TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI GELENEKSEL TIBBİ BİTKİLERİN ANTİDİYABETİK ETKİNLİĞİNİN VE ETKİ MEKANİZMASININ AYDINLATILMASI

MUHAMMET EMİN ÇAM
DOKTORA TEZİ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
PROF.DR. LEVENT KABASAKAL

2017-İSTANBUL

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Muhammet Emin ÇAM

TEZ ONAYI

Kurum	: Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Programın seviyesi	: Doktora
Anabilim Dalı	: Farmakoloji Ab.D.
Tez Sahibi	: Muhammet Emin ÇAM
Tez Başlığı	: Bazı Gelenceksel Tıbbi Bitkilerin Antidiyabetik Etkinliğinin ve Etki Mekanizmasının Aydınlatılması
Sınav Yeri	: Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Ab.D. (Oda No: FAR-08)
Sınav Tarihi	: 08.06.2017

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)	**Kurumu**	**İmza**
Prof.Dr. Levent KABASAKAL	Marmara Üni. Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Ab.D.	
Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)		
Doç.Dr. Berna TERZİOĞLU	Medeniyet Üni. Tıp Fakültesi Farmakoloji Ab.D.	
Doç.Dr. Leyla BİTİŞ	Marmara Üni. Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Ab.D.	
Doç.Dr. H. Kübra ELÇİOĞLU	Marmara Üni. Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Ab.D	
Yrd.Doç.Dr. Çağlar MACİT	Medipol Üni. Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Ab.D.	

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 23/06/17 tarih ve 2000/91,22 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Göksel ŞENER
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

-Sınav evrakları 3 iş günü içinde ıslak imzalı tek kopya halinde Enstitüye teslim edilmelidir.
-Bu form bilgisayar ortamında doldurulacaktır.

I. TEŞEKKÜR

Sadece lisansüstü eğitimim süresince değil, lisans eğitimim sırasında bile her ihtiyacım olduğunda yardımıma yetişen, bana Farmakolojiyi sevdirip doktora eğitimi almam için bölüme davet eden, bu da yetmeyip çok sevdiğim üniversitem ve bölümümde akademisyen olarak kalabilmem için desteğini esirgemeyen; her olayda, durumda ve şartta ne olursa olsun bana hocalığının yanında arkadaşlık, abilik yapan; kısaca bir babanın evladı için yapabileceği ne varsa hepsini fazlasıyla gerçekleştiren kıymetli hocam ve danışmanım Sn. Prof.Dr. Levent Kabasakal'a,

Her zaman daha iyisinin yapılabileceğini ve çalışmanın sınırı olmadığını gösteren; azmiyle bölümdeki tüm öğrencilerinin örnek aldığı, gurur duyduğu, ilham aldığı; tanımaktan ve birlikte çalışmaktan her zaman mutluluk ve onur duyduğum Sn. Prof.Dr. Göksel Şener'e,

Lisansüstü dersleri sırasında bir farmakolog ve bilim insanının nasıl olması gerektiğini biz öğrencileriyle içtenlikle paylaşan ve kendimizi geliştirmemiz adına bizden desteklerini esirgemeyen Sn. Prof.Dr. Feyza Arıcıoğlu'na,

Farmakolojiyi sevmemde ve akademisyen olmamda benden desteğini esirgemeyen, çok daha iyi yerlere gelebileceğime beni inandıran, anne şefkatiyle seven Sn. Doç.Dr. H. Kübra Elçioğlu'na,

Tez çalışmam sırasında değerli zamanını ayırıp destek veren, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum Dr. Turgut Taşkın'a,

Tez çalışmalarım sırasında her an yanımda olan, bir kere bile yine mi demeyen, daha istemeden bile yardım için koşan, daha iyi çalışmalar yapabilmemiz için sürekli koşturan, eksik kaldığım yerde beni tamamlayan takım arkadaşım ve değerli dostum Ecz. S. Sıla Yıldız'a,

Beraber çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum ve hem çalışkanlığı hem de pozitif yapısıyla çalışmaların olmazsa olmazı kıymetli arkadaşım Araş.Gör. Büşra Ertaş'a,

Çalışmalarım sırasında desteklerini esirgemeyen değerli takım arkadaşlarım Ecz. A. Eda Acar, Araş.Gör. Ayşenur Hazar Yavuz, Ecz. Betül Ayaz Adakul ve Cihat Yıldız'a,

Tez dönemi boyunca dertleştiğimiz, tezlerimiz ne zaman bitecek diye kritik yaptığımız ve doktora derslerini beraber üstlendiğimiz sevgili arkadaşlarım Araş.Gör. Ceren Şahin ve Araş.Gör. Gökhan Ünal'a,

Bu yola çıkmamda beni cesaretlendiren, kendime güvenmemi, dimdik durmamı sağlayan; istendiğinde herşeyin başarılabileceğini ve insanların hayatlarını ilmek ilmek işleyerek küçük yaşlardan itibaren oluşturduğunu bana öğreten, eğitimim için gereken herşeyi önüme seren sevgili babam Süleyman Çam'a,

Eğitimimde ve hayatımda buralara gelebildeysem, bunun temel taşını oluşturan, kendi için değil bizim için yaşayan, koşturan, en iyi yerlerde olmamız ilkokul yıllarından itibaren her saniye bizimle ilgilenen, 40 yaşından sonra oğlunun öğretim üyesi olduğu üniversiteden mezun olarak azmiyle bize her zaman örnek olan canım annem Hülya Çam'a,

Beni sevmekten bir saniye olsun vazgeçmeyen; ona her sinirlendiğimde, her kızdığımda beni daha çok seven ve sevmenin ne olduğunu bana öğreten, hayatın bana verdiği en güzel hediye, fedakar eşim Ecz. Esra Çam'a,

Geliş haberiyle beni çok ama çok mutlu eden ve teşrifleriyle yaşamımı güzelleştirip anlam katacak canım kızıma,

Çalışkanlığı ve azmiyle beni her zaman ateşleyen, kendimi geliştirmemi ve daha iyi olmamı sağlayan, abilik yapmaktan gurur duyduğum kardeşim Dr. Furkan Çam'a,

Teşekkürü bir borç bilirim...

Bu tez Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından **SAG-C-DRP-250416-0173** numaralı proje ile desteklenmiştir.

II. İÇİNDEKİLER

Sayfa No

I. TEŞEKKÜR **v**
II. İÇİNDEKİLER **vii**
III. KISALTMALAR **xii**
1. ÖZET **1**
2. SUMMARY **2**
3. GİRİŞ **3**
3.1. Amaç ve Kapsam 3
4. GENEL BİLGİLER **4**
4.1. Diabetes Mellitus 4
4.1.1. Diyabetin tanısı ve sınıflandırılması 6
4.1.1.1. Tip 1 diabetes mellitus 9
4.1.1.2. Tip 2 diabetes mellitus 10
4.1.1.3. Gestasyonel diabetes mellitus 11
4.1.2. Diabetes mellitusun komplikasyonları 13
4.1.2.1. Akut komplikasyonlar 15
4.1.2.1.1. Hipoglisemi 15
4.1.2.1.2. Hiperglisemik kriz 15
4.1.2.1.2.1. Hiperglisemik hiperosmolar nonketotik sendrom (HHNS) 15
4.1.2.1.2.2. Diyabetik ketoasidoz 15
4.1.2.2. Kronik komplikasyonlar 16
4.1.2.2.1. Mikrovasküler komplikasyonlar 16
4.1.2.2.1.1. Oksidatif stres ve diyabetik retinopati 16
4.1.2.2.1.2. Oksidatif stres ve diyabetik nöropati 16
4.1.2.2.1.3. Oksidatif stres ve diyabetik nefropati 17
4.1.2.3. Diabetes mellitus ile indüklenen doku hasarının mekanizması 17
4.1.3. Diyabet için tanı kriterleri 18
4.1.3.1. Açlık ve 2 saatlik kan glukozu 20
4.1.3.2. HbA1c 21
4.1.3.3. Tanı doğrulaması 21
4.1.3.4. Prediyabet 22
4.1.3.5. Metabolik sendrom 23

4.1.4. Tedaviyi iyileştirmek için stratejiler 24
4.1.4.1. Kronik tedavi modeli 25
4.1.4.1.1. Altı ana unsur 25
4.1.4.2. Hassas popülasyonlar için tedavinin düzenlenmesi 25
4.1.4.2.1. Sağlık eşitsizlikleri 25
4.1.4.2.2. Etnik/kültürel/cinsiyet kaynaklı/sosyoekonomik/dini farklılıklar 26
4.1.4.2.3. Sağlık hizmetine erişim 26
4.1.4.2.4. Güvensiz gıda tüketimi 26
4.1.4.2.4.1. Güvensiz gıda tüketimi ve hiperglisemi 26
4.1.4.2.4.2. Güvensiz gıda tüketimi ve hipoglisemi 27
4.1.4.2.5. Kognitif disfonksiyon 27
4.1.4.2.6. Demans 27
4.1.4.2.6.1 Demans ve hiperglisemi 28
4.1.4.2.6.2. Demans ve hipoglisemi 28
4.1.4.2.7. Santral sinir sistemi (SSS) hastalıkları 28
4.1.4.2.7.1. SSS tedavisinde kullanılan ilaçlar 29
4.1.5. Diyabet hayvan modelleri 29
4.1.5.1. T1DM hayvan modelleri 30
4.1.5.1.1. Kimyasal yolla indüklenen modeller 31
4.1.5.1.1.1. Yüksek doz STZ ile model oluşturma 32
4.1.5.1.1.2. Düşük doz STZ ile model oluşturma 32
4.1.5.1.1.3. Alloksan ile model oluşturma 33
4.1.5.1.2. Spontan modeller 34
4.1.5.1.2.1. NOD fareler 34
4.1.5.1.2.2. BB sıçanlar 35
4.1.5.1.2.3. LEW.1AR1. iddm sıçanlar 35
4.1.5.1.2.4. KDP sıçanlar 35
4.1.5.1.3. Genetik manipülasyonla oluşturulan modeller 35
4.1.5.1.4. Virüslerle indüklenen modeller 36
4.1.5.2. T2DM hayvan modelleri 37
4.1.5.2.1. Obez modeller 38
4.1.5.2.2. Monogenik modeller 38
4.1.5.2.2.1. Lep $^{ob/ob}$ fareler 38
4.1.5.2.2.2. Lep$^{db/db}$ fareler 39

4.1.5.2.2.3. ZDF sıçanları 39
4.1.5.2.3. Poligenik modeller 39
4.1.5.2.3.1. Kuo kundo (KK) fareler 40
4.1.5.2.3.2. New Zealand obez (NZO) fareler 40
4.1.5.2.3.3. Otsuka long-evans tkushima şişman (OLETF) sıçan 40
4.1.5.2.3.4. Nagoya-shibata-yasuda (NSY) fareler 41
4.1.5.2.3.5. Tally/ho/jng fareler 41
4.1.5.2.4. Yüksek yağlı diyet ile indüklenen modeller 41
4.1.5.2.5. Diğer diyetlerle indüklenen modeller 42
4.1.5.2.5.1. Desert gerbil (*Psammomys obesus*) 42
4.1.5.2.5.2. Nile grass sıçanları 43
4.1.5.2.6. Non-obez modeller 43
4.1.5.2.6.1. Goto-Kakizaki sıçanlar 43
4.1.5.2.6.2. hIAPP fareler 43
4.1.5.2.7. Diğer modeller 44
4.1.6. Glukoz metabolizması 45
4.1.6.1. Glikoliz 45
4.1.6.2. Glukoneojenez 46
4.1.6. T2DM tedavisinde kullanılan ilaçlar 47
4.1.6.1. Biguanidler 48
4.1.6.2. Sülfonilüreler 49
4.1.6.3. Meglitinid türevleri 50
4.1.6.4. Alfa-glukosidaz inhibitörleri 50
4.1.6.5. Tiazolidindionlar (TZD) 50
4.1.6.6. Glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) agonistleri 52
4.1.6.7. Dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4) inhibitörleri 52
4.1.6.8. Sodyum-glukoz ko-transporter-2 (SGLT-2) inhibitörleri 53
4.1.6.9. İnsülinler 54
4.1.6.10. Amilinomimetikler 54
4.1.6.11. Safra asidi bağlayıcıları 55
4.1.6.12. Dopamin agonistleri 55
4.1.6.13. Oral antidiyabetik ajanların karşılaştırılması 56
4.2. Thymus praecox subsp. skorpilii var. skorpilii (Kekik) 57
4.3. *Salvia triloba* (Anadolu adaçayı) 58

4.4. Biyokimyasal Analiz İle Aktivitelerine Bakılacak Enzimler 59
4.4.1. Alanin transaminaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) 59
4.4.2. Kreatinin (CR) 59
4.4.3. Tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-α) 60
4.4.4. İnterlökin-1β (IL-1β) ve interlökin-6 (IL-6) 60
4.4.5. İnterlökin-10 (IL-10) 60
4.4.6. Adiponektin (ADP) 61
4.4.7. Adenozin monofosfat ile aktive olan protein kinaz (AMPK) 61
4.4.8. Dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4) 63
4.4.9. Glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) 63
4.4.10. Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) 63
4.4.11. Alfa-glukosidaz 65
4.4.12. Glukojen sentaz (GS) 65
4.4.13. Glukoz transporter proteinleri (GLUT) 65
4.4.14. Hekzokinaz (HK) 68
4.4.15. Fosfoenolpirüvat karboksikinaz (PEPCK) 68
4.4.16. Peroksizom proliferatör-aktive reseptör gama (PPARγ) 69
4.4.17. Sodyum bağımlı glukoz transporter-1 (SGLT-1) ve Sodyum bağımlı glukoz transporter-2 (SGLT-2) 69
5. GEREÇ VE YÖNTEM **71**
5.1. Bitki Materyali 71
5.2. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması 71
5.3. Deney Hayvanları 71
5.3.1. Streptozotosin ve nikotinamid ile T2DM oluşturulması 72
5.3.2. Deney grupları 72
5.4. Bitki Ekstreleri İçin Doz Belirleme Çalışması 73
5.5. İnsülin Duyarlılığının Belirlenmesi 74
5.6. Oral Glukoz Tolerans Testi 74
5.7. Biyokimyasal Analiz 74
5.7.1. Serumda ve dokuda ELISA analizi yapılışı 74
5.7.1.1. İlk basamak: standart solüsyonların ve reaktiflerin hazırlanması 75
5.7.1.2. İkinci basamak: örneklerin hazırlanması 76
5.7.1.3. Üçüncü basamak: örnek, antikor ve streptavidin konulması 77
5.7.1.4. Dördüncü basamak: yıkama 77

5.7.1.5. Beşinci basamak: kromojenlerin (renklendirici) eklenmesi 77
5.7.1.6. Altıncı basamak: durdurma solüsyonu eklenmesi 77
5.7.1.7. Yedinci basamak: ölçüm 79
5.8. Kullanılan Kimyasallar 79
5.9. Kullanılan Cihazlar 79
5.10. İstatistik Analizler 80
6. BULGULAR **81**
6.1. Normal Sıçanlarda Bitki Ekstrelerinin Hipoglisemik Etkilerinin Değerlendirilmesi 81
6.2. TPSE ve STE'nin Vücut Ağırlığına Etkileri 82
6.3. TPSE ve STE'nin Kan Glukoz Seviyeleri Üzerine Etkisi 82
6.4. TPSE ve STE'nin OGTT'ye Olan Etkileri 83
6.5. TPSE ve STE'nin İnsülin Duyarlılığı Üzerine Etkisi 84
6.6. Serum ALT, AST, Kreatinin Seviyeleri Üzerine Etkisi 85
6.6. Serum TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-10 Seviyeleri Üzerine Etkisi 87
6.7. Serum ADP Seviyeleri Üzerine Etkisi 89
6.8. İnsülin Seviyeleri Üzerine Etkisi 90
6.9. ACACA Seviyeleri Üzerine Etkisi 91
6.10. AMPK Seviyeleri Üzerine Etkisi 92
6.11. DPP-4 Seviyeleri Üzerine Etkisi 92
6.12. GLP-1 Seviyeleri Üzerine Etkisi 93
6.12. G6PD Seviyeleri Üzerine Etkisi 94
6.13. Alfa-glukosidaz Seviyeleri Üzerine Etkisi 95
6.14. GS-1 Seviyeleri Üzerine Etkisi 96
6.15. GLUT-2 Seviyeleri Üzerine Etkisi 97
6.16. GLUT-4 Seviyeleri Üzerine Etkisi 98
6.17. HK Seviyeleri Üzerine Etkisi 99
6.18. PEPCK Seviyeleri Üzerine Etkisi 100
6.19. PPARγ Seviyeleri Üzerine Etkisi 101
6.20. SGLT-1 Seviyeleri Üzerine Etkisi 101
6.21. SGLT-2 Seviyeleri Üzerine Etkisi 102
7. TARTIŞMA VE SONUÇ **104**
8. KAYNAKLAR **123**

Ek 1. Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu Karar Formu

III. KISALTMALAR

2.sa KG: 2. saat kan glukozu

6PGD: 6-fosfoglukonat dehidrojenaz

ACACA: Asetil-CoA karboksilaz alfa

ACC: Asetil CoA karboksilaz

ADP: Adenozin difosfat

ADP: Adiponektin

AGEs: İleri glikasyon son ürünleri

AHRQ: Sağlık Araştırmaları ve Kalite Ajansı

AICAR: 5-aminoimidazol-4-karboksamid ribozid

AKG: Açlık kan glukozu

ALT: Alanin transaminaz

AMP: Adenozin monofosfat

AMPK: Adenozin Monofosfat İle Aktive Olan Protein Kinaz

ANOVA: Varyans analizi

ANRCC: Amerikan Ulusal Araştırma Konseyi Komitesi

AST: Aspartat aminotransferaz

ATP: Adenozin trifosfat

BAG: Bozulmuş açlık glukozu

BB: Biobreeding sıçan

BGT: Bozulmuş glukoz toleransı

BLM: Bazolateral membran

bw: Vücut ağırlığı

CaMKKβ: Kalsiyum-bağımlı kalsiyum/kalmodulin-bağımlı protein kinaz kinaz β

CANOE: Kanada Normoglisemi Sonuç ve Değerlendirme

Cb1b: Casitas B-lineage lenfoma

CBS: Sistatyonin-beta-sentaz

ChREBP: Karbonhidrat yanıt elementini bağlayan protein

CPT1: Karnitin palmitoiltransferaz 1

CR: Kreatinin

CRE: cAMP-cevap elementi

CREB: CRE-bağlayıcı protein

CRP: C-reaktif protein

CRTC2: CREB-düzenleyici transkripsiyon koaktivatör 2

DCCT: Diyabet Kontrol ve Komplikasyonları Çalışması

DK: Diyabetik ketoasidoz

DM: Diabetes mellitus

DPP-4: Dipeptidil peptidaz-4

DREAM: Ramipril ve Rosiglitazon İlaçları ile Diyabetin Azaltılmasının Değerlendirmesi

ER: Endoplazmik retikulum

FAS: Yağ asidi sentaz

FDA: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi

FFA: Serbest yağ asidi

FOXO1: Fork-head box O1

G6P: Glukoz-6-fosfataz

G6PD: Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz

GAPs: GTPaz-aktive edici proteinler

GDM: Gestasyonel diabetes mellitus

GIP: Glukoz bağımlı insulinotropik peptid

GIP: Glukoz bağımlı insülinotropik polipeptit

GLP-1: Glukagon benzeri peptid-1

GLUT: Glukoz transporter proteini

GPAT: Gliserol-3-fosfat açiltransferaz

GR: Glutatyon redüktaz

GS: Glukojen sentaz

GSK-3β: Glukojen sentaz kinaz 3β

GST: Glutatyon-S-transferaz

GTP: Guanozin trifosfat

HbA1c: Glukozillenmiş hemoglobin

HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein

HHNK: Hiperglisemik hiperosmolar nonketotik sendrom

HK: Hekzokinaz

HLA: Doku uyumu

HMGCoA: Hidroksimetilglutaril CoA

HMGR: HMG-CoA redüktaz

HMIT: H^+/miyo-inositol simportu

HNF: Hepatosit nükleer faktör

HRP: Horseradish peroksidaz

HSL: Hormon duyarlı lipaz

IDF: Uluslararası Diyabet Federasyonu

IL-10: İnterlökin-10

IL-1β: İnterlökin-1β

IL-6: İnterlökin-6

IPF-1: İnsülin promotör faktör-1

IR: İnsülin direnci

IRS: İnsülin reseptör substrat

ITT: Insulin tolerance test

JNK: c-Jun NH_2-terminal kinaz

KB: Kan basıncı

KDP: Komeda diabetes prone sıçan

KG: Kan glukozu

KGD: Kan glukoz düzeyi

KK: Kuo Kondo fare

KTM: Kronik tedavi modeli

KVH: Kardiyovasküler hastalıklar

LCMV: Lymphocytic choriomeningitis virüs

LDL: Düşük dansiteli lipoprotein

LKB1: Tümör-baskılayıcı karaciğer kinaz B1

MCD: Malonil-CoA dekarboksilaz

MFS: Major kolaylaştırıcı süper ailesi

MHC: Temel doku uygunluk bileşeni

MODY: Gençlerde görülen erişkin tipi diyabet

mTOR: Rapamisinin memeli hedefi

NA: Nikotinamid

NAD^+: Mitokondriyal β-nikotinamid adenin dinükleotid

NF-κB: Nükleer faktör-κB

NGSP: Ulusal Glikohemoglobin Standardizasyon Programı

NK: Doğal öldürücü

NO: Nitrik oksid

NOD: Non-obez diyabetik fare

NSY: Nagoya-Shibata-Yasuda fare

NZO: New Zealand obez fare

OAD: Oral antidiyabetikler

OGTT: Oral glukoz tolerans testi

OLETF: Otsuka Long-Evans Tokushima şişman sıçan

PARP: PoliADP-riboz polimeraz

PAS: Fosfo-Akt substrat

PEPCK: Fosfoenolpirüvat karboksikinaz

PFK2: 6-fosfofrukto-2-kinaz

PGC-1α: Peroksizom proliferator-aktive reseptör γ koaktivatör-1-α

PKA: Protein kinaz A

PP: Protein fosfataz

PPAR: Peroksizom proliferatör-aktive reseptör

ROS: Reaktif oksijen türevleri

S: Standart

SD: Sprague-Dawley

SEM: Ortalamanın standart hatası

SGLT: Sodyum bağımlı glukoz transporter

SIRT1: Sirtuin 1

SOD: Süperoksit dismutaz

SPF: Spesifik patojen free

SREBP1: Sterol düzenleyici element-bağlayıcı protein-1 (SREBP1)

SSS: Santral Sinir Sistemi

ST: *Salvia triloba*

STE: *Salvia triloba* metanol ekstresi

STZ: Streptozotosin

T1DM: Tip I diabetes mellitus

T2DM: Tip II diabetes mellitus

TAK1: Dönüştürücü büyüme faktör-β aktive protein kinaz-1

TBC1D1: TBC1 domain aile üye 1

TG: Trigliserid

TNF-α: Tümör nekroz faktörü-alfa

TPS: *Thymus praecox* subsp. *skorpilii* var. *skorpilii*

TPSE: *Thymus praecox* subsp. *skorpilii* var. *skorpilii* metanol ekstresi

TSC2: Tuberoskleroz kompleks proteini-2

TZD: Tiozolidindionlar

UKPDS: İngiltere Geleceğe Yönelik Diyabet Çalışması

WAT: Beyaz adipoz doku

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

YDL-K: Yüksek dansiteli lipoprotein-kolesterol

ZDF: Zucker diyabetik yağlı sıçan

Bazı Geleneksel Tıbbi Bitkilerin Antidiyabetik Etkinliğinin ve Etki Mekanizmasının Aydınlatılması

Öğrencinin Adı: Muhammet Emin ÇAM

Danışmanı: Prof.Dr. Levent Kabasakal

Anabilim Dalı: Farmakoloji ABD.

1. ÖZET

Amaç: Diabetes mellitus hiperglisemi ile karakterize metabolik bir hastalıktır. Çok sayıda tıbbi bitkiden izole edilen bileşiklerin Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM) tedavisinde potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı, *Thymus praecox* subsp. *skorpilii* var. *skorpilii* ve *Salvia triloba* bitki ekstrelerinin (TPSE ve STE) olası antidiyabetik etkileri sayesinde T2DM'nin tıbbi tedavisini desteklemek, mevcut tedavide kullanılan oral antidiyabetik dozunun azaltılmasını sağlamak ve bu ilaçların olası yan etkilerini önlemektir.

Gereç ve Yöntem: Dişi sıçanlarda T2DM, ilk olarak tek doz NA (100 mg/kg, i.p.) enjeksiyonu, 15 dakika sonrasında ise tek doz STZ (55 mg/kg, i.p.) enjeksiyonu yapılarak indüklendi. Kan glukoz değeri 200-400 mg/dl arasındaki sıçanlar T2DM kabul edildi. Yapılan OGTT, ITT, kan glukozu ölçümleriyle antidiyabetik etkinlikleri incelendi. Detaylı etki mekanizmasını aydınlatmak için diyabet gelişimi ile ilgili olduğu düşünülen enzimlerin miktarına ELISA testi yardımıyla bakıldı.

Bulgular: Kan glukoz düzeylerini ciddi şekilde düşüren TPSE ve STE'nin OGTT ve ITT sonucunda güçlü antidiyabetik etkinlikleri olduğu gösterildi. Yapılan ELISA testleri sonucunda STE'nin serumda insülini artırdığı, TNF-α, IL-1β ve IL-6 miktarını önemli ölçüde düşürdüğü; dokularda ise AMPK, GLP-1 miktarını yükselttiği ve PEPCK, GLUT-2 miktarını azalttığı gösterildi. TPSE'nin ise serumda insülini artırdığı, TNF-α, IL-1β, IL-6, ALT ve kreatinin miktarlarını düşürdüğü; dokularda ise AMPK, GLP-1, PPARγ miktarını artırdığı, PEPCK, GLUT-2, α-glukosidaz, SGLT-1 ve SGLT-2 miktarlarını azalttığı gösterildi.

Sonuçlar: TPSE, metformin ile kıyaslandığında güçlü bir antidiyabetik etki gösterdi ve STE'nin etkisi de TPSE yakındı.

Anahtar Sözcükler: Tip II diabetes mellitus, *Salvia triloba*, *Thymus praecox* subsp. *skorpilii* var. *skorpilii*, AMP-aktive protein kinaz (AMPK), Glukoz transporter proteini (GLUT)

Determination of the Antidiabetic Effect and Mechanism of Some Traditional Medicinal Plants

Student's Name: Muhammet Emin ÇAM

Supervisor: Prof.Dr. Levent KABASAKAL

Department: Pharmacology

2. SUMMARY

Aim: Diabetes mellitus is a metabolic disorder characterized by hyperglycemia. It has been shown that many compounds isolated from diverse medical plants have potential in the treatment of Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM). The aims of this study are to support the medical therapy of T2DM owing to the possible antidiabetic effects of *Thymus praecox* subsp. *skorpilii* var. *skorpilii* and *Salvia triloba* extracts (TPSE and STE), to procure the antidiabetic dosage reducement in current therapies and to prevent side effects of those as well.

Material and Methods: T2DM was induced with a single dosage STZ (55 mg/kg, i.p.) following 15 minutes after a single dosage NA (100 mg/kg, i.p.) in female rats. Rats whose blood glucose levels are between 200 and 400 mg/dl were accepted as T2DM. OGTT, ITT and blood glucose measurements were used. To enlighten the mechanisms of action in details, many enzymes, which are considered as involving in the development of T2DM were investigated via ELISA test.

Results: TPSE and STE decreased blood glucose levels and exhibited an antidiabetic activity according to the results of OGTT and ITT. ELISA showed that in serum; STE increased the level of insulin while decreased the levels of TNF-α, IL-1β and IL-6 prominently. When it comes to tissues; STE increased the levels of AMPK and GLP-1 whereas decreased those of PEPCK, GLUT-2. TPSE in serum; provided an elevation in insulin and a drop in the levels of ALT, creatinine, TNF-α, IL-1β, IL-6. In addition TPSE in tissues increased amounts of AMPK, GLP-1, PPAR-γ while it decreased PEPCK, GLUT-2, α-glucosidase, SGLT-1, SGLT-2 levels.

Conclusion: TPSE achieved a strong antidiabetic effect comparing with metformin and the efficacies of STE and TPSE were close.

Key words: Type II diabetes mellitus, *Salvia triloba*, *Thymus praecox* subsp. *skorpilii* var. *skorpilii*, AMP-activated protein kinase (AMPK), Glucose transporter (GLUT)

3. GİRİŞ

3.1. Amaç ve Kapsam

Diabetes mellitus (DM) insülin direnci, bozulmuş insülin sekresyonu veya her ikisinin birlikte görülmesi sonucu gelişen hiperglisemi ile karakterize metabolik bir hastalıktır. Diyabet glisemik kontrol dışında multifaktoriyel risk azaltma stratejileri ile birlikte sürekli tıbbi bakım gerektiren kronik, kompleks bir hastalıktır (American Diabetes, 2016). Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) verilerine göre, diyabet ölüm nedenleri arasında 8. sırada yer almaktadır. 2013'de dünya genelinde 382 milyon diyabet hastası (Türkiye'de yaklaşık 7 milyon kişi) yaşamakta olup, 316 milyondan fazla insan bozulmuş glukoz toleransı nedeniyle risk altındadır (American Diabetes, 2012). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2014 yılında 422 milyon insanın diyabet hastası olduğunu bildirmiştir. Yetişkinler arasında (> 18 yaş) diyabetin global prevalansı % 8.5'tir. WHO, 2030 yılında DM'nin başlıca 7. ölüm nedeni olacağını ön görmektedir. Diğer yandan IDF, diyabetli insan sayısının 2035 yılında 592 milyona yükseleceğini tahmin etmektedir.

Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM), diyabetin en yaygın tipi olup diyabetli hastaların %90'ınını oluşturmaktadır. Belirtiler Tip 1 Diabetes Mellitus (T1DM)'ye benzer olabilir, ancak genel olarak insanlar hastalığın farkında değildir. Bu nedenle, hastalık başlangıcından yıllar sonra teşhis edilebilir. T1DM'nin aksine, T2DM'li insanların bir çoğu yaşamları boyunca insülin kullanmak zorunda değildirler; bu tip hastalar fiziksel olarak aktif olmalı, vücut ağırlığını korumalı ve sağlıklı beslenmelidir (Temneanu ve ark., 2016).

Bu çalışmanın amacı, T2DM'nin tıbbi tedavisini desteklemek ve bitkisel ekstre kullanımı ile tedavide kullanılan oral antidiyabetik dozunun azaltılmasını sağlamak ve bu ilaçların olası yan etkilerini önlemektir. Ayrıca, bu çalışmada bitkilerin antidiyabetik etki mekanizmaları ortaya konacaktır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Diabetes Mellitus

Diyabet; insülin salgılanması eksikliği, insülin direnci veya her ikisinin bozukluğundan kaynaklanan hiperglisemi ile karakterize metabolik hastalıkların bir grubu olup glisemik kontrol dışında multifaktöriyel risk azaltma stratejileri ile birlikte sürekli medikal bakım gerektiren kronik, kompleks bir hastalıktır (American Diabetes, 2016).

Diabetes mellitus (DM) dünyanın bir çok yerinde görülen yaygın bir hastalıktır. Dünya çapında 415 milyon diyabet hastası bulunmaktadır ve bu rakamın 2040 yılı itibariyle yaklaşık %55'lik bir artışla 642 milyona yükselebileceği öngörülmektedir. Yani 2015 yılında 11 kişiden 1'i diyabet hastasıyken bu oran 2040 yılında 10 kişiden 1'e yükselecektir (Tablo 1). WHO'nun 2014 yılında yaptığı bir araştırmaya göre tüm dünyada ölüm nedenleri arasında diyabet 8. sırada yer almaktadır. Diyabet 2015 yılında 5 milyon hastanın ölümüne neden olurken; her altı saniyede bir insan diyabet nedeniyle hayatını kaybetmektedir. T1DM'li çocukların sayısı 2015 itibariyle ilk kez yarım milyonu geçmiştir (Federation, 2015).

Tablo 1. 2015 ve 2040 yıllarında diyabet hastalığı ile ilgili tahmini sayılar

Karşılaştırma Parametreleri	2015	2040
Dünyada diyabetli hasta sayısı	415 milyon	642 milyon
Prevelansı	11 kişiden 1'i	10 kişiden 1'i
Diyabetli erkek sayısı	215,2 milyon	328,4 milyon
Diyabetli bayan sayısı	199,5 milyon	313,3 milyon
Kentsel bölgelerdeki diyabetli insan sayısı	269,7 milyon	477,9 milyon
Kırsal bölgelerdeki diyabetli insan sayısı	145,1 milyon	163,9 milyon

Kronik hiperglisemi özellikle göz, böbrek, kalp gibi organların ve sinir, kan

damarları gibi yapıların uzun süreli hasarı, disfonksiyonu ve yetmezliğiyle ilişkilidir. Hastanın sürekli eğitimi ve desteklenmesi akut komplikasyonların önlenmesinde ve uzun dönem komplikasyon riskinin azaltılmasında kritik öneme sahiptir.

Birçok patolojik süreç diyabetin gelişiminde rol oynar. Bu patolojik süreç mutlak insülin eksikliğine bağlı pankreas β hücrelerinde otoimmün destrüksiyondan insülin direnciyle sonuçlanan anormalliklere kadar değişen aralıkta gerçekleşir. Diyabette protein, yağ ve karbonhidrat metabolizmasındaki anormalliklerin temelinde insülinin hedef dokularda yetersiz etkinliği gösterilmiştir. Yetersiz insülin etkinliği, hormon faaliyetinin kompleks yolaklarında meydana gelen yetersiz insülin salınımı ve/veya insüline karşı azalmış doku cevabından kaynaklanır. İnsülin salınımındaki bozukluk ve insülin etkinliğindeki defektler sıklıkla aynı hastada beraber görülür ve eğer hastada bunlardan biri tek başına dahi görülse hangi anormalliğin hipergliseminin birincil nedeni olduğu çoğu zaman belirsizdir.

Hipergliseminin belirgin semptomları arasında poliüri, polidipsi, kilo kaybı; bazı zamanlarda polifaji ve bulanık görme sayılabilir. Büyümede bozukluk ve belirli enfeksiyonlara karşı hassasiyet de kronik hiperglisemiye eşlik edebilir. Diyabetik ketoasidoz (DK) ve hiperglisemik hiperosmolar nonketotik sendrom (HHNK) kontrol edilemeyen diyabetin akut ve hayatı tehdit edici semptomlarıdır.

Diyabetin uzun süreli komplikasyonları; olası görme kaybına neden olan retinopati, böbrek yetmezliğine yol açan nefropati, ayak ülseri, ampütasyon ve Charcot eklemi riski bulunan periferal nöropati ile gastrointestinal, genitoüriner ve kardiyovasküler semptomlar ve cinsel işlev bozukluğuna neden olan otonom nöropatisidir. Diyabetli hastalarda aterosklerotik kardiyovasküler, periferik arteriyel ve serebrovasküler hastalık insidansı artmaktadır. Hipertansiyon ve lipoprotein metabolizmasındaki bozukluklar genellikle diyabetik hastalarda görülmektedir.

Diyabet vakalarının büyük çoğunluğu iki ana etyopatogenik kategoriye girmektedir. Bir kategoride sebebi mutlak insülin eksikliği olan T1DM bulunur. T1DM gelişme riski artmış bireyler, genetik işaretleyicilerle ve pankreas adacık hücrelerinde meydana gelen otoimmün patolojik bir sürecin serolojik kanıtıyla sıklıkla tespit edilebilir. Diğer kategoride çok daha yaygın görülen T2DM bulunurken, sebebi yetersiz dengeleyici insülin salınım cevabı ve insülin etkisine direncin kombinasyonudur. T2DM'de hiperglisemin derecesi çeşitli hedef dokularda

patolojik ve fonksiyonel değişiklere neden olacak kadar yeterlidir. Fakat bu diyabet tipi saptanmadan önce klinik bulgular olmaksızın da uzun süre mevcut olabilir. Bu asemptomatik süreçte, açlık kan glukozu ölçümü veya oral glukoz tolerans testiyle karbonhidrat metabolizmasındaki anormallikler gösterilebilir.

Hipergliseminin derecesi altta yatan hastalık sürecinin boyutuna bağlı olarak zamanla değişebilir. Bir hastalık süreci mevcut olabilir ancak hiperglisemiye neden olacak kadar ilerlememiş olabilir. Aynı hastalık süreci diyabet tanı kriterlerine uygun olmadan bozulmuş açlık glukozuna (BAG) ve/veya bozulmuş glukoz toleransına (BGT) neden olabilir. Diyabetli bazı bireylerde, kilo kaybı, egzersiz ve/veya oral glukoz düşürücü ajanlarla yeterli glisemik kontrol sağlanabilmektedir. Bu nedenle bu bireyler insüline gerek duymazlar. Kalıntı (rezidüel) insülin sekresyonuna sahip fakat yeterli glisemik kontrol için eksojen insüline ihtiyaç duyan bazı bireyler insülin olmadan da hayatta kalabilirler. Büyük ölçüde β hücresi harabiyeti olan ve dolayısıyla rezidüel insülin sekresyonuna sahip olmayan bireyler hayatta kalabilmek için insüline ihtiyaç duymaktadır. Metabolik anormalliklerin şiddeti artabilir, azabilir veya aynı kalabilir. Bu nedenle hiperglisemininderecesini sürecin kendi doğasından çok altta yatan metabolik sürecin ciddiyeti ve tedavisi yansıtır.

4.1.1. Diyabetin tanısı ve sınıflandırılması

Diyabet 4 klinik kategoride sınıflandırılabilir (American Diabetes, 2014):

1. Tip 1 Diabetes Mellitus (β hücre yıkımına bağlı mutlak insülin eksikliğine yol açar)
    A.İmmun nedenli
    B. İdiyopatik
2. Tip 2 Diabetes Mellitus (İnsülin direnci ile beraber insülin direncinin arka planında ilerleyici bir insülin salgılama defektine bağlı olarak gelişir)
3. Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM) (Açıkça belirli bir diyabet değildir, gebeliğin ikinci veya üçüncü trimesterında tanısı konulur)
4. Diğer nedenlere bağlı belirli diyabet tipleri
    A. β hücre fonksiyonun genetik defekti
        1. Kromozom 12, HNF-1α (MODY3)
        2. Kromozom 7, glukokinaz (MODY2)

3. Kromozom 20, HNF-4α (MODY1)
4. Kromozom 13, insülin promotör faktör-1 (IPF-1; MODY4)
5. Kromozom 17, HNF-1β (MODY5)
6. Kromozom 2, nöroD1 (MODY6)
7. Mitokondriyal DNA
8. Diğerleri

B. İnsülin etkisinde genetik defektler

1. Tip A insülin direnci
2. Leprekonizm
3. Rabson-Mendenhall sendromu
4. Lipoatrofik diyabet
5. Diğerleri

C. Ekzokrin pankreas hastalıkları

1.Pankreatit
2. Travma/Pankreatektomi
3. Neoplazi
4. Kistik fibrozis
5. Hemokromatoz
6. Fibrocalculous pankreatopati
7. Diğerleri

D. Endokrinopati

1. Akromegali
2. Cushing sendromu
3. Glukagonoma
4. Feokromasitoma
5. Hipertiroidi
6. Somatostatinom
7. Aldosteronoma
8. Diğerleri

E. İlaç veya kimyasal kaynaklı

1. Vacor
2. Pentamidin

3. Nikotinik asit
4. Glukokortikoidler
5. Tiroid hormonu
6. Diazoksit
7. β-adrenerjik agonistler
8. Tiyazidler
9. Dilantin
10. α-İnterferon
11. Diğerleri

F. Enfeksiyonlar
1. Konjenital rubella
2. Sitomegalo virüs
3. Diğerleri

G. İmmün aracılı diyabetin yaygın olmayan tipleri
1. "Stiff-man" Sendromu
2. Anti-insülin reseptör antikorları
3. Diğerleri

H. Diyabetle ilişkili olabilen diğer genetik sendromlar
1. Down sendromu
2. Klinefelter sendromu
3. Turner sendromu
4. Wolfram sendromu
5. Friedreich ataksisi
6. Huntington koresi
7. Laurence-Moon-Biedl sendromu
8. Miyotonik distrofi
9. Porfiri
10. Prader-Willi sendromu
11. Diğerleri

T1DM ve T2DM heterojen hastalıklardır ve klinik tablo ve hastalığın progresyonu önemli ölçüde farklılık gösterebilir. Sınıflandırma tedavinin belirlenmesi için önemlidir fakat bazı bireylerin T1DM mi yoksa T2DM mi oldukları tanı sırasında

açıkça sınıflandırılamaz. T2DM sadece yetişinkinlerde ortaya çıkar ya da T1DM sadece çocuklarda ortaya çıkar gibi geleneksel paradigmalar artık doğru değildir. Her iki hastalık her iki grupta da ortaya çıkabilir. Bazen, T2DM'li hastalarda DK meydana gelebilir. T1DM'li çocuklarda tipik olarak poliüri/polidipsi ve yaklaşık üçte birinde DK gibi ayrıcı semptomlar görülmektedir (Dabelea ve ark., 2014). T1DM'nin başlangıcı yetişkinlerde daha değişken olabilir ve bu semptomlar içerisinde çocuklarda görülen klasik semptomlar mevcut olmayabilir. Tüm yaş gruplarında başlangıçta diyabet tipini ayırt etmekte zorluklar yaşansada gerçek tanı zamanla daha da belirginleşmektedir.

4.1.1.1. Tip 1 diabetes mellitus

T1DM, vücudun savunma sisteminin pankreasta insülin üreten β hücrelerine saldırdığı bir otoimmün reaksiyona bağlı olarak oluşur. Bunun nedeni tam olarak anlaşılamamıştır. Sonuç olarak vücut artık ihtiyaç duyduğu insülini üretemez. Hastalık her yaştaki insanı etkileyebilir fakat genellikle çocukluk veya genç yetişkinlikte başlar. Bu hastalar kandaki glukoz düzeylerini kontrol altında tutabilmek için hergün insülinin dışarıdan verilmesine ihtiyaç duyarlar. İnsülin T1DM hastaları için hayati öneme sahiptir.

Tip 1 diyabet genellikle aniden ortaya çıkar ve aşağıdaki gibi belirtiler oluşturabilir:

- Anormal susuzluk ve ağız kuruluğu
- Sık idrara çıkma
- Enerji eksikliği ve aşırı yorgunluk
- Sürekli açlık
- Ani kilo kaybı
- Bulanık görme

T1DM bu semptomların varlığında yükselmiş kan glukoz seviyesi ile teşhis edilir. T1DM'nin daha az görüldüğü dünyanın bazı yerlerinde semptomlar diğer hastalıklarla karıştırılabilir ve bu nedenle semptomlardan bir veya daha fazlası olduğunda kan glukozu ölçülmesi önemlidir. Bazen diyabetin tipi net değildir ve T1DM, T2DM veya daha nadir diyabet şekilleri arasında ayrım yapmak için ek testler gereklidir (Largay, 2012). Günlük insülin tedavisi, düzenli kan glukozu

izlenmesi ve sağlıklı bir diyet ve yaşam biçimi korunarak, T1DM'liler normal, sağlıklı bir yaşam sürdürebilir.

T1DM gelişen insanların sayısı giderek artmaktadır. Bu artışın nedenleri halen belirsizdir, ancak çevresel risk faktörlerinin değişimi ve/veya viral enfeksiyonlara bağlı olarak artabilir.

4.1.1.2. Tip 2 diabetes mellitus

T2DM, diyabetin en yaygın türüdür. Genellikle yetişkinlerde görülür, ancak çocuklar ve ergenlerde görülme sıklığı giderek artmaktadır. T2DM'de vücut insülin üretebilir ancak insüline direnç gelişmesiyle insülin etkisiz hale gelir. Sonrasında zamanla insülin seviyesi de yetersiz hale gelir. Sonuç olarak insülin direnci ve eksikliği yüksek kan glukoz seviyelerine neden olur.

T2DM semptomları:

- Sık idrara çıkma
- Aşırı susuzluk
- Kilo kaybı
- Bulanık görme

T2DM hastalarının birçoğu uzun bir süre bu semptomların farkında değildir çünkü semptomlar genellikle T1DM hastalarında daha az belirgindir ve farkedilmesi yıllar alabilir. Bu süre zarfında vücut aşırı kan glukoz düzeyi yüzünden zaten hasar görmektedir. Sonuç olarak, birçok kişi T2DM teşhisi konduğunda zaten uzun zamandır komplikasyon bulgularını yaşamaktadır.

T2DM gelişiminin tam nedeni hala bilinmemekle birlikte, gelişiminde birkaç önemli risk faktörü vardır. En önemlileri aşırı kilo, fiziksel hareketsizlik ve yetersiz beslenmedir. Etkileyen diğer faktörler ise etnik köken, ailede diyabet öyküsü, geçmiş gestasyonel diyabet öyküsü ve ilerleyen yaştır.

T1DM hastalarının aksine T2DM hastalarının çoğu hayatta kalabilmek için günlük insülin tedavisine ihtiyaç duymazlar. T2DM tedavisinin temel taşı, sağlıklı bir diyetin uygulanması, fiziksel aktivitenin artırılması ve normal vücut ağırlığının korunmasıdır. Kan glukoz seviyelerini kontrol etmeye yardımcı olabilecek oral yolla alınan bir takım ilaçlar mecvuttur.

T2DM hastlarının sayısı dünya çapında hızla artmaktadır. Bu artış yaşlanan nüfus,

ekonomik kalkınma, artan kentleşme, daha sağlıksız diyetler ve azalan fiziksel aktivite ile ilişkilendirilmektedir (editor, 1994).

4.1.1.3. Gestasyonel diabetes mellitus

Gebelik sırasında herhangi bir anda ilk kez tespit edilen hiperglisemi gestasyonel diabetes mellitus (GDM) veya gebelikte diabetes mellitus diye sınıflandırılır (Nations, 2013). Kan glukoz düzeyleri hafif yükselmiş kadınlar gestasyonel diyabet olarak sınıflandırılırken, kan glukoz düzeyleri önemli ölçüde yükselmiş kadınlar gebelikte diabetes mellitus olarak sınıflandırılırlar. Gestasyonel diyabet daha çok gebeliğin 24. haftasından itibaren görülme eğilimindedir.

Hamilelik sırasında aşırı susama ve sık idrara çıkma gibi hipergliseminin sık görülen semptomları nadir olarak gözlenmektedir ve normal hamilelik semptomlarından ayırt edilmesi zordur. Bu nedenle oral glukoz tolerans testi (OGTT) ile tarama yapılması önerilmektedir. Bu test yüksek risk altındaki kadınlar için gebeliğin erken dönemlerinde ve diğer tüm kadınlarda ise gebeliğin 24. ve 28. haftaları arasında yapılmalıdır (Report, 2012).

Gebelik sırasında hiperglisemin tespit edildiği kadınlar gebeliğin istenmeyen sonuçları açısından daha büyük risk altındadır. Bu sonuçlara yüksek kan basıncı ve fetal makrozomi de dahildir ve bu durumlar normal doğumu zor ve riskli bir hale getirebilir. Gebelik sırasında kan glukozunun sıkı kontrolü bu riskleri azaltabilir. Hamilelik sırasında hiperglisemisi olan kadınlar, sağlıklı bir diyet, hafif egzersiz ve kan glukozu izlenmesi ile kan glukoz seviyelerini kontrol edebilir. Bazı durumlarda, insülin veya oral yolla alınan ilaçlar da reçete edilebilir.

Gestasyonel diyabet normalde doğumdan sonra kaybolur. Bununla birlikte, daha önce GDM tanısı konmuş olan kadınlar daha sonraki gebeliklerinde GDM gelişimi riski altındadır ve yaşamlarının ilerleyen safhalarında tip 2 diyabet de gelişebilir. Ayrıca GDM'li annelerden dünyaya gelen bebeklerde gençlik veya yetişkinliklerinin erken dönemlerinde T2DM gelişme riski daha yüksektir (Fetita ve ark., 2006).

Tablo 2. Diyabet tipleri arasındaki farklar

T1DM	T2DM	GDM
Gençlikle başlar (5-15)	Yetişkinlerde (40-45) başlar	3. trimesterde başlar
Obezite yok	Genellikle obezite var	Genellikle obezite var
Keton oluşur	Keton cisimciği yok veya az oluşur	Nadiren keton cisimciği oluşur
İnsülin salgılanması yok	İnsülin rezistansı var ve insülin salgılanması az	İnsülin salgılanıyor
Genetik yatkınlık düşük	Genetik yatkınlık güçlü	Genetik yatkınlık orta
İnsülin tedavisi, diyet, egzersiz	Diyet, egzersiz, oral antidiyabetikler, insülin	İnsülin tedavisi; Orta etkili, kısa etkili, lispro, aspart ve detemir kullanılabilir.

Tablo 3. Hamilelikte hipergliseminin WHO tarafından sınıflandırılması

Aşağıdaki kriterlerden bir ya da daha fazlasının hamileliğin herhangi bir zamanında bulunduğu durumlarda gestasyonel diyabet tanısı konulabilir:	**Aşağıdaki kriterlerden bir ya da daha fazlasının bulunduğu durumlarda hamilelikte diyabet tanısı konulabilir:**
Açlık kan glukozunun 5.1-6.9 mmol/L (92-125 mg/dl) bulunması	Açlık kan glukozunun 7.0 mmol/L (126 mg/dl)'dan fazla bulunması
75 g oral glukoz yüklemesinden bir saat sonra kan glukozunun 10.0 mmol/L (180 mg/dl)'dan fazla bulunması	75 g oral glukoz yüklemesinden iki saat sonra kan glukozunun 11.1 mmol/L (200 mg/dl)'den fazla bulunması
75 g oral glukoz yüklemesinden iki saat sonra kan glukozunun 8.5-11.0 mmol/L (180 mg/dl) bulunması	Diyabet semptomlarının görüldüğü rastgele bir zamanda ölçülen kan glukozunun 11.1 mmol/L (200 mg/dl)'den fazla bulunması

Tablo 4. Diyabet ve orta seviyeli hipergliseminin tanı kriterleri için WHO önerileri

Aşağıdaki kriterlerden bir ya da daha fazlasının bulunduğu durumlarda Diyabet tanısı konulabilir:	**Aşağıdaki kriterlerden her ikisinin de bulunduğu durumlarda Bozulmuş Glukoz Toleransı (BGT) tanısı konulabilir:**	**Aşağıdaki kriterlerden her ikisinin de bulunduğu durumlarda Bozulmuş Açlık Glukozu (BAG) tanısı konulabilir:**
Açlık kan glukozunun 7.0 mmol/L (126 mg/dl)'den fazla bulunması	Açlık kan glukozunun 7.0 mmol/L (126 mg/dl)'den az bulunması	Açlık kan glukozunun 6.1-6.9 mmol/L (110-125 mg/dl)'den az bulunması
75 g oral glukoz yüklemesinden iki saat sonra kan glukozunun 11.1 mmol/L (200 mg/dl)'den fazla bulunması	75 g oral glukoz yüklemesinden iki saat sonra kan glukozunun 7.8-11.1 mmol/L (140-200 mg/dl) bulunması	75 g oral glukoz yüklemesinden iki saat sonra kan glukozunun 7.8 mmol/L (140 mg/dl)'den az bulunması

4.1.2. Diabetes mellitusun komplikasyonları

Temel olarak akut ve kronik komplikasyonlar diye ikiye ayrılmaktadır (Baynest, 2015):

A. Akut Komplikasyonlar

1. Hipoglisemi
2. Hiperglisemik kriz
   - -Diyabetik ketoasidoz (DK)
   - - Hiperglisemik hiperosmolar nonketotik sendrom (HHNS)

B. Kronik komplikasyonlar

1. Mikrovasküler komplikasyonlar
   - 1.1. Diyabetik retinopati
   - 1.2. Diyabetik nefropati
   - 1.3. Diyabetik nöropati
2. Makrovasküler komplikasyonlar
   - 2.1. Periferik damar hastalığı
   - 2.2. Koroner arter hastalığı
   - 2.3. İnme
   - 2.4. Kalp yetmezliği
   - 2.5. Diğerleri

C. Diğer komplikasyonlar ve ilişkili hastalıklar

1. Bozulmuş büyüme ve gelişme
2. İlişkili otoimmün hastalıklar
    2.1. Hipotroidizm
    2.2. Hipertroidizm
    2.3. Çölyak hastalığı
    2.4. Vitiligo
    2.5. Primer adrenal yetmezlik (Addison hastalığı)
3. Lipodistrofi (lipoatrofi ve lipohipertrofi)
4. Nekrobiyoz lipoidika
5. Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı
6. Diyabetli hastalarda görülen enfeksiyonlar
7. Kısıtlı eklem hareketliliği
8. Ödem

DM'de serbest radikal üretiminin arttığı ve bu serbest radikallerin β hücre fonskiyonun bozulmasına ve ayrıca mitokondriyal hücre hasarına neden olduğu gösterilmiştir. Çalışmalar diyabetik olmayan sıçanlarda bile hipergliseminin kaslarda protein karbonil içeriğini, ayrıca lipid peroksidasyon ve oksidatif stres göstergeleri olan malondialdehit ve 4-hidroksinonenal düzeylerini artırabileceğini göstermiştir. İnsülin direnci ve oksidatif stresin bu biyolojik belirteçleri, serbest radikallerin insülin direnci ve bozulmuş insülin sinyalizasyon patogenezinde önemli rol oynadığını düşündürmektedir (Bahmani ve ark., 2014). Bu nedenle, oksidatif stresle mücadele eden antioksidanlar, serbest radikal kaynaklı hasarları önleyebilir ve onarabilir olmalıdır. Serbest radikaller esas olarak süperoksit serbest radikalleri, hidrojen peroksit, singlet oksijen, nitrik oksit (NO) ve peroksinitritten oluşan reaktif oksijen türevleri (ROS)'dir. Hiperglisemi bir yandan serbest radikal üretimini arttırırken diğer yandan endojen antioksidan savunma sistemini olumsuz etkiler (Hamid Nasri ve Rafieian-Kopaei, 2014). Antioksidan savunma mekanizmaları hem enzimatik hem de enzimatik olmayan stratejileri içerir. A, C ve E vitaminleri, glutatyon, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon redüktaz (GR) ve ayrıca α-lipoik asit, koenzim Q10, çeşitli bioflavonoidler, kofaktörler (folik asit, B1, B2, B6, B12 vitaminleri) ve bazı mineraller (bakır, çinko, selenyum ve manganez) bilinen

antioksidanlardandır (Rolo ve Palmeira, 2006). Tıbbi bitkiler en önemli antioksidan kaynağıdır (Maritim ve ark., 2003).

4.1.2.1. Akut komplikasyonlar

4.1.2.1.1. Hipoglisemi

Hipoglisemi, insülinle tedavi edilen diyabetik hastalarda yaygındır ve bazen oral hipoglisemik sülfonilüre ajanları ile tedavi edilen hastalarda da görülür. Hipoglisemi, gliseminin hafif derecede azalması durumundan (60-70 mg/dl), ki bu durumda semptom vermez veya semptomları minimal gösterir; nörolojik bozukluklara da neden olan çok düşük glukoz düzeylerine (<40 mg/dl), yani şiddetli hipoglisemiye kadar değişebilir. 40-70 mg/dl'lik glukoz düzeyleri genellikle oral yoldan karbonhidrat alınımı ile tedavi edilebilir ve daha fazla tıbbi müdahale gerektirmez. Daha şiddetli hipoglisemi (glukoz düzeyleri <40 mg/dl) intravenöz glukoz ya da glukagon ile birlikte müdahale gerektirebilir, bazen de hastanın oral karbonhidrat alımı hipoglisemiyi azaltmak için yeterli olabilir.

4.1.2.1.2. Hiperglisemik kriz

4.1.2.1.2.1. Hiperglisemik hiperosmolar nonketotik sendrom (HHNS)

HHNS göreceli insülin eksikliği ve genellikle artmış serum osmolalitesi (>300 mosm/kg) ile birlikte 1000 mg/dl üzeri kan glukoz düzeyi, dehidratasyon, uyuşukluk ile klinik olarak tanımlanmaktadır. Ketozis veya asidoz olmaksızın, tedavi edilmezse komaya kadar ilerlemektedir. Bu hastalarda, lipoliz ve ketozisi önlemek için dolaşımda yeterli miktarda insülin bulunmalıdır (Fishbein ve Palumbo).

4.1.2.1.2.2. Diyabetik ketoasidoz

Diyabetik ketoasidoz (DK), diyabetik komaya ve hatta ölüme yol açabilen ciddi bir durumdur. Hücreler enerji için ihtiyaç duyduğu glukozu alamadığında, vücut enerji için yağ yakmaya başlar ve sonuç olarak keton cisimcikleri oluşur. Ketonlar, enerjiyi kullanmak için yağın parçalanmasıyla oluşan kimyasal maddelerdir. Vücut, normal enerji kaynağı olan glukozu kullanmak için yeterli insülin olmadığında bunu yapar. Ketonlar kanda birikince, kanı daha asidik hale getirirler. Bu durum diyabet

hastalığının kontrolden çıktığına veya farklı bir hastalığın oluştuğuna dair bir uyarı işaretidir.

Yüksek keton seviyesi vücutta toksisiteye sebep olabilir. Seviyeler çok yükseldiğinde DK gelişebilir. DK, diyabeti olan herhangi bir bireyde oluşabilir, ancak T2DM olan kişilerde nadirdir.

DK tedavisi genellikle hastanede yapılır ancak hastalar uyarı işaretlerini öğrenerek ve idrar ve kan değerlerini düzenli olarak kontrol etirerek bunu önleyebilirler (American Diabetes, 2016).

4.1.2.2. Kronik komplikasyonlar

4.1.2.2.1. Mikrovasküler komplikasyonlar

4.1.2.2.1.1. Oksidatif stres ve diyabetik retinopati

Diyabetik retinopati yetişkinlerde körlüğün en önemli nedenlerinden biridir. Bu komplikasyonun nedeni mikrovasküler hasar, vazodilatasyon ve sıvı kaçağıdır. Diyabetik retinopati önlenmezse, yeni damarlar gelişir ve sonunda retina dekolmanı meydana gelebilir (Aylward, 2005). Bu hastalığın ortaya çıkışı diyabetin süresine bağlıdır ve diyabetin ilk birkaç yılında nadiren gelişir ancak insidans 10 yıllık sürede % 50'ye, 25 yıllık sürede ise % 90'a kadar yükselir. Retina, yüksek miktarda çoklu doymamış yağ asidi içerir ve en yüksek oksijen alımı ve aynı zamanda en yüksek glukoz oksidasyonuna sahiptir. Sonuç olarak, retina oksidatif strese daha yatkındır. Diyabetik retinopatinin patogenezinde hiperglisemi, oksidatif stres ve redoks homeostazındaki değişiklikler arasındaki korelasyon ana olgudur. Oksidatif stresin sadece diyabetik retinopatinin gelişimine değil, aynı zamanda iyi glisemik kontrol sonrasında retinopatinin düzelmesine karşı oluşan dirence de katkıda bulunduğu öne sürülmüştür. Vücudun diyabetik retinopatinin düzelmesine direnç göstermesinin nedeni, kolayca uzaklaştırılamayan hasarlı moleküller ve ROS birikimi olabilir (H King ve ark., 1998).

4.1.2.2.1.2. Oksidatif stres ve diyabetik nöropati

Diyabetli tüm hastaların % 50'sinden fazlasında sinirlerin progresif bozulmasına neden olan periferik ve otonomik sinir disfonksiyonuna yol açan nöropati gelişir. Diyabetik nöropati otonom sinir sisteminin bir yetmezliği olup ampütasyonun en

yaygın nedenidir. DM hastalarının yaşam boyu bir veya daha fazla amputasyona maruz kalma ihtimali % 15'tir (E, 2003). Sinir hücresinde metabolik ve vasküler bozulmanın birleşmesi nöron disfonksiyonu ve nörotropik desteğin kaybına neden olur ve uzun vadede periferik sinir sisteminin nöron, Schwann hücresi ve glial hücre apoptozuna aracılık edebilir (Schmeichel ve ark., 2003).

4.1.2.2.1.3. Oksidatif stres ve diyabetik nefropati

ROS fizyolojik koşullarda sürekli olarak üretilir ve birkaç hücre içi ve hücre dışı antioksidan sistemle etkili bir şekilde ortadan kaldırılır. Hem immün hem de non-immün glomerüler hasar oluşturulan deneysel modeller üzerinde yapılan çok sayıda çalışma, ROS'un oluşturulan bu bozuklukların patogenezinde ilk etken olduğunu göstermiş ve böbreğin oksidatif strese duyarlı olduğunu göstermiştir (H. Nasri ve ark., 2013). Hiperglisemi, sadece daha fazla ROS oluşumu değil aynı zamanda serbest radikal süpürücü enzimlerin zayıflaması nedeniyle de diyabetin uzun süreli komplikasyonlarının patogenetik bir faktörüdür (Rafieian-Kopaei ve Nasri, 2014).

Diyabetik nefropatide oksidatif stresin rolünü kanıtlamak için diyabetik böbrekte nefropatinin klinik bulguları görülmeden önce de oksidatif stresin yükseldiği gösterilmiştir.

4.1.2.3. Diabetes mellitus ile indüklenen doku hasarının mekanizması

Hipergliseminin 5 farklı ana mekanizma ile doku hasarına neden olduğu gösterilmiştir:

1. İleri glikasyon son ürünleri (AGEs) ve aktive edici ligandlar için reseptör ekspresyonunda artış
2. Hücre içinde oluşan AGEs'lerde artış
3. Poliol yolağı aracılığıyla glukoz ve diğer şekerlerin hücre içine alımında artış
4. Protein kinaz C izoformlarının aktivasyonu
5. Heksozamin yolağının aşırı aktivasyonu

Bu beş mekanizmanın, ROS mitokondriyal aşırı üretimiyle harekete geçtiği gösterilmiştir. Buna karşılık, diyabetik makrovasküler hasar ve kalp hasarı, yolağa özgü gelişen insülin direnci sonucu artan yağ asidi oksidasyonundan kaynaklanır

(Brownlee, 2005).

İnsülin direncine ve diyabet komplikasyonlarına neden olan birçok hücresel yolak serbest radikallerin üretimi ve buna bağlı olarak meydana gelen oksidatif stres ile bağlantılıdır. Artmış kan glukozunun erken etkileri potansiyel olarak koruyucu yolların aktivasyonunu artırabilir. Ancak yüksek glukoza uzun süre maruz kalınması ROS oluşumuna neden olabilir ve glukoz kontrolü sonrasında bile ROS oluşumunun olumsuz etkileri devam edebilir. Vücutta serbest radikallerin yüksek düzeyde bulunması hücre lipid membranına, hücre proteinlerine ve nükleik asitlere zarar verir ve sonuç olarak hücre ölümüne neden olabilir (Sarrafchi ve ark., 2016). Oksidatif stres, insülin duyarlılığını düşürerek ve pankreas β hücrelerini tahrip ederek diyabetin başlangıcını tetikleyebilir. ROS, pankreas β hücre membranından geçebilir ve bu şekilde hücreleri tahrip eder (Maritim ve ark., 2003).

DM gibi rahatsızlıklarda oksidatif stres ve apoptotik hücre ölümü, hücresel enerji korunumu ve mitokondriyal fonksiyonda bozukluk ile önemli ölçüde ilişkilidir. ROS maruziyeti, mitokondriyal membranın permeabilite geçiş gözeneklerinin açılmasına, mitokondriyal β-nikotinamid adenin dinükleotid (NAD^+) depolarının azalmasına ve dolayısıyla apoptotik hücre hasarına yol açabilir. Aynı zamanda serbest yağ asitleri (FFA) ROS salınımına, dolayısıyla mitokondriyal DNA hasarına ve bozulmuş pankreatik β hücresi fonksiyonuna yol açabilir (Maiese ve ark., 2011).

Serbest yağ asitleri, lipidler veya diğer işlemler tarafından indüklenen oksidatif stresteki bir artış, diyabetin mikrovasküler komplikasyonlarına neden olmak için yeterli değildir. Bir başka görüşe göre oksidatif stresin mikrovasküler patolojileri ilerletebilmesi mümkündür, ancak diyabetin mikrovasküler patolojilerinin oksidatif stres aracılı başlaması olası değildir (Evans ve ark., 2003). Son olarak, oksidatif stresin yol açtığı hasar dokuya spesifik olabilir, çünkü hipergliseminin belirgin patolojileri olmayan dokularda ve pek çok hücre tipinde oksidan üretimini artırdığı görülmektedir.

4.1.3. Diyabet için tanı kriterleri

Diyabet için tanı kriterleri Tablo 5'de özetlenmiştir. Bu kriterler, venöz kan örnekleri ve laboratuvar yöntemlerine dayanmaktadır (American Diabetes, 2012).

Tablo 5. Diyabet tanı kriterleri

AKG ≥ 7,0 mmol/L **(en az 8 saatlik bir açlık sonrası)** HbA1c ≥ %6,5 (yetişkinlerde) **(HbA1c'nin doğruluğunu etkileyen faktörler olmaksızın ve T1DM şüphesi olmayan durumlar için, standardize, onaylanmış bir analiz)** 75 g OGTT'de 2. sa KG ≥ 11,1 mmol/ L KG ≥ 11,1 mmol/L **(Son yemekten sonra geçen süreye bakılmaksızın günün herhangi bir zamanında ölçülebilir)**
Net bir klinik tanı olmadığı sürece (örneğin, hiperglisemik krizdeki veya hipergliseminin klasik semptomlarıyla beraber rastgele kan glukozu 200 mg/dl'den yüksek olan bir hastanın) doğrulama için bir başka günde bir laboratuvar testi (AKG, HbA1c, 75g OGTT'de 2. sa KG) daha yapılmalıdır. Doğrulama için aynı testin tekrarlanması tercihe bağlıdır, fakat asemptomatik bireylerde herhangi bir zamanında ölçülen KG değeri diyabet tanı aralığında ise alternatif başka bir test ile doğrulama yapılmalıdır. Semptomatik hiperglisemi durumunda teşhis de konulmuşsa tedaviye başlanmadan önce bir doğrulama testi gerekmemektedir. T1DM olasılığı olan bireylerde (özellikle ketonüri veya ketonemisi ile genç veya zayıf veya semptomatik hiperglisemi), hastalığın hızlı ilerlemesini önlemek adına doğrulama testi tedavinin başlamasını geciktirmemelidir. İki farklı testin sonuçları mevcutsa ve her ikisi de tanı aralığının içindeyse diyabet tanısı doğrulanmış sayılmaktadır.

2s KG: 75 g glukoz alımından sonra 2. saat kan glukozu; HbA1c: glukozillenmiş hemoglobin; AKG: Açlık kan glukoz değeri; OGTT: Oral glukoz tolerans testi: KG: Kan glukozu

7,0 mmol/L ve üzerinde bir açlık kan glukoz (AKG) düzeyi, 75 g oral glukoz yükselmesinden sonra yapılan OGTT'de ölçülen 2. saat kan glukoz (2. sa KG) değerinin 11,1 mmol/L ve daha büyük olması ile korelasyon gösterir ve bu bireylerde retinopati gelişmesi öngörülmektedir (McCance ve ark., 1994; Engelgau ve ark., 1997; Colagiuri ve ark., 2011). Diyabet tanısı koymak, takibini yapmak ve prediyabetli bireyleri belirlemek için aynı testler kullanılmaktadır.

Diyabet tanısı için hangi testin kullanılacağı kararına klinik değerlendirmeyle ulaşılır. Her bir tanı testinin avantajları ve dezavantajları vardır (Tablo 6).

Tablo 6. Diyabet için tanı testlerinin avantaj ve dezavantajları

Parametreler	Avantajları	Dezavantajları
AKG	• Onaylanmış standart • Hızlı ve kolay • Tek örnekle çalışma • Mikrovasküler komplikasyonları öngörür	• Örnekler stabil değildir • Günden güne değişkenlik gösterir • Zahmetli (açlık gerektirir) • Zamanın tek bir noktasında glukoz homeostazını yansıtır
75 g OGTT'de 2. sa KG	• Onaylanmış standart • Mikrovasküler komplikasyonları öngörür	• Örnekler stabil değildir • Günden güne değişkenlik gösterir • Zahmetli • Hoş olmayan tat • Maliyetli
HbA1c	• Günün herhangi bir zamanında ölçülebilir • Tek bir örnekle çalışma • Mikrovasküler komplikasyonları öngörür • AKG ve 2. saat KG'ye göre makrovasküler hastalıklar için daha iyi bir belirteçtir • Günden güne değişkenlik azdır • Uzun süreli glukoz konsantrayonunu yansıtan sonuçlar verir	• Maliyetli • Çeşitli tıbbi koşullarda yanıltıcı (örneğin hemoglobinopati, demir eksikliği, hemolitik anemi, ciddi hepatik veya böbrek hastalığı) • Etnik yapı ve yaş farklılıklarına göre değişkenlik gösterir • Ayrıca standardize ve geçerli bir test gerektirir • Çocuklarda, ergenlik çağında olan bireylerde ve hamilelerde tanı amacıyla kullanılmaz; tip-1 diyabet olasılığı durumunda tercih edilmez

4.1.3.1. Açlık ve 2 saatlik kan glukozu

AKG ve 2. saat kan glukozu diyabet tanısında kullanılır. AKG ve 2. saat kan glukozu arasındaki uyum doğru değildir, fakat HbA1c ve diğer glukoz tabanlı testler arasında uyum vardır. AKG kesme noktası HbA1c ile kıyaslandığında, 2. saat kan glukozunun daha fazla diyabetli hastada tanı konulmasını sağladığı birçok çalışmayla doğrulanmıştır.

4.1.3.2. HbA1c

HbA1c testi Ulusal Glikohemoglobin Standardizasyon Programı (NGSP) tarafından onaylanan ve Diyabet Kontrol ve Komplikasyonları Çalışması (DCCT) referans analizine göre standardize edilmiş şekilde veya izlenebilir bir yöntem kullanılarak yapılmalıdır.

Diyabet tanısı için HbA1c değerini kullanmanın birçok avantajı vardır. HbA1c değeri günün herhangi bir zamanında ölçülebilir ve AKG ve 2. saat KG değerlerinden daha kullanışlıdır. A1C testi, önceki 2-3 ay boyunca ortalama kan glukozunu yansıtan glukoz değerlerinin günlük değişkenlik problemini de önler (American Diabetes, 2012).

HbA1c'yi bir tanı kriteri olarak kullanmak için, HbA1c'nin "Ulusal Glikohemoglobin Standardizasyon Programı-Diyabet Kontrolü ve Komplikasyonları Deneme" referansına göre standartlaştırılmış ve geçerliliği onaylanmış bir test kullanılarak ölçülmelidir. HbA1c'nin çeşitli hemoglobinopatiler, demir eksikliği, hemolitik anemiler ve ciddi hepatik ve böbrek hastalığı olan bireylerde yanıltıcı olabileceği belirtilmektedir (Gallagher ve ark., 2009). Diyabet tanısı için yaşlara veya etnik yapıya özgü ayarlanmış HbA1c eşik değerlerine ihtiyaç duyulup duyulmadığına dair daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir. Ayrıca, HbA1c'nin tanı amacıyla çocuklarda, ergenlerde, hamilelerde T1DM şüphesi olan bireylerde kullanılması önerilmez.

HbA1c testi AKG ve 2. saat kan glukozu ile kıyaslandığında birkaç avantajı vardır; çok daha kolaydır (açlık gerekmez), preanalitik kararlılığı daha yüksektir, hastalık ve stres durumunda daha az günlük düzensizlik gösterir (Cowie ve ark., 2010). HbA1c testi ile tanı konulurken yaş, ırk/etnisite ve anemi/hemogloniopatinin dikkate alınması önemlidir.

4.1.3.3. Tanı doğrulaması

Net bir klinik tanı olmadığı sürece (örneğin, hiperglisemik krizdeki veya hipergliseminin klasik semptomlarıyla beraber rastgele kan glukozu 200 mg/dl'den yüksek olan bir hastanın) doğrulama için başka bir günde bir laboratuvar testi (AKG, HbA1c, 75g OGTT'de 2. sa KG) daha yapılmalıdır. Örneğin, eğer HbA1c değeri %7 (53 mmol/mol) ve tekrar sonucu %6,8 (51 mmol/mol) ise diyabet tanısı

doğrulanmıştır. Eğer iki farklı test (AKG ve HbA1c gibi) de tanı eşiğinin üzerinde ise bu da tanıyı doğrular. Bunun yanısıra, hastanın iki farklı testten uyumsuz sonuçları varsa tanı kesim noktalarının üzerindeki test sonuçları tekrarlanmalıdır. Tanı doğrulanan testin temelinde yapılır. Örneğin bir hasta HbA1c diyabet kriterini (iki sonuçta ≥%6,5 (48 mmol/mol)) karşılıyorsa fakat AKG kriteri karşılamıyor (<126 mg/dl (7 mmol/L)) ise bu kişi yine de DM olarak kabul edilmelidir.

4.1.3.4. Prediyabet

"Prediyabet" bireylerde diyabet ve komplikasyonlarınının gelişme riski yüksek olduğunu ifade eden BAG, BGT veya % 6,0 -% 6,4 arasındaki HbA1c değerlerine ilişkin kullanılan bir terimdir (Tablo 7). Prediyabet olarak tanımlanan bireylerde nihayetinde diyabet hastalığı görüleceği tam olarak söylenemez. Ayrıca, BAG veya BGT tanısı konan insanların önemli bir kısmında, daha sonra normal glisemi seviyesi görülmesi mümkündür.

Tablo 7. Prediyabet tanı kriterleri

Test	Sonuçlar	Prediyabet Kategorisi
AKG (mmol/L)	6,1-6,9	BAG
75 g OGTT'de 2. sa KG (mmol/L)	7,8-11,0	BGT
HbA1c (%)	6,0-6,4	Prediyabet

2s KG: 2. saat kan glukozu; **HbA1c**: glikozillenmiş hemoglobin; AKG; Açlık kan glukozu; BAG; Bozulmuş açlık glukozu; BGT: Bozulmuş glukoz toleransı; OGTT: Oral glukoz tolerans testi

Prediyabet hastalarında diyabette görüldüğü gibi mikrovasküler hastalık riski artmış olmasa da kardiyovasküler hastalıklar (KVH) ve diyabet gelişme riski vardır (Santaguida ve ark., 2005). KVH bağlamında BGT, BAG'a göre daha güçlü bir veri olarak değerlendirilir. Hem BAG hem de BGT'ye sahip kişiler, diyabet için daha yüksek risk altındadırlar.

HbA1c düzeylerinin % 6,0 ile % 6,4 değerleri arasında olması, % 5,5 ile % 6,0 değerleri arasında olmasına göre DM oluşması için daha yüksek bir risk olarak ifade edilmektedir. Amerikan Diyabet Birliği, prediyabeti HbA1c değerinin % 5,7 ile % 6,4 arasında olması şeklinde tanımlarken, Kanada Diyabet Birliği bu tanımın daha yüksek bir risk grubuna dayandığını ve prediyabet için % 6,0 ile % 6,4 arasında

HbA1c değerlerini tanısal bir kriter olarak belirtmektedir. Son 5 yıl içerisinde T2DM için 6,1 ile 6,9 mmol/L arasında bir AKG ve % 6,0 ile % 6,4 arasında bir HbA1c kombinasyonu, %100 tahmini öngörü için kullanılmaktadır.

4.1.3.5. Metabolik sendrom

Prediyabet ve T2DM; abdominal obezite, hipertansiyon, dislipidemi ve yüksek kan glukozunu içeren bir takım anormalliklerle karakterize çok yönlü bir durum olan metabolik sendrom da dahil olmak üzere, bir çok hastalığın sık görülen belirtilerindendir. Metabolik sendromu olan bireylerde, KVH gelişme riski önemli ölçüde artmıştır. Metabolik sendrom ve T2DM sıklıkla bir arada görülmekte olduğundan, diyabeti olmayan fakat metabolik sendromu olan bireyler diyabet gelişimi açısından önemli bir risk altındadır.

Hem hiperglisemiye hem de hipertansiyon, dislipidemi ve abdominal obezite gibi metabolik sendromu oluşturan kardiyovasküler risk faktörlerine sahip hastalara teşhis koymak ve tedavi etmek, kardiyovasküler morbidite ve mortaliteyi önemli ölçüde azaltmak için agresif bir yaklaşım oluşturmayı sağlamaktadır.

Metabolik sendrom için çeşitli tanı kriterleri önerilmiştir. 2009'da, metabolik sendromun en uygun tanımı yapılmış ve teşhisi için aşağıdaki kriterlerden en az üçünün sağlanması gerekmektedir (Tablo 8).

Tablo 8: Metabolik sendromun en uyumlu tanımı (Alberti ve ark., 2009)

Ölçümler	**Kategorisel sınır değerleri**	
	Erkek	Bayan
Yüksek bel çevresi (nüfusa ve ülkeye spesifik sınır değerler)		
• Kanada, Amerika Birleşik Devletleri	≥ 102 cm	≥ 88 cm
• Orta Doğu, Sahra altı Afrikalılar, Akdeniz	≥ 94 cm	≥ 80 cm ≥ 80 cm
• Asya, Japonya, Güney ve Orta Amerika Ülkeleri	≥ 90 cm	
Yüksek TG (yüksek TG için ilaç tedavisi alternatif bir gösterge niteliği taşıyor)	≥ 1,7 mmol/L	
Azaltılmış YDL-K (azaltılmış HDL-C için ilaç tedavisi, alternatif bir gösterge niteliğindedir) [+]	< 1,0 mmol/L	< 1,3 mmol/L

Artmış KB (hipertansiyon öyküsü olan bir hastada antihipertansif ilaç tedavisi alternatif bir göstergedir)	Sistolik ≥ 130 mmHg Diyastolik ≥ 85 mmHg
Yüksek AKG (yüksek glukozun ilaç tedavisi alternatif bir göstergedir)	≥ 5,6 mmol/L

KB: Kan basıncı; TG: Trigliserit; YDL-K: Yüksek dansiteli lipoprotein-kolesterol
Tanı için 3 veya daha fazla kriter gereklidir.

[+] Yüksek TG ve azaltılmış HDL-C için en sık kullanılan ilaçlar fibratlar ve nikotinik asittir. Bu ilaçlardan bir tanesini kullanan bir hastanın, yüksek TG'ye ve azalmış HDL-K'ye sahip olduğu varsayılabilir. Yüksek doz omega-3 yağ asitleri yüksek TG'ye neden olmaktadır.

4.1.4. Tedaviyi iyileştirmek için stratejiler

Amerikan Diyabet Birliği tarafından yapılan açıklamada klinisyenler, devlet politikasına yön verenler ve devlet politikasını destekleyenlerin akılda tutması gereken üç tema vurgulamaktadır:

a. Hasta-odaklılık: Hastalığa bir boyuttan bakarak tüm hastaları anlamanın mümkün olmadığını bilmek gerekir. Süreç hastaların tedaviye nasıl adapte edileceğini araştırarak yürütülmelidir. Çünkü diyabetik insanlarda kardiyovasküler hastalık riski önemli ölçüde artmaktadır. Hasta merkezli bir yaklaşım kardiyovasküler riski azaltmak için kapsamlı bir plan içermelidir. Kan basıncı ve lipid kontrolü, sigara içmenin önlenmesi ve bırakılması, kilo yönetimi, fiziksel aktivite ve sağlıklı yaşam tarzı seçimleri bu plan kapsamındadır.

b. Yaşam boyu diyabet: Yetişkin popülasyonda artan oranda T1DM görülmektedir. T2DM görülme sıklığı ise çocuklarda ve genç erişkinlerde artmaktadır. T1DM ve T2DM hastaları uygun tedabi ile ileri yaşlarda yaşam kalitesi bozulmadan yaşayabilir. Yaşamın belirli evrelerinde tedavinin yürütülmesine yönelik klinik çalışmalardan elde edilen kanıtlar kısıtlıdır.

c. Diyabetik hastalar için savunma: Savunma, bir politika veya amacı geliştirmek için aktif destek ve katılım olarak tanımlanabilir. Savunma, diyabetik hastaların yaşamlarını iyileştirmek adına gereklidir. Obezite, fiziksel hareketsizlik ve sigara diyabetik hastaların sağlığı üzerinde çok önemli paya sahiptir. Bu problemlerin kökünde yer alan toplumsal etkenleri değiştirmek için çaba gereklidir.

4.1.4.1. Kronik tedavi modeli

Önerilen standartlara göre uyuncu artırmak için sayısız girişim geliştirilmiştir. Optimal tedavi için en büyük engellerden biri uygulama sistemidir. Uygulama sistemi sıklıkla parçalanmış, klinik bilgi kabiliyetinden yoksun ve kronik bakımın koordineli servis açısından iyi tasarlanamamıştır. Kronik bakım modelinin diyabet tedavisinin kalitesini artırmak için etkili olduğu gösterilmiştir.

4.1.4.1.1. Altı ana unsur

Kronik hastalığı bulunan kişilerin optimal tedavisinin koşulları için Kronik Tedavi Modeli (KTM) 6 ana unsur içermektedir:

a. Servis sistemi tasarımı

b. Öz yönetim desteği

c. Karar desteği (etkin ekip yönergeleri ve kanıta dayalı tedaviye dayanarak)

d. Klinik bilgi sistemleri (kayıtlar kullanılarak tedavi ekibi tarafından hastaya özel, nüfusa dayalı destek sağlanabilir)

e. Toplum kaynakları ve politikaları (sağlıklı yaşamı destekleyecek kaynakların belirlenmesi ve geliştirilmesi)

f. Sağlık sistemi (kalite odaklı bir kültür oluşturmak)

Sağlık hizmetleri servis ekibinin görevlerini tekrar tanımlamak ve hastaların öz yönetimini desteklemek KTM'nin başarılı bir şekilde uygulanması için temel şartlardır (Coleman ve ark., 2009). Ortak çalışmaya dayalı, multidisipliner ekip çalışması diyabet gibi kronik hastalığı bulunan insanların tedavisini sağlamak ve özyönetimini kolaylaştırmak için en ideal yaklaşımdır (Piatt ve ark., 2010).

4.1.4.2. Hassas popülasyonlar için tedavinin düzenlenmesi

4.1.4.2.1. Sağlık eşitsizlikleri

Sağlık eşitsizliklerinin nedenleri kompleksdir ve ırkçılık, ayrımcılık, sosyoekonomik durum, sağlık hizmetlerine erişim zorluğu ve sağlık sigortası yokluğu gibi toplumsal konuları içerir.

4.1.4.2.2. Etnik/kültürel/cinsiyet kaynaklı/sosyoekonomik/dini farklılıklar

Etnik, kültürel, dini, sosyoekonomik farklılıklar ve cinsiyet farklılıkları diyabet prevalansı ve sonuçlarını etkileyebilir. GDM geçiren kadınlarda (G Kim ve ark., 2002), hipertansiyonu veya dislipidemisi olan bireylerde ve bazı ırksal/etnik gruplarda (Afrikan Amerikalı, Yerli Amerikalı, Asyalı Amerikalı, Hispanik/Latin gibi) T2DM daha sık gelişmektedir (Hutchinson ve Shin, 2014).

4.1.4.2.3. Sağlık hizmetine erişim

Etnik, kültürel, dini, cinsiyet kaynaklı ve sosyoekonomik farklılıklar sağlık hizmetine erişimi ve dolayısıyla diyabetli insanlardaki komplikasyon riskini etkilemektedir. Diyabetli kadınların koroner kalp rahatsızlığına yakalanma riski diyabetli erkeklere oranla %40 daha fazladır (Peters ve ark., 2014). Diyabetik bireylere sağlık hizmeti sunumunda sosyoekonomik ve etnik eşitsizlikler mevcuttur (Ricci-Cabello ve ark., 2010). Sonuç olarak, düşük sosyoekonomik statüdeki T1DM'li çocuklar düşük metabolik kontrol ve düşük duygusal işlevsellik gibi durumlar için çeşitli riskler mevcuttur.

4.1.4.2.4. Güvensiz gıda tüketimi

Gıda sağlayıcıları güvensiz gıda tüketimi kapsamında hiperglisemi ve hipoglisemiyi değerlendirmeli ve buna göre çözüm önerileri sunmalıdır. Sağlayıcılar şunu bilmelidir ki evsizlik, düşük okur-yazarlık, düşük matematiksel beceri sıklıkla güvensiz gıda alımına neden olmaktadır. Güvensiz gıda açısından besleyici gıdaların ve daha yüksek enerji ile karbonhidrat içeren işlenmiş gıdaların alınması arasında bir denge içermektedir. Kontrol edilemeyen hiperglisemi ve şiddetli hipoglisemi riski güvensiz gıda tüketen diyabetli hastalarda daha yüksektir (Seligman ve Schillinger, 2010).

4.1.4.2.4.1. Güvensiz gıda tüketimi ve hiperglisemi

Güvensiz gıda tüketen ve diyabeti bulunan hastalarda hiperglisemi daha sık görülmektedir. Bunun en önemli sebepleri karbonhidrat açısından zengin işlenmiş gıdaların sürekli tüketimi, aşırı yeme, ekonomik kısıtlama nedeniyle antidiyabetik

tedaviyi tam olarak uygulayamamak ve depresyon/anksiyete gibi diyabet tedavisini yürütmeyi zorlaştıran davranış bozukluklarıdır.

4.1.4.2.4.2. Güvensiz gıda tüketimi ve hipoglisemi

T1DM: T1DM'li ve güvensiz gıda tüketen kişilerde insülin uygulamasını takiben düzensiz veya yetersiz karbonhidrat tüketiminin bir sonucu olarak hipoglisemi gelişebilir. Gıda alımı eksikliğinde; uzun etkili insülin kısa etkili insülinin aksine güvensiz gıda tüketen kişilerde hipoglisemi riskini azaltabilir. Tercihen bir kalem yardımıyla verilen kısa etkili insülin analogları eğer gıda alımı mümkünse yemekten hemen sonra kullanılabilir. Yüksek ücretli insülin analogları potansiyel avantajlarına göre değerlendirilmelidir.

T2DM: T2DM'li ve güvensiz gıda tüketen kişilerde belli oral hipoglisemik ajanların alımından sonra T1DM'lilere benzer nedenlerle hipoglisemi gelişebilir. Eğer hipoglisemik bir ajan olarak sülfonilüre türevi bir ilaç kullanılacaksa, glipizid diğerlerine göre daha kısa yarılanma ömrü olduğu için tercih edilebilir. Glipizid yemekten hemen önce alınabilir, böylece daha uzun etkili sülfonilüreler (gliburid gibi) ile karşılaştırıldığında hipoglisemi gelişme eğilimi sınırlandırılmış olur.

4.1.4.2.5. Kognitif disfonksiyon

Yoğun glukoz kontrolü T2DM'li hiperglisemik bireylerde zayıf kognitif fonksiyonun iyileştirilmesi için tavsiye edilmez. Zayıf kognitif fonksiyona veya şiddetli hipoglisemiye sahip bireylerde glisemik terapi şiddetli hipoglisemiyi önlemek için tasarlanmalıdır. Yüksek kardiyovasküler risk altındaki diyabetli bireylerde, statin tedavisinin kardiyovasküler yararları kognitif disfonksiyon riskinden ağır basmaktadır. İkinci nesil antipsikotik ilaç reçete edilirse ağırlık, glisemik kontrol ve kolesterol düzeylerindeki değişiklikler dikkatlice izlenmeli ve tedavi rejimi yeniden değerlendirilmelidir.

4.1.4.2.6. Demans

Kognitif disfonksiyonun en şiddetli formu demanstır. Yapılan çalışmalarda diyabet

hastalığı bulunmayan bireylere oranla diyabetli insanlarda demansın tüm tiplerine yakalanma riski %73 daha yüksek, Alzheimer tipi demansa yakalanma riski %56 daha yüksek, vasküler demansa yakalanma riski %127 daha yüksek bulunmuştur (Gudala ve ark., 2013).

4.1.4.2.6.1 Demans ve hiperglisemi

Tip 2 diyabetli bireylerde, hipergliseminin derecesi ve süresi demans ile ilgilidir. Kognitif fonksiyonun sağlıklı bireylere oranla daha hızlı kaybı hem artmış HbA1c hem de uzun süreli diyabet ile ilişkilidir (Rawlings ve ark., 2014). Yapılan bir çalışmaya göre HbA1c seviyesindeki her %1'lik artış T2DM hastalarında daha düşük kognitif fonksiyonla ilişkilidir. Yapılan çalışmada yoğun ve standart glisemik kontrol arasında kognitif sonuçlar açısından bir farklılık olmadığı gösterilmiş, bu da tip 2 diyabetli bireylerde kognitif fonksiyonun iyileştirilmesi için yoğun glukoz kontrolünün gerekmediğini desteklemektedir (Launer ve ark., 2011).

4.1.4.2.6.2. Demans ve hipoglisemi

T2DM hastalarında şiddetli hipoglisemi düşük kognitif fonksiyon ile ilişkilidir. T2DM'li yaşlı bireylerde yapılan uzun süreli bir çalışmada, bir veya daha fazla kaydedilmiş şiddetli hipoglisemi dönemi olan bireylerin bunama riskinde kademeli bir artış olduğu gösterilmiştir (Whitmer ve ark., 2009). Glisemik tedaviyi şekillendirmek kongnitif disfonksiyonu olan bireylerde hipoglisemiyi önlemeye yardımcı olabilir ve dolayısıyla kognitif disfonksiyonun da artmasını engeller.

4.1.4.2.7. Santral sinir sistemi (SSS) hastalıkları

Şizofreni, bipolar bozukluk ve depresyon dahil ağır zihinsel hastalıklar şeker hastalığı olan kişilerde 1,7 kat artmıştır (Osborn ve ark., 2008). Tip 2 diyabet prevalansı genel nüfusa göre şizofreni, bipolar bozukluk ve şizoafektif bozukluğu olan kişilerde iki-üç kat daha fazladır (Correll ve ark., 2015).

4.1.4.2.7.1. SSS tedavisinde kullanılan ilaçlar

SSS hastalıklarının durumu ne olursa olsun tedavisinde kullanılan ilaçlar diyabet tedavisinde etkili olmaktadır. Depresyon için uygulanan antidepresan tedavi diyabetli hastalarda etkilidir ve depresyon tedavisi kısa süreli glisemik kontrolü sağlayabilir. Psikotik hastalıklar için ikinci nesil antipsikotik ilaç reçete edilmesi gerekirse, ağırlık, glisemik kontrol ve kolesterol düzeylerindeki değişiklikler dikkatlice izlenmeli ve tedavi rejimi bunlara göre değerlendirilmelidir (American Diabetes Association ve ark., 2004). Bireyin ilaç tedavisi konusunda bilinçlenmesi, özellikle psikotik bireyler için etkin tedavi yönetimi adına bir anahtardır.

4.1.5. Diyabet hayvan modelleri

ANRCC'ye (American National Research Coincil Committee) göre biyomedikal çalışmalarda kullanılan hayvanlar temelde 5 grupta sınıflandırılmaktadır. Bunlar: spontan modeller (hastalık koşullarının insanlarda olduğu gibi kendiliğinden oluştuğu), deneysel modeller, genetik modeller ya da hastalığın kimyasal madde verilerek veya cerrahi operasyon ile oluşturulduğu modeller, negatif model denilen hayvanın belirli bir hastalık durumuna dirençli olduğu modeller ve son olarak orphan (yetim) modeller yani insanlarda karşılığı tam belirli olmayan hastalık türüyle kombine modeller olarak tanımlanmaktadır. Hayvan çalışmalarının; çeşitli hastalıkların teşhisi, tedavisi, hastalıklara farklı terapötik yaklaşımlarda bulunulması gibi faaliyetlerdeki rolü nedeni ile yerine başka bir yöntem konulmasının şimdilik zor olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmalar ancak etik kurallar çerçevesinde, 4R kuralı (replacement, reduction, refinement, responsibility) gözetilerek yapılmakta ve bu şekilde deneysel çalışmalarda kullanılan hayvan sayısı azaltılması ve koşulların iyileştirilmesi için uğraşılmaktadır (Smith, 2001).

Diğer bir çok hastalıkta da görüldüğü üzere diyabette de deneysel hayvan modelleri tüm dünyada araştırmacılar tarafından kullanılmaktadır. Tarihte diyabetik modelin ilk olarak kullanılması von Mering tarafından bir köpekte ince bağırsaktan yağ absorpsiyonunun incelenmesi sırasında Minkowski'nin pankreası çıkarmasını tavsiye etmesi üzerine pankreotektomi metodu ile 1880 yılında gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada hayvanda poliüri, polidipsi gibi belirtilerin gelişmesi diyabeti düşündürmüştür ve yapılan testlerle köpekte bu hastalığın deneysel olarak

oluşturulduğu tespit edilmiştir. Tıp literatürüne giren bu model başka pek çok hayvan türünde çalışılmasını tetiklemiştir ve hem hastalığın patojenezinin anlaşılmasına hem de tedavi edilmesi ya da önlenmesine katkıda bulunmuştur. Bununla birlikte hayvan çalışmalarının sonuçlarının klinik çalışmalara uyarlanabilmesi hususunda zorluklar ve bazı hayvan türlerinin insani koşulları tam olarak yansıtmaması, hayvan çalışmalarının değerini kısıtlayıcı yöndedir. Özellikle primat ya da memeliler gibi insan yapılarına ve sistemlerine daha benzer organizmalar yerine rodentlerin kullanımı bu konuda tereddütlerin merkezinde yer almaktadır. Bununla birlikte rodentlerin nispeten daha ucuz olması, kolay temin edilebilmesi, deneyler sırasında bakımının rahat olması ve etik sebepler nedeniyle kullanımı diğer hayvanlara göre daha yaygındır (Banks, 1995).

Diyabet, temel olarak pankreatik fonksiyonların bozulması ile gelişen bir hastalıktır. Diyabette deneysel modeller pankreatik fonksiyonun; streptozotosin (STZ), alloksan gibi kimyasal maddeler, cerrahi işlemler ya da genetik manipülasyonlar aracılığı ile bozulması şeklinde oluşturulabilir (Rees ve Alcolado, 2005). Diyabetik modeller ayrıntılı olarak T1DM Modelleri ve T2DM Modelleri başlığı altında incelenecektir.

4.1.5.1. T1DM hayvan modelleri

T1DM tüm diyabet vakalarının %10'undan sorumludur ve lenfositler tarafından pankreatik beta hücrelerinin yıkımı ve dolayısıyla insülin üretiminin ve salgılanmasının azalması ile karakterize otoimmün bir hastalık olarak değerlendirilmektedir (Cefalu, 2006). T1DM nedenleri arasında genetik hassasiyetin üzerinde sıkça durulmaktadır. MHC (Temel doku uygunluk bileşeni) olarak bilinen proteinlerin translasyonundan sorumlu 20 kadar genin hastalıkta etkin rol oynadığı belirtilmektedir (Adorini ve ark., 2002). Öyle ki MHC ile alakalı genlerdeki bir modifikasyonun hastalığın fizyopatolojisine katkısının, tüm etmenlerin yarısını meydana getirdiği sanılmaktadır. Bu bağlantının, insülin ve glutamik asit dekarboksilaz gibi proteinlere karşı oluşturulan antikorların varlığının, MHC proteinlerini tetiklemesinden ileri geldiği varsayılmaktadır. Ayrıca doku uyumu (HLA) genlerinin de diğer bir genetik faktör olduğu düşünülmektedir (Fernando ve ark., 2008).

T1DM'nin en önemli histopatolojik belirtisi insülittir. İnsülit, Langerhans adacıklarındaki beta hücrelerini hedef alan bir lenfosit infiltrasyonu olarak tanımlanmaktadır. Hem hastalarda hem de deneysel modellerde belirgin olarak gözlenebilmektedir (Campbell-Thompson ve ark., 2013).

T1DM modelleri 4 grup altında incelenecektir (AJ King, 2012):

- Kimyasal yolla indüklenen modeller
- Spontan modeller
- Virüsler yardımıyla oluşturulan modeller
- Genetik manipülasyonla indüklenen modeller

4.1.5.1.1. Kimyasal yolla indüklenen modeller

Bu yolla indüklenen modellerde pankreatik beta hücre harabiyeti yoğun olarak gözlenmektedir, buna bağlı olarak insülin miktarı azalır ve kan glukozu yüksek değerlere ulaşır. Diğer metodlara göre nispeten basit ve ucuz olarak kabul edilmektedir. STZ ve alloksan bu grubun temel kaynağını oluşturmaktadır (AJ King, 2012). STZ, nitrozoüre türevi bir bileşik olup *Streptomycetes achromogenes* türü bakteriden elde edilir, kemoterapötik amaçla kullanılır. STZ, intraperitoneal (i.p.) veya intravenöz (i.v.) kullanımı ile pankreatik beta hücrelerine girerek DNA'yı alkiller ve DNA'nın fragmanlarına ayrılmasına neden olur (Szkudelski, 2001). Bu durum PoliADP-riboz polimeraz (PARP) aktivasyonuna ve NAD^+ miktarında azalmaya ve sonuçta hücre içindeki kullanılabilir adenozin trifosfat (ATP) seviyesinin düşmesine neden olmaktadır. Böylelikle insülin üretimi için gerekli enerji sağlanamaz, insülinin sentezi ve salgılanması azalır. STZ'nin bu fonksiyonuna ek olarak, serbest radikallerin oluşumunu tetiklemesi de DNA hasarını artırıcı niteliktedir (A King ve Bowe, 2016).

Alloksan; dialurik asit yapısında olup, temel etki mekanizmasının reaktif hidroksil radikalleri oluşturmasında yattığı düşünülmektedir (Nerup ve ark., 1994). Oksitlenme ve redüklenme döngüsü içinde yan ürün olarak süperoksit radikalleri oluşur. Bu radikallerden hidrojen peroksit bir dizi reaksiyon sonucu son derece reaktif hidroksil radikalleri sentezler ve beta hücrelerindeki DNA'ları serbest radikal maruziyeti ile parçalara ayırır. Diğer bir mekanizma; glukokinaz gibi protein ve

aminoasitlerin SH gruplarını oksitlemesi ve hücre içi kalsiyum dengesinin bozulması biçimindedir (im Walde ve ark., 2002).

STZ diyabetik modellerin oluşturulmasında iki şekilde kullanılmaktadır (AJ King, 2012):

- Yüksek doz tek enjeksiyon
- Düşük doz tekrarlayan enjeksiyon

4.1.5.1.1.1. Yüksek doz STZ ile model oluşturma

Yüksek doz STZ ile model oluşturma farenin türüne göre değişen 100-200 mg/kg STZ dozunun bir kez uygulanmasından ibarettir. Bu STZ dozu sıçanlar için 35-65 mg/kg olarak kabul edilir ve kimyasalın enjeksiyonunu takiben hızlı bir beta hücre harabiyeti gözlenir (Srinivasan ve Ramarao, 2007).

4.1.5.1.1.2. Düşük doz STZ ile model oluşturma

Bu modelde STZ, 4-5 gün süreyle 20-40 mg/kg dozlarında fare ya da sıçanlarda insülit oluşturmak amacıyla uygulanır. İnsülit, makrofajlardan salınan proinflamatuar mediyatörler aracılığıyla oluşmaktadır ve adacıklarda beta hücrelerin hızlı bir şekilde infilakına neden olur. Bu modelin oluşması, proinflamatuar sitokinlerin varlığına bağlıyken, T ve B hücrelerinden etkilenmemektedir. Bu nedenle insan diyabet profiline, insanlardaki otoimmüniteyi yansıtmaması açısından örtüşmez. Bu model, sitokin ve NO bazlı tedaviler ve bu kimyasalların beta hücre yıkımındaki rollerinin incelendiği çalışmalarda değerli bulunmaktadır (AJ King, 2012).

STZ'nin kullanıma ilişkin başka bir parametre uygulanacağı canlının erişkinliği olabilir. Yetişkin tipte bir rodente STZ uygulanması ile model oluşturabildiği gibi neonatal bir uygulamayla da modeller oluşturulabilir.

STZ -20 °C'de ışıktan korunarak saklanmalıdır. STZ ile oluşturulan modellerde 0,1 M sitrat tamponu çözücü olarak kullanılmaktadır. STZ çözeltisi uygulamadan hemen önce, taze olarak ve pH'sı 4,5-4,8 sitrat tampon içinde çözülerek hazırlanmalı ve 4°C'de ışıktan korunarak hemen uygulanmalıdır (Al-Awar ve ark., 2016).

4.1.5.1.1.3. Alloksan ile model oluşturma

Alloksan, farelerde 50-200 mg/kg, sıçanlarda 40-200 mg/kg dozlarında uygulanmaktadır. Modelin oluşturulmasında öngörülen doz hayvanın türüne ve uygulama yoluna bağlı olarak değişmektedir. Öyle ki alloksan dozları i.v. kullanımda i.p ve s.c yollara oranla üç katına kadar çıkabilmektedir (Szkudelski, 2001). Tavşanlarda uygun doz 100 mg/kg olarak öngörülür. Ancak düşük bir diyabetojenik doz aralığına sahiptir (J Wang ve ark., 2010).

Kimyasal yolla indüklenen modellerin kullanımı, etki mekanizması beta hücrelerden bağımsız olan terapileri ve ilaçları denemek için uygundur. Buna örnek olarak yeni nesil insülinler ve yeni bir tedavi strateji olarak kabul edilen beta hücre transplantasyonu verilebilir. Bu tip bir model, öngörülebilir hızda ve düzeyde diyabet oluşturur (A King ve Bowe, 2016). Başka bir kullanımı ise beta hücre glukotoksisitesinde mitokondriyal mekanizmanın takip edildiği çalışmalardır (J Wu ve Yan, 2015).

Bu tip modellerin tercih edilmesini zorlaştıran bazı dezavantajlar bulunmaktadır. Alloksan ve STZ yapı itibariyle glukoza benzemektedir ve glukoz transporter proteini-2 (GLUT-2) aracığıyla pankreatik hücreler içine alınır. Glukoz, transportörlere bağlanmak için bu kimyasallarla yarışacağı için, diyetle alınan glukoza bağlı olarak bu maddelerin diyabetojenik etkinliği değişebilmektedir. Ayrıca çalışmalarda, özellikle STZ uygulanmasını takiben gelişen karaciğer rejenerasyonu raporlanmıştır. Bu durum deneyin devamlılığı ve doğruluğuna gölge düşüren bir faktördür (Grossman ve ark., 2010). Ek olarak lenfopeni ve T regülatör hücrelerde artış, STZ ile indüklenen modellerde bildirilmiştir. Genel olarak bu maddelerin toksik etkisi yalnızca pankreas üzerinde sınırlı kalmamakta böbrek, bağırsak, beyin, akciğer gibi vital organlarda da görülmektedir. Bu nedenle diyabetojenik doza karar verilirken bu faktörlere dikkat edilmelidir (JH Lee ve ark., 2010).

STZ ve alloksanın rodentler dışında bazı gelişmiş yapılı canlılarda kullanımı mevcuttur. Dozlar hayvanın büyüklüğü ve tipine göre çeşitlilik göstermektedir. Cynomolgus maymunu ve sıçanlar için 50 mg/kg'lık doz yeterli iken domuzlarda 150 mg/kg uygun bulunmuştur ve bu hayvanlarda hiperglisemi 4. haftadan sonra gözlenebilir boyuttadır (Kramer ve ark., 2009).

4.1.5.1.2. Spontan modeller

Bu grup altında non-obez diyabetik (NOD) fareler, biobreeding (BB) sıçanlar, LEW.1AR1-iddm sıçanlar, Komeda diabetes prone (KDP) sıçanlar bulunmaktadır.

4.1.5.1.2.1. NOD fareler

En çok kullanılan spontan modellerden biri olarak gösterilmektedir. NOD fareler, 1974 yılında Japonya, Shionogi Araştırma Laboratuvarları'nda ilk olarak geliştirilmiştir (Hanafusa ve ark., 1994). İnsülit, farelerin 4-5. haftalarında başlar. Bu prediyabetojenik süreç boyunca pankreas CD4+ veCD8+ lenfositleri tarafından infiltre durumdadır (Yoon ve Jun, 2004). Subklinik olarak beta hücre harabiyeti insülite bağlı olarak devam ederken 10-14 haftada pankreastaki insülinin %90'ı kaybolmuştur. Ancak gözlenebilir diyabet 30. haftaya kadar belirti vermeyebilir. Hızla meydana gelen kilo kaybı hayvanda diyabetin geliştiğini düşündürür ve bu hayvanlarda insülin tedavisine gereksinim duyulur. Diyabet gelişimi dişi hayvanlarda, erkek hayvanlara kıyasla daha sık gözlenmektedir (Miyazaki ve ark., 1985).

NOD fareler T1DM'nin genetik ve patolojik yönlerinin anlaşılmasında oldukça değerlidir. İnsanlarda içlerinde MHC ailesinin de bulunduğu diyabetle ilişkili olduğu düşünülen pek çok gen NOD farelerde de tespit edilmiştir. Bazı çalışmalar NOD farelerde bulunan MHC sınıf-2 proteinlerinin yapısının, insanlardaki haliyle benzerlik taşıdığını ifade etmektedir. NOD fareler ile insanlar arasındaki, bu tip T1DM ile alakalı genlerin söz konusu benzerliği bazı mekanizma ve yolakların aydınlatılmasında faydalı bulunmuştur. Ancak anti-CD3+ ve oral insülin gibi NOD farelerinde başarılı bulunan bazı tedavi yaklaşımları da insanlarda etkisiz bulunmuştur. Buna ek olarak potansiyel terapilerin dozlarının, NOD farelerden insanlara uyarlanması başka bir zorluk olarak belirtilmektedir (Reed ve Herold, 2015).

Ayrıca NOD farelerde diyabetin gelişimi için spesifik patojen free (SPF) ortamlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu da NOD farelerin kullanımını kısıtlayan ekonomik bir faktördür (M von Herrath ve Nepom, 2009).

4.1.5.1.2.2. BB sıçanlar

1970'lerde Kanada'da ortaya çıkmış bir modeldir ve bugün pek çok otoimmün hastalıkta deneysel olarak kullanımı bulunmaktadır. NOD fareler gibi, BB sıçanlar da T hücre bağımlı bir otoimmün diyabet sergilemektedir. Ancak NOD farelerin aksine bu modelde insülit 2-3. haftalarda başlar, dişi ve erkek insidansı ise eşit kabul edilir. 8-16. haftalarda hiperglisemi, insülin eksikliği, poliüri, polidipsi belirgin biçimdedir. NOD farelerden farklı olarak ketoasidoz insanlardaki gibi BB sıçanlarda da ölümcüldür (Mathews, 2005).

4.1.5.1.2.3. LEW.1AR1. iddm sıçanlar

Bu modeller spontan olarak diyabeti geliştirecek, belirlenmiş MHC haplotipleri taşıyan, LEWİS sıçan kolonisinden elde edilmiştir. Ardışık aile içi çiftleşmelerle, diyabet insidansı % 20'den % 60'a çıkarılmıştır. Hastalığın başlama zamanı 8-9 haftadır ve iki cinsiyette de benzer insidanstadır. İnsülit; CD4+ ve CD8+ lenfositleri, makrofajlar, NK hücreleri ve B hücrelerinin infiltrasyonu sonucu oluşur ve pankreas dışındaki organlarda herhangi bir otoimmün reaksiyon gözlenmez. BB sıçanların aksine lenfopeni gelişmez (Lenzen ve ark., 2001).

4.1.5.1.2.4. KDP sıçanlar

KDP sıçanları, Long Evans Tokushima Lean türlerinin selektif çiftleştirilmesi sonucu oluşan bir alt tür olup, yüksek diyabet insidansına sahiptir. Hastalığın belirtileri 60 gün civarında ortaya çıkmakta ve hastalık ortalama 120. günde hayvanların % 80'inde gözlenmektedir. Çok sık kullanılan bir model değildir. Bununla birlikte, KDP sıçanlarında var olan Casitas B-lineage lymphoma (Cblb) genlerinin diyabetle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ancak insanlarda en sık polimorfizm gösteren şekli ile T1DM arasında anlamlı bir bağlantı bulunamamıştır (Yokoi ve ark., 2008).

4.1.5.1.3. Genetik manipülasyonla oluşturulan modeller

Akita fareleri ilk olarak Japonya'da *C57BL/6NSlc* farelerinden insülin-2 genlerindeki spontan mutasyon ile oluşturulmuştur. Bu fareler, insülin genlerindeki bir nükleotit sübstitüsyonu sonucu meydana getirilen, *Ins2*$^{+}$*/C96Y* adı verilen mutasyonu taşımaktadır. Bu mutasyon hatalı proinsülin üretimine ve bu proteinlerin

endoplazmik retikulm (ER) içinde birikmesine neden olmaktadır. Sonuçta pankreatik beta hücre hasarı, insülin sekresyonunda azalma ve nihayet T1DM gelişmektedir. İnsüline bağımlı diyabet hiperglisemi, hipoinsülinemi, poliüri, polidipsi gibi karakteristik belirtilerle 3-4 hafta içinde başlamaktadır. Transplantasyon çalışmalarında, bu modelde beta hücrelerin bulunmaması nedeniyle STZ ile indüklenen modele alternatif olarak kullanılmaktadır. Ayrıca nöropati, Tip 1 diyabetik makrovasküler hastalıklar, nefropati ya da ER stresinin izlendiği diyabetik çalışmalarda da Akita farelerinden yararlanılmaktadır (Gurley ve ark., 2010).

4.1.5.1.4. Virüslerle indüklenen modeller

T1DM'nin patofizyolojisinde virüslerin olduğuna inanılmaktadır. Bu nedenle beta hücre hasarına öncülük eden bazı virüsler, deneysel model oluşturmak üzere kullanılmaktadır. Bu tip bir hasar, virüsün kendisinin doğrudan beta hücrelerini enfekte etmesi şeklinde olabileceği gibi beta hücrelere karşı otoimmün bir yanıtın oluşturulmasına katkı sağlamak biçiminde de olabilir. Coxsackie B virüs, ensefalomyokardit etkeni virüs, Kilham sıçan virüsü modellerin oluşturulması kapsamında yararlanılan virüs çeşitlerindendir (Jun ve Yoon, 2003).

Ayrıca, lymphocytic choriomeningitis virüsünden (LCMV) sentezlenen bir viral antijenin diyabete neden olduğu bir transgenik virüs modeli tasarlanmıştır. Bu fareler normal şartlar altında beta hücre harabiyetinin hiçbir belirtisini göstermezken, LCMV enjeksiyonu sonucunda antijene cevap olarak oluşan immün cevabın tetiklediği bir beta hücre yıkımı ve diyabet oluşumu gözlenmiştir (MG von Herrath ve ark., 1997).

Virüslerle indüklenen modellerde bazı kısıtlamalarda göze çarpmaktadır. Bunlar, hastalık oluşumunun virüslerin replikasyonu ve enfeksiyon oluşumuna bağlı olması ve otoimmünite üzerinde karşıt etkilerinin bulunabilmesidir (artırdığı gibi azaltabilir). Tüm bu etmenler bu modellerin kontrol edilebilirliğini zorlaştırmaktadır (M von Herrath ve ark., 2011).

Bu modellerin dışında giriş kısmında da bahsedilen pankreotektomi cerrahi bir yöntem sayılmaktadır. Bu modelin sakıncası, oldukça invaziv bir girişim olması, pankreasın ekzokrin faaliyetlerine de zarar vermesidir (He ve ark., 2011).

4.1.5.2. T2DM hayvan modelleri

Tip-2 diyabet, patolojisinde genetik veya çevresel etmenlerin bulunduğu pek çok hastada ise ikisinin birlikte rol oynadığı metabolik bir hastalıktır. Obezitenin, insülin rezistansı gelişimine olan dolaylı katkısı, T2DM ile olan ilişkisini izah etmektedir. Buna rağmen T2DM olan pek çok hasta obez kategorisine girmemekle birlikte daha düşük bir insülin sekresyonu ve insülin direnci sergilemektedir. Temelde periferal insülin rezistansı, hiperinsülinemi, β hücre disfonksiyonu ve bu faktörlere bağlı olarak yüksek ya da düşük insülin seviyeleri hastalığa eşlik etmektedir. Glisemik kontrol diyabetin bulunduğu faza bağlı olarak değişiklik göstermektedir. T2DM'nin patofizyolojik nedenlerinin tam olarak anlaşılması çevresel ve genetik faktörler ile diyabetin komplikasyonları nedeniyle güçtür ve hastalık farklı tiplerde klinik ve patolojik durumlar oluşturmaktadır (Nelson ve Reusch, 2014).

T2DM, tüm diyabet vakalarının % 90'ını oluşturmaktadır. Diyabeti karakterize eden metabolik anormaliteler bir süre sonra klinik komplikasyonlara neden olmaktadır. Tedavide en önemli hedef öncelikle metabolik dengeyi yeniden kurmaktır. Hastalığın doğal süreci ve komplikasyonların oluşması zaman aldığı için, hastalar için etkili tedavi ve müdahalelerin saptanması zorlaşmaktadır. Bu nedenle diyabetin komplikasyonlarını ve gelişimini kontrol etmek ve mevcut tedavinin etkisini tespit etmek zaman ve maliyet faktörlerinin kısıtlaması altındadır. Bu gibi zorluklar insanlarda potansiyel tedavi seçeneklerini test etmeye olanak sağlayacak hayvan modellerinin seçiminde bazı gereklilikleri mecbur kılmaktadır. Hayvan modelleri, patofizyolojik temellendirme çalışmalarında kullanılabildiği gibi potansiyel stratejilerin test edilmesinde de uygulanabilir. T2DM kapsamında kullanılabilecek hayvan modelleri, ya hastalığın patofizyolojisini gözler önüne serebilecek niteliklere sahip olmalı ya da insanlardakine benzer bir etiyolojiyle diyabet komplikasyonlarını ve belirtilerini kısa sürede oluşturmalıdır. Tüm bu özelliklere sahip olan tek bir hayvan modeli henüz keşfedilmese de spesifik durumları gösteren pek çok hayvan modeli literatürde mevcuttur (Cefalu, 2006).

Bu modeller insanlarda sıkça gözlenen bir ya da birden çok diyabetik fenotipleri yansıtmaktadır. Yukarıda da bahsedildiği gibi obezitenin diyabet gelişimindeki rolü gözetilerek, hayvan modelleri; temelde obezite yoluyla ya da obeziteden bağımsız diyabet oluşturmalarına göre sınıfladırılmaktadır (Chatzigeorgiou ve ark., 2009):

- Obez rodent modelleri
- Non-obez rodent modelleri

Rodentlerin dışında kedi, domuz ve primatlarda da T2DM üzerine yapılan çalışmalar bulunmaktadır.

4.1.5.2.1. Obez modeller

Obez T2DM'li hayvanlar en sık kullanılan model grubu olarak karşımıza çıkmaktadır. Obezite genetik manipülasyonlar ya da mutajenler yoluyla oluşturulabilmektedir. Bu modeller obezite ve diyabet arasındaki ilişkiyi ortaya koymaya yönelik çalışmalar için değerlidir (AJ King, 2012).

4.1.5.2.2. Monogenik modeller

Monogenik mutasyonların, insanlarda obeziteye nadiren sebep olduğu düşünülse de deneysel modelleri araştırmalarda kullanılmaktadır. En çok kullanılan modellerde leptin sinyal yolağında bozukluk saptanmıştır. Leptin, doygunluk hissinin oluşmasından sorumlu bir maddedir, eksikliğinde hayvanlarda hiperfaji yani çok yemeye ve dolayısıyla obeziteye neden olur. Bu modellerden; Lep $^{ob/ob}$ farelerinde leptin maddesinde bir hasar mevcutken, Lep$^{db/db}$ ve Zucker diyabetik yağlı (ZDF) sıçanlarında leptin reseptörlerinde bozukluk gözlenmiştir (S Yoshida ve ark., 2010; Park ve ark., 2011).

4.1.5.2.2.1. Lep $^{ob/ob}$ fareler

Bu modele 1949 yılında Jackson Laboratuvarı'nda bir outbreeding yöntemiyle üretilen bir kolonide rastlanmıştır. Ancak leptin molekülünde gerçekleşen spontan mutasyonun obeziteye neden olduğu 1994 yılına kadar anlaşılamamıştır (Y Zhang ve ark., 1994).

Bu türde mutasyon yaklaşık 2 hafta sonra kilo artışı ve hiperinsülinemi gözlenebilir hale gelmektedir. Kan glukozu ise 4. haftada yükselmeye başlar, 3-5 ayları arasında pik seviyesine ulaşır ve hayvan yaşlandıkça normale döner. Hiperlipidemi, fiziksel aktivitede azalma, vücut ısısının regülasyonunda bozukluk ve infertilite görülen diğer değişiklikler arasındadır. Ek olarak adacıkların hacminde ciddi bir artış söz konusudur (Lindstrom, 2010).

4.1.5.2.2.2. Lep$^{db/db}$ fareler

Leptin reseptörlerinde oluşan otozomal resesif bir mutasyon sonucu bu modelde fareler 4 haftalıkken obez hale gelir, hiperinsülinemi ve insülin direncine 2. haftada rastlanır. 4-8. haftalar arasında ise hiperglisemi beta hücre disfonksiyonuna bağlı olarak ortaya çıkar ve 8-10 haftadan fazla gözlenebilir değildir (Bates ve ark., 2005).

4.1.5.2.2.3. ZDF sıçanları

1961 yılında Merck M-strain ve Sherman sıçanlarının çaprazlanması ile keşfedilen Zucker fatty sıçanları da Lep$^{db/db}$ farelerine benzer biçimde leptin reseptör mutasyonunu taşırlar. 4 haftalıkken sıçanlar obez hale gelir ve sıçanlarda hiperinsülinemi, hiperlipidemi ve glukoz intoleransı gözlenir (Phillips ve ark., 1996). Leptin hormon reseptörlerinde homozigot bir mutasyonun etkisiyle yüksek enerji diyetiyle beslenen erkek sıçanlarda T2DM gelişimi gözlenmiştir. Bu hayvanlarda 3-8 haftaları arasında insülin direnci ve glukoz intoleransı belirir ve hayvanlar 8-10 haftalıkken diyabetik hale gelirler. ZDF hayvanlarında yapılan bir çalışmada adacıkların DNA içeriği ile serum insülin seviyeleri arasında bir ilişkinin varlığı ifade edilirken, adacık hiperplazisinin hiperinsülinemiye neden olabileceği üzerinde durulmuştur (Tokuyama ve ark., 1995).

İnbreed ZDF sıçanları; bu türde gerçekleşen bir mutasyon sonucu diyabetojenik fenotipe sahip bir alt tür olarak tanımlanmaktadır. Bu hayvanlar Zucker fatty sıçanlarına kıyasla daha az obez nitelikte olup, hayvanlarda ciddi bir insülin direnci gelişimi söz konusudur. Bu durum hayvanların beta hücre kaybını engelleyecek aktivite gösteremediklerine yorulmaktadır. 8-10. haftada diyabet gelişimi erkek hayvanlarda tamamlanmışken, dişiler bu fenotipi gösterememektedir. Hayvanlarda diyabetik komplikasyonlara rastlanabilmektedir (Shibata ve ark., 2000).

4.1.5.2.3. Poligenik modeller

Diyabet, insanda poligenik kökenli bir hastalığı tasvir etmektedir. Bu nedenle poligenik modeller, monogenik modellere kıyasla daha doğru bir seçim olarak kabul edilmektedir. Bir dezavantajı bu modelde kan glukoz kontrolünün zor sağlanmasıdır. Yine de diyabet ile obezite arasındaki ilişkiyi aydınlatmada, Tip-2 diyabet

semptomlarına ve komplikasyonlarına yönelik çalışmalarda sıkça kullanılmaktadır (A King ve Bowe, 2016).

4.1.5.2.3.1. Kuo kundo (KK) fareler

KK fareleri, Japonya'da iri vücut boyutlarına ulaşmak üzere çiftleştirilmiş bir türden elde edilmiştir. Hiperfaji, hiperinsülinemi ve insülin direnci KK farelerinin başlıca diyabetik belirteçlerini oluşturmaktadır. Fareler 2. aydan başlayarak 4-5 aya kadar kilolarını artırarak obez hale gelirler. Ancak yiyecek alımındaki herhangi bir kısıtlama obezite ve hiperglisemi belirtilerinde düşüşe neden olur. Pankreatik adacıklarda hücre artışına bağlı olarak insülin direnci ve glisemik kontrol bir ölçüde kontrol altında tutulabilir (Ikeda, 1994).

Pek çok koloni ve alt tür KK farelerinin çiftleştirilmesiyle oluşturulmaktadır. KK/A^y, bunlar arasında en sık üretilen formdur ve ölümcül yellow obez geni (A^y) taşımaktadır. Homozigot mutasyon taşıyanlar kısa süre sonra hayatını kaybederken, heterozigotlar 8. haftada ciddi obez, hiperglisemik ve hiperinsülinemik hale gelmektedir (Diani ve ark., 2004).

4.1.5.2.3.2. New Zealand obez (NZO) fareler

Selektif inbreeding yöntemiyle üretilen NZO fareleri, ilk 2 hafta içinde hızla kilo almaya başlarlar. Diyabet görülme sıklığı ise NZO farelerinin farklı tiplerine göre çeşitlilik göstermektedir. Glukoz ve insülin miktarları KK farelerine benzerlik gösterse de NZO farelerinde, erken dönemlerden itibaren hepatik insülin direnci gelişir. Ek olarak leptin rezistansına bağlı olarak gelişen hiperleptinemi 9-12. haftalarda mevcuttur. Bu durum ise hiperfaji ve obezitenin gelişiminden sorumludur. Glukoz seviyesi ve insülin direnci yaşla birlikte hız kazanırken 20-24 haftaları arasında kan glukozu 300-400 mg/dl olarak ölçülmektedir. Dişilerde, erkeklere oranla diyabet gelişimi daha nadir olarak belirlenmiştir (Franconi ve ark., 2008).

4.1.5.2.3.3. Otsuka long-evans tkushima şişman (OLETF) sıçan

Bu sıçanlar, Long-Evans sıçanlarının outbred kolonilerinden meydana gelmiştir. Erkek farelerde, diyabet gelişim riski daha fazladır ve 18-25 haftalıkken oluşmaktadır. Hayvanlar, polifaji, insülin yüksekliği gibi klasik diyabet

semptomlarının yanı sıra trigliseridemi, kolesterolemi gibi lipit metabolizmasına ilişkin değişiklikler göstermektedir. Obezite orta düzeyde devam eder ve hiperglisemi nispeten geç; 18. haftada oluşur (Kawano ve ark., 1992). İlerleyen dönemlerde adacıklar üç fazlı bir histolojik değişim sürecine uğramaktadır. Erken faz; hücresel infiltrasyon ve dejenerasyon, daha sonraki faz hiperplazi ve nihayetinde en son faz fibrotik dokuya dönüşüm ile karakterizedir. Ayrıca bu hayvanlar diyabetin renal komplikasyonlarını sergileyebilmesi açısından avantajlıdır (MY Lee ve ark., 2011).

4.1.5.2.3.4. Nagoya-shibata-yasuda (NSY) fareler

KK fareleri gibi selektif inbreeding metodu ile üretilirler. NSY fareleri, yaşlanmaya bağlı olarak spontan bir biçimde hastalığı oluştururlar. İnsülin direnci ve bozulmuş insülin salgılama yeteneği göstermeleri diyabetik özellikleri oluşturmaktadır. Bu modellerde diyabet gelişimi ciddi oranda cinsiyete bağlı bir durum takınmaktadır. Öyle ki; neredeyse tüm erkek hayvanlar, dişilerin ise yalnızca % 30'u hastalıktan muzdariptir. Ek olarak hayvanlara yüksek yağlı diyet ve sükroz verilmesinin diyabet gelişimini hızlandırıcı nitelikte olduğu sonucuna ulaşılmıştır. NSY fareleri daha çok yaş ile alakalı diyabetik komplikasyonların ve fenotiplerin izlenildiği çalışmalarda kullanılmaktadır (Kawano ve ark., 1992).

4.1.5.2.3.5. Tally/ho/jng fareler

Diğer modellerden farklı olarak trigliserit, kolesterol, serbest yağ asidi miktarı artışı ve yağlanma dikkat çekici düzeydedir. Hiperglisemi 10-14. haftalar arası gözlenebilir düzeydedir ve yalnızca erkek bireylere özgüdür (Leiter, 2009).

4.1.5.2.4. Yüksek yağlı diyet ile indüklenen modeller

Bu model türü, ilk defa 1988 yılında C57BL/6 farelerine yüksek yağlı diyet verilmesi ile üretilmiştir. Obezite, insülin miktarında artış, glukoz metabolizması dengesinde değişiklikler, langerhans adacıklarının yeterli işlev görememesine bağlanmaktadır. Normal bir diyet %26 protein, %63 karbonhidrat, %11 yağ içermekteyken, yüksek yağlı diyette yağ %58 civarındadır. Modelin başarıya ulaşmasında önemli bir husus, hayvanların gereken miktarda yüksek yağ içeriğini aldığını garanti altına almaktır.

Bu şekilde beslenmeye başlatılan hayvanların 1 hafta içinde kilo aldıkları belirtilmektedir. Ancak kiloda belirgin değişikliklerin gözlenebilmesi için en az 8 hafta kadar bir sürenin geçmesi gerektiği ifade edilmiştir. Obezite, insülin direncini tetiklerken, langerhans adacıklarında bu işlemi geri çevirecek yeterli beta hücresinin bulunmaması glukoz intoleransına sebebiyet vermektedir (Geng ve Hansson, 1992).

Obezitenin altında genetik faktörlerden çok çevresel faktörler yer aldığı için, obezite oluşturmak için kullanılan hayvan modellerinin seçiminde genetik değişikliklerden çok, insanlarda oluşum mekanizmasını baz almak daha doğru olarak kabul edilmektedir. Transgenik ya da knock-out metodu ile oluşturulan modellerde yüksek yağlı diyetin uygulanması ile bariz bir diyabet gelişimi oluşmasa bile, beta hücrelerine yapılacak bir müdahale hastalığı tetikleyebilir. Ancak bu durumda kullanılacak fare türünün dirençli olmamasına dikkat edilmelidir (Surwit ve ark., 1995).

4.1.5.2.5. Diğer diyetlerle indüklenen modeller

Bu grupta desert gerbil ve Nile grass sıçanları incelenecektir.

4.1.5.2.5.1. Desert gerbil (*Psammomys obesus*)

İsrail kum sıçanları olarak da bilinen bu hayvanlar en sık kullanılan diyetle indüklenen modellerdir. Normal vejeteryan diyet ile beslendiklerinde hastalık izleri görülmezken, yüksek yağlı diyet ile beslendiklerinde obez hale geldikleri ve hiperfaji, hiperinsülinemi, glukoz intoleransı, hiperglisemi gibi diyabetik bulgulara rastlandığı görülmüştür. Diyabetik karakteristiklerinin şiddeti hiperinsülinemi ve hiperglisemiden insüline bağımlı hiperglisemiye kadar çeşitlilik göstermektedir (Shafrir ve ark., 2006).

Kum sıçanlarında bulunan "Tanis" adlı genin diyetle beslendikten sonra diyabetik hayvanların karaciğerinde up regüle olduğu, bu nedenle obezite ve diyabet ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Walder ve ark., 2002).

4.1.5.2.5.2. Nile grass sıçanları

Metabolik sendrom için kullanılan yeni keşfedilen bir modeldir. Ayrı kafeslerde tutulan ve normal diyetle beslenen hayvanların çoğunda bir yıl içinde hiperglisemi, dislipidemi, obezite gelişmektedir (Noda ve ark., 2010).

4.1.5.2.6. Non-obez modeller

Tip-2 diyabet, obez fenotipten bağımsız olarak da gelişebilmektedir bu nedenle non-obez modellerle çalışılması hastalığın bu kısmının aydınlatılması açısından önemlidir.

4.1.5.2.6.1. Goto-Kakizaki sıçanlar

Goto-Kakizaki sıçanları, T2DM'nin poligenik ve non-obez bir modelidir ve glukoz toleransı zayıflamış Wistar sıçanlarının pek çok nesil boyunca selektif olarak çiftleştirilmesi metodu ile oluşturulmuşlardır. Model, insülin direnci ve hasarlı insülin sekresyonu ile karakterizedir. Bu duruma neden olan etmenin, β hücre proliferasyonuna bağlı apopitoz sonucu adacıklarda işlev ve kütle kaybı olduğu sanılmaktadır (Miralles ve Portha, 2001).

Diyabetik eğilimin kalıtımında 3 genetik lokusun glukotoksisite ve insülin sekresyonundaki hatadan sorumlu olduğu düşünülmektedir. Kan gukozu 3-4 haftalıkken yükselir. Kronik hiperglisemi, β-hücre fonksiyonunu daha da etkileyerek hiperinsülinemiye ve dolaylı yoldan kan glukozu yüksekliğine katkı sağlamış olur. Goto-Kakizaki sıçanları insanlarda diyabet komplikasyonlarına benzer bazı diyabetik durumları sergilemektedir. Renal lezyonlar, periferal sinirlerde ve retinada anormaliteler bunlardan bazılarıdır (Rees ve Alcolado, 2005).

4.1.5.2.6.2. hIAPP fareler

Adacıklarda amiloid cisimciklerin oluşumu T2DM'de sıkça rastlanan bir durumdur. Rodentlerde bu cisimcikleri oluşturacak amiloid peptitlerin varlığı söz konusu değildir ancak transgenik fareler insana ait bu proteini üretebilmektedir. Bu hayvanlarda amiloid peptitlerin artışı beta hücre toksisitesine neden olarak, bu hayvanlarda diyabet benzeri bir tablo oluşturdukları bilinmektedir (Matveyenko ve Butler, 2006).

4.1.5.2.7. Diğer modeller

Transgenik ve knock out hayvanlara, insülin rezistansının ve beta hücre fonksiyonlarının incelenmesi amacıyla başvurulmaktadır. "Gen hedefleme (gene targetting)" terimi basitçe embriyonik kök hücrenin genetik materyalinden spesifik bir genin çıkarılması ve bu hücrenin germ hücre hattına sokulması anlamına gelmektedir. Bu şekilde üretilen hayvanlar "knock-out" hayvanlar adını almaktadır. Transgenik canlılar ifadesi ise rekombinant DNA teknolojisi ile bir ya da birden fazla türe ait organizmaların genlerinin yeni bir çeşit oluşturmak amacıyla modifiye edilmesi suretiyle oluşmaktadır. Bu şekilde elde edilen gen karışımı taşıyıcı canlıya nakledilir ve modifiye edilen genler eksprese edilir (Rees ve Alcolado, 2005).

İnsülin sinyalinde görevli IRS ve diğer dokuya spesifik insülin reseptörlerinin saptanmasında transgenik farelerden faydalanılmıştır. Yine glukoz metabolizması ve enflamasyon arasındaki bağlantının araştırılmasında diğer transgenik fareler yararlı bulunmaktadır. Knock-out fareler ise pankreatik beta hücre fonksiyonunun çalışıldığı durumlarda önem arz etmektedir (K Kim ve ark., 2015).

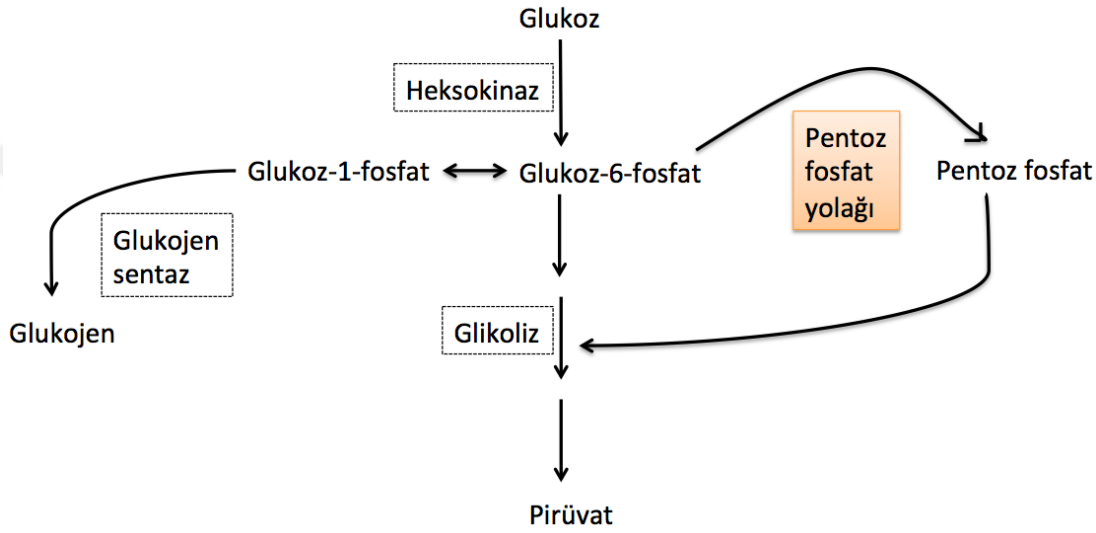
STZ ve alloksan uygulaması, T1DM dışında T2DM'nin de deneysel bir modeli sayılmaktadır. Pek çok çalışmada STZ, toksisitesini azaltmak amacıyla nikotinamid ile beraber verilmektedir. Nikotinamidin, STZ'den yaklaşık 15 dakika önce deney hayvanlarına tatbiki, deney hayvanlarının %75-80 civarında stabil kan şekeri yüksekliği ile karakterize diyabet oluşturmaktadır (Masiello ve ark., 1998). STZ ve yüksek yağlı diyet ile indüklenen bir çalışmada, nikotinamidin STZ'nin neden olduğu adacık apopitozisini azaltmak ve pankreastaki insülin içeriğini düzenlemek suretiyle beta hücre hasarını engelleyerek, koruyucu etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Fukaya ve ark., 2013).

STZ farklı bir dozda neonatal dönemde de uygulanabilir. 2 günlük farelere 100 mg/kg i.v. ya da i.p. verilen STZ, farelerde uygulamadan 2 gün sonra kan glukozunu yükseltmektedir. 10. güne kadar ise beta hücrelerinin toparlandığı ve glukozun normal seviyelere döndüğü gözlenirken ancak 6. haftaya kadar diyabetik bozuklukların geri döndüğü belirtilmiştir. Bunun sebebinin yetersiz beta hücre fonksiyonu olduğu sanılmaktadır (Bonner-Weir ve ark., 1981).

Farelere ya da sıçanlara uygulanan pankreatektomi yöntemi ile pankreasın %60-90 kadarı çıkarılır (Bonner-Weir ve ark., 1983). Pankreatektominin neonatal STZ yöntemi ile kombine kullanımı pankreatik beta hücrelerin işlev ve yenilenmesinin izlendiği çalışmalar için tercih edilmektedir (A King ve Bowe, 2016).

4.1.6. Glukoz metabolizması

4.1.6.1. Glikoliz



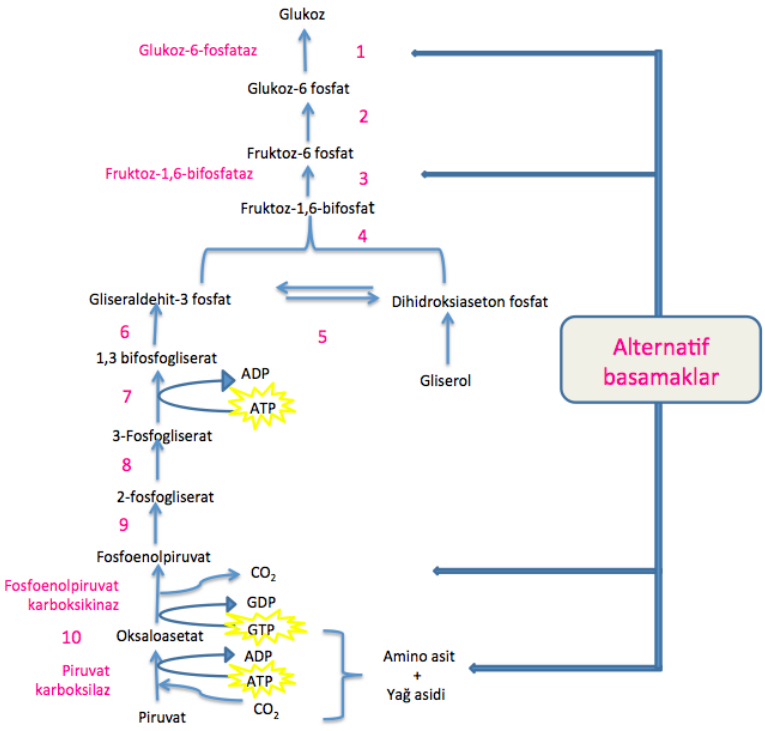
Şekil 1. Glukoz metabolik yolakları

Glikoliz, glukozun piruvat ve laktata parçalanması olayıdır. Hücre tipine göre glukoz transporter proteinlerinin tipi değişmekle beraber, GLUT-2 ve GLUT-4 asıl transporterları oluşturmaktadır. Glukozun taşıyıcılar yardımıyla hücre içine alınmasını takiben glikoliz gerçekleşir. Birkaç basamakta gerçekleşen enzimatik reaksiyonlar aracılığıyla glikoliz hızı ve oranı belirlenir. İlki, hekzokinaz (HK) II yada hekzokinaz IV'ün (glukokinaz) katalizlediği glukoz fosforilasyonu basamağı, ikincisi ise 6-fosfofruktokinaz-1'in (6PFK1) katalizlediği fruktoz-1,6-bifosfatın oluştuğu basamaktır. İkinci hız kısıtlayan basamak, 6-fosfofruktokinaz-2/fruktoz-2,6-bifosfataz (6PFK2/FBFaz2) aracılı meydana gelen fruktoz-2,6-bifosfat ile aktive olmaktadır. Hepatositlerde, glikoliz hepatik glukoz üretimi ve dolayısıyla kana verilen glukoz miktarını etkilemektedir. Bu regülatör enzimlerin miktarındaki sapmalar hiperglisemi gibi diyabette gözlenen metabolik değişikliklere neden olabilmektedir (Hers, 1990).

Glikoliz, 6 karbonlu glukozdan 3 karbonlu piruvat ve laktat oluşumunu kapsayan pek çok alt basamağı içeren bir süreçtir. Vücut için gerekli enerji üretiminin ilk aşamasını oluşturmaktadır. Ayrıca lipojenez, glikojenez gibi metabolik yolaklar için substrat üretimi söz konusudur. Hücre içine glukoz insülin aracılığıyla GLUT'lar sayesinde taşınır ve kullanılır. Glikoliz tüm dokularda, sitoplazmada aerobik ya da anaerobik koşullarda gerçekleşmektedir. Glikoliz boyunca 4 ATP, 2 NADH (Nikotinamit adenin dinükleotit indirgenmiş formu) üretilmektedir. Ancak 2 ATP bu işlem için kullanıldığından net kazanç 2 ATP'dir. NAD^+ kofaktörü, elektron alıcısı olarak çeşitli reaksiyonlarda kullanılmaktadır. Vücutta kısıtlı oranda bulunan NAD^+ miktarı azaldığında söz konusu reaksiyonların devam edebilmesi için NADH'ın NAD^+'a reokside olması gerekmektedir. NADH, enerji üretimi amacıyla redoks reaksiyonlarında rol oynamaktadır (Tirone ve Brunicardi, 2001).

Pentoz fosfat yolağı, glutatyon peroksidaz (GPx)/GR antioksidan sistemi için gerekli indirgeyici ürünlerin üretildiği ana kaynaklarından biridir.

4.1.6.2. Glukoneojenez



Şekil 2. Glukoneojenezin basamakları

Glukoneojenez, temel olarak karaciğerde gerçekleşen karbonhidrat dışı kaynaklardan glukoz üretilmesini kapsayan bir süreçtir. Major prekürsörler, laktat, amino asit ve gliseroldür. Glukoneojenez ve glikolizin bazı basamaklarını katalizleyen enzimler aynı olmakla beraber, glukoneojenez, glikolizde bulunmayan bazı enzim sistemlerini içermektir. Dolayısıyla glukoneojenez için glikolizin tamamen tersi olduğu ifadesi doğru değildir. Yukarıdaki şekil, glikoliz ve glukoneojenezin basamaklarını özetlemektedir. Pembe renkli enzimlerin katalizlediği basamaklar, glukoneojenezin alternatif basamaklarını göstermektedir. Glukoneojenezde 2 mol laktattan 1 mol glukoz için 6 ATP tüketilmektedir. Anaerobik koşullarda glikoliz ile üretilen laktat, kan dolaşımıyla karaciğere gelir ve burda glukoneojenezle yeniden glukoza dönüşür. Bu glukoz karaciğer tarafından kana verilir ve kaslara glikojenez ya da enerji üretimi için geri döner. Glukozun karaciğer ve kas dokuları arasındaki bu döngüsüne cori siklusu da denilmektedir. Glukoneojenez, glikoliz ile karşılıklı olarak çoklu mekanizmalarla kontrol edilmektedir. Glukagon, glukoneojenezi hızlandırmaktadır. Piruvat kinaz, glukagon tarafından inaktive edilmek suretiyle, fosfofruktokinaz-1, fruktoz 1,6-fosfataz ATP/AMP dengesine göre allosterik olarak glukoneojenezi yönetebilir. Fosfoenolpiruvat karboksilaz (PEPCK), glukoneojenezin hız kısıtlayıcı basamağını oluşturan enzimlerden bir diğeridir. PEPCK, CREB (cAMP-cevap elementi bağlayıcı protein) tarafından transkripsiyonu artırılarak glukoneojenezi düzenleyebilir. PEPCK ekspresyonu, artmış glukoneojenez ile sonuçlanacaktır (Xiong ve ark., 2011).

4.1.6. T2DM tedavisinde kullanılan ilaçlar

Farmakolojik Tedavi

- Biguanidler
- Sülfonilüreler
- Meglitinid türevleri
- α-glukosidaz inhibitörleri
- Tiozolidindionlar (TZD)
- Glukagon benzeri peptid (GLP-1) agonistleri
- Dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4) inhibitörleri
- Sodyum bağımlı glukoz transporter-2 (SGLT-2) inhibitörleri

- İnsülin analogları
- Amilinomimetikler
- Safra asidi toplayıcılar
- Dopamin agonistleri

4.1.6.1. Biguanidler

Klinikte kullanılan tek biguanid metformin'dir. Diğer bir biguanid olan Fenformin, 1970'lerde Amerika'da laktik asidoz riski taşıması ve mortalite ile ilişkili (yaklaşık %50'lik oranda) bulunduğu için piyasadan çekilmiştir. Metformin ise etkili ve güvenli bulunmuştur (Scarpello ve Howlett, 2008). Bir iç içe olgu-kontrol çalışmasında, diğer oral antidiyabetik ilaçlarda (OAD) olduğu gibi metformin kullanımı sırasında laktik asidoz görülme sıklığı seyrek olmakla birlikte diyabet ile eşzamanlı meydana gelen hastalıklarla ilişkili bulunmuştur (Bodmer ve ark., 2008).

Metformin bazal ve postprandiyal kan glukozunu düşürür. Mekanizmasını diğer OAD'lerden ayıran karaciğerde glukoneojenezi azaltarak etki göstermesidir. Ayrıca, glukozun barsaktan absorbsiyonunu azaltır ve periferal glukoz alımını ve kullanımını artırarak insülin duyarlılığını artırmaktadır. Bunun yanı sıra sülfonilürelerin aksine metformin nadiren de olsa hipoglisemiye neden olmaktadır.

Bazal değerleri anormal bir şekilde yükselmiş olan metformin kullanan hastaların HbA1c ve lipid profilinde önemli iyileşmeler gözlenmiştir. Buna ek olarak; metformin az miktarda kilo kaybına güvenilir bir şekilde yardımcı olan tek OAD'dir. İngiltere Geleceğe Yönelik Diyabet Çalışması (UKDPS) verilerine göre, obez hastalarda makrovasküler hastalık sonlanım noktalarını azaltmada etkili bulunmuştur (Turner ve ark., 1999). Çeşitli popülasyonlarda metformin ile birlikte sülfonilürelerin kullanımı çelişkili bulunmuştur fakat genel olarak metformin diyabet komplikasyonlarından makrovasküler riskleri iyileştirmektedir (UKPDS, 1998).

T2DM'li hastalarda metformin tedavisine insülin eklendiğinde vücut ağırlığında, glisemik kontrol ve insülin ihtiyacında iyileşmeler olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar T2DM'li hastalarda insüline başladıktan sonra metformin tedavisine devam etmeyi de desteklemektedir (Kooy ve ark., 2009).

Yeni başlamış T2DM hastalığında glisemik kontrolün metformin veya insülin ile sağlanması ile inflamatuvar biyobelirteçlerin azalması arasında bir ilişki

bulunamamıştır (Pradhan ve ark., 2009). Hastalar rastgele 4 gruba ayrılmıştır; plasebo, plasebo+insülin glarjin, metformin, metformin +insülin glarjin. İnsülin veya metformin alan hastalar ile plasebo arasında yüksek duyarlıklı inflamatuvar biomarker C-reaktif protein (CRP) seviyelerinde farklılık görülmemiştir.

Metformin ve sülfonilüre tedavisi alan hasta sınıflarında fayda açısından bir fark bulunmamıştır (Gross ve ark., 2011).

20 farklı toplumdan 13,008 hem kanser hem T2DM olan hastanın dahil olduğu meta-analizde; metformin tedavisi alan hastaların diğer glukoz düşürücü ilaçlara kıyasla daha iyi ve kansere yönelik sağkalıma sahip oldukları bulunmuştur (Yin ve ark., 2013). Bu iyileşmeler farklı kanser alttipi ve coğrafi bölgelerde gözlenmiştir.

Prostat kanseri, pankreatik kanser, meme kanseri, kolorektal kanser ve diğer kanser türlerinin görüldüğü hastalar arasında önemli ölçüde risk düşüşüne sebep olurken akciğer kanseri olan hastalarda anlamlı bir düşüş yoktur (Arrieta ve ark., 2016). Bununla birlikte, metforminin diyabetli kanser hastalarında klinik sonuçları modüle edip edemediği belirsizliğini korumaktadır.

4.1.6.2. Sülfonilüreler

Sülfonilüreler (glirubid, glipizid, glimeprid gibi) pankreas beta hücrelerinden insülin salınımını uyararan insülin salgılatıcılar ve büyük olasılıkla oral ajanlardan glisemiyi en iyi düşürendir. Bununla birlikte, bu etki kısa süreli olup hızlıca yok olmaktadır. Sülfonilüreler insülin reseptörlerinde artışa bağlı olarak periferik olarak insüline duyarlılığı veya insülin-reseptör bağlanmasından sonraki olaylarda meydana gelen değişiklikleri geliştirebilir.

Sülfonilüreler, T2DM'li yetişkin hastalarda diyet ve egzersize ek olarak kullanım için endikedir. Genellikle iyi tolere edilebilen, en belirgin yan etkisi hipoglisemi olan ilaçlardır. 1. jenerasyon sülfonilüreler asetoheksamid, klorpropamid, tolazamid ve tolbutamid; 2. jenerasyonlar ise glipizid, gliburid ve glimepiriddir. 2. jenerasyon sülfonilürelerin yapısal karakteri düşük dozlarda ve günde bir kere verilmesine olanak sağlamaktadır.

Yapılan bir çalışma akut miyokard enfarktüsü ile hastaneye başvuran diyabetik hastalarda oral ajanlardan sülfonilüre grubunun kardiyovasküler ölümün başlıca nedeni olduğu suçlamalarından kurtarmıştır. Bunun yanı sıra, genelde oral

hipoglisemikler içerisinde sülfonilüreler daha güvenli olmasına rağmen gliklazid, glimeprid gibi (%2.7) diğer sülfonilürelerle kıyaslandığında gliburid en yüksek ölüm oranı ile ilişkili bulunmuştur (%7.5). Bu oran gliburid kullanımının önüne geçilmesi gerekip gerekmediği konusunda önemli bir endişe oluşturmaktadır.

4.1.6.3. Meglitinid türevleri

Meglitinidler (repaglinid, nateglinid), sülfonilürelere göre çok daha kısa etkili insülin sekretagoglarıdır ve aç karnına dozlamada potansiyel olarak daha fazla fizyolojik insülin salınımına ulaştırmakta ve daha düşük hipoglisemi riski oluşturmaktadır. Meglitinidler sülfonilürelerden çok daha pahalı olmasına rağmen glisemik klinik etkinlikleri benzerdir.

Meglitinidler monoterapi şeklinde uygulanabilir, fakat yeterli glisemik kontrol elde edilemezse, tedaviye metformin veya tiazolidinedion eklenebilir. Meglitinidler sulfonilüre içeren ilaçlara allerjisi olan hastalarda kullanılabilir. Sülfonilüreler gibi kilo alımını arttırıcı riske sahiptirler fakat hipoglisemi açısından sülfonilürelere göre muhtemelen daha düşük risk taşırlar.

4.1.6.4. Alfa-glukosidaz inhibitörleri

Bu ajanlar glukoz absorpsiyonunu geciktirerek postprandiyal glukoz dalgalanmalarını önlemeye yardımcı olurlar. α-glukosidaz inhibitörlerinin karbonhidratların absorpsiyonunu uzatmaları sebebi ile mide içerisinde gaz oluşumunu başlatması kullanımını önemli ölçüde kısıtlamaktadır. Gastrointestinal intoleransı azaltmak için yavaşça titre edilmelidirler.

4.1.6.5. Tiazolidindionlar (TZD)

TZD'ler (pioglitazon, rosiglitazon) insülin duyarlılaştırıcıları olarak görev yaparlar, etki için insülinin varlığına ihtiyaç duyarlar. Maksimal etkiye ulaşmak için 12-16 hafta boyunca alınmaları gerekmektedir.

Bu ajanlar tek başlarına ya da sülfonilüre, metformin, meglitinid, DPP-4 inhibitörleri, GLP-1 reseptör agonistleri veya insülinle kombine olarak kullanılabilirler. TZD'ler, diyabetin ilerlemesini yavaşlatan (özellikle erken safhalarında) tek antidiyabetik ajan olarak gösterilmektedir.

Kanada Normoglisemi Sonuç ve Değerlendirme (CANOE) bir çalışmasında, ilk bir yıl içerisinde rosiglitazon ve metformin alan hastaların glisemik parametrelerinde ve insülin hassasiyetinde gelişme kaydetmiş fakat ilerleyen yıllarda placebo grubunda olduğu gibi kötüye gitme yaşanmıştır. Çalışmada, β-hücrelerinin fonksiyonları ilk 2 yıl boyunca her iki grupta da nispeten sabit kalmaya devam etmiş fakat devam eden yıllarda artan biçimde bozulmuştur. Araştırmacılar, rosiglitazon/metformin grubunda daha düşük diyabet oranı olmasını, tedavinin erken etkisi ile ilişkilendirmiştir (Retnakaran ve ark., 2011).

Pioglitazon'un BGT'si olan hastaların %72'sinde diyabetin ilerlemesini azalttığı bulunmuştur. Fakat bu ilaç belirgin miktarda ödem ve kilo artışıyla ilişkilendirilmektedir (DeFronzo ve ark., 2011).

Ramipril ve Rosiglitazon İlaçları ile Diyabetin Azaltılmasının Değerlendirmesi (DREAM)'in bir çalışmasında, rosiglitazonun diyabeti %62 oranında azalttığı, BAG'ı olan hastaların %70'inde normoglisemi sağladığı, BAG ve BGT'si olan hastalarınsa %64'nde normoglisemiyi sağlamıştır (Gerstein ve ark., 2006).

Bir başka çalışma ise T2DM'den korunmada oral ajanların kullanımı konusundaydı ve TZD'lerin biguanilere göre büyük ölçüde risk azalttığı gösterilmiştir (Phung ve ark., 2011).

TZD'ler genellikle trigliserit seviyesini düşürüp HDL kolesterol seviyesini yükseltirler. Bunun yanında LDL kolesterol seviyesini de yükseltirler, fakat bu yükselme büyük, yüksek LDL'de olur ve bu normal LDL'ye göre daha az aterojenik olabilir.

Pioglitazon kombinasyon terapisine cevapsızdır (Charpentier ve Halimi, 2009).

TZD'lerin enflamasyon ve damarlanma açısından birçok istenen etkisi olmasına rağmen, özellikle insülin ve insülin salgılatıcılarla birlikte kullanıldığında ödem (makular ödem dahil) ve kilo artışı gibi olumsuz etkileri olabilir (Dormandy ve ark., 2005). Bu etkiler, sol ventriküler bozukluğu veya nadiren normal ventriküler fonksiyonu olan hastalarda dahi, kalp yetmezliğini tetikleyebilir veya kötüleştirebilir.

TZD'lerin sebep olduğu sıvı retansiyonunun, renal epitelyal sodyum kanallarının upregülasyonu nedeniyle, kıvrım diüretikleriyle tedaviye dirençli olduğu düşünülmektedir. Fakat randomize, çift-kör, plasebo-kontrollü bir çalışmadaysa,

rosiglitazon ile tedavi edilen insülin dirençli hastalarda kıvrım diüretikleri furosemid ve amiloride cevap sağlanmıştır (Rennings ve ark., 2011).

2 yıldan uzun süren ve pioglitazonu en yüksek kümülatif dozda ve en uzun süre kullanan hastalarda, pioglitazon kullanımının mesane kanseri riskini artırdığı bağlantısı kurulmuştur (Lewis ve ark., 2011; Ferrara ve ark., 2011; Piccinni ve ark., 2011). Bu konuda sürekli takip ve dikkat gereklidir.

4.1.6.6. Glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) agonistleri

GLP-1 agonistleri (eksenatid, liraglutid, albiglutid, dulaglutid) inkretin hormonlardan GLP-1'leri taklit eder; glukoz bağımlı insülin salınımını uyarır, glukagonu azaltır ve gastrik boşaltımı yavaşlatır. Metformin ve/veya sulfonilüre ile birlikte kullanımı hafif bir kilo kaybı ile sonuçlanabilir. Hayvan araştırmalarına göre bu ilaçlar beta hücrelerinin apoptozuna engel olup zamanla beta hücre restorasyonunu sağlamaktadır. Bu ikinci özellik, eğer insanlarda da kanıtlanırsa, muazzam artı bir terapötik potansiyele sahip olacaktır.

4.1.6.7. Dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4) inhibitörleri

DPP-4 inhibitörleri (sitagliptin, saksaglitin, linagliptin) inkretin hormonların etki süresini uzatan bir ilaç sınıfıdır. DPP-4'ler çok sayıda biyolojik aktif peptidi inhibe eder, bunlar arasında endojen inkretinler GLP-1 ve glukoz bağımlı insülinotropik polipeptit (GIP) vardır. DPP-4 inhibitörleri monoterapi olarak ya da metformin veya TZD ile kombine edilerek kullanılabilir. Günde bir kere verilebilirler.

Tedavi edilmemiş T2DM hastalarında sitagliptin veya metformin ile monoterapiye tabi tutularak yapılan bir çalışmada HbA1c seviyelerindeki düşüş ve açlık glukoz seviyeleri açısından yapılan etkinlik ve güvenlik karşılaştırmasında herhangi bir istatistiksel farklılık bulunamamıştır (Aschner ve ark., 2010). Bu çalışmada, advers gastrointestinal etkiler açısından sitagliptin metformine göre daha düşük etkiler göstermiştir. Özellikle, ishal ve bulantı değerleri sitagliptin ile daha az görülmüştür.

Bir başka çalışmada ise sabit doz insülin terapisi alan hastalarda (metformin olsun yada olmasın) sitagliptinin eklenmesi AKG'de büyük bir düşüş sağlamıştır ve 2 saatlik postprandiyal glukozu plasebodan daha fazla düşürmüştür (Vilsboll ve ark., 2010).

Sitagliptin ve metforminin kombine uygulandığı tip 2 diyabet hastalarında pioglitazona göre daha güçlü glisemik kontrol ve daha az kilo artışı gözlenmiştir (Perez-Monteverde ve ark., 2011).

DPP-4 kullanan hastalarda diğer antidiyabetikleri kullanan hastalara oranla üst solunum yolu enfeksiyonlarında artış rapor edilmiştir (Willemen ve ark., 2011). Fakat bu olayın altında yatan mekanizma ve kapsamı hakkında daha fazla araştırma gerekmektedir. Başka bir taraftan, bir meta-analiz ise DPP-4 inhibitörleri ile tedavinin kemik kırıkları riskini azaltabileceğini öne sürmüştür (Monami ve ark., 2011).

4.1.6.8. Sodyum-glukoz ko-transporter-2 (SGLT-2) inhibitörleri

Canagliflozin Birleşmiş Milletlerde onaylanan ilk SGLT-2 inhibitörüdür. SGLT-2 inhibisyonu renal glukoz eşiğini (yani böbreklerde maksimum glukoz reabsorpsiyon kapasitesini aşan plazma glukoz konsantrasyonu) düşürür. Renal glukoz eşiğinin düşürülmesi idrarla glukoz atılımının artmasına neden olur. İkinci SGLT-2 inhibitörü, dapagliflozin Ocak 2014'te, üçüncü SGLT-2 inhibitörü empagliflozin ise Ağustos 2014'te Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmıştır (Roden ve ark., 2013).

İnsülin veya insülin sekretagogları, SGLT-2 inhibitörleriyle birlikte kullanılacaksa, insülin veya insülin sekretagoglarının da dozunun azaltılması hipoglisemi riskini azaltmak için gereklidir.

Metformin ve/veya sülfonilüre tedavilerine ek olarak canagliflozin ile yapılan kombinasyon terapilerinde, açlık glukozunda azalma ve HbA1c seviyesinin hastaların büyük bir kısmında %7'nin altına düştüğü gösterilmiştir. İnsüline ek olarak tedaviye eklenmesi durumunda ve TZD'ler ve DPP-4 inhibitörleri ile karşılaştırılmalı verilerde de postprandiyal glukoz seviyeleri ve HbA1c seviyelerinin iyileştiği gösterilmiştir (Clar ve ark., 2012).

Dapagliflozin, T2DM hastalarında diyet ve egzersize ek olarak glisemik kontrolü iyileştirmede kullanılan FDA onaylı bir ilaçtır. Dapagliflozin, monoterapi şeklinde, veya metforminle birlikte başlangıç tedavisinde ya da diğer oral glukoz düşürücü ajanlara ve insüline sonradan eklenerek (bunlara metformin, pioglitazon, glimepirid, sitagliptin dahil) kullanılabilir.

Dapagliflozin gibi, empagliflozin de T2DM'de glisemik kontrolü iyileştirmek için diyet ve egzersize yardımcı olarak onaylanmıştır.

4.1.6.9. İnsülinler

Sonuç olarak, T2DM'li birçok hasta belirgin bir şekilde insülinopenik olur. Bu defekti düzelten tek terapi şekli insülindir. Birçok hasta insüline dirençli olduğundan, insülin dozajındaki küçük değişimler bazı hastalarda glisemi açısından fark yaratmamaktadır, dahası insülin direnci hastadan hastaya değiştiği için, terapi de her hastada kişiselleştirilmelidir.

Yapılan bir çalışmada, 500 U/mL'lik insülinin uygulanması ve etkileri ile 100 U/mL'lik insülinin etkisi aynı olmasına rağmen, 500 U/mL'de pik konsantrasyon önemli ölçüde daha düşük seviyededir ve pikten sonraki etki uzamıştır; eğri altındaki alanlar her iki doz için de aynıdır. Bu gözlem terapiye yön vermeye yardımcı olacaktır (de la Pena ve ark., 2011).

Bir dizi insülin preparatı, tek başına ve karışım şeklinde şu an mevcuttur. Sağlık Araştırmaları ve Kalite Ajansı (AHRQ) karışım insülin analoglarının T2DM hastalarında kullanımını incelemiştir. Kanıt gücünün yüksek olduğu sonuçlar aşağıdaki gibidir:

- Postprandiyal glukozu düşürme açısından, karışım insülin analogları, tek başına uzun etkili insülin analoglarına veya karışım nötral protamin Hagedom (NPH)/regüler insan insülini 70/30'a göre daha etkilidir.
- HbA1c'yi düşürme açısından, karışım insülin analogları, karışım NPH/regüler insan insülini 70/30 kadar etkiliyken, uzun etkili insülin analoglarından daha etkilidir.
- Karışım insülin analoglarının hipoglisemi frekansı karışım insan insülini ile aynı, oral antidiyabetik ajanlardan daha yüksektir.

FDA, hastaların doktorlarına danışmadan insülin almayı bırakmamaları gerektiğini belirtmektedir.

4.1.6.10. Amilinomimetikler

Pramlintid asetat, pankreatik beta hücreler tarafından salgılanan amilinin etkilerini taklit eden bir amilin analoğudur. Bu madde gastrik boşalmayı geciktirir,

postprandiyal glukagon salınımını azaltır ve iştahı modüle eder (Shyangdan ve ark., 2011).

4.1.6.11. Safra asidi bağlayıcıları

Safra asidi bağlayıcıları, hiperkolesterolemini tedavisinde lipid düşürücü ajan olarak geliştirildi, ancak daha sonra glukoz düşürücü etkisi de olduğu bulundu. Safra asidi bağlayıcılarından colesevelam, glisemik kontrolü artırmak için yardımcı bir terapi olarak FDA tarafından onaylanmıştır. AKG ve HbA1c seviyeleri üzerinde olumlu, ancak önemsiz bir etkisi vardır (Handelsman ve ark., 2010).

Yapılan bir çalışmada, erken T2DM hastalarında metformin ile tedavide, colesevelam ilavesinin HbA1c düzeylerini istatistiksel olarak önemli derecede düşürdüğü ancak klinik olarak anlamlı olmayabileceği söylenmiştir. Colesevelam kullanılarak LDL kolestrol seviyeleri de iyileştirilmiştir, ancak bu sonucun bu hastalarda anlamlı olarak farklı sonuçlarla korele olup olmadığı bilinmemektedir (Rosenstock ve ark., 2010).

Colesevelam, prediyabetli hastalarda LDL kolesterolünü düşürmek için mevcut seçenekler içerisinde nispeten güvenli bir ek tedavidir. Hipertrigliseridemi hastalarında kullanımından (genel olarak safra asidi bağlayıcılarına uygulanan bir kural) kaçınılmalıdır.

4.1.6.12. Dopamin agonistleri

2009 yılında, FDA T2DM'li erişkinlerde glisemik kontrolü artırmak için diyet ve egzersize ek olarak bromokriptin mesilatın çabuk salınan formülasyonu onayladı. Bromokriptin santal sinir sisteminde etki eden bir dopamin D2 reseptör agonistidir. Sabah tek doz olarak verildiğinde, insüline dirençli hastalarda, açlık ve postprandiyal durumlarda artmış plazma glukozu, trigliserid ve serbest yağ asidi düzeylerini düzenlemek için hipotalamustaki sirkadyan nöronal aktiviteler üzerinden etki gösterdiği düşünülmektedir (Sando ve Taylor, 2011).

Çabuk salınan bromokriptin, diğer diyabet ilaçlarını tolere edemeyen veya sadece HbA1c'de minimal bir azalmaya ihtiyaç duyan obez hastalar için düşünülebilir. Bu ajanın hipoglisemiye ve kilo artışına neden olmaması avantajları arasındadır (Gaziano ve ark., 2010).

Bromokriptinin klinik araştırmalarında en sık bildirilen olumsuz olaylar mide bulantısı, yorgunluk, kusma, baş ağrısı ve baş dönmesidir. Bu olayların ilacın başlangıç titrasyonu sırasında ortaya çıkma ihtimali daha yüksektir. Mide bulantısı ve kusma ciddi yan etkiler olarak tanımlanmamaktadır.

Bromokriptin özellikle tedavinin başlangıcında ve dozun yükseltilmesinde, ortostatik hipotansiyona ve senkopa neden olabilir. Antihipertansif tedavi alan hastalarda dikkatli olunmalıdır; ortostatik vital bulgular başlangıçta ve periyodik olarak tedavi sonrasında değerlendirilmelidir.

4.1.6.13. Oral antidiyabetik ajanların karşılaştırılması

2007 yılında AHRQ, T2DM'li yetişkinlere yönelik oral antidiyabetik ilaçların etkinliğini ve güvenilirliğini karşılaştırmıştır. AHRQ tarafından belirli bir ilacın belirli bir hasta alt grubunda etkili olma olasılığının yüksek olup olmadığı veya belirli bir hastada olumsuz etkilere neden olup olmayacağı konusunda öngörüleri destekleyen çok az kanıt bulunmuştur.

AHRQ, diyabet ilaçlarının uzun vadeli faydaları ve zararları net olmamasına rağmen, kanıtların metforminin birinci basamak ajan olarak kullanılmasını desteklediği sonucuna varmıştır. Oral diyabet ilaçlarının birçoğuyla yapılan monoterapide, HbA1c düzeyleri ortalama 1 puan azalmıştır (metforminin DPP-4 inhibitörlerinden daha etkili olduğu bulunmuştur) ve iki ilaçla yapılan kombinasyon tedavisi HbA1c'yi monoterapiden 1 puan daha fazla düşürmüştür.

Diğer AHRQ bulguları aşağıdakileri içermektedir (Bolen ve ark., 2007; Bennett ve ark., 2011):

- Metformin pioglitazon, sülfonilüre ve DPP-4 inhibitörlerine kıyasla LDL kolesterol düzeylerini daha fazla düşürmektedir.
- TZD'ler ve sülfonilürelerin ağırlık üzerindeki olumsuz etkileri metformin'e kıyasla daha fazladır.
- Hafif ya da orta dereceli hipoglisemi riski, sülfonilürelerde sadece metformin kullanımına göre 4 kat daha yüksektir; bu risk, sülfonilüre ile metforminin birlikte kullanımı durumunda TZD'ler ile metformin birlikte kullanımına göre 5 kat daha yüksektir.
- TZD'lerde kalp yetmezliği riski, sülfonilürelerden daha yüksektir

- TZD'lerde kemik kırıkları olma riski metforminden daha yüksektir.
- Metformin kullanımda diyare görülme ihtimali glitazonlara göre daha sıktır.

4.2. Thymus praecox subsp. skorpilii var. skorpilii (Kekik)

Thymus cinsi (Lamiaceae), Güney Avrupa ve Asya'ya özgü uzun ömürlü bir ot olup hep yeşil kalan 300'den fazla türden oluşur (Könemann, 1999). Uzun odunlu, sürünücü, dallanmış sık gövdeli bitkilerdir. Bu cins Türkiye'de 38 tür ve toplam 64 takson ile temsil edilmektedir ve cins içindeki endemizm oranı % 53'tür (Ozen ve ark., 2011). Bazı *Thymus* türlerinin kurutulmuş kısımları bitki çayı ve baharat olarak, ayrıca geleneksel tıpta kullanılmaktadır. Mayıs ayında bitkinin tamamı toplanmaktadır. Araştırmalar *Thymus* türlerinin antienflamatuar, antifungal, antiviral, antioksidan, antikanser ve antidiyabetik etkilere sahip olduğunu göstermektedir (Oliviero ve ark., 2016; Houicher ve ark., 2016; Nolkemper ve ark., 2006; Tohidi ve ark., 2017; Buyukbalci ve El, 2008).

Bazı *Thymus* türlerinin uçucu yağları, izomerik fenolik monoterpenlerden timol ve/veya karvakrolun yüksek konsantrasyonda varlığı ile karakterizedir (Soleimani Farsani ve ark., 2016; Azaz ve ark., 2004).

Thymus praecox subsp. *skorpilii* var. *skorpilii* (TPS) (Resim 1) α-pinen, kamfen, β-mirsen, o-simen, limonen, ökaliptol, terpinen, timol, karvakrol, karyofilin içerir (Ozen ve ark., 2011).

Bir kekik türü olan TPS geleneksel tıbbi bir bitki olarak Merzifon bölgesinde T2DM tedavisinde büyük ilgi görmüştür (Yucel ve ark., 2010). Bu bitki Rize Anzer Yaylası'nda çayı yapılarak içildiği için "Anzer Çayı" ismini almıştır, Trabzon yöresinde ise "Biberhot" olarak isimlendirilmektedir. TPS'nin etkilerine bakan sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır.



Resim 1. *Thymus praecox* subsp. *skorpilii* var. *skorpilii* (TPS)

4.3. *Salvia triloba* (Anadolu adaçayı)

Salvia L. cinsi (Lamiaceae) dünyanın bir çok yerinde dağılıma sahip yaklaşık 1000 tür içerir. *Salvia*'nın bazı türleri bitki çayları ve uçucu yağların kaynağı olarak sıklıkla kullanılmaktadır.

Salvia türleri geleneksel olarak kolikler, diyare, soğuk algınlığı, öksürük, karaciğer hastalıkları, bakteriyel enfeksiyonlar, yüksek ateş ve vücuttaki yaralar gibi çeşitli durumları tedavi etmek için ve pürgatif olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, beslenme ve kozmetik amaçlar için de önerilmektedir (Abu-Dahab ve ark., 2014).

Salvia triloba (ST) (Syn. *S. fruticosa* Mill.) yaprakları çeşitli deri, kan ve enfeksiyöz rahatsızlıkların yanı sıra sindirim sistemi, dolaşım sistemi ve solunum sistemi hastalıklarının tedavisinde de kullanılmaktadır. *Salvia triloba* Güneybatı Anadolu'da, özellikle Muğla'da yetişmektedir. Yerel olarak "Anadolu Adaçayı" olarak bilinmektedir (Ozen ve ark., 2011).

ST'nin esansiyel yağı, α-pinen, kamfen, β-pinen, mirsen, 1,8-sineol, γ-terpinen, cis-thujone, trans-tüjon, kafur, terpinen-4-ol, trans-(E)-karyofilin, aromadendren ve α-humulen içerir (Cvetkovikj ve ark., 2015).

Araştırmalar, *Salvia* türlerinin antidiyabetik etkinliği olduğunu göstermiştir ancak ST'nin antidiyabetik etkisi üzerine herhangi bir çalışma yapılmamıştır.



Resim 2. *Salvia triloba*

4.4. Biyokimyasal Analiz İle Aktivitelerine Bakılacak Enzimler

4.4.1. Alanin transaminaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST)

ALT ve AST hepatik doku hasarının bir göstergesidir. Diyabetik sıçanların serumlarında karaciğer enzimleri AST ve ALT'nin artmış aktivitesi hepatik doku hasarının bir sonucu olarak karaciğer sitozolünden kan dolaşımına geçen enzimlerin yetersizliği nedeniyle olabilir (Al-Ali ve ark., 2016). Kontrolle kıyaslandığında tedavi edilmemiş diyabetik grupta trigliserit, AST ve ALT seviyelerindeki bariz bir artış meydana gelmiştir (Gok ve ark., 2016).

4.4.2. Kreatinin (CR)

Kreatinin kas metabolizmasının ürettiği bir vücut atığıdır. Böbrekler vasıtasıyla idrarla atılır. İdrar veya kandaki kreatinin değerleri böbrek fonksiyonunun göstergesidir. Yüksek kreatinin düzeyleri daha çok kronik böbrek problemlerinin göstergesidir. Kreatinin, üre ve ürik asit düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla diyabetik hayvanlarda artmış olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (Sugumar ve ark., 2016).

4.4.3. Tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-α)

TNF-α'nın böbrek üzerinde renal intrinsik hücre proliferasyonu, adezyon moleküllerinin ve inflamatuar mediyatörlerin aktivasyonu gibi olumsuz etkileri bildirilmiştir. Bununla beraber, TNF-α'nın mezenşimal hücreleri uyararak, serbest radikallerin artışına katkı sağladığı öne sürülmektedir. Artan oksidatif stresin böbrek hücrelerinin intrasellüler ve bazal membranlarına zarar vererek protein yıkımı ve dolayısıyla proteinüriye neden olduğu düşünülmektedir. TNF-α ve diyabetik nefropati ilişkisi bu bağlamda değerlendirebilir (X Li ve ark., 2017).

Mevcut çalışmalar, T2DM hastalarında TNF-α seviyesinin yükseldiği ve hastalık ilerledikçe bu artışın devam ettiğini ortaya koymaktadır. Ayrıca bazı çalışmalar TNF-α ve üriner kreatinin seviyelerinin korelasyonuna dikkat çekmektedir.

4.4.4. İnterlökin-1β (IL-1β) ve interlökin-6 (IL-6)

İnflamasyon, insülin direncinin oluşumuna katkı sağlayan önemli bir patofizyolojik mekanizma olarak gösterilmektedir. IL-1β, TNF-α, IL-6 gibi pek çok proinflamatuar faktör pankreas adacıklarında eksprese edilmektedir. Yüksek yağlı diyet ve STZ ile indüklenen deneysel diyabet modellerinde IL-1β üretiminin diyabetik sıçanların adacıklarında kontrol grubuna kıyasla yoğun olduğu tespit edilmiştir. Klinik çalışmalarda ise T2DM hastalarından toplanan kan örneklerinde IL-1β mRNA ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. IL-1β benzer şekilde, STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlarda IL-6 konsantrasyonu yükselmektedir (Al-Malki ve El Rabey, 2015). Bu bilgiler, IL-1β ve IL-6' nın diyabetik beta hücre disfonksiyonu ve insülin direnci üzerine rollerine ışık tutan niteliktedir (X Li ve ark., 2012; Zhao ve ark., 2014; Liu ve ark., 2014).

4.4.5. İnterlökin-10 (IL-10)

IL-10, sitokin sentez inhibitör faktörü olarak da bilinen antiinflamatuar özellikte bir sitokindir. Üretimi esas olarak monositlerde, daha düşük düzeyde ise lenfositlerde olmaktadır. IL-10 antiinflamatuar mekanizmaları arasında, yardımcı T hücrelerinden salınan proinflamatuar sitokinlerin, MHC sınıf 2 antijen sunan hücrelerinin ve bazı yardımcı moleküllerin yapımını azaltmak gösterilmektedir. Antiinflamatuar

mekanizmalara bağlı olarak, pankreasta beta hücrelerin proliferasyonu ve fonksiyonlarının sürdürülmesine yardımcı olmaktadır. Bu nedenle diyabet kapsamında değerlendirilmektedir. Oluşturulan deneysel diyabet modellerinde IL-10 miktarının kontrol grubuna kıyasla diyabetik grupta azaldığı gösterilmiştir (AK Sharma ve ark., 2013).

4.4.6. Adiponektin (ADP)

Adiposit dokusu, yağ depoları olarak işlev görmekle birlikte önemli endokrin ve metabolik olaylarda da görev almaktadır. T2DM ve obezite, özellikle intra-abdominal, intra-hepatik, deri altı yağlanma ile ilişkili bulunmaktadır. Obezite, adiposit boyutunun genişlemesinden (hipertrofi) veya sayısının artmasından (hiperplazi) dolayı yağ dokusu gelişimiyle karakterizedir. Bu nedenle adipositler, insülin direnci ve dolayısıyla T2DM patolojisinde önemli rol oynamaktadır. Adiposit dokusundan pek çok biyoaktif protein kan dolaşımına salınmaktadır. Bunlardan bazıları, adipositokinler, leptin, TNF-α ve adiponektindir (Chandran ve ark., 2003). Adiponektin lipit ve glukoz metabolizmasını düzenleyen protein yapısında bir hormondur ve glukoz ve lipit metabolizmasını düzenlemektedir. Büyümüş adipositler ve monosit kökenli makrofajlar, proinflamatuvar özellikteki sitokin ve adipokinlerin ekspresyonu ve salımını uyarırken, adiponektin gibi antiinflamatuar hormonların salımını inhibe etmektedir. Obezite ile indüklenen deneysel T2DM modellerinde adiponektin miktarındaki azalma diyabeti başlatan bir faktör olarak değerlendirilmektedir (Saleh ve ark., 2014).

4.4.7. Adenozin monofosfat ile aktive olan protein kinaz (AMPK)

AMPK, mayadan tüm hayvanlara kadar geniş bir yelpazede enerji algılama molekülüdür, tüm vücut enerji dengesinin ana bir düzenleyicisi olarak artarak kabul görmektedir. AMPK bir katalitik altbirim (α) ve iki düzenleyici altbirimden (β ve γ) oluşmaktadır. Her altbirim multipl izoforma (α1, α2, β1, β2, γ1, γ2, γ3) sahiptir, bu da toplamda 12 olası heterotrimer kombinasyonu demektir. Farklı izoformlar arasındaki fonksiyonel farklılıklar belirsiz olsa da, bazı izoformlar doku spesifiktir. Örneğin, α1 izoformunu içeren heterotrimerler karaciğer ve adipoz dokuda baskındır,

α2 izoformunu içeren heterotrimerler beyin, kalp ve iskelet kaslarında baskındır. α1 altbiriminde Ser485'de inhibitör bölge vardır ve kalp, adipositler ve vasküler düz kas hücreleri gibi çeşitli hücre tipleri ve dokularda Akt, protein kinaz A (PKA) veya otofosforilasyonla fosforillendiği gösterilmiştir. Düzenleyici altbirimler AMP:ATP oranındaki değişmeleri izleyerek düşük hücresel enerji seviyelerini algılar. AMPK'nın aktivasyonu için hem hücreiçi AMP:ATP oranında artış hem de 3 upstream kinaz: tümör-baskılayıcı karaciğer kinaz B1 (LKB1), kalsiyum-bağımlı kalsiyum/kalmodulin-bağımlı protein kinaz kinaz β (CaMKKβ); veya dönüştürücü büyüme faktör-β aktive protein kinaz-1 (TAK1)'dan biri tarafından α-altbiriminin "aktivasyon kıvrımı"nda Thr172'nin fosforilasyonu gerekir (Coughlan ve ark., 2014).

Tüm vücut düzeyinde AMPK; stres cevapları, gıda ve besin alımının kontrolündeki hormonal sinyalleri, enerji tüketimi ve substrat kullanımını birleştirir. Hücresel düzeyde, aktive olmuş AMPK hepatik glukoneojenezi inhibe eder, yağ asidi oksidasyonunu destekler ve mitokondriyal biyojenezi düzenler. Bunu yapmak için AMPKα direkt olarak asetil CoA karboksilaz (ACC) ve peroksizom proliferator-aktive reseptör γ koaktivatör-1-α (PGC-1α) gibi çok önemli iki hücresel regülatörün aktivitesini düzenler. TSC2 (tuberin) içeren AMPK'nın diğer downstream hedefleri kolesterol sentezinin inhibisyonuna yol açar; peroksizom proliferatör-aktive reseptör-γ koaktivatör 1α (PPARα) mitokondriyal biyojenezi ve diğerlerini stimüle eder (Ruderman ve ark., 2013). Aktive olmuş AMPK ayrıca ATP tüketen prosesleri trigliserid ve protein sentezi vb. inhibe ederek normal enerji seviyelerini düzenler. Ek olarak, AMPK'nın aktivasyonu iskelet kasında glukoz transporter proteini-4 (GLUT-4) ekspresyonu ve membran translokasyonunu artırır; böylece glukoz alımını artırır.
Obezite ve insülin direncine eşlik eden yakıt metabolizmasındaki bozukluklar T2DM için önde gelen patolojik faktörlerden biridir. Ayrıca AMPK'nın pankreatik β-hücrelerinden insülin sekresyonunu inhibe ettiğine ve hipotalamustan besin alımını artırmak için sinyal gönderdiğine dair kanıtlar mevcuttur. Enerji dengesinin sürdürülmesinde rol alan biyolojik yolakların kronik besin fazlalığının neden olduğu metabolik disfonksiyon ve insülin direnci (IR) ile mücadele etmek için farmakolojik kullanımı hedeflenmiştir. Sonuç olarak periferik AMPK aktivasyonunun fizyolojik etkilerinin tümü T2DM'li bir hasta için yararlıdır. Bu nedenle, AMPK'nın farmakolojik aktivasyonu son 20 yılda ilaç keşfi ve geliştirilmesi için umut verici bir

hedef olmuştur (Coughlan ve ark., 2014).

4.4.8. Dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4)

DPP-4, prolil peptidaz ailesinden proteolitik bir enzimdir ve GLP-1 gibi inkretinlerin yıkımını katalizlemektedir. DPP-4 bağırsak epiteli, karaciğer, böbrek ve akciğerde eksprese edilmektedir. DPP-4 enziminin organizmada inflamasyon ve immunolojik yanıt olmak üzere pek çok sinyal transdüksiyon yolağında fonksiyonları bulunmaktadır (Kosaraju ve ark., 2014). Diyabet kapsamında, GLP-1'in insülin salımı ve beta hücreler üzerine olumlu etkilerini sürdürebilmek, hipoglisemi oluşturabilmek amacıyla DPP-4 inhibitörleri kullanıma sunulmaktadır.

Yapılan çalışmalara göre, STZ ile indüklenen diyabetik sıçan modellerinde, DPP-4, böbrek dokusunun endotelyal ve glomerüler hücrelerinde yoğun olarak eksprese olmuştur. DPP-4'ün ekstrasellüler remodelling, ve hücresel sağ kalım sinyalizasyon mekanizmalararı üzerindeki rolleri düşünüldüğünde, bu durum diyabetin nefropatik bulguları ile ilişkilendirilmiştir (Kanasaki ve ark., 2014).

4.4.9. Glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1)

GLP-1, inkretin olarak da bilinen, yemek sonrası bağırsağın L hücrelerinden salınan gut hormonlarından biridir. GLP-1, DPP-4 proteolitik enzimi tarafından yıkılmakta ve inaktive olmaktadır (Matsui ve ark., 2015).

Klinik çalışmalar, GLP-1 yolağının, pankreasın beta hücrelerinin proliferasyonu, fonksiyonunu düzenleyerek, insülin biyosentezi, salımını artırdığını, alfa hücrelerinden glukagon salınımı azalttığını göstermektedir. Böylece GLP-1 bazlı tedaviler, insulinotropik, hipoglisemik etkileri nedeniyle diyabet tedavisinde kullanılmaktadır (Hamden ve ark., 2013). STZ ile indüklenen modellerde, GLP-1 konsantrasyonunun azaldığı gözlenmiştir (Ostrovskaya ve ark., 2014).

4.4.10. Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD)

ROS ve gliko-lipo-oksidasyon ürünlerinin (AGEs/ALEs) oluşumunun artması, diyabetik komplikasyonların oluşumu ve ilerlemesindeki patofizyolojinin altında yatan yıkımın en önemli mekanizmasını oluştururlar. Glutatyon redüktaz (GR), glutatyon-S-transferaz (GST), glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) ve 6-

fosfoglukonat dehidrojenaz (6PGD) gibi endojen antioksidan enzimler tarafından ROS ve ilişkili metabolitlerin etkisiz hale getirilmesine rağmen; diyabette çok sayıda antioksidan sistem, glukozun oto-oksidasyonu, mitokondriyal ROS'un aşırı üretimi, enzim oksidasyonunun artması ve sorbitol yolağının aktive olması nedeniyle yetersiz kalmaktadır. NADPH çok sayıda enzimatik reaksiyon için önemli bir kofaktördür; NADPH, glutatyon redüktazın glutatyonu (GSH) oluşturmasıyla oksidatif stresin dengelenmesi için hücrelere yardımcı olur. G6PD, pentoz fosfat yolağında bulunan oksidatif strese cevapta aktive olan NADPH üreten yegane enzimdir; hücre redoks potansiyelini koruyucu rolleri vardır. Diyabetin tipine, süresine, modele ve dokuya bağlı olarak G6PD'nin azaldığını ya da arttığını gösteren çelişkili raporlar vardır. Şöyle ki; G6PD aktivitesi veya ekspresyonunun inhibe edildiği ve NADPH'ın azaldığı, diyabetik sıçan ve insanların böbreklerinde, göz merceğinde (lens) ve karaciğerinde gösterilmiştir. Buna karşıt olarak bazı çalışmalarda G6PD'nin, genetik olarak veya STZ ile indüklenerek diyabet oluşturulmuş hayvanlarda hepatositlerde, kalpte ve ayrıca in vitro ortamda yüksek doz glukoz altında kültüre edilmiş adipositlerde, yüksek düzeyde eksprese edildiği gösterilmiştir (Ozdemir ve ark., 2009).

Oksidanlar ve redüktanların sinyalizasyonu ve hareketleri ile saptanan hücre içi redoks homeostazının, hücre sağ kalımı ve ölümünün düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. NADPH; NAD(P)H-bağımlı oksidaz (örneğin nitrik oksit sentaz) için ve glutatyon redüktazın kofaktörü olarak gereklidir ve ROS'ların uzaklaştırılmasına yardım eder. STZ ile diyabet oluşturulmuş birkaç çalışmada beyin, akciğer, pankreas ve göz merceği dokularında G6PD aktivasyonuna bakılmıştır. Diyabetik hayvanlarda doku pentoz fosfat yolağının upregülasyonu, önceden de belirtiliği gibi GSH'ın düşük etkinliği sebebi ile oksidatif strese neden olmuş olabilir. Diyabet durumda NADPH deplesyonu, artmış poliol yolağı aktivitesi ve aldoz redüktaz upregülasyonu aracığıyla artmıştır. Böylece NADPH üretici enzim olan G6PD, diyabetik dokulardaki oksidatif hasarla başa çıkmada önemli role sahip olur ve miktarı artar. Yapılan bir çalışmada tedavi edilmemiş diyabetik sıçanlarda, pankreas ve akciğerler dokularında G6PD'nin upregüle olduğu ve bu bulguların aksine G6PD aktivitesinin göz merceğinde azaldığı, beyinde değişmediği gösterilmiştir. Diyabetik toksisiteye karşı G6PD regülasyonundaki cevabın

dokulardaki farklılığını yorumlamak için önceki çalışmalara bakıldığında beyin ve göz merceğinin diğer dokularla kıyaslandığında hiperglisemi ve NADPH'ın düşük seviyelerine bile yüksek hassasiyet gösterdiği anlaşılmıştır (Gok ve ark., 2016).

4.4.11. Alfa-glukosidaz

α-glukozidaz, karmaşık karbonhidrat moleküllerini, ince bağırsakta kana absorbe olabilecek şekilde monosakkaritlere parçalar. α-glukozidaz aktivitesinin inhibisyonu karbonhidrat absorbsiyonunu azaltır ve postprandiyal kan glukozunu belirgin biçimde düşürerek hiperglisemiyi kontrol altına almaktadır (Ghani, 2015).

4.4.12. Glukojen sentaz (GS)

GS, glukojen sentezinde görevli olan hız kısıtlayıcı enzimdir. Glukoz-6-fosfat ile allosterik olarak aktive olduğu gibi insülin ile indirekt olarak defosforile olmak suretiyle aktif hale gelebilir (Bouskila ve ark., 2010). T2DM hastalarında çizgili kaslarda bazal GS aktivitesi ve GS'nin insüline duyarlılığının azalmasının glukoz intoleransı ve insülin direncinin gelişmesinde rol oynadığı düşünülmektedir. GS'nin aktivasyonundaki değişimin sebebi hala tam olarak bilinmemekle birlikte, GS'nin aktivasyonundan sorumlu sinyal yolaklarında bir bozulmanın bu sonuçlardan sorumlu olduğu düşünülmektedir. Ayrıca T2DM'de glukojen sentezinin düzenlenmesindeki bozulmalarda kalıtsal faktörlerin yer aldığı belirtilmektedir (Nikoulina ve ark., 2001).

4.4.13. Glukoz transporter proteinleri (GLUT)

Ökaryotik hücre membranları boyunca monosakaritler, polioller ve diğer küçük karbon bileşiklerinin taşınmasına SLC2 genleri tarafından kodlanan ve major kolaylaştırıcı süper ailesinin (MFS) üyesi olan integral membran proteinlerinin GLUT ailesi üyeleri aracılık eder (Tablo 9). MFS süper ailesi memeli, bitki ve bakterileri de kapsayan tüm türlerde bulunan şeker, iyon ve ilaç transporterlarını da içeren transport proteinleri, heksoz protein simporterları, ve glukoz iyon simporterlarını da içeren 29 tanımlanmış aileden oluşmaktadır (Saier ve ark., 1999).

Tablo 9: SLC2- Kolaylaştırıcı GLUT taşıyıcı ailesi (Mueckler ve Thorens, 2013)

Protein ismi	Baskın substratlar	Doku dağılımı
GLUT-1	glukoz, galaktoz, mannoz, glukozamin	eritrosit, beyin, kan-beyin bariyeri, kan-doku bariyeri, fetüs
GLUT-2	glukoz, fruktoz galaktoz, mannoz, glukozamin	karaciğer, Langerhans adacıkları, bağırsak, böbrek, beyin
GLUT-3	glukoz, galaktoz, mannoz, ksiloz	beyin (nöron), testis
GLUT-4	glukoz, glukozamin	adipoz doku, iskelet kas ve kardiyak kas
GLUT-5	fruktoz	ince bağırsak, böbrek
GLUT-6	glukoz	beyin, dalak, lökosit
GLUT-7	glukoz, fruktoz	ince bağırsak, kolon, testis, prostat
GLUT-8	glukoz, fruktoz, galaktoz	testis, beyin, adrenal bez, karaciğer, dalak, kahverengi adipoz doku, akciğer
GLUT-9	glukoz, fruktoz	böbrek, karaciğer, ince bağırsak, plasenta, akciğer ve lökosit
GLUT-10	glukoz, galaktoz	kalp, akciğer, beyin, karaciğer, iskelet kası, pankreas, plasenta ve böbrek
GLUT-11	glukoz, fruktoz	kalp, kas
GLUT-12	glukoz	kalp, prostat, iskelet kası, plasenta
GLUT-13	myo-inositol	beyin, adipoz doku
GLUT-14	glukoz	testis

İnsanda bulunan 14 GLUT proteini çeşitli substrat özgüllüklerine sahiptir ve miyo-inositol, glukozamin ve askorbata ek olarak bazı heksozların taşınmasında rol almaktadır. HMIT dışında, H^+/miyo-inositol simportu, GLUT ailesinin tüm üyeleri kolaylaştırıcı taşıyıcılardır. Bazı GLUT proteinleri için major substratların henüz aydınlatılmamış olması kuvvetle muhtemeldir. 14 GLUT proteini yaklaşık 500 amino asid rezidüsünden oluşmaktadır ve diziliş benzerliğine dayanarak 3 sınıfta kategorize edilebilir: Sınıf 1 (GLUT 1-4, 14); Sınıf 2 (GLUT 5,7,9 ve 11); ve Sınıf 3

(GLUT 6, 8, 10, 12 ve HMIT). Tüm GLUT proteinleri 12 transmembranal segmente sahiptir; N-bağlantılı glikozilasyonun tek bir bölgesi, görece geniş, merkezi, sitoplazmik bağlayıcı bir bölge, ve sitoplazmada yer alan N ve C uçlarıyla topoloji göstermektedir. Sınıf 1 ve 2 GLUT proteinleri N-bağlantılı glikolizlenme alanlarının yeri nedeniyle Sınıf 3 proteinlerden yapısal olarak ayrılır (Mueckler ve Thorens, 2013). GLUT'lar dokuya spesifik olarak eksprese edilir ve doku fonksiyonu için substrat transport kapasitesi, afinitesi ve özgüllüğü en üst seviyededir. GLUT ile katalize edilen monosakkarit transportunda, GLUT membran topografyasında ve substrat özgüllüğünün belirleyicilerinde büyük gelişmeler olmasına rağmen GLUT yapısı ve fonksiyonu için birleştirici bir modelin tanımlanması zordur (Cura ve Carruthers, 2012).

Bir ya da birden çok GLUT proteini insan vücudunun hemen hemen her bir hücre tipinde eksprese edilmektedir. Bazı durumlarda proteinlerin başlıca fizyolojik substratları kesin tespit edilmemesine rağmen GLUT ailesinin 14 üyesinin 11'i deneysel koşullar altında glukoz taşıma yeteneğine sahiptir. Monosakkaritlerin hücre içine alınımı, emilimi, dağılımı, hücresel taşınımı, metabolizması ve geri kazanım/tutulması GLUT-bağımlı glukoz algılama ve efektör mekanizmaların çeşitliliği ile gerçekleştirilir.

GLUT'lar hücresel glukoz giriş ve çıkışı için bir yol oluşturmaktadır. Çoğu hücrede glukozun hücre içerisine alınımı en önemli fonksiyondur çünkü bu sayede metabolik yakıt kaynağı sağlanır. Bazı hücrelerde ise (örneğin karaciğer, böbrek ve gastrointestinal dokular) luminal içerikten alınan glukozun veya glukoneojenez ile sitoplazmada oluşan glukozun hücre dışına çıkışı önemlidir. Diğer bazı hücrelerde ise (örneğin kan-doku bariyerini oluşturan endotelyal hücreler) hücreler-arası glukoz transpurtu dokuyu korumak için metabolik enerjinin dağılımı açısından hayatidir.

Farklı dokulardaki glukoz transportu diyabette istenmeyen bir şekilde değişmekte ve anti-diyabetik bileşiklerden etkilenebilmektedir. GLUT-2 hepatik glukoz çıkışında anahtar rol oynar ve diyabetik hayvanlarda sayısı artmıştır. GLUT-4 primer insülin-bağımlı transporter'dır ve iskelet kası ve beyaz adipoz doku (WAT)'da yüksek miktarda eksprese edilir. Adipositlerde GLUT-4 aşırı ekspresyonu diyabetik farelerde insülin direncinin iyileşmesi aracılı glisemik kontrolü artırır. İnsülin direnci, iskelet kası ve yağda azalmış insülin-bağımlı glukoz alımı ve karaciğerden

kontrolsüz glukoz salınımı ile ilişkilidir. Antidiyabetik ilaçlar diyabetik farelerin karaciğer ve yağ dokusunda PPARγ aktivasyonuna yol açar. Yağ hücresi farklılaşmasının indüklenmesine ek olarak, PPARγ ayrıca GLUT-4 üretimini stimüle ederek ve PEPCK ve G6P'yi inhibe ederek glukoz dengesini iyileştirir. Böylece antidiyabetik maddeler muhtemel PPARγ (T2DM ilaçlarının major hedeflerinden biri) aracılı glukoz-düzenleyici enzimlerin etkisiyle düzenlenen gen ekspresyonuyla T2DM hastalarında hiperglisemiyi iyileştirebilir. PPARγ'nın aktivasyonu nükleer faktör-κB (NF-κB) ve c-Jun NH_2-terminal kinaz (JNK) aktivasyonunu inhibe ederek diyabet komplikasyonları ve insülin direncini iyileştirir (Babu ve ark., 2013).

4.4.14. Hekzokinaz (HK)

Hekzokinaz glukoz metabolizmasında önemli bir rol oynamaktadır. Glukozun aerobik oksidasyonunda hız kısıtlayıcı basamakta yer alan bir enzimdir. Diyabetik farelerde mevcut insülinin bu enzimin aktivitesini düzenlemede yetersiz kalarak işlevinde bozulmaya neden olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.

Yapılan bir başka çalışmada diyabetik sıçanlarda karaciğer hepatik piruvat kinaz ve hekzokinaz aktivitelerinde belirgin bir azalma, hücrelerin insüline duyarlılığının azalmış olmasından kaynaklandığı şeklinde yorumlanmıştır. İnsülin direnci, piruvat kinaz ve hekzokinaz gibi hepatik glikolitik enzimlerin down-regülasyonu ve sonuçta glukoz kullanımının azalması ile ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle piruvat kinaz ve hekzokinaz enzim aktivitelerinde artış ile glukoz kullanımının artırılmasının insülin direncini azaltabileceği düşünülmektedir (D Wang ve ark., 2017).

4.4.15. Fosfoenolpirüvat karboksikinaz (PEPCK)

PEPCK, glukoneojenezin hız kısıtlayıcı basamağını oluşturan enzimdir. PEPCK sentezi, glukagon ve kortikosteroidler tarafından aktive edilirken, insülin tarafından inhibe edilmektedir. T2DM hastalarında mevcut olan insülin PEPCK üretimini kontrol etmede yetersiz kalarak, PEPCK üretiminin artışına sebep olmaktadır. Bu durumun karaciğerde aşırı miktarda glukoz üretimine ve dolayısıyla hiperglisemiye neden olan bir başka faktör olduğu düşünülmektedir.

Ayrıca aşırı PEPCK üretiminin, karaciğerde insülin sinyalizasyonunu bozarak insüline olan hassasiyeti düşürdüğü ileri sürülmektedir (Kwon ve ark., 2017).

4.4.16. Peroksizom proliferatör-aktive reseptör gama (PPARγ)

48 üyeli steroid ve nükleer reseptör süper ailesinin bir alt ailesi olan PPAR, karbonhidrat ve lipid metabolizmasını düzenleyerek enerji homeostazını kontrol eden ligand bağımlı transkripsiyon faktörleridir. PPARγ üzerine yapılan çalışmalar bu reseptör ligandlarının, insüline duyarlılığını artırıcı özelliklerinin keşfedilmesiyle beraber hız kazanmıştır. PPARγ ligandları fosfotidilinozitol 3-kinaz/Akt yolağını aktive ederek ve bu yolla insülin duyarlılığını arttırarak kan glukozunu azaltan etkilerini gösterirler. Ayrıca, PPARγ, adacık beta hücrelerinde eksprese edilir ve beta hücre sağkalımı, fonskiyonu pankreatik ve duodenal homeobox-1 ve glukokinaz regülasyonu ve glukoz uyarımlı insülin sekresyonu da dahil olmak üzere çeşitli pankreatik fonksiyonlar için önemlidir. Yeni keşfedilen ve PPARγ ile kontrol edilen bir gen üzerine yapılan son çalışmalar, bu adiposit transkripsiyon faktörünün glukoz ve lipit metabolizmasını nasıl düzenlediğini açıklamaktadır. PPARγ ligandları, insüline yanıtlı GLUT-4'ü kodlayan genler gibi adipositlerde glukoz metabolizmasını etkileyen birçok genin ekspresyonunu da düzenler. Tüm bu etkileri nedeniyle PPARγ diyabet çalışmalarında değerli bir parametre olarak incelenmektedir (Irudayaraj ve ark., 2016; Hsu ve Pan, 2014).

Yapılan çalışmalar, PPARγ protein ve mRNA ekspresyonunun, adiposit, karaciğer ve iskelet kasında normal sıçanlara göre diyabetli sıçanlarda oldukça azalmış olduğunu göstermiştir (Gandhi ve ark., 2014).

4.4.17. Sodyum bağımlı glukoz transporter-1 (SGLT-1) ve Sodyum bağımlı glukoz transporter-2 (SGLT-2)

Glukozun hücre içine alınıp kullanılmasına aracılık edecek glukoz transport sistemleri iki tiptir. Bunlardan ilki GLUT'lar, ikincisi ise SGLT'lerdir. SGLT bir kotransporter sisteminden ibarettir. Bu sistemde, glukoz ve sodyum aynı zamanda aktif olarak hücre içerisine taşınırlar. SGLT taşıyıcı ailesi, 6 alt birimden oluşmaktadır. Bunlardan ilki SGLT-1, yoğun olarak ince bağırsakta sentezlenmekte olup, glukozun bu dokudan absorpsiyonunu domine etmektedir. Böbrek dokusunda

da SGLT-1 ekspresyonu mevcuttur ve bu dokuda bulunan glukozun %10'unun reabsiyonuna aracılık etmektedir. SGLT-2 ise, büyük çoğunlukla böbreklerde sentez edilir ve böbreklerdeki glukozun %90'unun geri emiliminden sorumludur. SGLT proteinleri, glukoz emilimi ve dolayısıyla kandaki glukoz seviyesinin ayarlanmasındaki rolleri düşünüldüğünde diyabetle ilişkilendirilmiştir (Harada ve Inagaki, 2012). T2DM hastalarında SGLT-1 miktarının oldukça arttığı gözlenmektedir (Oguma ve ark., 2015).

Yapılan hayvan çalışmaları da bu durumla paralellik göstererek, SGLT-1 mRNA ekspresyonunun diyabetik sıçanların intestinal dokularında (duedonum, jejenum, ileum) yükseldiğini ifade etmektedir. Ayrıca SGLT-1 enzim ekspresyonunun bu intestinal dokular içinde en çok duedonum ve proksimal jejenumda lokalize olduğu belirtilmiştir (Peng ve ark., 2015). Ek olarak, SGLT-1 inhibisyonun, GI kanaldan absorplanan glukoz miktarını azalttığını ileri süren pek çok çalışmada mevcuttur. Buna neden olan faktörün, SGLT-1 inhibisyonunun duedonumdan GLP-1 gibi bazı yararlı peptitlerin salımını uyarması olduğu düşünülmektedir (Zambrowicz ve ark., 2013).

SGLT-2, glukoz geri emiliminin büyük oranda gerçekleştiği proksimal tübülde lokalizedir. Yukarıda da belirtildiği üzere böbreklerden glukoz geri emilimine temel olarak katkı sağlayan transport sistemidir (Shin ve ark., 2016). T2DM hastalarında yoğun bir şekilde SGLT-2 üretimi gözlenmektedir. Bu durumun artmış glukoz seviyelerinden sorumlu olduğu gözetilerek SGLT-2 inhibitörleri hiperglisemiyi önlemek amacıyla piyasa sürülmüştür. Bugün de rutin olarak kullanılan bir ilaç grubudur (Hansen ve ark., 2014).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Bitki Materyali

T2DM hastalığına karşı etkinliği araştırdığımız bitkilerden biri olan *Thymus praecox* subsp. *skorpilii* var. *skorpilii* (TPS) toprak üstü kısımları Türkiye'nin Bursa şehrinde bulunan Uludağ'dan çiçek açma döneminde toplanıldı. TPS'in teşhisi Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Ab.D. öğretim üyelerinden Dr. İsmail Şenkardeş tarafından yapıldı. Bitkiden örnek alınıp herbaryum numarası verilerek kayıt altına alındı. Herbaryum numarası: 18081.

Salvia triloba L. (Syn. *Salvia fruticose* Mill.) bitkisi İstanbul'da bulunan Zeytinburnu Tıbbi Bitkiler bahçesinde toprak üstü kısımları uzmanlar tarafından toplanılıp teşhis edildi. Tez çalışma için ücretsiz bir şekilde tarafımıza verildi.

5.2. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması

TPS'in toprak üstü kısımları (50 gr.) 7 gün boyunca metanol solventi ile maserasyon yöntemi kullanılarak ekstre edildi. Verimlilik %13'tür. Ekstraksiyonun tamamlanmasından sonra numune filtre kağıdından süzüldü ve çözücü, döner buharlaştırıcı kullanılarak buharlaştırıldı. Ham ekstrakt deneyde kullanılmak üzere buzdolabında +4°C'de saklandı.

ST'nin toprak üstü kısımları (60 gr.) Soxhlet ekstraksiyon yöntemi kullanılarak metanol:su (4:1, v/v) ile ekstre edildi. Verimlilik %21'dir. Ekstraksiyonun tamamlanmasından sonra numune filtre kağıdından süzüldü ve çözücü, döner buharlaştırıcı kullanılarak buharlaştırıldı. Ham ekstrakt deneyde kullanılmak üzere buzdolabında +4°C'de saklandı.

Bitki ekstreleri deney süresince hayvanlara hergün tartılarak ve saf suda çözülerek ağırlıklarına göre gereken miktarda anestezi uygulanmaksızın metal gavaj yardımıyla intragastrik (i.g.) yolla verildi.

5.3. Deney Hayvanları

Dişi erişkin Sprague-Dawley (SD) sıçanlar (200-300 g) Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezi'nden alındı. Sıçanlar %50 nem, 12 saat aydınlık/karanlık ışık döngüsünde ve sabit bir sıcaklıkta (25±2ºC) tutuldu ve standart sıçan yemi ve çeşme suyu ile ad libitum olarak beslenmeleri sağlandı. Çalışma Marmara Üniversitesi Tıp

Fakültesi Hayvan Bakımı ve Kullanım Komitesi tarafından onaylandı (Etik no: 098.2016.mar). Çalışma başlamadan önce gerekli tüm önlemler alınarak çalışma sırasında parametrelere olumsuz etki edecek faktörler en aza indirildi.

5.3.1. Streptozotosin ve nikotinamid ile T2DM oluşturulması

Diyabet intraperitoneal (i.p.) streptozotosin(STZ)/nikotinamid(NA) enjeksiyonu ile indüklenmiştir. Bir gece açlık sonrası (12s), tüm sıçanlara pankreastaki tahribatı minimize etmek için tek doz i.p. NA (100 mg/kg, serum fizyolojikde çözüldü) enjeksiyonu yapıldı. 15 dakika sonrasında ise STZ (55 mg/kg, 0,1 M sitrat tamponunda çözüldü, pH 4,5'a ayarlandı) enjeksiyonu yapılarak diyabet indüklendi (Adam ve ark., 2016). İndüksiyondan 72 saat sonra, sıçanların kan glukozları bir glukometre (Contour^{TM} TS, Bayer Diagnostics) yardımıyla ölçüldü ve kan glukoz seviyeleri 200-400 mg/dl arasında olan sıçanlar deney için seçildi (Emordi ve ark., 2016).

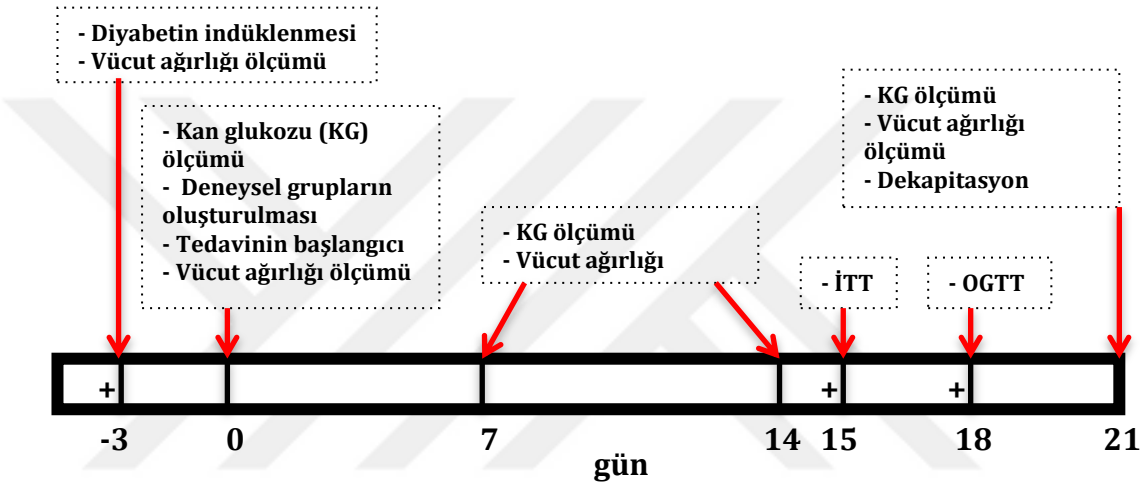
5.3.2. Deney grupları

Diyabet çalışması için doz seçimi, bu çalışma öncesinde oral glukoz tolerans testinden elde edilen sonuçlara göre belirlendi. TPS metanolik ekstrakt (TPSE) için 100 mg/kg ve ST metanolik ekstrakt (STE) için de 200 mg/kg en etkili doz olarak seçildi. Tedaviler (TPSE, STE, metformin) diyabet indüklendikten 3 gün sonra glukoz ölçümünden hemen sonra uygulanmaya başladı ve 3 hafta boyunca günde bir defa uygulanarak devam etti. Sıçanlar aşağıdaki gibi beş gruba ayrıldı:

- Diyabet Grubu (DM), n=6: Diyabetik sıçanlara günlük olarak 10 ml/kg serum fizyolojik i.g. yoldan verildi.
- 1. Tedavi Grubu (DM+STE Grubu), n=6: Diyabetik sıçanlara günlük olarak 200 mg/kg STE i.g. yoldan verildi.
- 2. Tedavi Grubu (DM+TPSE Grubu), n=6: Diyabetik sıçanlara günlük olarak 100 mg/kg TPSE i.g. yoldan verildi.
- Pozitif Kontrol Grubu (DM+M, Metformin Grubu), n=6: Diyabetik sıçanlara günlük olarak 400 mg/kg metformin i.g. yoldan verildi.

- Kontrol Grubu (K), n=6: Sağlıklı sıçanlara günlük olarak 10 ml/kg serum fizyolojik i.g. yoldan verildi.

Sıçanların 0. günden dekapitasyon gününe kadar kuyruk veninden kan alınarak tokluk kan glukozları haftalık olarak takip edildi ve aynı şekilde ağırlıklarına da bakıldı. Tedavi 0. gün başladı ve tedavinin 15. gününde gece boyu açlık sonrası tüm gruplara insülin tolerans testi (İTT) uygulandı. Tedavinin 18. gününde ise yine bir gece açlık sonrası OGTT uygulandı. Tedavinin 21. gününde tüm sıçanlar dekapite edildi. Deneysel dizayn için zaman çizelgesi Şekil 3'de gösterilmektedir.



Şekil 3. Deneysel dizaynın şematik gösterimi

"+" 12 saat açlığı ifade eder.

5.4. Bitki Ekstreleri İçin Doz Belirleme Çalışması

Dişi erişkin SD sıçanlar (200-300 g) altı gruba (n=6) ayrıldı. 1. grupta normal sıçanlara serum fizyolojik verildi; 2. ve 3. grupta TPSE iki farklı dozda 100 ve 200 mg/kg olarak verildi; 4., 5. ve 6. grupta STE, sırasıyla 100, 200 ve 400 mg/kg olmak üzere üç farklı dozda verildi.

STE ve TPSE için en etkin dozu belirlemek adına OGTT aşağıda belirtilen ile aynı prosedürde uygulandı, sadece bir değişiklik yapıldı ve glukoz 4 g/kg dozunda verildi. Glukoz dozu kan glukozunda meydana gelen değişiklikleri daha net gözlemek için değiştirildi (Korec, 1988).

5.5. İnsülin Duyarlılığının Belirlenmesi

Tüm sıçanlarda insülin direncini değerlendirmek için İTT yapıldı (Ngueguim ve ark., 2015). 12 saat açlık sonrası glisemi ölçüldü (0. saat) ve hayvanlara 1 U/kg insülin i.p. olarak enjekte edildi ve enjeksiyondan 15, 30, 60, 90 dakika sonra düzenli olarak kuyruk veninden kan alındı (Tovchiga, 2016). Kan glukozu ölçüldü.

5.6. Oral Glukoz Tolerans Testi

Glukoz metabolizmasını düzenleyebilme yeteneğinin değerlendirilmesi ve glukoz ile indüklenen insülin sekresyonunu ve bunun aracılık ettiği glisemik değişiklikleri ölçmek için her bir sıçana OGTT uygulandı. 12 saatlik açlık sonrası sıçanlara tedaviler uygulandı ve tedaviden 30 dakika sonrasında gavaj ile tek doz glukoz (2 g/kg) verildi. Glukoz konsantrasyonları, glukoz uygulamasından hemen önce (0. dakika) ve glukoz enjeksiyonunu takiben 30, 60, 120, 180 dakika sonra kuyruk veninden toplanan kan ile ölçüldü (Shewamene ve ark., 2015).

5.7. Biyokimyasal Analiz

Hayvanlar dekapite edildikten sonra alınan serum ve doku örneklerinde ELISA kitleri yardımıyla biyokimyasal analizler yapıldı.

Serumda;

- AST, ALT, CR, İnsülin, ADP, IL-1β, IL-6 ve IL-10 miktar tayini yapıldı.

Dokularda ise;

- Karaciğerde: GLUT-2, AMPK, PPARγ, G6PD, PEPCK, HK, GS, ACACA,
- İskelet kasında: GLUT-4, AMPK, PPARγ, HK, GS,
- Duodenumda: SGLT-1,
- Böbrekte: GLUT-2, SGLT-2, SGLT-1, DPP-4, G6PD,
- İnce bağırsakta: GLUT-2, α-glukosidaz,

-Pankreasta: GLP-1 miktarına bakıldı.

5.7.1. Serumda ve dokuda ELISA analizi yapılışı

Serum analizleri için sıçan spesifik Enzim Bağlı İmmunosorbent Tahlil (ELISA) ticari kitleri kullanıldı.

Kitte olmayan materyaller: İnkübatör, mikroplate okuyucu, hassas pipetler, eppendorf tüpler, pipet uçları distile su, deiyonize su absorban kağıt ve konteynır

Kitte olan materyaller:

1. Standart solüsyon (0,5ml) 240 U/L

2. Kaplanmış ELISA plakası (12 küvet*8 tüp)

3. Standart dilüsyon (3ml)

4. Streptavidin-HRP (horseradish peroksidaz) (6ml) (biyotine bağlanan protein)

5. Durdurma solüsyon (6ml)

6. Kromojen solüsyon A (6ml) (renk verici madde)

7. Kromojen solüsyon B (6ml) (renk verici madde)

8. Konsantre yıkama solüsyonu (30×) (20ml)

9. Anti-AST antikor (biyotin etiketli) (1ml)

10. Mühürlü membran plaka (2 adet)

Buzdolabında bekletilmiş kitler oda sıcaklığına ulaşması için 10-20 dk bekletildi. Kitlere örnekler eklenirken her örnek için ayrı enjektör kullanıldı. Pipet uçları ve mühürlü membran tek kullanımlık olacak şekilde kullanıldı. Substrat B ışığa hassas olduğu için karanlık ortamda örneklere eklendi.

5.7.1.1. İlk basamak: standart solüsyonların ve reaktiflerin hazırlanması

Elimizde ünitesi 240 U/L olan 0,5 ml (500 µl) standart solusyonumuz var. 3 ml (3000 µl) de standart dilüsyonumuz var. Standartlar Tablo 10'da belirtildiği şekilde seyreltildi.

Tablo 10. Elisa kitinde standart dilüsyonu

Standart	**S5**	**S4**	**S3**	**S2**	**S1**
240 U/L	120 U/L	60 U/L	30 U/L	15 U/L	7,5 U/L
500 µl	120 µl standart + 120 µl standart diluent	120 µl S5 + 120 µl standart diluent	120 µl S4 + 120 µl standart diluent	120 µl S3 + 120 µl standart diluent	120 µl S2 + 120 µl standart diluent

Standartlar hazırlandı. Reaktiflerimiz de kit içerisinde hazır durumdaydı. Kromojen solüsyon A toplam 6ml (6000 µl), kromojen solüsyon B'den ise toplam 6ml (6000 µl) mevcuttur.

5.7.1.2. İkinci basamak: örneklerin hazırlanması

Serum örnekleri 10-20 dk oda sıcaklığında bekletildi ve 3000 rpm'de santrifüjlenerek süpernatantı toplandı. Standartlar ve örnekler Tablo 11'de belirtildiği şekilde kuyulara mikropipet yardımıyla dolduruldu. Kör, standartlar ve örnekler için ikişer kuyu ayrıldı. Kör kuyu olarak ilk iki kuyu seçildi ve standartlar 1C'den başlanacak şekilde sırayla ikişer kuyuya koyuldu. Örnekler 3A'dan başlanacak şekilde yanyana kuyulara ikişer ikişer koyuldu.

Tablo 11. Standart ve örneklerin kuyulara konulması

	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**
A	**Kör**	**S4**	**K1**	**"**	**D1**	**"**	**D+ST1**	**"**	**D+TPS1**	**"**	**D+M1**	**"**
B	**Kör**	**S4**	**K2**	**"**	**D2**	**"**	**D+ST2**	**"**	**D+TPS2**	**"**	**D+M2**	**"**
C	**S1**	**S5**	**K3**	**"**	**D3**	**"**	**...**	**"**	**...**	**"**	**...**	**"**
D	**S1**	**S5**	**K4**	**"**	**D4**	**"**		**"**		**"**		**"**
E	**S2**		**K5**	**"**	**D5**	**"**		**"**		**"**		**"**
F	**S2**		**K6**	**"**	**D6**	**"**		**"**		**"**		**"**
G	**S3**											
H	**S3**											

5.7.1.3. Üçüncü basamak: örnek, antikor ve streptavidin konulması

İlk inkübasyon öncesinde kör kuyulara hiç birşey konulmazken standart kuyularına 50 µl standart + 50 µl streptavidin konuldu. Örnek kuyularına ise 40 µl örnek + 10 µl antikor + 50 µl streptavidin konuldu ve 1 saat için 37^0C'de 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon öncesinde hafifçe çalkalandı ve ardından inkübatöre konuldu. Yani her kuyuya toplamda 100 µl konulmuş oldu.

5.7.1.4. Dördüncü basamak: yıkama

Konsantre yıkama solüsyonumuz kitte 20 ml olarak bulunuyor. Bunu bidistile su ile 30 kat seyrelttik. İnkübasyon sonrasında her küvete 0,35 ml yıkama solüsyonu koyuldu ve iyice emilmesi 1-2 dakika beklenerek sağlandı. Sonrasında küveti silkeleyerek yıkama solüsyonunu döküldü ve ters çevirerek havlu kağıda solüsyon boşaltıldı. Bu işlem 5 kere tekrar edildi.

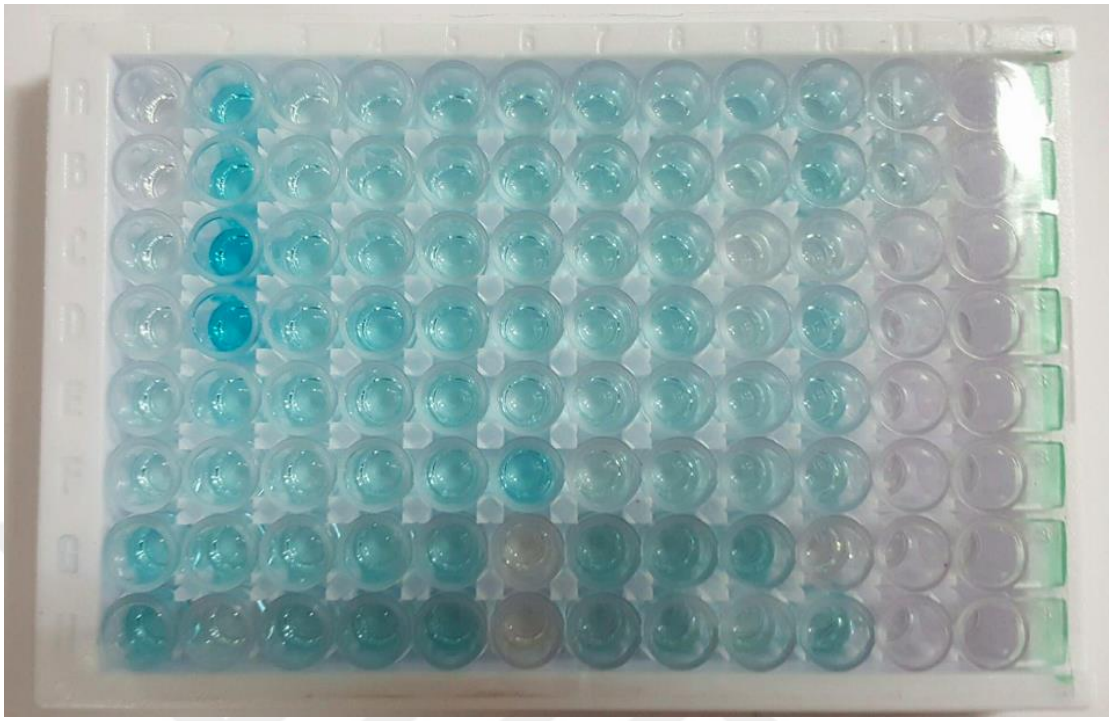
5.7.1.5. Beşinci basamak: kromojenlerin (renklendirici) eklenmesi

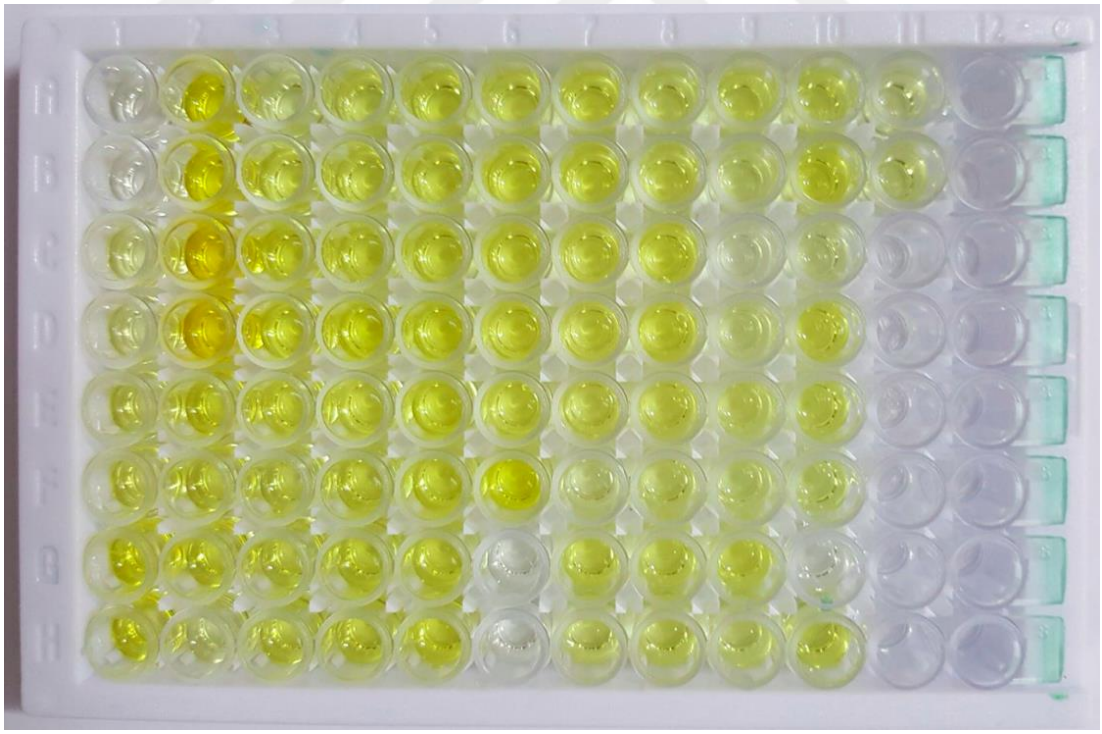
Yıkama yapıldıktan sonra kör ve standarlarda dahil olmak üzere her kuyuya önce 50 µl kromojen solüsyon A, sonra ışıktan korunması gereken 50 µl kromojen solüsyon B karanlık ortamda koyuldu. Karışması için nazikçe çalkalandı ve 10 dk 37^0C'de inkübe edildi.

5.7.1.6. Altıncı basamak: durdurma solüsyonu eklenmesi

Totalde elimizde 60 ml durdurma solüsyonu mevcut. 10 dk'lık inkübasyon sonrasında her bir kuyuya 50 µl durdurma solüsyonu eklendi. Bu sırada kuyularda mavi renkten sarı renge bir değişim gözlemlendi (Resim 3). Durdurma solüsyonu koyulduktan sonra 10 dakika içerisinde ölçüm yapılması gerektiği için hemen ELISA reader'a (Epoch Biotek®) alındı.

Resim 3. Durdurma solüsyonu eklenmesi sırasında meydana gelen renk değişimi





5.7.1.7. Yedinci basamak: ölçüm

450 nm'de ELISA Reader yardımıyla ölçüm yapıldı. Absorbansların elde edilmesinin ardından absorbans-konsantrasyon grafiği çizildi. Çizilen grafiğe göre madde miktarları belirlenmiş oldu. Tüm prosedürün kısa bir özeti Tablo 12'de bulunabilir.

Tablo 12. ELISA prosedürü

SERUM	KÖR	STANDART	ÖRNEK
Standart	-	**50µl 1'**	-
Streptavidin	-	**50µl 2'**	**50µl 3'**
Plazma/ serum	-	-	**40µl 1'**
Antikor	-	-	**10µl 2'**
Hafif çalkalama + 37^0C de 60 dakika inkübasyon + Dikkatle boşaltma			
Yıkama solüsyonunu bidistile su ile 30 kat seyreltme + 5 kez yıkama **(Her yıkamada 30 sn bekleme, her yıkama arası 1-2 dk bekleme, 5 kez 350 µl veya 6 kez 300 µl yıkama solüsyonuyla yıkama)**			
Kromojen A	**50µl 1'**	**50µl**	**50µl**
Kromojen B	**50µl 2'**	**50µl**	**50µl**
Hafif çalkalama + 37^0C de 10 dakika inkübasyon			
Durdurma solüsyonu	**50µl**	**50µl**	**50µl**
450 nm'de 10 dakika içinde okuma			
İhtiyaç Duyulan Pipet Uçları: 10, 40, 50, 300µl			

5.8. Kullanılan Kimyasallar

Glukoz, streptozotosin (STZ), nikotinamid (NA), metformin Santa Cruz Biotechnology, Inc. (Dallas, TX, USA)'dan temin edildi. Elisa Kitleri Bioassay Technology Laborator, Korain Biotech Co., Ltd (Shanghai, China)'dan temin edildi. Eli Lilly firmasının Humulin® müstahzar isimli insülini temin edildi.

5.9. Kullanılan Cihazlar

Bu tez çalışması, M.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda yürütülmüştür. Anabilim Dalında yararlanılan demirbaşlar: Hettich K2S Soğutmalı ve Heraeus Biofuge Pcio Ependes Santrifüj, BioTek Epoch Elisa Reader, ADAM

PW124 Hassas Terazi, IKA Ultra-Turrax T25 Homojenizatör, Bandelin Sonopuls Ultrasonik Homojenizatör, ARCTIKO Derin Dondurucu (-80^{0}C)'dur.

5.10. İstatistik Analizler

Değerler, ortalama±standart hata olarak verildi. Değerler, Graphpad prism 6.0 istatistik programı kullanılarak, tek yönlü varyans analizi (ANOVA), iki yönlü varyans analizi ve post-hoc test olarak Tukey ve Bonferroni testleri kullanarak hesaplandı.

6. BULGULAR

6.1. Normal Sıçanlarda Bitki Ekstrelerinin Hipoglisemik Etkilerinin Değerlendirilmesi

TPSE ve STE'nin, potansiyel antidiyabetik etkilerini ve en etkili oldukları dozu tespit etmek için normal sıçanlara OGTT uygulaması yapıldı. Hayvanlar 12 saat aç bırakıldıktan sonra, gruplara önce tedavileri, 30 dakika sonra ise 4 g/kg dozunda glukoz çözeltisi verildi ve kan glukozları 3 saat süresince takip edildi. OGTT uygulamasını takip eden 1 saat (30, 60. dakikalarda) içinde, Tablo-1'de belirtildiği gibi, tüm gruplarda kan glukozu düzeyleri, hipergliseminin indüklendiğini gösterecek şekilde belirgin bir şekilde yükseldi. Kan glukozu düzeyleri, kontrol grubunda 120. dakikada normal düzeylere dönerken, benzer bir toparlanma TPSE' nin 100 ve 200 mg/kg dozları, STE' nin 100, 200, 400 mg/kg dozlarıyla muamele edilen sıçanlarda da gözlendi. STE'nin 200 mg/kg dozu, uygulamadan sonra ilk bir saat içinde, kontrol grubuna kıyasla, kan glukozunu önemli ölçüde ($p<0.001$) düşürdü. 100 ve 400 mg/kg STE verilen hayvanların kan glukoz seviyeleri ise daha yüksek kaldı. Bu verilere dayanarak 200 mg/kg STE dozu deney için seçildi.

Diğer bir taraftan, TPSE' nin iki dozunun da kan glukozu düzeylerini düşürücü etkileri, birbirlerine benzer olmakla birlikte, ilk bir saatlik süreçte 100 mg/kg dozunun daha güçlü bir hipoglisemik ($p<0.005$) etki gösterdiği gözlendi. Bu nedenle hem yüksek dozların oluşturacağı yan etkiyi elimine etmek hem de nispeten etkili dozu kullanmak amacıyla 100 mg/kg TPSE dozu deney için seçildi.

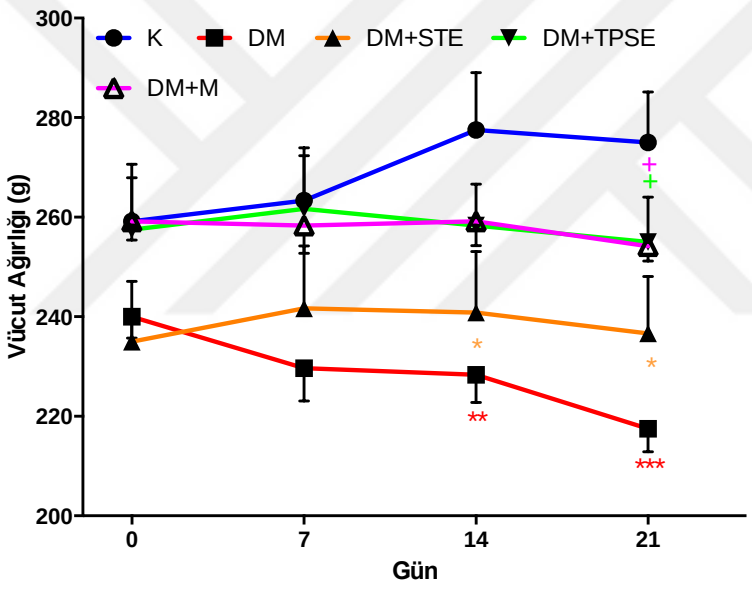
Tablo 13. Normoglisemik sıçanların oral glukoz tolerans testi sonucu elde edilen kan glukozu değerleri

Kan glukoz seviyeleri (mg/dl)					
Gruplar	**0. dk**	**30. dk**	**60. dk**	**120. dk**	**180. dk**
Kontrol	88±6.96	193±12.08	182±8.16	100±9.70	93±2.77
ST-100	90±4.80	175±10.59*	159±5.66	91±4.07	85+2.99
ST-200	88±5.40	161±14.12***	135±10.02***	89±6.50	89±3.52
ST-400	91±4.51	167±12.28	160±6.94	110±3.80	96±2.49
TPS-100	100±1.91	145±9.28	142±7.21*	104±5.62	93±3.40
TPS-200	93±2.30	154±2.95	147±3.94	104±3.75	93±2.34

Değerler, ortalama ± standart hata olarak verildi. Değerler, iki yönlü ANOVA ve Bonferroni testi kullanarak hesaplandı. ***$p<0.001$, *$p<0.05$ kontrol grubuna göre kıyaslandı; n=6.

6.2. TPSE ve STE'nin Vücut Ağırlığına Etkileri

Deneyde kullanılmak üzere, benzer vücut ağırlığına sahip hayvanlar seçildi. Oral TPSE ve metformin uygulaması, diyabetli grupta 3 hafta boyunca kilo kaybını engelleyerek, mevcut kilonun korunmasına neden oldu. Bununla beraber, STE grubu hayvanları, kontrol grubuna kıyasla 2. haftadan itibaren kilo kaybetmeye ($p<0.05$) başladı ve deney süresince bu durum devam etti. Tedavi edilmeyen diyabetik sıçanlardaki ağırlık kaybı kontrol grubuna kıyasla çok daha ciddiydi ($p<0.001$) (Şekil 4). Son hafta, tüm gruplarda çok düşük oranda bir kilo kaybı gözlendi. Tedavi edilmeyen diyabetik sıçanlar ise deney sonunda başlangıçtaki kilolarının %11'ini kaybetti.

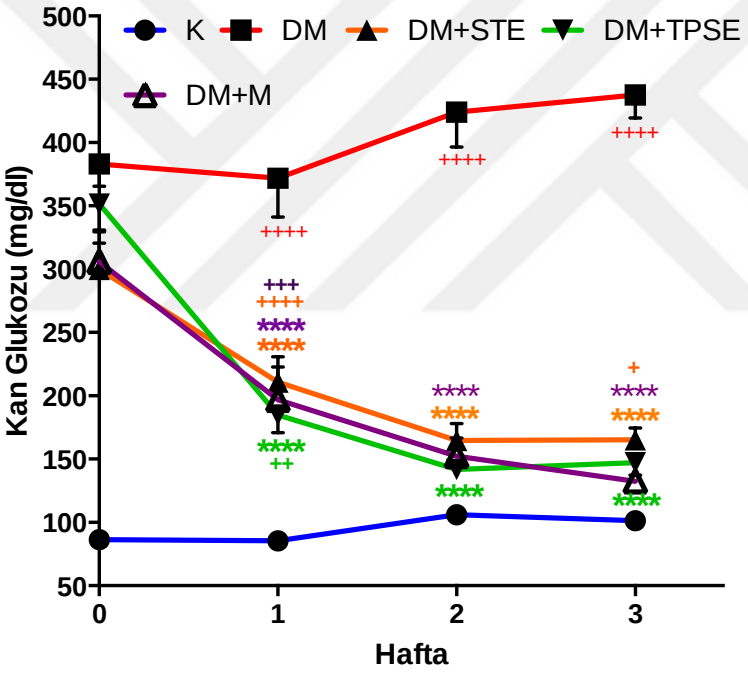


Şekil-4. STE ve TPSE'nin diyabetik hayvanların 3 hafta boyunca vücut ağırlığı üzerine etkileri. Her grubun değeri (n=6) ortalama ± standart hata olarak verildi. Data analizi çift yönlü ANOVA ve Bonferroni testi kullanarak yapıldı. ***$p<0.001$, **$p<0.01$, *$p<0.05$ kontrol grubuna göre kıyaslandı. $^{+}p<0.05$ ise diyabet grubuna göre kıyaslandı.

6.3. TPSE ve STE'nin Kan Glukoz Seviyeleri Üzerine Etkisi

Şekil 5, deney hayvanlarda kan glukoz düzeylerindeki değişimi göstermektedir. Tedavi edilmeyen diyabetik sıçanların kan glukozu değerleri diğer gruplara kıyasla, deney boyunca süren ciddi ($p<0.0001$) bir yükseliş eğilimindeydi.

Bununla beraber 1 hafta sonra, TPSE ve STE uygulanan sıçanların kan glukoz düzeylerinde diyabet grubuna kıyasla dikkat çekici (sırasıyla $p<0.0001$ ve $p<0.01$) bir düşüş gözlendi ve bu durum deney süresince devam etti. 3 haftanın sonunda, ortalama en düşük kan glukozu değeri (132.50±7.40 mg/dl) metformin grubuna aitti. Ancak STE ve TPSE gruplarında gözlenen düşüşler de metformin grubuna benzer profildeydi. 3 hafta sonunda TPSE grubu kan glukozu %58, STE grubunun kan glukozu ise %45 düştü. Deney sonunda TPSE grubu sıçanların kan glukozunun 147.33±9.83 mg/dl'ye kadar indiği gözlendi ki bu değer metformin ile tedavi edilen sıçanların ortalama kan glukozunun sadece %11 fazlasıydı.



Şekil 5. STE ve TPSE tedavilerini takiben kan glukozu düzeylerinin 3 haftalık değişimi. Her bir grubun (n=6) değerleri ortalama ± standart hata şeklinde verildi. Data analizi, çift yönlü ANOVA ve Bonferroni testi kullanarak yapıldı. ****$p<0.0001$, kontrol grubuna göre kıyaslandı. $^{++++}p<0.0001$, $^{+++}p<0.001$, $^{++}p<0.01$, $^{+}p<0.05$ ise diyabet grubuna göre kıyaslandı.

6.4. TPSE ve STE'nin OGTT'ye Olan Etkileri

12 saat açlıktan sonra, gruplara önce tedavileri, 30 dakika sonrasında ise 2 g/kg dozunda glukoz çözeltisi verildi. Kan glukozu düzeyleri, glukoz alımından hemen önce ve sonrasında 30, 60, 120 ve 180. dakikalarda ölçüldü. Tablo-14, OGTT

boyunca kan glukozu düzeyindeki değişimleri göstermektedir. Her grup, oral glukoz yüklemesini takip eden 1 saat içinde, kan glukoz düzeylerinde önemli bir artış sergileyerek, hipergliseminin başarılı bir şekilde indüklendiğini göstermiştir.

Beklenildiği gibi, metformin grubunda kan glukoz düzeyleri, 30. dakikadan itibaren diyabet ($p<0.0001$) ve tedavi gruplarına kıyasla ($p<0.0001$) daha düşük düzeylerde seyretmekteydi. İlk bir saat içinde kan glukozu TPSE grubu sıçanlarda başlangıca göre 2.39 kat artarken, STE grubunda bu oran 2.12 idi. Bununla beraber, metformin grubu sıçanlarının kan glukozu değerleri başlangıçtakinin yalnızca 1.27 katına çıktı. Bu durum metforminin diğer gruplara kıyasla kan glukozunu daha iyi koruduğunu ve glukozun daha iyi tolere edilmesini sağladığını göstermektedir. OGTT'nin ikinci saatinde ise, TPSE ve metformin gruplarının hipoglisemik etki şiddetleri çok farklı değildi. TPSE, metformine benzer bir şekilde kan glukozunu düşürdü.

TPSE ve STE ilk saate kıyasla ikinci saatte, kan glukozunu sırayla %60 ve %59 ($p<0.001$) oranında düşürdü.

Tablo 14: Diyabetik sıçanlarda Oral Glukoz Tolerans Testi'ne TPS ve ST'nin etkileri

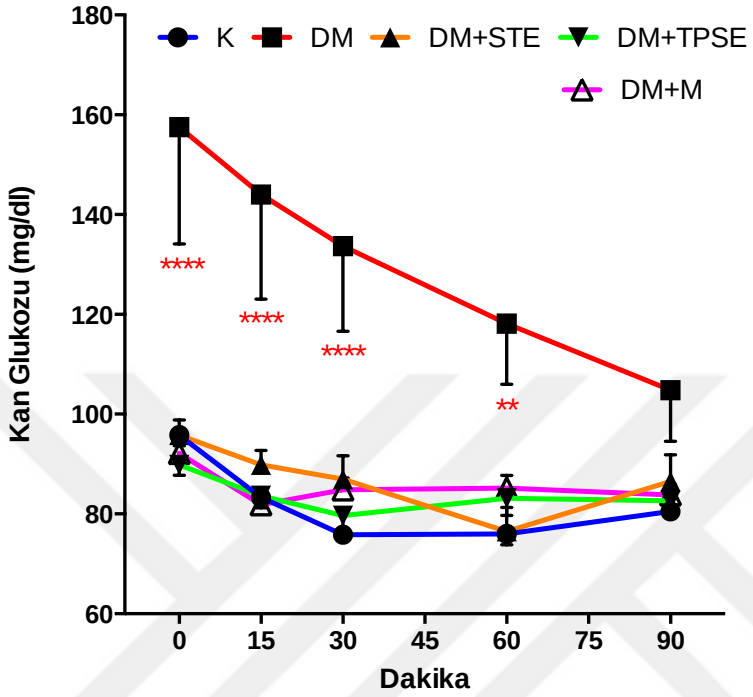
Kan glukoz seviyeleri (mg/dl)					
Gruplar	**0 min**	**30 min**	**60 min**	**120 min**	**180 min**
Kontrol	86±2.95	146±8.86	123±5.13	90±2.76	85±3.73
DM	135±23.08	347±60.97^{a4}	317±52.89^{a4}	225±50.13^{a3e2}	183+47.39^{a1f4g3}
DM+ST	120±7.86	285±9.94 ^{a3}	254±21.95^{a2}	105±7.15^{b2e4g3}	96±3.98^{f4h4}
DM+TPS	98±3.33	288±19.96 ^{a3}	235±19.18^{a2}	94±8.58^{b2e4g3}	95±2.83^{f4h3}
DM+M	101±4.99	145±13.90^{b4c3d3}	128±10.61^{b4c2d1}	80±4.75^{b3}	86±4.17^{b4}

Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi (n=6), Data analizi, çift yönlü ANOVA ve Bonferroni testi kullanarak yapıldı. ^{a}kontrol grubuna göre; ^{b}diyabet grubuna göre; ^{c}ST grubuna göre; ^{d}TPS grubuna göre; ^{e}30 dk'ya göre; ^{f}30 dk'ya göre; ^{g}60 dk'ya göre; ^{h}60 dk'ya göre kıyaslandı. $^{1}p<0.05$; $^{2}p<0.01$; $^{3}p<0.001$; $^{4}p<0.0001$.

6.5. TPSE ve STE'nin İnsülin Duyarlılığı Üzerine Etkisi

İnsülin hassasiyetini değerlendirmek için, 12 saat açlıktan sonra hayvanlara 1 U/kg dozunda insülin uygulandı ve kan glukozu değerleri injeksiyondan hemen önce ve sonrasında 15, 30, 45, 60, 90. dakikalarda ölçüldü. Tedavi grupları, diyabet

gruplarına nazaran insülini daha iyi tolere ederken, diyabetik sıçanların plazma glukoz seviyesinde ciddi bir düşüş gözlendi ($p<0.0001$) (Şekil 6).

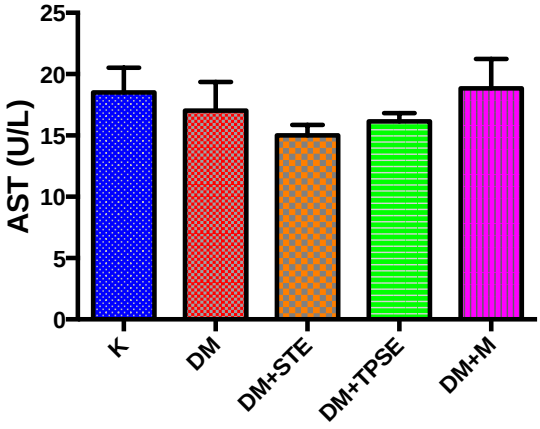


Şekil 6. STE ve TPSE'nin İnsülin Tolerans Testi'nde kan glukoz düzeyleri üzerine etkisi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi (n=6). Data analizi, çift yönlü ANOVA ve Bonferroni testi kullanarak yapıldı. ****$p<0.0001$, **$p<0.01$ kontrol grubuna göre kıyaslandı.

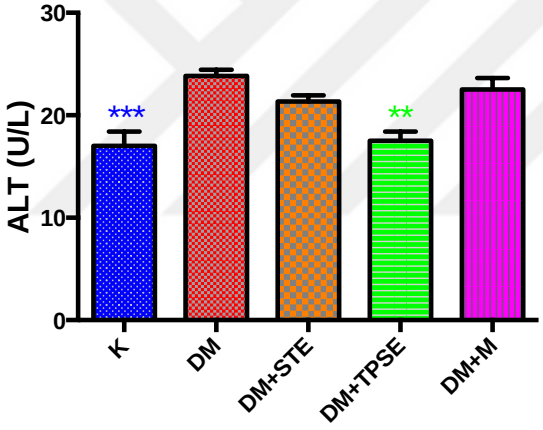
6.6. Serum ALT, AST, Kreatinin Seviyeleri Üzerine Etkisi

Hepatik doku hasarının göstergesi olarak serumda ALT ve AST seviyelerine bakıldı. Kreatinin kas metabolizmasının ürettiği bir vücut atığıdır. Böbrekler vasıtasıyla idrarla atılır. İdrar veya kandaki kreatinin değerleri böbrek fonksiyonunun göstergesidir. Yüksek kreatinin düzeyleri daha çok kronik böbrek problemlerinin göstergesidir.

AST düzeylerinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunamazken (Şekil 7), ALT düzeylerine bakıldığında ise diyabetik sıçanlarda sağlıklı sıçanlara oranla ciddi bir artış gözlendi ($p<0.001$). TPSE ile tedavi edilen grupta ALT düzeyleri sağlıklı sıçanların seviyesine düşmesede önemli bir oranda ($p<0.01$) düştü (Şekil 8).

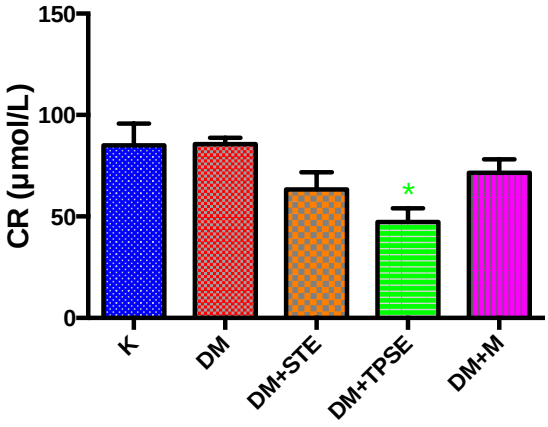


Şekil 7. ST ve TPS'nin serum AST düzeyleri üzerine etkisi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi (n=6). Data analizi, tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanarak yapıldı. ****p<0.0001, ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05 diyabet grubuna göre kıyaslandı.



Şekil 8. ST ve TPS'nin serum ALT düzeyleri üzerine etkisi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi (n=6). Data analizi, tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanarak yapıldı. ****p<0.0001, ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05 diyabet grubuna göre kıyaslandı.

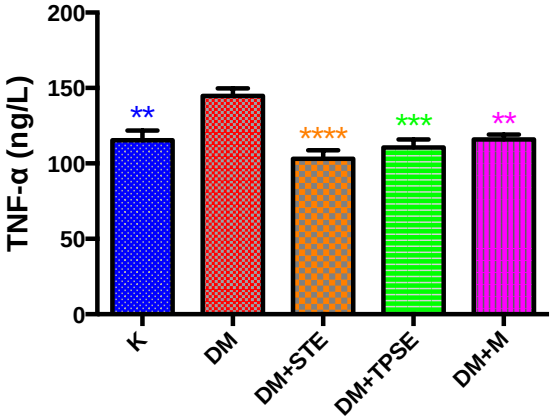
TPSE ile tedavi edilen grubun kreatinin düzeyini diyabet grubuna kıyasla azalttığı gözlendi (p<0.05). Fakat metformin ve STE ile tedavi edilen gruplar kreatinin düzeyini anlamlı bir şekilde düşüremedi (Şekil 9).



Şekil 9. ST ve TPS'nin serum CR düzeyleri üzerine etkisi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi (n=6). Data analizi, tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanarak yapıldı. ****p<0.0001, ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05 diyabet grubuna göre kıyaslandı.

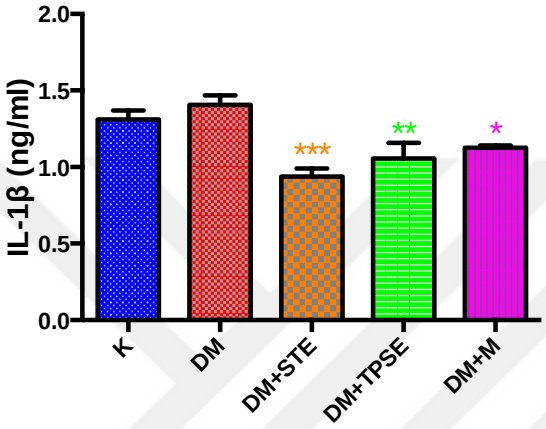
6.6. Serum TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-10 Seviyeleri Üzerine Etkisi

İnflamasyon, insülin direncinin gelişmesinde önemli bir patofizyolojik mekanizma olarak düşünülmektedir. TNF-α, IL-1β, IL-6 gibi birçok proinflamatuvar sitokin ve IL-10 gibi antiinflamatuvar sitokin miktarına serumda bakılarak inflamasyon gelişimi gözlendi. TNF-α miktarı diyabet grubunda yükselirken (p<0.01), tedavi gruplarında diyabet grubuna kıyasla ciddi düşüşler gözlendi (Şekil 10). Özellikle STE grubundaki düşüş diğer tedavi gruplarına kıyasla daha yüksek seviyedeydi (p<0.0001).



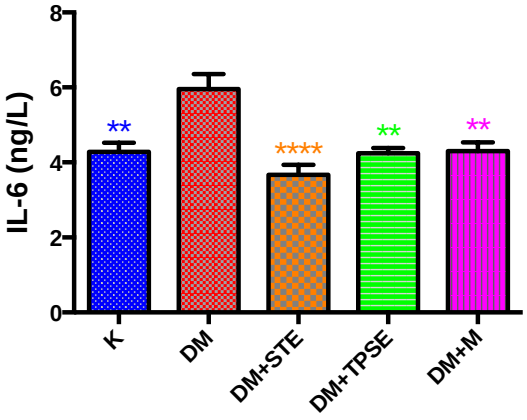
Şekil 10. ST ve TPS'nin serum TNF-α düzeyleri üzerine etkisi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi (n=6). Data analizi, tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanarak yapıldı. ****p<0.0001, ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05 diyabet grubuna göre kıyaslandı.

Diğer bir antiinflamatuvar sitokin olan IL-1β seviyeleri diyabetik hayvanlarda nispeten yükselirken, tedavi gruplarında düşüşler gözlendi (Şekil 11). TNF-α düzeylerinde en ciddi düşüşü sağlayan STE ile tedavi IL-1β seviyelerini de en çok düşüren ($p<0.001$) grup oldu. TPSE ve metforminde diyabet grubuna kıyasla TNF-α düzeylerinde düşüş sağlamış olsa da STE seviyesine ulaşamadı.



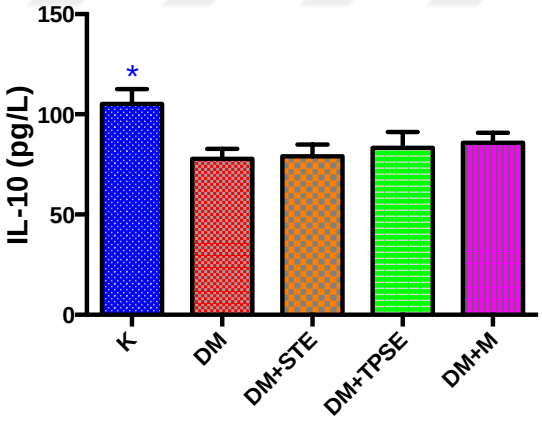
Şekil 11. ST ve TPS'nin serum IL-1β düzeyleri üzerine etkisi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi (n=6). Data analizi, tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanarak yapıldı. ****$p<0.0001$, ***$p<0.001$, **$p<0.01$, *$p<0.05$ diyabet grubuna göre kıyaslandı.

Bir başka antiinflamatuvar sitokin olan IL-6 düzeylerinde en büyük düşüşü yine STE grubu yakaladı ($p<0.0001$). Bu da bize gösteriyor ki diğer tedavilerle kıyaslandığında en ciddi antiinflamatuvar etkisi olan STE ile tedavi edilen gruptur (Şekil 12). Hem TNF-α, hem IL-1β, hem de IL-6 miktarında en yüksek düşüşü sağladı. Bununla beraber TPSE grubu da düşük düzeyde antiinflamatuvar etki meydana getirmiştir.



Şekil 12. ST ve TPS'nin serum IL-6 düzeyleri üzerine etkisi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi (n=6). Data analizi, tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanarak yapıldı. ****p<0.0001, ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05 diyabet grubuna göre kıyaslandı.

Diğer sitokinlerin aksine antiinflamatuvar etkinin bir göstergesi olan IL-10 miktarına bakıldığında ise diyabet grubunda miktarının kontrol grubuna kıyasla düştüğü gözlendi ($p<0.05$). Tedavi gruplarında ise diyabet grubuna kıyasla anlamlı bir yükseliş yakalanamadı (Şekil 13).

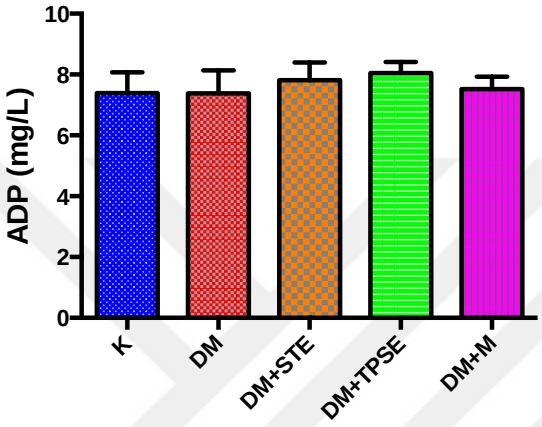


Şekil 13. ST ve TPS'nin serum IL-10 düzeyleri üzerine etkisi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi (n=6). Data analizi, tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanarak yapıldı. ****p<0.0001, ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05 diyabet grubuna göre kıyaslandı.

6.7. Serum ADP Seviyeleri Üzerine Etkisi

TPSE ve STE'nin kan glukoz seviyesini düşürücü ve insülin seviyesini yükseltici etkisi, karaciğer ve periferik dokulardaki adiponektin ekspresyonunun uyarılmasıyla

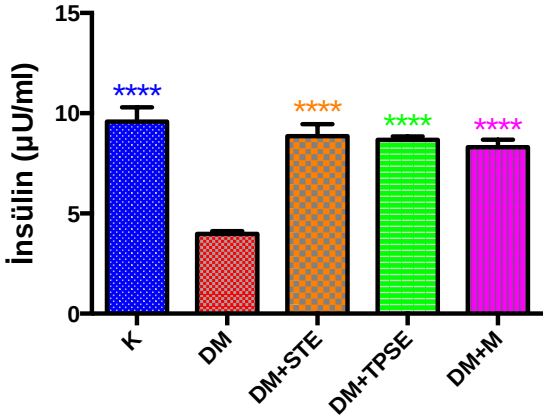
çevresel dokular tarafından glukoz kullanımının uyarılmasına bağlı olabilir. Adiponektin karaciğer ve iskelet kasında yağ oksidasyonunu artırır, insülin duyarlılığını artırır ve karaciğerdeki glukoz üretimini düşürür. Sonuç olarak dolaşımdaki FFA miktarı azalır, karaciğerdeki TG ve glukoz seviyeleri düşer. T2DM durumunda miktarının azaldığı, tedaviyle ise yükselebileceği söylenmektedir. Fakat biz yaptığımız ELISA analizi sonucu gruplar arasında herhangi bir anlamlı farklılık yakalayamadık (Şekil 14).



Şekil 14. ST ve TPS'nin serum ADP düzeyleri üzerine etkisi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi (n=6). Data analizi, tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanarak yapıldı. ****p<0.0001, ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05 diyabet grubuna göre kıyaslandı.

6.8. İnsülin Seviyeleri Üzerine Etkisi

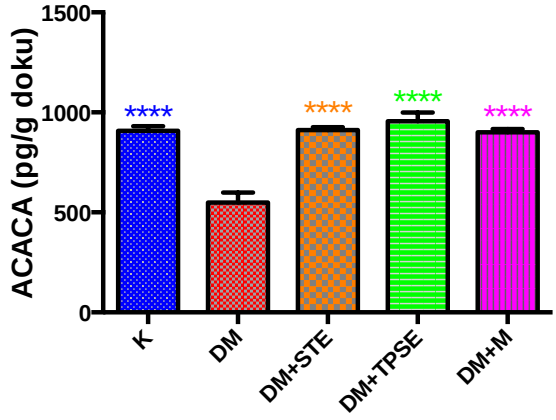
T2DM hastalığının başlangıcında insülin direnci görülmesine rağmen zamanla tedavi edilmeyen hastalarda beta hücresi harabiyetine bağlı insülin miktarının ciddi bir şekilde düştüğü gözlenmektedir. Bizim çalışmamızda da bu durum açık bir şekilde ortaya konuldu. Tedavi edilmeyen diyabetik sıçanlarda serum insülin miktarı ciddi bir şekilde düştü (3.98±0.14 µU/ml, p<0.0001). Tedavi grupları ise insülin seviyelerini kontrol grubuna yakın bir oranda yükseltti (p<0.0001). STE, TPSE ve metformin gruplarında insülin miktarları sırasıyla 8.86±0.60, 8.67±0.18 ve 8.31±0.37 µU/ml'ye yükseldi. Kontrol grubunda insülin miktarı 9.58±0.72 µU/ml olarak tespit edildi (Şekil 15).



Şekil 15. ST ve TPS'nin serum insülin düzeyleri üzerine etkisi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi (n=6). Data analizi, tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanarak yapıldı. ****p<0.0001, ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05 diyabet grubuna göre kıyaslandı.

6.9. ACACA Seviyeleri Üzerine Etkisi

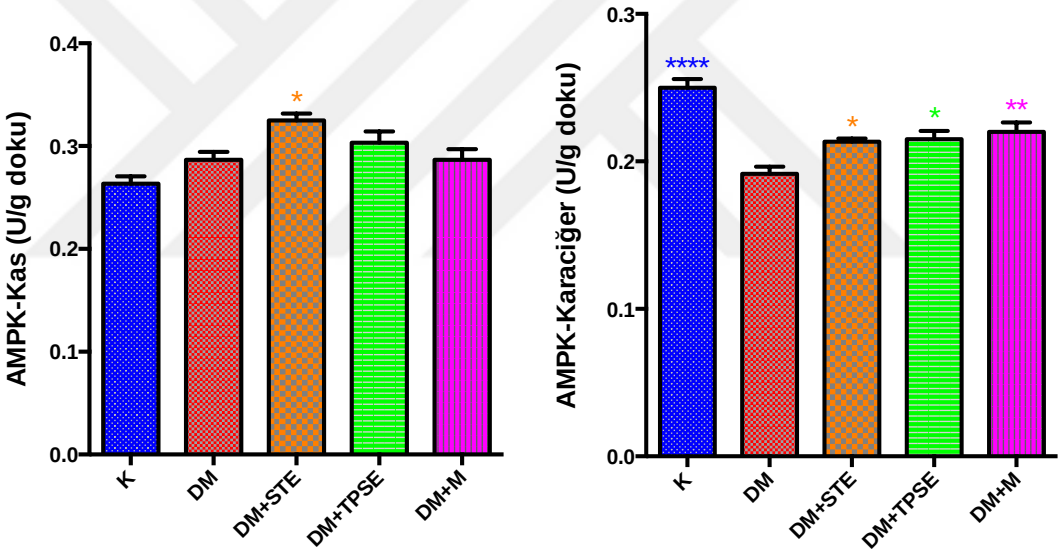
ACC de novo yağ asidi ve kolesterol sentezinden sorumlu bir enzimdir. Diyabet durumunda miktarının düştüğü ve bu durumun karaciğer TG ve FFA seviyelerini yükselttiği bilinmektedir. Bizim çalışmamızda ACACA seviyelerine bakıldı ve diyabet grubunda ciddi oranda düştüğü görüldü (p<0.0001). Tedavi gruplarında bu seviyelerin normal düzeylere çekildiği gözlendi (Şekil 16). Tedavi grupları arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi. Dolayısıyla yapılan tedavilerle karaciğerde TG ve FFA seviyelerinin de toparladığı çıkarılabilir.



Şekil 16. ST ve TPS'nin karaciğer ACACA düzeyleri üzerine etkisi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi (n=6). Data analizi, tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanarak yapıldı. ****p<0.0001, ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05 diyabet grubuna göre kıyaslandı.

6.10. AMPK Seviyeleri Üzerine Etkisi

Tip 2 diyabet hayvan modellerinde yapılan çalışmalar AMPK aktivatörlerinin Tip 2 diyabet tedavisinde yararlı olabileceğine dair umut vermiştir. Karaciğer AMPK glukoz dengesini temel olarak glukoneojenik gen ekspresyonu ve hepatik glukoz üretimini inhibe ederek kontrol eder. Akut kas AMPK aktivasyonu, kas insülin duyarlılığının artışı ile sonuçlanır. Bizim çalışmamızda ise diyabet grubunda kontrol grubuna kıyasla karaciğerde AMPK miktarının önemli ölçüde azaldığı ($p<0.0001$), kasta ise değişmediği gösterildi. Tedavi gruplarından sadece STE grubu hem kas hem de karaciğerde AMPK düzeylerini diyabet grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde yükseltti ($p<0.05$). TPSE grubu karaciğerde AMPK düzeylerini STE kadar yükseltti ($p<0.05$), fakat metformin grubunda yükseliş diğer tedavi gruplarına kıyasla daha yüksek ($p<0.01$) seviyedeydi (Şekil 17).

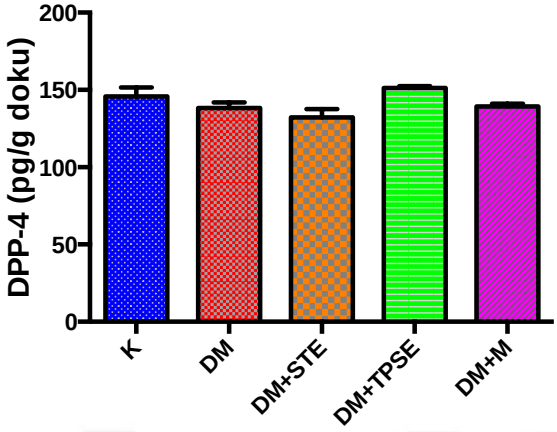


Şekil 17. ST ve TPS'nin kas ve karaciğer AMPK düzeyleri üzerine etkisi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi (n=6). Data analizi, tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanarak yapıldı. ****$p<0.0001$, ***$p<0.001$, **$p<0.01$, *$p<0.05$ diyabet grubuna göre kıyaslandı.

6.11. DPP-4 Seviyeleri Üzerine Etkisi

DPP-4, insülin direnci ve diyabetik nefropatide kritik bir rol oynamaktadır. DPP-4 aktivasyonu, insülin direnci sinyallerine yol açmaktadır. DPP-4'ün aktivitesini inhibe etmek insülin duyarlılığını ve glukoz alımını düzeltir. Bu nedenle çalışmamızda bitki

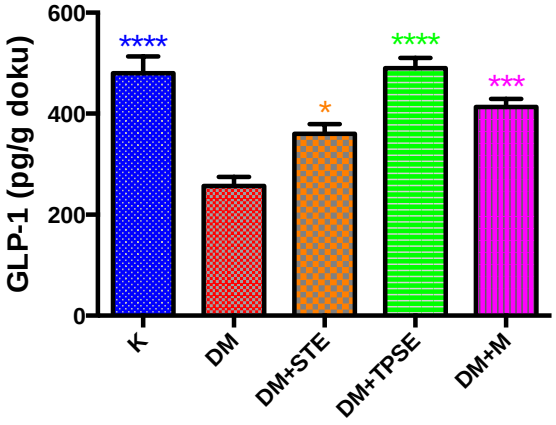
ekstrelerinin olası DPP-4 inhibitör etkisine baktık. Fakat hiçbir tedavi grubunda anlamlı bir değişiklik gösterilemedi (Şekil 18).



Şekil 18. ST ve TPS'nin böbrek DPP-4 düzeyleri üzerine etkisi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi (n=6). Data analizi, tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanarak yapıldı. ****p<0.0001, ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05 diyabet grubuna göre kıyaslandı.

6.12. GLP-1 Seviyeleri Üzerine Etkisi

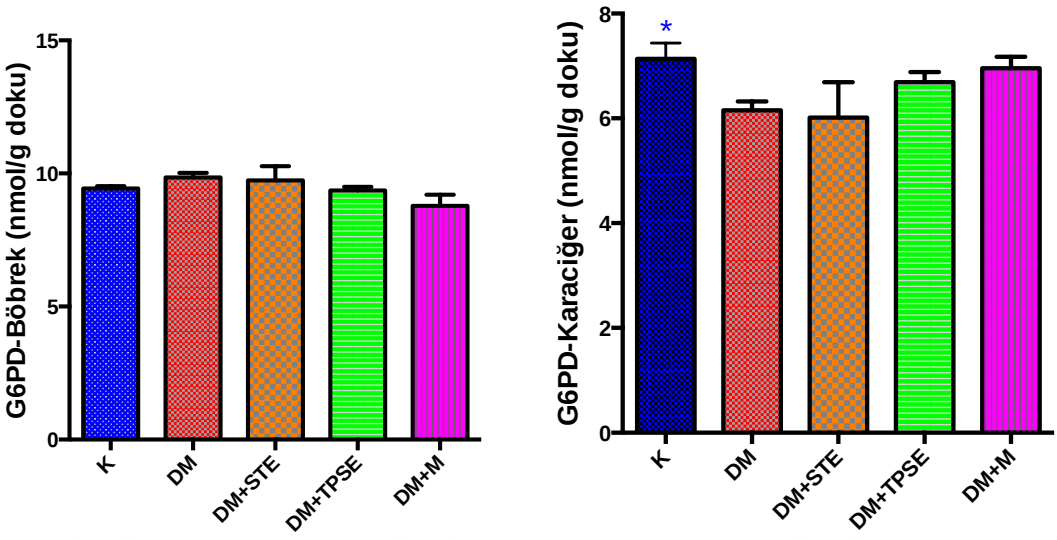
Yemek sonrası kan glukoz düzeylerini düşüren ve çeşitli fizyolojik eylemleri ortaya çıkaran GLP-1 gibi endojen inkretinler mevcuttur. Ayrıca, glukoz bağımlı insülin salınımını uyarır, glukagonu azaltır ve gastrik boşaltımı yavaşlatır. Çalışmamızda diyabet grubunda pankreas GLP-1 miktarı kontrol grubuna kıyasla önemli oranda ($p<0.0001$) düşmüştür. Uygulanan tedavilerde TPSE ile GLP-1 miktarı ciddi miktarda yükseltilirken ($p<0.0001$), metformin daha düşük bir artış sağladı ($p<0.001$). STE grubu ise daha düşük bir seviyede bir yükseliş sağladı ($p<0.05$) (Şekil 19).



Şekil 19. ST ve TPS'nin pankreas GLP-1 düzeyleri üzerine etkisi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi (n=6). Data analizi, tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanarak yapıldı. ****p<0.0001, ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05 diyabet grubuna göre kıyaslandı.

6.12. G6PD Seviyeleri Üzerine Etkisi

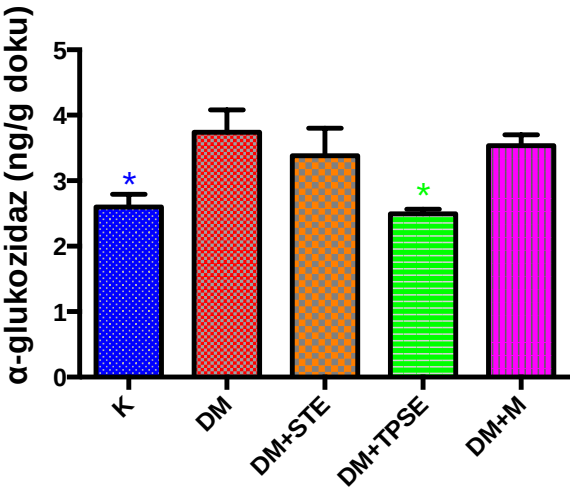
Diyabette çok sayıda ROS üretimi meydana gelmektedir. Vücutta bulunan endojen antioksidan enzimlerde buna karşı savaşmaktadır. Bunlardan biri G6PD'dir. Diyabetik sıçanlarda, pankreas ve akciğerler dokularında G6PD'nin upregüle olduğu ve bu bulguların aksine G6PD aktivitesinin göz merceğinde azaldığı, beyinde değişmediği gösterilmiştir. Çalışmamızda böbrek ve karaciğerde seviyelerine bakıldı. Böbrek G6PD seviyelerinde anlamlı bir değişiklik bulunamadı. Fakat karaciğer G6PD seviyelerinin diyabetik sıçanlarda sağlıklı sıçanlara oranla düştüğü görüldü ($p<0.05$). Tedavi gruplarından TPSE ve metformin, G6PD seviyelerini diyabet grubuna kıyasla hafif bir şekilde toparladı fakat bu artış anlamlı değildi (Şekil 20).



Şekil 20. ST ve TPS'nin böbrek ve karaciğer G6PD düzeyleri üzerine etkisi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi (n=6). Data analizi, tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanarak yapıldı. ****p<0.0001, ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05 diyabet grubuna göre kıyaslandı.

6.13. Alfa-glukosidaz Seviyeleri Üzerine Etkisi

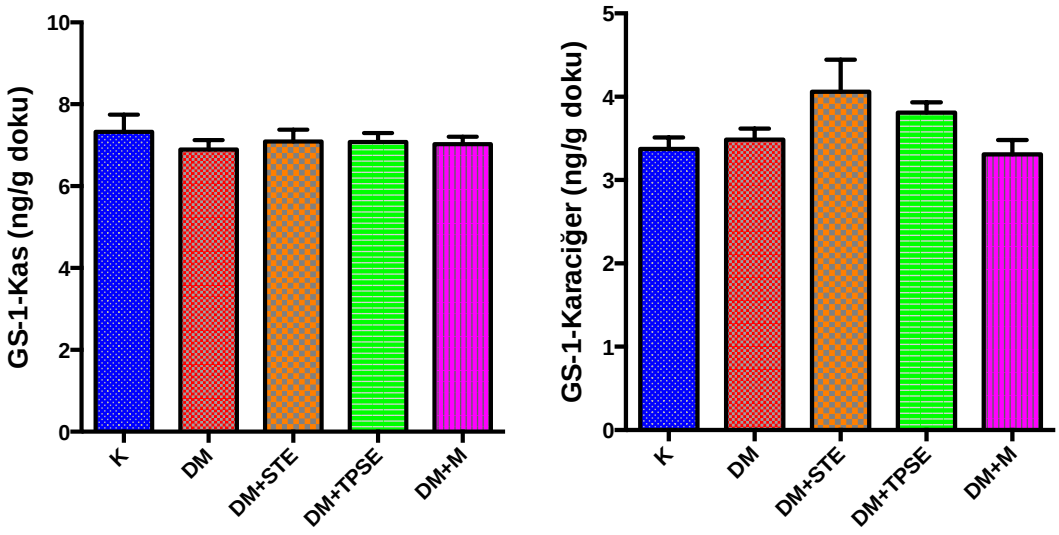
Karbonhidrat sindiriminde anahtar enzim olarak görev yapan bağırsak α-glukosidaz, ince bağırsağın epitelyumunda salgılanan bir glukosidazdır. α-glukosidaz, diyabette meydana gelen en erken metabolik anormallik olan postprandiyal hipergliseminin modülasyonu için terapötik bir hedef olarak kabul edilmektedir. Çalışmamızda diyabet grubunda kontrol grubuna göre α-glukosidaz miktarında anlamlı bir yükseliş bulundu ($p<0.05$). Uygulanan tedaviler içerisinde sadece TPSE grubu α-glukosidaz miktarını ($p<0.05$) düşürdü. STE ve metformin grupları α-glukosidaz miktarını anlamlı bir şekilde düşüremedi (Şekil 21).



Şekil 21. ST ve TPS'nin ince bağırsak α-glukosidaz düzeyleri üzerine etkisi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi (n=6). Data analizi, tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanarak yapıldı. ****p<0.0001, ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05 diyabet grubuna göre kıyaslandı.

6.14. GS-1 Seviyeleri Üzerine Etkisi

Glukojen, glukoz rezidüsünün dallanmış bir polimeridir ve glukojen sentaz enzimi tarafından sentezlenir. İnsülin aktivitesiyle direkt olarak sentezlenir çünkü insülin glukojen sentazı stimüle ederek ve glukojen fosforilazı inhibe ederek hücre içi glukojen birikimini destekler. AMPK ise tersine glukojen sentaz'ı fosforilleyip inaktive ederek kasta glukojen sentezi inhibe eder. Diyabetik hayvanlarda hepatik glukojen konsantrasyonu, glukojen sentaz ve glukokinaz aktivitesi azalır. Bu nedenle çalışmamızda kas ve karaciğerde glukojen sentaz-1 miktarına bakıldı fakat gruplar arasında anlamlı bir farklılık yakalanamadı (Şekil 22).



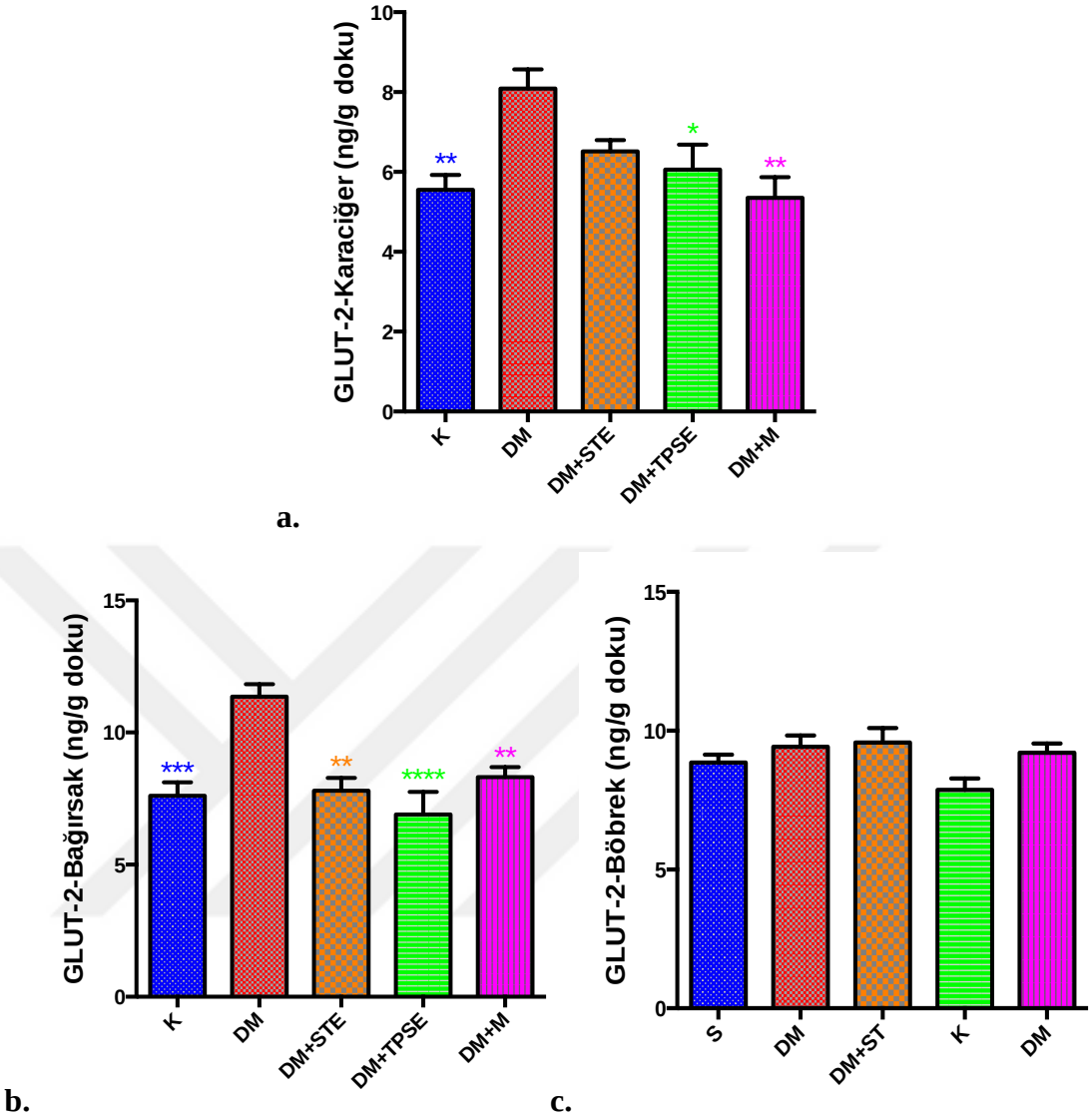
Şekil 22. ST ve TPS'nin kas ve karaciğer GS-1 düzeyleri üzerine etkisi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi (n=6). Data analizi, tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanarak yapıldı. ****p<0.0001, ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05 diyabet grubuna göre kıyaslandı.

6.15. GLUT-2 Seviyeleri Üzerine Etkisi

GLUT-2, hücre membranlarında glukoz taşınmasından sorumlu transmembran taşıyıcı bir proteindir. Ağırlıklı olarak hepatositlerde eksprese edilir. Aynı zamanda böbrek proksimal kıvrım tübül hücreleri, bağırsak emici hücreleri ve pankreatik β hücreleri tarafından da eksprese edilmektedir. Karaciğer ve kan arasındaki glukozun taşınmasında esas sorumlu proteindir ve böbrek glukoz reabsorbsiyonunda rol alır. GLUT-2 ekspresyonunun diyabetik hayvan modellerinde pankreas β-hücrelerinde azaldığı, karaciğerde ise arttığı kanıtlanmıştır. Bizim çalışmamızda kontrol grubuna kıyasla diyabetik hayvanlarda karaciğer ve bağırsak GLUT-2 seviyeleri ciddi miktarda yükseldi (sırasıyla, p<0.01 ve p<0.001). Böbrekte GLUT-2 seviyelerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 23c).

Metformin karaciğerde GLUT-2 seviyelerini diğer gruplara kıyasla daha büyük oranda düşürdü (p<0.01). TPSE de karaciğer GLUT-2'yi inhibe etti (p<0.01) fakat STE'de böyle bir etki gözlenmedi (Şekil 23a).

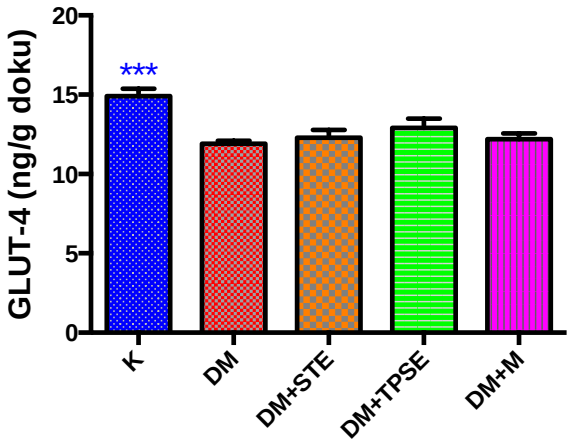
Bağırsak GLUT-2 seviyelerini en şiddetli şekilde inhibe eden tedavi grubu TPSE'dir (p<0.0001). Bununla beraber tüm tedavi gruplarında ciddi bir inhibisyon yaşanmıştır (Şekil 23b). STE ve metformin gruplarında benzer oranda inhibisyon gösterildi (p<0.01).



Şekil 23. ST ve TPS'nin karaciğer, bağırsak ve böbrek GLUT-2 düzeyleri üzerine etkisi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi (n=6). Data analizi, tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanarak yapıldı. ****p<0.0001, ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05 diyabet grubuna göre kıyaslandı.

6.16. GLUT-4 Seviyeleri Üzerine Etkisi

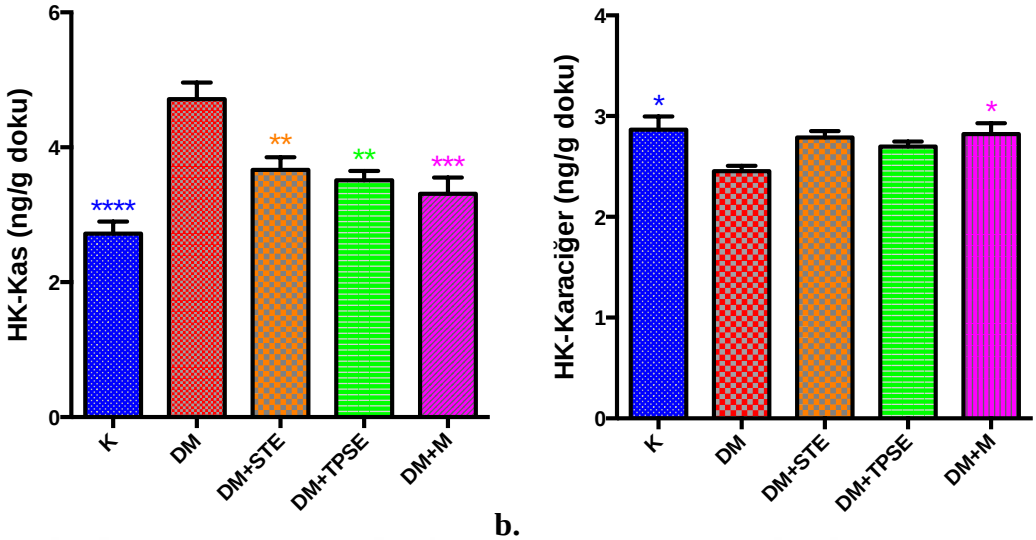
GLUT-4 primer insülin-bağımlı transporter'dır ve iskelet kası, WAT ve kardiyomiyositlerde yüksek miktarda eksprese edilir. AMPK aktivasyonu iskelet kasında glukojen içeriğini, hekzokinaz ve kas GLUT-4'ü artırır. Hücre içi GLUT-4'ün plazma membranına bozulmuş translokasyonu, insüline direnç olduğu anlamına gelir. Çalışmamızda, kontrol grubuyla kıyaslandığında diyabetik sıçanlarda GLUT-4 miktarının önemli ölçüde düştüğü gösterildi (p<0.001). Tedavi gruplarında meydana gelen yükselişin ise anlamlı olmadığı görüldü (Şekil 24).



Şekil 24. ST ve TPS'nin iskelet kası GLUT-4 düzeyleri üzerine etkisi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi (n=6). Data analizi, tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanarak yapıldı. ****p<0.0001, ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05 diyabet grubuna göre kıyaslandı.

6.17. HK Seviyeleri Üzerine Etkisi

HK, glukoz metabolizmasındaki temel enzimlerden biridir. Hekzokinaz, glukozun aerobik oksidasyonu için bir hız sınırlayıcı enzimdir. Anahtar glukolitik enzimlerden olan HK diyabetik hastalıklar süresince önemli ölçüde değişmektedir. Kasta HK seviyeleri incelendiğinde kontrol grubuna kıyasla diyabet grubunda çok ciddi bir yükseliş ($p<0.0001$) gözlenirken, karaciğerde tam tersi şekilde hafif bir düşüş ($p<0.05$) gösterdi. Kasta tedavi grupları HK seviyesini sağlıklı hayvanların seviyesine düşüremese de anlamlı bir şekilde düşürdü (Şekil 25a). En büyük düşüşü metformin grubu sağladı ($p<0.001$). Karaciğerde HK seviyesi diyabet grubuyla kıyaslandığında sadece metformin ile tedavi edilen grupta hafif bir şekilde yükseldi ($p<0.05$), diğer tedavi gruplarında anlamlı bir değişiklik söz konusu değildi (Şekil 25b).

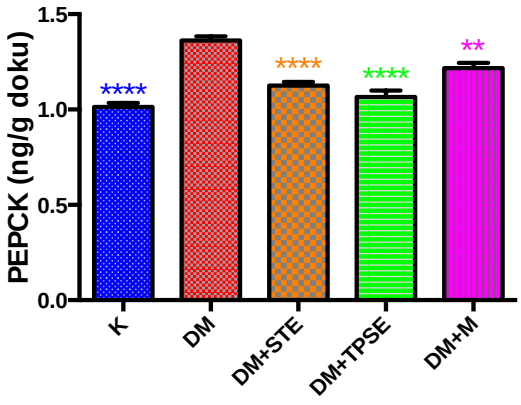


a. **b.**

Şekil 25. ST ve TPS'nin iskelet kası ve karaciğer HK düzeyleri üzerine etkisi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi (n=6). Data analizi, tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanarak yapıldı. ****p<0.0001, ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05 diyabet grubuna göre kıyaslandı.

6.18. PEPCK Seviyeleri Üzerine Etkisi

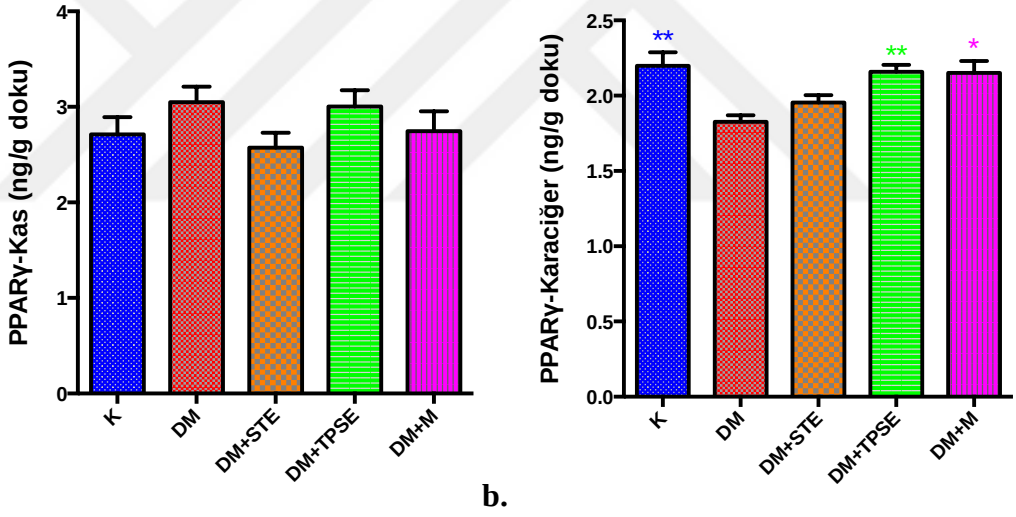
PEPCK, glukoneojenezin metabolik yolağında yer alan lyase ailesi üyesi hız sınırlayıcı bir enzimdir. Diyabetik hayvanlarda glukoneojenez enzimleri (PEPCK ve G6P) artmaktadır. Bizim çalışmamızda da kontrol grubuna göre kıyaslandığında diyabet grubunda PEPCK seviyeleri çok ciddi oranda arttı (p<0.0001). Tedavi gruplarından TPSE ve STE bu artışı önemli ölçüde baskıladı (p<0.0001), pozitif kontrol grubunda ise daha hafif bir düşüş sağlandı (p<0.01) (Şekil 26).



Şekil 26. ST ve TPS'nin karaciğer PEPCK düzeyleri üzerine etkisi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi (n=6). Data analizi, tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanarak yapıldı. ****p<0.0001, ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05 diyabet grubuna göre kıyaslandı.

6.19. PPARγ Seviyeleri Üzerine Etkisi

Değiştirilmiş PPAR-γ, obezite ve insülin direncinin patogenezinde rol oynar. PPARγ insüline direnç geliştiği durumlarda dokularda dovnregüle olan glukoz ve lipid metabolizmasının düzenlenmesinde anahtar rol oynar. PPARγ'nın etkinleştirilmesi, büyük ölçüde insülin duyarlılığında iyileşmenin bir sonucu olarak, açlık ve tokluk kan glukozunu düşürür ve T2DM'li hastalarda dolaşımdaki insülin seviyelerini düşürür. Çalışmamızda hem kas hem de karaciğerde bu enzim miktarına bakıldı. Kasta PPARγ seviyeleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken (Şekil 27a) karaciğer PPARγ'da değişikler söz konusuydu. Kontrol grubuna göre kıyaslandığında diyabet grubunda hafif bir düşüş meydana geldi ($p<0.01$). Fakat TPSE ve metformin grubuyla yapılan tedaviyle bu düşüş tolere edildi (sırasıyla, $p<0.01$ ve $p<0.05$). STE grubu da nispeten hafif bir yükseliş sağlasa da bu artış anlamlı değildi (Şekil 27b).

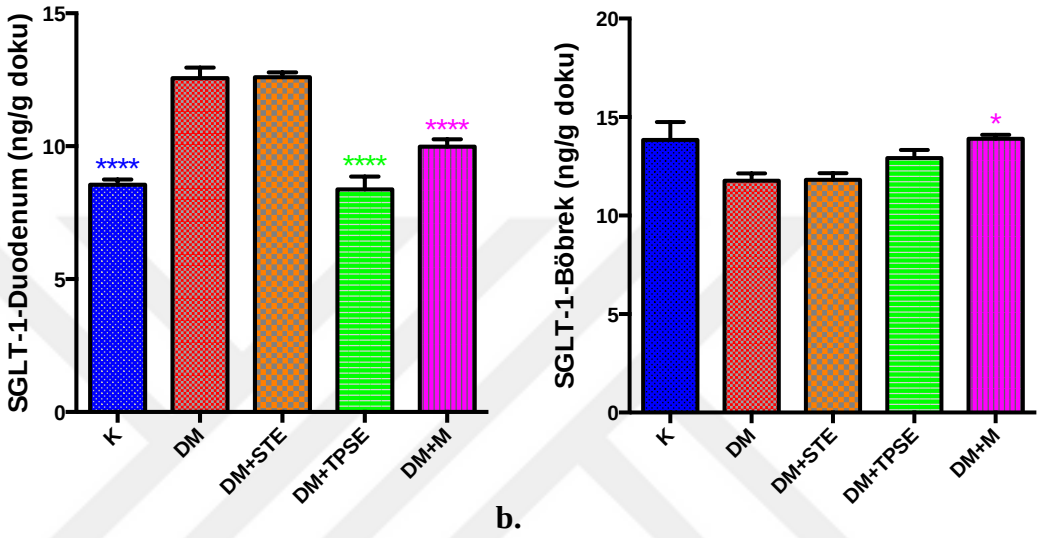


Şekil 27. ST ve TPS'nin iskelet kası ve karaciğer PPARγ düzeyleri üzerine etkisi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi (n=6). Data analizi, tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanarak yapıldı. ****$p<0.0001$, ***$p<0.001$, **$p<0.01$, *$p<0.05$ diyabet grubuna göre kıyaslandı.

6.20. SGLT-1 Seviyeleri Üzerine Etkisi

Özellikle obezite ve T2DM'de bozulan SGLT-1 ile ilgilenilmektedir. SGLT-1 klasik olarak ince bağırsak ve böbrekde lokalize olmuştur. SGLT-1 ince bağırsak fırçamsı kenarlı membranında en yüksek miktarda bulunan taşıyıcıdır. SGLT-1 hem T2DM'li hastalarda hem de hayvan modellerinde upregüle olmuştur. SGLT-1'in farmakolojik blokajı glukoz toleransını ve periferik insülin direncini geliştirmektedir.

Çalışmamızda duodenumda SGLT-1 seviyelerine bakılmış ve kontrol grubuyla kıyaslandığında diyabet grubunda ciddi bir yükseliş gözlendi ($p<0.0001$). Metformin ve TPSE ile yapılan tedavide diyabet grubuna kıyasla ciddi bir düşüş gösterildi ($p<0.0001$). STE ile yapılan tedavi SGLT-1'i inhibisyonu konusunda tamamen etkisiz bulundu (Şekil 28a). Böbrekteki enzim seviyeleri arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı (Şekil 28b).

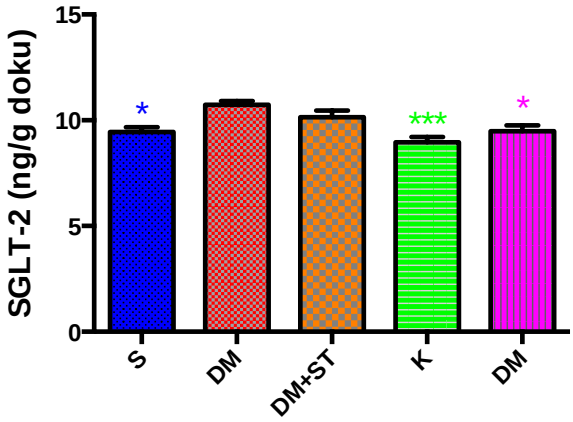


a. **b.**

Şekil 28. ST ve TPS'nin duodenum ve böbrek SGLT-1 düzeyleri üzerine etkisi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi (n=6). Data analizi, tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanarak yapıldı. ****$p<0.0001$, ***$p<0.001$, **$p<0.01$, *$p<0.05$ diyabet grubuna göre kıyaslandı.

6.21. SGLT-2 Seviyeleri Üzerine Etkisi

SGLT-2, Na^+-D-glukoz birlikte taşıyıcısıdır. Kemirgenlerde ve insanlarda SGLT-2 böbrekte önemli ölçüde ekspre edilmektedir. T1DM ve T2DM'ye sahip hastaların yanı sıra, farklı kemirgen diyabet modellerinde, proksimal tübülde renal SGLT-2 ekspresyonunda ve SGLT-2 aracılı glukoz reabsorpsiyonunda artış gözlenmektedir. Bizim çalışmamızda kontrol grubuna kıyasla diyabet grubunda SGLT-2 seviyesinde hafif yükseliş gözlendi ($p<0.05$). TPSE ile tedavi edilen grupta ise ciddi bir düşüş gözlendi ($p<0.001$). Metformin ile tedavi hafif bir düşüş sağlarken ($p<0.05$) STE ile tedavide anlamlı bir düşüş sağlanamadı (Şekil 29).



Şekil 29. ST ve TPS'nin böbrek SGLT-2 düzeyleri üzerine etkisi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi (n=6). Data analizi, tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanarak yapıldı. ****p<0.0001, ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05 diyabet grubuna göre kıyaslandı.

7. TARTIŞMA VE SONUÇ

T2DM, genetik veya yaşam tarzıyla ilişkili kronik bir metabolik hastalık olup, kan glukozunda artış ile karakterizedir. Yakın zamanda yapılan çalışmalar, DM'li hastaların yaklaşık %30'unun tamamlayıcı ve alternatif tıp tedavisi alıyor olduğunu göstermektedir (Shewamene ve ark., 2015). Tıbbi bitkiler ve bunların ürünleri, semptomların hafifletilmesi için önemli bir terapötik alternatif olmaya devam etmektedir. Yeni ajanlar geliştirilmekle birlikte, advers etkiler hala DM tedavisi için bir tehdittir. Bu nedenle, şu an tıbbi bakım sisteminde kullanılan oral hipoglisemik ajanlara göre daha az yan etki gösteren ajanlara yönelik talep artmaktadır. Antihiperglisemik doğal ürünlerin sentetik oral hipoglisemik ajanlara göre daha az yan etkiye sahip olduğu belirtilmektedir. Diyabet kronik bir hastalık olduğu için glukoz seviyelerinin yetersiz kontrolü nöropati, nefropati ve retinopati gibi bir dizi komplikasyonlara neden olabilmektedir. Dolayısıyla, DM yönetiminin geliştirilmesi için bitkiler üzerinde yapılan araştırmalar doğal bir anahtardır.

Yetişkin sıçanlarda STZ/NA ile indüklenen T2DM, tıbbi bitkilerin olası antidiyabetik aktivitesini değerlendirmek için en uygun deneysel modellerden biri olarak tanımlanmıştır (Abu-Abeeleh, 2016). STZ (55 mg/kg, i.p.) ve 15 dakika öncesinde nikotinamid (100 mg/kg, i.p.) uygulanan sıçanlarda ılımlı ve stabil açlık-öncesi hiperglisemi geliştiği bulunmuştur. STZ, güçlü alkilleme özelliğine sahiptir ve özellikle pankreas beta hücreleri için sitotoksiktir. DNA'nın alkillenmesi ve sonrasında poli (ADP-riboz) sentetazın aktivasyonu ile pankreas β hücrelerinin ölümüne neden olarak, süperoksit radikalleri oluşumunu sağlar (Szkudelski, 2001). Sonuç olarak, STZ insülin salınımını ve sentezini zayıflatır. Aksine, NA ise serbest radikalleri süpürerek STZ'ye karşı koruyucu etkiler ortaya çıkaran ve T2DM üreten bir antioksidan ajandır (Srinivasan ve Ramarao, 2007).

Çalışmamızda indüksiyondan üç gün sonra kan glukoz düzeyleri (KGD) 200-400 mg/dl olan sıçanlar T2DM olarak kabul edildi. Özellikle, sıçanlarda KGD'si 400 mg/dl üzeri olanlar ciddi diyabetik olarak düşünülmektedir (Deeds ve ark., 2011). Bu nedenle, kan glukozu 400 mg/dl'den fazla olan hayvanlar çalışmadan çıkarıldı.

ST ve TPS, halk arasında kan glukozunu düşürmek amaçlı kullanıldığı için, bu çalışmada ekstraktlarının antidiyabetik etkisini göstermek adına bir hipotez oluşturduk. Öncelikle sağlıklı hayvanlarda OGTT uygulayarak doz belirleme

çalışması yaptık. STE'nin aktivitesini doza bağımlı olmayan bir şekilde gerçekleştirdiği gözlemlendi; yüksek doz daha düşük etki gösterdi. 200 mg/kg STE, önemli bir hipoglisemik etkiye neden oldu ve diğer dozlara kıyasla KGD'yi daha hızlı düşürdü. Diğer bir taraftan, TPSE ile tedavi edilen gruplar, testin ilk saatinde KGD'yi düşürmeye başladı; 100 mg/kg TPSE grubunun KGD düşürme etkisi biraz daha kuvvetliydi.

TPSE ve STE'nin 21 gün süreyle verilmesi, diyabetik sıçanlara kıyasla KGD'yi önemli ölçüde düşürdü. DM konusunda daha önce yapılan çalışmalarda olduğu gibi, STZ/NA ile indüklenen diyabet modelinde sıçanlar kontrol grubuna kıyasla KGD'de belirgin bir artış sergilediği bilinmektedir (Turkkan ve ark., 2016). Bitkilerin metanolik ekstraktları STZ/NA ile indüklenen diyabetik sıçanlarda BGL'yi azalttı. Bununla birlikte TPSE, ilk haftada KGD'nin azaltılmasında diğer tedavi gruplarına oranla daha etkili bulundu. Aynı süreçte STE ve metformin de kan glukoz düzeylerini düşürmeye başladı. 3 hafta sonunda ise TPSE ve STE gruplarında KGD normal seviyelere indi.

Tüm sıçanlar, bundan önceki çalışmalarda da olduğu gibi kontrol grubu haricinde, T2DM indüklendikten üç gün sonra tedavinin başlangıcına kadar kilo kaybetti. Aynı zamanda, bu dönemde vücut ağırlığının kaybı diyabetin başarıyla indüklendiğini göstermektedir. DM indüksiyonu, doku proteinlerinin katabolizması ve kas kaybının bir sonucu olarak, diyabetik sıçanlarda vücut ağırlığının karakteristik kaybıyla ilişkili olduğu belirtilmiştir (Hossain ve ark., 2011). TPSE ve STE uygulaması ilk iki hafta süresince diyabetik gruba kıyasla sıçanların vücut ağırlığını korumalarını sağladı. Kas kaybının önlenmesindeki koruyucu etkilerin sebebi insülin sekresyonu ve glisemik kontrolün artmasına bağlı olarak glukoneojenezin tersine çevrilmesinin bir sonucudur. Bununla birlikte, üçüncü haftada tüm gruplar az miktarda kilo verdi. Bunun sebebi OGTT ve ITT'den önce hayvanların 12 saat süreyle aç bırakılması olabilir. Ayrıca, PPARγ aktivasyonunun sıçanlarda kilo artışını düşürdüğü, inaktivasyonu ise obez fenotiplerinin bir geç başlangıcıyla sonuçlandığı gösterilmiştir (Costet ve ark., 1998; Vazquez ve ark., 1996). Çalışmamızda paralel olarak tedavi gruplarının PPARγ aktivitesinde artış sağladığı görüldü.

Metabolik sendromun anahtar fazının insülin direnci olduğu ve bu durumunda glukoz intoleransı ve DM gelişiminde en önemli risk faktörü olduğu bildirilmiştir (L

Groop, 2000). Bu nedenle, insülin direncini azaltmaya yönelik müdahaleler DM ve komplikasyonlarının ilerlemesini geciktirebilir. OGTT, hipoglisemik ilaçların etkisini değerlendirmek için en önemli parametrelerden biridir (Alberti ve Zimmet, 1998). OGTT'de KGD zamanla arttı ve diyabetik sıçanlarda 2 saat süresince hep yüksek seviyelerde kaldı. Halbuki, TPSE ve STE, diyabetik sıçanlarda KGD'yi belirgin bir şekilde düşürdü ve bunun sebebi ekstraktların periferik dokuların glukoz kullanımını artırması ve ertelenmiş insülin cevabının onarımına bağlı olarak karaciğerdeki glukojen depolarının artması olabilir. Sonuç olarak, tüm tedavi grupları glukoz toleransını önemli ölçüde artırdı ve muhtemel etki plazma insülini tarafından oluşturuldu. Plazma insülininin yükselmesi, mevcut β hücrelerinden insülinin sekresyonu ya da bağlı insülinin salınması ile sağlandığı belirtilmiştir (Roberts ve ark., 2013).

Testlerden elde edilen verilere göre, TPSE ve STE, KGD'yi düşürdü, glukoz toleransını artırdı ve hiperinsülinemiyi önledi. Sonuçlar terapide kullanılan bitki ekstraktlarının insülin duyarlılığını artırdığını gösterdi. Bu ekstrelerin antidiyabetik etkinliklerini hangi mekanizmalar üzerinden gösterdiğini aydınlatmak için olası birçok mekanizmada yer alan temel enzimlerin miktarı ELISA testi yardımıyla ölçüldü.

Hepatik doku hasarının göstergesi olarak serumda ALT ve AST seviyelerine bakıldı. Kreatinin ise kas metabolizmasının ürettiği bir vücut atığıdır ve böbrekler vasıtasıyla idrarla atılır. İdrar veya kandaki kreatinin değerleri böbrek fonksiyonunun göstergesidir. Yüksek kreatinin düzeyleri daha çok kronik böbrek problemlerinin göstergesidir. AST düzeylerinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunamazken, TPSE ile tedavi edilen grupta ALT düzeyleri sağlıklı sıçanların seviyesine düşmesede önemli bir oranda düştü. TPSE ile tedavi edilen grubun kreatinin düzeyini diyabet grubuna kıyasla azalttığı gözlendi. Fakat metformin ve STE ile tedavi edilen gruplar ALT ve kreatinin düzeyini anlamlı bir şekilde düşürmedi.

İnflamasyonun, insülin direncinin gelişmesinde önemli bir patofizyolojik mekanizma olarak düşünülmektedir. TNF-α, IL-1β, IL-6 gibi birçok proinflamatuvar sitokin ve IL-10 gibi antiinflamatuvar sitokin miktarına serumda bakılarak inflamasyon gelişimi gözlendi. TNF-α miktarı diyabet grubunda yükselirken, tedavi gruplarında

diyabet grubuna kıyasla ciddi düşüşler görüldü. Özellikle STE grubundaki düşüş diğer tedavi gruplarına kıyasla daha yüksek seviyedeydi.

Diğer bir antiinflamatuvar sitokin olan IL-1β seviyeleri diyabetik hayvanlarda nispeten yükselirken, tedavi gruplarında düşüşler gözlendi. TNF-α düzeylerinde en ciddi düşüşü sağlayan STE, IL-1β seviyelerini de en çok düşüren grup oldu. TPSE ve metforminde diyabet grubuna kıyasla TNF-α düzeylerinde düşüş sağladı.

Bir başka antiinflamatuvar sitokin olan IL-6 düzeylerinde en anlamlı düşüşü yine STE grubunda görüldü. Bu da bize diğer tedavilerle kıyaslandığında en ciddi antiinflamatuvar etkisi olanın STE ile tedavi edilen grup olduğunu gösterir. Bununla beraber TPSE grubu da düşük düzeyde antiinflamatuvar etki meydana getirmiştir.

Diğer sitokinlerin aksine antiinflamatuvar etkinin bir göstergesi olan IL-10 miktarına bakıldığında tedavi gruplarında diyabet grubuna kıyasla anlamlı bir yükseliş görülmedi.

TPS ve ST ekstrelerinin KGD düşürücü ve insülin seviyesini yükseltici etkileri, hepatik glukoz üretimiyle ilgili genlerin değiştirilmesine ve/veya karaciğer ve periferik dokulardaki adiponektin ve GLUT-2 ekspresyonunun uyarılmasıyla çevresel dokular tarafından glukoz kullanımının uyarılmasına bağlı olabileceği bildirilmiştir (Eddouks ve ark., 2003; Ismail ve ark., 2013). Buna ek olarak, TPSE ve STE tarafından insülin direnci ile ilişkili T2DM tedavisi ve kan glukozu seviyelerinin normal değerlere inmesi insülin duyarlılığının restorasyonuyla açıklanabileceği bildirilmiştir (Burcelin ve ark., 1995).

GLUT-2, hücre membranlarında glukoz taşınmasından sorumlu transmembran taşıyıcı bir proteindir. SLC2A2 tarafından kodlanan GLUT-2, ağırlıklı olarak hepatositlerde eksprese edilir. Bununla birlikte, aynı zamanda böbrek proksimal kıvrım tübül hücreleri, bağırsak emici hücreleri ve pankreatik β hücreleri tarafından da eksprese edilmektedir (Kellett ve ark., 2008; Cramer ve ark., 1992). Glukoz transporterlarının bu izoformu, pankreas β hücreleri, karaciğer ve hipotalamusta glukoz algılamasında ve ayrıca glukoz aracılı insülin sekresyon kaskadının tetiklenmesinde rol oynadığı gösterilmiştir (Mounien ve ark., 2010; Garcia ve ark., 2003; Dupuis ve ark., 2010; Burcelin ve ark., 2000). Karaciğer ve kan arasındaki glukozun taşınmasında esas sorumlu protein olduğu ve böbrek glukoz reabsorbsiyonunda rol oynadığı bildirilmiştir (Freitas ve ark., 2005). Tüm glukoz

transporterları arasında, GLUT-2 glukoz için belirgin olarak en düşük afiniteye sahiptir. Galaktoz, mannoz ve fruktoz gibi diğer monosakkaridlere karşı da afinitesi azdır. Fakat glukozamine karşı afinitesinin çok yüksek olduğu belirtilmiştir (Uldry ve ark., 2002). Son yıllarda yapılan çalışmalarda GLUT-2'nin diyabetin patogenezinde rol oynayabilecek bir molekül olduğu dikkat çekmiştir. GLUT-2 ekspresyonunun diyabetik hayvan modellerinde pankreas β-hücrelerinde azaldığı, karaciğerde ise arttığı kanıtlanmıştır (Bonny ve ark., 1997; Okamoto ve ark., 2002).

Bizim çalışmamızda karaciğer, böbrek ve bağırsakta GLUT-2 miktarına bakıldı. Karaciğer ve bağırsakta diyabet modelinde miktarı arttı. Böbrekte anlamlı bir değişiklik gözlenmedi. TPSE ve metformin uygulaması deney hayvanlarının hepatik glukoz kullanımını iyileştirerek GLUT-2 ekspresyonunu azalttı. STE ise sadece bağırsakta inhibisyon meydana getirdi. Tarçın ve amilin gibi ilaçlar ve diğer bitkisel tedaviler için de benzer bulgular bildirilmiştir (Soliman ve ark., 2016).

T2DM hayvan modellerinde yapılan çalışmalar AMPK aktivatörlerinin Tip 2 diyabet tedavisinde yararlı olabileceğine dair umut vermiştir (Buhl ve ark., 2002; Pold ve ark., 2005; Bergeron ve ark., 2001). Obez ZDF sıçanlar, Tip 2 diyabet modelinde, 7 hafta boyunca bir AMPK aktivatörü olan AICAR uygulamasına cevap olarak plazma glukoz ve plazma insülin konsantrasyonlarında belirgin düşüşler göstermiştir. Sıçanlarda AICAR tedavisiyle yapılan bir çalışmada pankreas adacık hücrelerinin tahribi azaltılmıştır. İki Tip 2 diyabet fare modeli (KKAy-CETP ve ob/ob) AICAR ile tedavi üzerine glukoz regülasyonunda iyileşme gösterdiği belirtilmiştir (Song ve ark., 2002; Fiedler ve ark., 2001).

Karaciğerde bulunan AMPK glukoz dengesini temel olarak glukoneojenik gen ekspresyonu ve hepatik glukoz üretimini inhibe ederek kontrol eder. Ayrıca, primer hepatositlerde, AICAR ve metformin vasıtasıyla AMPK aktivasyonunun PEPCK ve G6P'yi dovnregüle ettiği kanıtlanmıştır (BB Zhang ve ark., 2009). Hayvan modellerinde, AICAR infüzyonu endojen hepatik glukoz üretimini baskılamış ve plazma glukoz seviyesini düşürmüştür. Diyabetik hastalarda, metforminin glukoz düşürücü etkisi en azından kısmi olarak glukoneojenezi baskılama yeteneğine atfedilmektedir. Çalışmamızda da metforminin karaciğerde AMPK aktivitesini diyabet grubuna göre artırdığı gösterildi. Bitkisel ekstrelerle yapılan tedavi sonucunda TPSE ve STE grubunun AMPK'yı hafif şekilde artırdığı gösterildi.

Ayrıca, karaciğerde PEPCK enzim aktivitesine ELISA kitleri yardımıyla bakıldı ve tedavi gruplarında miktarlarının düştüğü gösterildi. Yani, AMPK'daki artış karaciğerde PEPCK'nın dovnregüle olmasına sebep oldu.

Karaciğerde bulunan AMPK, hepatik lipojenezi de azaltır. AMPK, ACC1 veya diğer adıyla Asetil-CoA karboksilaz alfa (ACACA) ve HMGR'yi fosforilleyerek inaktive eder, de novo yağ asidi ve kolesterol sentezinin inhibisyonuna neden olur. ACC-alfa, lipojenik dokularda oldukça zenginleştirilmiştir. Diğer yandan, ACC2'nin AMPK tarafından fosforilasyonu yağ asidi oksidasyonunun artışına neden olur. ACC, malonil-CoA sentezi için hız kısıtlayıcı enzimdir. Her ikisi de yağ asidi biyosentezi için kritik bir substrat ve yağ asidi oksidasyonunun potent bir inhibitörüdür. Çalışmamızda yağ asidi sentezinde meydana gelen değişikliği gözlemlemek adına Elisa kitiyle ACC'ye bakıldı ve tedavi gruplarında miktarının diyabet grubuna kıyasla yüksek olduğu gösterildi. Bu durumun tedavi gruplarında vücut ağırlığının korunması, diyabet grubunda ise ciddi kilo kaybı yaşanmasından dolayı olduğu düşünülmektedir.

Kasta bulunan AMPK kasılma süresince aktive edilir ve egzersizin çoğu yararlı etkisine aracılık edebilir. Glukoz alımına aracılık eden hem kas kasılması ve hem de AMPK aktivasyonu insülin bağımsızdır ve insülinin etkilerine katkı sağlar. T2DM hastalarından alınan kas hücrelerinde AMPK-aracılı glukoz alımı kapasitesinin bozulmadığı gösterilmiştir, oysa insülin ile indüklenen glukoz alımının bozulduğu bildirilmiştir (BB Zhang ve ark., 2009). Kasta AMPK aktivasyonuna ELISA kiti yardımıyla bakılarak karaciğerde görülen değişiklerle benzerliği kıyaslandı. Farklı gruplarda karaciğerdeki AMPK artış oranının ve miktarının iskelet kasında benzer olmadığı görüldü. Sadece STE grubu kasta AMPK miktarını hafif bir şekilde yükseltti. Diğer tedavi gruplarında anlamlı bir değişiklik gözlenmedi.

Birlikte ele alındığında, kas ve karaciğerde AMPK aktivasyonunun T2DM ve metabolik sendromla ilişkili bozuklukları iyileştirme potansiyeli ile yararlı metabolik etkiler spektrumu ortaya çıkarmasının beklendiği belirtilmiştir (BB Zhang ve ark., 2009).

Ayrıca AMPK glukojen sentaz'ı fosforilleyip inaktive ederek kas glukojen sentezini inhibe etmektedir. Fakat bizim çalışmamızda böyle bir etki gözlenmedi.

İnsülinin; lipid, protein ve karbonhidratların depolanmasını ve sentezlenmesini sağlayan ve bunların dolaşımda parçalanma ve salınmasını önleyen, en güçlü fizyolojik anabolik ajan olduğu bildirilmiştir (Saltiel ve Kahn, 2001). İnsülin esas olarak taşıyıcının yapısal aktivitesini arttırmak yerine, plazma membranında GLUT-4 protein konsantrasyonunu zenginleştirerek glukoz alımını artırdığı savunulmuştur (Furtado ve ark., 2002; Watson ve ark., 2004).

GLUT-4 primer insülin-bağımlı transporter'dır ve iskelet kası, WAT ve kardiyomiyositlerde yüksek miktarda eksprese edilir. Bu glukoz transporterının varlığı aynı zamanda beyin ve böbrekte de tespit edilmiştir (Apelt ve ark., 1999; Brosius ve ark., 1992; Huang ve Czech, 2007). GLUT-4, GLUT-1, 2 ve 3 ile sırasıyla %65, 54 ve 58 protein dizisi benzerliği sergilerken, insülin-duyarlı düzenlenmesi nedeniyle glukoz transporterları arasında benzersiz bir izoformdur. GLUT-4 gen ekspresyonu hem doku spesifiktir hem de hormonal/metabolik düzenlemeye bağlıdır. Kas ve yağ dokusunda hücresel GLUT-4 düzenlemesi sırasında bazı farklılıklar gözlenmesine rağmen, büyük bir benzerlik göstermektedir. Sağlıklı bireylerde kan glukozunun %15'i adipoz doku tarafından, kalan %85'i kaslar tarafından absorbe edilmesine rağmen GLUT-4 glukoz algılamada hayati bir rol oynadığı gösterilmiştir (Abel ve ark., 2001; Yang ve ark., 2005).

GLUT-4, sitoplazmada küçük veziküllerde bulunur, insülin ve kas kontraksiyonu tarafından uyarılabilir ve bu glukoz transporterının plazma membranına translokasyonu indüklenir. Böylece glukoz trasportu için yerini almış olur. Hücre içi GLUT-4'ün plazma membranına bozulmuş translokasyonu, insüline direnç olduğu anlamına gelir. İnsülin direnci, iskelet kası ve yağda azalmış insülin-bağımlı glukoz alımı ve karaciğerden kontrolsüz glukoz salınımı ile ilişkilidir. Karaciğerde bozulmuş insülin sekresyonu ve insülin direnci ile birlikte insülin direncinin gelişimi, T2DM'nin patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır (Kahn, 1996; Z Wu ve ark., 1998).

Kas GLUT-4 ekspresyonunun diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre ciddi bir şekilde düştüğü gösterildi. Fakat yapılan tedavilerle düşen GLUT-4 miktarında anlamlı bir artış sağlanamadı.

TZD'ler, rosiglitazon ve pioglitazon T2DM tedavisinde klinik olarak oral insülin duyarlaştırıcı ilaçlar olarak kullanılmaktadır (Gilde ve ark., 2006). TZD'ler insülin

duyarlaştırıcı etkilerinin yanı sıra kilo alımı, hepatotoksisite, ödem ve konjestif kalp yetmezliği riskinde artış gibi ters komplikasyonları olduğu belirtilen PPARγ sentetik agonistleridir (Rangwala ve Lazar, 2004). PPARγ insüline direnç geliştiği durumlarda dokularda dovnregüle olan glukoz ve lipid metabolizmasının düzenlenmesinde anahtar rol oynadığı belirtilmiştir (Plutzky, 2003). Düşük konsantrasyonda olsa bile PPARγ yağ dokusu, karaciğer ve kasta etkisini gösterir (Hevener ve ark., 2003). İnsülin direncinde rol alan adiposit hormonlar, sitokinler ve proteinleri düzenleyerek insülin duyarlılığını etkiler. TZD'ler tarafından PPARγ'nın etkinleştirilmesi, büyük ölçüde insülin duyarlılığında iyileşmenin bir sonucu olarak, açlık ve tokluk kan glukozunu düşürür ve T2DM'li hastalarda dolaşımdaki insülin seviyelerini düşürür. Bitkisel kaynaklardan elde edilen PPARγ ligandlarının gelişimi büyük bir ilgi görmekte ve TZD'ye alternatif olarak terapötik uygulamaya girdiği gösterilmiştir (B Sharma ve ark., 2010).

PPARγ ayrıca PEPCK'yı inhibe ederek glukoz dengesini iyileştirir. Böylece, antidiyabetik maddeler muhtemel PPARγ (Tip 2 diyabette kullanılan ilaçların major hedeflerinden biri) aracılı glukoz-düzenleyici enzimlerin etkisiyle düzenlenen gen ekspresyonuyla Tip 2 diyabetli hastalarda hiperglisemiyi iyileştirdiği gösterilmiştir (Babu ve ark., 2013). Değiştirilmiş PPAR-γ'nın, obezite ve insülin direncinin patogenezinde rol oynadığı savunulmuştur (Seedorf ve Assmann, 2001). PPARγ aktivasyonuna iskelet kası ve karaciğerde ELISA kiti yardımıyla bakıldı. İskelet kasındaki PPARγ enzim aktivitesinde anlamlı bir değişiklik gözlenmedi. Aksine, karaciğer PPARγ enzim aktivitesi kontrol grubuna kıyasla diyabet grubunda ciddi şekilde düştü. TPSE ile tedavi edilen diyabetik sıçanların karaciğer dokusunda PPARγ ekspresyonunda bir artış tespit edildi, bu artışın diyabetik karaciğer dokusunun fizyopatolojisinde kritik bir rol oynayabileceği düşünüldü. Bu düşüş TPSE kadar iyi olmasada metformin uygulamasıyla da düzeldi. STE ise etkisiz bulundu. Aynı zamanda karaciğerde PPARγ enzim aktivitesi artışı PEPCK'nın inhibisyonuna neden oldu.

Ayrıca, PPARγ, T2DM'li hastaların plazmalarında düşük seviyelerde bulunan adipoz dokudan salgılanan bir hormon olan adiponektinin plazma konsantrasyonlarında bir artışa neden olur. Adiponektinin genel işlevleri, karaciğer ve iskelet kasında yağ asidi oksidasyonunu artırmak, insülin duyarlılığını artırmak ve karaciğerdeki glukoz

üretimini düşürmek olduğu bunun sonucunda dolaşımdaki serbest yağ asitlerinin (FFA) miktarının azaldığı ve karaciğerdeki TG ve glukoz seviyeleri düşürdüğü belirtilmiştir (Yamauchi ve ark., 2001). Bu çalışmadan farklı olarak bizim çalışmamızda serum adiponektin miktarında anlamlı değişiklikler bulunamadı.

T2DM, yağ hücrelerinin kronik iltihaplanma durumu ile ilişkili olup yüksek seviyede sitokin salgılar. Adipositlerde ve makrofajlarda insülin aktivitesinin baskılandığı durumlarda, tümör nekroz faktör-alfa (TNF-α), interlökin-1β ve IL-6 gibi inflamatuar sitokinlerin üretildiği görülmüştür. PPARγ agonistlerinin inflamasyon üzerine diğer faydalı ve inhibe edici etkileri, T lenfositlerinde proinflamatuar moleküllerin üretiminde azalma, doğuştan gelen bağışıklık sisteminde IL-10 gibi antiinflamatuvar mediyatörlerin ekspresyonunu teşvik etmek, proliferatif molekülleri kodlayan genlerin inhibisyonu ve Nükleer Faktör-κB (NF-κB), çekirdek bağlayıcı proteinlerin (AP-1 ve STAT) transkripsiyonel aktivitelerin azaltılması yoluyla ile sitokinlerin üretimini inhibe ettiği bildirilmiştir (Jiang ve ark., 1998; Poynter ve Daynes, 1998). PPARγ agonistlerinin; resistin, TNF-α ve interlökin-6 (IL-6) gibi insülin direncini arttıran sitokinlerin ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. *Saururus chinensis* (Saururaceae) 'ten elde edilen Saurufuran A; chrysin, apigenin ve kaempferol gibi flavonoidler ve *Glycyrrhiza uralensis*'ten (Fabaceae) elde edilen fenolik bileşikler son zamanlarda yapılan çalışmalarda metabolik sendromun risk faktörlerini tedavi etmek için PPARγ agonistleri olarak tanımlandığı belirtilmiştir (BY Hwang ve ark., 2002; Liang ve ark., 2001; Kuroda ve ark., 2003). Bu inflamatuvar sitokinlerin miktarının tayini için ELISA kitleri kullanıldı ve diyabet grubunda proinflamatuvar sitokin miktarının kontrol grubuna göre oldukça arttığı gösterildi. Ayrıca tedavi gruplarında da diyabet grubuna kıyasla ciddi düşüşler gözlendi. Tüm tedavi grupları proinflamatuvar sitokinleri farklı oranlarda inhibe etti fakat bunlar içerisinde en kuvvetli inhibisyonu STE grubunda görüldü. TPSE ve metformin grubu paralel düşüş sağladı. İnflamatuvar sitokinlerde meydana gelen değişimlerden sorumlu olan PPARγ miktarının tedavi gruplarında diyabet grubuna göre ciddi olarak arttığı ve bununda sitokin miktarında düşüşe sebep olduğu gösterildi. Antiinflamatuvar bir sitokin olan IL-10 miktarının diyabet grubunda kontrol grubuna göre düştüğü kanıtlandı fakat tedavi gruplarında anlamlı bir artış gözlenmedi.

İnsülinin, çeşitli mediyatör enzimlerin ve proteinlerin aktivasyonu veya inhibisyonu yoluyla glukojen metabolizmasının düzenlenmesinde rol oynadığı gösterilmiştir (Ferrer ve ark., 2003). İnsülinin ayrıca glukoneojenik enzim genlerinin (PEPCK, fruktoz-1,6-bisfosfataz ve G6P) transkripsiyonunu inhibe eder ve glukolitik enzim genlerinin (hekzokinaz, glukokinaz ve piruvat kinaz gibi) transkripsiyonunu artırdığı bildirilmiştir (Stefan ve Haring, 2013). PEPCK, glukoneojenezin metabolik yolağında yer alan lyase ailesi üyesi hız sınırlayıcı bir enzim olduğu belirtilmiştir (PB Li ve ark., 2012). Diyabeti indüklemek için kullandığımız STZ'nin karaciğerin yapı ve fonskiyonunu tahrip eden hepatotoksik bir ajan olduğu kanıtlanmıştır (Kasetti ve ark., 2010). Anahtar glukolitik enzimler olan HK, G6P ve fruktoz-1,6-bifosfataz'ın diyabetik hastalıklar süresince önemli ölçüde değiştiği bildirilmiştir (Vestergaard, 1999). Diyabetik durumda G6P ve fruktoz-1,6-bisfosfataz gibi glukoneojenik enzimlerin miktarındaki artışın hiperglisemiye katkıda bulunduğunu gösteren kapsamlı çalışmalarda bulunmaktadır (Stephen Irudayaraj ve ark., 2017). Yine diyabetik hayvanlarda hepatik glukojen konsantrasyonu, glukojen sentaz ve glukokinaz aktivitesi önemli ölçüde azalırken, glukojen fosforilaz aktivitesi ve glukoneojenez enzimlerinin (PEPCK ve G6P) artırdığı gösterilmiştir (Narasimhan ve ark., 2015). T2DM'de periferik glukoz kullanımındaki bozulma ve glukoneojenez sonucu artmış hücresel hepatik glukoz oluşumu vardır ve bu bilgiler de bulgularımızla paraleldir. Çalışmamızda, PEPCK enzim aktivitesinin diyabetik hayvanlarda önemli ölçüde arttığı kanıtlandı. Ayrıca uygulanan tedavilerle metforminden daha yüksek oranda bir düşüş sağlanarak PEPCK seviyesi normal düzeylere yaklaştığı görüldü.

Hekzokinaz aktivitesinin restorasyonunun, glukoz seviyelerinin normalleşmesiyle ilişkili olabileceği belirtilmiştir (Laakso ve ark., 1995). Hekzokinaz, insüline bağımlı bir enzim olup hücre sisteminde glukozu glukoz-6-fosfata fosforile ederek önemli bir rol oynamaktadır. Diyabet grubunda karaciğer HK aktivitesi kontrol grubuna kıyasla daha düşük bulundu. STZ pankreas β hücrelerini seçici olarak tahrip etmeye başladığı andan itibaren, STE ve TPSE ile tedavi edilen diyabetli hayvanların karaciğer HK aktivitesinde hafif bir artış meydana geldi. Bu da mevcut β hücrelerinden insülin sekresyonunu sağlayarak STZ ile indüklenen diyabete karşı hepatik ve ekstrahepatik dokuları korudu. Mevcut çalışmada ayrıca, karaciğerde HK

aktivitesinde düşük miktarda artışın glukoz metabolizmasını artırdığını ve bunula beraber genel glukoz homeostazını da artırdığı doğrulandı (Matschinsky ve ark., 2006). Karaciğerin aksine kas HK aktivitesi ise diyabetik sıçanlarda normal sıçanlara kıyasla oldukça yükseldi ve tedavilerle bu artış dengelendi. Özellikle metformin diğer tedavi gruplarına kıyasla daha şiddetli bir düşüş sağladı.

Glukojenin, glukoz rezidüsünün dallanmış bir polimeridir ve glukojen sentaz enzimi tarafından sentezlendiği bildirilmiştir (Sundaram ve ark., 2012). İnsülin aktivitesiyle direkt olarak sentezlenir çünkü insülin glukojen sentazı stimüle ederek ve glukojen fosforilazı inhibe ederek hücre içi glukojen birikimini destekler. Glukojenoliz, lipoliz ve proteoliz gibi artmış katabolik işlemler nedeniyle, diyabet süresince sıçan karaciğeri ve iskelet kaslarında glukojenin sentezinin bozulduğu belirtilmiştir (DF Hwang ve ark., 1996; Murali ve ark., 2013). Bu nedenle, karaciğerdeki glukozun birincil hücre içi depolanma şekli olan glukojen miktarının ölçülmesi DM'nin önemli bir göstergesi olarak düşünülmektedir. Ayrıca kas ve karaciğerde glukojen sentaz 1 aktivitesine bakıldı. Fakat her iki dokuda da GS aktivitesinde anlamlı bir farklılık görülmedi.

Bunlar dışında, obezite ve ilgili T2DM tedavisi için potansiyel bir terapötik hedef olarak, heksozların (diyet ile alınan karbonhidratların nihai bağırsak hidrolizi ürünleri) bağırsaktan emilimine dikkat çekilmektedir. Özellikle obezite ve T2DM'de SGLT-1 aktivitesinin bozulması ile ilgili olduğu bildirilmiştir (Morton ve Hanson, 1984; Bihler ve Freund, 1975; Ferraris ve Vinnakota, 1995). SGLT-1, ikincil aktif Na^+-D-glukoz birlikte taşıyıcısıdır ve bir D-glukoz veya D-galaktoz molekülü ile birlikte iki sodyum iyonunu beraber taşır. SGLT-1 klasik olarak ince bağırsak ve böbrekde lokalize olmuştur ve bu organlardaki fonksiyonel rolleri ayrıntılı olarak tanımlanmıştır (WS Lee ve ark., 1994; Wright ve ark., 2011). Bu taşıyıcı ince bağırsak boyunca enterositlerin membranında karşıdan karşıya ikincil aktif taşımayı koordine eder. SGLT-1 ince bağırsakta enterositlerin fırçamsı kenarlı membranında ve enteroendokrin K ve L hücrelerinde yüksek miktarda ekprese edilmektedir. Bu hücreler sırasıyla glukoz bağımlı insulinotropik peptid (GIP) ve GLP-1/GLP-2 olduğu belirtilmiştir (Wright ve ark., 2011; Gorboulev ve ark., 2012; Vrhovac ve ark., 2015). SGLT-1 ince bağırsağın fırçamsı kenarlı membranında en yüksek miktarda bulunan bir taşıyıcı olduğu gösterilmiştir (Wisniewski ve ark., 2015).

Fırçamsı kenarlı membran boyunca glukozun SGLT-1 aracılı translokasyonu, ince bağırsak glukoz absorbsiyonunda hız sınırlayan basamak olduğu bildirilmiştir (Gorboulev ve ark., 2012). Glukoz SGLT-1 aracılığıyla enterositlerde bol miktarda bulunup kolaylaştırıcı glukoz taşıyıcı GLUT-2 vasıtasıyla da bazolateral membran (BLM) boyunca salınır. SGLT-1'in hem T2DM'li hastalarda hem de hayvan modellerinde yaklaşık 3-4 kat upregüle olduğu gösterilmiştir (Dyer ve ark., 1997; Burant ve ark., 1994; Fedorak ve ark., 1991; Dyer ve ark., 2002). SGLT-1'in farmakolojik blokajı glukoz toleransını ve periferik insülin direncini geliştirdiği savunulmuştur (Rossetti ve ark., 1987; Kahn ve ark., 1991). SGLT-1 aracılı glukoz absorbsiyonu baskılanmasının bağırsak glukoz alımını yavaşlatacağını, dolayısıyla yemek sonrası hiperglisemiyi düşüreceğini ve böylece metabolik durumu etkileceğini varsaymaktayız.

SGLT-1'in fizyolojik regülasyonu hakkındaki halihazırda tamamlanmamış anlayışımız, bağırsak glukoz alımını modüle eden yeni tedavilerin geliştirilmesine yönelik çabaları sınırlamaktadır. Bununla birlikte, SGLT-1 ekspresyonunun diyet bileşimi ile sıkı sıkıya benzeştiği, kendi substratı olan glukozca zengin diyetler karşısında arttığı gösterilmiştir (Solberg ve Diamond, 1987). Çalışmamızda SGLT-1 miktarına duodenum ve böbrekte bakıldı. Halihazırda bulunan çalışmalarda olduğu gibi diyabetik hayvanlarda duodenum SGLT-1 miktarının arttığı gösterildi. Yapılan tedavilerde ise metformin ve TPSE'nin bu artışı dengelediği ve ciddi düşüş sağladığı kanıtlandı. Fakat STE grubu anlamlı bir değişiklik sağlayamadı. Böbrekte ise metforminin SGLT-1 miktarını hafif yükselttiği görüldü. Diğer gruplarda anlamlı bir değişiklik söz konusu değildi.

SGLT-2'nin, Na^+-D-glukoz birlikte taşıyıcısı ve 1:1 oranında sodyum ve glukoz ile çalıştığı belirtilmiştir (Wright ve ark., 2011; Kanai ve ark., 1994). Kemirgenlerde ve insanlarda SGLT-2 böbrekte önemli ölçüde ekspre edilmektedir (Wright ve ark., 2011; Vrhovac ve ark., 2015; Chen ve ark., 2010; Sabolic ve ark., 2012). İnsan ve kemirgen böbreklerinde, SGLT-2 renal proksimal tübüllerin S1 ve S2 segmentlerinin fırçamsı kenarlı membranında lokalize iken, SGLT-1 S3 segmentlerinin fırçamsı kenarlı membranında lokalizedir (Wright ve ark., 2011; Vrhovac ve ark., 2015; Sabolic ve ark., 2012; Balen ve ark., 2008).

Diyabetik olmayan kişilerde böbrekler, proksimal tübüllerden hemen hemen tamamen reabsorbe olan günlük yaklaşık 160-180g D-glukozu filtre eder. Filtre edilmiş D-glukozun % 90'dan fazlası, tübüler epitelyal hücreler içerisine SGLT-2 aracılığıyla S1 ve S2 segmentlerinde tekrar absorbe edilir ve bazolateral membran (BLM) boyunca hücresel glukoz salınımı GLUT-2 tarafından gerçekleştirilir. Geriye kalan % 10'dan az filtrelenmiş D-glukoz ise S3 segmentlerinde fırçamsı kenarlı membranda SGLT-1 aracılığıyla geri emilir ve BLM boyunca GLUT-1 aracılığıyla salındığı bildirilmiştir (Gorboulev ve ark., 2012; Santer ve Calado, 2010; Vallon ve ark., 2011; Rieg ve ark., 2014; Vallon, 2015).

T1DM ve T2DM'ye sahip hastaların yanı sıra, farklı kemirgen diyabet modellerinde, proksimal tübülde renal SGLT-2 ekspresyonunda ve SGLT-2 aracılı glukoz reabsorpsiyonunda artış gözlenmektedir (Vallon ve ark., 2011; Vallon, 2015; Vestri ve ark., 2001; Rahmoune ve ark., 2005; Tabatabai ve ark., 2009; Vallon ve ark., 2014). Bu artış, maksimum glukoz taşıma kapasitesinin de artmasına neden olur. SGLT-2'nin upregülasyonuna proksimal tübüllerin büyümesi eşlik eder. Glukoz ve sodyumun artmış SGLT-2 aracılı reabsorpsiyonu diyabet esnasında bir uyumsuzluk olarak düşünülebilir, çünkü yüksek plazma glukoz düzeylerinde idrar glukoz atılımının artmasını önler. Çalışmamızda bu doğrultu da SGLT-2 miktarına böbrekte bakıldı ve diyabet durumunda miktarının arttığı gösterildi. TPSE ciddi bir inhibisyon sağlayarak SGLT-2 miktarını düşürdü. Metforminde hafif bir düşüş sağladı fakat STE grubunda herhangi bir anlamlı değişiklik olmadı.

Diğer tedavi hedeflerinden biri olan DPP-4, insülin direnci ve diyabetik nefropatide kritik bir rol oynamaktadır. DPP-4, birçok organda bulunur ve nispeten böbrekte yüksek konsantrasyonlarda bulunur (Mentlein, 1999; Weber, 2004; Deacon ve Holst, 2002). DPP-4 aktivasyonu, insülin direnci sinyallerine yol açmaktadır. Diyabet durumunda yapılan tedaviyle insülin direnci sinyallerine aracılık eden DPP-4'ün inhibisyonu mümkündür. DPP-4'ün aktivitesini inhibe etmek insülin duyarlılığını ve glukoz alımını düzeltir. DPP-4 inhibitörleri albuminüri ve kreatinin klirensini de içeren renal fonksiyon parametrelerini iyileştirmektedir (PH Groop ve ark., 2013; Y Li ve ark., 2011). DPP-4 inhibitörü vildagliptin, açlık kan glukozu bozulmuş kişilerde insülin duyarlılığını ve beta-hücre fonksiyonunu geliştirir (Utzschneider ve

ark., 2008). Bu nedenle çalışmamızda böbrek DPP-4 aktivitesine böbrekte bakıldı fakat gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmedi.

Ayrıca DPP-4'ün, GLP-1'i parçaladığı da bilinmektedir. DPP-4 inhibitörleri, yemek sonrası kan glukoz düzeylerini düşüren ve çeşitli fizyolojik eylemleri ortaya çıkaran GLP-1 gibi endojen inkretinin salınımını arttırır. Çalışmamızda diyabet grubunda pankreas GLP-1 enzim aktivitesinin kontrol grubuna kıyasla ciddi şekilde azaldığı bulundu fakat bu etki DPP-4 aracılı gerçekleşmedi. Tedavi grupları da düşmüş GLP-1 aktivitesini ciddi oranda artırdı. En büyük yükselişi TPSE sağlarken en düşük artışı da STE sağladı.

Diyabet hastalığının ilerlemesinin, ince bağırsakta diyetle alınan karbonhidratların absorpsiyonunu baskılayarak durdurulabileceği düşünülmektedir (Kumar ve ark., 2011). Diyetteki karbonhidratlar, pankreas ve tükrük bezleri tarafından salınan α-amilaz ile polisakkaridlere ve disakkaritlere ayrılır. Poli- ve disakkaritler daha sonra α-glukosidaz ile monosakkaritlere parçalanır. Sonrasında monosakkaritler ağırlıklı olarak GLUT-2 ve daha az oranda SGLT-1 ile ince bağırsak epitel hücrelerine taşınır (Fatmawati ve ark., 2011; Kellett ve Brot-Laroche, 2005; Van de Laar ve ark., 2005; Leturque ve ark., 2009).

Bağırsaklardaki glukoz alımını inhibe etmek ve/veya dokulardaki glukozun yok edilmesini teşvik etmek diyabetik hastalar için postprandiyal durumda kan glukoz seviyesini kontrol etmede yararlı olabilir. Karbonhidrat sindiriminde anahtar enzim olarak görev yapan bağırsak α-glukosidaz, ince bağırsağın epitelyumunda salgılanan bir glukosidazdır. α-glukosidaz, diyabette meydana gelen en erken metabolik anormallik olan postprandiyal hipergliseminin modülasyonu için terapötik bir hedef olarak kabul edilmektedir (YM Kim ve ark., 2005). Bu nedenle, diyabet için etkili bir tedavi seçeneği α-glukosidazların aktivitesini inhibe etmektir (Krentz ve Bailey, 2005). Bu bağlamda, α-glukosidaz inhibitörleri karbonhidratların alımını geciktirebilir, postprandiyal hiperglisemiyi önleyebilir ve diyabetli ve/veya obeziteye sahip hastaların tedavisinde yararlı olabilirler (Watanabe ve ark., 1997). Akarboz, miglitol ve voglibose gibi α-glukosidaz inhibitörleri, karbonhidrat sindiren enzimlerin aktivitesine müdahale ederek ve glukoz emilimini geciktirerek postprandiyal hiperglisemiyi azaltmaktadır. Buna ek olarak, çok sayıda α-glukosidaz inhibitörü bitkilerden elde edilmiştir ve bunlar klinik önem taşımaktadır (Yoshikawa

ve ark., 1998; Nishioka ve ark., 1998). Bitkilerdeki polifenolik bileşiklerin proteinlerle bağlanma yeteneklerine bağlı olarak sindirim enzimlerinin aktivitelerini inhibe ettiği gösterilmiştir (McDougall ve Stewart, 2005). Birçok çalışmanın sonucuna göre çok sayıda tıbbi bitkiden izole edilen bu fenolik bileşiklerin T2DM tedavisinde potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir (K Yoshida ve ark., 2008). Bizim çalışmamızda da bu nedenle α-glukosidaz enzim aktivitesine bakıldı ve diyabet hastalığında miktarının arttığı gösterildi fakat uygulanan tedavilerden sadece TPSE anlamlı bir inhibisyon sağladı. Diğer gruplarda anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

Şunu net olarak söyleyebiliriz ki metformin T2DM'nin başlangıç tedavisinde en yaygın olarak kullanılan ilaçtır fakat kan glukoz düzeylerini düşürdüğü mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda alınan sonuçlara göre metformin ile tedavi edilen T2DM hastalarında glukoneojenezin azalması yoluyla hepatik glukoz üretimi düşmektedir. Metforminin inkretinler aracılığıyla etkisini gösteridiği ve GLP seviyelerini PPARγ bağımlı veya bağımsız mekanizmalar aracılığıyla artırdığı düşünülmektedir (Maida ve ark., 2011). Bizim çalışmamızdan elde edilen sonuçlar neticesinde metforminle alakalı kısaca şunlar söylenebilir (Şekil 30):

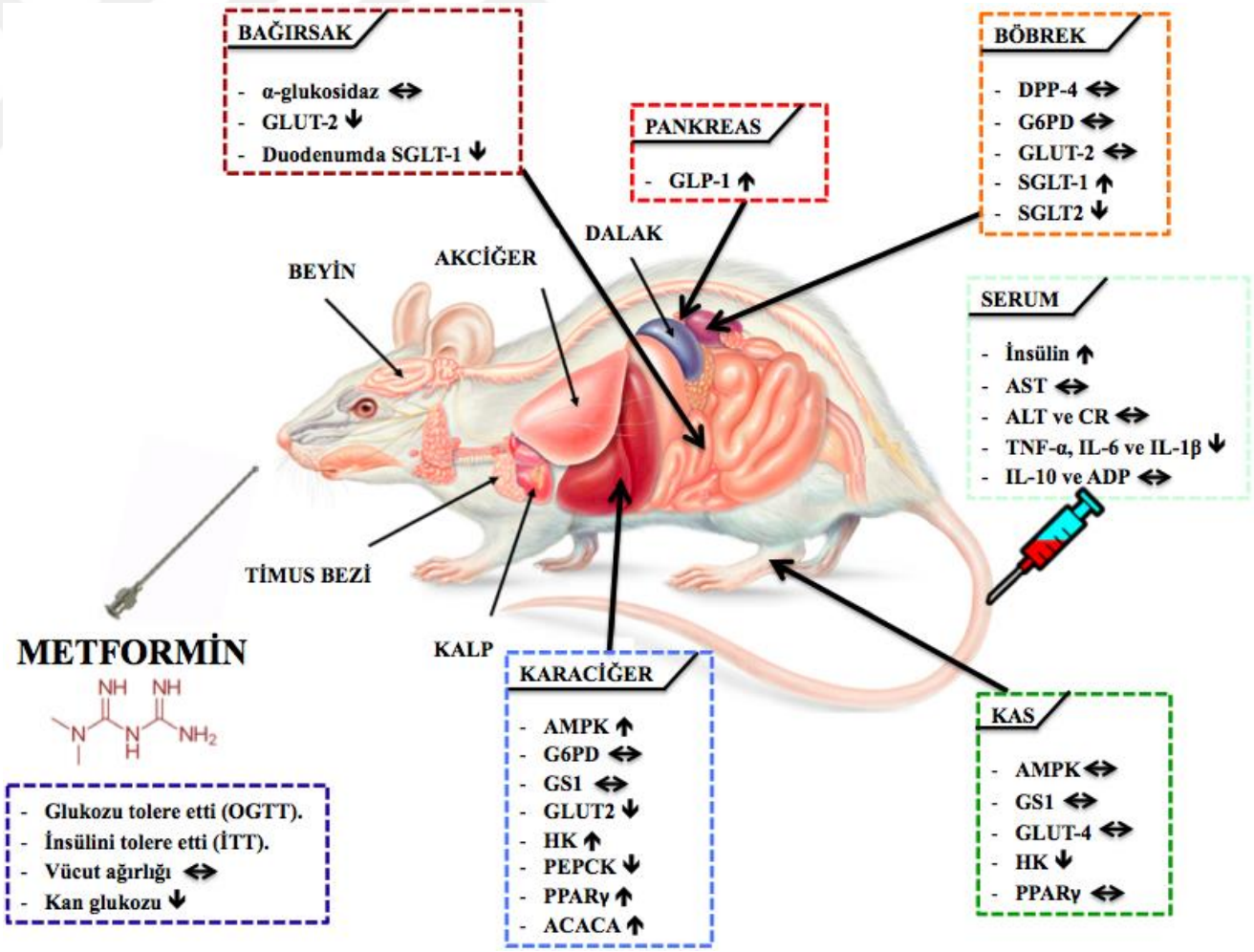
- Serum insülin miktarını önemli ölçüde yükseltti.
- Serum TNF-α, IL-1β ve IL-6 miktarlarını hafif düşürdü.
- Daha önceki çalışmalarda da söylendiği gibi glukoneojenezi azalttı ve bunu diğer olası mekanizmalar yanında karaciğerde PEPCK'nın inhibisyonu aracılığıyla gösterdi.
- Pankreas GLP-1 seviyesini ciddi oranda yükselttiği ve bu etkinin karaciğer PPARγ aktivitesindeki artışa bağlı olabileceği gösterildi.
- Karaciğer AMPK seviyesini hafif miktarda yükseltti ve bu artışın karaciğerde PEPCK'yı dovnregüle ettiği düşünülmektedir.
- Karaciğer ve bağırsak GLUT-2 seviyelerini düşürdü.
- Karaciğer HK seviyelerini yükseltti. Tam ters bir durum olarak kas HK seviyelerini düşürdü.
- Duodenumda SGLT-1 miktarını düşürdü. Fakat böbrekte hafif bir yükselişe neden oldu.
- Böbrek SGLT-2 miktarını da düşürdü.

Kekik ve adaçayı türevleri T2DM tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir (Carai ve ark., 2015; Ozkol ve ark., 2013). TPSE kan glukozunu STE'ye göre daha hızlı bir şekilde düşürdü ve düşen kan glukoz seviyesini dengede tutmayı başardı. Bu durumda TPSE'nin anti-hiperglisemik etkisinin çok güçlü ve birikimli olduğunu rapor edebiliriz. Buna ek olarak, bitki ekstreleri renal tubuler glukoz reabsorpsiyonunun bir inhibitörü olarak da görev yapabilir (Maghrani ve ark., 2003). Dolayısıyla, elde edilen bulgular bize TPSE ve STE'nin T2DM tedavisinde etkin olduğunu gösterdi. STE ile alakalı kısaca şunlar söylenebilir (Şekil 31):

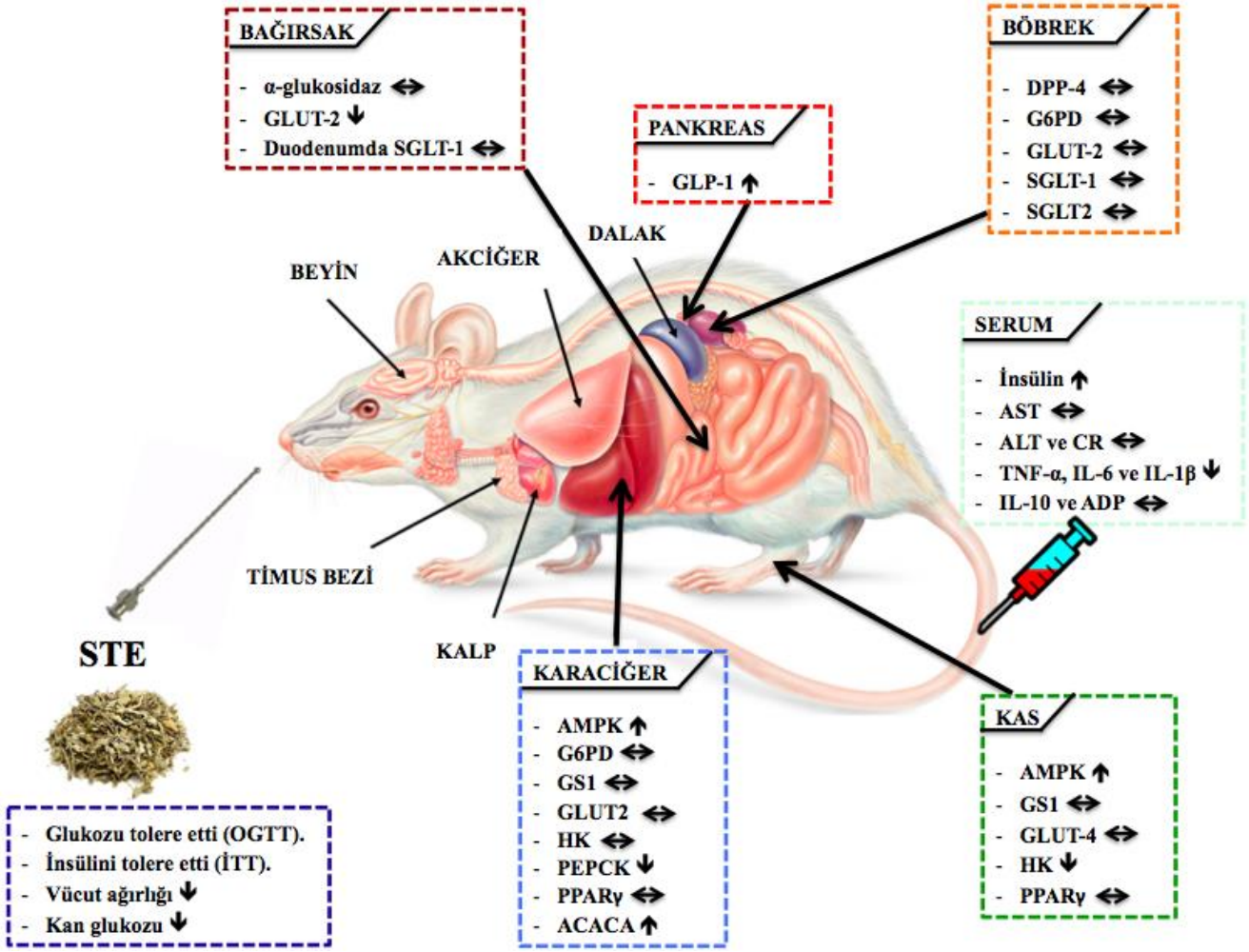
- Serum insülin miktarını önemli ölçüde yükseltti.
- Serum TNF-α, IL-1β ve IL-6 miktarlarını ciddi oranda düşürdü.
- Kas ve karaciğer AMPK miktarını yükseltti ve bu artışın karaciğerde PEPCK'yı dovnregüle ettiği düşünülmektedir.
-Pankreas GLP-1 seviyesini düşük miktarda yükselttiği ve bu etkinin karaciğer PPARγ aktivitesinden bağımsız olduğu düşünülmektedir.
- Sadece bağırsak GLUT-2 aktivitesinde inhibisyon sağladı.
- Kas HK seviyelerini düşürürken karaciğerde etki yakalanamadı.
- PPARγ, SGLT-1 ve SGLT-2 aktivitesinin incelendiği dokularda anlamlı bir farklılık göstermedi.

TPSE ile alakalı kısaca şunlar söylenebilir (Şekil 32):

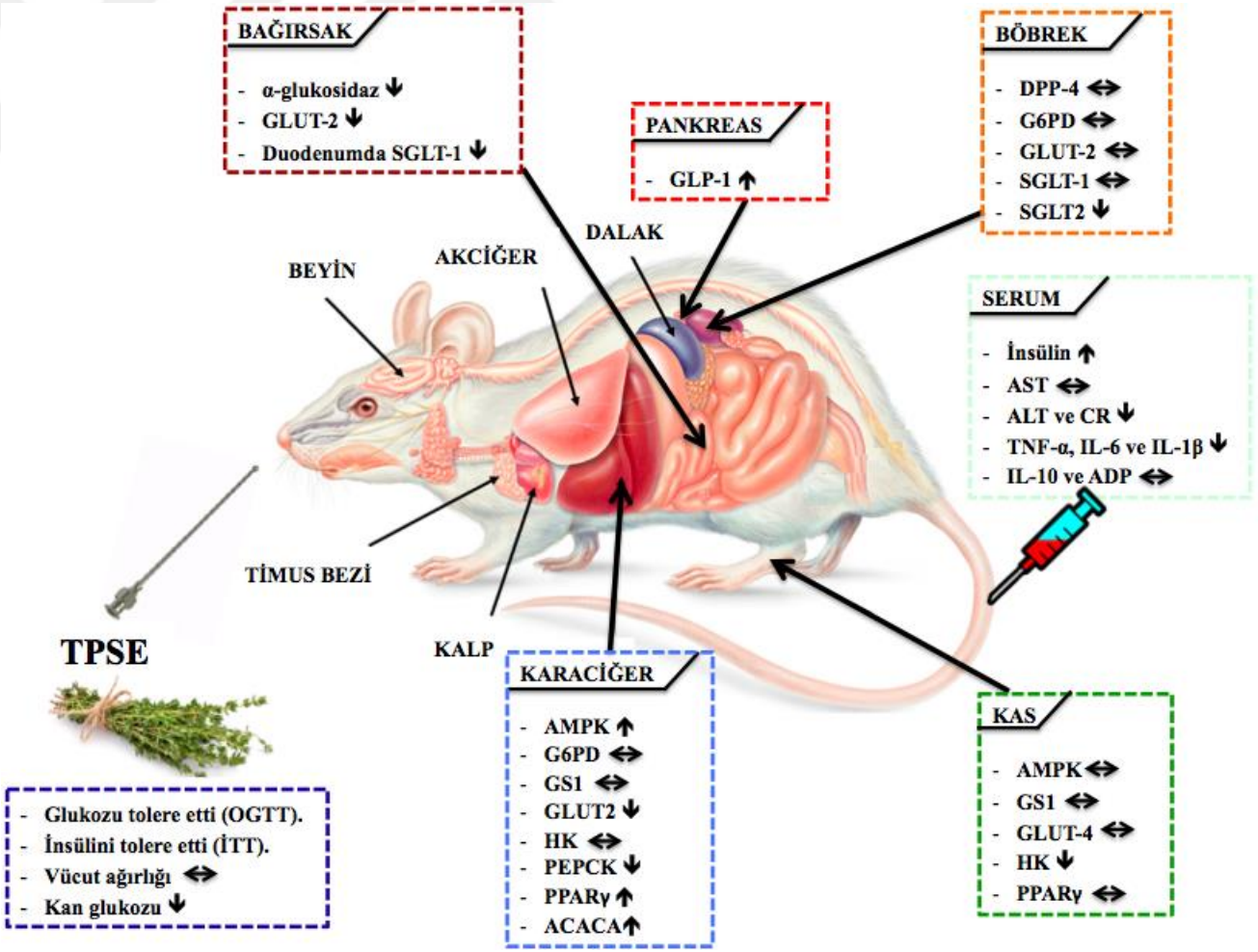
- Serum insülin miktarını önemli ölçüde yükseltti.
- Serum TNF-α, IL-1β ve IL-6 miktarlarını hafif oranda düşürdü.
- Serum ALT ve CR miktarında düşüş sağladı.
- Karaciğer AMPK miktarını yükseltti ve bu artışın karaciğerde PEPCK'yı dovnregüle ettiği düşünülmektedir.
-Pankreas GLP-1 seviyesini önemli miktarda yükselttiği ve bu etkinin karaciğer PPARγ aktivitesindeki artışta bağlı olduğu düşünülmektedir.
- Bağırsak ve karaciğer GLUT-2 aktivitesinde inhibisyon sağladı.
- İnce bağırsak α-glukosidaz miktarını hafif düşürdü.
- Kas HK seviyelerini düşürürken karaciğerde etki yakalanamadı.
- Duodenum SGLT-1 seviyelerini düşürürken böbrekte etki göstermedi.
- Böbrekte ise SGLT-2 seviyelerinde düşüş sağladı.



Şekil 30. Metforminin olası antidiyabetik etkisine eşlik eden mekanizmalar



Şekil 31. STE'nin olası antidiyabetik etkisine eşlik eden mekanizmalar



Şekil 32. TPSE'nin olası antidiyabetik etkisine eşlik eden mekanizmalar

8. KAYNAKLAR

Abel ED, Peroni O, Kim JK, Kim YB, Boss O, Hadro E, Minnemann T, Shulman GI, Kahn BB. Adipose-selective targeting of the GLUT4 gene impairs insulin action in muscle and liver. Nature. 2001;409(6821): 729-733.

Abu-Abeeleh M. A preliminary study of the use of human adipose tissue-derived stem cells for the treatment of streptozotocin-induced diabetes mellitus in a rat model. Future Science OA. 2016;2(1): FSO102.

Abu-Dahab R, Abdallah MR, Kasabri V, Mhaidat NM, Afifi FU. Mechanistic studies of antiproliferative effects of Salvia triloba and Salvia dominica (Lamiaceae) on breast cancer cell lines (MCF7 and T47D). Z Naturforsch C. 2014;69(11-12): 443-451.

Adam SH, Giribabu N, Rao PV, Sayem AS, Arya A, Panichayupakaranant P, Korla PK, Salleh N. Rhinacanthin C ameliorates hyperglycaemia, hyperlipidemia and pancreatic destruction in streptozotocin-nicotinamide induced adult male diabetic rats. Eur J Pharmacol. 2016;771: 173-190.

Adorini L, Gregori S, Harrison LC. Understanding autoimmune diabetes: insights from mouse models. Trends Mol Med. 2002;8(1): 31-38.

Al-Ali K, Abdel Fatah HS, El-Badry YA. Dual Effect of Curcumin-Zinc Complex in Controlling Diabetes Mellitus in Experimentally Induced Diabetic Rats. Biol Pharm Bull. 2016;39(11): 1774-1780.

Al-Awar A, Kupai K, Veszelka M, Szucs G, Attieh Z, Murlasits Z, Torok S, Posa A, Varga C. Experimental Diabetes Mellitus in Different Animal Models. J Diabetes Res. 2016;2016: 9051426.

Al-Malki AL, El Rabey HA. The antidiabetic effect of low doses of Moringa oleifera Lam. seeds on streptozotocin induced diabetes and diabetic nephropathy in male rats. Biomed Res Int. 2015;2015: 381040.

Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, Fruchart JC, James WP, Loria CM, Smith SC, Jr. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. Circulation. 2009;120(16): 1640-1645.

Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. Diabet Med. 1998;15(7): 539-553.

American Diabetes A. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care. 2012;35(1): 64-71.

American Diabetes A. Standards of medical care in diabetes-2014. Diabetes Care. 2014;37(1): 14-80.

American Diabetes A. Standards of medical care in diabetes-2016. Diabetes Care. 2016;39(1): 1-112.

American Diabetes Association, American Psychiatric Association, American Association of Clinical Endocrinologists, North American Association for the Study of Obesity. Consensus Development Conference on Antipsychotic Drugs and Obesity and Diabetes. Diabetes Care. 2004;27: 596–601.

Apelt J, Mehlhorn G, Schliebs R. Insulin-sensitive GLUT4 glucose transporters are colocalized with GLUT3-expressing cells and demonstrate a chemically distinct neuron-specific localization in rat brain. J Neurosci Res. 1999;57(5): 693-705.

Arrieta O, Varela-Santoyo E, Soto-Perez-de-Celis E, Sánchez-Reyes R, De la Torre-Vallejo M, Muñiz-Hernández S, Cardona AF. Metformin use and its effect on survival in diabetic patients with advanced non-small cell lung cancer. BMC Cancer. 2016;16: 633.

Aschner P, Katzeff HL, Guo H, Sunga S, Williams-Herman D, Kaufman KD, Goldstein BJ. Efficacy and safety of monotherapy of sitagliptin compared with metformin in patients with type 2 diabetes. Diabetes Obes Metab. 2010;12(3): 252-261.

Aylward GW. Progressive changes in diabetics and their management. Eye Lond. 2005;19(10): 1115-1118.

Azaz AD, Irtem HA, Kurkcuoglu M, Baser KHC. Composition and the in vitro Antimicrobial Activities of the Essential Oils of some Thymus Species. Z. Naturforsch. 2004;59c: 75-80.

Babu PV, Liu D, Gilbert ER. Recent advances in understanding the anti-diabetic actions of dietary flavonoids. J Nutr Biochem. 2013;24(11): 1777-1789.

Bahmani M, Zargaran A, Rafieian-Kopaei M, Saki K. Ethnobotanical study of medicinal plants used in the management of diabetes mellitus in the Urmia, Northwest Iran. Asian Pac J Trop Med. 2014;7s1: S348-354.

Balen D, Ljubojevic M, Breljak D, Brzica H, Zlender V, Koepsell H, Sabolic I. Revised immunolocalization of the Na+-D-glucose cotransporter SGLT1 in rat

organs with an improved antibody. Am J Physiol Cell Physiol. 2008;295(2): C475-489.

Banks RE. The 4th R of research. Contemp Top Lab Anim Sci. 1995;34(1): 50-51.
Bates SH, Kulkarni RN, Seifert M, Myers MG, Jr. Roles for leptin receptor/STAT3-dependent and -independent signals in the regulation of glucose homeostasis. Cell Metab. 2005;1(3): 169-178.

Baynest HW. Classification, Pathophysiology, Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. Diabetes&Metabolism. 2015;6(5).

Bennett WL, Maruthur NM, Singh S, Segal JB, Wilson LM, Chatterjee R, Marinopoulos SS, Puhan MA, Ranasinghe P, Block L, Nicholson WK, Hutfless S, Bass EB, Bolen S. Comparative Effectiveness and Safety of Medications for Type 2 Diabetes: An Update Including New Drugs and 2-Drug Combinations. Annals of internal medicine. 2011;154(9): 602-613.

Bergeron R, Previs SF, Cline GW, Perret P, Russell RR, 3rd, Young LH, Shulman GI. Effect of 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1-beta-D-ribofuranoside infusion on in vivo glucose and lipid metabolism in lean and obese Zucker rats. Diabetes. 2001;50(5): 1076-1082.

Bihler I, Freund N. Sugar transport in the small intestine of obese hyperglycemic, fed and fasted mice. Diabetologia. 1975;11(5): 387-393.

Bodmer M, Meier C, Krähenbühl S, Jick SS, Meier CR. Metformin, Sulfonylureas, or Other Antidiabetes Drugs and the Risk of Lactic Acidosis or Hypoglycemia: A nested case-control analysis. Diabetes Care. 2008;31(11): 2086-2091.

Bolen S, Feldman L, Vassy J, Wilson L, Yeh HC, Marinopoulos S, Wiley C, Selvin E, Wilson R, Bass EB, Brancati FL. Systematic review: comparative effectiveness

and safety of oral medications for type 2 diabetes mellitus. Ann Intern Med. 2007;147(6): 386-399.

Bonner-Weir S, Trent DF, Honey RN, Weir GC. Responses of neonatal rat islets to streptozotocin: limited B-cell regeneration and hyperglycemia. Diabetes. 1981;30(1): 64-69.

Bonner-Weir S, Trent DF, Weir GC. Partial pancreatectomy in the rat and subsequent defect in glucose-induced insulin release. J Clin Invest. 1983;71(6): 1544-1553.

Bonny C, Roduit R, Gremlich S, Nicod P, Thorens B, Waeber G. The loss of GLUT2 expression in the pancreatic beta-cells of diabetic db/db mice is associated with an impaired DNA-binding activity of islet-specific trans-acting factors. Mol Cell Endocrinol. 1997;135(1): 59-65.

Bouskila M, Hunter RW, Ibrahim AF, Delattre L, Peggie M, van Diepen JA, Voshol PJ, Jensen J, Sakamoto K. Allosteric regulation of glycogen synthase controls glycogen synthesis in muscle. Cell Metab. 2010;12(5): 456-466.

Brosius FC, Briggs JP, Marcus RG, Barac-Nieto M, Charron MJ. Insulin-responsive glucose transporter expression in renal microvessels and glomeruli. Kidney Int. 1992;42(5): 1086-1092.

Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. Diabetes. 2005;54(6): 1615-1625.

Buhl ES, Jessen N, Pold R, Ledet T, Flyvbjerg A, Pedersen SB, Pedersen O, Schmitz O, Lund S. Long-term AICAR administration reduces metabolic disturbances and lowers blood pressure in rats displaying features of the insulin resistance syndrome. Diabetes. 2002;51(7): 2199-2206.

Burant CF, Flink S, DePaoli AM, Chen J, Lee WS, Hediger MA, Buse JB, Chang EB. Small intestine hexose transport in experimental diabetes. Increased transporter mRNA and protein expression in enterocytes. J Clin Invest. 1994;93(2): 578-585.

Burcelin R, Dolci W, Thorens B. Glucose sensing by the hepatoportal sensor is GLUT2-dependent: in vivo analysis in GLUT2-null mice. Diabetes. 2000;49(10): 1643-1648.

Burcelin R, Eddouks M, Maury J, Kande J, Assan R, Girard J. Excessive glucose production, rather than insulin resistance, accounts for hyperglycaemia in recent-onset streptozotocin-diabetic rats. Diabetologia. 1995;38(3): 283-290.

Buyukbalci A, El SN. Determination of in vitro antidiabetic effects, antioxidant activities and phenol contents of some herbal teas. Plant Foods Hum Nutr. 2008;63(1): 27-33.

Campbell-Thompson ML, Atkinson MA, Butler AE, Chapman NM, Frisk G, Gianani R, Giepmans BN, von Herrath MG, Hyoty H, Kay TW, Korsgren O, Morgan NG, Powers AC, Pugliese A, Richardson SJ, Rowe PA, Tracy S, In't Veld PA. The diagnosis of insulitis in human type 1 diabetes. Diabetologia. 2013;56(11): 2541-2543.

Carai MA, Colombo G, Loi B, Zaru A, Riva A, Cabri W, Morazzoni P. Hypoglycemic Effects of a Standardized Extract of Salvia miltiorrhiza Roots in Rats. Pharmacogn Mag. 2015;11(Suppl 4): S545-549.

Cefalu WT. Animal models of type 2 diabetes: clinical presentation and pathophysiological relevance to the human condition. Ilar j. 2006;47(3): 186-198.

Chandran M, Phillips SA, Ciaraldi T, Henry RR. Adiponectin: more than just another fat cell hormone? Diabetes Care. 2003;26(8): 2442-2450.

Charpentier G, Halimi S. Earlier triple therapy with pioglitazone in patients with type 2 diabetes. Diabetes Obes Metab. 2009;11(9): 844-854.

Chatzigeorgiou A, Halapas A, Kalafatakis K, Kamper E. The use of animal models in the study of diabetes mellitus. In Vivo. 2009;23(2): 245-258.

Chen J, Williams S, Ho S, Loraine H, Hagan D, Whaley JM, Feder JN. Quantitative PCR tissue expression profiling of the human SGLT2 gene and related family members. Diabetes Ther. 2010;1(2): 57-92.

Clar C, Gill JA, Court R, Waugh N. Systematic review of SGLT2 receptor inhibitors in dual or triple therapy in type 2 diabetes. BMJ Open. 2012;2(5).

Colagiuri S, Lee CM, Wong TY, Balkau B, Shaw JE, Borch-Johnsen K. Glycemic thresholds for diabetes-specific retinopathy: implications for diagnostic criteria for diabetes. Diabetes Care. 2011;34(1): 145-150.

Coleman K, Austin BT, Brach C, Wagner EH. Evidence on the Chronic Care Model in the new millennium. Health Aff (Millwood). 2009;28(1): 75-85.

Correll CU, Detraux J, De Lepeleire J, De Hert M. Effects of antipsychotics, antidepressants and mood stabilizers on risk for physical diseases in people with schizophrenia, depression and bipolar disorder. World Psychiatry. 2015;14(2): 119-136.

Costet P, Legendre C, More J, Edgar A, Galtier P, Pineau T. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha-isoform deficiency leads to progressive dyslipidemia with sexually dimorphic obesity and steatosis. J Biol Chem. 1998;273(45): 29577-29585.

Coughlan KA, Valentine RJ, Ruderman NB, Saha AK. AMPK activation: a therapeutic target for type 2 diabetes? Diabetes Metab Syndr Obes. 2014;7: 241-253.

Cowie CC, Rust KF, Byrd-Holt DD, Gregg EW, Ford ES, Geiss LS, Bainbridge KE, Fradkin JE. Prevalence of diabetes and high risk for diabetes using A1C criteria in the U.S. population in 1988-2006. Diabetes Care. 2010;33(3): 562-568.

Cramer SC, Pardridge WM, Hirayama BA, Wright EM. Colocalization of GLUT2 glucose transporter, sodium/glucose cotransporter, and gamma-glutamyl transpeptidase in rat kidney with double-peroxidase immunocytochemistry. Diabetes. 1992;41(6): 766-770.

Cura AJ, Carruthers A. Role of monosaccharide transport proteins in carbohydrate assimilation, distribution, metabolism, and homeostasis. Compr Physiol. 2012;2(2): 863-914.

Cvetkovikj I, G. S, Karapandzova M, Kulevanova S. Essential oil composition of Salvia fruticosa Mill. populations from Balkan Peninsula. Macedonian pharm. bul. 2015;61(1): 19-26.

Dabelea D, Rewers A, Stafford JM, Standiford DA, Lawrence JM, Saydah S, Imperatore G, D'Agostino RB, Jr., Mayer-Davis EJ, Pihoker C. Trends in the prevalence of ketoacidosis at diabetes diagnosis: the SEARCH for diabetes in youth study. Pediatrics. 2014;133(4): e938-945.

de la Pena A, Riddle M, Morrow LA, Jiang HH, Linnebjerg H, Scott A, Win KM, Hompesch M, Mace KF, Jacobson JG, Jackson JA. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of high-dose human regular U-500 insulin versus human regular U-100 insulin in healthy obese subjects. Diabetes Care. 2011;34(12): 2496-2501.

Deacon CF, Holst JJ. Dipeptidyl peptidase IV inhibition as an approach to the treatment and prevention of type 2 diabetes: a historical perspective. Biochem Biophys Res Commun. 2002;294(1): 1-4.

Deeds MC, Anderson JM, Armstrong AS, Gastineau DA, Hiddinga HJ, Jahangir A, Eberhardt NL, Kudva YC. Single Dose Streptozotocin Induced Diabetes: Considerations for Study Design in Islet Transplantation Models. Laboratory animals. 2011;45(3): 131-140.

DeFronzo RA, Tripathy D, Schwenke DC, Banerji M, Bray GA, Buchanan TA, Clement SC, Henry RR, Hodis HN, Kitabchi AE, Mack WJ, Mudaliar S, Ratner RE, Williams K, Stentz FB, Musi N, Reaven PD. Pioglitazone for diabetes prevention in impaired glucose tolerance. N Engl J Med. 2011;364(12): 1104-1115.

Diani AR, Sawada G, Wyse B, Murray FT, Khan M. Pioglitazone preserves pancreatic islet structure and insulin secretory function in three murine models of type 2 diabetes. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2004;286(1): E116-122.

Dormandy JA, Charbonnel B, Eckland DJ, Erdmann E, Massi-Benedetti M, Moules IK, Skene AM, Tan MH, Lefebvre PJ, Murray GD, Standl E, Wilcox RG, Wilhelmsen L, Betteridge J, Birkeland K, Golay A, Heine RJ, Koranyi L, Laakso M, Mokan M, Norkus A, Pirags V, Podar T, Scheen A, Scherbaum W, Schernthaner G, Schmitz O, Skrha J, Smith U, Taton J. Secondary prevention of macrovascular events in patients with type 2 diabetes in the PROactive Study (PROspective pioglitAzone Clinical Trial In macroVascular Events): a randomised controlled trial. Lancet. 2005;366(9493): 1279-1289.

Dupuis J, Langenberg C, Prokopenko I, Saxena R, Soranzo N, Jackson AU, Wheeler E, Glazer NL, Bouatia-Naji N, Gloyn AL, Lindgren CM, Magi R, Morris AP, Randall J, Johnson T, Elliott P, Rybin D, Thorleifsson G, Steinthorsdottir V, Henneman P, Grallert H, Dehghan A, Hottenga JJ, Franklin CS, Navarro P, Song K, Goel A, Perry JR, Egan JM, Lajunen T, Grarup N, Sparso T, Doney A, Voight BF,

Stringham HM, Li M, Kanoni S, Shrader P, Cavalcanti-Proenca C, Kumari M, Qi L, Timpson NJ, Gieger C, Zabena C, Rocheleau G, Ingelsson E, An P, O'Connell J, Luan J, Elliott A, McCarroll SA, Payne F, Roccasecca RM, Pattou F, Sethupathy P, Ardlie K, Ariyurek Y, Balkau B, Barter P, Beilby JP, Ben-Shlomo Y, Benediktsson R, Bennett AJ, Bergmann S, Bochud M, Boerwinkle E, Bonnefond A, Bonnycastle LL, Borch-Johnsen K, Bottcher Y, Brunner E, Bumpstead SJ, Charpentier G, Chen YD, Chines P, Clarke R, Coin LJ, Cooper MN, Cornelis M, Crawford G, Crisponi L, Day IN, de Geus EJ, Delplanque J, Dina C, Erdos MR, Fedson AC, Fischer-Rosinsky A, Forouhi NG, Fox CS, Frants R, Franzosi MG, Galan P, Goodarzi MO, Graessler J, Groves CJ, Grundy S, Gwilliam R, Gyllensten U, Hadjadj S, Hallmans G, Hammond N, Han X, Hartikainen AL, Hassanali N, Hayward C, Heath SC, Hercberg S, Herder C, Hicks AA, Hillman DR, Hingorani AD, Hofman A, Hui J, Hung J, Isomaa B, Johnson PR, Jorgensen T, Jula A, Kaakinen M, Kaprio J, Kesaniemi YA, Kivimaki M, Knight B, Koskinen S, Kovacs P, Kyvik KO, Lathrop GM, Lawlor DA, Le Bacquer O, Lecoeur C, Li Y, Lyssenko V, Mahley R, Mangino M, Manning AK, Martinez-Larrad MT, McAteer JB, McCulloch LJ, McPherson R, Meisinger C, Melzer D, Meyre D, Mitchell BD, Morken MA, Mukherjee S, Naitza S, Narisu N, Neville MJ, Oostra BA, Orru M, Pakyz R, Palmer CN, Paolisso G, Pattaro C, Pearson D, Peden JF, Pedersen NL, Perola M, Pfeiffer AF, Pichler I, Polasek O, Posthuma D, Potter SC, Pouta A, Province MA, Psaty BM, Rathmann W, Rayner NW, Rice K, Ripatti S, Rivadeneira F, Roden M, Rolandsson O, Sandbaek A, Sandhu M, Sanna S, Sayer AA, Scheet P, Scott LJ, Seedorf U, Sharp SJ, Shields B, Sigurethsson G, Sijbrands EJ, Silveira A, Simpson L, Singleton A, Smith NL, Sovio U, Swift A, Syddall H, Syvanen AC, Tanaka T, Thorand B, Tichet J, Tonjes A, Tuomi T, Uitterlinden AG, van Dijk KW, van Hoek M, Varma D, Visvikis-Siest S, Vitart V, Vogelzangs N, Waeber G, Wagner PJ, Walley A, Walters GB, Ward KL, Watkins H, Weedon MN, Wild SH, Willemsen G, Witteman JC, Yarnell JW, Zeggini E, Zelenika D, Zethelius B, Zhai G, Zhao JH, Zillikens MC, Borecki IB, Loos RJ, Meneton P, Magnusson PK, Nathan DM, Williams GH, Hattersley AT, Silander K, Salomaa V, Smith GD, Bornstein SR, Schwarz P, Spranger J, Karpe F, Shuldiner AR, Cooper C, Dedoussis GV, Serrano-Rios M, Morris AD, Lind L, Palmer LJ, Hu FB, Franks PW, Ebrahim S, Marmot M, Kao WH, Pankow JS, Sampson MJ,

Kuusisto J, Laakso M, Hansen T, Pedersen O, Pramstaller PP, Wichmann HE, Illig T, Rudan I, Wright AF, Stumvoll M, Campbell H, Wilson JF, Bergman RN, Buchanan TA, Collins FS, Mohlke KL, Tuomilehto J, Valle TT, Altshuler D, Rotter JI, Siscovick DS, Penninx BW, Boomsma DI, Deloukas P, Spector TD, Frayling TM, Ferrucci L, Kong A, Thorsteinsdottir U, Stefansson K, van Duijn CM, Aulchenko YS, Cao A, Scuteri A, Schlessinger D, Uda M, Ruokonen A, Jarvelin MR, Waterworth DM, Vollenweider P, Peltonen L, Mooser V, Abecasis GR, Wareham NJ, Sladek R, Froguel P, Watanabe RM, Meigs JB, Groop L, Boehnke M, McCarthy MI, Florez JC, Barroso I. New genetic loci implicated in fasting glucose homeostasis and their impact on type 2 diabetes risk. Nat Genet. 2010;42(2): 105-116.

Dyer J, Garner A, Wood IS, Sharma AK, Chandranath I, Shirazi-Beechey SP. Changes in the levels of intestinal Na+/glucose co-transporter (SGLT1) in experimental diabetes. Biochem Soc Trans. 1997;25(3): 479s.

Dyer J, Wood IS, Palejwala A, Ellis A, Shirazi-Beechey SP. Expression of monosaccharide transporters in intestine of diabetic humans. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2002;282(2): G241-248.

E F. Oxidative stress and diabetic neuropathy- a new understanding of an old problem. J. Clin. Invest. 2003;111(4): 431-433.

Eddouks M, Jouad H, Maghrani M, Lemhadri A, Burcelin R. Inhibition of endogenous glucose production accounts for hypoglycemic effect of Spergularia purpurea in streptozotocin mice. Phytomedicine. 2003;10(6-7): 594-599.

editor WSGoPoDM. Prevention of Diabetes Mellitus. Geneva: World Health Organization. 1994.

Emordi JE, Agbaje EO, Oreagba IA, Iribhogbe OI. Antidiabetic and hypolipidemic activities of hydroethanolic root extract of Uvaria chamae in streptozotocin induced diabetic albino rats. BMC Complement Altern Med. 2016;16(1): 468.

Engelgau MM, Thompson TJ, Herman WH, Boyle JP, Aubert RE, Kenny SJ, Badran A, Sous ES, Ali MA. Comparison of fasting and 2-hour glucose and HbA1c levels for diagnosing diabetes. Diagnostic criteria and performance revisited. Diabetes Care. 1997;20(5): 785-791.

Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction? Diabetes. 2003;52(1): 1-8.

Fatmawati S, Shimizu K, Kondo R. Ganoderol B: a potent alpha-glucosidase inhibitor isolated from the fruiting body of Ganoderma lucidum. Phytomedicine. 2011;18(12): 1053-1055.

Federation ID. IDF Diabetes Atlas. Diabetes Research and Clinical Practice. 2015;7th edition.

Fedorak RN, Cheeseman CI, Thomson AB, Porter VM. Altered glucose carrier expression: mechanism of intestinal adaptation during streptozocin-induced diabetes in rats. Am J Physiol. 1991;261(4 Pt 1): G585-591.

Fernando MM, Stevens CR, Walsh EC, De Jager PL, Goyette P, Plenge RM, Vyse TJ, Rioux JD. Defining the role of the MHC in autoimmunity: a review and pooled analysis. PLoS Genet. 2008;4(4): e1000024.

Ferrara A, Lewis JD, Quesenberry CP, Jr., Peng T, Strom BL, Van Den Eeden SK, Ehrlich SF, Habel LA. Cohort study of pioglitazone and cancer incidence in patients with diabetes. Diabetes Care. 2011;34(4): 923-929.

Ferraris RP, Vinnakota RR. Intestinal nutrient transport in genetically obese mice. Am J Clin Nutr. 1995;62(3): 540-546.

Ferrer JC, Favre C, Gomis RR, Fernandez-Novell JM, Garcia-Rocha M, de la Iglesia N, Cid E, Guinovart JJ. Control of glycogen deposition. FEBS Lett. 2003;546(1): 127-132.

Fetita LS, Sobngwi E, Serradas P, Calvo F, Gautier JF. Consequences of fetal exposure to maternal diabetes in offspring. J Clin Endocrinol Metab. 2006;91(10): 3718-3724.

Fiedler M, Zierath JR, Selen G, Wallberg-Henriksson H, Liang Y, Sakariassen KS. 5-aminoimidazole-4-carboxy-amide-1-beta-D-ribofuranoside treatment ameliorates hyperglycaemia and hyperinsulinaemia but not dyslipidaemia in KKAy-CETP mice. Diabetologia. 2001;44(12): 2180-2186.

Fishbein H, Palumbo PJ. Acute Metabolic Complications in Diabetes. Chapter 13: 283-291.

Franconi F, Seghieri G, Canu S, Straface E, Campesi I, Malorni W. Are the available experimental models of type 2 diabetes appropriate for a gender perspective? Pharmacol Res. 2008;57(1): 6-18.

Freitas HS, Schaan BD, Seraphim PM, Nunes MT, Machado UF. Acute and short-term insulin-induced molecular adaptations of GLUT2 gene expression in the renal cortex of diabetic rats. Mol Cell Endocrinol. 2005;237(1-2): 49-57.

Fukaya M, Tamura Y, Chiba Y, Tanioka T, Mao J, Inoue Y, Yamada M, Waeber C, Ido-Kitamura Y, Kitamura T, Kaneki M. Protective effects of a nicotinamide derivative, isonicotinamide, against streptozotocin-induced beta-cell damage and diabetes in mice. Biochem Biophys Res Commun. 2013;442(1-2): 92-98.

Furtado LM, Somwar R, Sweeney G, Niu W, Klip A. Activation of the glucose transporter GLUT4 by insulin. Biochem Cell Biol. 2002;80(5): 569-578.

Gallagher EJ, Le Roith D, Bloomgarden Z. Review of hemoglobin A(1c) in the management of diabetes. J Diabetes. 2009;1(1): 9-17.

Gandhi GR, Jothi G, Antony PJ, Balakrishna K, Paulraj MG, Ignacimuthu S, Stalin A, Al-Dhabi NA. Gallic acid attenuates high-fat diet fed-streptozotocin-induced insulin resistance via partial agonism of PPARgamma in experimental type 2 diabetic rats and enhances glucose uptake through translocation and activation of GLUT4 in PI3K/p-Akt signaling pathway. Eur J Pharmacol. 2014;745: 201-216.

Garcia M, Millan C, Balmaceda-Aguilera C, Castro T, Pastor P, Montecinos H, Reinicke K, Zuniga F, Vera JC, Onate SA, Nualart F. Hypothalamic ependymal-glial cells express the glucose transporter GLUT2, a protein involved in glucose sensing. J Neurochem. 2003;86(3): 709-724.

Gaziano JM, Cincotta AH, O'Connor CM, Ezrokhi M, Rutty D, Ma ZJ, Scranton RE. Randomized clinical trial of quick-release bromocriptine among patients with type 2 diabetes on overall safety and cardiovascular outcomes. Diabetes Care. 2010;33(7): 1503-1508.

Geng YJ, Hansson GK. Interferon-gamma inhibits scavenger receptor expression and foam cell formation in human monocyte-derived macrophages. J Clin Invest. 1992;89(4): 1322-1330.

Gerstein HC, Yusuf S, Bosch J, Pogue J, Sheridan P, Dinccag N, Hanefeld M, Hoogwerf B, Laakso M, Mohan V, Shaw J, Zinman B, Holman RR. Effect of rosiglitazone on the frequency of diabetes in patients with impaired glucose tolerance or impaired fasting glucose: a randomised controlled trial. Lancet. 2006;368(9541): 1096-1105.

Ghani U. Re-exploring promising alpha-glucosidase inhibitors for potential development into oral anti-diabetic drugs: Finding needle in the haystack. Eur J Med Chem. 2015;103: 133-162.

Gilde AJ, Fruchart J-C, Staels B. Peroxisome Proliferator-Activated Receptors at the Crossroads of Obesity, Diabetes, and Cardiovascular Disease. Journal of the American College of Cardiology. 2006;48(9, Supplement): A24-A32.

Gok M, Ulusu NN, Tarhan N, Tufan C, Ozansoy G, Ari N, Karasu C. Flaxseed Protects Against Diabetes-Induced Glucotoxicity by Modulating Pentose Phosphate Pathway and Glutathione-Dependent Enzyme Activities in Rats. J Diet Suppl. 2016;13(3): 339-351.

Gorboulev V, Schurmann A, Vallon V, Kipp H, Jaschke A, Klessen D, Friedrich A, Scherneck S, Rieg T, Cunard R, Veyhl-Wichmann M, Srinivasan A, Balen D, Breljak D, Rexhepaj R, Parker HE, Gribble FM, Reimann F, Lang F, Wiese S, Sabolic I, Sendtner M, Koepsell H. Na(+)-D-glucose cotransporter SGLT1 is pivotal for intestinal glucose absorption and glucose-dependent incretin secretion. Diabetes. 2012;61(1): 187-196.

Groop L. Genetics of the metabolic syndrome. Br J Nutr. 2000;83 Suppl 1: S39-48.

Groop PH, Cooper ME, Perkovic V, Emser A, Woerle HJ, von Eynatten M. Linagliptin lowers albuminuria on top of recommended standard treatment in patients with type 2 diabetes and renal dysfunction. Diabetes Care. 2013;36(11): 3460-3468.

Gross JL, Kramer CK, Leitao CB, Hawkins N, Viana LV, Schaan BD, Pinto LC, Rodrigues TC, Azevedo MJ. Effect of antihyperglycemic agents added to metformin and a sulfonylurea on glycemic control and weight gain in type 2 diabetes: a network meta-analysis. Ann Intern Med. 2011;154(10): 672-679.

Grossman EJ, Lee DD, Tao J, Wilson RA, Park SY, Bell GI, Chong AS. Glycemic control promotes pancreatic beta-cell regeneration in streptozotocin-induced diabetic mice. PLoS One. 2010;5(1): e8749.

Gudala K, Bansal D, Schifano F, Bhansali A. Diabetes mellitus and risk of dementia: A meta-analysis of prospective observational studies. J Diabetes Investig. 2013;4(6): 640-650.

Gurley SB, Mach CL, Stegbauer J, Yang J, Snow KP, Hu A, Meyer TW, Coffman TM. Influence of genetic background on albuminuria and kidney injury in Ins2(+/C96Y) (Akita) mice. Am J Physiol Renal Physiol. 2010;298(3): F788-795.

Hamden K, Bengara A, Amri Z, Elfeki A. Experimental diabetes treated with trigonelline: effect on key enzymes related to diabetes and hypertension, beta-cell and liver function. Mol Cell Biochem. 2013;381(1-2): 85-94.

Hanafusa T, Miyagawa J, Nakajima H, Tomita K, Kuwajima M, Matsuzawa Y, Tarui S. The NOD mouse. Diabetes Res Clin Pract. 1994;24 Suppl: S307-311.

Handelsman Y, Goldberg RB, Garvey WT, Fonseca VA, Rosenstock J, Jones MR, Lai YL, Jin X, Misir S, Nagendran S, Abby SL. Colesevelam hydrochloride to treat hypercholesterolemia and improve glycemia in prediabetes: a randomized, prospective study. Endocr Pract. 2010;16(4): 617-628.

Hansen HH, Jelsing J, Hansen CF, Hansen G, Vrang N, Mark M, Klein T, Mayoux E. The sodium glucose cotransporter type 2 inhibitor empagliflozin preserves beta-cell mass and restores glucose homeostasis in the male zucker diabetic fatty rat. J Pharmacol Exp Ther. 2014;350(3): 657-664.

Harada N, Inagaki N. Role of sodium-glucose transporters in glucose uptake of the intestine and kidney. J Diabetes Investig. 2012;3(4): 352-353.

He S, Chen Y, Wei L, Jin X, Zeng L, Ren Y, Zhang J, Wang L, Li H, Lu Y, Cheng J. Treatment and risk factor analysis of hypoglycemia in diabetic rhesus monkeys. Exp Biol Med (Maywood). 2011;236(2): 212-218.

Hers HG. Mechanisms of blood glucose homeostasis. J Inherit Metab Dis. 1990;13(4): 395-410.

Hevener AL, He W, Barak Y, Le J, Bandyopadhyay G, Olson P, Wilkes J, Evans RM, Olefsky J. Muscle-specific Pparg deletion causes insulin resistance. Nat Med. 2003;9(12): 1491-1497.

Hossain MS, Ahmed M, Islam A. Hypolipidemic and hepatoprotective effect of different fraction of methanolic extract of Momordica charantia (Linn.) in alloxan induced diabetic rats. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 2011;2(3): 601-607.

Houicher A, Hechachna H, Teldji H, Ozogul F. In vitro study of the antifungal activity of essential oils obtained from Mentha spicata, Thymus vulgaris and Laurus nobilis. Recent Pat Food Nutr Agric. 2016.

Hsu WH, Pan TM. A novel PPARgamma agonist monascin's potential application in diabetes prevention. Food Funct. 2014;5(7): 1334-1340.
Huang S, Czech MP. The GLUT4 glucose transporter. Cell Metab. 2007;5(4): 237-252.

Hutchinson RN, Shin S. Systematic review of health disparities for cardiovascular diseases and associated factors among American Indian and Alaska Native populations. PLoS One. 2014;9(1): e80973.

Hwang BY, Lee J-H, Nam JB, Kim HS, Hong YS, Lee JJ. Two New Furanoditerpenes from Saururus chinenesis and Their Effects on the Activation of Peroxisome

Proliferator-Activated Receptor γ. Journal of Natural Products. 2002;65(4): 616-617.

Hwang DF, Lai YS, Chiang MT. Toxic effects of grass carp, snake and chicken bile juices in rats. Toxicol Lett. 1996;85(2): 85-92.

Ikeda H. KK mouse. Diabetes Res Clin Pract. 1994;24 Suppl: S313-316.

im Walde SS, Dohle C, Schott-Ohly P, Gleichmann H. Molecular target structures in alloxan-induced diabetes in mice. Life Sci. 2002;71(14): 1681-1694.

Irudayaraj SS, Stalin A, Sunil C, Duraipandiyan V, Al-Dhabi NA, Ignacimuthu S. Antioxidant, antilipidemic and antidiabetic effects of ficusin with their effects on GLUT4 translocation and PPARgamma expression in type 2 diabetic rats. Chem Biol Interact. 2016;256: 85-93.

Ismail TA, Soliman MM, Shimaa TA. Adiponectin Regulation in Type 2 Diabetic Rats: Effects of Insulin, Metformin and Dexamethasone. American Journal of Pharmacology and Toxicology. 2013;8(4): 197-208.

Jiang C, Ting AT, Seed B. PPAR-[gamma] agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. Nature. 1998;391(6662): 82-86.

Jun HS, Yoon JW. A new look at viruses in type 1 diabetes. Diabetes Metab Res Rev. 2003;19(1): 8-31.

Kahn BB, Shulman GI, DeFronzo RA, Cushman SW, Rossetti L. Normalization of blood glucose in diabetic rats with phlorizin treatment reverses insulin-resistant glucose transport in adipose cells without restoring glucose transporter gene expression. J Clin Invest. 1991;87(2): 561-570.

Kahn BB. Lilly lecture 1995. Glucose transport: pivotal step in insulin action. Diabetes. 1996;45(11): 1644-1654.

Kanai Y, Lee WS, You G, Brown D, Hediger MA. The human kidney low affinity Na+/glucose cotransporter SGLT2. Delineation of the major renal reabsorptive mechanism for D-glucose. J Clin Invest. 1994;93(1): 397-404.

Kanasaki K, Shi S, Kanasaki M, He J, Nagai T, Nakamura Y, Ishigaki Y, Kitada M, Srivastava SP, Koya D. Linagliptin-mediated DPP-4 inhibition ameliorates kidney fibrosis in streptozotocin-induced diabetic mice by inhibiting endothelial-to-mesenchymal transition in a therapeutic regimen. Diabetes. 2014;63(6): 2120-2131.

Kasetti RB, Rajasekhar MD, Kondeti VK, Fatima SS, Kumar EG, Swapna S, Ramesh B, Rao CA. Antihyperglycemic and antihyperlipidemic activities of methanol:water (4:1) fraction isolated from aqueous extract of Syzygium alternifolium seeds in streptozotocin induced diabetic rats. Food Chem Toxicol. 2010;48(4): 1078-1084.

Kawano K, Hirashima T, Mori S, Saitoh Y, Kurosumi M, Natori T. Spontaneous long-term hyperglycemic rat with diabetic complications. Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) strain. Diabetes. 1992;41(11): 1422-1428.

Kellett GL, Brot-Laroche E, Mace OJ, Leturque A. Sugar absorption in the intestine: the role of GLUT2. Annu Rev Nutr. 2008;28: 35-54.

Kellett GL, Brot-Laroche E. Apical GLUT2: a major pathway of intestinal sugar absorption. Diabetes. 2005;54(10): 3056-3062.

Kim G, Newton KM, Knopp RH. Gestational diabetes and the incidence of type 2 diabetes. Diabetes Care. 2002;25: 1862-1868.

Kim K, Oh CM, Ohara-Imaizumi M, Park S, Namkung J, Yadav VK, Tamarina NA, Roe MW, Philipson LH, Karsenty G, Nagamatsu S, German MS, Kim H. Functional

role of serotonin in insulin secretion in a diet-induced insulin-resistant state. Endocrinology. 2015;156(2): 444-452.

Kim YM, Jeong YK, Wang MH, Lee WY, Rhee HI. Inhibitory effect of pine extract on alpha-glucosidase activity and postprandial hyperglycemia. Nutrition. 2005;21(6): 756-761.

King A, Bowe J. Animal models for diabetes: Understanding the pathogenesis and finding new treatments. Biochem Pharmacol. 2016;99: 1-10.

King AJ. The use of animal models in diabetes research. Br J Pharmacol. 2012;166(3): 877-894.

King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. Diabetes Care. 1998;21(9): 1414-1431.

Kooy A, de Jager J, Lehert P, Bets D, Wulffele MG, Donker AJ, Stehouwer CD. Long-term effects of metformin on metabolism and microvascular and macrovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus. Arch Intern Med. 2009;169(6): 616-625.

Korec R. [Diabetes diagnosis following intravenous and oral glucose load: animal experiment principles]. Z Gesamte Inn Med. 1988;43(15): 427-429.

Kosaraju J, Dubala A, Chinni S, Khatwal RB, Satish Kumar MN, Basavan D. A molecular connection of Pterocarpus marsupium, Eugenia jambolana and Gymnema sylvestre with dipeptidyl peptidase-4 in the treatment of diabetes. Pharm Biol. 2014;52(2): 268-271.

Kramer J, Moeller EL, Hachey A, Mansfield KG, Wachtman LM. Differential expression of GLUT2 in pancreatic islets and kidneys of New and Old World

nonhuman primates. American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 2009;296(3): R786-R793.

Krentz AJ, Bailey CJ. Oral antidiabetic agents: current role in type 2 diabetes mellitus. Drugs. 2005;65(3): 385-411.

Kumar S, Narwal S, Kumar V, Prakash O. alpha-glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes. Pharmacogn Rev. 2011;5(9): 19-29.
Kuroda M, Mimaki Y, Sashida Y, Mae T, Kishida H, Nishiyama T, Tsukagawa M, Konishi E, Takahashi K, Kawada T, Nakagawa K, Kitahara M. Phenolics with PPAR-γ ligand-Binding activity obtained from licorice (Glycyrrhiza uralensis Roots) and ameliorative effects of glycyrin on genetically diabetic KK-Ay mice. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 2003;13(24): 4267-4272.

Kwon SJ, Hwang SJ, Jung Y, Park HG, Kim MH, Park Y, Lee HJ. A synthetic Nitraria alkaloid, isonitramine protects pancreatic beta-cell and attenuates postprandial hyperglycemia. Metabolism. 2017;70: 107-115.

Laakso M, Malkki M, Deeb SS. Amino acid substitutions in hexokinase II among patients with NIDDM. Diabetes. 1995;44(3): 330-334.

Largay J. Case Study- New-Onset Diabetes- How to Tell the Difference Between Type 1 and Type 2 Diabetes. Clinical Diabetes. 2012;30(1): 25-27.

Launer LJ, Miller ME, Williamson JD, Lazar RM, Gerstein HC, Murray AM, Sullivan M, Horowitz KR, Ding J, Marcovina S, Lovato LC, Lovato J, Margolis KL, O'Connor P, Lipkin EW, Hirsch J, Coker L, Maldjian J, Sunshine JL, Truwit C, Davatzikos C, Bryan RN. Effects of intensive glucose lowering on brain structure and function in people with type 2 diabetes (ACCORD MIND): a randomised open-label substudy. The Lancet Neurology. 2011;10(11): 969-977.

Lee JH, Yang SH, Oh JM, Lee MG. Pharmacokinetics of drugs in rats with diabetes mellitus induced by alloxan or streptozocin: comparison with those in patients with type I diabetes mellitus. J Pharm Pharmacol. 2010;62(1): 1-23.

Lee MY, Shim MS, Kim BH, Hong SW, Choi R, Lee EY, Nam SM, Kim GW, Shin JY, Shin YG, Chung CH. Effects of spironolactone and losartan on diabetic nephropathy in a type 2 diabetic rat model. Diabetes Metab J. 2011;35(2): 130-137.

Lee WS, Kanai Y, Wells RG, Hediger MA. The high affinity Na+/glucose cotransporter. Re-evaluation of function and distribution of expression. J Biol Chem. 1994;269(16): 12032-12039.

Leiter EH. Selecting the "right" mouse model for metabolic syndrome and type 2 diabetes research. Methods Mol Biol. 2009;560: 1-17.

Lenzen S, Tiedge M, Elsner M, Lortz S, Weiss H, Jorns A, Kloppel G, Wedekind D, Prokop CM, Hedrich HJ. The LEW.1AR1/Ztm-iddm rat: a new model of spontaneous insulin-dependent diabetes mellitus. Diabetologia. 2001;44(9): 1189-1196.

Leturque A, Brot-Laroche E, Le Gall M. GLUT2 mutations, translocation, and receptor function in diet sugar managing. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2009;296(5): E985-992.

Lewis JD, Ferrara A, Peng T, Hedderson M, Bilker WB, Quesenberry CP, Jr., Vaughn DJ, Nessel L, Selby J, Strom BL. Risk of bladder cancer among diabetic patients treated with pioglitazone: interim report of a longitudinal cohort study. Diabetes Care. 2011;34(4): 916-922.

Li PB, Lin WL, Wang YG, Peng W, Cai XY, Su WW. Antidiabetic activities of oligosaccharides of Ophiopogonis japonicus in experimental type 2 diabetic rats. Int J Biol Macromol. 2012;51(5): 749-755.

Li X, Wu TT, Chen J, Qiu W. Elevated expression levels of serum insulin - like growth factor - 1, tumor necrosis factor - α and vascular endothelial growth factor 165 might exacerbate type 2 diabetic nephropathy. Journal of Diabetes Investigation. 2017;8(1): 108-114.

Li X, Yuan L, Li J, Li H, Cheng S. Blockade of renin angiotensin system increased resistance to STZ-induced diabetes in rats with long-term high-fat diet. Exp Diabetes Res. 2012;2012: 618923.

Li Y, Zhao S, Zhang W, Zhao P, He B, Wu N, Han P. Epigallocatechin-3-O-gallate (EGCG) attenuates FFAs-induced peripheral insulin resistance through AMPK pathway and insulin signaling pathway in vivo. Diabetes Res Clin Pract. 2011;93(2): 205-214.

Liang Y-C, Tsai S-H, Tsai D-C, Lin-Shiau S-Y, Lin J-K. Suppression of inducible cyclooxygenase and nitric oxide synthase through activation of peroxisome proliferator-activated receptor-γ by flavonoids in mouse macrophages. FEBS Lett. 2001;496(1): 12-18.

Lindstrom P. beta-cell function in obese-hyperglycemic mice [ob/ob Mice]. Adv Exp Med Biol. 2010;654: 463-477.

Liu F, Fu Y, Wei C, Chen Y, Ma S, Xu W. The expression of GPR109A, NF-kB and IL-1beta in peripheral blood leukocytes from patients with type 2 diabetes. Ann Clin Lab Sci. 2014;44(4): 443-448.

Maghrani M, Lemhadri A, Jouad H, Michel JB, Eddouks M. Effect of the desert plant Retama raetam on glycaemia in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. J Ethnopharmacol. 2003;87(1): 21-25.

Maida A, Lamont BJ, Cao X, Drucker DJ. Metformin regulates the incretin receptor axis via a pathway dependent on peroxisome proliferator-activated receptor-α in mice. Diabetologia. 2011;54(2): 339-349.

Maiese K, Chong ZZ, Shang YC, Hou J. Novel avenues of drug discovery and biomarkers for diabetes mellitus. J Clin Pharmacol. 2011;51(2): 128-152.

Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB, 3rd. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. J Biochem Mol Toxicol. 2003;17(1): 24-38.

Masiello P, Broca C, Gross R, Roye M, Manteghetti M, Hillaire-Buys D, Novelli M, Ribes G. Experimental NIDDM: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. Diabetes. 1998;47(2): 224-229.

Mathews CE. Utility of murine models for the study of spontaneous autoimmune type 1 diabetes. Pediatr Diabetes. 2005;6(3): 165-177.

Matschinsky FM, Magnuson MA, Zelent D, Jetton TL, Doliba N, Han Y, Taub R, Grimsby J. The network of glucokinase-expressing cells in glucose homeostasis and the potential of glucokinase activators for diabetes therapy. Diabetes. 2006;55(1): 1-12.

Matsui T, Nakashima S, Nishino Y, Ojima A, Nakamura N, Arima K, Fukami K, Okuda S, Yamagishi S. Dipeptidyl peptidase-4 deficiency protects against experimental diabetic nephropathy partly by blocking the advanced glycation end products-receptor axis. Lab Invest. 2015;95(5): 525-533.

Matveyenko AV, Butler PC. Islet amyloid polypeptide (IAPP) transgenic rodents as models for type 2 diabetes. Ilar j. 2006;47(3): 225-233.

McCance DR, Hanson RL, Charles MA, Jacobsson LT, Pettitt DJ, Bennett PH, Knowler WC. Comparison of tests for glycated haemoglobin and fasting and two hour plasma glucose concentrations as diagnostic methods for diabetes. BMJ : British Medical Journal. 1994;308(6940): 1323-1328.

McDougall GJ, Stewart D. The inhibitory effects of berry polyphenols on digestive enzymes. Biofactors. 2005;23(4): 189-195.

Mentlein R. Dipeptidyl-peptidase IV (CD26)--role in the inactivation of regulatory peptides. Regul Pept. 1999;85(1): 9-24.

Miralles F, Portha B. Early development of beta-cells is impaired in the GK rat model of type 2 diabetes. Diabetes. 2001;50 Suppl 1: S84-88.

Miyazaki A, Hanafusa T, Yamada K, Miyagawa J, Fujino-Kurihara H, Nakajima H, Nonaka K, Tarui S. Predominance of T lymphocytes in pancreatic islets and spleen of pre-diabetic non-obese diabetic (NOD) mice: a longitudinal study. Clin Exp Immunol. 1985;60(3): 622-630.

Monami M, Dicembrini I, Antenore A, Mannucci E. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and bone fractures: a meta-analysis of randomized clinical trials. Diabetes Care. 2011;34(11): 2474-2476.

Morton AP, Hanson PJ. Monosaccharide transport by the small intestine of lean and genetically obese (ob/ob) mice. Q J Exp Physiol. 1984;69(1): 117-126.

Mounien L, Marty N, Tarussio D, Metref S, Genoux D, Preitner F, Foretz M, Thorens B. Glut2-dependent glucose-sensing controls thermoregulation by

enhancing the leptin sensitivity of NPY and POMC neurons. Faseb j. 2010;24(6): 1747-1758.

Mueckler M, Thorens B. The SLC2 (GLUT) family of membrane transporters. Mol Aspects Med. 2013;34(2-3): 121-138.

Murali R, Karthikeyan A, Saravanan R. Protective effects of D-limonene on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2013;112(3): 175-181.

Narasimhan A, Chinnaiyan M, Karundevi B. Ferulic acid exerts its antidiabetic effect by modulating insulin-signalling molecules in the liver of high-fat diet and fructose-induced type-2 diabetic adult male rat. Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism. 2015;40(8): 769-781.

Nasri H, Nematbakhsh M, Ghobadi S, Ansari R, Shahinfard N, Rafieian-Kopaei M. Preventive and curative effects of ginger extract against histopathologic changes of gentamicin-induced tubular toxicity in rats. Int J Prev Med. 2013;4(3): 316-321.

Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Protective effects of herbal antioxidants on diabetic kidney disease. Journal of Research in Medical Sciences : The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences. 2014;19(1): 82-83.

Nations U. Diagnostic Criteria and Classification of Hyperglycaemia First Detected in Pregnancy. Geneva, Switzerland. 2013.

Nelson RW, Reusch CE. Animal models of disease: classification and etiology of diabetes in dogs and cats. J Endocrinol. 2014;222(3): T1-9.

Nerup J, Mandrup-Poulsen T, Helqvist S, Andersen HU, Pociot F, Reimers JI, Cuartero BG, Karlsen AE, Bjerre U, Lorenzen T. On the pathogenesis of IDDM. Diabetologia. 1994;37 Suppl 2: S82-89.

Ngueguim FT, Esse EC, Dzeufiet PDD, Gounoue RK, Bilanda DC, Kamtchouing P, Dimo T. Oxidised palm oil and sucrose induced hyperglycemia in normal rats: effects of Sclerocarya birrea stem barks aqueous extract. BMC Complement Altern Med. 2015;16: 47.

Nikoulina SE, Ciaraldi TP, Carter L, Mudaliar S, Park KS, Henry RR. Impaired muscle glycogen synthase in type 2 diabetes is associated with diminished phosphatidylinositol 3-kinase activation. J Clin Endocrinol Metab. 2001;86(9): 4307-4314.

Nishioka T, Kawabata J, Aoyama Y. Baicalein, an alpha-glucosidase inhibitor from Scutellaria baicalensis. J Nat Prod. 1998;61(11): 1413-1415.

Noda K, Melhorn MI, Zandi S, Frimmel S, Tayyari F, Hisatomi T, Almulki L, Pronczuk A, Hayes KC, Hafezi-Moghadam A. An animal model of spontaneous metabolic syndrome: Nile grass rat. Faseb j. 2010;24(7): 2443-2453.

Nolkemper S, Reichling J, Stintzing FC, Carle R, Schnitzler P. Antiviral effect of aqueous extracts from species of the Lamiaceae family against Herpes simplex virus type 1 and type 2 in vitro. Planta Med. 2006;72(15): 1378-1382.

Oguma T, Nakayama K, Kuriyama C, Matsushita Y, Yoshida K, Hikida K, Obokata N, Tsuda-Tsukimoto M, Saito A, Arakawa K, Ueta K, Shiotani M. Intestinal Sodium Glucose Cotransporter 1 Inhibition Enhances Glucagon-Like Peptide-1 Secretion in Normal and Diabetic Rodents. J Pharmacol Exp Ther. 2015;354(3): 279-289.

Okamoto Y, Tanaka S, Haga Y. Enhanced GLUT2 gene expression in an oleic acid-induced in vitro fatty liver model. Hepatol Res. 2002;23(2): 138-144.

Oliviero M, Romilde I, Beatrice MM, Matteo V, Giovanna N, Consuelo A, Claudio C, Giorgio S, Filippo M, Massimo N. Evaluations of thyme extract effects in human normal bronchial and tracheal epithelial cell lines and in human lung cancer cell line. Chem Biol Interact. 2016;256: 125-133.

Osborn DP, Wright CA, Levy G, King MB, Deo R, Nazareth I. Relative risk of diabetes, dyslipidaemia, hypertension and the metabolic syndrome in people with severe mental illnesses: systematic review and metaanalysis. BMC Psychiatry. 2008;8: 84.

Ostrovskaya RU, Zolotov NN, Ozerova IV, Ivanova EA, Kapitsa IG, Taraban KV, Michunskaya AM, Voronina TA, Gudasheva TA, Seredenin SB. Noopept normalizes parameters of the incretin system in rats with experimental diabetes. Bull Exp Biol Med. 2014;157(3): 344-349.

Ozdemir S, Tandogan B, Ulusu NN, Turan B. Angiotensin II receptor blockage prevents diabetes-induced oxidative damage in rat heart. Folia Biol (Praha). 2009;55(1): 11-16.

Ozen T, Demirtas I, Aksit H. Determination of antioxidant activities of various extracts and essential oil compositions of Thymus praecox subsp. skorpilii var. skorpilii. Food Chem. 2011;124(1): 58-64.

Ozkol H, Tuluce Y, Dilsiz N, Koyuncu I. Therapeutic potential of some plant extracts used in Turkish traditional medicine on streptozocin-induced type 1 diabetes mellitus in rats. J Membr Biol. 2013;246(1): 47-55.

Park JS, Rhee SD, Kang NS, Jung WH, Kim HY, Kim JH, Kang SK, Cheon HG, Ahn JH, Kim KY. Anti-diabetic and anti-adipogenic effects of a novel selective 11beta-

hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitor, 2-(3-benzoyl)-4-hydroxy-1,1-dioxo-2H-1,2-benzothiazine-2-yl-1-phenylethanone (KR-66344). Biochem Pharmacol. 2011;81(8): 1028-1035.

Peng BJ, Zhu Q, Zhong YL, Xu SH, Wang Z. Chlorogenic Acid Maintains Glucose Homeostasis through Modulating the Expression of SGLT-1, GLUT-2, and PLG in Different Intestinal Segments of Sprague-Dawley Rats Fed a High-Fat Diet. Biomed Environ Sci. 2015;28(12): 894-903.

Perez-Monteverde A, Seck T, Xu L, Lee MA, Sisk CM, Williams-Herman DE, Engel SS, Kaufman KD, Goldstein BJ. Efficacy and safety of sitagliptin and the fixed-dose combination of sitagliptin and metformin vs. pioglitazone in drug-naive patients with type 2 diabetes. Int J Clin Pract. 2011;65(9): 930-938.

Peters SA, Huxley RR, Woodward M. Diabetes as risk factor for incident coronary heart disease in women compared with men: a systematic review and meta-analysis of 64 cohorts including 858,507 individuals and 28,203 coronary events. Diabetologia. 2014;57(8): 1542-1551.

Phillips MS, Liu Q, Hammond HA, Dugan V, Hey PJ, Caskey CJ, Hess JF. Leptin receptor missense mutation in the fatty Zucker rat. Nat Genet. 1996;13(1): 18-19.

Phung OJ, Sood NA, Sill BE, Coleman CI. Oral anti-diabetic drugs for the prevention of Type 2 diabetes. Diabet Med. 2011;28(8): 948-964.

Piatt GA, Anderson RM, Brooks MM, Songer T, Siminerio LM, Korytkowski MM, Zgibor JC. 3-year follow-up of clinical and behavioral improvements following a multifaceted diabetes care intervention: results of a randomized controlled trial. Diabetes Educ. 2010;36(2): 301-309.

Piccinni C, Motola D, Marchesini G, Poluzzi E. Assessing the association of pioglitazone use and bladder cancer through drug adverse event reporting. Diabetes Care. 2011;34(6): 1369-1371.

Plutzky J. PPARs as Therapeutic Targets: Reverse Cardiology? Science. 2003;302(5644): 406.

Pold R, Jensen LS, Jessen N, Buhl ES, Schmitz O, Flyvbjerg A, Fujii N, Goodyear LJ, Gotfredsen CF, Brand CL, Lund S. Long-term AICAR administration and exercise prevents diabetes in ZDF rats. Diabetes. 2005;54(4): 928-934.

Poynter ME, Daynes RA. Peroxisome Proliferator-activated Receptor α Activation Modulates Cellular Redox Status, Represses Nuclear Factor-κB Signaling, and Reduces Inflammatory Cytokine Production in Aging. Journal of Biological Chemistry. 1998;273(49): 32833-32841.

Pradhan AD, Everett BM, Cook NR, Rifai N, Ridker PM. Effects of initiating insulin and metformin on glycemic control and inflammatory biomarkers among patients with type 2 diabetes: the LANCET randomized trial. JAMA. 2009;302(11): 1186-1194.

Rafieian-Kopaei M, Nasri H. The Ameliorative Effect of Zingiber officinale in Diabetic Nephropathy. Iranian Red Crescent Medical Journal. 2014;16(5): e11324.

Rahmoune H, Thompson PW, Ward JM, Smith CD, Hong G, Brown J. Glucose transporters in human renal proximal tubular cells isolated from the urine of patients with non-insulin-dependent diabetes. Diabetes. 2005;54(12): 3427-3434.

Rangwala SM, Lazar MA. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma in diabetes and metabolism. Trends Pharmacol Sci. 2004;25(6): 331-336.

Rawlings AM, Sharrett AR, Schneider AL, Coresh J, Albert M, Couper D, Griswold M, Gottesman RF, Wagenknecht LE, Windham BG, Selvin E. Diabetes in midlife and cognitive change over 20 years: a cohort study. Ann Intern Med. 2014;161(11): 785-793.

Reed JC, Herold KC. Thinking bedside at the bench: the NOD mouse model of T1DM. Nat Rev Endocrinol. 2015;11(5): 308-314.

Rees DA, Alcolado JC. Animal models of diabetes mellitus. Diabet Med. 2005;22(4): 359-370.

Rennings AJ, Russel FG, Li Y, Deen PM, Masereeuw R, Tack CJ, Smits P. Preserved response to diuretics in rosiglitazone-treated subjects with insulin resistance: a randomized double-blind placebo-controlled crossover study. Clin Pharmacol Ther. 2011;89(4): 587-594.

Report C. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care. 2012;25(1).

Retnakaran R, Qi Y, Harris SB, Hanley AJ, Zinman B. Changes over time in glycemic control, insulin sensitivity, and beta-cell function in response to low-dose metformin and thiazolidinedione combination therapy in patients with impaired glucose tolerance. Diabetes Care. 2011;34(7): 1601-1604.

Ricci-Cabello I, Ruiz-Perez I, Olry de Labry-Lima A, Marquez-Calderon S. Do social inequalities exist in terms of the prevention, diagnosis, treatment, control and monitoring of diabetes? A systematic review. Health Soc Care Community. 2010;18(6): 572-587.

Rieg T, Masuda T, Gerasimova M, Mayoux E, Platt K, Powell DR, Thomson SC, Koepsell H, Vallon V. Increase in SGLT1-mediated transport explains renal

glucose reabsorption during genetic and pharmacological SGLT2 inhibition in euglycemia. Am J Physiol Renal Physiol. 2014;306(2): F188-193.

Roberts CK, Hevener AL, Barnard RJ. Metabolic Syndrome and Insulin Resistance: Underlying Causes and Modification by Exercise Training. Compr Physiol. 2013;3(1): 1-58.

Roden M, Weng J, Eilbracht J, Delafont B, Kim G, Woerle HJ, Broedl UC. Empagliflozin monotherapy with sitagliptin as an active comparator in patients with type 2 diabetes: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. Lancet Diabetes Endocrinol. 2013;1(3): 208-219.

Rolo AP, Palmeira CM. Diabetes and mitochondrial function: role of hyperglycemia and oxidative stress. Toxicol Appl Pharmacol. 2006;212(2): 167-178.

Rosenstock J, Fonseca VA, Garvey WT, Goldberg RB, Handelsman Y, Abby SL, Lai YL, Jin X, Misir S, Nagendran S, Jones MR. Initial combination therapy with metformin and colesevelam for achievement of glycemic and lipid goals in early type 2 diabetes. Endocr Pract. 2010;16(4): 629-640.

Rossetti L, Smith D, Shulman GI, Papachristou D, DeFronzo RA. Correction of hyperglycemia with phlorizin normalizes tissue sensitivity to insulin in diabetic rats. J Clin Invest. 1987;79(5): 1510-1515.

Ruderman NB, Carling D, Prentki M, Cacicedo JM. AMPK, insulin resistance, and the metabolic syndrome. The Journal of Clinical Investigation. 2013;123(7): 2764-2772.

Sabolic I, Vrhovac I, Eror DB, Gerasimova M, Rose M, Breljak D, Ljubojevic M, Brzica H, Sebastiani A, Thal SC, Sauvant C, Kipp H, Vallon V, Koepsell H. Expression of Na+-D-glucose cotransporter SGLT2 in rodents is kidney-specific

and exhibits sex and species differences. Am J Physiol Cell Physiol. 2012;302(8): C1174-1188.

Saier MH, Jr., Beatty JT, Goffeau A, Harley KT, Heijne WH, Huang SC, Jack DL, Jahn PS, Lew K, Liu J, Pao SS, Paulsen IT, Tseng TT, Virk PS. The major facilitator superfamily. J Mol Microbiol Biotechnol. 1999;1(2): 257-279.

Saleh S, El-Maraghy N, Reda E, Barakat W. Modulation of diabetes and dyslipidemia in diabetic insulin-resistant rats by mangiferin: role of adiponectin and TNF-alpha. An Acad Bras Cienc. 2014;86(4): 1935-1948.

Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. Nature. 2001;414(6865): 799-806.

Sando KR, Taylor J. Bromocriptine: its place in type 2 diabetes Tx. J Fam Pract. 2011;60(11): E1-5.

Santaguida PL, Balion C, Hunt D, Morrison K, Gerstein H, Raina P, Booker L, Yazdi H. Diagnosis, prognosis, and treatment of impaired glucose tolerance and impaired fasting glucose. Evid Rep Technol Assess (Summ). 2005;(128): 1-11.

Santer R, Calado J. Familial renal glucosuria and SGLT2: from a mendelian trait to a therapeutic target. Clin J Am Soc Nephrol. 2010;5(1): 133-141.

Sarrafchi A, Bahmani M, Shirzad H, Rafieian-Kopaei M. Oxidative stress and Parkinson's disease: New hopes in treatment with herbal antioxidants. Curr Pharm Des. 2016;22(2): 238-246.

Scarpello JH, Howlett HC. Metformin therapy and clinical uses. Diab Vasc Dis Res. 2008;5(3): 157-167.

Schmeichel AM, Schmelzer JD, Low PA. Oxidative injury and apoptosis of dorsal root ganglion neurons in chronic experimental diabetic neuropathy. Diabetes. 2003;52(1): 165-171.

Seedorf U, Assmann G. The role of PPAR alpha in obesity. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2001;11(3): 189-194.

Seligman HK, Schillinger D. Hunger and socioeconomic disparities in chronic disease. N Engl J Med. 2010;363(1): 6-9.

Shafrir E, Ziv E, Kalman R. Nutritionally induced diabetes in desert rodents as models of type 2 diabetes: Acomys cahirinus (spiny mice) and Psammomys obesus (desert gerbil). Ilar j. 2006;47(3): 212-224.

Sharma AK, Raikwar SK, Kurmi MK, Srinivasan BP. Gemfibrozil and its combination with metformin on pleiotropic effect on IL-10 and adiponectin and anti-atherogenic treatment in insulin resistant type 2 diabetes mellitus rats. Inflammopharmacology. 2013;21(2): 137-145.

Sharma B, Salunke R, Balomajumder C, Daniel S, Roy P. Anti-diabetic potential of alkaloid rich fraction from Capparis decidua on diabetic mice. J Ethnopharmacol. 2010;127(2): 457-462.

Shewamene Z, Abdelwuhab M, Birhanu Z. Methanolic leaf exctract of Otostegia integrifolia Benth reduces blood glucose levels in diabetic, glucose loaded and normal rodents. BMC Complement Altern Med. 2015;15: 19.

Shibata T, Takeuchi S, Yokota S, Kakimoto K, Yonemori F, Wakitani K. Effects of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and -gamma agonist, JTT-501, on diabetic complications in Zucker diabetic fatty rats. Br J Pharmacol. 2000;130(3): 495-504.

Shin SJ, Chung S, Kim SJ, Lee E-M, Yoo Y-H, Kim J-W, Ahn Y-B, Kim E-S, Moon S-D, Kim M-J, Ko S-H. Effect of Sodium-Glucose Co-Transporter 2 Inhibitor, Dapagliflozin, on Renal Renin-Angiotensin System in an Animal Model of Type 2 Diabetes. PLoS One. 2016;11(11): e0165703.

Shyangdan DS, Royle P, Clar C, Sharma P, Waugh N, Snaith A. Glucagon-like peptide analogues for type 2 diabetes mellitus. Cochrane Database Syst Rev. 2011;(10): Cd006423.

Smith R. Animal research: the need for a middle ground. Bmj. 2001;322(7281): 248-249.

Solberg DH, Diamond JM. Comparison of different dietary sugars as inducers of intestinal sugar transporters. Am J Physiol. 1987;252(4 Pt 1): G574-584.

Soleimani Farsani M, Behbahani M, Isfahani HZ. The Effect of Root, Shoot and Seed Extracts of The Iranian Thymus L. (Family: Lamiaceae) Species on HIV-1 Replication and CD4 Expression. Cell J. 2016;18(2): 255-261.

Soliman MM, Abdo Nassan M, Ismail TA. Origanum Majoranum Extract Modulates Gene Expression, Hepatic and Renal Changes in a Rat Model of Type 2 Diabetes. Iranian Journal of Pharmaceutical Research : IJPR. 2016;15(Suppl): 45-54.

Song XM, Fiedler M, Galuska D, Ryder JW, Fernstrom M, Chibalin AV, Wallberg-Henriksson H, Zierath JR. 5-Aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleoside treatment improves glucose homeostasis in insulin-resistant diabetic (ob/ob) mice. Diabetologia. 2002;45(1): 56-65.

Srinivasan K, Ramarao P. Animal models in type 2 diabetes research: an overview. Indian J Med Res. 2007;125(3): 451-472.

Stefan N, Haring HU. The role of hepatokines in metabolism. Nat Rev Endocrinol. 2013;9(3): 144-152.

Stephen Irudayaraj S, Christudas S, Antony S, Duraipandiyan V, Naif Abdullah AD, Ignacimuthu S. Protective effects of Ficus carica leaves on glucose and lipids levels, carbohydrate metabolism enzymes and beta-cells in type 2 diabetic rats. Pharm Biol. 2017;55(1): 1074-1081.

Sugumar M, Doss DVA, Maddisetty PNP. Hepato-renal protective effects of hydroethanolic extract of Senna alata on enzymatic and nonenzymatic antioxidant systems in streptozotocin induced diabetic rats. Integr Med Res. 2016;5(4): 276-283.

Sundaram R, Naresh R, Ranadevan R, Shanthi P, Sachdanandam P. Effect of iridoid glucoside on streptozotocin induced diabetic rats and its role in regulating carbohydrate metabolic enzymes. Eur J Pharmacol. 2012;674(2-3): 460-467.

Surwit RS, Feinglos MN, Rodin J, Sutherland A, Petro AE, Opara EC, Kuhn CM, Rebuffe-Scrive M. Differential effects of fat and sucrose on the development of obesity and diabetes in C57BL/6J and A/J mice. Metabolism. 1995;44(5): 645-651.

Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. Physiol Res. 2001;50(6): 537-546.

Tabatabai NM, Sharma M, Blumenthal SS, Petering DH. Enhanced expressions of sodium-glucose cotransporters in the kidneys of diabetic Zucker rats. Diabetes Res Clin Pract. 2009;83(1): e27-30.

Temneanu OR, Trandafir LM, Purcarea MR. Type 2 diabetes mellitus in children and adolescents: a relatively new clinical problem within pediatric practice. Journal of Medicine and Life. 2016;9(3): 235-239.

Tirone TA, Brunicardi FC. Overview of glucose regulation. World J Surg. 2001;25(4): 461-467.

Tohidi B, Rahimmalek M, Arzani A. Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of Thymus species collected from different regions of Iran. Food Chem. 2017;220: 153-161.

Tokuyama Y, Sturis J, DePaoli AM, Takeda J, Stoffel M, Tang J, Sun X, Polonsky KS, Bell GI. Evolution of beta-cell dysfunction in the male Zucker diabetic fatty rat. Diabetes. 1995;44(12): 1447-1457.

Tovchiga OV. The influence of goutweed (Aegopodium podagraria L.) tincture and metformin on the carbohydrate and lipid metabolism in dexamethasone-treated rats. BMC Complement Altern Med. 2016;16: 235.

Turkkan A, Savas HB, Yavuz B, Yigit A, Uz E, Bayram NA, Kale B. The prophylactic effect of Viscum album in streptozotocin-induced diabetic rats. Northern Clinics of Istanbul. 2016;3(2): 83-89.

Turner RC, Cull CA, Frighi V, Holman RR. Glycemic control with diet, sulfonylurea, metformin, or insulin in patients with type 2 diabetes mellitus: progressive requirement for multiple therapies (UKPDS 49). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. JAMA. 1999;281(21): 2005-2012.

UKPDS. UKPDS 28: a randomized trial of efficacy of early addition of metformin in sulfonylurea-treated type 2 diabetes. . Diabetes Care. 1998;21(1): 87-92.

Uldry M, Ibberson M, Hosokawa M, Thorens B. GLUT2 is a high affinity glucosamine transporter. FEBS Lett. 2002;524(1-3): 199-203.

Utzschneider KM, Tong J, Montgomery B, Udayasankar J, Gerchman F, Marcovina SM, Watson CE, Ligueros-Saylan MA, Foley JE, Holst JJ, Deacon CF, Kahn SE. The dipeptidyl peptidase-4 inhibitor vildagliptin improves beta-cell function and insulin sensitivity in subjects with impaired fasting glucose. Diabetes Care. 2008;31(1): 108-113.

Vallon V, Gerasimova M, Rose MA, Masuda T, Satriano J, Mayoux E, Koepsell H, Thomson SC, Rieg T. SGLT2 inhibitor empagliflozin reduces renal growth and albuminuria in proportion to hyperglycemia and prevents glomerular hyperfiltration in diabetic Akita mice. Am J Physiol Renal Physiol. 2014;306(2): F194-204.

Vallon V, Platt KA, Cunard R, Schroth J, Whaley J, Thomson SC, Koepsell H, Rieg T. SGLT2 mediates glucose reabsorption in the early proximal tubule. J Am Soc Nephrol. 2011;22(1): 104-112.

Vallon V. The mechanisms and therapeutic potential of SGLT2 inhibitors in diabetes mellitus. Annu Rev Med. 2015;66: 255-270.

Van de Laar FA, Lucassen PL, Akkermans RP, Van de Lisdonk EH, Rutten GE, Van Weel C. Alpha-glucosidase inhibitors for type 2 diabetes mellitus. Cochrane Database Syst Rev. 2005;(2): Cd003639.

Vazquez M, Merlos M, Adzet T, Laguna JC. Decreased susceptibility to copper-induced oxidation of rat-lipoproteins after fibrate treatment: influence of fatty acid composition. Br J Pharmacol. 1996;117(6): 1155-1162.

Vestergaard H. Studies of gene expression and activity of hexokinase, phosphofructokinase and glycogen synthase in human skeletal muscle in states of altered insulin-stimulated glucose metabolism. Dan Med Bull. 1999;46(1): 13-34.

Vestri S, Okamoto MM, de Freitas HS, Aparecida Dos Santos R, Nunes MT, Morimatsu M, Heimann JC, Machado UF. Changes in sodium or glucose filtration rate modulate expression of glucose transporters in renal proximal tubular cells of rat. J Membr Biol. 2001;182(2): 105-112.

Vilsboll T, Rosenstock J, Yki-Jarvinen H, Cefalu WT, Chen Y, Luo E, Musser B, Andryuk PJ, Ling Y, Kaufman KD, Amatruda JM, Engel SS, Katz L. Efficacy and safety of sitagliptin when added to insulin therapy in patients with type 2 diabetes. Diabetes Obes Metab. 2010;12(2): 167-177.

von Herrath M, Filippi C, Coppieters K. How viral infections enhance or prevent type 1 diabetes-from mouse to man. J Med Virol. 2011;83(9): 1672.

von Herrath M, Nepom GT. Animal models of human type 1 diabetes. Nat Immunol. 2009;10(2): 129-132.

von Herrath MG, Homann D, Gairin JE, Oldstone MB. Pathogenesis and treatment of virus-induced autoimmune diabetes: novel insights gained from the RIP-LCMV transgenic mouse model. Biochem Soc Trans. 1997;25(2): 630-635.

Vrhovac I, Balen Eror D, Klessen D, Burger C, Breljak D, Kraus O, Radovic N, Jadrijevic S, Aleksic I, Walles T, Sauvant C, Sabolic I, Koepsell H. Localizations of Na(+)-D-glucose cotransporters SGLT1 and SGLT2 in human kidney and of SGLT1 in human small intestine, liver, lung, and heart. Pflugers Arch. 2015;467(9): 1881-1898.

Walder K, Kantham L, McMillan JS, Trevaskis J, Kerr L, De Silva A, Sunderland T, Godde N, Gao Y, Bishara N, Windmill K, Tenne-Brown J, Augert G, Zimmet PZ, Collier GR. Tanis: a link between type 2 diabetes and inflammation? Diabetes. 2002;51(6): 1859-1866.

Wang D, Zhao X, Liu Y. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of a polysaccharide from flower buds of Lonicera japonica in streptozotocin-induced diabetic rats. Int J Biol Macromol. 2017;102: 396-404.

Wang J, Wan R, Mo Y, Zhang Q, Sherwood LC, Chien S. Creating a long-term diabetic rabbit model. Exp Diabetes Res. 2010;2010: 289614.

Watanabe J, Kawabata J, Kurihara H, Niki R. Isolation and identification of alpha-glucosidase inhibitors from tochu-cha (Eucommia ulmoides). Biosci Biotechnol Biochem. 1997;61(1): 177-178.

Watson RT, Kanzaki M, Pessin JE. Regulated membrane trafficking of the insulin-responsive glucose transporter 4 in adipocytes. Endocr Rev. 2004;25(2): 177-204.

Weber AE. Dipeptidyl peptidase IV inhibitors for the treatment of diabetes. J Med Chem. 2004;47(17): 4135-4141.

Whitmer RA, Karter AJ, Yaffe K, Quesenberry CP, Jr., Selby JV. Hypoglycemic episodes and risk of dementia in older patients with type 2 diabetes mellitus. JAMA. 2009;301(15): 1565-1572.

Willemen MJ, Mantel-Teeuwisse AK, Straus SM, Meyboom RH, Egberts TC, Leufkens HG. Use of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and the reporting of infections: a disproportionality analysis in the World Health Organization VigiBase. Diabetes Care. 2011;34(2): 369-374.

Wisniewski JR, Friedrich A, Keller T, Mann M, Koepsell H. The impact of high-fat diet on metabolism and immune defense in small intestine mucosa. J Proteome Res. 2015;14(1): 353-365.

Wright EM, Loo DD, Hirayama BA. Biology of human sodium glucose transporters. Physiol Rev. 2011;91(2): 733-794.

Wu J, Yan L-J. Streptozotocin-induced type 1 diabetes in rodents as a model for studying mitochondrial mechanisms of diabetic β cell glucotoxicity. Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy. 2015;8: 181-188.

Wu Z, Xie Y, Morrison RF, Bucher NL, Farmer SR. PPARgamma induces the insulin-dependent glucose transporter GLUT4 in the absence of C/EBPalpha during the conversion of 3T3 fibroblasts into adipocytes. J Clin Invest. 1998;101(1): 22-32.

Xiong Y, Lei QY, Zhao S, Guan KL. Regulation of Glycolysis and Gluconeogenesis by Acetylation of PKM and PEPCK. Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology. 2011;76: 285-289.

Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, Ide T, Murakami K, Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O, Akanuma Y, Gavrilova O, Vinson C, Reitman ML, Kagechika H, Shudo K, Yoda M, Nakano Y, Tobe K, Nagai R, Kimura S, Tomita M, Froguel P, Kadowaki T. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. Nat Med. 2001;7(8): 941-946.

Yang Q, Graham TE, Mody N, Preitner F, Peroni OD, Zabolotny JM, Kotani K, Quadro L, Kahn BB. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. Nature. 2005;436(7049): 356-362.

Yin M, Zhou J, Gorak EJ, Quddus F. Metformin is associated with survival benefit in cancer patients with concurrent type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. Oncologist. 2013;18(12): 1248-1255.

Yokoi N, Fujiwara Y, Wang HY, Kitao M, Hayashi C, Someya T, Kanamori M, Oiso Y, Tajima N, Yamada Y, Seino Y, Ikegami H, Seino S. Identification and functional analysis of CBLB mutations in type 1 diabetes. Biochem Biophys Res Commun. 2008;368(1): 37-42.

Yoon JW, Jun HS. Viruses in type 1 diabetes: brief review. Ilar j. 2004;45(3): 343-348.

Yoshida K, Hishida A, Iida O, Hosokawa K, Kawabata J. Flavonol Caffeoylglycosides as alpha-Glucosidase Inhibitors from Spiraea cantoniensis Flower. J Agric Food Chem. 2008;56(12): 4367-4371.

Yoshida S, Tanaka H, Oshima H, Yamazaki T, Yonetoku Y, Ohishi T, Matsui T, Shibasaki M. AS1907417, a novel GPR119 agonist, as an insulinotropic and beta-cell preservative agent for the treatment of type 2 diabetes. Biochem Biophys Res Commun. 2010;400(4): 745-751.

Yoshikawa M, Murakami T, Yashiro K, Matsuda H. Kotalanol, a potent alpha-glucosidase inhibitor with thiosugar sulfonium sulfate structure, from antidiabetic ayurvedic medicine Salacia reticulata. Chem Pharm Bull (Tokyo). 1998;46(8): 1339-1340.

Yucel E, Guney F, Yucel Sengun I. The wild plants consumed as a food in Mihalıççık district (Eskişehir:Turkey) and consumption forms of these plants. Biological Diversity and Conservation. 2010;3(3): 158-175.

Zambrowicz B, Ding ZM, Ogbaa I, Frazier K, Banks P, Turnage A, Freiman J, Smith M, Ruff D, Sands A, Powell D. Effects of LX4211, a dual SGLT1/SGLT2 inhibitor, plus sitagliptin on postprandial active GLP-1 and glycemic control in type 2 diabetes. Clin Ther. 2013;35(3): 273-285.e277.

Zhang BB, Zhou G, Li C. AMPK: an emerging drug target for diabetes and the metabolic syndrome. Cell Metab. 2009;9(5): 407-416.

Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature. 1994;372(6505): 425-432.

Zhao G, Dharmadhikari G, Maedler K, Meyer-Hermann M. Possible role of interleukin-1beta in type 2 diabetes onset and implications for anti-inflammatory therapy strategies. PLoS Comput Biol. 2014;10(8): e1003798.

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Muhammet Emin	**Soyadı**	ÇAM
Doğum Yeri	Fatih/İSTANBUL	**Doğum Tarihi**	20/09/1990
Uyruğu	T.C.	**Tel**	+905426877684
E-mail	muhammet.cam@marmara.edu.tr		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mezuniyet Yılı**
Doktora/Uzmanlık	Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji ABD	2017
Yüksek Lisans	-	-
Lisans	Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2012
Lise	Maltepe Coşkun Fen Lisesi	2007

İş Deneyimi

Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
Araştırma Görevlesi	Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji ABD.	2016-
Öğretim Görevlisi	Biruni Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu	2015-2015

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***
İngilizce	İyi	İyi	İyi

Yabancı Dil Sınav Notu #								
YDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
62.50	-	6.0	-	-	-	-	-	-

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
ALES Puanı	92.00		
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanma becerisi**
İyi	İyi

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendiriniz.

EK : Diğer Bilimsel faaliyetler (yayın, kongre bildirisi vs.)

Ek 1. Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu Karar Formu

MARMARA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

PROJE ONAY FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	**PROTOKOL KODU**	098.2016.mar	**ÇALIŞMA:** BİLİMSEL
	PROJE ADI	Bazı Geleneksel Tıbbi Bitkilerin Antidiyabetik Etkinliği ve Etki Mekanizmasının Aydınlatılması	
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ ADI	Prof. Dr. Levent KABASAKAL	
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	DEHAMER	
	DESTEKLEYİCİ		
KARAR BİLGİLERİ	**TARİH: 03.10.2016** Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığı için kurulumuzca onaylanmasına oy birliği ile karar verilmiştir. Onay sonrasında yapılacak her türlü proje değişiklikleri (katılımcılar, başlık vb.) veya protokol değişikliklerinin Etik Kurula bildirilerek proje onayının yenilenmesi gerekmektedir.		
ETİK KURUL BİLGİLERİ			
ÇALIŞMA ESASI	Deney hayvanları ile yapılacak olan bilimsel araştırma, test, sağlık hizmetleri uygulamaları ve eğitim-öğretim gibi temel etkinliklerde kullanılan yöntem ve materyaller ile ilgili etik standartları gözetmek, etik ilkeler doğrultusunda görüş bildirmek, araştırma önerilerini incelemek ve sertifikası olmayanların deney hayvanı kullanmalarını engellemektir.		

ÜYELER

Ünvanı/ Adı/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu/ Ek Üyeliği	Onaylanan Proje ile İlişkisi	Toplantıya Katılım	İmza
Prof.Dr. Göksel ŞENER	Farmakoloji	M.Ü. Eczacılık Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Başkanı	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Levent KABASAKAL	Farmakoloji	M.Ü. Eczacılık Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	Araştırmacı
Prof.Dr. Ayşen YARAT	Biyokimya	M.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Serap ŞİRVANCI	Histoloji Embriyoloji ABD	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Rezzan GÜLHAN	Farmakoloji	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Doç.Dr. Gürkan SERT	Tıp Tarihi ve Etik	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Vet. Dr. Dilek ÖZBEYLİ	Veteriner Hekim	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Bio. Arif GÜMÜŞ	Biyoloji	Sivil Toplum Kuruluşu Üyesi ve Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var Yok	Evet Hayır	
Cihanşah MURATOĞLU	Serbest Danışmanlık	Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var Yok	Evet Hayır	