

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**STREPTOZOTOSİN İLE OLUŞTURULAN DİYABETİK SIÇANLARDA
MORİN'İN (2',3,4',5,7-PENTAHYDROXYFLAVONE) KORUYUCU ETKİLERİ**

Ahmed K. MUHAMMED

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2012**

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Doktora Tezi

STREPTOZOTOSİN İLE OLUŞTURULAN DİYABETİK SIÇANLARDA MORİN'İN (2',3,4',5,7-PENTAHYDROXYFLAVONE) KORUYUCU ETKİLERİ

Ahmed K. MUHAMMED

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nursel GÜL

Diyabet bilinen en önemli sağlık problemlerinden birisidir. İnsülin ve oral antidiyabetik ilaçların yan etkilerinden dolayı son yıllarda alternatif tedavilerin araştırılmasında doğal ürünler (özellikle flavonoidler) önemli bir kaynak teşkil etmektedir. Bu çalışma normal ve streptozotosin ile diyabet oluşturulan (STZ 45 mg/kg, i.p) sıçanlarda bitkisel bir flavonoid olan morin'in (2',3,4',5,7-pentahydroxyflavone) kan glukoz seviyesi, doku antioksidan ve lipid peroksidasyon durumu üzerindeki olası olumlu etkisini incelemek için yapılmıştır. Hayvanlar yedi gruba (n: 6 herbir grup) ayrıldı: Grup 1: Normal kontrol, grup 2: Normal + morin 25 mg/kg, grup 3: Normal + morin 50 mg/kg, grup 4: Diyabetik kontrol, grup 5: Diyabetik + morin 25 mg/kg, grup 6: Diyabetik + morin 50 mg/kg ve grup 7: Diyabetik + Tolbutamid 100 mg/kg. Morin, vücut ağırlığı kaybını önleyememesine rağmen, su ve yem tüketimini (25 mg/kg) anlamlı olarak azalttı. Diyabetik hayvanlarda artmış olan glukoz, kolesterol, trigliserid, LDL-kolesterol ve VLDL-kolesterol düzeylerini düşürdüğü görüldü. Morin diyabetik sıçanlarda HDL-kolesterol seviyesindeki azalmayı, AST (GOT) ve ALT (GPT) seviyelerindeki artışı da anlamlı şekilde önlemiştir. Öte yandan, diyabetin patogenezinde oksidatif stres önemli bir rol oynamaktadır. Bu çalışmada morin'in karaciğer, böbrek ve pankreasdaki oksidatif stres belirteçleri üzerindeki etkisi de değerlendirildi. Diyabetik sıçanların dokularında normal sıçanlara göre daha yüksek malondialdehit (MDA) düzeyi, daha düşük nitrik oksit (NOx), redükte glutatyon (GSH) düzeyleri ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi gözlemlendi. Morin hepatik, renal ve pankreatik MDA düzeylerindeki artışı, renal ve pankreatik NOx, hepatik ve pankreatik GSH düzeylerindeki ve hepatik, renal ve pankreatik SOD aktivitesindeki azalmaları anlamlı olarak önledi. Histopatolojik incelemelerde morin verilen diyabetik sıçanlarda pankreas hasarı azalarak normal sıçanların yapısına yaklaştığı tespit edildi. Sonuçlar morin'in STZ-diyabetik sıçanlarda oksidatif stresdeki artışı antioksidan özelliği ile önemli ölçüde engelleyerek pankreatik beta hücre fonksiyonu üzerinde koruyucu etki oluşturduğunu göstermektedir.

Temmuz 2012, 93 sayfa

Anahtar Kelimeler: Morin, streptozotosin, diyabet, pankreas, β hücre, oksidatif stres.

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

PROTECTIVE EFFECTS OF MORIN (2',3,4',5,7-PENTAHYDROXYFLAVONE) IN STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC RATS

Ahmed K. MUHAMMED

Ankara university
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Nursel GÜL

Diabetes mellitus (DM) is one of the major public health burden worldwide. Recently, the treatment of diabetes with natural products (flavonoids specially) witnessed a growing interest because side effects of insulin and oral antidiabetic drugs. The present work is carried out to study the beneficial effects of a flavonoid extracted from plants which called morin (2',3,4',5,7-pentahydroxyflavone) on blood glucose level, tissue antioxidant and lipid peroxidation status in normal and streptozotocin induced diabetic rats (STZ 45 mg/kg, i.p). Animals were divided into seven groups (n: 6 in each group): Group 1: Normal control, group 2: Normal + morin 25 mg/kg, group 3: Normal + morin 50 mg/kg, group 4: Diabetic control, group 5: Diabetic + morin 25 mg/kg, group 6: Diabetic + morin 50 mg/kg and group 7: Diabetic + Tolbutamide 100 mg/kg. Morin could not prevent loss of body weight, but significantly decrease water and food (25 mg/kg) intake. It showed significant prevention in elevation of glucose and prevent increase in the cholesterol, triglyceride, LDL-cholesterol, VLDL-cholesterol levels in serum of diabetic rats. Morin also significantly prevented decrease in the HDL-cholesterol level and increase in AST (GOT) and ALT (GPT) levels in diabetic rats compared to that of diabetic control. On the other hand, intensive oxidative stress plays a major role in the pathogenesis of diabetes. In this study, the role of morin on oxidative stress markers of liver, kidney and pancreas were also estimated. The diabetic rats exhibited high malondialdehyde (MDA) and low nitric oxide (NOx), reduced glutathione (GSH) levels and superoxide dismutase (SOD) activities in hepatic, renal and pancreatic tissues as compared with normal rats. The treatments with morin significantly prevented the increase of hepatic, renal and pancreatic MDA and prevented reduction of renal and pancreatic NOx, hepatic and pancreatic GSH levels and hepatic, renal and pancreatic SOD activity. Histopathological study revealed that morin reduced the diabetes related pancreatic damage in treated rats compared to untreated controls. These results indicated that morin overcomes oxidative stress through its antioxidant properties, hence exerts a protective action on pancreatic beta cell function in STZ- diabetic rats.

July 2012, 93 pages

Key Words: Morin, streptozotocin, diabetes, pancreas, β cell, oxidative stress.

TEŞEKKÜR

“Uyumaktansa, boşuna olsa bile çabala çünkü, Yar böyle sever”

Mevlânâ Celaleddin-i Belhi

Bana çalışma fırsatını veren çalışmamı büyük bir sabırla yönlendiren ve bilgilerini hiç bir zaman esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Nursel GÜL’e (Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü), çalışmalarım süresince maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili ailem’e ayrıca laboratuvarlarını bu çalışmaya açan Prof. Dr. Şule COŞKUN CEVHER’e (Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü) ve Prof. Dr. Nuray ARI’ya (Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Bölümü), görüşlerinden yararlandığım Prof. Dr. Özlem YILDIRIM’a, zaman zaman yardımlarından faydalandığım değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Nuri YİĞİT ve Prof. Dr. Yavuz BEYATLI’ya, hayvan deneyleri ve laboratuvar çalışmalarında her türlü yardımlarından faydalandığım, Filiz Sezen BİRCAN, Aylin BAŞARAN, Zeynep KALAY, Ali FOUAD ve arkadaşım Moosarreza TOORI’ye ve bu çalışmada emeği olan herkese özellikle doktora eğitimim için bana fırsat sağlayan Türkiye Cumhuriyeti’ne sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ahmed K. MUHAMMED

Ankara, Temmuz 2012

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 Diabetes Mellitus (DM)	2
2.2 DM Sınıflandırılması	2
2.2.1 Tip 1 diyabet (İnsüline bağımlı diyabet: IDDM)	2
2.2.2 Tip 2 diyabet (İnsüline bağımlı olmayan diyabet: NIDDM)	3
2.2.3 Sekonder diyabet	3
2.2.4 Gebelik diyabeti (GDM)	3
2.2.5 Glukoz toleransının azalması	4
2.3 Diyabetik Komplikasyonları	4
2.3.1 Akut komplikasyonlar	4
2.3.2 Kronik komplikasyonlar	5
2.4 DM Tedavisinde Kullanılan İlaçlar	7
2.4.1 İnsülin	7
2.4.2 Oral antidiyabetikler	8
2.5 Deneysel Diyabet Modelleri	9
2.5.1 Diyabetin farmakolojik indüksiyonu	10
2.5.2 Deneysel diyabette cerrahi modeller	13
2.5.3 Deneysel diyabetin genetik modelleri	14
2.6 Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres	15
2.6.1 Serbest radikaller	15
2.6.2 Serbest radikal kaynakları	19
2.6.3 Serbest radikallerin etkileri	20

2.6.4 Oksidatif Stres	21
2.6.5 DM ve Oksidatif Stres	21
2.7 Antioksidanlar	26
2.7.1 Enzimatik antioksidanlar	26
2.7.2 Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	29
2.8 Amaç	33
3. MATERYAL VE YÖNTEM	35
3.1 Kullanılan Madde ve Cihazlar	35
3.1.1 Kullanılan kimyasal maddeler	35
3.1.2 Kullanılan cihazlar	35
3.2 Deney Hayvanları	36
3.3 Deney Hayvanlarında Diyabet Oluşturulması	37
3.4 Deney Hayvanlarının Gruplandırılması	37
3.5 Serum Örneklerinin Alınması	38
3.6 Biyokimyasal İşlemler	38
3.6.1 Lipid profili ve karaciğer enzimlerinin tayini	38
3.6.2 Doku MDA tayini	38
3.6.3 Doku NOx tayini	39
3.6.4 Doku GSH tayini	41
3.6.5 Doku SOD aktivitesi tayini	42
3.7 Işık Mikroskobu İşlemleri	43
3.8 İstatistiksel Analiz	44
4. BULGULAR	45
4.1 Açlık Kan Glukoz Düzeyleri	45
4.2 Beden Ağırlıkları	45
4.3 Su ve Yem Tüketimi	46
4.4 Lipid Parametreleri	48
4.4.1 Trigliserid düzeyleri	48
4.4.2 Total kolesterol düzeyleri	49
4.4.3 HDL-Kolesterol düzeyleri	50
4.4.4 LDL-Kolesterol düzeyleri	51
4.4.5 VLDL-Kolesterol düzeyleri	52

4.5	GPT (ALT) ve GOT (AST) Enzim Aktiviteleri	53
4.6	Doku MDA Düzeyleri	55
4.7	Doku NOx Düzeyleri	56
4.8	Doku GSH Düzeyleri	57
4.9	Doku SOD Aktiviteleri	58
4.10	Işık Mikroskobu Bulguları	59
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ	65
	KAYNAKLAR	75
	ÖZGEÇMİŞ	92

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	Santigrad Derece
μmol	Mikromol
1O2	Singlet Oksijen
AGEs	İleri Derecede Glikozillenmiş Son Ürünler
ATP	Adenozin Tri Fosfat
CAT	Katalaz
Cu	Bakır
dk	Dakika
DKA	Diyabetik Ketoasidoz
dl	Desilitre
DM	Diabetes Mellitus
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DTNB	5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit)
Fe	Demir
g	Gram
GDM	Gebelik Diyabeti
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GSH	İndirgenmiş Glutasyon
GSSG	Okside Glutasyon
GSSG-R	Glutasyon Redüktaz
GST	Glutasyon S-transferaz
H&E	Hematoksilin ve Eosin
H2O2	Hidrojen Peroksit
HbA1c	Glikozillenmiş Hemoglobin,
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HHS	Hiperozmolar Hiperglisemik Sendrom
HO•	Hidroksil Radikali
IDDM	İnsulin'e Bağımlı Diyabet
l	Litre
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LP	Lipid Peroksidasyonu
M	Molarite
MDA	Malondialdehit
mg	Miligram
ml	Mililitre
mmol	Milimol
n	Denek Sayısı (Adet)
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NAD ⁺	Yükseltgenmiş Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADH	İndirgenmiş Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NBT	Nitro Blue Tetrazolium
NIDDM	İnsulin'e Bağımlı Olmayan Diyabet
nm	Nanometre
nmol	Nanomol
NO	Nitrik Oksit

NOS	Nitrik Oksit Sentaz
O ₂	Süperoksit Radikali
ONOO ⁻	Peroksinitrit
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
rpm	Devir/Dakika (Revolution per minute)
SH	Sülfidril
SOD	Süperoksit Dismutaz
STZ	Streptozotosin
TBA	Tiyobarbütirik Asit
TCA	Trikloro Aasetik Asit
U	Ünite
VLDL	Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
WHO	Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)
Zn	Çinko
µg	Mikrogram
µmol	Mikromol

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1	Oral antidiyabetik ilaçlar ve etki mekanizmaları	9
Şekil 2.2	Streptozotosin ve metilnitrozoüre	11
Şekil 2.3	STZ den kaynaklanan kan glukoz fazları	11
Şekil 2.4	Sıçan pankreasının β -hücrelerinde STZ ile indüklenen toksisitenin mekanizması	13
Şekil 2.5	Endojen serbest radikal kaynakları	19
Şekil 2.6	Proteinlerin glikasyonu ve AGEs oluşumu	23
Şekil 2.7	Poliol yolu	25
Şekil 2.8	Katalazın fonksiyonları	28
Şekil 2.9	Glutasyon redoks sistemi	28
Şekil 2.10	Flavonoidlerin yapısı	31
Şekil 2.11	Morin yapısı	32
Şekil 3.1	MDA'in TBA ile reaksiyonu	38
Şekil 3.2	Griess reaksiyonu	40
Şekil 3.3	GSH'un DTNB İle reaksiyonu	41
Şekil 3.4	NBT'un süperoksid radikali tarafından redüksiyonu	42
Şekil 4.1	Beden ağırlığı değişimi	46
Şekil 4.2	Su tüketimi	47
Şekil 4.3	Yem tüketimi	48
Sekil 4.4	Normal ve diyabetik grupların trigliserid düzeyleri	49
Sekil 4.5	Normal ve diyabetik grupların kolesterol düzeyleri	50
Sekil 4.6	Normal ve diyabetik grupların HDL-kolesterol düzeyleri	51
Sekil 4.7	Normal ve diyabetik grupların LDL-kolesterol düzeyleri	52
Sekil 4.8	Normal ve diyabetik grupların VLDL-kolesterol düzeyleri	53
Sekil 4.9	Normal ve diyabetik grupların GPT (ALT) aktiviteleri	54
Sekil 4.10	Normal ve diyabetik grupların GOT (AST) aktiviteleri	54
Şekil 4.11	Normal kontrol grubu sıçanlardaki Langerhans adacığı ve seröz bezler (S) (H&E, 400X)	60
Şekil 4.12	Normal morin (25 mg/kg) (a) ve normal morin (50 mg/kg), (b) uygulanan sıçanlardaki Langerhans adacığı (H&E, 400X)	61
Şekil 4.13	Diyabetik kontrol sıçanlardaki Langerhans adacığı, seröz bezler (S), β -hücre (H&E,400X)	62
Şekil 4.14	Diyabetik morin (25 mg/kg) (a) ve diyabetik morin (50 mg/kg) (b) uygulanan sıçanlardaki Langerhans adacık yapısı, (*) hücrelerde sitoplazma ve çekirdek kaybının olduğu alanlar (H&E, 400X)	63
Sekil 4.15	Diyabetik tolbutamit (100 mg/kg) uygulanan sıçanlardaki Langerhans adacığı (H&E, 400X)	64

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Deney hayvanlarına verilen yemin bileşimi	36
Çizelge 4.1 Morin'in normal ve STZ-diyabetik sıçanlarda açlık kan glukoz düzeylerine etkisi	45
Çizelge 4.2 Morin'in normal ve STZ-diyabetik sıçanlarda doku MDA düzeylerine etkisi	56
Çizelge 4.3 Morin'in normal ve STZ-diyabetik sıçanlarda doku Nox düzeylerine etkisi	57
Çizelge 4.4 Morin'in normal ve STZ-diyabetik sıçanlarda doku GSH düzeyleri üzerinde etkisi	58
Çizelge 4.5 Morin'in normal ve STZ-diyabetik sıçanlarda doku SOD aktivitesi üzerinde etkisi	59

1. GİRİŞ

Diyabetin tedavisinde birçok ilaç kullanılmaktadır. İlaç tedavisine ek olarak halk arasında sıkça kullanılan antidiyabetik etkileri olan bitkiler üzerinde günümüzde oldukça fazla araştırma yapılmaktadır. Bitkiler eskiden beri ilaçların temel kaynağıdır ve günümüz ilaçlarının bir çoğu doğrudan veya dolaylı yoldan bitkilerden elde edilmektedir. Bitki kaynaklı farklı kimyasal bileşik gruplarından elde edilen birçok aktif madde diyabet tedavisinde kullanılabilmektedir (Witters 2001). Yapılan çalışmalar arasında bitkilerden elde edilen ve ticari olarak satılan birçok madde diyabet çalışmalarında kullanılmaktadır. Geleneksel tıbbi bitkilerin antioksidan aktiviteye sahip olmaları antioksidan vitaminler, fenoller veya taninlerden dolayı olabilir. Örneğin antioksidan madde olarak bilinen vitamin E ve C'nin diyabete olan etkisi pek çok araştırmada kullanılmıştır (Paolisso vd. 1993, Reaven vd. 1995, Torres vd. 1999). Fenollerin özellikle flavonoidlerin, antioksidan aktivite gösterdikleri rapor edilmiştir (Rice-Evans 1995, Abu-Amsa vd. 1996, Cao vd. 1997, Dreosti 2000). Farklı bitki kaynaklarından elde edilen fitomoleküllerin flavonoidler, alkaloidler, glikozidler, saponinler, glikolipidler, lifler, polisakkaridler, peptidoglikanlar, karbohidratlar, amino asitler, vb. antioksidan ve hipoglisemik ajanlar içerdikleri bilinmektedirler (Gutteridge 1994, Van den Berg 1996, Lamba vd. 2000, Lü vd. 2009, Pan vd. 2009, Silva vd. 2009, Zhang vd. 2009, Su vd. 2010).

Flavonoidler, önemli antioksidan ve hipoglisemik aktiviteye sahip olan doğal bileşiklerdir (Kitagawa vd. 1992, Bors vd. 1996). Yaygın bir şekilde sekonder metabolitler olarak bitkilerde bulunurlar ve değişik farmakolojik etkilere (antienflamatuvar, antialerjik, antibakteriyal, antiviral ve antitümör gibi) sahiptirler (Middleton 1998, Makris vd. 2007, Tu vd. 2007, Xiao vd. 2008). Flavonoidlerin flavonoller, flavonlar, çalkonlar, flavanonlar, antosiyanidler, flavanonoller, flavanoller ve isoflavonler gibi değişik alt grupları mevcuttur. Bazı flavonoidler diyabette değişen glukoz ve oksidatif metabolizmayı iyileştirmelerinden dolayı hipoglisemik özelliklere sahiptirler (Vessal vd. 2003, Mukherjee vd. 2006, Su vd. 2006). Bu araştırmada antioksidan etkisi olduğu bilinen ve pek çok araştırmada farklı yönleri çalışılan bir bitki flavonoidi olarak bilinen morin'in farklı dozları sıçanlar üzerinde kullanılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Diabetes Mellitus (DM)

DM, pankreasın insülin üretimindeki bozukluklarından veya salgılanan insülinin yeterli derecede kullanılamamasından kaynaklanan metabolik bir hastalıktır. Kontrol altına alınmadığında hiperglisemi zamanla tüm dokulara, özellikle de sinirlere ve kardiyovasküler sisteme ciddi zararlar vermektedir (Anonymous 2011a). Dünya Sağlık Örgütü (WHO), 2000 yılında tüm dünyada en az 171 milyon diyabet hastası (toplam dünya nüfusunun %2.8'i) bulunduğunu bildirmiştir. Tüm dünyada diyabetin görülme sıklığı hızla artmaktadır ve 2030 yılında yaklaşık 366 milyon kişinin diyabet hastası olacağı tahmin edilmektedir (toplam dünya nüfusunun %4.4'ü). Diyabet tüm dünyada görülen bir hastalıktır ancak, gelişmiş ülkelerde daha sık (özellikle Tip 2 diyabet) görülmektedir (Wild vd. 2004).

2.2 DM Sınıflandırılması

ADA (Amerikan Diyabet Birliği) 1997 yılında diyabet için yeni tanı ve sınıflandırma kriterleri yayımladı (Anonymous 1997) ve bu sınıflandırma üzerinde 2003 yılında bazı düzeltmeler yapıldı (Anonymous 2003). Diyabet hastalığının başlıca dört tipi vardır (Anonymous 2008).

2.2.1 Tip 1 diyabet (İnsüline bağımlı diyabet: IDDM)

Genellikle çocuklarda görülür, tüm diyabet vakalarının yaklaşık %10'unu teşkil eder. Bu tip diyabette Langerhans Adacıklarındaki β -hücreleri yıkıma uğradığından sayıları azalır ve insülin sentez ve salınımı düşer ya da durur (Hatemi vd. 1983, Bishop vd. 2000). Adacık hücre hasarından birbirine bağlı önemli üç faktör sorumludur: genetik yatkınlık, otoimmünite ve çevresel faktörler. Glisemiye kontrol altına almak, ketozu önlemek ve hastanın hayatına devam etmesini sağlamak için dışarıdan insülin verilerek eksiklik giderilir. Bu tip diyabette, insülin dışında tedavi edici herhangi bir ilaç bulunamamıştır (Foulis ve Clark 1994, Özata ve Yönm 2006).

2.2.2 Tip 2 diyabet (İnsüline bağımlı olmayan diyabet: NIDDM)

Genellikle ileri yaşlarda görülmeye başlar, tüm diyabet vakalarının yaklaşık %90'nını teşkil eder (Luxton 1999). Bu tipte, β -hücrelerinde insulin oluşumu, salınımı, depo edilmesi ve beta hücrelerinin sayısı normaldir. Kanda insulin düzeyi biraz azalmış, normal ya da yüksek olabilir. Önemli bozukluk, hedef hücrelerde insülin-reseptör sıklığının veya hücre içi post reseptör düzeyde insülin etkinliğinin azalması ve insüline karşı direnç gelişmesidir. Bu bozuklukların kalıtsal nedenlerle meydana geldiği öne sürülmüştür (Kayaalp 1993, Aguirre ve White 2000, Kelley ve Goodpaster 2001).

Tip 2 diyabet iki farklı gruba ayrılmaktadır: **Birinci grup şişmanlarda (obez) görülen diyabet şeklidir.** Bu grupta aşırı beslenme ve besin maddelerinin kandan hücrelere geçip depolanmasının azalmasına bağlı olarak, beta-hücresi stimülasyonu ile hiperinsülinizm ortaya çıkmaktadır. Sonuçta hedef hücrelerde reseptör sıklığı azalmakta ve postreseptör nitelikteki direnç artmaktadır. Diyet ile tedavi ve vücut ağırlığının azaltılması birçok semptomu ortadan kaldırır.

İkinci grup ise şişman olmayanlarda (non-obez) görülen diyabettir. Bu tipte beta-hücrelerindeki fonksiyon bozukluğunun rol oynadığı sanılmaktadır. Bu tip diyabetin kontrol altında tutulmasında oral antidiyabetikler etkili olmaktadır (Kayaalp 1993).

2.2.3 Sekonder diyabet

Pankreas hastalıkları (Pankreatit, Cistik fibrosis), diyabetojenik hormonların (prolaktin, glukagon, büyüme hormonu) aşırı salgılanması ve diyabetojenik etkili ilaçlarla tedavi sırasında ortaya çıkan diyabet şeklidir (Belfiore ve Iannello 2000).

2.2.4 Gebelik diyabeti (GDM)

Gebelik sırasında glukozaya karşı toleransın azaldığı geçici bir diyabet durumudur. Gebelikten sonra semptomların devam etmesi ile kronikleşebilir (Bühling ve Dudenhausen 2001).

2.2.5 Glukoz toleransının azalması

Kişideki plazma glukoz düzeyinin normal ile diyabetik kabul edilen değerler arasında bulunması durumudur. Gebelik, şişmanlık, stres, miyokard infarktüs ve cerrahi girişimler esnasında meydana gelmektedir. Etkenlerin ortadan kalkması ile iyileşme görülür (Kayaalp 1993).

2.3 Diyabetik Komplikasyonları

2.3.1 Akut komplikasyonları

Diyabetik ketoasidoz (DKA): Düşük insülin seviyeleri hiperglisemiye neden olur. Glukozu yeterince kullanamayan karaciğer enerji kaynağı olarak yağları kullanmaya başlar. Böylece, kanda keton cisimciklerinin miktarı artar (ketonemi) (tip 1 diyabetin önemli göstergelerinden birisi hasta nefesinde olan aseton kokusudur) ve kanın pH'sı düşer. Kan pH'sının düşmesi DKA'nın en önemli göstergesidir.

Diyabetik ketoasidoz çoğunlukla tip 1 diyabet hastalarında ortaya çıkan bir komplikasyondur. Ancak tip 2 diyabet hastalarında da görülebilir. DKA her zaman acil tıbbi müdahale gerektiren akut ve tehlikeli bir komplikasyondur (Murray vd. 2000).

Hiperozmolar hiperglisemik sendrom (HHS): Hiperozmolar Hiperglisemik Sendrom, belirgin ketoasidoz olmaksızın, aşırı hiperglisemi, plazma hiperozmolaritesi ve aşırı su kaybı (dehidratasyon) ile karakterize olan bir sendromdur. Kan şekeri çok yüksek olan (genellikle 300 mg/dl (16 mmol/l) ve üzeri değerler) kişilerde, kanın ozmotik basıncının yükselir ve hücre içindeki su moleküllerinin kana doğru çekilmesine neden olur. Yine hiperglisemi böbreklerden suyun geri emilmesini engelleyerek, üretilen idrar miktarını da arttırır (Buna ozmotik diürez adı verilir).

Eğer kaybedilen sıvı geri alınmazsa (ağızdan ya da damar yoluyla), hücrelerin devamlı olarak su kaybetmeleri ve aşırı idrar ile suyun atılması sonucunda hastaların sıvı kaybetmelerine neden olur (dehidrasyon). HHS'te, diyabetik ketoasidozda olduğu gibi,

acil tıbbi müdahale gereklidir. Müdahaleye genellikle kaybedilen sıvının geri verilmesi ile başlanır. HHS tip 2 diyabet hastalarında daha yaygın olarak görülür (Bishop vd. 2000).

Hipoglisemi: Hipoglisemi ya da anormal derecede düşük kan şekeri, diyabet tedavisinde kullanılan pek çok tedavi yönteminin akut bir komplikasyonudur. Özellikle insülin tedavisi gören tip 1 ve tip 2 diyabet hastaları, bazı oral antidiyabetik ilaçlar kullananlar veya yaşlı ve böbrek bozukluğu olan hastalarda görülür. Hipoglisemi komanın bir numaralı sebebidir (Murray vd. 2000).

Diyabet hastalarında görülen bu duruma zamanlaması yanlış ve aşırı insülin kullanılması, çok fazla ve yanlış zamanda yapılan egzersiz (egzersiz yapmak insülin gereksinimini azaltır), yeterince besin alınmaması (özellikle glukoz içeren karbohidratlar) ya da bir öğünün kaçırılması neden olabilir. Çoğu vakada hipoglisemi şekerli yiyecek ya da içeceklerle tedavi edilir. Ciddi vakalarda, tedavi için glukagon enjeksiyonu ya da damar yolundan dekstroz infüzyonu yapılır.

2.3.2 Kronik komplikasyonları

Kan glukoz seviyesinin kronik yükselmesi kan damarlarında iki tip komplikasyona (anjyopati) yol açar:

A- Mikrovasküler komplikasyonları (Mikroanjyopati): Organizmada mikrovasküler komplikasyonlar olarak retinopati, nefropati ve nöropati görülür.

Diyabetik retinopati: Kronik diyabet hastalarının %20'sinde körlük mutlaka gelişmektedir. Bu hastalarda görme kaybının birinci sebebi retinopatidir. Diyabetik retinopati, gözün arka kısmındaki retinayı besleyen damarlarda diyabete bağlı gelişen mikrovasküler bir hastalıktır. Retinopati proliferatif ve proliferatif olmayan olarak iki grup altında incelenebilir. Hastaların retinasında kanamalar, eksüdalar, venöz ve kapiller değişiklikler ile anevrizmalar görülür (Türkmen vd. 1990, Menteş 2009, Gücükoğlu 2009).

Diyabetik nefropati: Diyabetik nefropatinin patogeneğinde hemodinamik mekanizmaya ilave olarak, glukotoksisite ve anormal lipid profil gibi çeşitli mekanizmalar söz konusudur. Hemodinamik mekanizmada erken değişiklikler, glomerüler bazal membranda, tübüler bazal membranda ve bowman kapsülünde kalınlaşmalar şeklinedir. Bir başka mekanizmada ise glukotoksisite ve hemodinamik stres hücrenel fonksiyonu değiştirerek poliol yolağında aldoz redüktaz enziminin konsantrasyonunda artış şeklinedir. Böbreklerde diffüz glomerülosklero, noduler glomerulosklero ve eksüdatif lezyonlar, pyelonefritis, tubuler hücrelerde glukoz birikmesi ve yağlı değişiklikler gibi lezyonlar görülebilir (Kurt vd. 2004).

Diyabetik nöropati: Diyabet, nöropatinin en sık rastlanan nedenidir. Olguların çoğunda duyusal sorunlar baskın olup el ve ayaklarda duyu kaybı vardır. şeker alkollerinin fazla miktarda birikmesinin sinir zedelenmesini meydana getirdiği kabul edilmektedir. Sinir doku miyoinozitolünün azalması ve hücre mebranının bozulmuş enerji metabolizması ile doğrudan bağlantılıdır. Hipergliseminin derecesi ile nöropatinin şiddeti ve prevalansları arasında ilişki vardır. Diyabetik nöropati; simetrik duyusal nöropati , asimetrik duyusal nöropati (diyabetik amiyotropi) ve karışık duyusal ve motor polinöropati (organ nöropatisi) olarak karşımıza çıkar. Diyabetik hastalarda Carpal Tunnel sendromu ve diğer sıkışma nöropatilerine de sık rastlanır (Türkmen vd. 1990, eliker 2009).

B- Makrovasküler komplikasyonları: Bu komplikasyonlarda koroner kalp hastalığı, periferik damar hastalığı ve serebrovasküler hastalıklar görölür. Diyabetin makrovasküler komplikasyonları denildiği zaman aterosklero, kardiovasküler komplikasyonlar, beyin arterlerinde değişiklikler ve bunlara bağlı hemoraji ve trombozlar, bacaklarda ateroskleroza bağlı tromboz semptomlarına rastlanması ve neticede kangren eğiliminin artması gibi durumlar akla gelmektedir .

2.4 DM Tedavisinde Kullanılan İlaçlar

2.4.1 İnsülin

Tedavide kullanılan insülinin önemli bir kısmı, mezbahalarda yan ürün olarak elde edilen domuz veya sığır pankreaslarından elde edilmekteydi. Domuz insülini, sığır insüline göre insanlarda daha az allerji yaptığı için tercih edilmiştir, ancak son yıllarda insan insülini yapmak için iki farklı yöntem kullanılmaktadır:

- 1- Domuz insülinindeki bazı amino asitleri değiştirmek suretiyle insan insülini yapılmaktadır. Bu yöntemle elde edilen insüline yarı sentetik insan insülini veya enzim-modifiye insan insülini adı verilmektedir.
- 2- Rekombinant DNA teknolojisi kullanılarak insan insülini elde edilmektedir. Biyoteknolojik olarak üretildiğinde, *E. coli*, A ve B zincirlerinin sentezini yapar. Sonra bu iki zincir, kimyasal yolla birbirine bağlanarak rekombinant insan insülini elde edilir (Kayaalp 1993, Luxton, 1999).

İnsülin analogları

İnsulin analogları rekombinant DNA teknolojisi ile insan insulininin anahtar pozisyonundaki bazı amino asitlerin yer değiştirilmesi veya ilavesi ile elde edilirler. Amino asit sekansında yapılan değişimler insulinin kimyasal, fiziksel özelliklerini değiştirir ancak biyolojik etkilerini değiştirmez.

İnsülin analogları kısa ve uzun etkili analoglar olarak ikiye ayrılır.

a- Kısa etkili insülin analogları (insülin aspart, insülin lispro ve insülin glulisine) kristalize insüline göre daha çabuk etkili, daha yüksek kan konsantrasyonu sağlayan ve etkisi daha kısa süren (2-3 saat) insülinlerdir.

b- Uzun etkili insülin analogları (insülin glargine, insülin detemir) ise etki süresi 24 saate kadar uzamaktadır, NPH (Neutral Protamine Hagedorn) insüline göre daha düşük kan seviyesi oluşturmaktadır ve bazal insülin salgısını taklit etmektedir. Bu analogların dezavantajı ise bazı yeni araştırmalara göre kanserojenik etkisinin olabileceği (özellikle

insülin glargine) yönündedir (Jonasson vd. 2009), ancak günümüzde böyle bir etki kanıtlanamamıştır.

2.4.2 Oral antidiyabetikler

İnsülinin diyabet tedavisindeki güçlü etkinliğine rağmen, oral olarak alındığında proteolitik enzimlerle parçalanması sonucunda etkisiz kalmaktadır. Bu nedenle oral antidiyabetik ilaçlar geliştirilmiştir. Günümüzde kullanılan oral antidiyabetik ilaçlar aşağıdaki gibi özetlenebilir (Şekil 2.1):

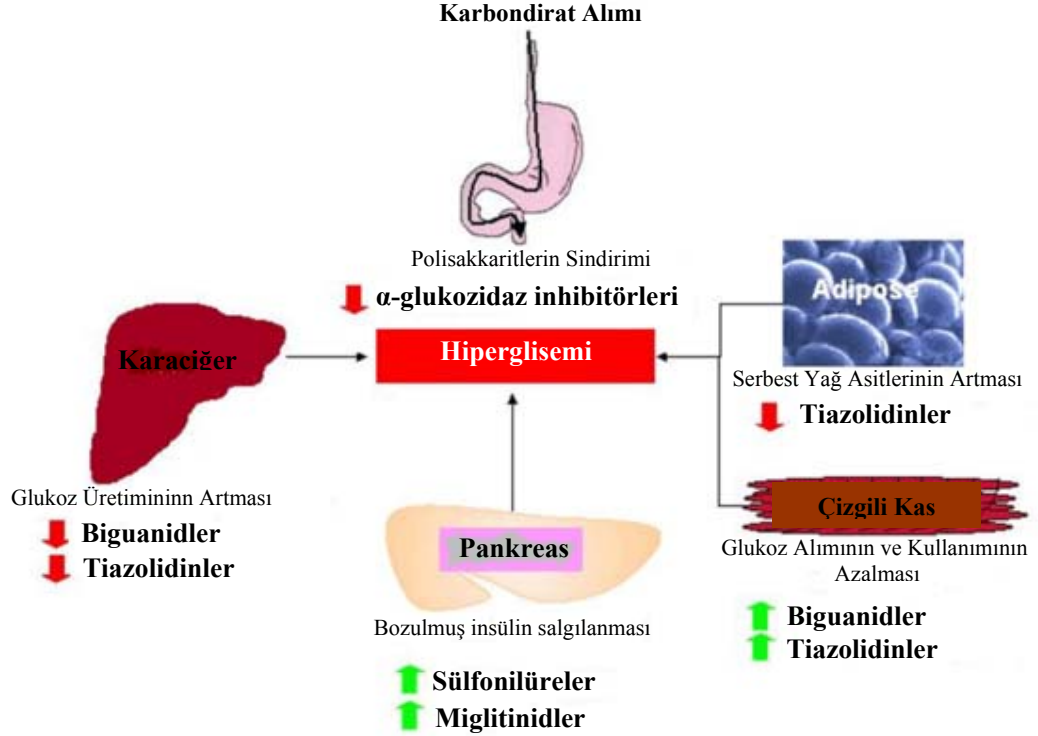
1-Sülfonilüreler: Birinci kuşak (Örneğin, tolbutamid) ve İkinci kuşak (Örneğin, glibenklamid), Sülfonilüreler pankreastan insülin salgılanmasını artırır. Bunların en belirgin yan etkisi hipoglisemidir. Ayrıca insülin seviyesinin yüksek olması vücut ağırlığında bir artışa da neden olabilir (Parving vd. 1992, Kelly 1995) .

2- Biguanidler: Metformin bu grubun bir örneğidir (*Galega officinalis* bitkisinden elde edilir). Bu grup hepatik glukoz üretimini inhibe ederek ve aynı zamanda kaslar tarafından alınan glukoz miktarını arttırarak hiperglisemiyi önler. Yan etkileri: Halsizlik, yorgunluk ve baş dönmesidir (Bailey 1992, Dey vd. 2002) .

3- Alfa-glukozidaz inhibitörleri: Bu grupta Acarbose ve Miglitol bulunur. Bunlar bağırsaklardan glukoz absorpsiyonunu engellerler. Yan etkileri ise gaz, ishal ve şişkinliktir (Melander 1996).

4- Tiazolidinler (glitazonler): Bu grupta Pioglitazone bulunur. Rosiglitazone, da yakın zamanda kalp krizi vakalarına neden olduğu anlaşıldıktan sonra bir çok ülkede piyasadan çekilmiştir. Bunlar kas ve karaciğerde insülin duyarlılığını geliştirirler. Bu grupta en belirgin yan etki karaciğer toksisitesidir (Bundan dolayı ilk üye Troglitazone piyasadan kaldırıldı) (Balasubramanyam ve Mohan 2001, Dey vd. 2002).

5- Miglitinidler: Repaglinide ve Nateglinid bu gruptandır. Sülfonilüreler gibi insülinin salgılanmasını arttırırlar. Yan etkileri ise; kilo alma, sindirim sisteminde rahatsızlık ve hipoglisemidir (Belfiore ve Iannello 2000).



Şekil 2.1 Oral antidiyabetik ilaçlar ve etki mekanizmaları (Kumar vd. 2008)

2.5 Deneysel Diyabet Modelleri

Diyabet çeşitli hayvan türlerinde farmakolojik, cerrahi veya genetik manipülasyon yolları ile indüklenebilir. Diyabet konusunda deneylerin çoğu kemirgenler üzerinde yapılır, buna rağmen bazı deneyler büyük hayvanlar da yapılmaktadır. Banting ve Best 1920'de köpeklerde pankreatektomi yöntemi ile diyabet oluşturmuşlardır (Bliss 2000). Ayrıca birtakım araştırmalarda diyabete duyarlı olan farklı deney hayvanları kullanılmıştır (Chen ve Wang 2005, Rees ve Alcolado 2005, Masiello 2006). Günümüzde fare diyabet için en çok kullanılan deney hayvanı modelidir. Çünkü farenin 200'ün üzerinde iyi bilinen inbred türü vardır (Rees ve Alcolado 2005, Masiello 2006).

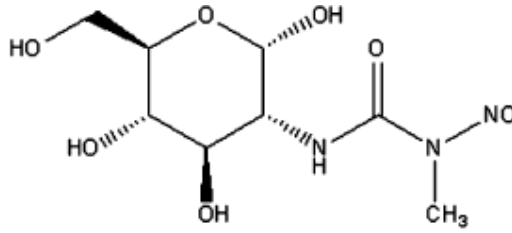
2.5.1 Diyabetin farmakolojik indüksiyonu

Etnofarmakolji alanında 1996-2006 yılları arasında yayınlanan araştırmaların çoğunda farmakolojik indüksiyon modeli kullanılmıştır (Fröde ve Medeiros 2008). STZ (%69) ve alloksan (%31) en sık kullanılan kimyasallardır ve bu model diyabetin farklı yönlerinin araştırılmasında oldukça faydalı olmuştur. Bu maddelerin her ikisi de diyabetojenik etkisini enjekte edildikleri zaman (intravenöz, intraperitoneal veya subkutan) gösterirler. Diyabetin indüklenmesinde kullanılan bu ajanların dozu, hayvan türlerine, maddeleri hayvanlara verme yoluna ve hayvanların beslenmesine bağlıdır. Verilen doza göre tip 1, tip 2 diyabet veya glukoz intoleransa benzer bir sendrom indüklenebilir (Lenzen vd. 1996, Mythili vd. 2004).

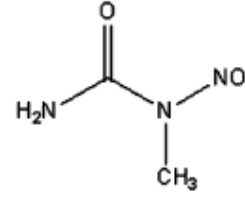
Vakor (rodentisit), dithizone(diphenylthiocarbazone) ve 8-Hydroxyquinolone gibi maddelerle deneysel diyabet oluşturabilir, ancak toksik etki düzeyleri yüksek olduğu için araştırmalarda kullanılmaları sınırlıdır (Clark vd. 1994).

Streptozotosin (STZ)

STZ (Metilnitrozokarbonil)- β -D-glukopiranoz) nitrozoüre analogu, *N*-metil-*N*-nitrozoüre (MNU) yarısı, heksozda karbon-2 ye bağlanır (Şekil 2.2). Diyabet araştırmalarında STZ en uygun diabetojenik ajandır. STZ antimikrobiyal , aynı zamanda kemoterapötik alkilleyici ajan olarak da kullanılmaktadır (White 1963, Schein vd. 1974). İlk defa 1963'te Rakietyen vd. STZ'nin diyabetojenik olduğunu bildirmiştir. STZnin neden olduğu insülinopenya (hipoinsülinizm) sendromuna STZ diyabeti adı verilmektedir (Schein vd. 1967). STZnin pankreas β -hücrelerinde spesifik olarak nekroza neden olduğu ve hayvanlarda diyabet indüklemesinde tercih edildiği bildirilmiştir (Arison vd. 1967, Lenzen vd. 1996).



Streptozotosin

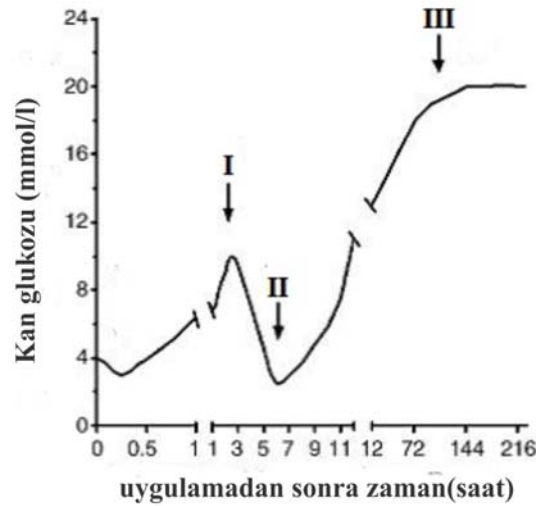


Metilnitrozoüre

Şekil 2.2 Streptozotosin ve metilnitrozoüre (Lenzen 2008)

Streptozotosinle diyabet oluşturma fazları

STZ ile indüklenen trifazik kan glukozunun yanıtları şekil 2.3'te gösterilmektedir (Lenzen 2008). STZ'ye yanıtlar STZ'ye tepki olarak organizmada plazma insülini seviyesinde ve pankreasın ince yapısında değişikliklerin meydana geldiği ve sonuçta nekrotik β hücre ölümünün gerçekleştiği bildirilmiştir.



Şekil 2.3 STZ den kaynaklanan kan glukoz fazları (Lenzen 2008)

Birinci faz, kan glukoz konsantrasyonunun artışı (1 saat STZ verildikten sonra) ve plazma insülinin azalması ile başlar. Bu faz genellikle 2-4 saat süren hiperglisemi ile karakteristiktir ve bunun nedeni insülin salgısının inhibisyonu (hipoinsülinemi) dur. Bu fazda beta hücrelerinde intraselüler vakuolizasyon, GER dilatasyonu, golgi alanının

azalması, salgı granüllerinin ve içerdiği insülinin azalması ve mitokondri şişmesi gibi bazı morfolojik özellikler ortaya çıkar.

İkinci faz, (hipoglisemik faz) genellikle STZ enjeksiyonundan 4-8 saat sonra görülür ve birkaç saat sürer. STZnin hücre membranı ve salgı granüllerinin zarlarını parçalanmasını indüklemesi sonucunda dolaşım sistemine yüksek miktarda insülin girer, böylece şiddetli geçici hipoglisemi ortaya çıkar. Bu faz sonunda β -hücrelerinde birtakım ciddi morfolojik değişiklikler görülür.

Üçüncü faz, kalıcı diyabetik hiperglisemi fazıdır. Morfolojik olarak, β -hücrelerinin granüllerini tamamen boşaltmaları ve ölmeleri 12-48 saat içinde gerçekleşir.

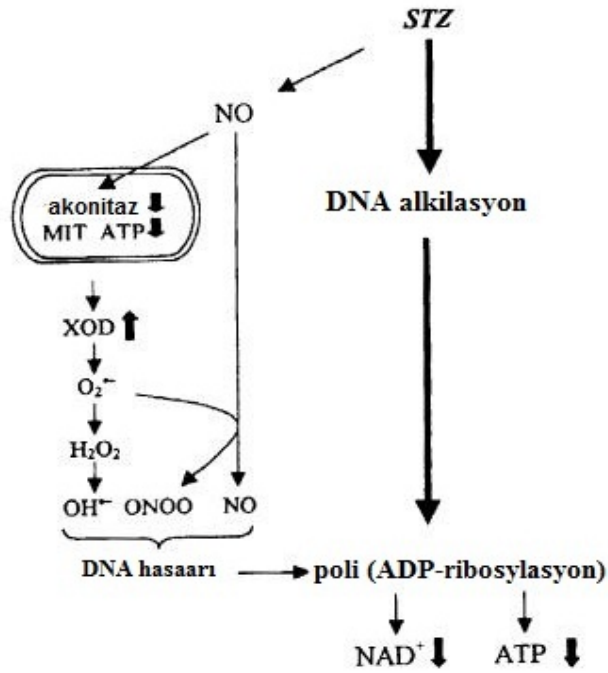
STZ'nin etki mekanizması

STZ insülin salgılanmasını inhibe eder ve insüline bağımlı diyabete neden olur. Bu etkiler kimyasal özelliklerine (alkilleyici potansiyeline) bağlı olabilir. Alloksanda olduğu gibi, STZyi β -hücresi spesifik olarak hücre içine alır ve biriktirir. STZ pankreatik β -hücrelerinin plazma membranlarında bulunan GLUT2 (Glukoz Transporter) ile seçici olarak hücreye taşınır (Tjälve vd. 1976, Karunanayake vd. 1976). GLUT2 sentezlemeyen hücrelerin STZ'ye dayanıklı olduğu rapor edilmiştir (Schnedl vd. 1994, Elsner vd. 2000).

STZnin metilnitrosourea MNU kısmının (Şekil 2.2) toksisitesi DNA alkilleme aktivitesine bağlıdır (metil grubunu nükleik asit nükleobazlarına transfer etmekle toksisitesini gösterir) (Murata vd. 1999). STZden DNAYA metil grubunun transferi hasara neden olur ve DNA fragmentasyonu ile sonuçlanır (Yamamoto vd. 1981). DNA'nın tamiri için poli(ADP-riboz) polimeraz (PARP) yüksek derecede stimüle edilir. Bu olay hücredeki NAD^+ ve daha sonra ATP depolarını azaltır. Hücresel enerji depolarının tükenmesi sonucunda beta hücresi nekroza uğrar (Sandler ve Swenne 1983). STZ aynı zamanda proteinleri de metiller (Wilson vd. 1988) ama sonuçta DNA metilasyonu beta hücresinin ölümünden sorumludur, STZ'den kaynaklanan protein metilasyonu da muhtemelen beta hücresinde fonksiyonel bozukluklara neden olur.

Alternatif hipoteze göre STZ'nin diyabetojenik etkisinin bir kısmı intraselüler NO donör potansiyeline bağlıdır (Turk vd. 1993). STZ ve MNU nitrozo grubu içerirler ve hücrede NO artışına sebep olurlar. STZ'nin guanilil siklaz aktivitesini ve cGMP formasyonunu artırdığı ve bu artışların NO' dan kaynaklandığı öne sürülmüştür (Delaney vd. 1995).

Son olarak, az miktarda ROS ($O_2^{\cdot-}$ ve $HO^{\cdot}$) jenerasyonu (Nukatsuka vd. 1990), STZ etkisiyle birlikte β -hücrelerinin yıkımını hızlandırabilir fakat burada ROS'un önemli bir rolü yoktur (Şekil 2.4) (Lenzen 2008).



Şekil 2.4 Sıçan pankreasının β -hücrelerinde STZ ile indüklenen toksisitenin mekanizması (Szkudelski 2001)

2.5.2 Deneysel diyabette cerrahi modeller

Diyabetin indüklenmesi için başka bir teknik ise, pankreasın tamamen kaldırılmasıdır. Son yıllarda bazı araştırmacılar doğal ürünlerin etkilerini araştırmak için sıçan, domuz, köpek ve primatlar gibi hayvan türlerini model olarak kullanmaktadır (Choi vd. 2004, Liu vd. 2004, Rees ve Alcolado 2005, Masiello 2006). Bu tekniğin çeşitli sakıncaları mevcuttur:

- 1- Yüksek seviyede teknik uzmanlık ve yeterli ameliyat donanımı gereklidir
 - 2- Büyük bir ameliyat gerektirdiği için hayvanda enfeksiyon riski yüksektir
 - 3- Yeterli postoperatif analjezi ve antibiyotik kullanımı gerekmektedir
 - 4- Malabsorbsiyonu önlemek için pankreas enzim takviyesi gereklidir
 - 5- Hipoglisemiye karşı pankreasın antagonistik regulasyonu kaybolmaktadır
- Son zamanlarda, kısmi pankreatektomi kullanılmaktadır fakat orta seviyedeki hiperglisemiye elde etmek için pankreasın büyük bir kısmının alınması (%80 den fazla sıçanlarda) gereklidir. Bu yöntemde hedeflenenin dışında pankreasın rezeksiyonu önemli hipoinsülinemiyeye neden olabilir (Masiello 2006).

2.5.3 Deneysel diyabetin genetik modelleri

Spontan diyabet geliştiren hayvan modelleri

Bu modellerde kimyasal maddelerden (alloksan ve STZ gibi) kaynaklanan yan etkiler yoktur. İnsanda görülen diyabette olduğu gibi, deney hayvanları heterojen ve karmaşık özellikler gösterir. Bu modellerde insülin direnci obezite, dislipidemi ve hipertansiyon görülür. Bu tip deney hayvanlarının kullanılması insan tip 2 diyabetinde gözlemlenen bazı olayları araştırmak için oldukça önemlidir. Ob/Ob faresi gibi bazı modeller pankreatik β -hücre yanıtında sağlam ve devamlı telafi nedeniyle öglisemiye koruyabilirler. Bu nedenle insülin direnci ile hiperinsulinemi durumu ortaya çıkmaktadır. Diğer taraftan, db/db faresinde hiperglisemi hızla gelişir çünkü, pankreatik β -hücreleri hayat boyunca gerekli olan yüksek seviyede insülin salgılanmasını sağlayamaz. Böylece yem alımı diyabetik fenotip şiddetinin belirlenmesinde önemlidir ve enerji alımında kısıtlama bu tür farelerde görülen obezite ve hiperglisemiye azaltır. Başka bir örnek ise, kendiliğinden diyabetik olan Goto-Kakizaki sıçanı, glukoz-intolerant nondiyabetik Wistar sıçanlarının nesiller boyunca seçici çoğalmadan kaynaklanan tip 2 diyabetin genetik eğilimli bir modelidir (Chen ve Wang 2005). Tip 1 diyabet modelleri ile ilgili NOD (non-obese diabetic) fare tipik olarak 12. ve 30. haftalar arasında hiperglisemi gösterir, halbuki BB sıçanlarda 12. hafta civarında hiperglisemi gerçekleşir. Aynı zamanda bu modellerin büyük bir avantajı, arteroskleroz (diyabetin kronik bir komplikasyonu) modeli olarak kullanılmasıdır ve birçok doğal ürün

karşısında test edilmesidir (Wu ve Huan 2007). Doğal ürünler ile yapılan araştırmalarda en fazla kullanılan modellerden birisi NOD fareleridir, diğer ise ZK sıçanlarıdır.

Diğer tip 1 diyabete yatkın deney hayvanları suşları ise, Yeni Zellanda beyaz tavşanı, Kreesbond köpeği, Çin hamsteri ve Celebes siyah maymunudur. Ancak, bu suşlar sadece Exenatide (inkretin analogu)'in prelinik denemelerinde kullanılmıştır (Rees ve Alcolado 2005).

Genetik mühendisliğiyle üretilen diyabetik fareler

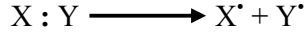
Bu model için, glukoz metabolizmasında önemli rolü olan proteinleri aşırı (transjenik) ya da az (knockout) sentezleyen deney hayvanları (kemirgenler) üretilir (Masiello 2006). Son yıllarda bu alanda önemli gelişmelerin (özellikle transjenik fareler) ortaya çıkmasına rağmen, bu modellerde doğal ürünlerle ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Çünkü bu modeller yüksek maliyetlidir ve potansiyel terapötik ajanların etki mekanizmalarının (ya pankreatik β -hücrelerinin büyümesini stimüle eder yada β -hücrelerinin ölümünü inhibe eder) sofistike protokollerle araştırılması kısıtlıdır (Meiton 2006).

2.6 Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

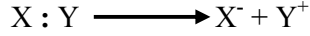
2.6.1 Serbest radikaller

Serbest radikaller, hücre metabolizması sırasında oluşan biyokimyasal reaksiyonlar ile ortaya çıkan dış yörüngelerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron bulunan ve kısa ömürlü moleküllerdir (Van 1993, Dünder ve Aslan 1999). Eşleşmemiş elektronundan dolayı serbest radikal molekülü kararsızdır. Kararlı yapı oluşturabilmesi için eşleşmemiş elektronunu başka bir elektronla eşleştirmesi gerekir. Dolayısıyla serbest radikalin kimyasal aktivite potansiyeli yüksektir (Aygün 2010). Serbest radikaller üç farklı şekilde oluşur (Akkuş 1995):

1- Normal bir molekülün kovalent bir bağının her bir parçasında bir ortaklanmamış elektron kalacak şekilde homolitik bölünmesi.



2- Normal bir molekülden tek bir elektron kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron atomların birinde kalır. Böylece serbest radikaller değil, iyonlar meydana gelir.



3- Normal bir moleküle tek bir elektron eklenmesi.



Serbest radikaller pozitif yüklü (katyon), negatif (anyon) veya elektriksel olarak nötr olabilirler (Gutteridge 1995).

Biyolojik sistemlerde bulunan önemli serbest radikaller, oksijen türevli radikallerdir (Mercan 2004). Oksijen atomu, bünyesinde sekiz tane elektron bulundurur ve bu elektronlardan en dış yörüngede bulunan iki tanesi eşleşmemiştir. Bu yüzden oksijen bazen bir diradikal olarak değerlendirilir. Organizmada çeşitli reaktif oksijen ve nitrojen türleri bulunabilmektedir (Avcı 2001) Başlıcaları:

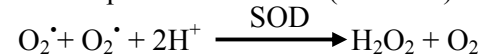
1- Superoksit radikali ($O_2^{\bullet -}$): Canlı vücudunda en çok üretilen radikallerden bir tanesidir. Doğal oksijen molekülünün başka bir molekülden elektron almasıyla oluşur.



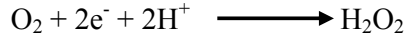
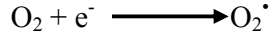
$O_2^{\bullet -}$ organizmadaki başlıca kaynakları; a. Mitokondriyal elektron transport zinciri reaksiyonları, b. Fagositik hücrelerdeki “solunum patlaması” olayı, c. Endoplazmik retikülündeki sitokrom P-450 enzim sistemi (Kuyvenhoven ve Meinders 1999).

$O_2^{\bullet -}$, serbest radikal olmasına rağmen, kendisi doğrudan zarar vermez. Asıl önemli olan H_2O_2 kaynağı ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır (Memişoğulları 2005).

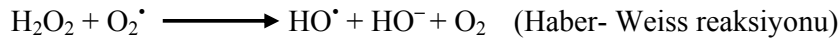
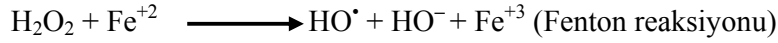
Normal şartlarda $O_2^{\bullet -}$ antioksidan savunma mekanizması sayesinde hızla ortadan kaldırılır. $O_2^{\bullet -}$, mitokondride mangan superoksit dismutaz (Mn-SOD); sitoplazmada bakır superoksit dismutaz (Cu-SOD) tarafından H_2O_2 'e çevrilir (Johansen vd. 2005).



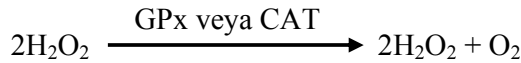
2- Hidrojen peroksit (H₂O₂): Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit iki hidrojen atomu ile birleşerek H₂O₂'i meydana getirir. H₂O₂ membranlardan kolayca geçebilen, uzun ömürlü bir oksidandır (Uzar 2006).



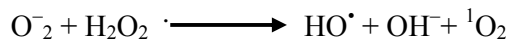
Aslında H₂O₂ eşlenmemiş elektron içermediği için gerçek bir serbest radikal sayılmaz. Ancak HO[•] oluşumuna neden olabildiğinden dolayı önemli bir oksidandır. H₂O₂ geçiş metalleri (Fe, Cu, Mn) varlığında Fenton reaksiyonu ve O₂^{• -} varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidroksil radikaline dönüşür (Delibaş ve Özcankaya, 1995).



H₂O₂'in biyolojik açıdan önemi hidrofobik membranlardan kolayca diffüze olabilmesidir (örn. mitokondrial membran). H₂O₂ mitokondride glutatyon peroksidaz (GPx), lizozomda katalaz (CAT) tarafından toksik olmayan su (H₂O) ve moleküler oksijene (O₂) dönüşür (Johansen vd. 2005).



3- Hidroksil radikali (HO[•]): HO[•] Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucu H₂O₂'ten oluşmaktadır. Yarılanma ömrü çok kısadır. Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucu HO[•] oluşabilir (Akkuş 1995).



Biyolojik sistemlerde bilinen en reaktif en toksik radikaldir. Hidroksil radikalının yüksek reaktivitesi nedeniyle istenmeyen toksik etkileri yanı sıra, üretilmeleri normal biyolojik fonksiyonlar için de gereklidir. Fagositoz ve pek çok enzimatik tepkimenin zorunlu bir parçası olarak HO[•] üretilir ve kataliz olayına doğrudan katılır (Kılınç 1986, Mercan 2004).

4- Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$): Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$), ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan bir reaktif oksijen molekülüdür. Oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spininin ters yönünde olan başka bir orbitale geç etmesiyle ve serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da sebep olur (Boyunağa 1989).

5- Nitrik oksit (NO): NO, suda ve yağda çözülebilen, nitrit (NO_2) ve nitrata (NO_3) okside olabilen ve solüsyon içinde yarılanma ömrü 30 saniye olan renksiz bir gazdır. L-argininden nitrik oksit sentetaz (NOS) katalizörülüğünde sitrulin oluşumu sırasında, L-arginin guanidin nitrojen grubunun hidroksilasyonu ile oluşan ara üründür (Davies vd. 1995, Kuyumcu vd. 2004).

NOS enzimleri, yapısal nitrik oksit sentetaz (cNOS) ve indüklenebilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) olarak ikiye ayrılır. Karaciğerde yapısal NOS bulunurken, endotel hücrelerinde bulunan endotelyal NOS ve iNOS bu enzimlerin en önemlileridir (Kuyumcu vd. 2004, Baykara ve Tekmen 2005).

Aynı zamanda NO, taşıdığı ortaklanmamış elektron nedeniyle bir radikal molekülü olarak isimlendirilir. Diğer serbest radikaller her konsantrasyonda hücreler için zararlı iken NO düşük konsantrasyonlarda çok önemli fizyolojik işlevlerde rol almaktadır. Ancak aşırı ve kontrolsüz NO sentezi hücreler için zararlı olmaktadır. NO, bu özelliği ile çok ideal bir fizyolojik haberci molekülü özelliği kazanmaktadır (Palmer vd. 1988, Known vd. 1991). Endotelden sentezlenen NO, vasküler düz kas hücrelerinde guanilat siklazı uyatarak siklik guanosin monofosfat (cGMP) oluşturur. Böylece vasküler düz kasın gevşemesini sağlar (Gültekin vd. 1996).

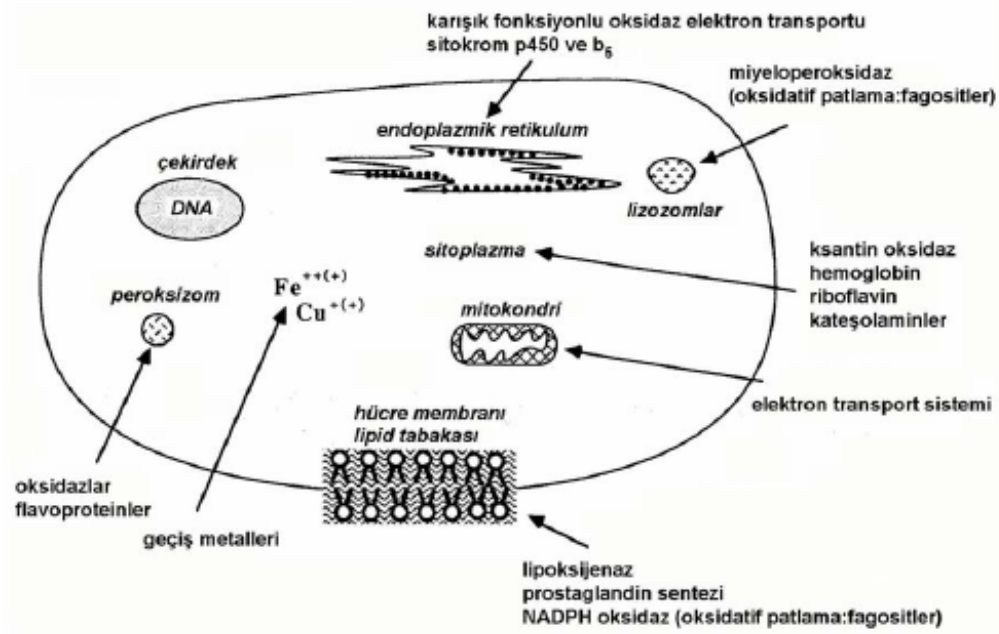
iNOS, normal koşullarda aktif değildir. Enfeksiyöz ve inflamatuvar süreçlerde sitokinler ve/veya endotoksinler tarafından aktive edilir ve bol miktarda NO üretir (Moshage, 1997). NO bazı durumlarda bir antioksidan gibi davranır ve lipid peroksidasyonundan korur. Ayrıca $\text{O}_2^{\cdot-}$ düzeylerinin arttığı durumlarda $\text{O}_2^{\cdot-}$ ile reaksiyona girmesi sonucu, yarılanma ömrü uzun, oldukça reaktif bir oksidan olan peroksinitrit ($\text{ONOO}^{\cdot-}$) oluşumuna sebep olur. $\text{ONOO}^{\cdot-}$ 'in parçalanmasıyla yüksek konsantrasyonlu NO_2 oluşur (Kuyumcu vd. 2004, Johansen vd. 2005, Memişoğulları 2005).

Reaktif nitrojen bileşikleri lipidler, DNA, tioller, aminoasitler ve metallerle reaksiyona girerek enzim fonksiyonlarını ve membran bütünlüğünü bozar ve DNA mutasyonuna sebep olabilir. Tüm bunlar lipid peroksidasyonunu başlatmaktadır (Kuo ve Schroeder 1995, Eiserich vd.1998).

2.6.2 Serbest radikal kaynakları

1. Endojen kaynaklar

Endojen serbest radikal kaynakları şekil 2.5'te özet olarak verilmiştir.



Şekil 2.5 Endojen serbest radikal kaynakları (Kehrer 1993)

2. Eksojen kaynaklar:

- 1- Çevresel kirlilikler (radyasyon, hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, sigara dumanı, hiperoksi, pestisitler, aromatik hidrokarbonlar)
- 2- Alışkanlık yapan maddeler (alkol ve uyusturucu maddeler)
- 3- Yabancı toksik maddeler (karbontetraklorür) ve bazı metal iyonları (demir, bakır, kadmiyum, nikel, krom, civa) (Soyöz 2002, Mercan 2004).

2.6.3 Serbest radikallerin etkileri

Proteinlere etkileri: Serbest radikallerin neden olduğu hasar sonucunda proteinlerde fragmantasyon, çapraz bağlanma, protein agregasyonu meydana gelmektedir. Proteinlerin, serbest radikal hasarından ne derece etkileneceği aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Proteinin hücresel lokalizasyonuna ve radikalın toksisite gücüne göre protein harabiyetinin boyutları değişebilir (Kavas 1989, Erenel vd. 1992).

Nükleik asitler ve DNA'ya etkileri: Hidroksil radikali deoksiriboz ve bazlarla kolayca etkileşime girer ve değişikliklere yol açar. Sitotoksisite, büyük oranda, nükleik asit baz modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır. İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve lme yol açarlar (Akkuş 1995).

Membran Lipitleri zerine Etkileri: Biyomoleküllerin hemen hemen tümü serbest radikaller tarafından tutulabilir. Bu durumdan en fazla etkilenen lipidlerdir. Hücre membranları doymamış yağ asitlerinden zengindir ki bunlar okside edici radikaller tarafından kolayca tutulurlar. Doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı olan lipid peroksidasyonu organizmaya hasar vericidir. Çünkü kendiliğinden ilerleyen zincir reaksiyonları devam eder. Lipid peroksidasyon ürünlerinden Malondialdehit (MDA), membran komponentlerinde çapraz bağlanma ve polimerizasyona yol açmakta ve DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girerek karsinojenik özellik taşıtmaktadır (Zamecka ve Porembaska 1988, Kavas 1989).

Karbonhidratlara etkileri: Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu oluşan H₂O₂, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir. Bunlar diyabet gibi patolojik olaylarda önemli rol oynarlar. Bağ dokusunun önemli bir mukopolisakkariti olan hiyalüronik asit, sinoviyal sıvıda da bol bulunur. Enflamatuvar eklem hastalıklarında sinoviyal sıvıya çok sayıda polimorf hücreler g eder ve immün komplekslerle aktivasyonu sonucu ekstraselüler sıvıya H₂O₂ ve O₂^{•-} salgırlar. Hyalüronik asit parçalanması enflamatuvar eklem hastalıklarında sinovyal sıvının karakteristik bir özelliğidir. Gzn vitreous

humor’unda bulunan hyaluronik asidin oksidatif hasarı katarakt oluşumuna neden olur (Akkuş 1995).

2.6.4 Oksidatif stres

Oksidatif denge olarak da adlandırılan, canlı organizmada serbest radikallerin oluşumu ile bunların antioksidan savunma sistemleri tarafından etkisiz hale getirilmesi bir denge içerisinde. Oksidatif denge, organizmada denge halinde olduğu sürece dokular serbest radikallerden etkilenmemektedirler (Dominguez vd. 1998).

Reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) gibi yüksek reaktif özelliğe sahip moleküllerin üretiminin artması veya antioksidan savunma sistemleri tarafından ortadan kaldırılmaları sırasında oluşan yavaşlamanın sonucunda bu denge bozulur ve oksidatif stres olarak adlandırılan duruma neden olur. Oksidatif stres, antioksidan savunma mekanizmasının yetersiz kalmasıyla yada çeşitli durumlarda serbest radikallerin artmasıyla oluşur. Bunun sonucunda hücrede DNA, protein, lipid, karbonhidrat ve enzim molekülleri zarar görebilir (Sies 1997, Halliwell ve Gutteridge 1999, Sorg 2004).

Oksidatif stres, ateroskleroz, mutasyonlar, kanserojen toksinler, radyasyona maruz kalma ve diyabet durumunda artmaktadır. Diyabette görülen hiperglisemi durumunda, oksidatif stresin arttığı ve antioksidan savunmanın azaldığı bilinmektedir (Toyokuni vd. 1995, Vincent vd. 2004, Altan vd. 2006).

2.6.5 DM ve oksidatif stres

Oksidatif stres diyabet, kalp hastalıkları, yaşlanma gibi pek çok olayın patogeneğinde önemli bir role sahiptir (Akkuş vd. 1995). DM’da serbest radikallerin; non-enzimatik glikasyon, enerji metabolizması değişikliklerinden kaynaklanan metabolik stres, sorbitol yolağının aktivitesinin, hipoksi ve iskemi-reperfüzyona bağlı doku hasarı sonucu arttığı ve antioksidan savunma duvarının aşıldığı diyabette bu tablonun diyabetik

komplikasyonlara yol açtığı vurgulanmaktadır (Baynes 1991, Baynes ve Thorpe 1999, Altan vd. 2006).

Lipid peroksidasyonu, hem yaygın vasküler inflamasyon sonucu aktiveleşen lipooksijenaz yolu ile prostoglandinlerden, hem de serbest radikaller ve geçiş metallerinin etkisi ile endotelial ve fagositik hücrelerin membranlarında bulunan lipidlerden, nonenzimatik yolla oluşmaktadır. Daha sonra her iki yola ait ürünlerin, karşılıklı olarak birbirlerini aktive ederek, lipid peroksidasyonunu artırdıkları bildirilmiştir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, plazma lipid peroksidlerindeki artışın, diyabetten çok, vasküler hastalığın kendisi ve hipertrigliseridemi ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Araştırmacıların bulguları, vasküler komplikasyonları olan diyabetli hastalarda, hem LDL oksidasyonunda hem de nonenzimatik glikasyonunda, hiperglisemiye bağlı artışlar olduğunu göstermektedir (Dean vd. 1997, Battist vd. 2003, Januszewski vd. 2003, Altan vd. 2006).

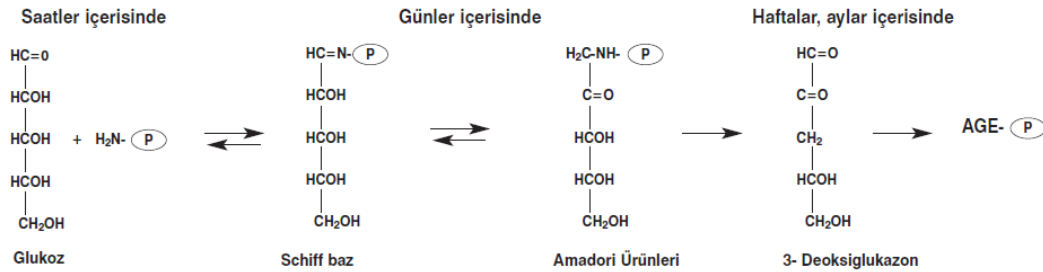
Diyabet olgularında, lipid peroksidasyonunun yanı sıra ilave olarak protein oksidasyonu da artmaktadır dolayısıyla sistemik oksidatif stres, proteinlerin karbonil gruplarının artışına neden olmaktadır. Karbonil stres olarak tanımlanan bu artışın; hiperglisemi, hiperlipidemi, oksidatif stres veya reaktif karbonil türevlerinin detoksifikasyonundaki azalmadan kaynaklanabileceği bildirilmektedir (Dalle-Donne vd. 2003).

Oksidatif stresin vücutta diğer bir hedefi ise insülin sentezi ve salınımından sorumlu olan pankreas β hücreleridir. Yüksek kan glukoz düzeyi veya serbest yağ asitlerinin artması ya da ikisinin aynı zamanda görülmesi pankreas β hücrelerinde fonksiyon bozukluğuna neden olmaktadır (Ohly vd. 2000, Quinn 2002, Evans vd. 2003). Pankreas β hücrelerinin serbest radikallere karşı duyarlı olmalarının nedeni SOD, GPx, CAT gibi önemli antioksidan enzimler bakımından yetersiz olmalarıdır. Serbest radikallerin artması ve artan lipid peroksidasyonu sonucu Langerhans adacık hücrelerindeki glukozun oksidasyonu artırır ve insülin salgılanması inhibe edilir (Evans vd. 2003).

Hiperglisemi aracılı serbest radikal oluşumu başlıca üç temel mekanizma ile açıklanmaktadır (Bonnetfont-Roussel 2002, Altan vd. 2006).

1. Glukozun otooksidasyonu ve süperoksit üretimi: Bir geçiş elementinin varlığında glukoz, reaktif ketoaldehitlere ve süperoksit anyonuna çevrilir. Reaksiyonlar zinciri, süperoksit radikalının H_2O_2 üzerinden $HO^\bullet$ oluşturmaya ile sonuçlanır. Hücre içi glukoz oksidasyonu solunum zincirinde oksidatif fosforilasyon yolu ile ATP üretimi için gerekli enerjiyi sağlamak üzere kullanılan NADH'nın açığa çıkmasına neden olur. Solunum zincirindeki bu reaksiyon sırasında ara metabolit olarak $O_2^{\bullet-}$ açığa çıkar. Bu nedenle Mitokondri solunum zinciri başlıca hücre içi radikal türlerin üretim kaynağıdır. Normal solunum zinciri olayları sırasında sürekli olarak $O_2^{\bullet-}$ oluştuğu düşünülmektedir. Hiperglisemi bu yolla $O_2^{\bullet-}$ üretimini artırır (Brownlee 2001, Green vd. 2004, Altan vd. 2006)

2. Proteinlerin glikasyonu ve AGEs: Hiperglisemide, glukoz non-enzimatik olarak ortamdaki proteinlere bağlanır ve istenmeyen glikasyon reaksiyonlarına neden olur. Glikasyona uğramış protein, moleküler oksijene bir elektron vererek serbest radikal oluşum reaksiyonlarını artırır (Gillery vd. 1988, Türkmen vd. 1990), (Şekil 2.6).

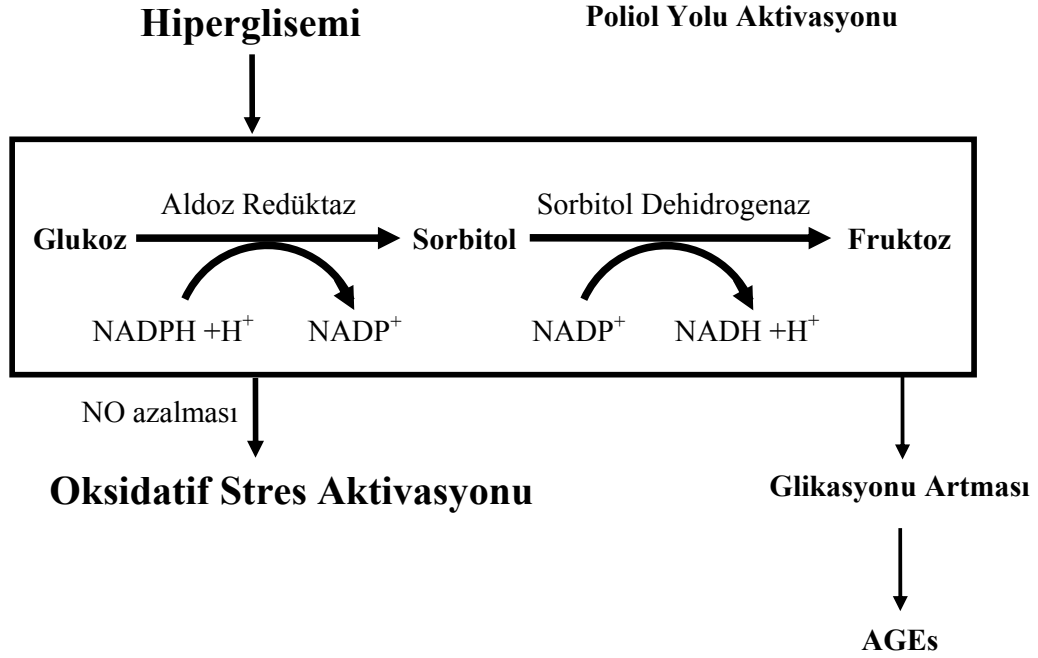


Şekil 2.6 Proteinlerin glikasyonu ve AGEs oluşumu (Parmaksız 2011)

AGE'ler, endotelin aracılığıyla vazokonstriksiyonu artırarak endotel hasarına ve kompleks biyokimyasal mekanizmalarla serbest radikal artışına yol açar. AGE'ler proteinlerin yapılarını ve fonksiyonlarını değiştirerek oksidatif stres oluşturabilirler (Bierhaus vd. 1997, Eidland vd. 2001). Yapılan çalışmalarda AGEs ve serbest radikallerin, protein kinaz C (PKC)'yi aktive ettiği ve dolayısıyla aşırı ve sürekli aktive olmuş PKC'nin, vasküler kan akımını, damar permeabilitesini, hücre dışı matris bileşenlerini ve hücre büyümesini etkileyerek vasküler komplikasyonlar da rol aldığı düşünülmektedir (Chappey vd. 1997, Koya ve King 1998, Way vd. 2001). İnsanda non-

enzimatik protein glikozillenmesinin en önemli örneği hemoglobinin glikozillenmesidir (HbA1c). Hemoglobin glikozillenme derecesi, hipergliseminin süresi ve düzeyine bağlıdır . Hiperglisemide, glukozun lens proteinlerine çapraz bağlarla bağlanma özelliği, lizin amino grubunun non-enzimatik glikozillenmesi ile olmaktadır. Burada, glikozillenmenin son ürünleri, lensin kristalin proteinine bağlanır. Böylece lensin spektroskopik özellikleri bozulur ve senil katarakt gelişir (Türkmen vd. 1990). Bağ doku komponentlerinin glikozillenmesindeki artışın bir diğer önemi, lipoproteinlerin arter duvarında tutulması ile gelişebilen aterogenezisdir. Glikozillenmiş damar duvarı proteinleri LDL kolesterolü, normal kolestrole göre 3 kat daha fazla bağlayarak, lipit birikmesi ve lipit plakların oluşması, makrofajların devreye girmesi, foam (köpük) hücre formasyonuna bağlı makrofaj orijinli büyüme faktörü sekresyonunun stimülasyonu, düz kas hücresi mitogenezi veya diğer makrofaj ürünlerinin retinada, glomerüller, koroner arter, beyin arterioileri ve periferik damarların daralmasına yol açar. AGE'lerin DNA proteininin, özellikle lizin varlığında, glukozla reaksiyona girmesi ile oluşan reaksiyonları kromozomal değişiklikler, DNA zincirinde kırılmalar, DNA'nın tamiri, replikasyon ve transkripsiyonda bozukluklara neden olabilir. Diyabetik hiperglisemilerde bu olayların artması erken hücre yaşlanmasına sebep olmaktadır (Türkmen vd. 1990).

3. Poliol (Sorbitol) yolağının aktivitesinin artması : Hiperglisemi, poliol yolu ile sorbitol üretimine neden olur (Şekil 2.7). Sorbitol, glukozdan fruktoz oluşumu sırasında meydana gelen, glukozun bir alkolüdür. Hücre içi sorbitol metabolik yolu aktif olunca, sorbitol hücre içinde birikmeye başlar. Hiperglisemi ile birlikte lens, sinir, retina, böbrek, kan damarları, iskelet hücreleri gibi diabetik komplikasyonlar için öncül risk alanlarında glukozun hücre içine girmesi için insüline ihtiyaç olmadığından hücre içi glukoz kandaki seviyeye ulaşır. Hücre içi glukoz miktarı fizyolojik düzeyleri aşınca glukoz için yüksek Km değerine sahip olan aldoz redüktaz enzimi aktifleşir ve poliol (sorbitol) yolu açılır (Türkmen vd. 1990, Murray vd. 2000).



Şekil 2.7 Poliöl yolağı (Unger 2007)

Glukozun metabolizmasına ait üç metabolik yoldan biri olan poliöl (sorbitol) yolağı çalışmaya başladığında, artan fruktozla ortamdaki heksokinaz yetersiz olmaya başlar. Fruktozdan meydana gelen gliseraldehitin gliserole dönüşmesi ve gliserolünde lipid sentezinde kullanılması diyabetiklerdeki hiperlipidemiye meydana getirmektedir (Çavuşoğlu 1988, Türkmen vd. 1990, Murray vd. 2000). Bu yoldaki aldoz redüktaz enzim aktivitesi için NADPH kullanılarak tüketilir. Okside glutatyonun redükte forma çevrilebilmesi ve NO sentezi için de NADPH gerekli olduğundan, sorbitol yolunun aktif olması NADPH yetmezliğine ve böylece glutatyon üzerinden antioksidan etkinliğin azalmasına yol açar. Redükte glutatyonun ve vazodilatör olan NO sentezinin azalması diabetin vasküler komplikasyonlarını ortaya çıkartır (Altan vd. 2006). Vazodilatör mediatörlerin kaybı, endonöronal kan akımı ve endonöronal hipoksi veya iskemi sonucu nöronların hasarında etkilidir (Gutteridge 1995). Glukozun sorbitol yolu ile fruktoz ve sorbitola çevrilmesinin bir sonucu olarak, hücre miyoinozitol düzeyleri azalır ve sinir iletim hızı için önem taşıyan Na,K-ATPaz enzim aktivitesi azalır (Greene vd. 1987, Greene vd. 1990, Altan vd. 2006). Ağır diyabette göz merceğinde sorbitol gibi şeker alkollerinin birikmesi, suyun tutulmasına neden olur. Böylece göz merceği osmotik basınçtan dolayı şişmeye başlar dolayısıyla lentiküler opasiteler ve katarakt meydana

gelir (Türkmen vd. 1990). Miyoinozitol, insan ve hayvan organizmasında böbrek dışı dokuda, reversibl olarak membran fosfolipiderinin ve fosfoinozidlerinin yapısına girer. Hücre dışı olayların hücre içi mesajlar olarak iletiminde etkin olan fosfoinozid metabolitlerinin azalışı Na,K-ATPaz aktivitesindeki azalış ile paralel olarak sinir iletim hızında bir azalmaya sebep olmaktadır. Hiperglisemide miyoinozitol miktarı ya sorbitol metabolik yolu aktivitesi artışına bağlı olarak ya da glukozun hücrelere miyoinozitol girişi hiperglisemi nedeniyle inhibe edilmektedir (Türkmen vd. 1990).

DM'daki uzun süreli hiperglisemi, açıklanan mekanizmalar ile sürekli ve şiddetli olarak oksidatif stresi tetiklemektedir.

2.7 Antioksidanlar

Çeşitli mekanizmalar sonucu oluşan serbest radikallere karşı vücutta doğal bir savunma mekanizması vardır. Bu savunma mekanizmasını oluşturan bileşiklere “antioksidanlar” denir (Gökpınar vd. 2006). Hücrelerin aralarında ve zarlarında bulunabilirler (Akkuş 1995). Antioksidanların etki çeşitleri şunlardır:

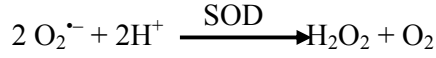
1. ROS'nin antioksidan enzimsel reaksiyonlar aracılığıyla veya doğrudan temizlenmesi
2. ROS'nin oluşumunun engellenmesi
3. Radikal oluşum reaksiyonlarının metal iyonlarının bağlanması ile engellenmesi
4. Hedef moleküllerin hasar sonrası tamir edilmesi veya temizlenmesi (Yalçın 1998).

Antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayanlar olarak ikiye ayrılırlar

2.7.1 Enzimatik antioksidanlar

1- Süperoksit Dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1)

İlk olarak 1968 yılında McCord ve Fridovich tarafından tanımlanan SOD enzimi $O_2^{\bullet -}$ radikalini katalitik olarak uzaklaştıran ve lipid peroksidasyonu inhibe eden bir metalloenzimdir. $O_2^{\bullet -}$ radikalinin H_2O_2 ve O_2 dönüşümünü katalize eder (McCord ve Fridovich 1969).



Spontan olarak da oluşabilen bu reaksiyon SOD katalizörlüğünde yaklaşık 4000 kez daha hızlı oluşur. Enzimin fizyolojik fonksiyonu, oksijeni metabolize eden hücreleri $\text{O}_2^{\bullet-}$ 'nin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Böylece lipid peroksidasyonunu inhibe eder. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda $\text{O}_2^{\bullet-}$ üretimi olmasına rağmen bu enzim sayesinde intraselüler $\text{O}_2^{\bullet-}$ düzeyleri düşük tutulur. SOD'nin ekstraselüler aktivitesi çok düşüktür (Akkuş 1995).

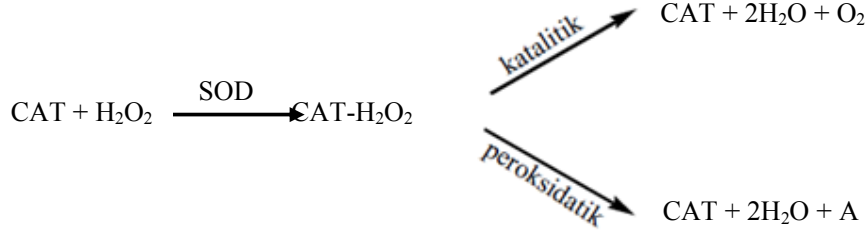
SOD'ın farklı izoenzimleri mevcuttur. Cu, Zn ve Mg içeren SOD enzimleri ökaryotik hücrelerde bulunmuştur. Örneğin CuZn-SOD sitoplazmada, Mn-SOD ise mitokondride tespit edilmiştir (Kahraman, 1998). Ayrıca, bazı bakterilerde de Fe-SOD saptanmıştır (Cao ve Chen 1991, Gutteridge 1995, Kuyvenhoven ve Meinders 1999, Nozik-Grayck vd. 2005).

2- Katalaz (CAT, EC 1.11.1.6)

Organizmaların, serbest radikallerin aşırı birikmesine karşı kendilerini korumada görev alan enzimlerden biri de CAT' dir. CAT, 1937 yılında Sumner ve Dounce tarafından sığır karaciğerinden elde edilmiştir. Molekül ağırlığı yaklaşık 240.000 civarındadır. CAT esas olarak peroksizomlarda lokalize olmuş ve yapısında 4 adet "hem" prostetik grubu bulunan bir hemoproteindir. Aktivitesi karaciğer, böbrek, miyokard, çizgili kaslar ve eritrositlerde yüksektir. Organizmaların, serbest radikallerin aşırı birikmesine karşı kendilerini korumada görev alan enzimlerden biri de katalazdır. CAT, SOD'ın süperoksit radikallerinden oluşturduğu H_2O_2 ile metabolik yollardan oluşan H_2O_2 'i indirgeyerek suya dönüştürür (Schonbaum ve Chance 1976).

Şekil 2.8'deki reaksiyonda ifade edildiği üzere CAT'ın peroksidatik ve katalitik olmak üzere iki fonksiyonu vardır. CAT'ın temel fonksiyonu olan H_2O_2 'in enzimatik parçalanmasının yanında (katalitik aktivite); düşük H_2O_2 konsantrasyonunda, metil veya etil hidroperoksitler, metanol, etanol, fenol gibi küçük moleküllü elektron vericilerini

indirgeyebilme özelliği de (peroksidatik aktivite) bilinmektedir. Fakat CAT, lipid peroksitleri gibi büyük molekülleri indirgeyememektedir. Enzim bir molekül H_2O_2 'den elektron alarak onu oksitlerken kendisi redüklenir, bir diğer molekül H_2O_2 'e elektron vererek onu indirgerken kendisi oksitlenerek başlangıçtaki durumuna döner (Petlicki ve Van de Ven 1998).

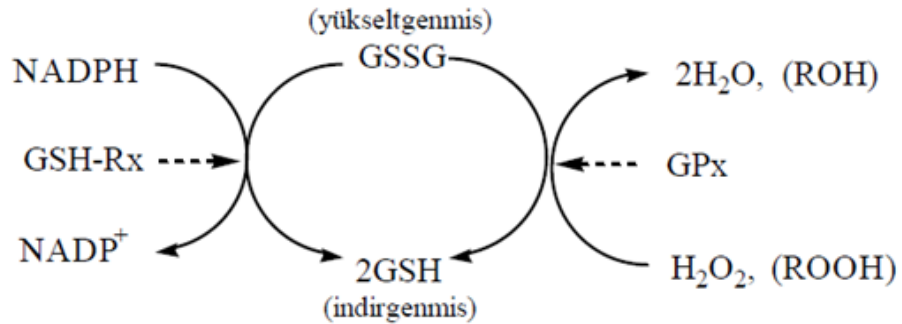


Şekil 2.8 Katalazın fonksiyonları

3- Glutasyon Peroksidaz (GPx, EC 1.11.1.9)

GPx enzimi, ilk kez 1957 yılında Mills tarafından hayvan dokusunda keşfedilmiştir. Genellikle yüksek bitkilerde ve bakterilerde bulunmamasına rağmen, bazı alg ve mantarlarda bulunduğu bildirilmiştir (Mills 1957, Halliwell ve Gutteridge 1999).

GPx, hidroperoksidlerin indirgenmesinden sorumlu olan 84.000 dalton molekül ağırlığında olup, her bir molekül başına 4 atom selenyum içerir. Okside glutasyon (GSSG) ise GSH-Rd enzimi aracılığıyla ile tekrar GSH a indirgenir (Şekil 2.9) (Mannervik 1985, Ursini vd. 1995).



Şekil 2.9 Glutasyon redoks sistemi

GPx'in, fagositik hücrelerde önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GPx, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmelerini engeller. GPx eritrositlerde de oksidatif strese karşı en etkili antioksidan enzimdir (Akkuş 1995).

4- Glutasyon - S - Transferazlar (GST, EC 2.5.1.18)

Ksenobiotiklerin (yabancı maddeler) bio-transformasyonunda önemli rol alan, herbiri iki alt birimden oluşmuş (dimerik) bir enzim ailesidir. Başta araşidonik asit ve lineloat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlere karşı selenyumdan bağımsız GPx aktivitesi göstererek bir savunma mekanizması oluştururlar (Akkuş 1995).



5- Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz (G6PD, EC 1.1.1.49)

G6PD, pentoz fosfat yolunun ilk ve hız sınırlayıcı enzimi olup, intrasellüler NADPH' ın da başlıca kaynağıdır. Üretilen NADPH ise serbest radikallerin detoksifikasyonunda rol oynayan GPx enziminin aktivitesi için gerekli olan indirgenmiş GSH sağlamaktadır.

Son yapılan çalışmalarda G6PD'nin vasküler endotelial hücreler ve düz kas hücrelerinde de serbest radikallere karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir. Ayrıca G6PD'nin vasküler endotelial hücrelerde NADPH'ı kofaktör olarak kullanan eNOS (endotelial nitrik oksit sentaz) enziminin aktivitesi için de gerekli olduğu ve eksikliğinde eNOS'ın yeterli aktivite gösteremeyerek, $\text{O}_2^{\cdot-}$ üretmeye başladığı ve sonuçta LDL oksidasyonunun tetiklendiği gösterilmiştir (Tian vd. 1999, Leopold vd. 2001).

2.7.2 Enzimatik olmayan antioksidanlar

1- C Vitamini (Askorbik Asit)

Beyaz renkli kristalize bir madde olan C vitamininin moleküler formülü $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ 'dır. C vitamini suda çözünen en önemli antioksidandır. C vitamini kornea, lens, aköz hümör,

adrenal, hipofiz, beyin, kalp, karaciğer, dalak, böbrek ve pankreasta yüksek miktarda bulunur. (Halliwell ve Gutteridge 1999)

Organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonlarında indirgeyici ajan olarak görev yapar. Güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. $O_2^{\bullet-}$ ve $HO^{\bullet}$ ile kolayca reaksiyona girerek onları temizler. Kollagen sentezinde lizin ve prolinin hidroksilasyonu için gereklidir. Midede ferri demiri ferro demire indirgeyerek emiliminde görev alır. İmmünite ve yara iyileşmesinde etkilidir (Akkuş 1995).

C vitamini ideal bir elektron vericisidir. Çünkü elektronunu verdiği zaman oluşan serbest radikal ara ürünü (semihidroaskorbik asit) diğer serbest radikaller ile karşılaştırıldığında non-reaktiftir. C vitamini hidrofilik bir molekül olduğu için sulu ortamlarda E vitaminine göre daha iyi bir antioksidandır. Suda çözünebilen diğer antioksidanlarla kıyaslandığında ise plazma lipid peroksidasyonunu engelleyen en iyi antioksidandır (Goldfarb 1993) .

2- E Vitamini (α Tokoferol)

İlk olarak 1922 yılında izole edilen E Vitamininin, α -, β -, γ -, δ - tokoferol ve α -, β -, γ -, δ - tokotrienol gibi çeşitli türevleri bulunmaktadır. α -Tokoferol, bu bileşikler içerisinde doğal dağılımı en geniş ve biyolojik aktivitesi en yüksek olanıdır. Ayrıca α -tokoferol, diğerlerinden daha yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir. Yapısında bulunan fenolik hidroksil grubu içeren aromatik halka vitaminin kimyasal olarak aktif kısmını oluşturur. α -Tokoferol, dokularda değişik konsantrasyonlarda bulunur. Mitokondri ve mikrozoamlar gibi membranca zengin hücre kısımlarında yüksek konsantrasyonlarda mevcuttur. Bitkisel yağlar ve tohumlar da zengin E vitamini kaynaklarıdır (Chow 1991, Packer vd. 2001, Bolkhina vd. 2003).

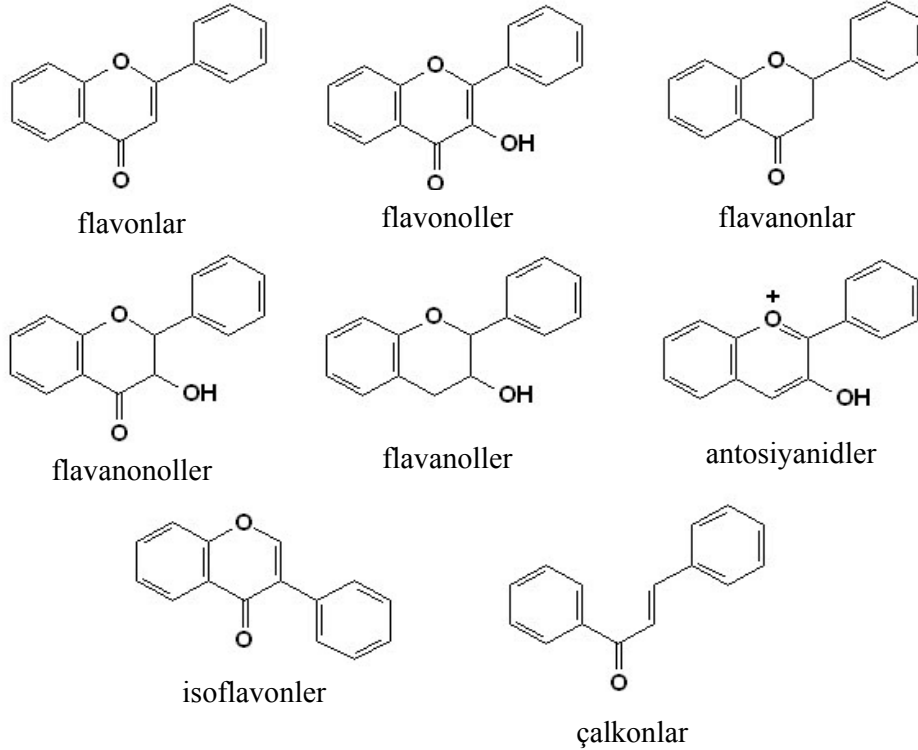
3- Glutatyon (GSH)

Önemli bir intrasellüler antioksidan olan GSH glutamik asit, sistein ve glisin amino asitlerinden meydana gelmiş düşük molekül ağırlıklı bir tripeptittir. Organizmada en

yüksek seviyede bulunduğu organ karaciğerdir. Hücrede ise en fazla sitozol, mitokondriler ve nükleusta bulunur. GSH'a antioksidan özelliğini sistenin tiyol grubu kazandırır. GSH $O_2^{\bullet-}$, $HO^{\bullet}$ ve H_2O_2 ile direkt reaksiyona girerek antioksidan etki gösterir ve hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Bunun dışında proteinlerdeki $-SH$ gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur (Shimizu ve Morita 1992, Sies 1999).

4- Flavonoidler

Suda çözünen antioksidanlar sınıfından olan flavonoidler bitkilerdeki kırmızı, mavi ve sarı renk pigmentlerini oluşturan polifenollerdir. Doğal flavonoidlerin 4000'in üzerinde olduğu flavonoid tanımlanmıştır ve sayıları da gün geçtikçe artmaktadır (Hollman ve Katan 1997). Flavonoidler; flavonoller, flavonlar, çalkonlar, flavanonlar, antosiyanidler, flavanonoller, flavanoller ve isoflavonlar olmak üzere 8 alt sınıfa ayrılırlar (Peluso 2006).

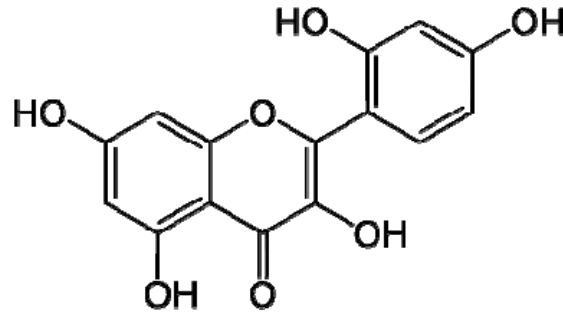


Şekil 2.10 Flavonoidlerin yapısı (Peluso 2006)

Doğada yaygın haldedir hemen hemen tüm bitki familyalarında bulunurlar. Meyve, sebze, tahıl, çay ve kahve oldukça fazla miktarda flavonoid içerir. Bitkisel kaynaklı flavonoidlerin biyokimyasal ve farmakolojik aktiviteleri oldukça geniştir. Flavonoidler serbest radikal yakalayıcısı olmaları, enzim aktivitelerini düzenlemeleri, hücre çoğalmasını inhibe etmeleri, antibiyotik, antiallerjen, antidiyareik, antiülser ve antiinflamatuvar ilaç gibi işlev görmeleri dolayısı ile önem kazanmaktadır (Meister vd. 2000, Beecher 2003). Flavonoidler, oksidatif DNA zedelenmesini, serbest radikal tutulması dışında mekanizmalarla önler. Ayrıca flavonoidler endojen antioksidanların korunup ve güçlendirilmesi yolu ile de etkili olabilirler. Flavonoidlerin çoğu glutatyon-S transferaz (GST) enzimini aktive etme özelliğine sahiptir (Ross ve Kasum 2002).

Morin

Morin (2',3,4',5,7-pentahydroxyflavone) flavonollere ait bir flavonoidtir (Şekil 2.11). *Chlorophora tinctoria*, *Maclura pomifera*, *Maclura tinctoria*, *Morus tinctoria*, *Prunus dulcis* ve *Psidium guajava* bitkilerinden izole edilmektedir (Lotito ve Frei 2006, Rattanachaikunsopon and Phumkhachorn 2007).



Şekil 2.11 Morin yapısı (<http://en.wikipedia.org/wiki/File:Morin.svg>, 2012)

Morin Moraceae familyasına ait birçok bitkide bulunmaktadır (Xie vd. 2006), morin'in etkileri ile ilgili birçok araştırma mevcuttur. Antioksidan (Hanasaki vd. 1994, Subash ve Subramanian 2009) antialerjik, antienflamatuvar, antitumör (Francis vd. 1989, Fang vd. 2003), antikarsinogenik (Denda vd. 1989, Kawabata vd. 1999, Brown vd. 2003, Sivaramakrishnan vd. 2008, Sreedharan vd. 2009), bakteriyostatik

(Rattanachaikunsopon ve Phumkhachorn 2007), hepatoprotektif (Lee vd. 2008, Lee vd. 2009), sitoprotektif (Zhang vd. 2009, Zhang vd. 2010), anti aterosklerotik (Lian vd. 2008), anti-hiperürisemik (Wang vd. 2010), anti-neoplastik ve kardiyoprotektif (Kok vd. 2000, Middleton vd. 2000, Al-Numair vd. 2012) gibi birçok biyolojik aktiviteye sahiptir. Ayrıca deney hayvanlarında yüksek dozlarının uzun süre verildiğinde bile toksik etkisi yoktur (Yugarani vd. 1992).

Moraceae familyası bitkilerinin antidiyabetik etkisi birçok kez araştırılmıştır. Örneğin, insan U937 hücrelerinde Ekmek ağacının (*Artocarpus altilis*) sitoprotektif etki gösterdiği Wang vd. (2006) tarafından rapor edilmiştir. *Artocarpus heterophyllus* (Jakfruit) yapraklarının sıcak su ekstresi (20 g/kg) glukoz toleransını normal ve diyabetik insanlarda anlamlı derecede düzelttiği rapor edilmiştir (Fernando vd. 1991). Pérez vd. (1996) incir (*Ficus carica*) yapraklarının sulu ekstresini oral ve interaperitoneal yoldan STZ diyabetik sıçanlara verildiklerinde anlamlı derecede hipoglisemik etkinin ortaya çıktığını tespit etmişlerdir. *Ficus religiosa* (Kutsal incir) kabuğunun sulu ekstresi oral yoldan sıçanlara verildiğinde (25, 50 and 100mg/kg) normal, glukoz hiperglisemik ve STZ diyabetik sıçanlarda önemli antidiyabetik aktivite gösterdiği saptanmıştır (Pandit vd. 2010). Zhang vd. (2009) beyaz duttan (*Morus alba*) elde edilen bileşiklerin, alloxan diyabetik farelerde hipoglisemik aktivite gösterdiklerini tespit etmiştir.

2.8 Amaç

Dünyada doğal ürünlerin şeker hastalığı için kullanımında son yıllarda yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Diyabet hastalığının giderek daha da yaygın görülmesi ve hala tedavisinde istenen sonuçlara ulaşamamış olunması günümüzde bu konuda yoğun araştırmalar yapılmasına neden olmaktadır. İnsanlara en yakın canlılar olan sıçanlar, fareler, tavşanlar gibi örnek deney hayvanlarında diyabet ile ilgili araştırmalar yapılmaktadır. İlk olarak insülinle tedaviye 1922'de başlanmıştır, bu tarihten önce insanlar diyabet tedavisinde geleneksel bitkileri kullanmışlardır. Bu geleneksel bitkiler, günümüzde de dünyanın birçok yoksul bölgesinde diyabet için kullanılan neredeyse tek tedavi yöntemidir. Batı toplumlarında ise insülinle tedaviye başladıktan sonra geleneksel bitkilerle tedaviye ilginin azaldığı bildirilmiştir (Day ve Bailey 1988).

Her ne kadar insülin bir yaşam-koruyucu olsa da tam olarak diyabetin tedavisinde çözüm olmamaktadır. Tip 2 diyabet hastalarının çoğunda insülin direnci bulunmaktadır ve bu hastalarda yüksek insülin konsantrasyonları olmasına rağmen hiperglisemi kontrol edilememektedir. O nedenle bu hastalar için daha fazla insülin, ideal bir tedavi yöntemi değildir. Ne yazık ki ne insülin ne de oral antidiyabetik ilaçlar (tek başına veya kombinasyon, standart veya yoğun şekilde) glisemiye normal durumuna döndüremediği ve aynı zamanda bu ilaçlardan kaynaklanan birçok yan etkinin olduğu rapor edilmiştir (Rang ve Dale 1991, Anonymous 1995, Palumbo 2001, Nissen ve Wolski 2007).

Günümüzde diyabet için alternatif tedavi yöntemlerinin araştırılmasında doğal ürünler önemli bir kaynak teşkil etmektedir (Gray ve Flatt 1997, Nicasio vd. 2005). Özellikle doğal antioksidanlara daha fazla önem verilmektedir. Çünkü bunlar diyabette oluşan oksidatif strese organizmayı korumaktadırlar. Örneğin vitamin C, vitamin E, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSHPx) gibi antioksidanların, hücreyi lipid peroksidasyonu karşısında koruyabildikleri tespit edilmiştir (Pritchard vd. 1986, Kanter vd. 2003). Deneysel diyabette serbest radikallerin artmasına bağlı olarak antioksidan seviyelerinin azaldığı birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Grankvist vd. 1981, Bray ve Bettger 1990). Ayrıca, glukoz toksisitesinden kaynaklanan β hücre disfonksiyonuna neden olan sebeplerden biri oksidatif strestir.

Diyabet tedavisinde kullanılan kimyasal ilaçların yan etkileri dikkate alınarak bu doktora tez çalışmasında bitkilerden elde edilen flavonoidlerden morin'in STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda belli süreler ve belli dozlarda uygulanarak, antioksidan ve antihiperglisemik etkisinin olup olmadığının çeşitli biyokimyasal ve histolojik yöntemler ile tespit edilmesi amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Kullanılan Madde ve Cihazlar

3.1.1 Kullanılan kimyasal maddeler

Deneylerde kullanılan tüm kimyasal maddeler Sigma, TEKKİM, Electron Microscopy Sciences, AppliChem ve Merck’den temin edildi.

3.1.2 Kullanılan cihazlar

Spektrofotometre (Shimadzu UVmini-1240)

Su banyosu (Memmert)

Santrifüj (elektro.mag)

Soğutmalı santrifüj (Universal 32R, Hettich)

Vorteks (Labnet)

Otomatik pipetler (Volac, Eppendorf)

Kaba terazi (beurer)

Hassas terazi (Sartorius)

-30 °C Derin dondurucu (SANYO)

-80 °C Derin dondurucu (JOUAN VXS 380)

Buz Makinası (Hosizaki Ice Maker)

Buzdolabı (Beko)

Glukometre (ACCU-CHEK® GO-Roche)

Operasyon takımı

Polietilen enjektör (2.5, 5, 10 ml, Ayset)

İnsulin enjektörü

Etüv (Dedeoğlu)

Isıtıcıli manyetik karıştırıcı (Stuart)

Homojenizatör (Heidolph)

pH metre (Hanna)

Otoanalizör (Refletron® Plus -Roche)

Mikroskop (Leica)

Microtom (Leica 2245)

3.2 Deney Hayvanları

Deneylerde vücut ağırlıkları 180-230g olan Wistar albino erkek sıçanlar (n= 42) kullanıldı. Hayvanlar Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi/ANKARA'dan temin edildi. Hayvanlar standart laboratuvar şartlarında (12 saat aydınlık: 12 saat karanlık, 22±2 °C) tutuldu, içme suyu ve standart yem (Bil-Yem, ANKARA) *ad libitum* verildi (Çizelge 3.1). Hayvanlar denemeye alınmadan 3 gün önce karantinada tutuldu. Bu çalışma Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulunun 12.10.2010 tarih ve G.Ü ET-10.084 nolu kararı ile kabul edildi.

Çizelge 3.1 Deney hayvanlarına verilen yemin bileşimi



DENEY HAYVANLARI GRUBU YEMLERİ RAT (SIÇAN) YEMİ

İmal Eden : BİL-YEM GIDA SAN. TİC. LTD. ŞTİ.
Adres : YENİKENT - ANKARA
Telefon : (0.312) 299 32 45 - 299 32 54
Ruhsat Tarihi ve Nosu : 03.09.1996 - 830

ANALİZ

KURU MADDE	(en az)	%	88
Ham Protein	(en az)	%	23
Ham Selüloz	(en çok)	%	7
Ham Kül	(en çok)	%	8
HCl'de Çözm. Kül	(en çok)	%	2
NaCl	(en çok)	%	1
Metabolik Enerji	(en az) kcal/kg)		2600
MAKRO ELEMENTLER			
Kalsiyum	(en az - en çok)	%	1,0-2,5
Fosfor	(en az)	%	0,9
Sodyum	(en az - en çok)	%	0,5-1
MİKRO ELEMENTLER			
Mangan	(en az mg/kg)	%	10
Çinko	(en az mg/kg)	%	4
AMİNOASİTLER			
Lysine	(en az)	%	1,9
Methionin	(en az)	%	0,3
Sistin	(en az)	%	0,1
VİTAMİNLER			
A-VİT	(en az IU/kg)		400
D3-VİT	(en az IU/kg)		300
B2-VİT	(en az mg/kg)		5
B12-VİT	(en az mcg/kg)		20
E-VİT	(en az IU/kg)		30
K3-VİT	(en az IU/kg)		1

NET 25 KG.

3.3 Deney Hayvanlarında Diyabet Oluşturulması

Deneylerde diyabet oluşturmak için 12 saat a bırakılmış sıçanlara vücut ağırlıkları dikkate alınarak 0.1 M sodyum sitrat tamponu (pH 4.5) ile taze hazırlanmış 45 mg/kg STZ intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. Ani ve şiddetli hipoglisemiyi önlemek için, STZ enjeksiyonundan sonraki 24 saat boyunca %5' lik glukoz solüsyonu içme suyu olarak sıçanlara verildi. STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra kan glukoz seviyeleri 200 mg/dl ve üzerinde olan sıçanlar deneylere alındı (Adiga vd. 2010, Arulmozhi vd. 2010). Normal gruplarda ise sıçanlara intraperitoneal 0.1 M sodyum sitrat tampon enjeksiyonu yapıldı.

3.4 Deney Hayvanlarının Gruplandırılması

Deneylerde kullanılan sıçanlar her birinde n=6 sıçan olmak üzere 7 gruba ayrıldı. Morin 21 gün boyunca günde bir kere oral yoldan (gavaj) verildi.

Group 1: Normal Kontrol

Group 2: Normal + morin 25 mg/kg

Group 3: Normal + morin 50 mg/kg

Group 4: Diyabet Kontrol

Group 5: Diyabet + morin 25 mg/kg

Group 6: Diyabet + morin 50 mg/kg

Group 7: Diyabet + Tolbutamit 100 mg/kg

Hayvanların deneyin başlangıcından itibaren haftalık olarak kan glukoz seviyeleri, vücut ağırlıkları, yem ve su tüketimi tayin edildi. Anestezi (eter) uygulanan hayvanlardan 21. gün kan (intrakardiyak) ve doku örnekleri (karaciğer, böbrek, pancreas) alındı. Alınan rnekler -80 C'de analize dek saklandı.

3.5 Serum Örneklerinin Alınması

Anestezi altındaki sıçanların kalplerinden alınan 5-7 ml kan örneği serum tüplerine alınıp yaklaşık 20 dk pıhtılaşma süresini takiben 10 dk 3500 rpm’ de santrifüj edilerek üstte kalan serum pipetle çekilerek, ependorflara aktarıldı.

3.6 Biyokimyasal İşlemler

3.6.1 Lipid profili ve karaciğer enzimlerinin tayini

Serum trigliserit, total kolesterol hazır kitler (Globe Diagnostics S.R.İ.İtaly) ile HDL-kolesterol , AST (GOT) ve ALT (GPT) Refletron (Roche) otoanalizöründe ölçüldü. LDL ve VLDL miktarları ise aşağıdaki formüllere göre hesaplandı:

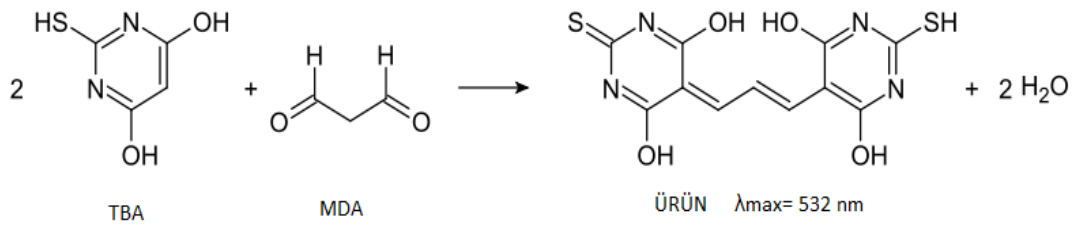
$$\text{VLDL} = \text{Trig}/5$$

$$\text{LDL} = \text{TC} - \text{HDL} - \text{Trig}/5 \text{ (Friedewald vd. 1972).}$$

3.6.2 Doku MDA tayini

Prensip

Serbest radikallerin, doymamış yağ asitlerini peroksidasyona uğratarak oluşturdukları son ürünlerden biri malondialdehittir (MDA). MDA, TBA (tiobarbitürik asit) ile reaksiyona girerek renkli formda bir bileşik meydana getirir (Şekil 3.1). Oluşan bu pembe renkli bileşiğin 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümde maksimum absorbanı vermesi prensibine dayanmaktadır (Buege ve Aust 1978).



Şekil 3.1 MDA’nın TBA ile reaksiyonu (Halliwell ve Gutteridge 1999)

Reaktifler

0.15 m KCl

%15'lik TCA

%0.67'lik TBA

%95'lik etanolde %1'lik BHT

%1'lik H₂SO₄

1 mM TEP

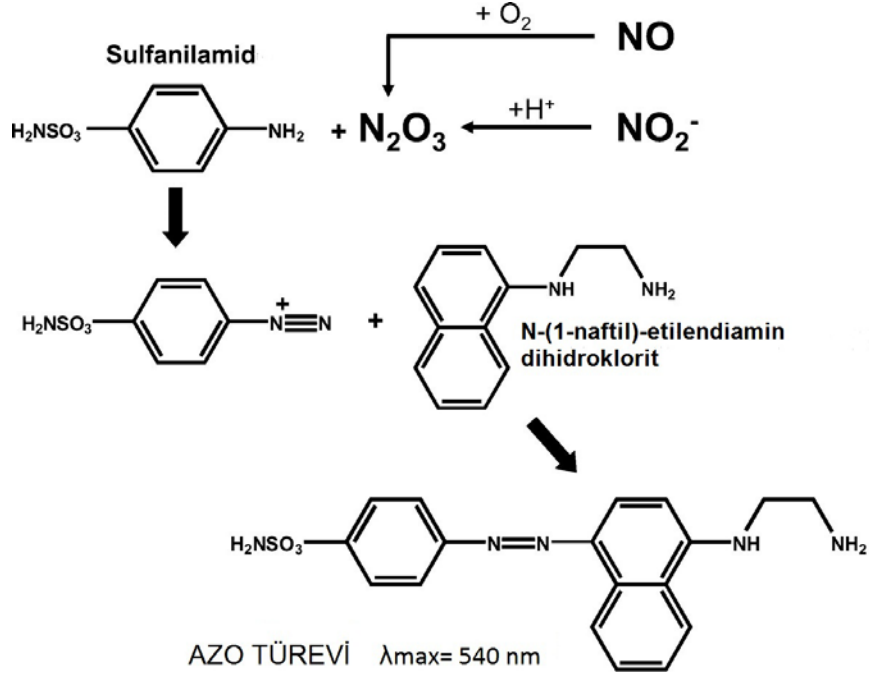
Yöntemin uygulanması

Doku örnekleri tartıldı. Homojenizatör ile soğuk KCl içinde homojenize edildi. Deproteinizasyon için TCA homojenata eklendi. Daha sonra süpernatant alınarak üzerine TBA ve BHT eklendi. Numunelerin optik dansitesi spektrofotometrede 535 nm'de, köre karşı okundu. Dokulardaki MDA konsantrasyonu nmol/g doku olarak hesaplandı.

3.6.3 Doku NO_x tayini

Prensip

NO yarı ömrü çok kısa olan bir madde olup oksidasyon ile stabil metabolitleri olan nitrat ve nitrite dönüşür. Bu yüzden NO seviyesi genellikle bu metabolitlerin tespiti ile değerlendirilir. Vanadium klorür'ün 37°C'de ortamdaki nitratı nitrite dönüştürmesi ve Griess reaksiyonu olarak adlandırılan (Şekil 3.2), nitritin asidik ortamda primer bir aromatik amin olan sülfanilamid ile diazotizasyonu ve N-(1-naphthyl) ethylenediamin (NEDD) ile renkli bir azo türevi oluşturması esasına dayanır (Miranda vd. 2001).



Şekil 3.2 Griess reaksiyonu (Tarpey vd. 2004)

Reaktifler

0,1 M (pH:7) Sodyum Fosfat Tamponu

Griess I: % 0,2'lik Naftiletilendiamin Dihidroklörür (NEDD)

Griess II: % 5'luk Fosforik asit (H3PO4) içinde % 2'lik Sülfanilamid

50 ml 1 M Hidroklorik asit (HCl) içinde 400 mg Vanadyum (III) Klorür (VCl₃)

Yöntemin uygulanması

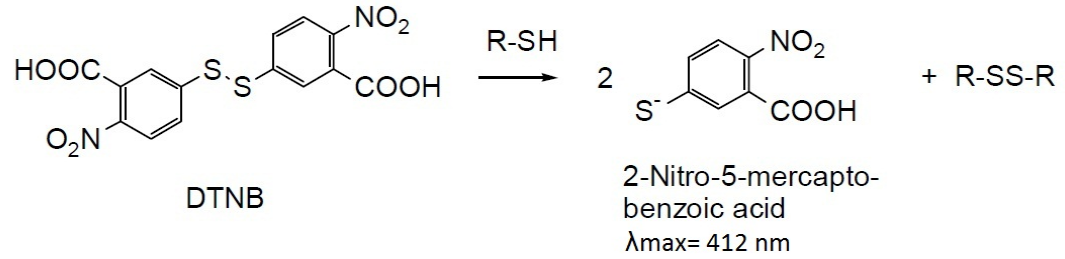
Dokulardaki NO_x konsantrasyonu Griess yöntemi ile çalışıldı (Green vd. 1982). Dokular, 0,1 M sodyum fosfat tamponu (pH:7) ile (1:9) homojenize edildikten sonra, 3500 RPM'de 15 dk santrifüj edildi. 0.5 süpernat alınarak 0.25 ml NaOH eklendi ve oda sıcaklığında 5 kd inkübe edildi. Bir sonraki aşamada 0.25 ml ZnSO₄ eklenerek 3000 RPM'de 20 dk santrifüj edildi. 200 µL süpernatana, ortamdaki nitratı nitrite indirgemek amacıyla eşit miktarda VCl₃ eklendi ve 37 °C'de 30 dk inkübasyona bırakıldı. Daha sonra sodyum fosfat tamponu ve eşit miktarlarda karıştırılmış olan Griess I+II reaktifleri eklendi. 37 °C'de 10 dk inkübasyondan sonra numunelerin optik dansitesi

spektrofotometrede, köre karşı, 540 nm'de okundu. 6,4 mM'lık stok sodyum nitrit (NaNO_2) standartı günlük olarak dilüe edilerek, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2 ve 1 μM konsantrasyonlarda standartlar elde edildi. Hazırlanan standart eğriden dokulardaki NOx konsantrasyonu $\mu\text{mol/g}$ doku olarak hesaplandı.

3.6.4 Doku GSH tayini

Prensip

Bu spektrofotometrik yöntemin temeli, Ellman reaktifi olarak da bilinen DTNB (5,5'-2-dithiobis nitrobenzoik asit), ortamda var olan sülfidril (-SH) grupları ile redüklenerek sarı renkli bir ürün olan 2-nitro-5- merkaptobenzoik asite dönüşmesine ve bu bileşiğin 412 nm'de verdiği absorbansın ölçülmesi esasına dayanır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 GSH'un DTNB İle reaksiyonu (Anonymous 2011b).

Reaktifler

Reaktif karışımı: NaCl, Meta Fosforik Asit ve EDTA distile suda

0.3 M Na_2HPO_4

%1'lik Sodyum sitrat içinde DTNB

Yöntemin uygulanması

Dokuda glutasyon tayini için modifiye Ellman yöntemi kullanıldı (Aykaç vd. 1985).

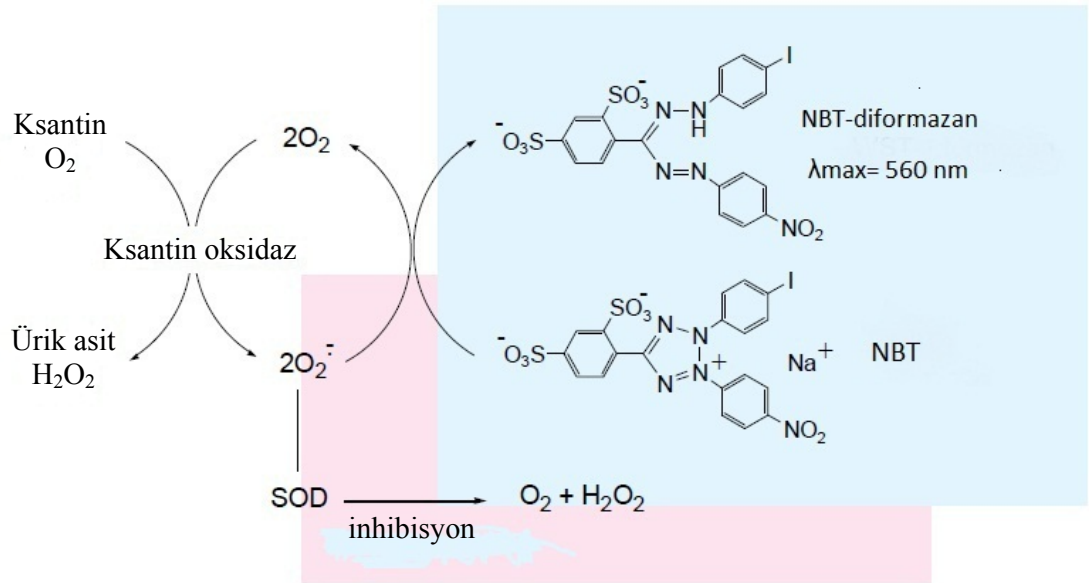
Doku örnekleri MDA yöntemindeki gibi homojenize edilip santrifüj edildikten sonra süpernatant NaH_2PO_4 ve DTNB çözeltisi ile karıştırıldı. Oda sıcaklığında 5- 10 dk

inkübe edildikten sonra karışımın absorbansı spektrofotometrede köre karşı 412 nm dalga boyunda ölçüldü. Dokulardaki GSH konsantrasyonu $\mu\text{mol/g}$ doku olarak hesaplandı.

3.6.5 Doku SOD aktivitesi tayini

Prensip

Dokulardaki SOD aktivitesi, Sun ve arkadaşlarının yöntemine göre çalışıldı (Sun vd. 1988). Bu yöntemin esası ksantin-ksantin oksidaz sistemi tarafından oluşturulan $\text{O}_2^{\cdot-}$ NBT'yi indirgeyerek, renkli formazon oluşturmaya dayanır. Bu kompleks 560 nm'de maksimum absorbans verir. Enzimin bulunmadığı ortamda meydana gelen indirgeme mavi-mor renk oluşturmaktadır. Ortamda SOD bulunduğunda ise NBT indirgenmesi tam olmayıp, enzim miktar ve aktivitesine bağlı olarak açık renk oluşmakta ve böylece aktivite hesabı yapılabilir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 NBT'un süperoksit radikali tarafından redüksiyonu (Anonymous 2011c).

Reaktifler

3 mM Ksantin

0.6 mM EDTA

150 μ M NBT

400 mM Na₂CO₃

0.8 mM CuCl₂

2M (NH₄)₂SO₄

1 g/L sığır serum albümini (BSA)

Ksantin oksidaz (167 U/L)

Yöntemin uygulanması

10 kat serum fizyolojik ile homojenize edilen dokular, 7000 rpm'de 4 °C'de 30 dk santrifüj edildikten sonra, 1 ml süpernatana etanol-kloroform (3:5,v/v) karışımından 1 ml eklendi. Supernatanlar tekrar 7000 rpm'de 60 dk santrifüj edildikten sonra 0,5 ml süpernatana 2,45 ml reaktif karışımı (3 mM ksantin, 0,6 mM EDTA, 150 μ M NBT, 400 mM Na₂CO₃, 1g/L BSA) ve 50 μ l ksantin oksidaz eklendi. 20 dk oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldıktan sonra CuCl₂ ilavesi ile reaksiyon sonlandırılıp numuneler spektrofotometrede 560 nm'de köre karşı okundu. Bir ünite SOD'un NBT'nin indirgenmesini %50 oranında inhibe ettiği kabul edilerek, dokulardaki SOD aktivitesi U/g doku olarak ifade edildi.

3.7 Işık Mikroskobu İşlemleri

Pankreas dokularının ışık mikroskobik incelemeleri için alınan dokular %10'luk tamponlu nötral formalin solüsyonu içinde 24 saat tespit edildi. Yıkama ve dehidrasyon işlemlerinden sonra dokular ksilolde saydamlaştırılarak parafine gömüldü. Hazırlanan parafin bloklardan mikrotom ile 4-5 μ m kalınlığında alınan seri kesitlere, hematoksilin-eozin (HE) boyama yöntemi uygulandı. Kesitlerdeki histolojik değişiklikler incelendi ve fotoğrafları çekildi. (Latha ve Daisy 2011).

3.8 İstatistiksel Analiz

Elde edilen bulguların istatistiksel olarak değeriendirilmesinde “SPSS 13.0 for Windows” paket programı kullanılarak Tek Yönlü Varyans (ANOVA) analizi: Post Hoc-Tukey testi uygulanmıştır. Veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi. İstatistiksel olarak önemlilik seviyesi $p<0,05$ ve $p< 0,001$ olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 Açlık Kan Glukoz Düzeyleri

Normal + morin (25mg/kg) ve (50 mg/kg) gruplarındaki sıçanlarda normal kontrol grubuna göre herhangi bir istatistiksel değişiklik saptanmadı. STZ uygulanan gruplarda ise glukoz düzeylerinde kontrol grubuna göre ciddi bir yükselme ($p<0.001$) tespit edildi. Morin 25 mg/kg ve Tolbutamid verilmesinden sonra 7., 14. ve 21. günlerde diyabetik hayvanlarda glukoz seviyelerinde diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüş ($p<0.05$, $p<0.001$) görüldü. Diyabetik 50 mg/kg grubunda ise 14. ve 21. günlerde açlık kan glukoz düzeyleri anlamlı düşüş ($p<0.001$) göstermiştir (Çizelge 4.1). Morin 25 mg ve Tolbutamid morin 50 mg'a göre daha güçlü bir etki sağladı.

Çizelge 4.1 Morin'in normal ve STZ-diyabetik sıçanlarda açlık kan glukoz düzeylerine etkisi

Grup	Tedavi	Açlık glukoz düzeyleri (mg/dl)			
		0.gün	7.gün	14.gün	21.gün
I	Normal kontrol	89.66 ± 2.49	96.66 ± 2.65	100.33 ± 2.77	96.16 ± 2.84
II	Normal + morin 25 mg/kg	86.66 ± 5.14	87.50 ± 2.78	92.33 ± 4.63	91.00 ± 4.09
III	Normal + morin 50 mg/kg	105.00 ± 2.12	107.00 ± 1.59	101.33 ± 2.75	103.50 ± 2.81
IV	Diyabetik kontrol	332.33 ± 22.72 ^b	337.33 ± 19.92 ^b	364.00 ± 22.24 ^b	378.83 ± 21.03 ^b
V	Diyabetik + morin 25 mg/kg	327.83 ± 23.90 ^b	223.83 ± 31.60 ^{bc}	194.16 ± 23.76 ^{ad}	162.83 ± 21.48 ^d
VI	Diyabetik + morin 50 mg/kg	351.66 ± 15.43 ^b	308.00 ± 20.39 ^b	245.33 ± 19.65 ^{bd}	214.83 ± 25.93 ^{bd}
VII	Diyabetik+Tolbutamid (100 mg/kg)	330.16 ± 19.31 ^b	234.50 ± 19.82 ^{bc}	169.00 ± 18.39 ^d	126.83 ± 9.51 ^d

Değerler aritmetik ortalama ± standart hata olarak gösterilmiştir (n=6)

^a $p<0.05$ vs. normal kontrol

^b $p<0.001$ vs. normal kontrol

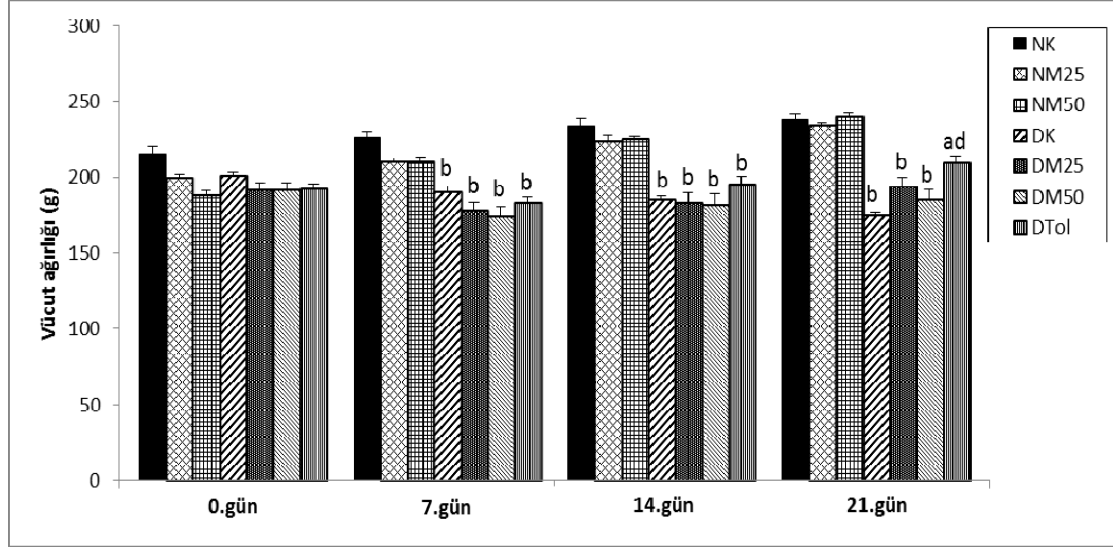
^c $p<0.05$ vs. diyabetik kontrol

^d $p<0.001$ vs. diyabetik kontrol

4.2 Beden Ağırlıkları

Çalışma süresince sıçanlara ait haftalık ağırlık değişimleri ve istatistiki analizleri şekil 4.1'de sunulmuştur. Normal gruplara verilen morin (25mg/kg) ve (50 mg/kg) normal kontrol ile karşılaştırıldığında vücut ağırlığında istatistiksel olarak herhangi bir değişikliğe neden olmadı. Diyabetik grupta ise vücut ağırlığında anlamlı düşüş gözlemlendi

($p<0.001$), (7., 14. ve 21 gün). Morin uygulanan diyabetik gruplarda kilo kaybı azalsa da istatistiksel olarak sadece Tolbutamit grubunda (21. gün) diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı bir iyileşme görüldü ($p<0.001$).

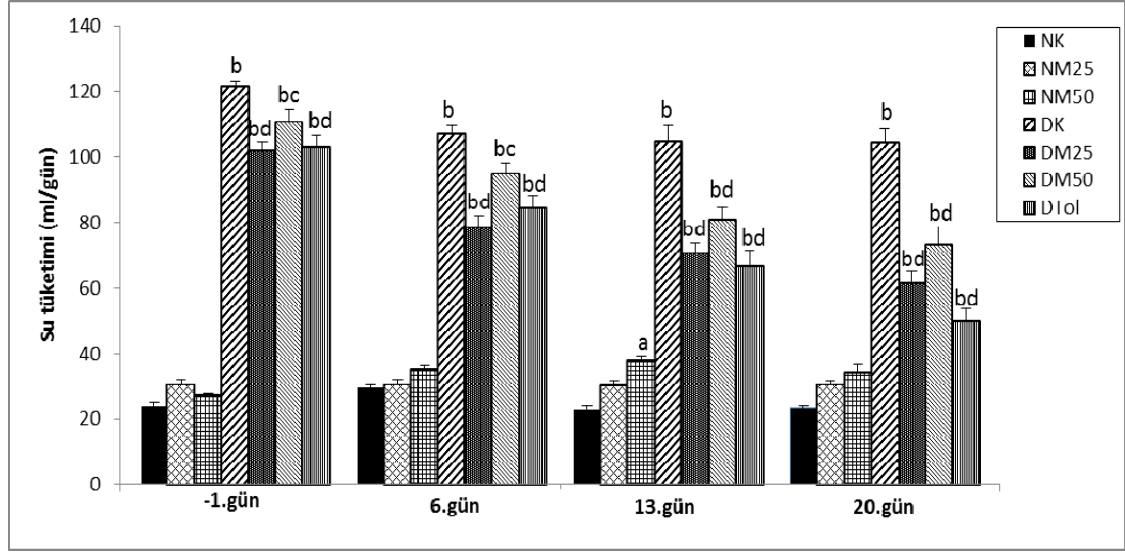


Şekil 4.1 Beden ağırlığı değişimi

Değerler aritmetik ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterilmiştir (n=6). ^a $p<0.05$ vs. normal kontrol, ^b $p<0.001$ vs. normal kontrol, ^c $p<0.05$ vs. diyabetik kontrol, ^d $p<0.001$ vs. diyabetik kontrol. NK (normal kontrol), NM25 (normal + morin 25 mg/kg), NM50 (normal + morin 50 mg/kg), DK (diyabet kontrol), DM25 (diyabet + morin 25 mg/kg), DM50 (diyabet + morin 50 mg/kg) ve DTol (diyabet + Tolbutamit 100 mg/kg)

4.3 Su ve Yem Tüketimi

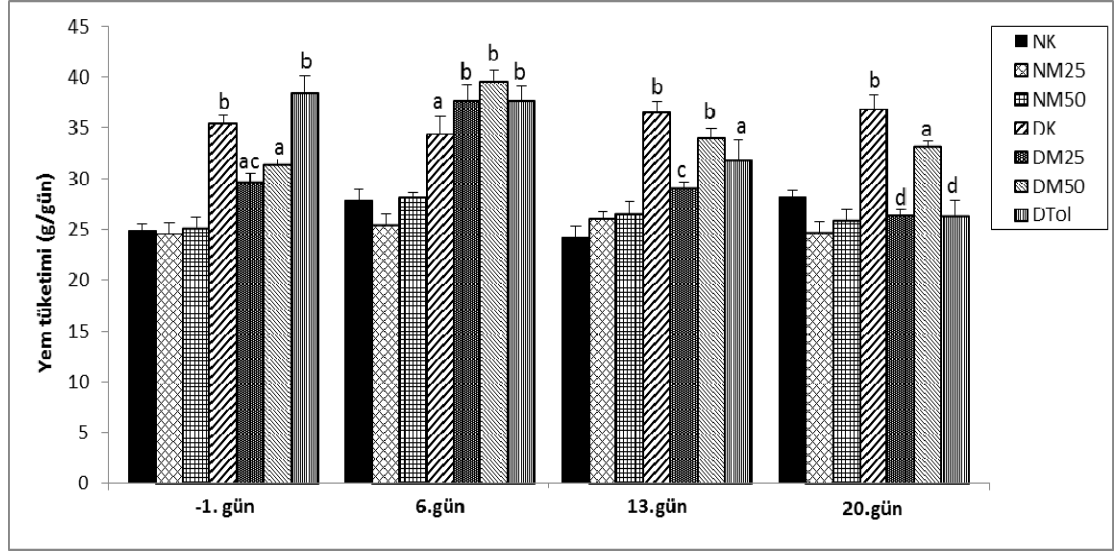
Su ve yem tüketim değerleri ve gruplar arasındaki istatistiksel karşılaştırma sonuçları şekil 4.2 - 4.3'te sunulmuştur. Kontrol diyabetik grubu su tüketimi açısından normal kontrole grubuna göre anlamlı ($p<0.001$) bir artış gösterdi. Morin ve Tolbutamit ile tedavi edilen gruplarda özellikle 13. ve 20. günlerde su tüketiminde diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüş tespit edildi.



Şekil 4.2 Su tüketimi

Değerler aritmetik ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterilmiştir (n=6). ^a $p<0.05$ vs. normal kontrol, ^b $p<0.001$ vs. normal kontrol, ^c $p<0.05$ vs. diyabetik kontrol, ^d $p<0.001$ vs. diyabetik kontrol. NK (normal kontrol), NM25 (normal + morin 25 mg/kg), NM50 (normal + morin 50 mg/kg), DK (diyabet kontrol), DM25 (diyabet + morin 25 mg/kg), DM50 (diyabet + morin 50 mg/kg) ve DTol (diyabet + Tolbutamit 100 mg/kg)

Diyabet yem tüketiminde ciddi bir artışa yol açtı. Morin 25 mg/kg grubundaki yem tüketimi 13. ve 20. günlerde diyabetik kontrole göre anlamlı olarak azaldı ($p<0.001$). Tolbutamit grubunda ise anlamlı fark sadece 20. günde tespit edildi.



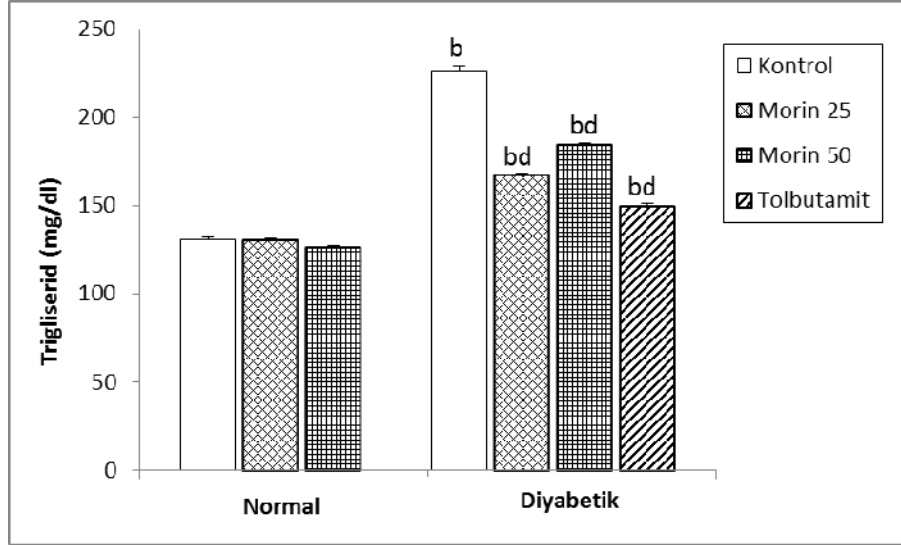
Şekil 4.3 Yem tüketimi

Değerler aritmetik ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterilmiştir (n=6). ^a $p<0.05$ vs. normal kontrol, ^b $p<0.001$ vs. normal kontrol, ^c $p<0.05$ vs. diyabetik kontrol, ^d $p<0.001$ vs. diyabetik kontrol. NK (normal kontrol), NM25 (normal + morin 25 mg/kg), NM50 (normal + morin 50 mg/kg), DK (diyabet kontrol), DM25 (diyabet + morin 25 mg/kg), DM50 (diyabet + morin 50 mg/kg) ve DTol (diyabet + Tolbutamit 100 mg/kg)

4.4 Lipid Parametreleri

4.4.1 Trigliserid düzeyleri

Normal gruplara verilen morin (25mg/kg) ve (50 mg/kg) normal kontrol grubu ile karşılaştırıldığında trigliserid düzeylerinde herhangi bir istatistiksel değişiklik oluşturmadı. Diyabetik durum anlamlı ($p<0.001$) bir şekilde trigliserid düzeylerinde yükselmeye neden olmuştur. Morin (25mg/kg), (50 mg/kg) ve tolbutamit (100 mg/kg) verilen diyabetik gruplarda trigliserid düzeylerinde diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüş ($p<0.001$) görüldü (Şekil 4.4).

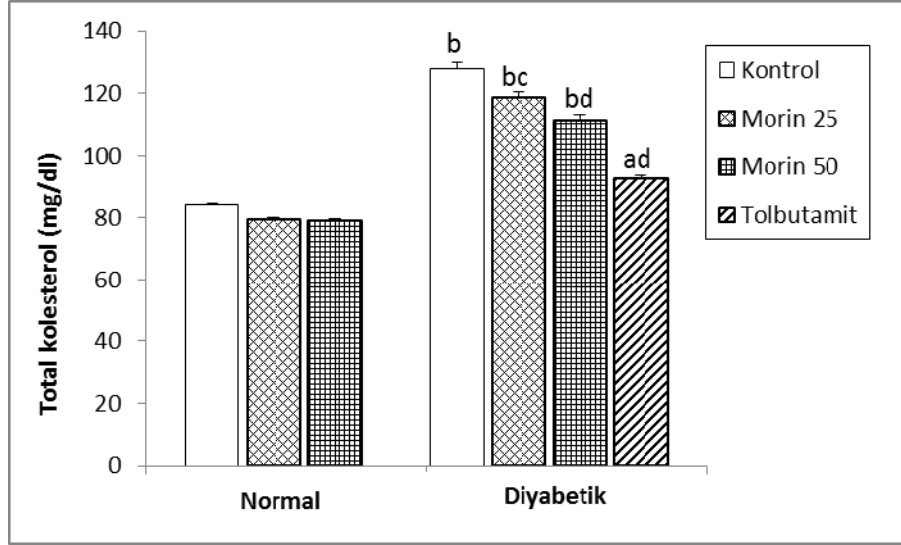


Şekil 4.4 Normal ve diyabetik grupların trigliserid düzeyleri

Değerler aritmetik ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterilmiştir (n=6). ^a $p < 0.05$ vs. normal kontrol, ^b $p < 0.001$ vs. normal kontrol, ^c $p < 0.05$ vs. diyabetik kontrol, ^d $p < 0.001$ vs. diyabetik kontrol

4.4.2 Total kolesterol düzeyleri

Total kolesterol düzeyleri ve gruplar arasındaki istatistiksel karşılaştırma sonuçları şekil 4.5'te verilmiştir. Normal gruplara verilen morin (25mg/kg) ve (50 mg/kg) normal kontrol grubu ile karşılaştırıldığında total kolesterol düzeylerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmedi. Diyabetik grupta anlamlı ($p < 0.001$) derecede total kolesterol düzeylerinde yükselme saptandı. Morin (50 mg/kg) ve tolbutamit (100 mg/kg) verilen diyabetik hayvanlarda diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüş ($p < 0.001$) görüldü. Morin' nin 25 mg/kg dozu ise bu yönde daha az etki ($p < 0.05$) gösterdi.

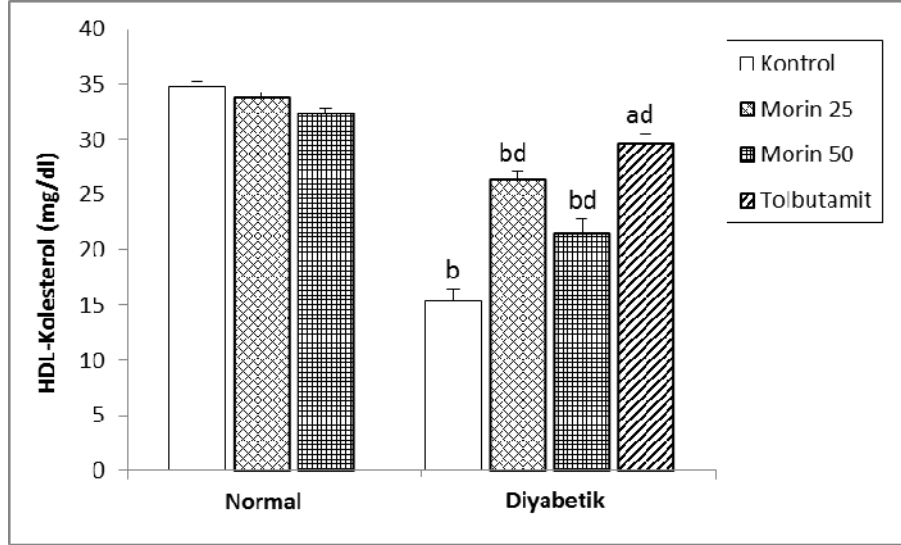


Şekil 4.5 Normal ve diyabetik grupların kolesterol düzeyleri

Değerler aritmetik ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterilmiştir (n=6). ^a $p<0.05$ vs. normal kontrol, ^b $p<0.001$ vs. normal kontrol, ^c $p<0.05$ vs. diyabetik kontrol, ^d $p<0.001$ vs. diyabetik kontrol

4.4.3 HDL-Kolesterol düzeyleri

Normal gruplara verilen morin (25mg/kg) ve (50 mg/kg) normal kontrol grubu ile karşılaştırıldığında HDL-Kolesterol düzeylerinde herhangi bir istatistiksel değişiklik oluşturmadı. Diyabet ise anlamlı ($p<0.001$) derecede HDL-Kolesterol düzeylerinde düşüşe neden oldu. Morin (25mg/kg), (50 mg/kg) ve tolbutamid (100 mg/kg) verilen diyabetik gruplarda HDL-Kolesterol düzeylerinde diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı artış ($p<0.001$) görüldü (Şekil 4.6).

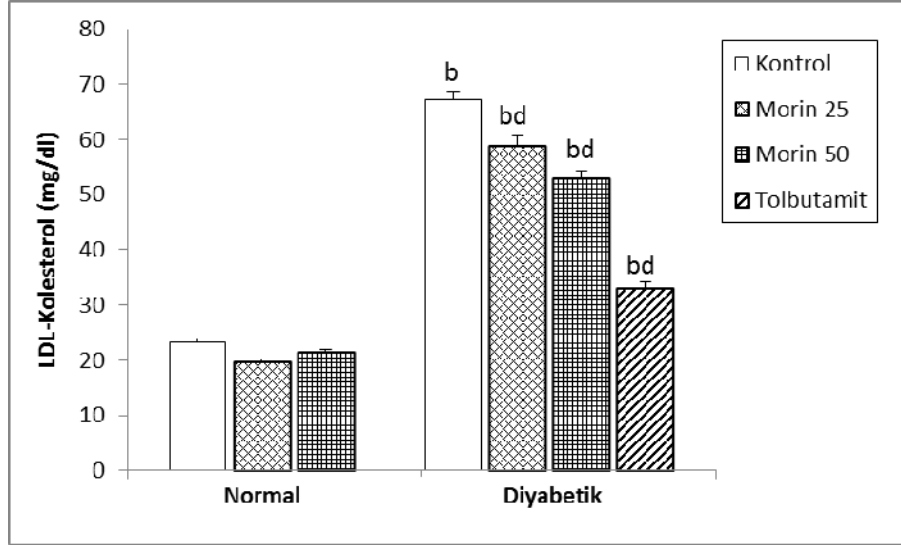


Şekil 4.6 Normal ve diyabetik grupların HDL-kolesterol düzeyleri

Değerler aritmetik ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterilmiştir (n=6). ^a $p<0.05$ vs. normal kontrol, ^b $p<0.001$ vs. normal kontrol, ^c $p<0.05$ vs. diyabetik kontrol, ^d $p<0.001$ vs. diyabetik kontrol

4.4.4 LDL-Kolesterol düzeyleri

LDL-Kolesterol düzeyleri ve gruplar arasındaki istatistiksel karşılaştırma sonuçları Şekil 4.7’ de verildi. Normal gruplara verilen morin (25mg/kg) ve (50 mg/kg) normal kontrol grubu ile karşılaştırıldığında LDL-Kolesterol düzeylerinde önemli bir istatistiksel farka neden olmadı. Diyabet anlamlı ($p<0.001$) derecede LDL-Kolesterol düzeylerinde yükselmeye yol açtı. Morin (25mg/kg), (50 mg/kg) ve tolbutamid (100 mg/kg) verilen diyabetik hayvanlarda diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüş ($p<0.001$) görüldü.

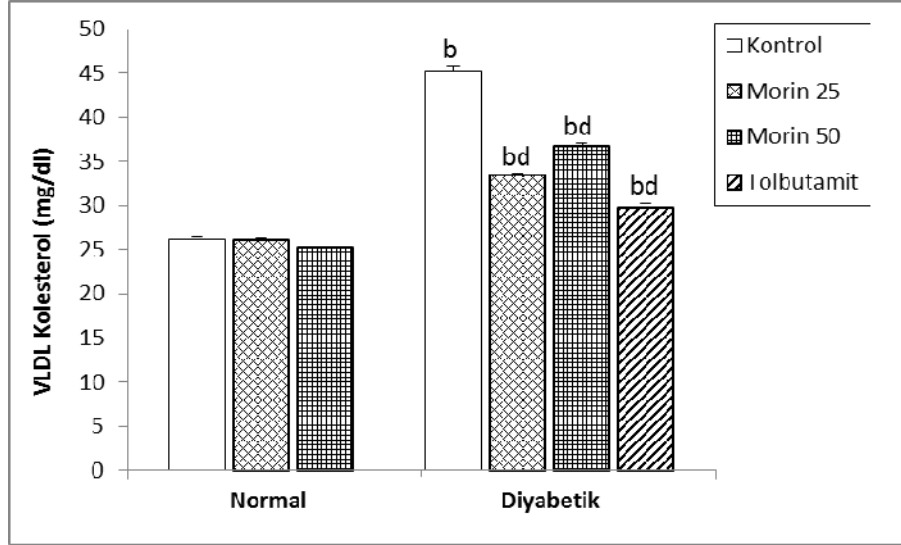


Şekil 4.7 Normal ve diyabetik grupların LDL-kolesterol düzeyleri

Değerler aritmetik ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterilmiştir (n=6). ^a $p < 0.05$ vs. normal kontrol, ^b $p < 0.001$ vs. normal kontrol, ^c $p < 0.05$ vs. diyabetik kontrol, ^d $p < 0.001$ vs. diyabetik kontrol

4.4.5 VLDL-Kolesterol düzeyleri

Normal gruplara verilen morin (25mg/kg) ve (50 mg/kg) normal kontrol grubu ile karşılaştırıldığında VLDL-Kolesterol düzeylerinde herhangi bir istatistiksel değişiklik tespit edilmedi. STZ ile oluşturulan diyabet grubunda ise anlamlı ($p < 0.001$) derecede VLDL-Kolesterol düzeylerinde yükselmeye neden oldu. Morin (25mg/kg), (50 mg/kg) ve tolbutamit (100 mg/kg) verilen diyabetik gruplarda VLDL-Kolesterol düzeylerinde diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı düşüş ($p < 0.001$) görüldü (Şekil 4.8).

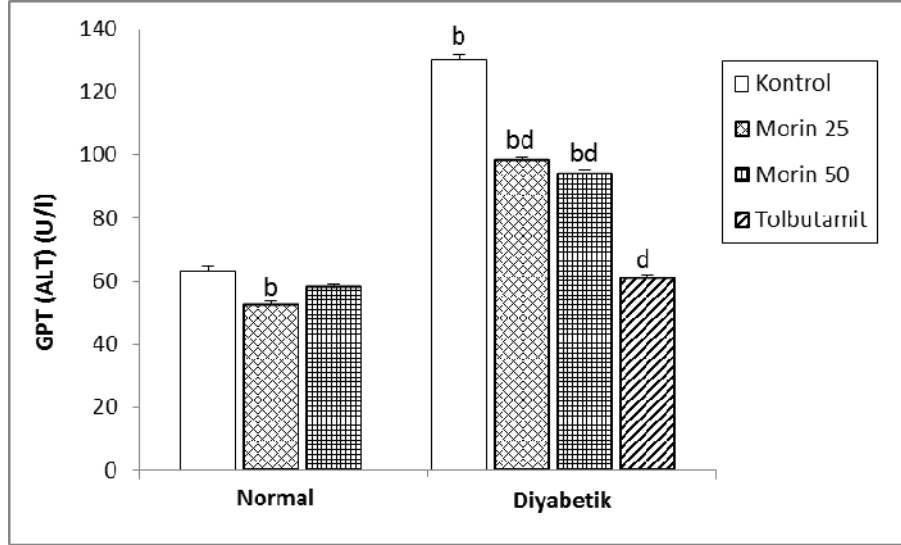


Şekil 4.8 Normal ve diyabetik grupların VLDL-kolesterol düzeyleri

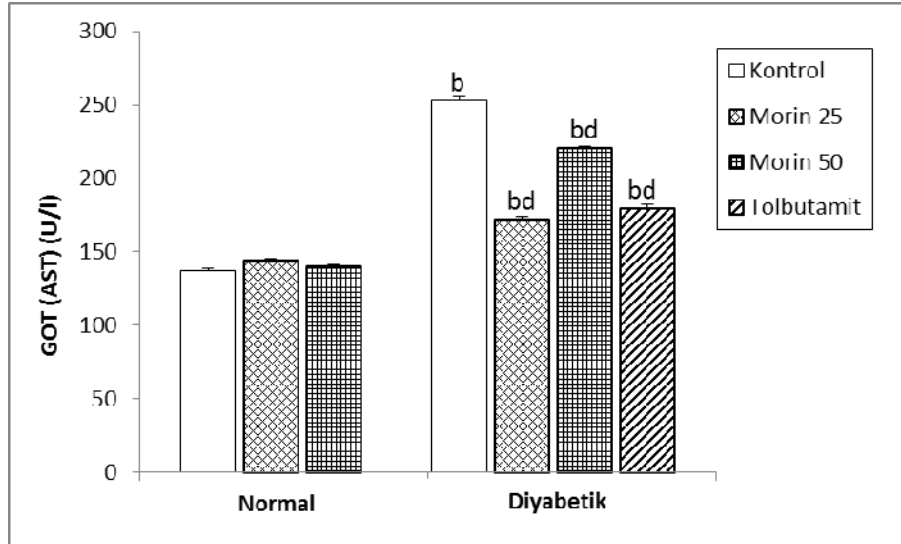
Değerler aritmetik ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterilmiştir (n=6). ^a $p < 0.05$ vs. normal kontrol, ^b $p < 0.001$ vs. normal kontrol, ^c $p < 0.05$ vs. diyabetik kontrol, ^d $p < 0.001$ vs. diyabetik kontrol

4.5 GPT (ALT) ve GOT (AST) Enzim Aktiviteleri

Şekil 4.9 ve 4.10 normal ve diyabetik hayvanlarda serum GPT (ALT) ve GOT (AST) aktivitelerini göstermektedir. STZ ile oluşturulan diyabet anlamlı ($p < 0.001$) derecede GPT (ALT) ve GOT (AST) aktivitelerinde yükselmeye yol açtı. Morin (25mg/kg), (50 mg/kg) ve tolbutamid (100 mg/kg) verilen diyabetik hayvanlarda diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüş ($p < 0.001$) görüldü. Normal morin (25 mg/kg) grubunda görülen GPT (ALT) aktivitesinde düşüş ($p < 0.001$) hariç normal gruplara verilen morin (25mg/kg) ve (50 mg/kg) normal kontrol ile karşılaştırıldığında GPT (ALT) ve GOT (AST) aktivitelerinde önemli bir istatistiksel fark tespit edilmedi.



Şekil 4.9 Normal ve diyabetik grupların GPT (ALT) aktiviteleri
Değerler aritmetik ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterilmiştir (n=6). ^a $p < 0.05$ vs. normal kontrol, ^b $p < 0.001$ vs. normal kontrol, ^c $p < 0.05$ vs. diyabetik kontrol, ^d $p < 0.001$ vs. diyabetik kontrol



Şekil 4.10 Normal ve diyabetik grupların GOT (AST) aktiviteleri
Değerler aritmetik ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterilmiştir (n=6). ^a $p < 0.05$ vs. normal kontrol, ^b $p < 0.001$ vs. normal kontrol, ^c $p < 0.05$ vs. diyabetik kontrol, ^d $p < 0.001$ vs. diyabetik kontrol

4.6 Doku MDA Düzeyleri

Karaciğer, böbrek ve pankreas dokularında normal + morin (25mg/kg) ve (50 mg/kg) gurbu ile normal kontrol grupları arasında herhangi bir istatistiksel fark bulunmadı. STZ uygulaması tüm dokularda lipid peroksidasyonunun en önemli göstergesi olan MDA düzeylerinin normal kontrol gruplarına göre ciddi bir şekilde yükselmesine ($p<0.001$) neden olmuştur (Çizelge 4.2).

Karaciğer MDA düzeylerinin morin (25 mg/kg) ($p<0.05$) ve tolbutamit (100 mg/kg) ($p<0.001$) verilen gruplar diyabetik kontrol grubuna göre azaldığı tespit edildi. Morin (50 mg/kg) grubunda ise diyabetik kontrole göre Karaciğer MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

Beşinci gruptaki (25 mg/kg) hayvanların böbrek MDA düzeylerinde hiçbir değişiklik saptanmadı, Diyabetik morin (50 mg/kg) ($p<0.001$) ve diyabetik Tolbutamit (100 mg/kg) ($p<0.05$) gruplarda ise diyabetik kontrole göre azalma bulundu.

Pankreatik MDA düzeyleri deney hayvalarında dikkate alındığı zaman morin (25mg/kg), (50 mg/kg) ve tolbutamit (100 mg/kg) verilen diyabetik hayvanlarda diyabetik kontrole göre MDA düzeylerinde anlamlı bir düşüş ($p<0.001$) tespit edildi.

Çizelge 4.2 Morin'in normal ve STZ-diyabetik sıçanlarda doku MDA düzeylerine etkisi

Grup	Tedavi	MDA (nmol/g doku)		
		Karaciğer	Böbrek	Pankreas
I	Normal kontrol	270.55 ± 10.91	446.98 ± 8.11	128.92 ± 3.43
II	Normal + morin 25 mg/kg	262.78 ± 8.28	429.99 ± 5.29	134.36 ± 2.28
III	Normal + morin 50 mg/kg	248.13 ± 5.55	418.24 ± 3.97	126.38 ± 3.30
IV	Diyabetik kontrol	365.04 ± 14.23 ^b	503.92 ± 13.30 ^b	226.77 ± 4.70 ^b
V	Diyabetik + morin 25 mg/kg	310.49 ± 5.98 ^{ac}	480.60 ± 6.57 ^a	159.16 ± 5.42 ^{bd}
VI	Diyabetik + morin 50 mg/kg	340.01 ± 5.23 ^b	452.10 ± 4.26 ^d	181.63 ± 4.77 ^{bd}
VII	Diyabetik+Tolbutamit (100 mg/kg)	287.36 ± 5.51 ^d	462.43 ± 4.71 ^c	172.74 ± 5.84 ^{bd}

Değerler aritmetik ortalama ± standart hata olarak gösterilmiştir (n=6)

^a $p<0.05$ vs. normal kontrol

^b $p<0.001$ vs. normal kontrol

^c $p<0.05$ vs. diyabetik kontrol

^d $p<0.001$ vs. diyabetik kontrol

4.7 Doku NOx Düzeyleri

Gruplardaki doku (karaciğer, böbrek ve pankreas) NOx düzeyleri çizelge 4.3'te gösterildi. Normal gruplara verilen morin (25mg/kg) ve (50 mg/kg) normal kontrol ile karşılaştırıldığında doku NOx düzeylerinde herhangi bir istatistiksel değişikliğe neden olmadı. Diyabetik grupta ise anlamlı ($p<0.001$) derecede normal kontrol grubuna göre doku NOx düzeylerinde azalma saptanmadı.

Karaciğerde morin (25mg/kg), (50 mg/kg) ve tolbutamit (100 mg/kg) verilen diyabetik hayvanlarda diyabetik kontrole göre NOx düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

Böbrek ve pankreas dokularında morin (25mg/kg), (50 mg/kg) ve tolbutamit (100 mg/kg) verilen diyabetik hayvanlarda diyabetik kontrole göre anlamlı ($p<0.001$) bir azalma bulundu ve normal kontrol grup ile karşılaştırıldığında böbrekte morin (25mg/kg), (50 mg/kg) ve tolbutamit (100 mg/kg) verilen diyabetik hayvanlarda ve pankreasta tolbutamit (100 mg/kg) grubunda her hangi bir fark bulunmadı.

Çizelge 4.3 Morin'in normal ve STZ-diyabetik sıçanlarda doku Nox düzeylerine etkisi

Grup	Tedavi	Nox (μmol/g doku)		
		Karaciğer	Böbrek	Pankreas
I	Normal kontrol	1.873 ± 0.11	0.417 ± 0.01	0.820 ± 0.02
II	Normal + morin 25 mg/kg	1.708 ± 0.11	0.463 ± 0.04	0.805 ± 0.01
III	Normal + morin 50 mg/kg	1.703 ± 0.09	0.452 ± 0.03	0.751 ± 0.03
IV	Diyabetik kontrol	0.616 ± 0.06 ^b	0.160 ± 0.01 ^b	0.281 ± 0.03 ^b
V	Diyabetik + morin 25 mg/kg	0.930 ± 0.03 ^b	0.391 ± 0.03 ^d	0.609 ± 0.02 ^{bd}
VI	Diyabetik + morin 50 mg/kg	0.777 ± 0.02 ^b	0.370 ± 0.01 ^d	0.488 ± 0.02 ^{bd}
VII	Diyabetik+Tolbutamit (100 mg/kg)	0.812 ± 0.03 ^b	0.450 ± 0.03 ^d	0.801 ± 0.03 ^d

Değerler aritmetik ortalama ± standart hata olarak gösterilmiştir (n=6)

^a $p < 0.05$ vs. normal kontrol

^b $p < 0.001$ vs. normal kontrol

^c $p < 0.05$ vs. diyabetik kontrol

^d $p < 0.001$ vs. diyabetik kontrol

4.8 Doku GSH Düzeyleri

Karaciğer, böbrek ve pankreas dokularında normal + morin (25mg/kg) ve (50 mg/kg) gruplarında normal kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişim saptanmadı. STZ uygulaması karaciğer ve pankreas dokularında GSH düzeylerinin normal kontrol gruplarına göre ciddi bir şekilde azalma ($p < 0.001$) saptandı (Çizelge 4.4).

Karaciğerde morin (25mg/kg), (50 mg/kg) ve tolbutamit (100 mg/kg) gruplarında diyabetik kontrol grubuna göre GSH düzeylerinde anlamlı ($p < 0.001$) yükselmeler tespit edildi.

Böbrek dokusunda morin (25mg/kg), (50 mg/kg) ve tolbutamit (100 mg/kg) verilen diyabetik hayvanlarda diyabetik kontrole göre GSH düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

Pankreasta ise morin (25 mg/kg) grubunda diyabetik kontrol grubuna göre istatistiksel bir fark bulunmadı. Morin (50 mg/kg) ve tolbutamit (100 mg/kg) verilen diyabetik

hayvanlarda ise diyabetik kontrole göre GSH düzeylerinde anlamlı bir yükselme ($p<0.001$) tespit edildi.

Çizelge 4.4 Morin'in normal ve STZ-diyabetik sıçanlarda doku GSH düzeyleri üzerinde etkisi

Grup	Tedavi	GSH ($\mu\text{mol/g}$ doku)		
		Karaciğer	Böbrek	Pankreas
I	Normal kontrol	10.824 ± 0.27	7.424 ± 0.21	9.658 ± 0.38
II	Normal + morin 25 mg/kg	10.472 ± 0.27	7.601 ± 0.28	9.417 ± 0.38
III	Normal + morin 50 mg/kg	10.209 ± 0.11	6.979 ± 0.24	9.074 ± 0.25
IV	Diyabetik kontrol	5.300 ± 0.35^b	7.802 ± 0.29	2.500 ± 0.30^b
V	Diyabetik + morin 25 mg/kg	11.352 ± 0.21^d	7.941 ± 0.12	3.547 ± 0.13^b
VI	Diyabetik + morin 50 mg/kg	7.750 ± 0.30^{bd}	7.797 ± 0.13	4.702 ± 0.25^{bd}
VII	Diyabetik+Tolbutamit (100 mg/kg)	9.585 ± 0.39^d	8.204 ± 0.18	6.576 ± 0.35^{bd}

Değerler aritmetik ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterilmiştir (n=6)

^a $p<0.05$ vs. normal kontrol

^b $p<0.001$ vs. normal kontrol

^c $p<0.05$ vs. diyabetik kontrol

^d $p<0.001$ vs. diyabetik kontrol

4.9 Doku SOD Aktiviteleri

Gruplardaki karaciğer, böbrek ve pankreas dokularının SOD aktiviteleri çizelge 4.5'te gösterilmektedir. Normal gruplara verilen morin (25mg/kg) ve (50 mg/kg) normal kontrol ile karşılaştırıldığında doku SOD aktivitelerinde herhangi bir istatistiksel değişiklik tespit edilmedi. Diyabetin oluşturulması ise anlamlı ($p<0.001$) derecede normal kontrol grubuna göre doku SOD aktivitelerinde yükselmeye neden oldu.

Karaciğerde morin (25 mg/kg) ($p<0.05$), morin (50 mg/kg) ve tolbutamit (100 mg/kg) ($p<0.001$) gruplarında diyabetik kontrol grubuna göre SOD aktivitelerinde azalmalar tespit edildi.

Böbrekteki SOD aktivitesi morin (50 mg/kg) grubunda diyabetik kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.001$) bir azalma görüldü. Morin (25 mg/kg) ve tolbutamit (100 mg/kg) gruplarında ise diyabetik kontrole göre SOD aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

Pankreas dokusundaki SOD aktiviteleri (25mg/kg) ve (50 mg/kg) verilen diyabetik hayvanlarda ($p<0.001$) oranında ve tolbutamit (100 mg/kg) grubunda ise ($p<0.05$) anlamlı azalmar diyabetik kontrole göre gözlemlendi.

Çizelge 4.5 Morin'in normal ve STZ-diyabetik sıçanlarda doku SOD aktivitesi üzerinde etkisi

Grup	Tedavi	SOD (U/g doku)		
		Karaciğer	Böbrek	Pankreas
I	Normal kontrol	298.51 ± 1.95	303.64 ± 2.40	310.40 ± 4.53
II	Normal + morin 25 mg/kg	297.72 ± 4.71	307.55 ± 1.22	312.40 ± 0.84
III	Normal + morin 50 mg/kg	294.39 ± 6.80	311.72 ± 1.74	314.71 ± 1.01
IV	Diyabetik kontrol	348.35 ± 3.89 ^b	319.88 ± 1.09 ^b	347.27 ± 1.39 ^b
V	Diyabetik + morin 25 mg/kg	329.92 ± 1.38 ^{bc}	313.68 ± 2.00 ^a	324.94 ± 2.12 ^{ad}
VI	Diyabetik + morin 50 mg/kg	320.75 ± 1.18 ^{ad}	304.99 ± 2.42 ^d	326.91 ± 2.19 ^{bd}
VII	Diyabetik+Tolbutamit (100 mg/kg)	303.36 ± 2.78 ^d	311.30 ± 2.34	333.72 ± 2.31 ^{bc}

Değerler aritmetik ortalama ± standart hata olarak gösterilmiştir (n=6)

^a $p<0.05$ vs. normal kontrol

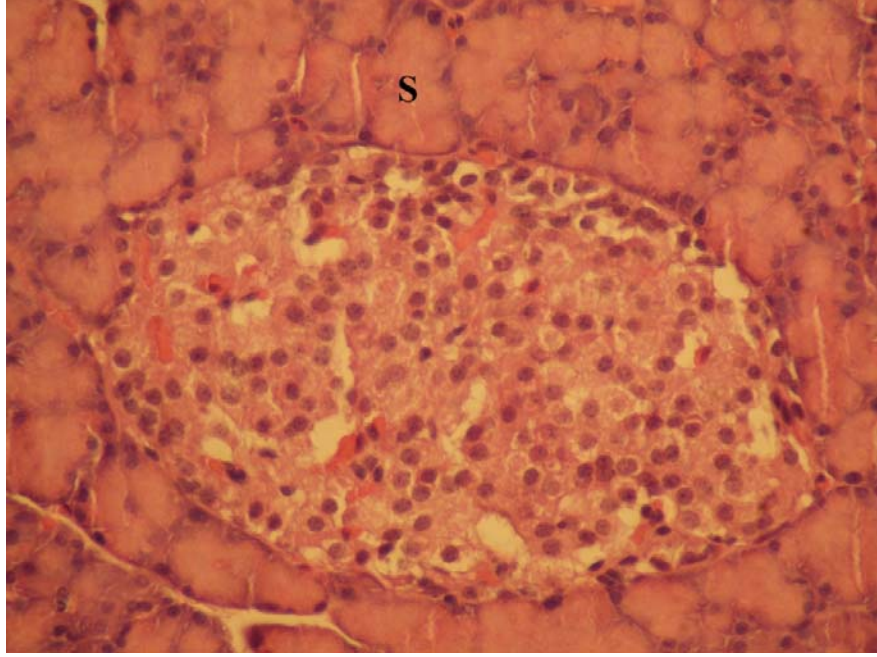
^b $p<0.001$ vs. normal kontrol

^c $p<0.05$ vs. diyabetik kontrol

^d $p<0.001$ vs. diyabetik kontrol

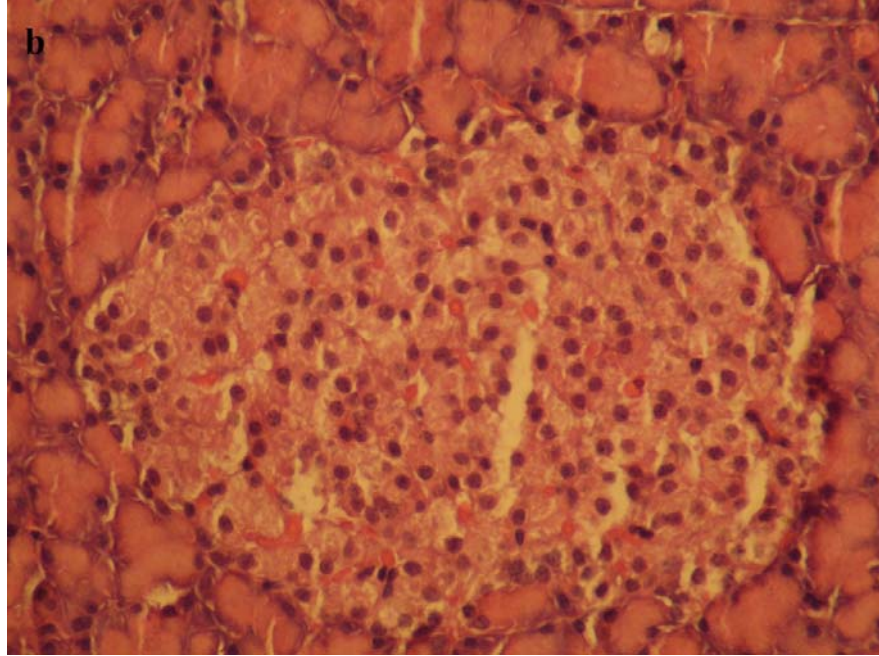
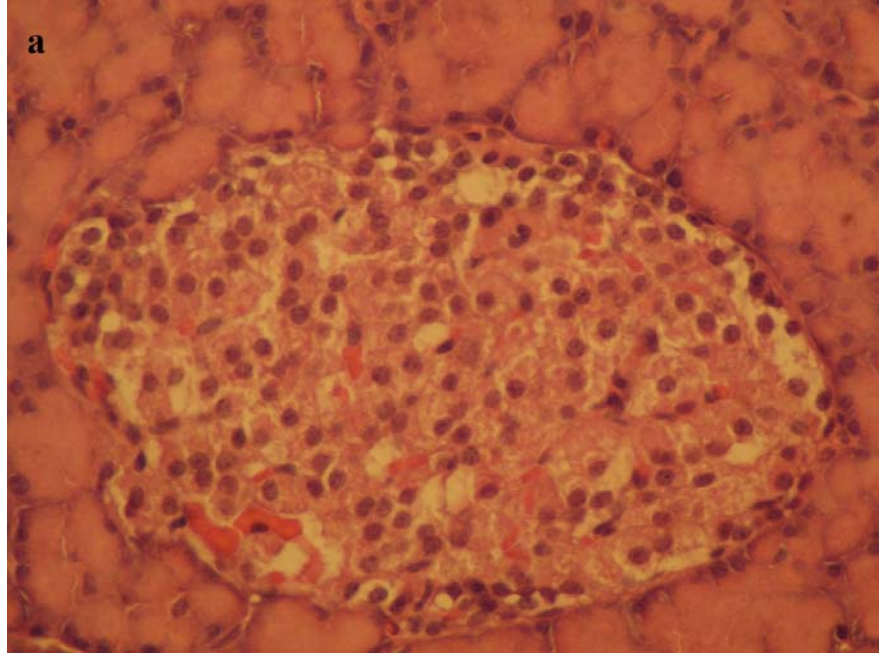
4.10 Işık Mikroskobu Bulguları

Yapılan ışık mikroskobu gözlemlerinde normal kontrol grubunun bilinen pankreas yapısına sahip olduğu gözlemlendi. Bu gruptaki hayvanların pankreaslarındaki Langerhans adacıklarının ve seröz bezlerin kendine özgü hücrelere sahip olduğu ve düzenli bir şekilde organda yerleştiği saptandı (Şekil 4.11).



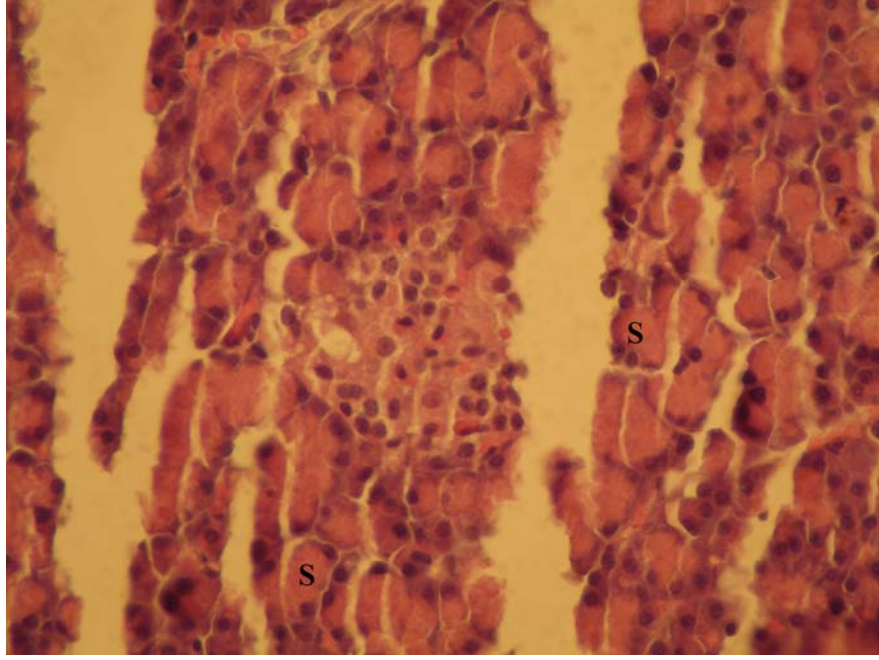
Şekil 4.11 Normal kontrol grubu sıçanlardaki Langerhans adacığı ve seröz bezler (S) (H&E, 400X)

Morin'in (25 mg/kg) ve (50 mg/kg) dozları verilen normal hayvanlardaki pankreas Langerhans adacıklarının kontrol grubuna benzer yapıda olduğu anlaşıldı (Şekil 4.12 a, b).



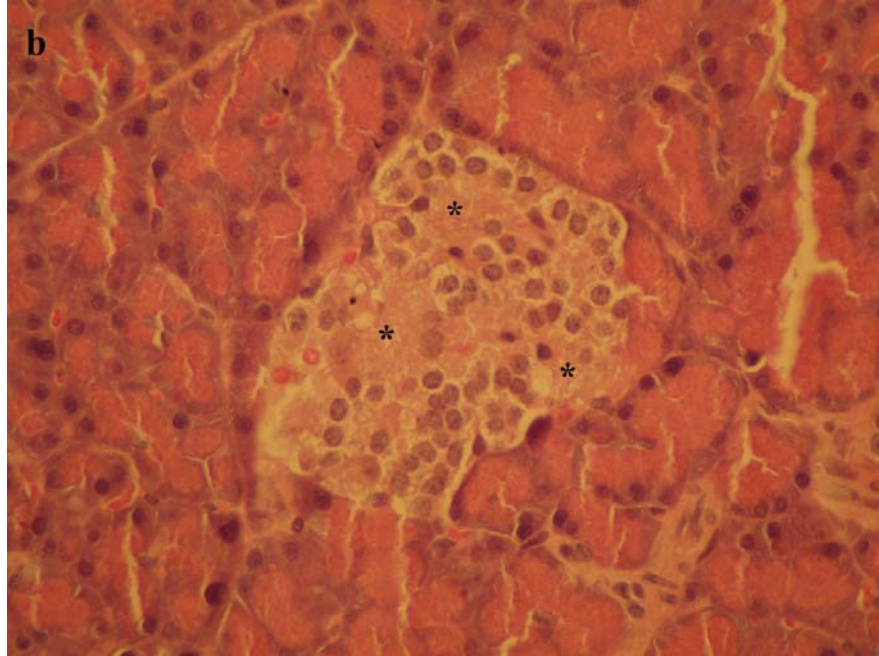
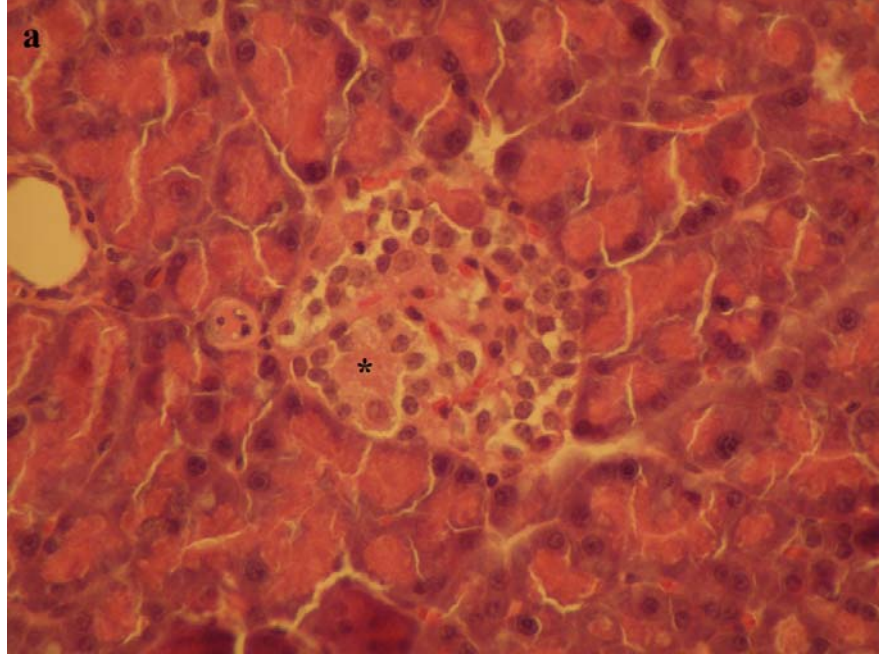
Şekil 4.12. a. Normal morin (25 mg/kg), b. normal morin (50 mg/kg), uygulanan sıçanlardaki Langerhans adacığı (H&E, 400X)

STZ-Diyabetik kontrol grubu sıçanlarda Langerhans adacıklarında atrofi ve büzülme fark edilmiştir. Bazı  -hücrelerinde hyalinizasyon, piknotik çekirdek görülmüştür, ayrıca adacıkların hücre sayısında azalma tespit edilmiştir (şekil 4.13).



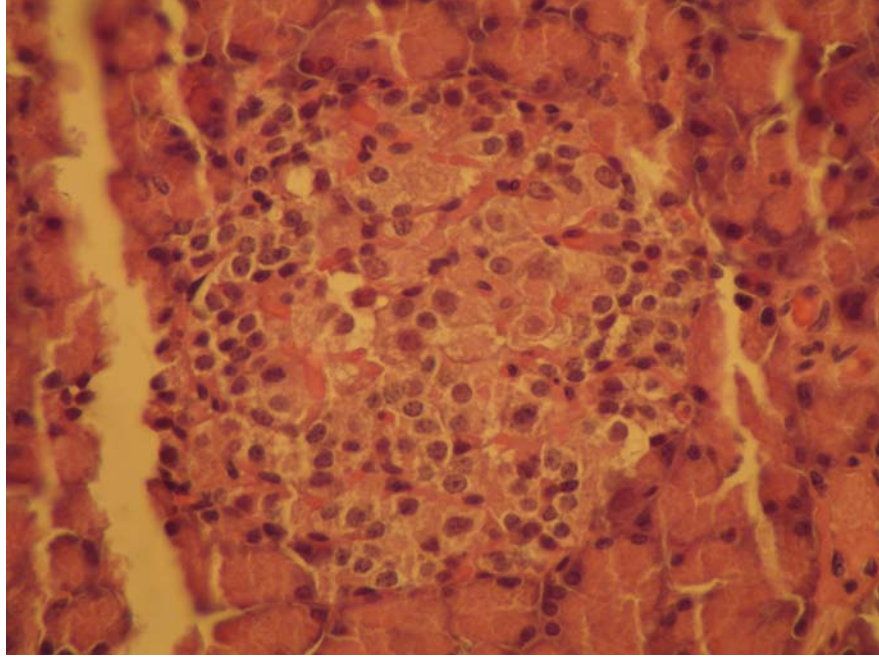
şekil 4.13 Diyabetik kontrol sıçanlardaki Langerhans adacığı, seröz bezler (S),  -hücresi (H&E,400X)

Deney gruplarından diyabetik morin (25 mg/kg) dozunda Langerhans adacığında hücre kaybı, hücresel sitoplazma ve çekirdek kaybının azaldığı g r ld ğ  halde diyabetik morin (50 mg/kg) dozunda diyabetik hasarlarda azalma daha az olduğu gözlenmiştir (şekil 4.14 a, b).



Şekil 4.14 Diyabetik morin (25 mg/kg) (a) ve diyabetik morin (50 mg/kg) (b) uygulanan sıçanlardaki Langerhans adacık yapısı, (*) hücrelerde sitoplazma ve çekirdek kaybının olduğu alanlar (H&E, 400X)

Diyabetik sıçanlarda verilen (100 mg/kg) tolbutamit'in (25 mg/kg) morin verilen diyabetik sıçanlardaki pankreatik iyileşmelere benzer iyileşmeler yaptığı gözlemlendi. Langerhans adacığındaki hücrelerin bazılarında sitoplazma ve çekirdek kaybı gözlemlendi. Buna karşı mitoz bölünme ile hücrelerin çoğaldığı tespit edildi. Morin ve tolbutamit STZ-diyabetik sıçanların pankreas adacıklarının rejenerasyonunu sağladığı düşünülmektedir (Şekil 4.15).



Sekil 4.15 Diyabetik tolbutamit (100 mg/kg) uygulanan sıçanlardaki Langerhans adacığı (H&E, 400X)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Flavonoidlerin kan glukoz düzeyini, pankreasta insulin salınımını stimüle ederek, karaciğerde glukoz üretimini azaltarak, dokularda hücrelerin glukoz tüketimini artırarak (Noor vd. 1989, Kako vd. 1997, Lu vd. 2010) ve gastro-intestinal kanalda ise, glukoz emilimini bozarak (Kwon vd. 2007, Goto vd. 2012) düşürebileceği bildirilmiştir.

Çalışmamızda morin (25 mg/kg) ve (50 mg/kg) normal hayvanlarda herhangi bir etki göstermemesi gastro-intestinal mekanizmasının etkili olmadığını göstermektedir. Morin (25 mg/kg) ve (50 mg/kg) verilen diyabetik hayvanlarda elde edilen düşük glukoz düzeyleri ise, STZ ile tamamen tahrip olmamış β hücrelerinde homeostatik denge sağlanıp insulin salınımını tekrar artırılmasıyla gerçekleştirmiş olabileceği düşünülmektedir. Morin (25 mg/kg) daha güçlü olması morin etkisinin doza bağlı olmadığını göstergesidir. Positif kontrol (Tolbutamid) ise etkisini bilindiği gibi pankreasta insulin salgılanmasını artırarak göstermektedir (Henquin 1980).

Elde ettiğimiz bulgular doğrultusunda morin diyabetik sıçanlarda açlık kan şekeri düzeylerini sağlıklı kontrollerin seviyesine indiremeye de ılımlı olarak düşürdüğü, bu nedenle diyabet tedavisinde artmış kan glukoz düzeyini azaltmada tedaviyi destekleyici olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda, deney gruplarındaki sıçanların beden ağırlıkları, şekil 4.1’de görüldüğü, gibi özellikle deneme süresinin 7. gününden sonra normal kontrol, normal morin (25 mg/kg) ve normal morin (50 mg/kg) grupları dışındaki diğer gruplarda anlamlı olarak azalmıştır. DM’un katabolik yolları stimüle etmesinin bir göstergesi olarak beden ağırlığının azaldığı, bu bağlamda, insulin hormonunun beden ağırlığındaki azalmayı engellediği veya düzelttiği bilinmektedir (Czech 1977, Pfaffman vd. 1980). Karaciğer ve kaslardaki glikojen depolarının tüketilmesi ve insulin yetersizliğine bağlı olarak glukoz oksidasyonunun bozulması, karbonhidrat olmayan kaynakların kullanımını zorunlu kılar. Böylece yağ ve protein yıkımı artar. Özellikle Tip I diyabette, hastalar çok yemek yemelerine rağmen zayıflarlar. Zayıflamanın temel nedeni, hücrelerin glukozu yeterince kullanamamasıdır. İdrarla glukoz atılımına bağlı olarak oluşan kalori ve

elektrolit kaybı, dehidrasyon ve insülin yetersizliğinden kaynaklanan yağ ve protein katabolizmasındaki artış da DM’da meydana gelen kilo kaybının diğer nedenleridir. DM’da ortaya çıkan glukozüri ile atılan her gram glukoz için vücuttan 4.1 kcal yitilir. Bu kaybı karşılamak için oral kalori alımının artırılması plazma glukozunu daha da yükseltip glukozüriyi artırır. Endojen protein ve yağ depolarının mobilizasyonu ve kilo kaybı önlenemez (Gannog 1995).

Çalışmamızda elde edilen veriler, uygulanan dozda (25 mg/kg) morin ve (50 mg/kg) morin grupları diyabetli sıçanların canlı ağırlığını, diyabetin proteolitik ve lipolitik etkilerine karşı yeterli düzeyde koruyamadığını düşündürmektedir. (100 mg/kg) Tolbutamid ise 21. günde beden ağırlığında iyileşme göstermesi, daha sık glukoz düzeylerini tutmasından dolayı olabilir.

Çalışmamızda, deney gruplarının su ve yem tüketim profilleri incelendiğinde, şekil 4.2 ve 4.3’te görüldüğü gibi tüm diyabetik gruplar, normal kontrol grubuna göre daha fazla su ve yem tüketmişlerdir. Diyabetteki klinik bulgular protein, lipid ve karbonhidrat metabolizmasında şekillenen patofizyolojik değişiklikler sonucu ortaya çıkmaktadır. DM’da en önemli değişiklik karaciğer, kas ve yağ dokusu gibi insülin bağımlı dokularda glukoz kullanımının azalması, artmış glukoneogenez ve hepatik glikojenolize bağlı olarak gelişen hiperglisemidir (Shenoy ve Ramesh 2002). Glukozun alınımı ve kullanımındaki azalmaya bağlı olarak gelişen bu hiperglisemi, renal glukoz eşiğinin aşılmasına ve glukozüriye sebep olur. İdrarla şeker atılımı beraberinde suyu da sürükleyeceğinden ozmotik diürez ve poliüri tablosu şekillenir. Poliüri hipotalamustaki susama merkezini uyarırken, volüm azalmasına bağlı olarak da polidipsi meydana gelmektedir (Bishop vd. 2000). Diğer taraftan kullanılan enerji kaynaklarını yenilemek için polifaji (aşırı yemek yeme) ortaya çıkmaktadır.

Çalışmamızda diyabetik (25 mg/kg) morin, (50 mg/kg) morin ve (100 mg/kg) Tolbutamid gruplarındaki sıçanların su tüketimlerinin denemenin 6. gününden ve yem tüketimlerinin 13. gününden itibaren azalması, morin su ve enerji metabolizmasını en azından olumlu yönde desteklediğinin göstergesidir. Ayrıca, morin’in diyabetik sıçanlarda su ve yem tüketimlerini azaltması, bu flavonoidin hipoglisemik etkilerinin

ozmotik diüzezi düşürmesinden kaynaklanabileceği, bu nedenle morin diyabetik hastaların önemli sorunlarından olan poliüri, polidipsi ve polifajinin baskılanmasında geleneksel tedaviyi destekleyici olarak kullanılabileceği düşünölmektedir.

Çalışmamızın verileri, diyabetin diğer bir göstergesi olan hipertrigliseridemi ve hiperkolesterolemi durumunu ortaya koymuştur. Diyabetik kontrol grubundaki sıçanlarda ölçölen trigliserid ve total kolesterol düzeyleri, şekil 4.4 ve 4.5'te göröldüğü gibi, diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksektir. Diyabetik (25 mg/kg) morin, (50 mg/kg) morin ve (100 mg/kg) Tolbutamit gruplarındaki sıçanlarda trigliserid ve total kolesterol seviyeleri anlamlı olarak düşmüştür.

Diyabetik (25 mg/kg) morin, (50 mg/kg) morin ve (100 mg/kg) Tolbutamit gruplarındaki sıçanlarda HDL-Kolesterol düzeyleri, şekil 4.6'da göröldüğü gibi, normal kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. Aynı zamanda bu üç grubun HDL-Kolesterol düzeyleri diyabetik kontrole göre anlamlı olarak yüksektir.

Diğer yandan diyabetik kontrol grubu LDL-Kolesterol ve VLDL-Kolesterol düzeylerinin, şekil 4.7 - 4.8'de göröldüğü gibi, normal kontrol grubuna göre yüksek olduğu saptanmıştır. Diyabetik (25 mg/kg) morin, (50 mg/kg) morin ve (100 mg/kg) Tolbutamit verilen gruplarındaki sıçanlarda LDL-Kolesterol ve VLDL-Kolesterol seviyeleri anlamlı olarak düşmüştür.

Diyabetik hastalarda hipertrigliseridemi ve hiperkolesterolemi oldukça sık karşılaşılan durumlardır . DM'da lipid metabolizmasına bakıldığında trigliserid, total kolesterol, HDL, LDL ve VLDL düzeylerindeki değişim göze çarpar (Palumbo 1998, Arvind vd. 2002). VLDL ve VLDL içindeki trigliseridler karaciğerde sentez edilir. İnsulin hormonunun yağ metabolizması üzerine etkisiyle yağ asitleri adipoz dokuya girerek trigliserid şeklinde depolanır (Murray vd 2000). Gerek Tip 1 diyabetteki insulin yokluğu, gerekse Tip 2 diyabetteki insulin duyarsızlığı sonucu dolaşımda fazla miktarda serbest yağ asidi bulunur. Bu serbest yağ asitleri karaciğerde VLDL üretimine girerler. Bununla birlikte portal dolaşımda ve karaciğerde fazla miktarda serbest yağ asidi bulunması insulin sensitivitesinin azalmasına yol açarak negatif feed back ile kısır

döngü yaratır (Mooradian 2009). Plazma kolesterolü artışının dokularda meydana gelen lipid metabolizması değişikliklerinin bir sonucu olabileceği bildirilmiştir (Çomoğlu vd. 2001). Bu hipotezi savunanlara göre hiperkolesterolemi ve hiperlipidemi gibi plazma lipid profili değişikliklerinden başlıca lipoprotein lipaz ve hepatik lipaz enzim aktiviteleri sorumludur (Hatemi 1991, Yashino vd. 1996). VLDL ve besinler ile alınan trigliseridlerden zengin şilomikronların yıkımı büyük ölçüde kapillar endoteline lokalizasyonu lipoprotein lipaz enzimi ile olur. Lipoprotein lipaz aktivitesi insülin hormonu etkisi altında artar. İnsülin azlığı veya duyarsızlığı sonucu lipoprotein lipaz enzim aktivitesi düşük düzeyde olacağından endojen trigliseridleri taşıyan VLDL ve besinlerle alınan eksojen trigliseridleri taşıyan şilomikron katabolizmasında azalma olur. Bununla birlikte karaciğerde artan VLDL üretimi ve periferde VLDL ve şilomikron yıkımının azalması sonunda serum trigliseridleri yükselir (Mooradian 2009). LDL, lipoprotein fraksiyonları arasında en aterojenik olanıdır. VLDL'den delipidasyon olarak adlandırılan bir süreç sonunda IDL, sonra da LDL oluşur. Serum trigliserid seviyesi yüksekliğinde oluşan LDL'nin dansitesi artar ve çapı küçülür. Bu tür LDL çapı büyük ancak dansitesi düşük LDL'ye oranla daha aterojeniktir. HDL ise aterosikloza karşı koruyucu lipoprotein fraksiyonu olarak değerlendirilmektedir. HDL yapımında hepatik trigliserid lipaz aktivitesi önemlidir. Bu enzim HDL içinde bulunan trigliseridleri hidrolize eder. Böylece daha fazla kolesterolü periferik dokulardan alma kapasitesine sahip HDL3 kolesterol oluşur. İnsülin, lipoprotein lipaz aktivitesini artırdığı gibi hepatik trigliserid lipaz aktivitesini de artırır. İnsülin yetmezliği veya insensitivitesinde serum VLDL miktarı artarken HDL miktarı azalır (Mooradian 2009). Anlatılan bu mekanizmalar diyabetik hastalarda LDL düzeylerinin yüksek bulunduğu yönünde genel bir fikir birliği olduğuna dikkati çekmektedir (Hatemi 1991). Yine literatür verilerinin bir çoğu diyabetik hastaların HDL düzeylerinin düşüklüğüne işaret etmekte (Çomoğlu vd. 2001), bu nedenle LDL/HDL oranının DM'da önemli derecede yükseldiği kabul edilmektedir (Mooradian 2009).

Flavonoid içeren bitkiler veya flavonoid ekstraktları hayvanlarda lipid metabolizmasını etkilediği bilinmektedir (Roghani ve Baluchnejaadmojarad 2010). Weggemans ve Trautwein (2003), Lü vd. (2009), Akiyama (2010), Gupta vd. (2011) ve Omar vd. (2011) flavonoidlerin serum kolesterol düzeyini azalttığını bildirmişlerdir.

Flavonoidlerin lipid düşürücü etki mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Günümüzde ileri sürülen birkaç mekanizma vardır.

Kolesterolün safra asitleri ile bağlanması *Momordica charantia* yolu ile bağırsakta kolesterol emilimini azalma mekanizması olarak kabul edilmiştir (Senanayake vd. 2004, Kwon vd. 2007). Aynı mekanizma morin'in total kolesterol düşürme aktivitesinin arkasında olabilir. Ayrıca gözlenen hipotrigliserid etkisi yağ asitleri sentezinde azalmaya (Bopanna vd. 1997, Brufau vd. 2008), LDL reseptörlerinin artırılmasına, lipaz ve LCAT (Lesitin kolesterol asiltransferaz) aktivasyonuna (Khanna vd. 2002) ve aynı zamanda asetil-CoA karboksilaz inhibisyonuna (Lemhadri vd. 2006) bağlı olabilir. Diğer taraftan, morin, LDL reseptörlerini artırarak, LDL alımını yükseltir, lipoprotein metabolizmasında bu modifikasyon hiperkolesterolemiyi iyileştirebilir (Slater vd. 1980). Kolesterol düşürmesi ile ilgili bir başka mekanizma ise, kolesterol biyosentezinde hız sınırlayıcı bir enzim olan HMG-CoA redüktaz aktivitesinin azalması ve böylece kolesterol biyosentezi bastırılır

Serum transaminazları (AST ve ALT), uzun zamandan beri karaciğer harabiyetinin hassas bir göstergesi olarak kabul edilmiştir (Molander vd. 1955). Hepatosit hasarı bu hücrelerin transport fonksiyonları ve membran geçirgenliğini değiştirir dolayısıyla enzimlerin sızıntısına neden olur (Krishna Mohan vd. 2007). Bu sızıntı çalışmamızda diyabetik deney gruplarındaki görülen AST ve ALT aktivitelerinin yükselmesine yol açmaktadır (Zimmerman ve Seeff 1970). Morin'in hepatosit hasarını önlediği deney hayvanlarında görülmektedir. Koruyucu etki morin'in antioksidan aktivitesinden dolayı olabilir çünkü antioksidanların kimyasal maddelerle indüklenen karaciğer hasarı gelişimini azaltıkları bilinmektedir (Chen ve Yen 2007, Palsamy ve Subramanian 2008, Oloyede vd. 2011).

Çalışmamızda, çizelge 4.2'de görüldüğü gibi, lipid peroksidasyonu göstergelerinden MDA düzeyleri karaciğer, böbrek ve pankreas dokularında verilmiştir. Diyabetik kontrol gruplarında normal kontrol gurplarına göre MDA yüksek bulunmuştur. Diyabetik (25 mg/kg) morin, (50 mg/kg) morin ve (100 mg/kg) Tolbutamit gruplarında ise MDA düzeyleri, diyabetik kontrol grubuna karşı farklı etkiler göstermiştir.

Serbest radikaller DM, ateroskleroz, hücre hasarı, kanser, myokard infarktüsü, hemolitik hastalıklar ve immün hastalıklar gibi birçok hastalığın patogenezinin sorumlu tutulmaktadır. Serbest radikallerin lipidler üzerine yaptığı etki lipid peroksidasyonu (LP) olarak adlandırılır. Diyabetteki hiperglisemi, serbest radikal oluşumuna ve antioksidan sistemin yetersiz kalmasına yol açarak oksidatif stresi artırmaktadır (Karasu 1999). Geçiş elementlerinin varlığında glukoz, reaktif ketoaldehitlere ve süperoksit anyonuna çevrilir. Reaksiyonlar zinciri, süperoksit radikalinin H_2O_2 üzerinden $HO^\bullet$ oluşturması ile sonuçlanır (Altan vd 1997, Valko vd. 2007). LP doymamış yağ asitlerinin serbest radikallerle etkileşmesi sonucu doymamış yağ asidindeki metilen grubundan bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır (Lubin vd 1972). Hidrojen atomunun koparılmasıyla oluşan serbest yağ asidi radikali, moleküler oksijen ile reaksiyona girerek peroksit radikalini oluşturur. Oluşan peroksit radikali başka bir yağ asidi molekülü ile yeni bir hidroperoksit ve yeni bir yağ asidi radikali oluşturacak şekilde hızla reaksiyona girer. Oluşan bu yağ asidi radikali yeniden oksijen ile birleşir bir hidrojen atomunun daha ayrılmasını sağlar. Başlayan bu zincir reaksiyonları oluşan yeni radikallerin etkisiyle artarak devam eder (Burton 1989). Lipit peroksidasyonu sonucu, hücre zarı akışkanlığı ve permabilitesi zayıflar ve hücre bütünlüğü bozulabilir. Lizozomal membranların yıkımlanması hidrolitik enzimlerin salınmasına ve intrasellüler sindirime neden olur (Mead 1984, Burton 1989). Lipid peroksidasyonu hipergliseminin yanı sıra, hem yaygın vasküler inflamasyon sonucu aktifleşen lipooksijenaz yolu ile prostoglandinlerden, hem de serbest radikaller ve geçiş metallerinin etkisi ile endotelial ve fagositik hücrelerin membranlarında bulunan lipidlerden, nonenzimatik yollarla da oluşur. Daha sonra bu ürünler, karşılıklı olarak birbirlerini aktive ederek, lipid peroksidasyonunu artırır (Valko vd. 2007, Nistala vd. 2008).

Diyabetik bireylerde plazma ve doku LP ürünlerinin aynı yaştaki sağlıklı kişilerden daha fazla olduğu bulunmuş ayrıca retinopati ve anjiyopatili Tip 1 DM hastalarında LP ürünlerinin komplikasyonu olmayan hastalara göre artmış olduğu görülmüştür. Bu durum diyabetik komplikasyonların gelişmesinde LP'in önemini ortaya koymaktadır. Diyabetik hayvanlarda da benzer bulgular elde edilmiştir (Coskun vd. 2005, Al-Azzawie ve Alhamdani 2006, Jung vd. 2011, Sefi vd. 2011).

Çalışmamızda, diyabetik kontrol grubunda normal kontrol grubuna göre LP ürünlerindeki artış hemen hemen tüm çalışmalarda aynı durumdadır (Adewole vd. 2007, Gayathri ve Kannabiran 2010). Bugular morin'in hücrelerde doğal oksidasyon reaksiyonlarının yıkımlayıcı etkilerine karşı koruyucu etki sağlayan antioksidan gücü artırdığını göstermektedir. Böylece morin lipid peroksidasyonunu önlemede güçlü bir antioksidan potansiyele sahip olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmamızdaki NOx bulgularında, (Çizelge 4.3'te görüldüğü gibi) karaciğerde diyabetik (25 mg/kg) morin, (50 mg/kg) morin ve (100 mg/kg) Tolbutamit gruplarında diyabetik kontrole göre herhangi bir fark bulunmamıştır. Böbrek ve pankreasta ise diyabetik (25 mg/kg) morin, (50 mg/kg) morin ve (100 mg/kg) Tolbutamit grupları diyabetik kontrol grubu'na göre anlamlı bir şekilde iyileştiği, böbrekte ise NO değerleri normal kontrol düzeyinde olduğu gözlenmiştir.

Diyabetik hastalarda hiperglisemi sonucu, poliol (sorbitol) yolu aktivitesinde artış olmaktadır. Aktive olmuş poliol (sorbitol) yolu, bu yoldaki aldoz redüktaz enzim aktivitesi için NADPH kullandığından hücre içi NADPH tüketilir. Oysa NO sentezi içinde NADPH gereklidir. Bu nedenle poliol (sorbitol) yolunun aktif olması ve sonuçta NADPH'nin yokluğu NO sentezinin azalmasına ve diyabetin vasküler komplikasyonlarının ortaya çıkmasına neden olur (Altan vd. 2006). Sağlıklı bireylerin koroner arterlerinde insülin, endotel bağımlı vazodilatasyona yol açarken, plazma glukoz konsantrasyonu artması, endotelden NO salgılanmasını azaltmaktadır (Creager vd. 2003). DM'da endotelden NO salgılanmasının azaldığı yönündeki bildirimlere benzer biçimde, diyabetik gruplarımızdaki NOx düzeyinin normal kontrol grubu'na göre azalmış olduğu görülmüştür. Flavonoid (quercetin) verilen sıçanlar da diyabet nedeni ile düşen doku NO miktarı yükselmiştir (Zhang vd. 2011). Morin verilen deney gruplarımızda DM'daki azalmış NO düzeyinin anlamlı olarak arttığı böbrek ve pankreasta görülmüştür. Böylece morin diyabetin önemli komplikasyonlarından olan anjiyopatilerin önlenmesinde etkili olabileceğini akla getirmektedir.

Oksidatif stres prooksidan ve antioksidanlar arasındaki dengenin prooksidanların lehine bozulması sonucu oluşan bir tablodur. Oksidatif stresten korunmak için vücutta

antioksidan sistemleri ve vitaminler önemli role sahiptir. Çalışmamızda, çizelge 4.4'te görüldüğü gibi, GSH düzeyleri karaciğer, böbrek ve pankreas dokularında verilmiştir. Diyabetik kontrol gruplarında normal kontrol gurplarına göre düşük bulunmuştur. Diyabetik (25 mg/kg) morin, (50 mg/kg) morin ve (100 mg/kg) Tolbutamit gruplarında karaciğer ve pankreas GSH düzeyleri, diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde yükselmiştir. Böbrekte ise gruplar arası herhangi bir bir değişiklik görülmemiştir.

DM'tan dolayı poliol (sorbitol) yolu aktivitesindeki artış NADPH ve NAD⁺ azalması ve hücrel redoks potansiyelinde değişiklikler ile sonuçlanır. Bu durum hücre içi GSH eksikliğine yol açar ve antioksidatif etkinin engellenmesi ile hücrelerin artmış oksidatif stres ile mücadelesini azaltır (Güzel vd. 2001). Morin uygulanan grupların GSH düzeylerinin artması, bu flavonoidin güçlü antioksidan aktivitesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Chakraborty ve Das 2010, Karthikesan vd. 2010, Saravanan ve Ponmurugan 2011).

Hücreyi serbest radikallerin toksik etkilerine karşı koruyan SOD enzim aktivitesinin diyabette değişmediği, azaldığı ya da arttığı konusunda farklı çalışmalar saptanmıştır (Huang vd. 2011, Qi vd. 2011, Volpato vd. 2011). Çalışmamızda, çizelge 4.5'te görüldüğü gibi, SOD aktivitesi karaciğer, böbrek ve pankreas dokularında verilmiştir. Diyabetik kontrol gruplarında normal kontrol gurplarına göre yüksek bulunmuştur. SOD aktivitelerinde saptanan artış, diyabette artmış lipit peroksidasyonuna karşı gelişmiş bir cevap olarak düşünülebilir

Diyabetik (25 mg/kg) morin, (50 mg/kg) morin ve (100 mg/kg) Tolbutamit gruplarında ise SOD aktivitesi karaciğer ve pankreasta, diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azalmış, böbrekte ise sadece morin (50 mg/kg) dozu SOD aktivitesi diyabetik kontrol grubuna göre azalmıştır. SOD aktivitelerinde saptanan bu iyileşme morin'in oksidatif stres durumunu düzelttiğini düşündürmektedir.

Önceki yapılan. histolojik araştırmalara göre, STZ verilen diyabetik hayvanların Langerhans adacıklarının olumsuz etkilendiği ve önemli değişiklikler gösterdiği

bildirilmiştir. Bu çalışmalarda STZ ile oluşturulan diyabetik sıçanların pankreatik β hücrelerinde çekirdek küçülmesi (piknoz), kristalları silinmiş mitokondriler, dilate olmuş endoplazma retikulum keseleri, degranulasyon ve çok sayıda vakuoller tespit edilmiştir. Bu dejenerasyonlar, insulin salınımı ve sentezinin inhibe edildiğini göstermektedir (Coskun vd. 2005, Arulselvan ve Subramanian 2007).

STZ ile indüklenmiş diyabetik hayvanlarda artmış oksidatif stres belirgindir. Bundan dolayı yeterli miktarda antioksidan sağlanmasının β hücre disfonksiyonunu geçiktirdiği ya da önlediği düşünülmektedir (Kaneto vd. 1999, Coskun vd. 2005, Altan vd. 2006, Arulselvan ve Subramanian 2007).

Antioksidanların (özellikle flavonoidlerin) olumlu etkilediği diyabetle ilgili pek çok çalışmalar bulunmaktadır (de Groot ve Rauven 1998, Mukherjee vd. 1998, Kaneto vd. 1999, Moharram vd. 2003, Arany vd. 2004, Coskun vd. 2005, Liu vd. 2006, Arulselvan ve Subramanian 2007, Rauter vd. 2010, Huang vd. 2011). Çalışmamızda antioksidan etkilerinden dolayı (25 mg/kg) morin ve (50 mg/kg) morin STZ ile deneysel diyabet oluşturduğumuz sıçanların pankreasında oluşan hasara karşı normal pankreastaki gibi hücrelerin yapısına uygun şekilde normal çekirdek morfolojisi ve sitoplazmada homojen bir şekilde organel yerleşiminin olduğu ve bu organellerin patolojik durum göstermediği gözlemlendi. Ayrıca Tolbutamid (100 mg/kg) verilen diyabetik sıçanlarda da iyileşmeler fark edilmiştir (Gayathri ve Kannabiran 2008).

Sonuç olarak, STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlarda kan glukoz düzeyleri önemli ölçüde yükseldi ve buna bağlı olarak, beden ağırlığında azalma, su ve yem tüketiminde yükselme tespit edildi. Diyabetten dolayı lipid profili ve karaciğer enzim düzeylerinde de bozukluk meydana geldiği saptandı. Ayrıca serbest radikal artışının oksidatif stresi arttırdığı ve bunun sonucu olarak da lipid peroksidasyonunun meydana geldiği artan MDA düzeyinin ölçülmesiyle belirlendi. MDA düzeyinin artması GSH miktarının azalmasına neden oldu. NO düzeyleri ve SOD aktivitesinde de oksidatif stres neden ile azalmalar izlendi. Böylelikle hiperglisemide oksidan/antioksidan dengesi oksidanlar lehine olduğu tespit edildi. Antioksidan özelliği bilinen morin'in bu doktora tez çalışmasında STZ diyabetik sıçanlarda doza bağlı olmayan bir şekilde antihiperglisemik

ve antihiperlipidemik etki gösterdiği saptanmıştır. İnsan sağığı açısından morin'in alternatif diyabet tedavisinde kullanılabileceğı ve diyabet ile yapılan çalışmalara kaynak olabileceğı düşünölmektedir.

KAYNAKLAR

- Abu-Amsha, R., Croft, K.D., Puddey, I.B., Proudfoot, J.M. and Beilin, L.J. 1996. Phenolic content of various beverages determines the extent of inhibition of human serum and low-density lipoprotein oxidation in vitro: identification and mechanism of action of some cinnamic acid derivatives from red wine. *Clinical Science*, Vol. 91, pp. 449-458.
- Adewole, S.O., Caxton-Martins, E.A. and Ojewole, J.A.O. 2007. Protective effect of quercetin on the morphology of pancreatic β -cells of streptozotocin-treated diabetic rats. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, Vol. 4(1), pp. 64-74.
- Adiga, S., Bairy, K.L., Meharban, A. and Punita, I.S.R. 2010. Hypoglycemic effect of aqueous extract of *Trichosanthes dioica* in normal and diabetic rats. *International Journal of Diabetes in Developing Countries*, Vol. 30, pp. 38-42.
- Aguirre, V. and White, M. 2000. Dysregulation of IRS-proteins causes insulin resistance and diabetes. *Current Opinion in Endocrinology and Diabetes.*, Vol. 7, pp. 1-7.
- Akiyama, S., Katsumata, S., Suzuki, K., Ishimi, Y., Wu, J. and Uehara, M. 2010. Dietary hesperidin exerts hypoglycemic and hypolipidemic effects in streptozotocin-induced marginal type 1 diabetic rats. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*, Vol. 46(1), pp. 87-92.
- Akkuş, İ. 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. 1. Baskı, Mimoza Yayınları, s.1-60. Konya.
- Al-Azzawie, H.F. and Alhamdani, M.S. 2006. Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. *Life Sciences*, 78, 1371-1377.
- Al-Numair, K.S., Chandramohan, G. and Alsaif, M.A. 2012. Pretreatment with morin, a flavonoid, ameliorates adenosine triphosphatases and glycoproteins in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *Journal of Natural Medicines*, Vol. 66(1), pp. 95-101.
- Altan, N., Sepici Dinçel, A. ve Koca, C. 2006. Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Türk Biyokimya Dergisi*, Cilt. 31(2), s. 51-56.
- Altan, N., Yiğit, Ş., Elmalı, E., Malhatun, E., Rota, S. and Kılıç, N. 1997. Effects of the sulfonylurea glyburide on superoxide dismutase in streptozotocine-induced diabetic rat muscle. *General Pharmacology*, Vol. 28, pp. 795-796.
- Anonymous. 1995. Perspectives in Diabetes. U.K. Prospective Diabetes Study 16. Overview of 6 years' therapy of type II diabetes: A progressive disease. *Diabetes*, Vol. 44, pp. 1249-1258.
- Anonymous. 1997. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, Vol. 20, pp. 1183-1197.
- Anonymous. 2003. Follow- up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, Vol. 26, pp. 3160-3167.
- Anonymous. 2008. Report Standards of Medical Care in Diabetes-2008. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, *Diabetes Care*, Vol. 31, pp. s12-s54.
- Anonymous. 2011a. Web sitesi. <http://www.who.int/diabetes-actiononline/diabetes/en/>. Erişim Tarihi: 04.01.2011.
- Anonymous. 2011b. Web sitesi. <http://www.dojindo.com/store/p/207-DTNB.aspx>. Erişim Tarihi: 13.11.2011.

- Anonymous. 2011c. Web sitesi. [http://cul1.com/superoxide_dismutase_\(sod\)_detection_kit.htm](http://cul1.com/superoxide_dismutase_(sod)_detection_kit.htm). Erişim Tarihi: 06.11.2011.
- Arany, E., Strutt, B., Romanus, P., Remacle, C., Reusens, B. and Hill, D.J. 2004. Taurine supplement in early life altered islet morphology, decreased insulinitis and delayed the onset of diabetes in non-obese diabetic mice. *Diabetologia*, Vol. 47, pp.1831-1837.
- Arison, R.N., Ciaccio, E.I., Glitzer, M.S., Cassaro, J.A. and Pruss, M.P. 1967. Light and electron microscopy of lesions in rats rendered diabetic with streptozotocin. *Diabetes*, Vol. 16, pp. 51-56.
- Arulmozhi, S., Mazumder, P.M., Lohidasan, S. and Thakurdesai, P. 2010. Antidiabetic and antihyperlipidemic activity of leaves of *Alstonia scholaris* Linn. R.Br. *European Journal of Integrative Medicine*, Vol. 2, pp. 23-32.
- Arulselvan, P. and Subramanian, S.P. 2007. Beneficial effects of *Murraya koenigii* leaves on antioxidant defense system and ultra structural changes of pancreatic β - cells in experimental diabetes in rats. *Chemico-Biological Interactions*; Vol. 165, pp. 155-164.
- Arvind, K., Pradeep, R., Deepa, R. and Mohan, V. 2002. Diabetes and coronary artery diseases. *Indian Journal of Medical Research*, Vol. 116, pp. 163-176.
- Avcı, A. 2001. Diyabet oluşturulmuş ratlarda böbrek antioksidan savunma sistemi ve E vitaminin etkileri. Uzmanlık Tezi. Ankara.Üniversitesi, 68 s., Ankara.
- Aygün, F.O. 2010. Sıçanlarda deneysel gentamisin nefrotoksisitesinde oksidatif stresin rolünün ve olası oksidatif stres üzerine kafeik asit fenetil ester'in etkisinin araştırılması, Uzmanlık tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi, 45 s., Isparta.
- Aykaç, G., Uysal, M., Yalçın, A.S., Koçak-Toker, N., Sivas, A. and Öz, H. 1985. The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicology*, Vol. 36(1), pp. 71-76.
- Bailey, C. 1992. Biguanides and NIDDM. *Diabetes Care*, Vol. 15, pp. 755-772.
- Balasubramanyam, M. and Mohan, V. 2001. Orally active insulin mimics: where do we stand now ?. *Journal of Biosciences*, Vol. 26, pp. 383-390.
- Battist, W.P., Palmisano, J. and Keane, W.F. 2003. Dyslipidemia in patients with type 2 diabetes. Relationships between lipids, kidney disease and cardiovascular disease. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, Vol. 41, pp. 1174-1181.
- Baykara, B. ve Tekmen, I. 2005. Karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, Cilt 19(3), s. 185-194.
- Baynes, J.W. 1991. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes*, Vol. 40(4), pp. 405-412.
- Baynes, J.W. and Thorpe, S.R. 1999. Role of oxidative stress in diabetic complications: A new perspective on an old paradigm. *Diabetes*, Vol. 48(1), pp. 1-9.
- Beecher, G.R. 2003. Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. *Journal of Nutrition*, Vol. 133, pp. 3248S-3254S.
- Belfiore, F. and Iannello, S. 2000. Etiological classification, pathophysiology and diagnosis, In: New concepts in diabetes and its treatment. Belfiore, F. and Mogensen, C.E. Karger, pp. 3-19, Switzerland.
- Bierhaus, A., Chevion, S., Chevion, M., Hofmann, M., Quehenberger, P., Illmer, T., Luther, T., Berentshtein, E., Tritschler, H., Müller, M., Wahl, P., Ziegler, R. and Nawroth, P.P. 1997. Advanced glycation end product-induced activation

- of NF-kappaB is suppressed by alpha-lipoic acid in cultured endothelial cells. *Diabetes*, Vol. 46(9), pp. 1481-1490.
- Bishop, M., Duben-Engelkirk, J. and Fody, E. 2000. *Clinical Chemistry*. 4th ed., Lippincott Williams and Wilkins, pp. 220-221. Philadelphia, USA.
- Bliss, M. 2000. *The Discovery of Insulin*. University of Chicago Press, pp. 321-1418, Chicago, USA.
- Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagerstedt, K.V. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A review. *Annals of Botany*, Vol. 91, pp. 179-194.
- Bonnefont-Rousselot, D. 2002. Glucose and reactive oxygen species. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, Vol. 5(5), pp. 561-568.
- Bopanna, K.N., Kannan, J., Gadgil, S., Balaraman, E.R. and Rathore, S.P. 1997. Antidiabetic and antihyperglycaemic effects of neem seeds kernel powder on alloxan diabetic rabbits. *Indian Journal of Pharmacology*, Vol. 29, pp. 162-167.
- Bors, W., Heller, W., Michel, C. and Stettmaier, K. 1996. Flavonoids and polyphenols: chemistry and biology. In: *Handbook of Antioxidants*. Cadenas E. and Packer L. (eds.), Marcel Dekker Inc, pp. 409-466, New York.
- Boyunağa, H. 1989. Organ nakillerinde dikkate alınmayan 'genetik saat'. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, Cilt 6(2), s. 325-335.
- Bray, T.M. and Bettger, W.J. 1990. The physiological role of zinc as an antioxidant. *Free Radical Biology and Medicine*, Vol. 8, pp. 281-291.
- Brown, J., O'Prey, J. and Harrison, P.R. 2003. Enhanced sensitivity of human oral tumours to the flavonol, morin, during cancer progression: involvement of the Akt and stress kinase pathways. *Carcinogenesis*, Vol. 24(2), pp. 171-177.
- Brownlee, M. 2001. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, Vol. 414(6865), pp. 813-820.
- Brufau, G., Canela, M.A. and Rafecas, M. 2008. Phytosterols: physiologic and metabolic aspects related to cholesterol-lowering properties. *Nutrition Research*, Vol. 28, pp. 217-225.
- Buege, J.A. and Aust, S.D. 1978. Microsomal Lipid Peroxidation, In: *Methods in Enzymology*. Fleischer, S., Packer L. (Editors). New York: Academic Press, pp. 302-330.
- Burton, G.W. 1989. Antioxidant action of carotenoids. *Journal of Nutrition*, Vol. 119, pp. 109-111.
- Bühling, K. and Dudenhausen, J. 2001. Diabetes and pregnancy. *Ernahr.-Umsch.*, pp. 48-58.
- Cao, G. and Chen, J. 1991. Effects of dietary zinc on free radical generation, lipid peroxidation and superoxide dismutase in trained mice. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, Vol. 291, pp. 147-153.
- Cao, G., Sofic, E. and Prior, R.L. 1997. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine*, Vol. 22, pp. 749-760.
- Chakraborty, U. and Das, H. 2010. Antidiabetic and antioxidant activities of *Cinnamomum tamala* leaf extracts in stz-treated diabetic rats. *Global Journal of Biotechnology and Biochemistry*, Vol. 5, pp. 12-18.

- Chappey, O., Dosquet, C., Wautier, M.P. and Wautier, J.L. 1997. Advanced glycation end products, oxidant stress and vascular lesions. *European Journal of Clinical Investigation*, Vol. 27(2), pp. 97-108.
- Chen, D. and Wang, M.W. 2005. Development and application of rodent models for type 2 diabetes. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, Vol. 7, pp. 307-317.
- Chen, H. and Yen, G. 2007. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity of extracts from guava (*P. guajava* L.) leaves. *Food Chemistry*, Vol. 101, pp. 686-694.
- Choi, S.B., Park, C.H., Choi, M.K., Jun, D.W. and Park, S. 2004. Improvement of insulin resistance and insulin secretion by water extracts of *Cordyceps militaris*, *Phellinus linteus*, and *Paecilomyces tenuipes* in 90% pancreatectomized rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, Vol. 68, pp. 2257-2264.
- Chow, C.K. 1991. Vitamin E and oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, Vol. 11, pp. 215-232.
- Clark, S.A., Borland, K.M., Sherman, S.D., Rusack, T.C. and Chick, W.L. 1994. Staining and in vitro toxicity of dithizone with canine, porcine, and bovine islets. *Cell Transplant*, Vol. 3, pp. 299-306.
- Coskun, O., Kanter, M., Korkmaz, A. and Oter, S. 2005. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and β -cell damage in rat pancreas. *Pharmacological Research*, Vol. 51, pp. 117-123.
- Creager, M.A., Luscher, T.F., Cosentino, F. and Beckman, J.A. 2003. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: Part I. *Circulation*, Vol. 108, pp. 1527-1532.
- Czech, M.P. 1977. Molecular basis of insulin action. *Annual Review of Biochemistry*, Vol. 46, pp. 359-384.
- Çavuşoğlu, F.Z. 1988. Diabetli ve normal şahıslarda sorbitol ve HbA1c Seviyelerinin Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi, 52 s., Erzurum.
- Çeliker, A. 2009. Periferik Nöropati. www.farma.hacettepe.edu.tr/hizbim/perifnoro.html. Erişim Tarihi: 23.09.2009.
- Çomoğlu, S., Yardımcı, S. ve Okçu, Z. 2001. Tip II diabetik duysal polinöropatisi olan hastaların plazma lipid profil değişiklikleri. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, Cilt 21(5), s. 345-348.
- Dalle-Donne, I., Giustarini, D., Colombo, R., Rossi, R. and Milzani, A. 2003. Protein carbonylation in human diseases. *Trends in Molecular Medicine*, Vol. 9, pp. 169-176.
- Davies, M.G., Fulton, G.J. and Hagen, P.O. 1995. Clinical biology of nitric oxide. *British Journal of Surgery*, Vol. 82, pp. 1598-1610.
- Day, C. and Bailey, C.J. 1988. A diabetologist's herbal. In *Current Medical Literature - Diabetes*, Vol. 5, pp. 31-35 [H Keen and P Lefebvre, editors]. London: Royal Society of Medicine.
- de Groot H. and Rauen, U. 1998. Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effects of flavonoids. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, Vol. 12, pp. 249-255.
- Dean, R.T., Fu, S., Stocker, R. and Davies, M.J. 1997. Biochemistry and Pathology of Radical-mediated Protein Oxidation. *Biochemical Journal*, Vol. 324(1), pp. 1-18.

- Delaney, C.A., Dunger, A., DiMatteo, M., Cunningham, J.M., Green, M.H. and Green, I.C. 1995. Comparison of inhibition of glucose-stimulated insulin secretion in rat islets of Langerhans by streptozotocin and methyl and ethyl nitrosoureas and methanesulphonates. Lack of correlation with nitric oxide-releasing or O6-alkylating ability. *Biochemical Pharmacology*, Vol. 50, pp. 2015-2020.
- Delibaş, N. ve Özçankaya, R. 1995. Serbest radikaller. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, Cilt 2(3), s. 11-17.
- Denda, A., Ura, H., Tsujiuchi, T., Tsutsumi, M., Eimoto, H., Takashima, Y., Kitazawa, S., Kinugasa, T. and Konishi, Y. 1989. Possible involvement of arachidonic acid metabolism in phenobarbital promotion of hepatocarcinogenesis. *Carcinogenesis*, Vol. 10, pp.1929-1935.
- Dey, L., Attele, A. and Yuan, C. 2002. Alternative therapies for type 2 diabetes . *Alternative Medicine Review*, Vol. 7, pp. 45-58.
- Dominguez, C., Gussinye, M., Ruiz, E. and Carrascosa, A. 1998. Oxidative stress at onset and in early stages of type 1 diabetes in children and adolescents. *Diabetes Care*, Vol. 21(10), pp. 1736-1742.
- Dreosti, I.E. 2000. Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. *Nutrition*, Vol. 16, pp. 692-694.
- Dündar, Y. ve Aslan, R. 2000. Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar, Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları, Yayın no: 29, 3-33 s., Afyon.
- Eidland, A., Sebekova, K. and Schinzel, R. 2001. Advanced glycation end products and the progressive course of renal disease. *American Journal of Kidney Diseases*, Vol. 38(4), pp. S100-S106.
- Eiserich, J.P., Patel, R.P. and O'Donnell, V.B. 1998. Pathophysiology of nitric oxide and related species: free radical reactions and modification of biomolecules. *Molecular Aspects of Medicine*, Vol. 19, pp. 221-357.
- Elsner, M., Guldbakke, B., Tiedge, M., Munday, R. and Lenzen, S. 2000. Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin. *Diabetologia*, Vol. 43, pp. 1528-1533.
- Erenel, G., Erbaş, D. ve Arıcıoğlu, A. 1992. Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. *Gazi Tıp Dergisi*, Cilt 3, s. 243-250.
- Evans, J.L., Goldfine, I.D., Maddux, B.A. and Grodsky, G.M. 2003. Are oxidative stress-activated signaling pathway mediators of insulin resistance and β - cell dysfunction. *Diabetes*, Vol. 52, pp. 1-8.
- Fang, S.H., Hou, Y.C., Chang, W.C., Hsiu, S.L., Chao, P.D. and Chiang, B.L. 2003. Morin sulfates/glucuronides exert anti-inflammatory activity on activated macrophages and decreased the incidence of septic shock. *Life Sciences*, Vol. 74, pp. 743-756.
- Fernando, M.R., Wickramasinghe, S.M.D.N., Thabrew, M.I., Ariyananda, P.L. and Karunanayake, E.H. 1991. Effect of *Artocarpus heterophyllus* and *Asteracanthus longifolia* on glucose tolerance in normal human subjects and in maturity-onset diabetic patients. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 31, pp. 277-282.
- Foulis, A.K. and Clark, A. 1994. Pathology of the pancreas in diabetes mellitus, In: Joslin's diabetes mellitus. Kahn, C.R and Weir, G.C. 13th ed. Lea&Febiger, pp. 265-266, Philadelphia.

- Francis, A.R., Shetty, T.K. and Bhattacharya, R.K. 1989. Modifying role of dietary factors on the mutagenicity of aflatoxin B1: in vitro effect of plant flavonoids. *Mutation Research*, Vol. 222, pp. 303-401.
- Friedewald, W.T., Levy, R.I. and Fredrickson, D.S. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*, Vol. 18(6), pp. 499-502.
- Fröde, T.S. and Medeiros, Y.S. 2008. Animal models to test drugs with potential antidiabetic activity. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 115, pp. 173-183.
- Gannog W.F. 1995. *Tıbbi Fizyoloji*. Çeviren: Doğan, A. Barış Kitapevi İstanbul.
- Gayathri, M. and Kannabiran, K. 2008. Antidiabetic and ameliorative potential of *Ficus bengalensis* bark extract in streptozotocin induced diabetic rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, Vol. 23, pp. 394-400.
- Gayathri, M. and Kannabiran, K. 2010. 2-hydroxy 4-methoxy benzoic acid isolated from roots of *Hemidesmus indicus* ameliorates liver, kidney and pancreas injury due to streptozotocin-induced diabetes in rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, Vol. 48(2), pp. 159-164.
- Gillery, P., Monboisse, J.C., Maquart, F.X. and Borel, J.P. 1988. Glycation of proteins as a source of superoxide. *Diabetes*, Vol. 14(1), pp. 1114-1120.
- Goldfarb, A.H. 1993. Antioxidants: role of supplementation to prevent exercise-induced oxidative stress. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Vol. 25, pp. 232-236.
- Goto, T., Horita, M., Nagai, H., Nagatomo, A., Nishida, N., Matsuura, Y. and Nagaoka, S. 2012. Tiliroside, a glycosidic flavonoid, inhibits carbohydrate digestion and glucose absorption in the gastrointestinal tract. *Molecular Nutrition and Food Research*, Vol. 56(3), pp. 435-45.
- Gökpinar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T. ve Durmaz, Y. 2006. Algal antioksidanlar. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, Cilt 23 (1-1 Ek Sayı), s. 85-89.
- Grankvist, K., Marklund, S.L. and Taljedal, L.B. 1981. CuZn-superoxide dismutase, Mn-superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in pancreatic islets and other tissues in the mouse. *Biochemical Journal*, Vol. 199, s. 393-398.
- Gray, A.M. and Flatt, P.R. 1997. Nature's own pharmacy: the diabetes perspective. *Proceedings of the Nutrition Society*, Vol. 56, s. 507-517.
- Green, K., Brand, M.D. and Murphy, M.P. 2004. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. *Diabetes*, Vol. 53 (Supplement 1), s. 110-118.
- Green, L.C., Wagner, D.A., Glogowski, J., Skipper, P.L., Wishnok, J.S. and Tannenbaum, S.R. 1982. Analyses of nitrate, nitrite and [15N] nitrate in biological fluids. *Analytical Biochemistry*, Vol. 126, pp. 131-138.
- Greene, D.A., Lattimer, S.A. and Sima, A.A.F. 1987. Sorbitol, phosphoinositides and sodium-potassium-ATPase in the pathogenesis of diabetic complications. *The New England Journal of Medicine*, Vol. 316(10), pp. 599-606.
- Greene, D.A., Sima, A.A.F., Alberts, J.W. and Pfeifer, M.A. 1990. Diabetic neuropathy. In *Diabetes Mellitus Theory and Practice* (4th ed) Rifkin, H. and Porte, D. (Eds), Elsevier, New York.

- Gupta, S., Sharma, S.B., Singh, U.R. and Bansal, S.K. 2011. Salutory effect of *Cassia auriculata* L. leaves on hyperglycemia-induced atherosclerotic environment in streptozotocin rats. Cardiovascular Toxicology, Vol. 11(4), pp. 308-315.
- Gutteridge, J.M.C. 1994. Antioxidants, nutritional supplements and life-threatening diseases. British Journal of Biomedical Science, Vol. 51, pp. 288-295.
- Gutteridge, J.M.C. 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clinical Chemistry, Vol. 41/12, pp. 1819-1928.
- Gücükoğlu, A. 2009. Diabetik Retinopati. <http://www.vizyongoz.com/diabetret.html>. Erişim Tarihi: 10.08.2009.
- Gültekin, N., Ersanlı, M. ve Küçükateş, E. 1996. Güncel ve etkin bir transmitter: Nitrik oksid. Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi, Cilt 24, s. 311-320.
- Güzel, S., Seven, A., Civelek, S., Salman, S., Satman, İ. ve Burçak, G. 2001. Tip 1 diyabetiklerin erken ve geç döneminde antioksidan statü, Cerrahpaşa Tıp Dergisi, Cilt 32(4), s. 243-248.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. 1999. Free Radicals in Biology and Medicine. 3rd ed., Oxford University Press, Oxford, UK.
- Hanasaki, Y., Ogawa, S. and Fukui, S. 1994. The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. Free Radical Biology and Medicine, Vol. 16(6), pp. 845-850.
- Hatemi, H., Biyal F. ve Korugan, Ü. 1983. Diabetes Mellitus. 1.baskı. Dergah Yayınları, İstanbul.
- Hatemi, H.H. 1991. Diabetik nöropati. Klinik Gelişim, Cilt 4, s. 1592-1598.
- Henquin, J.C. 1980. Mechanisms of tolbutamide-stimulation of pancreatic B cells - A reply. Diabetologia, Vol. 19, pp. 162-163.
- Hollman, P.C.H. and Katan, M.B. 1997. Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. Biomedicine and Pharmacotherapy, Vol. 51, pp. 305-310.
- Huang, C., Yin, M. and Chiu, L. 2011. Antihyperglycemic and antioxidative potential of *Psidium guajava* fruit in streptozotocin-induced diabetic rats. Food and Chemical Toxicology, Vol. 49, pp. 2189-2195.
- Januszewski, A.S., Alderson, N.L., Metz, T.O., Thorpe, S.R. and Baynes, J.W. 2003. Role of lipids in chemical modification of proteins and development of complications in diabetes. Biochemical Society Transactions, Vol. 31(6), pp. 1413-1416.
- Johansen, J.S., Harris, A.K., Rychly, D.J. and Ergul, A. 2005. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: Linking basic science to clinical practice. Cardiovascular Diabetology, Vol. 4(1), p. 5.
- Jonasson, J.M., Ljung, R., Talbäck, M., Haglund, B., Gudbjörnsdóttir, S. and Steineck, G. 2009. Insulin glargine use and short-term incidence of malignancies-a population-based follow-up study in Sweden. Diabetologia, Vol. 52(9), pp. 1745-1754.
- Jung, J.Y., Lim, Y., Moon, M.S., Kim, J.Y. and Kwon, O. 2011. Onion peel extracts ameliorate hyperglycemia and insulin resistance in high fat diet/streptozotocin-induced diabetic rats. Nutrition and Metabolism, Vol. 8, pp. 1-8.
- Kahraman, T. 1998. Elektrik alanın rat eritrosit ve dokularındaki antioksidan enzim (süperoksid dismutaz, glutatyon peroksidaz) aktiviteleri, lipid peroksidasyon ve glutatyon seviyelerine etkisi. Doktora tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, 53 s. Van.

- Kako, M., Miura, T., Nishiyama, Y., Ichimaru, M., Moriyasu, M. and Kato, A. 1997. Hypoglycemic activity of some triterpenoid glycosides. *Journal of Natural Products*, Vol. 60(6), pp. 604-605.
- Kaneto, H., Kajimoto, Y., Miyagawa, J., Matsuoka, T., Fujitani, Y., Umayahara, Y., Hanafusa, T., Matsuzawa, Y., Yamasaki, Y. and Hori, M. 1999. Beneficial effects of antioxidants in diabetes: possible protection of pancreatic beta-cells against glucose toxicity. *Diabetes*, Vol. 48, pp. 2398-2406.
- Kanter, M., Meral, I., Dede, S., Gunduz, H., Cemek, M. and Ozbek, H. 2003. Effects of *Nigella sativa* L. and *Urtica dioica* L. on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and some liver enzymes in CCl₄-treated rats. *Journal of Veterinary Medicine. A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine*, Vol. 50, pp. 264-268.
- Karasu, Ç. 1999. Increased activity of H₂O₂ in aorta isolated from chronically streptozotocin-diabetic rats: Effects of antioxidant enzymes and enzyme inhibitors. *Free Radical Biology and Medicine*, Vol. 27, pp. 16-27.
- Karthikesan, K., Pari, L. and Menon, V.P. 2010. Protective effect of tetrahydrocurcumin and chlorogenic acid against streptozotocin–nicotinamide generated oxidative stress induced diabetes. *Journal of Functional Foods*, Vol. 2, pp. 134-142.
- Karunanayake, E.H., Baker, J.R., Christian, R.A., Hearse, D.J. and Mellows, G. 1976. Autoradiographic study of the distribution and cellular uptake of (14C)-streptozotocin in the rat. *Diabetologia*, Vol. 12, pp. 123-128.
- Kavas, G.Ö. 1989. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri, Cilt 9*(1), s. 1-8.
- Kawabata, K., Tanaka, T., Honjo, S., Kakumoto, M., Hara, A., Makita, H., Tatematsu, N., Ushida, J., Tsuda, H. and Mori, H. 1999. Chemopreventive effect of dietary flavonoid morin on chemically induced rat tongue carcinogenesis. *International Journal of Cancer*, Vol. 83(3), pp. 381-386.
- Kayaalp, O. 1993. *Tıbbi Farmakoloji*. 3, Feryal Matbacılık, Ankara.
- Kehrer, J.P. 1993. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Critical Reviews in Toxicology*, Vol. 23(1), pp. 21-48.
- Kelley, D. and Goodpaster, B. 2001. Effects of exercise on glucose homeostasis in type 2 diabetes mellitus. *Medicine and Science in Sports and Exercise*., Vol. 33, s. S495-S501.
- Kelly, D. 1995. Effects of weight loss on glucose homeostasis in NIDDM. *Diabetes Reviews*, Vol. 3, pp. 366-377.
- Khanna, K., Rizvi, F. and Chander, R. 2002. Lipid lowering activity of *Phyllanthu niruri* in hyperlipidemic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 82, pp. 19-22.
- Kılınç, K. 1986. Oxygen radicals: Their production, function and toxic effects. *Biyokimya Dergisi*, Vol. 9(3), pp. 59-76.
- Kitagawa, S., Fujisawa, H. and Sakurai, H. 1992. Scavenging effects of dihydric and polyhydric phenols on superoxide anion radicals, studied by electron spin resonance spectrometry. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, Vol. 40, pp. 304-307.
- Known, N.S., Stuehr, D.J. and Nathan, C.F. 1991. Inhibition of tumor cell ribonucleotide reductase by macrophage derived nitric oxide. *Journal of Experimental Medicine*, Vol. 174, pp. 761-768.

- Kok, L.D., Wong, Y.P., Wu, T.W., Chan, H.C., Kwok, T.T. and Fung, K.P. 2000. Morin hydrate: a potential antioxidant in minimizing the free-radicals-mediated damage to cardiovascular cells by anti-tumor drugs. *Life Sciences*, Vol. 67(1), pp. 91-99.
- Koya, D. and King, G.L. 1998. Protein kinase C activation and the development of diabetic complications. *Diabetes*, Vol. 47(6), pp. 859-866.
- Krishna Mohan, G., Pallavi, E., Ravi Kumar, B., Ramesh, M. and Venkatesh, S. 2007. Hepatoprotective activity of *Ficus carica* Linn. leaf extract against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *DARU*, Vol. 15(3), pp. 162-166.
- Kumar, C.K.A., Nair, R., Kamath, J.V. and Harish, N.M. 2008. Oral hypoglycemic agents for treatment of Type-II Diabetes Mellitus : A Review. *Pharmaceutical Reviews*, 6(1), <http://www.pharmainfo.net/reviews/oral-hypoglycemic-agents-treatment-type-ii-diabetes-mellitus-review>.
- Kuo, P.C. and Schroeder, R.A. 1995. The emerging multifaceted roles of nitric oxide. *Annals of Surgery*, Vol. 221, pp. 220-235.
- Kurt, M., Atmaca, A. ve Gürlek, A. 2004. Diyabetik Nefropati. *Hacettepe Tıp Dergisi*, Cilt 35, s. 12-17.
- Kuyumcu, A., Düzgün, P.A., Özmen, M. ve Besler, H.T. 2004. Travma ve enfeksiyonda nitrik oksidin rolü. *Ulus Travma Dergisi*, Cilt 10(3), s. 149-159.
- Kuyvenhoven, J.P. and Meinders, A.E. 1999. Oxidative stress and diabetes mellitus. Pathogenesis of long term complications. *European Journal of Internal Medicine*, Vol. 10, pp. 9-19.
- Kwon, O., Eck, P., Chen, S., Corpe, C.P., Lee, J.H., Kruhlak, M. and Levine, M. 2007. Inhibition of the intestinal glucose transporter GLUT2 by flavonoids. *FASEB Journal*, Vol. 21, pp. 366-377.
- Lamba, S.S., Buch, K.Y., Lewis, H. and Lamba, J. 2000. Phytochemicals potential hypoglycemic agents. *Studies in Natural Products Chemistry*, Vol. 21, pp. 457-496.
- Latha, R.C.R. and Daisy, P. 2011. Insulin secretagogue, antihyperlipidemic and other protective effects of gallic acid isolated from *Terminalia bellerica* Roxb. In streptozotocin induced diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions*, Vol. 189, pp. 112-118.
- Lee, H.S., Jung, K.H., Hong, S.W., Park, I.S., Lee, C., Han, H.K., Lee, D.H. and Hong, S.S. 2008. Morin protects acute liver damage by carbon tetrachloride (CCl₄) in rat. *Archives of Pharmacology Research*, Vol. 31(9), pp. 1160-1155.
- Lee, H.S., Jung, K.H., Park, I.S., Kwon, S.W., Lee, D.H. and Hong, S.S. 2009. Protective effect of morin on dimethylnitrosamine-induced hepatic fibrosis in rats. *Digestive Diseases Sciences*, Vol. 54(4), pp. 782-788.
- Lemhadri, A., Hajji, L., Michel, J.B. and Eddouks, M. 2006. Cholesterol and triglycerides lowering activities of caraway fruits in normal and streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 106, pp. 321-326.
- Lenzen, S. 2008. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced Diabetes. *Diabetologia*, Vol. 51, pp. 216-226.
- Lenzen, S., Tiedge, M., Jörns, A. and Munday, R. 1996. Alloxan derivatives as a tool for the elucidation of the mechanism of the diabetogenic action of alloxan. In: Shafrir E (ed) *Lessons from animal diabetes*. Birkhäuser, Boston, pp 113-122.
- Leopold, J.A., Cap, A., Scribner, A.W., Stanton, R.C. and Loscalzo, J. 2001. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency promotes endothelial oxidant stress and

- decreases endothelial nitric oxide bioavailability. *FASEB Journal*, Vol. 15, pp. 1771-1773.
- Lian, T.W., Wang, L., Lo, Y.H., Huang, I.J. and Wu, M.J. 2008. Fisetin, morin and myricetin attenuate CD36 expression and oxLDL uptake in U937-derived macrophages. *Biochimica et Biophysica Acta*, Vol. 1781, pp. 601–609.
- Liu, I.M., Liou, S.S. and Cheng, J.T. 2006. Mediation of beta-endorphin by myricetin to lower plasma glucose in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 104, pp. 199-206.
- Liu, J.P., Zhang, M., Wang, W.Y. and Grimsgaard, S. 2004. Chinese herbal medicines for type-2 diabetes mellitus. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, Vol. 3, pp. 3642-3645.
- Lotito, S.B. and Frei, B. 2006. Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: cause, consequence, or epiphenomenon? *Free Radical Biology and Medicine*, Vol. 41(12), pp. 1727-1746.
- Lu, Y.X., Zhang, Q., Li, J., Sun, Y.X., Wang, L.Y., Cheng, WM and Hu, X.Y. 2010. Antidiabetic effects of total flavonoids from *Litsea Coreana* leave on fat-fed, streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. *The American Journal of Chinese Medicine*, Vol. 38(4), pp. 713-725.
- Lubin, B.H., Shohet, S.B. and Nathan, D.G. 1972. Changes in fatty acid metabolism after erythrocyte peroxidation: stimulation of a membrane repair process. *Journal of Clinical Investigation*, Vol. 51, pp. 338-344.
- Luxton, R. 1999. *Clinical Biochemistry*. Butterworth-Heinemann Company, pp.111-112, Oxford.
- Lü, H., Chen, J., Li, W.L., Ren, B.R., Wu, J.L., Kang, H.Y., Zhang, H.Q., Adams, A. and De Kimpe, N. 2009. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of the total triterpene acid fraction from *Folium Eriobotryae*. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 122, pp. 486-491.
- Makris, D.P., Boskou, G., and Andrikopoulos, N.K. 2007. Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol. 20, pp. 125-132.
- Mannervik, B. 1985. Glutathione peroxidase. *Method in Enzymology*, Vol. 113, pp. 490- 495.
- Masiello, P. 2006. Animal models of type-2 diabetes with reduced pancreatic β -cell mass. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, Vol. 38, pp. 873-893.
- McCord, J.M. and Fridovich, I. 1969. Superoxide dismutase. An enzymic function for erithrocuprein (hemocuprein). *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 244, pp. 6049-6055.
- Mead, J.F. 1984. Free radical mechanisms in lipid peroxidation and prostaglandins synthesis. In: *Free radicals in molecular biology, aging and disease*. Armstrong, D. (ed), Raven Press, pp. 53-66, New York.
- Meister, K.A., Whelan, E.M. and Kava, R. 2000. The health effects of moderate alcohol intake in humans: an epidemiologic review. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, Vol. 37, pp. 261-96.
- Meiton, D.A. 2006. Reversal of type 1 diabetes in mice. *The New England Journal of Medicine*, Vol. 355, pp. 89-90.

- Melander, A. 1996. Oral antidiabetic drugs: an overview. *Diabetic Medicine*, Vol. 13, pp. 143-147.
- Memişoğulları, R. 2005. Diyabette serbest radikallerin rolu ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, Cilt 3, s. 30-39.
- Menteş, J. 2009. Diabetik Retinopati. <http://www.thehealthnews.org/tr/special/GOZ.HASTALIKLARI/index.html>. Erişim Tarihi: 13.10.2009.
- Mercan, U. 2004. Toksikolojide serbest radikallerin onemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, Cilt 15(1-2), s. 91-96.
- Middleton, J.R.E. 1998. Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, Vol. 439, pp. 175-182.
- Middleton, J.R.E., Kandaswami, C. and Theoharides, T.C. 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacological Reviews*, Vol. 52, pp. 673-751.
- Mills, G.C. 1957. Hemoglobin catabolism. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 229, pp. 189-197.
- Miranda, K.M., Espey, M.G. and Wink, D.A. 2001. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide*, Vol. 5(1), pp. 62-71.
- Moharram, F.A., Marzouk, M.S., El-Toumy, S.A., Ahmed, A.A. and Aboutabl, E.A. 2003. Polyphenols of *Melaleuca quinquenervia* leaves - pharmacological studies of grandinin. *Phytotherapy Research*, Vol. 17, pp. 767-773.
- Molander, D.W., Wroblewski, F. and La Due, J.S. 1955. Transaminase compared with cholinesterase and alkaline phosphatase an index of hepatocellular integrity. *Clinical Research Proceedings*, Vol. 3, pp. 20-24.
- Mooradian, A.D. 2009. Dyslipidemia in type 2 diabetes mellitus. *Nature Clinical Practice Endocrinology and Metabolism*, Vol. 5, pp. 150-159.
- Morin. 2011. Web sitesi. <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Morin.svg>, Erişim Tarihi: 13.01.2012.
- Moshage, H. 1997. Nitric oxide determinations: much ado about NO•-thing? *Clinical Chemistry*, Vol. 43(4), pp. 553-556.
- Mukherjee, B., Anbazhagan, S., Roy, A., Ghosh, R. and Chatterjee, M. 1998. Novel implications of the potential role of selenium on antioxidant status in streptozotocin-induced diabetic mice. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, Vol. 52, pp. 89-95.
- Mukherjee, P.K., Maiti, K., Mukherjee, K. and Houghton, P.J. 2006. Leads from Indian medicinal plants with hypoglycemic potentials. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 106, pp. 1-28.
- Murata, M., Takahashi, A., Saito, I. and Kawanishi, S. 1999. Sitespecific DNA methylation and apoptosis: induction by diabetogenic streptozotocin. *Biochemical Pharmacology*, Vol. 57, pp.881-887.
- Murray R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A. and Rodwell V.W. 2000 *Harper's Biochemistry*. 25th ed. Appleton & Lange Stamford, Connecticut, pp.611-617.
- Mythili, M.D., Vyas, R., Akila, G. and Gunasekaran, S. 2004. Effect of streptozotocin on the ultrastructure of rat pancreatic islets. *Microscopy Research and Technique*, Vol. 63, pp. 274-281.

- Nicasio, P., Aguilar-Santamaria, L., Aranda, E., Ortiz, S. and Gonzalez, M. 2005. Hypoglycemic effect and chlorogenic acid content in two *Cecropia* species. *Phytotherapy Research*, Vol. 19, pp. 661-664.
- Nissen, S.E. and Wolski, K. 2007. Effect of rosiglitazone on the risk of myocardial infarction and death from cardiovascular causes. *The New England Journal of Medicine*, Vol. 356, pp. 2457-2471.
- Nistala, R., Whaley-Connell, A. and Sowers, J.R. 2008. Redox control of renal function and hypertension. *Antioxidants and Redox Signaling*, Vol. 10, pp. 2047-2089.
- Noor, H., Hammonds, P., Sutton, R. and Ashcroft, S.J. 1989. The hypoglycaemic and insulinotropic activity of *Tinospora crispa*: studies with human and rat islets and HIT-T15 cells. *Diabetologia*, Vol. 32, pp. 354-359.
- Nozik-Gryck, N., Suliman, E.H.B. and Piatadosi, C.A. 2005. Extracellular superoxide dismutase. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, Vol. 37, pp. 2466-2471.
- Nukatsuka, M., Yoshimura, Y., Nishida, M. and Kawada, J. 1990. Allopurinol protects pancreatic beta cells from the cytotoxic effect of streptozotocin: in vitro study. *Journal of pharmacobiodynamics*, Vol. 13, pp. 259-262.
- Ohly, P., Dohle, C., Abel, J., Seissler, J. and Gleichman, H. 2000. Zinc sulphate induces metallothionein in pancreatic islets of mice and protects against diabetes induced by multiple low doses of STZ. *Diabetologia*, Vol. 43(8), pp. 1020-1030.
- Oloyede, G.K., Onocha, P.A., Adaramoye, O.A. and Thonda, S.E. 2011. Hepatoprotective activity and flavonoids of *Alchornea laxiflora* leaf extract. *Research Journal of Phytochemistry*, Vol. 5(4), pp. 190-200.
- Omar, H.S., El-Beshbishy, H.A., Moussa, Z., Taha, K.F. and Singab A.B. 2011. Antioxidant activity of *Artocarpus heterophyllus* Lam. (Jack Fruit) leaf extracts: remarkable attenuations of hyperglycemia and hyperlipidemia in streptozotocin-diabetic rats. *Scientific World Journal*, Vol. 11, pp. 788-800.
- Özata, M. ve Yönm, A. 2006. Endokrinoloji metabolizma ve diabet. Medikal Yayıncılık, 1. Baskı: 275-343 s., İstanbul.
- Packer, L., Weber, S.U. and Rimbach, G. 2001. Molecular aspects of alpha-tocotrienol antioxidant action and cell signalling. *Journal of Nutrition*, Vol. 131, pp. 369-373.
- Palmer, R.M., Ashton, D.S. and Moncada, S. 1988. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature*, Vol. 333(6174), pp. 664-666.
- Palsamy, P. and Subramanian, S. 2008. Resveratrol, a natural phytoalexin, normalizes hyperglycemia in streptozotocin-nicotinamide induced experimental diabetic rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, Vol. 62, pp. 598-605.
- Palumbo, P.J. 1998. Metformin: effect on cardiovascular risk factor in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and its Complications*, Vol. 12, pp. 110-119.
- Palumbo, P.J. 2001. Glycemic control, mealtime glucose excursions, and diabetic complications in type 2 diabetes mellitus. *Mayo Clinical Proceedings*, Vol. 76, pp. 609-618.
- Pan, Y., Cai, B., Wang, K., Wang, S., Zhou, S., Yu, X., Xu, B. and Chen, L. 2009. Neferine enhances insulin sensitivity in insulin resistant rats. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 124, pp. 98-102.

- Pandit, R., Phadke, A. and Jagtap, A. 2010. Antidiabetic effect of *Ficus religiosa* extract in streptozotocin-induced diabetic rats Journal of Ethnopharmacology, Vol. 128, pp. 462-466.
- Paolisso, G., D'Amore, A., Giugliano, D., Ceriello, A., Varricchio, M. and D'Onofrio, F. 1993. Pharmacologic doses of vitamin E improve insulin action in healthy subjects and non-insulin dependent diabetic patients. American Journal of Clinical Nutrition, Vol. 57, pp. 650-656.
- Parmaksız, İ. 2011. Diyabet komplikasyonlarında ileri glikasyon son ürünleri. Marmara Medical Journal, Cilt 24, s. 141-148.
- Parving, H., Gall, M. and Skott, P. 1992. Prevalence and causes of albuminuria in non-insulin-dependent diabetic patients. Kidney International, Vol. 41, pp. 758-762.
- Peluso, M.R. 2006. Flavonoids Attenuate Cardiovascular Disease, Inhibit Phosphodiesterase, and Modulate Lipid Homeostasis in Adipose Tissue and Liver. Experimental Biology and Medicine, Vol. 231, pp. 1287-1299
- Pérez, C., Domínguez, E., Ramiro, J.M., Romero, A., Campillo, J.E. and Torres, M.D. 1996. A study on the glycaemic balance in streptozotocin-diabetic rats treated with an aqueous extract of *Ficus carica* (fig tree) leaves. Phytotherapy Research, Vol. 10, pp. 82-83.
- Petlicki, J. and van de Ven, T.G.M. 1998. The equilibrium between the oxidation of hydrogen peroxide by oxygen and the dismutation of peroxy or superoxide radicals in aqueous solutions in contact with oxygen. Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions, Vol. 94, pp. 2763-2767.
- Pfaffman, M.A., Hilman, R. and Darby, A. 1980. Contractile and relaxing activity of arterial smooth muscle from streptozotocin-diabetic rats. Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology, Vol. 30, pp. 283-299.
- Pritchard, Jr K.A., Patel, S.T., Karpen, C.W., Newman, H.A., Panganamala, R.V. 1986. Triglyceride-lowering effect of dietary vitamin E in streptozotocin-induced diabetic rats. Increased lipoprotein lipase activity in livers of diabetic rats fed high dietary vitamin E. Diabetes, Vol. 35, pp. 78-81.
- Qi, M.Y., Kai-Chen, Liu, H.R., Su, Y.H. and Yu, S.Q. 2011. Protective effect of Icaritin on the early stage of experimental diabetic nephropathy induced by streptozotocin via modulating transforming growth factor β 1 and type IV collagen expression in rats. Journal of Ethnopharmacology, Vol. 138, pp. 731-736.
- Quinn, L. 2002. Mechanism in the development of type 2 diabetes mellitus. Journal of Cardiovascular Nursing, Vol. 16(2), pp. 1-16.
- Rakieten, N., Rakieten, M.L. and Nadkarni, M.V. 1963. Studies on the diabetogenic action of streptozotocin (NSC-37917). Cancer Chemotherapy Reports, Vol. 29, pp. 91-98.
- Rang, H.P. and Dale, M.M. 1991. The Endocrine System Pharmacology, second ed. Longman Group Ltd., United Kingdom, pp. 504-508.
- Rattanachaisophon, P. and Phumkhachorn, P. 2007. Bacteriostatic effect of flavonoids isolated from leaves of *Psidium guajava* on fish pathogens. Fitoterapia, Vol. 78, pp. 434-436.
- Rauter, A.P., Martins, A., Borges, C., Mota-Filipe, H., Pinto, R., Sepodes, B. and Justino, J. 2010. Antihyperglycaemic and protective effects of flavonoids on

- streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytotherapy Research*, Vol. 24, pp. 133-138.
- Reaven, P.D., Herold, D.A., Barnett, J. and Edelman, S. 1995. Effects of vitamin E on susceptibility of low-density lipoprotein and low-density lipoprotein subfractions to oxidation and on protein glycation in NIDDM. *Diabetes Care*, Vol. 18, pp. 807-816.
- Rees, D.A. and Alcolado, J.C. 2005. Animal models of diabetes mellitus. *Diabetic Medicine*, Vol. 22, pp. 359-370.
- Rice-Evans, C. 1995. Plant polyphenols: free radical scavengers or chain-breaking antioxidants. *Biochemical Society Symposia*, Vol. 61, pp. 103-116.
- Roghani, M. and Baluchnejadmojarad, T. 2010. Hypoglycemic and hypolipidemic effect and antioxidant activity of chronic epigallocatechin-gallate in streptozotocin-diabetic rats. *Pathophysiology*, Vol. 17(1), pp. 55-59.
- Ross, J.A. and Kasum, C.M. 2002. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *The Annual Review of Nutrition*, Vol. 22, pp. 19-34.
- Sandler, S. and Swenne, I. 1983. Streptozotocin, but not alloxan, induces DNA repair synthesis in mouse pancreatic islets in vitro. *Diabetologia*, Vol. 25, pp. 444-447.
- Saravanan, G. and Ponmurugan, P. 2011. Ameliorative potential of S-allyl cysteine on oxidative stress in STZ induced diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions*, Vol. 189, pp. 100-106.
- Schein, P.S., Cooney, D.A. and Vernon, M.L. 1967. The use of nicotinamide to modify the toxicity of streptozotocin diabetes without loss of antitumor activity. *Cancer Research*, Vol. 27, pp. 2324-2332.
- Schein, P.S., O'Connell, M.J. and Blom, J. 1974. Clinical antitumor activity and toxicity of streptozotocin (NSC-85998). *Cancer*, Vol. 34, pp. 993-1000.
- Schnedl, W.J., Ferber, S., Johnson, J.H. and Newgard, C.B. 1994. STZ transport and cytotoxicity. Specific enhancement in GLUT2- expressing cells. *Diabetes*, Vol. 43, pp. 1326-1333.
- Schonbaum, G.R. and Chance, B. 1976. Catalase. In Boyer, P.D. (ed). *The Enzymes*, New York, Academic Press, Vol. 13, pp. 368-408.
- Sefi, M., Fetoui, H., Lachkar, N., Tahraoui, A., Lyoussi, B., Boudawara, T. and Zeghal, N. 2011. *Centaurium erythraea* (Gentianaceae) leaf extract alleviates streptozotocin-induced oxidative stress and β -cell damage in rat pancreas. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 135, pp. 243-250.
- Senanayake, G.V., Maruyama, M., Sakono, M., Fukuda, N., Morishita, T., Yukizaki, C., Kawano, M. and Ohta, H. 2004. The effects of bitter melon (*Momordica charantia*) extracts on serum and liver lipid parameters in hamsters fed cholesterol-free and cholesterol-enriched diets. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology (Tokyo)*, Vol. 50, pp. 4253-4257.
- Shenoy, A.G. and Ramesh, K.G. 2002. Improvement of insulin sensitivity by perindopril in spontaneously hypertensive and streptozotocin-diabetic rats. *Indian Journal of Pharmacology*, Vol. 34, pp. 156-164.
- Shimizu, M. and Morita, S. 1992. Effects of feeding and fasting and hepatobiliary distribution of glutathione and cadmium-induced hepatotoxicity. *Toxicology*, Vol. 75, pp. 97-100.
- Sies, H. 1997. Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants. *Experimental Physiology*, Vol. 82, pp. 291-295.

- Sies, H. 1999. Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radical Biology and Medicine*, Vol. 27, pp. 916-921.
- Silva, C.G., Raulino, R.J., Cerqueira, D.M., Mannarino, S.C., Pereira, M.D., Panek, A.D., Silva, J.F.M., Menezes, F.S. and Eleutherio, E.C.A. 2009. In vitro and in vivo determination of antioxidant activity and mode of action of isoquercitrin and *Hyptis fasciculata*. *Phytomedicine*, Vol. 16, pp. 761-767.
- Sivaramakrishnan, V., Shilpa, P.N.M., Kumar, V.R.P. and Devaraj, S.N. 2008. Increased LDL and especially oxidized LDL are recognized as risk factors in coronary artery disease (CAD). *Chemico Biological Interaction*, Vol. 171, pp. 79-88.
- Slater, H.R., Packard, C.J., Bicker, S. and Shepherd, J. 1980. Effects of cholestyramine on receptor mediated plasma clearance and tissue uptake of human low density lipoprotein in the rabbit. *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 255, pp. 10210-10213.
- Sorg, O. 2004. Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality?. *Comptes Rendus Biologies*, Vol. 327, pp. 649-662.
- Soyöz, M. 2002. Okratoksin A ve melatoninin ratlarda bazı serum ve karaciğer enzim düzeylerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi, 67s., Isparta.
- Sreedharan, V., Venkatachalam, K.K. and Namasivayam, N. 2009. Effect of morin on tissue lipid peroxidation and antioxidant status in 1, 2-dimethylhydrazine induced experimental colon carcinogenesis. *Investigational New Drugs*, Vol. 27, pp. 21-30.
- Su, H., Hung, L. and Chen, J. 2006. Resveratrol, a red wine antioxidant, possesses an insulin-like effect in streptozotocin-induced diabetic rats. *American Journal of Physiology Endocrinology Metabolism*, Vol. 290, pp. E1339 -E1346.
- Su, J., Zhang, P., Zhang, J.J., Qi, X.M., Wu, Y.G. and Shen, J.J. 2010. Effects of total glucosides of paeony on oxidative stress in the kidney from diabetic rats. *Phytomedicine*, Vol. 17, pp. 254-260.
- Subash, S. and Subramanian, P. 2009. Morin a flavonoid exerts antioxidant potential in chronic hyperammonemic rats: a biochemical and histopathological study. *Molecular and Cellular Biochemistry*, Vol. 327(1-2), pp. 153-161.
- Sun, Y., Oberley, L.W. and Li, Y. 1988. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, Vol. 34, pp. 497-500.
- Szkudelski, T. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological Research*, Vol. 50, pp.537-546.
- Tarpey, M.M., Wink, D.A. and Grisham, M.B. 2004. Methods for detection of reactive metabolites of oxygen and nitrogen: in vitro and in vivo considerations. *American Journal of Physiology- Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, Vol. 286, pp. R431–R444.
- Tian, W.N., Braunstein, L.D., Apse, K., Pang, K., Rose, M., Tian, X. and Stanton, R.C. 1999. Importance of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in cell death. *American Journal of Physiology*, Vol. 276 (5), pp. 1121-1131.
- Tjälve, H., Wilander, E. and Johansson, E.B. 1976. Distribution of labelled streptozotocin in mice: uptake and retention in pancreatic islets. *Journal of Endocrinology*, Vol. 69, pp. 455-456.
- Torres, M.D., Canal, J.R. and Perez, C. 1999. Oxidative stress in normal and diabetic rats. *Physiological Research*, Vol. 48, pp. 203-208.

- Toyokuni, S., Okamoto, K., Yodoi, J. and Hiai, H. 1995. Persistent oxidative stress in cancer. *FEBS Letters*, Vol. 358, pp. 1-3.
- Tu, Y., Lian, T., Yen, J., Chen, Z., and Wu, M. 2007. Antiatherogenic effects of kaempferol and rhamnocitrin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 55, pp. 9969-9999.
- Turk, J., Corbett, J.A., Ramanadham, S., Bohrer, A. and McDaniel, M.L. 1993. Biochemical evidence for nitric oxide formation from streptozotocin in isolated pancreatic islets. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol. 197, pp. 1458-1464.
- Türkmen, F., Akkuş, İ., Büyükbaş, S. ve Çıgılı, A. 1990. Diabetes Mellitus'da biyokimyasal değişiklikler ve komplikasyonlar. *Türkiye Klinikleri*, Cilt 10(1), s. 1-10.
- Unger, J. 2007. Screening, diagnosis, and management of diabetes-related complications, In: *Diabetes management in the primary care setting*. 1st Edition, Lippincott Williams & Wilkins, pp.516, Philadelphia PA.
- Ursini, F., Maiorino, M., Brigelius-Flohe, R., Aumann, K.D., Roveri, A., Schomburg, D. and Flohe, L. 1995. Diversity of glutathione peroxidases. *Methods in Enzymology*, 252, 8-53.
- Uzar, E. 2006. Metotreksat uygulanan ratların siyatik sinir ve medulla spinalisinde oksidan / antioksidanların durumu: Kafeik asit fenetil ester'in antioksidan koruyucu etkisi. Uzmanlık tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi, 55 s., Isparta.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T., Mazur, M. and Telser, J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, Vol. 39, pp. 44-84.
- Van den Berg, D.J. 1996. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radicals Biology and Medicine*, Vol. 20 (3), pp. 331-342.
- Van, L.F. 1993. Free Radicals. *Analytical Chemistry*, Vol. 65, pp. 12-15.
- Vessal, M., Hemmati, M. and Vasie, M. 2003. Antidiabetic effects of quercetin in streptozotocin-induced diabetic rats. *Comparative Biochemistry and Physiology C: Toxicology and Pharmacology*, Vol. 135, pp. 357-364.
- Vincent, A.M., Russell, J.W., Low, P. and Feldman, E.L. 2004. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocrine Reviews*, Vol. 25, pp. 612-628.
- Volpato, G.T., Calderon, I.M., Sinzato, S., Campos, K.E., Rudge, M.V. and Damasceno, D.C. 2011. Effect of *Morus nigra* aqueous extract treatment on the maternal-fetal outcome, oxidative stress status and lipid profile of streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 138, pp. 691-696.
- Wang, C., Wang, X., Zhang, X., Shi, Y., Liu, L. and Kong, L. 2010. Morin improves urate excretion and kidney function through regulation of renal organic ion transporters in hyperuricemic mice. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol. 13(3), pp. 411-427.
- Wang, Y., Deng, T., Lin, L., Pan, Y. and Zheng, X. 2006. Bioassay guided isolation of antiatherosclerotic phytochemicals from *Artocarpus altilis*. *Phytotherapy Research*, Vol. 20, pp. 1052-1055.
- Way, K.J., Katai, N. and King, G.L. 2001. Protein kinase C and the development of diabetic vascular complications. *Diabetic Medicine*, Vol. 18(12), pp. 945-959.

- Weggemans, R.M. and Trautwein, E.A. 2003. Relation between soy-associated isoflavones and LDL and HDL cholesterol concentrations in humans: a Meta analysis. *European Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 57, pp. 940-946.
- White, F.R. 1963. Streptozotocin. *Cancer Chemotherapy Reports*, Vol. 30, pp. 49-53.
- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R. and King, H. 2004. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*, Vol. 27, pp. 1047-1053.
- Wilson, G.L., Hartig, P.C., Patton, N.J. and LeDoux, S.P. 1988. Mechanisms of nitrosourea-induced beta-cell damage. Activation of poly(ADP-ribose) synthetase and cellular distribution. *Diabetes*, Vol. 37, pp. 213-216.
- Witters, L.A. 2001. The blooming of the French lilac. *The Journal of Clinical Investigation*, Vol. 108, pp. 1105-1107.
- Wu, K.K. and Huan, Y. 2007. Diabetic atherosclerosis mouse models. *Atherosclerosis*, Vol. 191, pp. 241-249.
- Xiao, J.B., Suzuki, M., Jiang, X.Y., Chen, X.Q., Yamamoto, K. and Xu, M. 2008. Influence of B-ring hydroxylation on interactions of flavonols with bovine serum albumin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 56, pp. 2350-2356.
- Xie, M.X., Long, M., Liu, Y., Qin, C. and Wang, Y.D. 2006. Characterization of the interaction between human serum albumin and morin. *Biochimica Biophysica Acta*, Vol. 1760(8), pp. 1184-1191.
- Yalçın, A.S. 1998. Antioksidanlar. *Klinik Gelişim*, Cilt 11, s. 342-46.
- Yamamoto, H., Uchigata, Y. and Okamoto, H. 1981. Streptozotocin and alloxan induce DNA strand breaks and poly(ADP-ribose) synthetase in pancreatic islets. *Nature*, Vol. 294, pp. 284-286.
- Yashino, G., Hirano, T. and Kazumi, T. 1996. Dyslipidemia in diabetes mellitus. *Acta Diabetologica*, Vol. 33, pp. 1-14.
- Yugarani, T., Tan, B.K.H., Teh, M. and Das, N.P. 1992. Effects of polyphenolic natural products on the lipid profile of rats fed high fat diet. *Lipids*, Vol. 27, pp. 181-186.
- Zamecka, E. and Porembaska, Z. 1988. Five forms of arginase in human tissues. *Biochemical Medicine and Metabolic Biology*, Vol. 39(3), pp. 258-266.
- Zhang, M., Chen, M., Zhang, H.Q., Sun, S., Xia, B. and Wu, F.H. 2009. In vivo hypoglycemic effects of phenolics from the root bark of *Morus alba*. *Fitoterapia*, Vol. 80, pp. 475-477.
- Zhang, R., Kang, K.A., Kang, S.S., Park, J.W. and Hyun, J.W. 2010. Morin (2',3,4',5,7-Pentahydroxyflavone) Protected Cells against γ -Radiation-Induced Oxidative Stress. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, Vol. 108, pp. 63-72.
- Zhang, R., Kang, K.A., Piao, M.J., Maeng, Y.H., Lee, K.H., Chang, W.Y., You, H.J., Kim, J.S., Kang, S.S. and Hyun, J.W. 2009. Cellular protection of morin against the oxidative stress induced by hydrogen peroxide. *Chemico-Biological Interactions*, Vol. 177, pp. 21-27.
- Zhang, W., Wang, Y., Yang, Z., Qiu, J., Ma, J., Zhao, Z., and Bao, T. 2011. Antioxidant treatment with quercetin ameliorates erectile dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, Vol. 112, pp. 215-218.
- Zimmerman, H.J. and Seeff, L.B. 1970. Enzymes in hepatic disease. In: *Diagnostic Enzymology*. Goodly, E.L.(ed), Lea and Febiger, Philadelphia.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyad : Ahmed K. MUHAMMED

Doğum Yeri : Salahuddin-IRAK

Doğum Tarihi : 11.08.1978

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Almekarim Lisesi (Irak) 1993-1996

Lisans : Tikrit Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Biyoloji Bölümü (Irak) 1996-2000

Yüksek Lisans: Tikrit Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Biyoloji Bölümü (Irak) 2000-2003

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

Tikrit Üniversitesi, Fen Fakültesi (Öğretim Görevlisi) 2003-2004

Tikrit Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi (Öğretim Görevlisi) 2004-2005

Tikrit Üniversitesi, Eğitim Fakültesi (Öğretim Görevlisi) 2005-2007

Yayınları:

- 1- Hassan, H.F., Rahim, S.M., **Muhammed, A.K.** 2006. Effect of some plant extracts on blood sugar level in normal and experimentally diabetic male rats. Journal of Kirkuk University, 1(1):13-23.
- 2- Al-Salihi, F.G., **Muhammed, A.K.**, Al-Juobory, T.S. 2006. Antimicrobial activity of total lipids extracted from flowers of *Anchusa strigosa* L. Tikrit Journal of Pharmaceutical Sciences, 1(2): 71-78.
- 3- **Muhammed, A.** 2006. Evaluation of antimicrobial activity of aqueous extract of *Prosopis farcta* pods. Tikrit Journal of Pharmaceutical Sciences, 2(2): 48-56.
- 4- **Muhammed, A.** Antidiabetic activity of the aqueous extract of *Anchusa strigosa* in streptozotocin (STZ) diabetic rats. 6th Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries, April 18-22, 2010, Antalya, Turkey. (Bildiri).

- 5- Özlük, A., Gül, N., **Muhammed, A.** 2011. Ultrastructural description of the corpora allata of *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae). African Journal of Biotechnology, 10(19): 3784-3789.
- 6- **Muhammed, A.** The Effect of Fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) Seeds on Thyroid Gland Function in Male Wistar Rats. Joint Turkish-FEPS Physiology Congress, September 3-7, 2011, Istanbul, Turkey. (Bildiri).
- 7- Deveoğlu, O., Çakmakçı, E., Torgan, E., **Muhammed, A.**, Fouad, A., Karadağ, R. An investigation on the pigments obtained from Thyme plant. International Conference “Medicinal and Aromatic Plants in Generating of New Values in 21st Century”. November 9-12, 2011, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina. (Bildiri).
- 8- Deveoğlu O., **Muhammed A.**, Fouad A., Torgan E., Karadağ R. 2012. Chromatographic analysis of natural pigments produced from *Datisca cannabina* L. and *Quercus infectoria* Oliv. plants and their antimicrobial activity. Journal of the Chemical Society of Pakistan, 34(6): (in press).