, MB, Salter AM (1982). High density lipoprotein subfractions in insulin-dependent diabetic and normal subjects. *Atherosclerosis*, 45, 67–69.
- McDowell LR, Wilkinson N, Madison R, Felix T, (2007). Vitamins and minerals functioning as antioxidants with supplementation considerations. Florida Ruminant Nutrition Symposium. *Gainesville*, 1-17.
- Menteş J (2004). Diyabetik retinopati ve değerlendirilmesi. *Galenos Tıp Derg*, 7, 123-126.
- Monnier L, Colette C, Percheron C, Descomps B (1994). Insulin, diabetes and cholesterol metabolism. *Comptes rendus des seances de la Societe de biologie et de ses filiales*, 189, 5, 919-931.
- Moriyama K, Takahashi E (2017). Evaluation of malondialdehyde low-density lipoprotein stratified by low-density lipoprotein cholesterol. *Clin Lab*, 1, 63, 7, 1179-1186.
- Musavi Ezmareh F, Mazani M, Heidarian E, Ali Panah Moghadam R, Rafeian M, Ebrahimi M (2015). Effect of hydroalcoholic extract of chevil (*ferulago angulata*) on glucose and lipid in diabetic male rats. *Iranian J Endocrin and Met*, 17, 3, 230-237.
- Nevin DN, Zambon A, Furlong CE, Richter RJ, Humbert R, Hokanson JE, Brunzell JD (1996). Paraoxonase genotypes, lipoprotein lipase activity, and HDL. *Arterioscler. Thromb Vasc Biol*, 16, 1243-1249.
- Niemann B, Rohrbach S, Miller MR, Newby DE, Fuster V, Kovacic JC (2017). Oxidative stress and cardiovascular risk: obesity, diabetes, smoking, and pollution: part 3 of a 3-part series, *J Am Coll Cardiol*, 70, 2, 230-251.
- Olgun N (2002). Hipoglisemi ve Hiperglisemi. In: Diyabet Hemşireliği Temel Bilgiler Erdoğan S (Ed). Tavashlı Matbaacılık. İstanbul, 105-106.
- Parsaeyan N, Mozaffari–Khosravi H, Mozayan M (2012). Effect of pomegranate juice on paraoxonase enzyme activity in patients with type 2 diabetes. *J Diabet Met Dis*, 11-11.
- Perla-Kaján J, Jakubowski H (2012). Paraoxonase 1 and homocysteine metabolism. *Amino Acid*, 43, 4, 1405-1417.
- Pitkanen OM, Martin JM, Halman M, Akerblom HK, Sariola H, Anderson SM (1992) Free radical activity during development of insulin dependent diabetes mellitus in the rat. *Life Science*, 50, 335-339.

- Prior RL, Cao G (1999). In vivo total antioxidant capacity, comparison of different analytical methods. *Free Radical Biology Medicine*, 27, 11, 1173-1181.
- Rabkin SW, Boyko E, Streja D (1983). Changes in high density lipoprotein cholesterol after initiation of insulin therapy in non- insulin dependent diabetes mellitus: Relationship to changes in body weight. *Am J Med Sci*, 285, 14-20.
- Rafieian-Kopaei M, Shahinfard N, Rouhi-Boroujeni H, Gharipour M, Darvishzadeh-Boroujeni P (2014). Effects of *Ferulago angulata* extract on serum lipids and lipid peroxidation. *Evid Based Complement Alternat Med*, 680-856.
- Rannello M, Artiglia M, Presi M, Ciaramella E (2017). 10 Gb/s long-reach PON system based on directly modulated transmitters and simple polarization independent coherent receiver. *Opt Express*, 24, 25, 15, 17841-17846.
- Risch N (1987) Assessing the role of HLA-linked and unlinked determinants of disease. *Am J Hum Genet*, 40, 1, 1-14.
- Russo A, Pirisinu I, Vacca C, Reginato E, Tomaro ES, Pippi R, Aiello C, Talesa VN, De Feo P, Romani R (2016). An intensive lifestyle intervention reduces circulating oxidised low-density lipoprotein and increases human paraoxonase activity in obese subjects, *Obes Res Clin Pract*, 1871-403, 16, 30421-30425.
- Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Little RR, England JD, Tennill A, Goldstein DE (2002). Defining the relationship between plasma glucose and HbA1c. *Diabetes Care*, 25, 275-278.
- Sacks DB, Bruns DE, Maclaren NK, McDonald J M, and Parrott M (2002). Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem*, 48, 3, 436-472.
- Saeed KM (2016). Deneysel diyabet oluşturulan sıçanlarda *Vaccinium myrtillus* L. uygulamasının paraoksonaz, pankreas enzim aktiviteleri ve lipoprotein düzeylerine etkisi, Van YYÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, pp.77, Van.
- Saudek CD, Rastogi R, Derr RL (2005). Assesment of glycemia in diabetes mellitus: Hemoglobin A1c. *J Assoc Physicians India*, 53, 299-304.
- Sedlak J, Lindsay RH. (1968). Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem*, 25, 192-205.
- Seghrouchni I, Draï J, Bannier E, Rivière J, Calmard P, Garcia I, Orgiazzi J, Revol A (2002). Oxidative stress parameters in type I, type II and insulin-treated type 2 diabetes mellitus; insulin treatment efficiency. *Clin Chim Acta*, 321, 1-2, 89-96.
- Seçmen Ö, Gemici Y, Görk G, Bekat L, Leblebici E (1998). Tohumlu Bitkiler Sistematığı. 5. Baskı. Ege Üniversitesi Basımevi, ISBN: 975-483-028-2, 396. İzmir.

- Sodeifian, G., Ansari, K., Bamoniri, A., Mirjalili, B.F (2011). Study of chemical composition of the essential oil of *Ferulago angulata* (schelcht) boiss. from Iran using supercritical fluid extraction and nano scale injection. *Digest J Nanomaterials and Biostructures*, 6, 161-168.
- Sohn EH, Song KS, Lee JY, Lee AY (2017). Comparison of somatic and sudomotor nerve fibers in type 2 diabetes mellitus. *J Clin Neurol*, Sep 4.(epub ahead of print).
- Shamsulddin ZN (2017). Deneysel Diyabetli Sıçanlarda Zeytin (*Olea europaea* L.) Yaprağı Ekstresinin Serum 8-Hidroksi-2'-Deoksiguanozin, Total Oksidan ve Antioksidan Kapasiteleri Üzerine Etkisi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Eczacılık Bilimleri Anabilim Dalı Biyokimya Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van.
- Shakeri R, Khajeniazi S, Marjani A (2017). Association between promoter polymorphism (-108C>T) of paraoxonase 1 gene and it's paraoxonase activity in patients with type2 diabetes in northern Iran. *Clin Chim Acta*, 17, 30337-30346.
- Srisurin W (2013). Comparison of low density lipoprotein cholesterol concentrations by direct measurement and Friedewald formula in diabetic patients with and without hemoglobin E disorders. *J Med Assoc Thai*, 96, 4, 407-415.
- Sönmez H (2003). Plazma lipoproteinleri, metabolizması ve bozuklukları. *T Klin J Cardiol*, 16, 1-7.
- Stoler MW (1988). Atherosclerosis in diabetes the role of hiperinsulinemia. *Metabolizm*, 37, 1, 1-9.
- Stringer MD, Gorog PG, Freeman A, Kaskar VV (1989). Lipid peroxides and atherosclerosis. *British Medical J*, 298, 281-284.
- Stumvoll M, Goldstein BJ, Van Haeften TW (2005). Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *The Lancet*, 365(9467),1333-1346.
- Taran M, Ghasempour HR, Shirinpour E (2010). Antimicrobial activity of essential oils of *Ferulago angulata* subsp. *carduchorum*. *Jundishapur J Microbiol*, 3, 1, 10-14.i
- Tarpey MM, Wink DA, Grisham MB (2004). Methods for detection of reactive metabolites of oxygen and nitrogen: in vitro and in vivo considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 286, 3, 431-44.
- Takaeidi M, Jahangiri A, Khodayar M, Siahpoosh A, Yaghooti H, Rezaei S (2014). The effect of date seed (*Phoenix dactylifera*) extract on paraoxonase and arylesterase activities in hypercholesterolemic rats. *Jundishapur J Nat Pharm Prod*, 9, 1 30-34.
- Taskinen MR (1992). Quantitative and qualitative lipoprotein abnormalities. *Diabetes Care*, 41, 2, 112-117.

- Taskinen M (2002). Diabetic dyslipidemia. *Atheroscler Suppl*, 3, 1, 47-51.
- Taskinen M, Borén J (2015). New insights into the pathophysiology of dyslipidemia in type2 diabetes. *Atherosclerosis*, 239, 2, 483-495.
- Teixeira B, Marques A, Ramos C, Neng NR, Nogueira JM, Saraiva JA, Nunes ML (2013). The expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 20, 1183-1197.
- Thomas L (1998). Glycohemoglobins. Christoph MN, Hans R. Clinical Laboratory Diagnostics. First Ed. Marburg, Germany. 142-148.
- Thomas B, Prasad RB, Shetty S, Vishakh R (2017). Comparative evaluation of the lipid profile in the serum of patients with type II diabetes mellitus and healthy individuals with periodontitis. *Contemp Clin Dent*, 8, 1, 96-101.
- Tietz NW (1999). Glycated Proteins. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Burtis CA, Ashwood ER(Ed). USA. 790-806.
- Tribble DI, Huli CG, Wood PD (1992). Variations in oxidative susceptibility among six low density lipoprotein subfractions of different density and partide size. *Atherosclerosis*, 93, 189–194.
- Uriel A (1961). Characterisation des cholinesterases et d'eutres esterases carboxylique apres electrophorese en gelose. *Am Instit Pasteur*, 101-104.
- Xu M, Sun B, Li D, Mao R, Li H, Li Y, Wang J (2017). Beneficial Effects of Small Molecule Oligopeptides Isolated from Panax ginseng Meyer on Pancreatic Beta-Cell Dysfunction and Death in Diabetic Rats. *Nutrients*, 9,10.
- Verges B (2005). New insight into the pathophysiology of lipid abnormalities in type 2 diabetes. *Diabetes Met*, 31, 5, 429-439.
- Walten CE, Knopp RH, Wahi PW, Keen H, Jarret R (1984). Sex differances in the effect of diabetes mellitus on lipoprotein triglyceride and cholesterol concentration. *New England J Med*, 311, 953- 959.
- Wan EYF, Fung CSC, Yu EYT, Chin WY, Fong DYT, Chan AKC, Lam CLK (2017). Effect of multifactorial treatment targets and relative importance of hemoglobin A1c, blood pressure, and low-density lipoprotein-cholesterol on cardiovascular diseases in chinese primary care patients with type 2 diabetes mellitus: A population-based retrospective cohort study. *J Am Heart Assoc*, 6-8.
- White CR, Anantharamaiah GM (2017). Cholesterol reduction and macrophage function: Role of paraoxonases. *Curr Opin Lipidol*, 22.
- Word RJ, Peters TJ (1996). Free radicals. Kaplan LA, Pesce AJ editors. Clinical chemistry, 3.Baskı. Mosby Year Book.

Yao JK, Reddy R, McElhinny LG (1998). Reduced status of plasma total antioxidant capacity in schizophrenia. *Schizophr Res*, 31, 1-8.

Yadav D, Mishra M, Joseph AZ, Subramani SK, Mahajan S, Singh N, Bisen PS, Prasad GB (2015). Status of antioxidant and lipid peroxidation in type 2 diabetic human subjects diagnosed with and without metabolic syndrome by using NCEP-ATPIII, IDF and WHO criteria. *Obes Res Clin Pract*, 9, 2, 158-167.

Yegin S, Yur F, Ceylan E (2013). Effect of lycopene application in rats with experimental diabetes using lipoprotein, paraoxonase and cytokines. *J Memb Biol*, 246, 8, 621-626.

Yetkin İ, Törüner F (2004). Diyabetik nefropati ve değerlendirilmesi. *Galenos Tıp Derg*, 7, 108-110.

Yılmaz C (2002). Oral antidiyabetiklerin gelişimi ve günümüzdeki yeri. *Aktüel Tıp Diyabet Forumu*, 8, 6-15.

Ying Y (2010). Paraoxonase 1 activity as a predictor of cardiovascular disease in type 2 diabetes. *Southeast Asian J Trop Med Pub Health*, 41, 5, 1231-1246.

Zadák Z, Hyšpler R, Tichá A, Hronek M, Fikrová P, Rathouská J, Hrnčiariková D, Štětina R (2009). Antioxidants and vitamins in clinical conditions. *Physiol Res*, 58, 1, 13-17.

Zhou ZY, Liu YK, Chen HL, Yang HL, Liu F (2015). HbA1c and Lower Extremity Amputati on Risk in Patients With Diabetes: A Meta-Analysis. *Int J Low Extrem Wounds*, 2, 168-77.

ÖZGEÇMİŞ

Shabnam ABBASZADE, 1992 yılında Baku, Azerbaycan'da doğdu. İlköğrenimini Baku 46 Nolu İlköğretim Okulu'nda, orta öğrenimini Hırdalan İli'nde 1 Nolu Okul'da tamamladı. 2010 yılında Baku 1 Nolu Tıp Kolejine başladı ve 2013 yılında mezun oldu. 2015 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Temel Eczacılık Bilimleri Anabilim Dalı Biyokimya Bilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. Evli ve iki çocuk annesidir.



EKLER


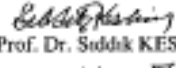
EK 1. YYÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (YUHADYЕК) Araştırma Onay Belgesi

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

ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAY BELGESİ


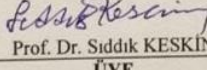
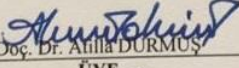
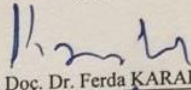
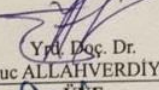
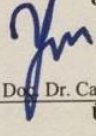
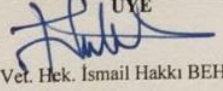
Araştırmanın Adı	Deneysel Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Ferulago angulata (Schlecht.) Boiss Uygulamasının Paraoksonaz Enzim Aktivitesi, Antioksidan / Oksidan Durumu ve Lipoprotein Düzeyleri Üzerine Etkisi
Araştırmanın Yürütücüsü	Doç. Dr. Tahir KAHRAMAN
Yardımcı Araştırmacılar	Shabnam ABBASZADE
Kurumu	Eczacılık Fakültesi
Araştırmanın Tahmini Süresi	12 Ay
Kullanılacak Hayvan Türü ve Sayısı	Sıçan 28 Adet
Destekleyecek Kuruluş (lar)	YYÜ. Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı
Başvuru Tarihi	20.05.2016

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2016/05	Tarih:02.06.2016
	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi/teamm Doç. Dr. Tahir KAHRAMAN sorumluluğunda yürütülmesi planlanan ve yukarıda başvuruda bilgileri verilen yüksek lisans projesi gerekçe, amaç ve yöntemler dikkate alınarak ilgi başvuruda belgeleri incelendi. Çalışmanın etik açıdan uygun olduğuna, projenin aşajdaki basuslar dikkate alınarak yürütülmesine ve proje yürütücüsüne iletilmesine oy birliği /oy çokluğu ile karar verildi. 1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulardan onay alınması. 2) Projede çalışacağı bildirilen araştırmacılar da değişiklik olduğunda kurulardan onay alınması. 3) Deney hayvanları üzerinde yapılacak girişimin başlangıç ve bitiş tarihlerinin bildirilmesi. 4) Çalışma sürecinde tamamlanmaz ise ek süre talebinde bulunulması. 5) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi.	

ETİK KURUL ÜYELERİ	
BASKAN	
Prof. Dr. Semiha DEDE	
ÜYELER	
Prof. Dr. Fazıl ŞEN	
Prof. Dr. Suphi DENİZ	Prof. Dr. Süddük KESKİN
Doç. Dr. M. Fatih GARÇA	Doç. Dr. Aliilla DURMUŞ
Doç. Dr. Abdulkaki AKSAKAL	Doç. Dr. Nafise ÖZDAL
Yrd. Doç. Dr. Ferda KARAKUŞ	Doç. Dr. N. Tuğba BİNGÖL
Yrd. Doç. Dr. Özer ALKAN	Yrd. Doç. Dr. Yıldray BAŞBUĞAN
Vet. Hek. İsmail Hakkı BEHCET	Zir. Müh. Kenan WILDIRIMOĞLU

*Bu form YUHADYЕК tarafından doldurulacaktır.

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

 <p style="text-align: center;">T.C. YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU ARAŞTIRMA KEŞİN SONUÇ ONAY BELGESİ</p> <p style="text-align: center;"><i>YUZUNCU YIL UNIVERSITY (TURKEY)</i> <i>ANIMAL RESEARCHES LOCAL ETHIC COMMITTEE</i> <i>RESEARCH FINAL REPORT APPROVAL CERTIFICATE</i></p>		
Araştırmanın Adı <i>Title of the Research</i>	Deneysel Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Ferulago angulata (Schlecht.) Boiss Uygulamasının Paraoksonaz Enzim Aktivitesi, Antioksidan / Oksidan Durumu ve Lipoprotein Düzeyleri Üzerine Etkisi. The Effect of Ferulago angulata (Schlecht.) Boiss Application on the Paraoxonase Enzymes Activities, Antioxidant / Oxidant Status and Lipoprotein Levels in Experimental Diabetic Rats.	
Araştırmacı(lar) <i>Investigator(s)</i>	Yürütücü / <i>Chief investigator</i> : Doç. Dr. Tahir KAHRAMAN Prof. Dr. Semiha DEDE Yardımcı Araştırmacı(lar) / <i>Co-investigator(s)</i> : Shabnam ABBASZADE	
Araştırmanın Başlama Tarihi / <i>Research Starting Date</i> : 20.05.2016		
Araştırmanın Bitiş Tarihi / <i>Research Completion Date</i> : 20.06.2017		
Proje Süresi / <i>Total Time of Project</i> : 12 ay		
Proje No / <i>Project Number</i> : TYL-2016-5248		
Araştırmayı Destekleyen Kuruluş (varsa) / <i>Funding institution(s) (if available)</i> : YYÜ BAPB		
Destek Şekli ve Miktarı / <i>Type and amount of funding</i> : Tez Projesi (Yüksek Lisans), 3.739.00.-TL		
Karar: Yukarıda bilgileri verilen araştırma projesinin kesin sonuç raporu Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 24/08/2017 tarih ve 2017/08 sayılı kararı ile kabul edilmiştir. Decision: Final report of the research project detailed above was approved by Yuzuncu Yil University Animal Researches Local Ethic Committee in the session held on 24/08/2017 (decision number 2017/08).		
BAŞKAN/CHAİR		
Prof. Dr. Semiha DEDE		
ÜYE	ÜYE	ÜYE
Prof. Dr. Fazıl ŞEN	 Prof. Dr. Sıddık KESKİN	Prof. Dr. Suphi DENİZ
ÜYE	ÜYE	ÜYE
Prof. Dr. N. Tuğba BİNGÖL	 Doç. Dr. Atilla DÜRMÜŞ	Doç. Dr. Nalan ÖZDAL
ÜYE	ÜYE	ÜYE
 Yrd. Doç. Dr. Ferda KARAKUŞ	 Yrd. Doç. Dr. Oruc ALLAHVERDİYEV	 Yrd. Doç. Dr. Canser Yılmaz DEMİR
ÜYE	ÜYE	ÜYE
Yrd. Doç. Dr. Yıldırım BAŞBUĞAN	 Vet. Hek. İsmail Hakkı BEHÇET	Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU