TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TİP 2 DİABETES MELLİTUS MODELİ OLUŞTURULAN SIÇANLARDA TIBBİ GELENEKSEL BİTKİLERİN ANTİDİYABETİK ETKİNLİĞİ VE ETKİ MEKANİZMASININ AYDINLATILMASI

SİNAN ŞERMET

DOKTORA TEZİ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. HATİCE KÜBRA ELÇİOĞLU

2022-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 çalışması ile elde edilmemiş 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.

Sinan ŞERMET

İmza

TEŞEKKÜR

En başta T.C. İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde lisans eğitimimi tamamladıktan hemen sonra geldiğim T.C. Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda tanıdığım ilk akademisyen ve uzun yıllar sonra Doktora Tez danışmanım olan, engin bilgisi ve tecrübesi ile elimden tutan, çalışkanlığı ve titizliği ile bana harika bir örnek olan ve beni elinden gelen en iyi şekilde yetiştiren, bana bir anne sevgisi ve şefkati ile yaklaşan çok değerli Doktora Tez danışmanım T.C. Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanı ve T.C. Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Hatice Kübra ELÇİOĞLU'na,

Uzun yıllardır tanıdığım, bana bir baba şefkati ile yaklaşan, akademik çalışmalarımızı en iyi, en doğru ve en başarılı biçimde tamamlamamızı sağlayan, bizleri en başta her işimizi en iyi şekilde yapmamız olmak üzere her konuda destekleyen çok değerli hocam T.C. Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Levent KABASAKAL'a,

Bir akademisyenin nasıl olması gerektiğini, her yaptığımız çalışmanın, işin layığıyla yapılmasını bana bir kez daha aşılayan, engin bilgi ve tecrübesinden her zaman yararlandığım, bizi akademik çalışmalarımızı en iyi, doğru ve kaliteli biçimde yapmamız açısından yönlendiren çok değerli hocam T.C. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü ve T.C. Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU'na

Çok uzun yıllardır tanıdığım, Farmakoloji Tezli Yüksek Lisans ve Farmakoloji Doktora eğitimlerim süresince engin bilgisinden elimden geldiğince yararlanmaya çalıştığım, varlığı ve yönlendirmeleri, azmi ve çalışkanlığı ile bana hayallerimin peşinden koşmam konusunda güç veren değerli hocam T.C. Fenerbahçe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Göksel ŞENER'e,

Bana her zaman destek olan, yüreklendiren, beni engin bilgi ve tecrübesiyle en iyi biçimde yönlendiren ve benim için, biz genç akademisyen adayları ve öğrencileri için her zaman en iyisini isteyen ve o şekilde yol gösteren değerli hocam T.C. Medipol Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanı ve T.C. Medipol Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Toksikoloji Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. Gülden Zehra OMURTAG'a,

Öz kardeşimden ayırmadığım o derece sevip, saydığım çok değerli bir hoca olmasının yanında ömrüm boyunca sahip olduğum en değerli dostlarımdan biri olan, adeta ikinci Doktora Tez danışmanım gibi tez çalışmalarıma yön veren ve bana engin bilgisi ve tecrübesi ile çok şey öğreten ömrümün sonuna kadar yanında olacağım ve İnşallah ileride birlikte çok iyi ve başarılı çalışmalara imza atacağımıza inandığım değerli hocam ve kıymetli dostum T.C. Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Muhammet Emin ÇAM'a,

Başta laboratuvar çalışmalarımda, deneylerimde ve diğer her konuda bana yardımcı olan beni en iyi şekilde yönlendiren, destekleyen, derin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım T.C. Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim görevlisi Araş. Gör. Ayşe Nur HAZAR YAVUZ, Dr. Öğr. Üyesi Büşra ERTAŞ ve Farmakoloji Doktora öğrencisi Ece GÜLER'e,

Bitki ekstrelerinin hazırlanması ile ilgili her sorumu titizlikle ve sabırla yanıtlayan, bana her zaman yardımcı ve destek olan derin bilgi ve tecrübesinden her zaman yararlandığım kıymetli hocam T.C. Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Turgut TAŞKIN'a ve titizlikle ve detaylı biçimde histolojik analizlerde katkıda bulunan T.C. Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kök Hücre ve Gen Tedavisi Araştırma ve Uygulama Merkezi Kök Hücre Anabilim Dalı'ndan Gül Sinemcan KABATAŞ ve Prof. Dr. Yusufhan YAZIR'a,

Benim için çok değerli örnekler olan, kendilerinden ve derin bilgi ve tecrübelerinden çok şey öğrendiğim, lisansüstü eğitimimin her aşamasında benim yanımda olan ve beni her konuda destekleyen T.C. Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı eski başkanları ve emekli öğretim üyeleri, çok değerli hocalarım Prof. Dr. Gül AYANOĞLU DÜLGER ve Meral KEYER UYSAL'a, çok uzun yıllardır tanıdığım, ilk hayalim olan ve en iyi, en kaliteli, başarılı ve üretken bir örneği olmak için var gücümle çalıştığım akademisyenlik yolunda bana harika birer örnek teşkil eden, gurur duyduğum canım ablam ve canım abim, çok değerli hocalarım University of Central Florida'dan Doç. Dr. Hale Zerrin VALLANDINGHAM ve Yakın Doğu Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Ahmet Özer ŞEHİRLİ'ye, ilk bilimsel makalelerimi birlikte yazdığım Farmakoloji Yüksek Lisans Tez danışmanım T.C. Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Farmakoloji Bilim Dalı eski başkanı ve emekli öğretim üyesi Prof. Dr. Şükran ATAMER-ŞİMŞEK'e ve T.C. Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Farmakoloji Bilim Dalı Dr. Öğr. Üyesi Müşerref Asuman AKGÜN'e,

Hayatımın her anında benim yanımda olan, bana karşılıksız sevgiyi öğreten, benim için her zaman, her şeyin en iyisini isteyen ve bunun için yılmadan emek veren, benim içimdeki potansiyelimi en iyi şekilde ortaya çıkarmam ve hayallerimin peşinden gitmem için varlıkları ve destekleriyle sonsuz cesaret veren canım babam Behçet ŞERMET, canım annem İnci ŞERMET, canım kız kardeşim Selen ŞİRİNCE ve eşi, canım erkek kardeşim Anıl ŞİRİNCE ve hayattaki en iyi arkadaşlarım, en yakın dostlarım olan Serkan HANECİ ve eşi Nevin HANECİ, Emrah GÜLEÇ ve eşi Fatma GÜLEÇ, Berk ZAFER, Elif BÜYÜK ve eşi Ali Kemal BÜYÜK, Cihan GIRCIÇ, Mehmet Gökhan DEMİR ve Orhan KOÇ'a sonsuz teşekkür eder, buradan da bir kez daha yüz yüze kendilerine söylediğim gibi ömrümün sonuna kadar elimden gelen her konuda ve her zaman yanlarında olacağımı bilmelerini isterim.

Bu çalışma Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince Desteklenmiştir. Proje Numarası: TDK-2021-10091

İÇİNDEKİLER

BEYAN i
TEŞEKKÜR ii
İÇİNDEKİLER iv
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ viii
TABLO LİSTESİ x
ŞEKİL LİSTESİ xi
RESİM LİSTESİ xii
1. ÖZET 1
2. SUMMARY 2
3. GİRİŞ VE AMAÇ 3
4. GENEL BİLGİLER 5
4.1. Diabetes Mellitus Tanımı 5
4.2. Diabetes Mellitus Etiyolojisi 6
4.3. Diabetes Mellitus Tanısı 6
4.4. Diabetes Mellitus Tipleri 8
4.4.1. Tip 1 diabetes mellitus 9
4.4.2. Tip 2 diabetes mellitus 10
4.4.3. Gestasyonel diabetes mellitus 12
4.4.4. Diğer spesifik nedenlere bağlı diabetes mellitus 12
4.5. Prediyabet 14
4.6. Metabolik Sendrom 15
4.7. Diabetes Mellitus Komplikasyonları 16
4.7.1. Diyabetin akut (metabolik) komplikasyonları 17
4.7.2. Diyabetik kronik (dejeneratif) komplikasyonlar 19
4.7.2.1. Diyabetik mikrovasküler komplikasyonlar 21
4.7.2.1.1. Diyabetik retinopati 21
4.7.2.1.2. Diyabetik nefropati 22
4.7.2.1.3. Diyabetik nöropati 23
4.7.2.2. Diyabetik makrovasküler komplikasyonlar 24
4.7.2.2.1. Diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar 24

4.7.2.2.2. Diyabet ve serebrovasküler hastalıklar 26
4.7.2.2.3. Diyabet ve periferik damar hastalıkları 26
4.7.3. Diyabet ve merkezi sinir sistemi hastalıkları 26
4.8. Diabetes Mellitus Tedavisi ve Korunma 27
4.8.1. Diyabet tedavisinde kullanılan ilaçlar 28
4.8.1.1 İnsülin 29
4.8.1.1.1. İnsülin türleri, insülin preparatları ve uygulanmaları 31
4.8.1.1.2. Regüler ve modifiye edilmiş insülin preparatları ve uygulanmaları 31
4.8.1.1.3. İnsülin analogları 32
4.8.1.1.4. İnsülin preparatlarının etki sürelerine göre sınıflandırılması 32
4.8.1.1.5. İnsülin tedavisinin yan etkileri 33
4.8.2. Oral antidiyabetikler ve insülin-dışı diğer ilaçlar 34
4.8.2.1. İnsülin salgılatıcılar (sekretagoglar) 34
4.8.2.2. İnsüline duyarlılaştırıcılar 36
4.8.2.3 α-glukozidaz inhibitörleri 38
4.8.2.4 İnkretin-mimetikler 38
4.8.2.5 Sodyum glukoz transporter-2 inhibitörleri (SGLT-2 inhibitörleri) 39
4.8.2.6. Kan glukozunu düşüren diğer ilaçlar 40
4.8.2.7. Kombinasyon tedavisi 40
4.8.3. Diyabette ilaç dışı tedavi yaklaşımları 41
4.8.4. Diyabet tedavisinde bitkilerin kullanımı 42
4.8.4.1. *Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *brachycalyx* P.H.Davis 43
4.8.4.2. *Teucrium polium* L. 44
4.9. Diabetes Mellitus Hayvan Deneyi Modelleri 46
4.9.1. Tip 1 diabetes mellitus hayvan deneyi modelleri 46
4.9.2. Tip 2 diabetes mellitus hayvan deneyi modelleri 46
4.9.3. Deneysel diyabet modeli oluşturmak amacıyla streptozotosin ve alloksan'ın kullanımı ve bu kimyasal ajanların etki mekanizmaları 47
4.9.4. Deneysel diyabet modeli oluşturmak amacıyla yüksek enerji içerikli/yüksek yağlı diyet uygulanması 52
4.9.5. Deneysel diyabet modeli oluşturmak amacıyla streptozotosin ve nikotinamid (STZ+NA) enjeksiyonu uygulanması 53

4.10. Biyokimyasal Analiz İle Aktivitelerine Bakılacak Yapılar 54
4.10.1. İnsülin 54
4.10.2. Tümör nekroz faktör-alfa (TNF-α) 55
4.10.3. Glukoz transporter-2 (GLUT-2) 55
4.10.4. Sodyum glukoz ko-transporter-2 (SGLT-2) 56
4.10.5. Peroksizom proliferatör aktive edici reseptör gama (PPAR-γ) 56
4.10.6. Glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) 57
5. GEREÇ VE YÖNTEM 58
5.1. Bitki Materyali 58
5.2. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması 58
5.3. Kullanılan Deney Hayvanları 59
5.3.1. Deney hayvanlarında bitki ekstrelerinin hipoglisemik etkilerinin ve bitki ekstrelerinin dozlarının belirlenmesi 59
5.3.2. Deney hayvanlarında tip 2 DM modelinin oluşturulması 60
5.3.3. Deney hayvanlarının deney protokolüne göre gruplara ayrılması 61
5.3.4. Deney hayvanlarının ağırlık ve kan glukozu ölçümleri 61
5.3.5. Deney hayvanlarına OGTT uygulanması 62
5.3.6. Deney hayvanlarına ITT uygulanması 62
5.3.7. Deney hayvanlarının tedavilerinin tamamlanmasını takiben hayvan deneyi aşamasının sonlandırılması 63
5.4. Biyokimyasal Parametrelerin Analizi 64
5.4.1. Standart çözeltinin ve reaktiflerin hazırlanması 65
5.4.2. Örneklerin hazırlanması 66
5.4.3. Örnek, antikor ve streptavidinin kuyulara konulması 66
5.4.4. Yıkama 66
5.4.5. Kromojen (renklendiricilerin) ilave edilmesi 66
5.4.6. Durdurma çözeltisinin eklenmesi 67
5.4.7. Ölçüm 67
5.5. Histolojik Analizlerin Yapılması 67
5.6. Kullanılan Kimyasallar 67
5.7. Kullanılan Cihazlar 68
5.8. İstatistiksel Analizler 68

6. BULGULAR 69

6.1. Tip 2 DM Modeli Oluşturulmamış Deney Hayvanlarında Bitki Ekstrelerinin Hipoglisemik Etkilerinin ve Bitki Ekstrelerinin Dozunun Belirlenmesi İçin Yapılan OGTT Çalışmasının Sonuçları 69

6.2. Deney Hayvanlarının Deney Protokolüne Göre Gruplara Ayrılması ve Tedavilerinin Başlatılması 71

6.3. MF, TP ve EM'nin Deney Hayvanlarında Vücut Ağırlığı ve Kan Glukozu Düzeyleri Üzerine Etkileri 71

6.3.1. MF, TP ve EM'nin deney hayvanlarında vücut ağırlığı üzerine etkileri 71

6.3.2. MF, TP ve EM'nin deney hayvanlarında kan glukozu düzeyleri üzerine etkileri 72

6.4. MF, TP ve EM'nin Deney Hayvanlarında OGTT ve ITT Üzerine Etkileri 73

6.4.1. MF, TP ve EM'nin deney hayvanlarında OGTT üzerine etkileri 73

6.4.2. MF, TP ve EM'nin deney hayvanlarında ITT üzerine etkileri 75

6.5. MF, TP ve EM ile 21 Günlük Tedavinin Deney Hayvanlarından Elde Edilen Serum ve Doku Örnekleri Üzerine Etkileri 76

6.5.1. MF, TP ve EM ile 21 günlük tedavinin insülin seviyeleri üzerine etkileri 76

6.5.2. MF, TP ve EM ile 21 günlük tedavinin TNF-α seviyeleri üzerine etkileri 77

6.5.3. MF, TP ve EM ile 21 günlük tedavinin GLUT-2 seviyeleri üzerine etkileri 79

6.5.4. MF, TP ve EM ile 21 günlük tedavinin SGLT-2 seviyeleri üzerine etkileri 79

6.5.5. MF, TP ve EM ile 21 günlük tedavinin PPAR-γ seviyeleri üzerine etkileri 80

6.5.6. MF, TP ve EM ile 21 günlük tedavinin GLP-1 seviyeleri üzerine etkileri 81

6.6. MF, TP ve EM (Pozitif Kontrol grubu) ile 21 Günlük Tedavinin Deney Hayvanlarında Karaciğer, Pankreas ve Böbrek Dokularının Histolojisi Üzerine Etkileri 83

7. TARTIŞMA VE SONUÇ 86

8. KAYNAKLAR 96

9. EKLER 118

Ek: Etik Kurul Onayı 118

10. ÖZGEÇMİŞ 119

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

ANOVA: Varyans analizi

ASKVH: Aterosklerotik kardiyovasküler hastalık

DM: Diabetes mellitus

DM grubu: Streptozotosin/nikotinamid ile indüklenen tip 2 diabetes mellitus modeli oluşturulan ve salin (10 mg/5 ml/kg/gün, i.g.) uygulanan sıçanlardan oluşturulan grup

DM+EM: Streptozotosin/nikotinamid ile indüklenen tip 2 diabetes mellitus modeli oluşturulan ve 21 gün empagliflozin tedavisi (10 mg/kg/gün, i.g.) uygulanan sıçanlardan oluşturulan grup

DM+MF: Streptozotosin/nikotinamid ile indüklenen tip 2 diabetes mellitus modeli oluşturulan ve 21 gün *Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *brachycalyx* P.H.Davis metanol ekstresi tedavisi (200 mg/kg, i.g.) uygulanan sıçanlardan oluşturulan grup

DM+TP: Streptozotosin/nikotinamid ile indüklenen tip 2 diabetes mellitus modeli oluşturulan ve 21 gün *Teucrium polium* L. metanol ekstresi tedavisi (200 mg/kg, i.g.) uygulanan sıçanlardan oluşturulan grup

DN: Diyabetik nöropati

DPP-4: Dipeptidil peptidaz-4

ELISA: Enzim-bağlı immünosorbent analiz

EM: Empagliflozin

GIP: Glukoz-bağımlı insülinotropik peptid

GLP-1: Glukagon benzeri peptid-1

GLUT: Kolaylaştırılmış diffüzyon glukoz taşıyıcısı

H&E: Hematoksilin ve eosin

ITT: İnsülin tolerans testi

i.g.: İntragastrik

i.m.: İntramüsküler

i.p.: İntraperitoneal

i.v.: İntravenöz

K: Kontrol grubu

KKY: Konjestif kalp yetmezliği

MF: *Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *brachycalyx* P.H.Davis metanol ekstresi

NA: Nikotinamid

NAD: Nikotinamid adenin dinükleotid

NADPH: İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat

OGTT: Oral glukoz tolerans testi

PDH: Periferik damar hastalıkları

PPAR-γ: Peroksizom proliferatör-aktive edici reseptör gama

s.c.: Subkütan

SEM: Ortalama standart hata

SGLT: Sodyum-glukoz ko-transporter

STZ: Streptozotosin

T1DM: Tip 1 Diabetes Mellitus

T2DM: Tip 2 Diabetes Mellitus

TNF-α: Tümör nekröz faktör-alfa

TP: *Teucrium polium* L. metanol ekstresi

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Diabetes mellitus için tanı kriterleri 8

Tablo 2. En sık görülen diyabet tipleri olan tip 1 ve tip 2 diabetes mellitus arasındaki farklar 12

Tablo 3. Diabetes mellitusun etiyolojik sınıflandırılması 13

Tablo 4. Prediyabet tanısı 14

Tablo 5. Metabolik sendromun uyumlu hale getirilmiş tanımı 15

Tablo 6. İnsülin'in bazı temel metabolik olaylar üzerindeki etkileri 31

Tablo 7. İnsüline zıt yönde etki yapan (anti-insülinik) hormonların insandaki olası etkileri 31

Tablo 8. İnsülin ve insülin analoglarının farmakodinamik, farmakokinetik ve yapısal özellikleri 33

Tablo 9. Tip 1 ve tip 2 DM oluşturmak için fare ve sıçanlarda alloksan ve streptozotosin (STZ)'nin kullanım şekilleri ve dozları 52

RESİM LİSTESİ

Resim 1. *Micromeria fruticosa* subsp. *brachycalyx* 44

Resim 2. *Teucrium polium* 45

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Bitki ekstrelerinin hipoglisemik etkilerinin ve dozlarının belirlenmesi için yapılan OGTT sonuçları 70
Şekil 2. Deney hayvanlarının haftalık ağırlık ölçüm verileri 72
Şekil 3. Deney hayvanlarının haftalık kan glukozu ölçüm verileri 73
Şekil 4. Deney hayvanlarının OGTT ölçüm verileri 74
Şekil 5. Deney hayvanlarının ITT ölçüm verileri 76
Şekil 6. MF, TP ve EM ile 21 günlük tedavinin insülin seviyeleri üzerine etkileri 77
Şekil 7. MF, TP ve EM ile 21 günlük tedavinin TNF-α seviyeleri üzerine etkileri 78
Şekil 8. MF, TP ve EM ile 21 günlük tedavinin GLUT-2 seviyeleri üzerine etkileri 79
Şekil 9. MF, TP ve EM ile 21 günlük tedavinin SGLT-2 seviyeleri üzerine etkileri 80
Şekil 10. MF, TP ve EM ile 21 günlük tedavinin PPAR-γ seviyeleri üzerine etkisi 81
Şekil 11. MF, TP ve EM ile 21 günlük tedavinin GLP-1 seviyeleri üzerine etkisi 82
Şekil 12. Deney gruplarında karaciğer, pankreas ve böbrek korteksinin fotomikrografları 83

1. ÖZET

Tezin başlığı: Tip 2 Diabetes Mellitus Modeli Oluşturulan Sıçanlarda Tıbbi Geleneksel Bitkilerin Antidiyabetik Etkinliği ve Etki Mekanizmasının Aydınlatılması

Öğrencinin Adı, Soyadı: Sinan ŞERMET

Danışmanın Adı, Soyadı: Prof. Dr. Hatice Kübra ELÇİOĞLU

Anabilim Dalı: Farmakoloji (ECZACILIK) Anabilim Dalı

Amaç: Bu çalışmanın amacı *Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *brachycalyx* P.H.Davis ve *Teucrium polium* L. bitkilerinin metanol ekstrelerinin (MF ve TP) antidiyabetik etkinliklerinin ve etki mekanizmalarının aydınlatılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: Dişi erişkin Sprague Dawley sıçanlar (200-300 g) her bir grup 8 deney hayvanı içermek üzere 5 gruba ayrıldı ve deney hayvanlarında tip 2 diabetes mellitus (DM) modeli 100 mg/kg nikotinamid i.p. enjeksiyonundan 15 dakika sonra 55 mg/kg streptozotosin i.p. enjeksiyonu ile oluşturuldu ve deney hayvanlarının haftalık ağırlık ve kan glukozu ölçümleri ile oral glukoz tolerans testi ve insülin tolerans testi yapıldı. Bitki ekstrelerinin antidiyabetik etki mekanizmaları serum ve dokularda ELISA kitleri ile yapılan biyokimyasal analizlerle araştırıldı. Deney hayvanlarının karaciğer, pankreas ve böbrek dokuları üzerinde histolojik analizler yapıldı.

Bulgular: 21 günlük tedavi süresi sonunda MF ve TP, DM grubuna göre deney hayvanlarının kan glukozu düzeylerini belirgin derecede düşürdü. ELISA testlerinin sonuçları; MF'nin serum ve pankreasta insülin seviyelerini yükselttiğini, TNF-α seviyelerini düşürdüğünü, ileumda GLUT-2 seviyelerini düşürdüğünü, GLP-1 seviyelerini yükselttiğini ve böbrekte SGLT-2 seviyelerini düşürdüğünü, TP'nin serum ve pankreasta insülin seviyelerini yükselttiğini, serumda TNF-α seviyelerini düşürdüğünü, ileumda GLUT-2 ve böbrekte SGLT-2 seviyelerini düşürdüğünü gösterdi. Histolojik analizlerin sonucunda tedavi gruplarında karaciğer, pankreas ve böbrek dokularında DM grubuna göre düzelme saptandı.

Sonuç: MF ve TP'nin diyabet tedavisinde etkili olabileceğini düşünmekteyiz ancak bu konuda ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Tip 2 diabetes mellitus, *Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *brachycalyx* P.H.Davis, *Teucrium polium* L., antidiyabetik, bitkisel ilaçlar

2. SUMMARY

Title of Thesis: Elucidation of the Antidiabetic Efficacy and Mechanism of Action of Medicinal Traditional Plants in Rats with Type 2 Diabetes Mellitus Model

Student Name, Surname: Sinan ŞERMET

Supervisor Name: Prof. Dr. Hatice Kübra ELÇİOĞLU

Department: Department of Pharmacology (PHARMACY)

Objective: The aim of this study is to elucidate the antidiabetic effects and mechanisms of action of the methanolic extracts of *Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *brachycalyx* P.H.Davis and *Teucrium polium* L. plants (MF and TP).

Material and Methods: Female adult Sprague Dawley rats (200-300 g.) were divided into 5 groups of 8, type 2 diabetes mellitus (DM) model was induced by 55 mg/kg streptozotocin i.p. injection 15 minutes after 100 mg/kg nicotinamide i.p. injection and weight, blood glucose level measurements weekly and oral glucose tolerance test and insulin tolerance test of experimental animals were performed. Antidiabetic mechanisms of action of plant extracts were investigated by biochemical analyzes performed with ELISA kits in serum and tissues of the experimental animals. Histological analyzes on liver, pancreas and kidney tissues of the experimental animals were performed.

Results: At the end of the 21-day treatment period, MF and TP significantly decreased the blood glucose levels of the experimental animals compared to DM group. ELISA tests results showed that MF increased insulin levels, reduced TNF-α in serum and pancreas, reduced GLUT-2 levels, increased GLP-1 levels in ileum, reduced SGLT-2 levels in kidneys, TP increased insulin levels in serum and pancreas, reduced TNF-α levels in serum, decreased GLUT-2 levels in ileum, decreased SGLT-2 levels in kidneys. In the results of histological analyses improvements in liver, pancreas and kidney tissues in treatment groups compared to DM group were detected.

Conclusion: MF and TP may be effective in diabetes treatment, further studies are required on this subject.

Keywords: Type 2 diabetes mellitus, *Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *brachycalyx* P.H.Davis, *Teucrium polium* L., antidiabetic, medicinal plants

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Diabetes mellitus (DM); insülin salgılanmasındaki ve/veya insülin etkisindeki bozulmalar ile meydana gelen ve kronik hiperglisemi ile karakterize metabolik bir hastalıklar grubudur (Kharroubi ve Darwish, 2015). İnsülin eksikliği nedeniyle meydana gelen kronik hiperglisemi ve karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki bozukluklar, birlikte gözler, böbrekler, sinir ve damar sistemleri de dahil olmak üzere uzun vadede doku ve organ hasarına/disfonksiyonuna yani retinopati, nefropati, nöropati ve kardiyovasküler komplikasyonlar gibi çok çeşitli komplikasyonlara neden olmaktadır (Bastaki 2005; Harikumar ve ark., 2015).

Uzun süre Tip 1 DM'si olan hastalar mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlara (koroner arter, kalp ve periferik vasküler hastalıklar) karşı duyarlı hale gelirler. Tip 2 DM hastaları; hipertansiyon, hiperlipidemi ve obezite ile ilişkili olarak büyük damarlarda ateroskleroz açısından büyük risk taşırlar. Tip 2 DM'li hastaların çoğunluğu kardiyovasküler komplikasyonlar ve son dönem böbrek yetmezliği nedeniyle hayatını kaybetmektedir (Deshmukh ve Jain, 2015).

DM; artan bir şekilde dünyada bütün ülkelerde yaygın görülen bir hastalıktır (Tan ve ark., 2019). Uluslararası Diyabet Federasyonu'nun (International Diabetes Federation (IDF)) son verilerine göre 2021 yılında dünyada 20-79 yaş arası yetişkin DM hastası sayısı 537 milyondur ve 2045 yılında bu sayının 783 milyon kişi olacağı öngörülmektedir. Bununla birlikte 20-79 yaş arası bireyler arasında DM ve DM'ye bağlı komplikasyonlara bağlı ölümlerin bütün nedenlere bağlı dünya çapındaki ölümlere oranı %12.2'dir (International Diabetes Federation, 2021).

DM; tip 1 DM, tip 2 DM, gestasyonel DM ve diğer nedenlere bağlı spesifik DM olmak üzere temel olarak dört gruba ayrılmakta olup, tip 2 DM tüm DM hastalarının %90-95'ini oluşturmaktadır (American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2022).

DM'nin gerek dünya üzerinde en sık görülen metabolik hastalıklardan biri olması, gerekse DM ve DM'ye bağlı komplikasyonlara bağlı ciddi morbidite ve mortalite oranları, bu hastalığın tıbbi tedavisini oldukça önemli kılmaktadır. DM tedavisinde insülin ve antidiyabetik ilaçlar (örneğin metformin, sülfonilüreler, tiazolidindionlar, inkretinmimetikler (dipeptidilpeptidaz-4 inhibitörleri, glukagon benzeri peptid-1

agonistleri) vs) gibi çok sayıda ve farklı etki mekanizmalarına sahip ilaçlar bulunmasına rağmen (Kayaalp, 2012; Deshmukh ve Jain, 2015; Chaudhury ve ark., 2017; Harvey ve ark., 2009), DM tam olarak kontrol altına alınamamış ve DM'li hastaların sayısı IDF'nin son verilerinde de belirtildiği üzere dünyada hızla artmaya devam etmektedir (International Diabetes Federation, 2021).

Halk arasında tıbbi bitkilerin uzun yıllardır DM tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir (Elavarasi ve ark., 2013). Bununla birlikte tıbbi bitkiler DM tedavisinde en sık kullanılan tamamlayıcı tedaviler arasında yer almaktadır (Willcox ve ark., 2021). Her ikisi de Lamiaceae familyasına ait olan ve sırasıyla ülkemizin de içinde bulunduğu Akdeniz havzası ve doğu Akdeniz kıyılarında yer alan ülkelerde de yetişen *Teucrium polium* ve *Micromeria fruticosa* türüne ait bitkilerin bölge halkları tarafından DM tedavisi de dahil pek çok hastalığın tedavisinde kullanıldıkları bilinmektedir (Azap, 2016; Özer ve ark., 2018; Abadian ve ark., 2016). Ayrıca *Teucrium polium*'un ülkemizde antidiyabetik amaçla halk arasında en sık kullanılan bitkiler arasında yer aldığı da belirtilmiştir (Karaman ve Elgin Cebe, 2016). Ancak halk tarafından DM tedavisinde kullanıldığı belirtilen bu bitkilerin antidiyabetik etkinliklerinin ve antidiyabetik etkinliklerini hangi mekanizmalarla oluşturduğunun bilimsel yöntemlerle araştırılması ve aydınlatılması gerekmektedir.

Bu doktora tez çalışmasının amacı; *Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *brachycalyx* P.H.Davis ve *Teucrium polium* L. bitkilerinin metanol ekstrelerinin (MF ve TP) olası antidiyabetik etkinliklerinin ve etki mekanizmalarının sıçanlarda streptozotosin (STZ)/nikotinamid (NA) ile indüklenen tip 2 DM modelinde biyokimyasal ve histolojik analizlerle araştırılarak aydınlatılması ve bilimsel literatüre katkı sağlanmasıdır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Diabetes Mellitus Tanımı

Diabetes mellitus (DM); insülin salgılanmasındaki ve/veya insülin etkisindeki bozulmalar ile meydana gelen ve kronik hiperglisemi ile karakterize metabolik bir hastalıklar grubudur (Kharroubi ve Darwish, 2015). İnsülin yetmezliği sırasıyla hiperglisemi ve karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarındaki bozukluklar ile sonuçlanır ve hastalık ilerledikçe DM'ye bağlı kronik hiperglisemi ve diğer metabolik bozukluklar gözler, böbrekler, sinir ve damar sistemlerinde retinopati, nefropati, nöropati, kardiyovasküler komplikasyonlar ve ülserasyon gibi doku ve organ hasarına ve disfonksiyonuna neden olur (Bastaki 2005, Harikumar ve ark., 2015).

Yeterli yanıt oluşturamayan düşük insülin seviyeleri ve/veya özellikle iskelet kasları, yağ dokusu, daha düşük derecede karaciğerde insülin reseptörleri, transdükleme sistemleri ve/veya efektör enzimler veya genler seviyesindeki insülin direnci bu metabolik anormalliklerden sorumludur. Belirtilerin ciddiyeti diyabetin tipine ve süresine göre değişmektedir. Bazı diyabet hastaları, özellikle hastalığın ilk dönemlerindeki tip 2 diyabet hastaları asemptomatik olabilirler, belirgin hiperglisemi ile karakterize diğer hastalar, özellikle belirgin insülin yetmezliği olan çocuk hastalarda poliüri, polidipsi, polifaji, kilo kaybı ve bulanık görme gibi belirtiler görülebilir. Kontrol altında tutulmayan diyabet, tedavi edilmezse ölümle sonuçlanabilen ketoasidoz veya non-ozmolar ketotik sendroma neden olabilir (Kharroubi ve Darwish, 2015).

DM varlığında; kardiyovasküler hastalıklar, periferik vasküler hastalıklar, inme, nöropati, böbrek yetmezliği, retinopati, körlük, ampütasyonlar v.b. çok çeşitli komplikasyonların riskinde artış görülür. Hastalık ilerledikçe veya damar hasarı oluştukça, retinopati, nefropati, kardiyovasküler komplikasyonlar ve ülserasyon gibi ciddi diyabetik komplikasyonlar meydana gelmektedir. Uzun süredir tip 1 DM'si olan hastalar mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlara (koroner arter, kalp ve periferik vasküler hastalıklar) karşı duyarlı hale gelirler. Tip 2 DM hastaları, hipertansiyon, hiperlipidemi ve obezite ile ilişkili olarak büyük damarlarda ateroskleroz açısından büyük risk taşırlar. Tip 2 DM hastalarının büyük kısmı

kardiyovasküler komplikasyonlar ve son dönem böbrek yetmezliği nedeniyle hayatını kaybetmektedirler (Deshmukh ve Jain, 2015).

4.2. Diabetes Mellitus Etiyolojisi

DM artan bir biçimde dünyada bütün ülkelerde yaygın olarak görülmektedir (Tan ve ark., 2019). Uluslararası Diyabet Federasyonu'nun son verilerine göre; 2021 senesinde dünyadaki 20-79 yaş arası yetişkin DM hastası sayısı 537 milyondur ve 2045 senesinde bu sayının 783 milyon kişi olması öngörülmektedir. Bununla birlikte DM ve DM'ye bağlı komplikasyonlara bağlı ölümler 20-79 yaş arası bireyler arasında bütün nedenlere bağlı dünya çapındaki bütün nedenlere bağlı ölümlerin %12.2'sini oluşturmaktadır (International Diabetes Federation, 2021).

4.3. Diabetes Mellitus Tanısı

Diyabet tanısı; açlık plazma glukozu veya 75 g'lık oral glukoz tolerans testini (OGTT) takiben 2 saat sonra yapılan plazma glukoz ölçümü veya HemoglobinA1C ölçümü ile konulabilir. Diyabet tanısının konulabilmesi için, **(1)** kan glukozunun en az 8 saatlik açlıktan sonra 126 mg/dL (7 mmol/L)'ye eşit veya üzerinde olması veya **(2)** OGGT ikinci saatinde 200 mg/dL (11.1 mmol/L) ve üzerinde olması veya **(3)** A1C değerinin 6.5 (48 mmol/mol)'e eşit veya büyük olması veya **(4)** hiperglisemi veya hiperglisemik krizin klasik belirtileri olan bir hastada herhangi bir plazma glukozu ölçümünün ≥200 mg/dl (11.1 mmol/L) olması gerekmektedir (Bkz. Tablo 4.1) (American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2022, Şen 2010).

Diyabetin alt sınıflarından biri olan gestasyonel diyabetin tanısında; **(1)** "Bir basamaklı strateji"de "75 g OGTT Testi" veya **(2)** "İki basamaklı stratejide" 50 g (açlık olmayan) ve bu uygulamayı takiben pozitif sonuç verenlerde 100 g OGTT uygulanması ile konulabilir. Bir basamaklı stratejide; daha önce kesin diyabet tanısı konulmamış 24-48 haftalık gebe kadınların gece en az 8 saatlik açlık sonrası uygulanan OGTT ile açlık kan glukozunun 92 mg/dL (5,1 mmol/L) ve üzerinde veya OGTT'nin birinci saatinde 180 mg/dL (10,0 mmol/L) ve üzerinde veya OGTT'nin

ikinci saatinde 153 mg/dL (8,5 mmol/L) ve üzerinde olması gerekir. İki basamaklı stratejide ise; daha önce kesin diyabet tanısı konulmamış 24-48 haftalık gebe kadınlara tokluk halinde 50 g glukoz yükleme testi (GYT) uygulanır ve 1 saat sonraki kan glukozu düzeyi 130 mg/dL, 135 mg/dL veya 140 mg/dL (7.2mmol/L, 7.5mmol/L veya 7.8mmol/L) ve üzeri olan gebe kadınlara açken 100 g OGTT'i uygulanır ve sırasıyla açlık, OGTT uygulanmasının 1., 2. ve 3. saatlerinde kan glukozu ölçümü yapılır. Açlık kan glukozu 95 mg/dL (5.3 mmol/L), OGTT'yi takiben kan glukozu değerlerinin 1. saatte 180 mg/dL (10.0 mmol/L), 2. saatte 155 mg/dL (8.6 mmol/L) ve 3. saatte 140 mg/dL (7.8 mmol/L) değerlerinden en az ikisine eşit olması veya aşması durumunda gestasyonel diyabet tanısı konulur (American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2022).

Kan glukoz seviyelerinin haricinde tip 1 ve tip 2 diyabet tanısı konulmasında değerli bir bulgu olan glikolizlenmiş Hemoglobin (HbA1c) seviyelerinin kullanılması da mümkündür. HbA1c test edilen kandaki günlük glukoz değişkenliğini egale etmekte, son 2-3 aylık ortalama kan glukozu değerini yansıtmakta ve uygulanmasında açlık v.b. özel bir koşul gerektirmeden günün herhangi bir zamanı ölçülebilmesi bakımından da kolaylık sağlamaktadır. Her ne kadar kolay ve sağlıklı sonuç verdiği belirtilse de yine de diyabet tanısı konulması bakımından HbA1c'nin geleneksel glukoz uygulaması kriterlerinden daha az duyarlı olduğu da belirtilmektedir (Punthakee ve ark., 2018).

HbA1c değerlerinin tanımlanması: Toplam hemoglobin %4-6 oranında glikolize olarak bulunur. HbA1c'nin>%6.5 olması durumunda makrovasküler komplikasyonların, HbA1c'nin>%7.5 olması durumunda ise mikrovasküler komplikasyonların başladığı kabul edilir. Glikolizlenmiş olsun veya olmasın bir eritrositin ömrü yaklaşık olarak 3 ay olduğu için, glikolizlenmiş hemoglobin düzeyleri bize 3 aylık geçmişe dönük kan glukozuna ilişkin bilgilendirme vermektedir (Şen, 2010).

Diyabet için tanı kriterleri Tablo 1'de özet olarak verilmiştir.

Tablo 1. Diabetes mellitus için tanı kriterleri (American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2022)

Açlık kan glukozu ≥ 126 mg/dl (7.0 mmol/L)	Açlık en az 8 saat kalori alınmaması olarak tanımlanır*
Veya	
Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT) 2. saatinde plazma glukozu ≥ 200 mg/dl (11.1 mmol/L)	Test Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün belirttiği şekilde 75 g glukoz anhidrin suda çözülmesi ile glukoz yüklemesi şeklinde uygulanmalıdır*
Veya	
HbA1c ≥ 6.5 mg/dl (4.8 mmol/mol)	Test laboratuvarda NGSP (National Glycohemoglobin Standardization Program) (Ulusal Glikohemoglobin Standardizasyon Programı)'nın sertifikalandırdığı ve DCCT (Diabetes Control and Complications Trial) (Diyabet Kontrol ve Komplikasyonları Testi) analizine göre standardize edilmiş bir metoda göre yapılmalıdır*
Veya	
Hiperglisemi veya hiperglisemik krizin klasik belirtileri olan bir hastada herhangi bir plazma glukozu ölçümünün ≥ 200 mg/dl (11.1 mmol/L) olması	

*Kesin hiperglisemi yokluğunda, tanı için aynı test numunesinden veya iki ayrı test numunesinden iki anormal sonuç gereklidir.

4.4. Diabetes Mellitus Tipleri

DM aşağıda verilen genel kategorilere göre 4 sınıfa ayrılır (American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2022):

1. **Tip 1 diyabet:** Yetişkinlikte görülen latent otoimmün diyabet de dahil olmak üzere pankreasta otoimmün β hücre harabiyetine bağlı olarak gelişir ve belirgin insülin yetmezliği görülür.
2. **Tip 2 diyabet:** Sıklıkla arka planda insülin direnci üzerinden gelişen β hücrelerin yeterli insülin salgılamasında ilerleyici kayba bağlı olarak görülür.
3. **Diğer nedenlere bağlı spesifik diyabet tipleri:** Örneğin; monogenik diyabetik sendrom (yeni doğan diyabeti, gençlerin erişkin tipi diyabeti), ekzokrin pankreas hastalıkları (örneğin kistik fibrozis ve pankreatit gibi) ve ilaç veya kimyasal maddeye bağlı diyabet (örneğin; HIV/AIDS hastalığı tedavisinde veya organ nakli sonrası glukokortikoid kullanımı ile olduğu gibi)
4. **Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM):** Gebeliğin ikinci veya üçüncü trimesterinde gebelikten önce açıkça belirgin olmayan diyabet ile teşhis edilen diyabettir.

4.4.1. Tip 1 diabetes mellitus

Tip 1 DM dünyadaki diyabet vakalarının yaklaşık olarak yalnızca %10'unu oluşturur, ancak artan bir insidansla hayatın çok daha erken dönemlerinde meydana gelmektedir. Tip 1 DM endokrin pankreas bezinde β hücrelerinin otoimmün yıkılması sonucu oluşur. Tip 1 diyabetin patogenezi, her ikisi de sinerjistik etkileşim gösteren insüline karşı direnç oluşumunun ve insülin salgılanmasında azalmanın görüldüğü bir diğer diyabet tipi olan tip 2 diyabetten farklıdır. Genetik, çevresel ve immünolojik faktörler pankreas β hücrelerini yıkarak, sonuçta vücutta insülin miktarının azalmasına ve insülin yetmezliğine sebep olur (Paschou ve ark., 2018). β hücre harabiyeti; makrofaj ve dentritik hücrelerin CD4 T-lenfositlere majör histokompatibilite kompleksleri aracılığıyla antijen sunmalarıyla başlamakta ve bunu takiben aktive olan CD8 T-lenfositlerle β hücrelerin ölümü gerçekleşmektedir. Tip 1 DM hastalarının %95'inde "HLA-DR3 ve/veya HLA-DR4 alleli" eksprese edildiği belirtilmektedir. Bununla birlikte inek sütü proteinlerine maruziyet, vitamin D eksikliği, virüsler, ilaçlar, toksinler gibi çevresel faktörler de hastalığın gelişmesinde rol oynamaktadır (Demir, 2014). Genetik olarak yatkın olan bireylerde, çevresel faktörlerin tetiklemesiyle β hücre harabiyetinin ilerlemesi aylar, yıllar süren bir süreç alır, hastalar asemptomatik olabilir ama ilgili antikorlar yönünden pozitiftirler (Paschou ve ark., 2018). Tip 1 diyabet oluşumunda başlıca genetik risk faktörleri; "HLA-DR3/DQ2, HLADR4/DQ8, HLAA-A*02:01, artmış tirozin fosfataz protein non-reseptör tip 22 (PTPN22) aktivitesi, insülin gen (INS) polimorfizmi, interlökin-2 reseptör alfa varyantları, helikaz C alanı ile indüklenen interferon (IFIH1) yaygın varyantı aşırı ekspresyonu, kişinin tip 1 diyabeti olan 1. derece akrabası olması" ve başlıca çevresel risk faktörleri olarak ise "grup B koksaki virüsleri, bebeklerin inek sütü ile erken beslenmeye başlanması, bebeklerin tahıl ürünleri ile erken beslenmeye başlanması, yüksek enlemler, soğuk mevsimler, hızlı boy uzaması ve kilo alımı, beyaz ırk, 35 yaş üzeri annelik" verilebilir (Giwa ve ark., 2020).

Tip 1 DM'de endokrin pankreas β hücrelerinin büyük ölçüde hasarına bağlı olarak yetersiz insülin salgılanması olduğu için "insüline bağımlı diyabet" olarak da adlandırılır (Tan ve ark., 2019). Tip 1 diyabet temel olarak iki alt gruba ayrılabilir:

(1) İmmün aracılı diyabet: Bu form daha önceden "insüline bağımlı diyabet" veya "ergenlikte başlayan diyabet" olarak da adlandırılmıştır. Diyabetin %5-10'unu teşkil eder ve pankreas β hücrelerinin hücre aracılı otoimmün yıkımına bağlı olarak gelişir. Otoimmün işaretleyiciler; "Adacık hücre otoantikorları" ve "GAD65 (Glutamat Dekarboksilaz 65)", "insülin" ve "Tirozin fosfatazlar adacık antijeni 2 (IA-2)" ve "IA-2β" ve çinko transporter 8 "ZnT8" otoantikorlarıdır. 1. aşama Tip 1 diyabet bu otoimmün işaretleyicilerin iki veya daha fazlasının varlığı durumunda belirlenir. Hastalığın HLA ile DQA ve DQB genleri ile bağlantılı (HLA-DR/DQ alleleri) güçlü ilişkisi vardır. β hücre harabiyetinin oranı değişkenlik gösterir; bazı bireylerde hızlı (özellikle ama yalnızca değil bebek ve çocuklarda) ve bazı bireylerde harabiyet yavaş (başlıca ama özellikle değil yetişkinlerde) olabilir.

(2) İdiyopatik tip 1 diyabet: Bazı tip 1 diyabet formlarının bilinen bir etiyolojisi yoktur. Bu hastaların kalıcı insülinopenisi vardır ve bu hastalar diyabetik ketoasidoza (DKA) daha yatkındırlar, ancak hiçbir β hücre otoimmünitesi kanıtı göstermezler. Tip 1 diyabetli hastaların küçük bir kısmı bu kategoriye girmektedir. Afrika ve Asya kökenli otoantikor-negatif tip 1 diyabet bireyler aralıklı olarak DKA ve bu aralıklarda değişen derecelerde insülin yetmezliği sıkıntısı çekerler. Bu diyabet formu büyük ölçüde kalıtsaldır ve bu kalıtsallık HLA ile ilişkili değildir. Bu hastalarda aralıklı insülin yerine koyma tedavisi gerekli olabilir. Bu nadir durumda görülen β hücre harabiyetinin nedenini tespit etmek için ileri araştırmalar gereklidir (American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2022).

4.4.2. Tip 2 diabetes mellitus

Tip 2 DM daha önceden "insüline bağımlı olmayan diyabet" veya "erişkin tipi diyabet" olarak da adlandırılmakta olup, bütün diyabet vakalarının %90-95'ini oluşturur. Bu tip diyabeti olan bireylerde belirginden ziyade göreceli insülin yetmezliği ve bununla birlikte periferik dokularda insülin direnci bulunur. Bu bireyler en azından hastalığın başlangıç döneminde ve sıklıkla ömürleri boyunca

hayatta kalabilmek için insüline gereksinim duymazlar. Tip 2 diyabet oluşmasının çeşitli sebepleri vardır. Her ne kadar net olarak etiyolojisi bilinmese de tip 2 diyabet hastalarında β hücrelerinin otoimmün harabiyeti veya diyabetin bilinen diğer nedenlerinden herhangi biri yoktur. Tip 2 diyabet hastalarının hepsi olmasa da çoğu obez veya fazla kiloludur. Aşırı kilo kendi başına da bir dereceye kadar insülin direncine sebep olabilir. Yaş, obezite ve fiziksel aktivite eksikliği ile de tip 2 diyabet gelişimi riski artmaktadır. Tip 2 diyabet, daha önce gestasyonel diabetes mellitus (GDM) veya polikistik over sendromu tanısı konulmuş olan kadınlar, hipertansiyonu veya dislipidemisi olan bireyler ve bazı ırklar/etnik gruplarda (Afro Amerikalılar, Amerikan yerlileri, Hispanik/Latin kökenliler, Asya kökenli Amerikalılar) daha sık görülmektedir. Her ne kadar genetik özellikleri çok iyi anlaşılmamış olsa da tip 2 diyabet, tip 1 diyabete göre genetik ve aile hikâyesi ile daha güçlü ilişkilendirilmektedir (American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2022).

Tip 2 diyabetin patofizyolojisinin üç normal olmayan durum ile kendini gösterdiği belirtilmekte olup, bunlar: "insülin salgılanmasında bozukluk", "periferde insüline karşı direnç" ve "karaciğerde çok yüksek miktarlarda glukoz üretilmesi"dir. Daha önce de belirtildiği gibi özellikle merkezi ve visseral obezite, tip 2 diyabet hastalarında çok sık görülmektedir. Yağ dokusu hücrelerinden salgılanan TNF-α, leptin, resistin, adiponektin ve serbest yağ asitleri gibi biyolojik ürünler insülin salgılanmasının etkisinde ve vücut ağırlığında değişikliğe neden olup, insülin direncine katkı yapabilmektedir. Pankreas β hücreleri insülin üretimini arttırarak bu durumu telafi ettiğinden hastalığın başlangıç dönemlerindeki glukoz toleransı normaldir, ancak insülin direnci ve telafi edici hiperinsülinemi devam ettikçe, bazı bireylerde pankreas β hücreleri bu yüksek insülin seviyeleri durumunu sürdüremez hale gelir. Tokluk plazma glukozunun yükselmesi ile karakterize glukoz toleransında bozulma bu esnada meydana gelmektedir. "İnsülin salgılanmasının giderek azalması" ve "karaciğerde glukoz üretilmesinin yükselmesi" diyabetin belirginleşmesine neden olmaktadır (Ersoy, 2008).

Tip 1 DM ve tip 2 DM'nin özet olarak karşılaştırılması Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. En sık görülen diyabet tipleri olan tip 1 ve tip 2 diabetes mellitus arasındaki farklar (Harikumar, 2015; Harvey ve ark., 2009'dan değiştirilerek kullanılmıştır)

	Tip 1 Diabetes Mellitus	Tip 2 Diabetes Mellitus
Yaş	Genellikle çocukluk veya gençlik	35 yaşın üstünde
Hastalığın başlangıcında vücut ağırlığı	Genellikle idealin altında vücut ağırlığı	Genellikle obezite eşlik eder
Başlangıç	Akut, ciddi	Orta-ciddi, sinsi
İnsülin Salgılama	Çok düşük	Değişken
İnsülin Duyarlılığı	Normal	Azalmış
İnsüline Bağımlılık	Kalıcı	Geçici
Irk ve Etnik Kökene Göre Risk Artışı	Bütün hepsi (Asyalılarda daha düşük)	Afro Amerikalılar, Hispanikler, Amerikan yerlileri, Asya / Pasifik adalarında yaşayanlar da daha yüksek
Genetik yatkınlık	Orta	Güçlü
Diyabetik Olanlarda Oranları	Tüm diyabetiklerin %10'u	Tüm diyabetiklerin %90'ı
Obezite İle İlişkisi	Yok	Güçlü
Cilt Sertleşmesi	Hayır	Evet
Otoimmün Etiyoloji	Evet	Hayır
Eksiklik veya bozukluk	β hücre hasarı olduğundan insülin üretimi yoktur	β hücreleri yeterli insülin salgılayamazlar, insülin direnci ve diğer bozukluklar mevcuttur

4.4.3. Gestasyonel diabetes mellitus

Gestasyonel diabetes mellittus (GDM); ilk kez gebelik esnasında ortaya çıkan veya başlayan glukoz intoleransını ifade etmektedir (Punthakee ve ark., 2018). Gebelikte, özellikle ikinci trimesterin ortalarından başlayarak üçüncü trimestere doğru artan bir insülin direnci görülür ve bu durumun muhtemel sebebinin plasenta hormonları olduğu belirtilmektedir. İnsülin direncini kompanse edebilmek amacıyla annenin pankreas β hücrelerinden insülin salgılanması artar. Sağlıklı annelere kıyasla insülin direncinin fazla olması ve insülin salgılanmasının azalması GDM patolojisinin temelini oluşturmaktadır (Demir, 2014).

4.4.4. Diğer spesifik nedenlere bağlı diabetes mellitus

DM'nin diğer spesifik nedenlere bağlı olarak gelişen ve dördüncü alt tipe alınan tipi; öncelikle spesifik genetik olarak tanımlanmış diyabet formlarını veya diğer hastalıklar veya ilaç kullanımıyla ilişkili diyabet oluşumu gibi çok çeşitli, nadir görülen durumları içerir (Punthakee ve ark., 2018). Örneğin; monogenik diyabetik sendrom (yeni doğan diyabeti, gençlerin erişkin tipi diyabeti), pankreas ekzokrin hastalıkları (örneğin kistik fibrozis, pankreatit) ve kimyasal maddeye veya ilaca bağlı diyabet (örneğin; HIV/AIDS hastalığı tedavisi veya organ nakli sonrası glukokortikoid kullanımı) bu grup içerisinde değerlendirilir (American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2022).

Diabetes mellitus etiyolojik sınıflaması Tablo 3'de özet olarak verilmiştir.

Tablo 3. Diabetes mellitusun etiyolojik sınıflandırılması (McPhee ve ark., 2006'dan değiştirilerek kullanılmıştır)

Diabetes Mellitus Etiyolojik Sınıflaması	
Tip 1 Diabetes Mellitus (β hücre yıkımı sonucu genellikle tam insülin yokluğuna neden olur)	(A) İmmün (B) İdiyopatik
Tip 2 Diabetes Mellitus (Predominant insülin direnci ile rölatif insülin eksikliğinden insülin direnci ile predominant salgılanma defektine kadar çeşitli şekillerde)	
Gestasyonel Diabetes Mellitus	
Diğer Spesifik Nedenlere Bağlı Diabetes Mellitus	
β hücrelerinde genetik defektler	Kromozom 12, HN-Iα (MODY 3) Kromozom 7, glukokinaz (MODY 2) Kromozom HNF-4α 20 (MODY 1) Mitokondriyal DNA Diğerleri
İnsülin aktivitesinde genetik defekt	Tip A insülin direnci Leprekanizm Rabson-Mendenhall sendromu Lipoatrofik diyabet Diğerleri
Ekzokrin pankreas hastalıkları	Pankreatit Travma, pankreatektomi Neoplazi Kistik fibrozis Hemokromatoz Fibrokalküloz pankreatopati Diğerleri
Endokrinopatiler	Akromegali Cushing sendromu Glukagonoma Feokromasitoma Hipertiroidi Somatostatinoma Aldosteronoma Diğerleri
İlaçlar	Vakor Pentamadin Nikotinik asid Glukokortikoidler Tiroid hormonu Diazoksit β-adrenerjik agonistler Tiazidler Fenitoin α-interferon Diğerleri
Enfeksiyonlar	Rubella Sitomegalo virus (CMV) Diğerleri
İmmün-aracılı diyabetin nadir formları	"Stiff-man" sendromu Anti-insülin reseptör antikorları
Diyabetle ilişkili diğer genetik sendromlar	Down sendromu Kleinfelter sendromu Turner sendromu Wolfram sendromu Friedreich ataksi Huntington Kore Laurence-Moon-Biedl sendromu Myotonik distrofi Porfiria Prader-Willi sendromu Diğerleri

4.5. Prediyabet

"Prediyabet" terimi; her biri bireylerde diyabet ve komplikasyonlarının gelişme riskini gösteren "bozulmuş açlık glukozu (BAG)", "bozulmuş glukoz toleransı (BGT)" veya "HbA1C %6.0-6.4" değerlerini ifade etmek için kullanılmaktadır. Prediyabetli bütün bireylerde disglisemi süreci diyabet ile sonuçlanmaz, BAG ve BGT teşhisi konulan bireylerin büyük bir kısmında normoglisemiye dönüş gerçekleşir. Prediyabetli bireylerde diyabet hastaları gibi mikrovasküler hastalıkların riskinde artış görülmez, bu bireylerde diyabet ve kardiyovasküler hastalık (KVH) gelişme riski bulunur. Diyabet gelişimi ve KVH açısından bakıldığında hem BAG hem de BGT'ye sahip kişiler, tek başına BAG veya BGT'ye sahip bireylere göre daha yüksek risk altındadırlar. HbA1c seviyelerinin %6.0-6.4 değerleri arasında olması, %5.5-6.0 değerleri arasında olmasına göre diyabet oluşması için daha yüksek bir risk olarak ifade edilmektedir. Amerikan Diyabet Birliği, prediyabeti HbA1c değerinin %5.7-6.4 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 açlık kan glukozu (AKG) değerleri 6.1-6.9 mmol/L arasında ve HbA1c değerleri %6.0-%6.4 arasında olan bir kombinasyon tip 2 diyabet için %100 tahmini öngörü için kullanılmaktadır (Punthakee ve ark., 2018).

Tablo 4. Prediyabet tanısı (Punthakee ve ark., 2018)

Test	Sonuç	Prediyabet kategorisi
AKG (mmol/L)	6.1-6.9	BAG
75 g OGTT'de 2. saat KG (mmol/L)	7.8-11.0	BGT
A1C (%)	6.0-6.4	Prediyabet

A1C: glikolize hemoglobin (HbA1C); AKG: açlık kan glukozu; BAG: bozulmuş açlık glukozu; BGT: bozulmuş glukoz toleransı; OGTT: oral glukoz tolerans testi

4.6. Metabolik Sendrom

Prediyabet ve tip 2 diyabet; abdominal obezite, hipertansiyon, dislipidemi ve yüksek kan glukozunu içeren çeşitli anormalliklerle karakterize çok yönlü bir durum olan metabolik sendrom da dahil olmak üzere, birçok hastalığın sıklıkla açıkça görülen belirtilerindendir. Metabolik sendromu olan bireylerde, KVH gelişme riski önemli ölçüde artmıştır. Metabolik sendrom ve tip 2 diyabet sıklıkla bir arada görülmekle olup, diyabeti olmayan ve metabolik sendromu olan bireyler diyabet gelişimi bakımından ciddi risk altındadır. Gerek hiperglisemi gerekse hipertansiyon, dislipidemi ve abdominal obezite gibi metabolik sendromu oluşturan kardiyovasküler risk faktörlerine sahip hastalarda kardiyovasküler morbidite ve mortaliteyi önemli ölçüde azaltmak için söz konusu hastalarda teşhis ve tedavi için agresif bir yaklaşım oluşturmayı destekleyen kanıtlar bulunmaktadır. Metabolik sendrom için çeşitli tanı kriterleri önerilmiştir. 2009 yılında metabolik sendromun tanımı uyumlu hale getirilmiş olup, teşhisi için aşağıdaki kriterlerden en az üçünün sağlanması gerekmektedir (Tablo 5) (Punthakee ve ark., 2018; Çam, 2017).

Tablo 5. Metabolik sendromun uyumlu hale getirilmiş tanımı (Punthakee ve ark., 2018; Çam, 2017'den değiştirilerek kullanılmıştır)

Ölçümler	Kategorisel sınır değerler	
	Erkek	Kadın
Yüksek bel çevresi (cm) (nüfusa ve ülkeye spesifik sınır değerler)		
Kanada, Amerika Birleşik Devletleri	≥ 102	≥ 88
Kafkas ırkı, Orta Doğu, Sahra altı Afrikalılar, Akdeniz	≥ 94	≥ 80
Asya, Japonya, Güney ve Orta Amerika Ülkeleri	≥ 90	≥ 80
Yüksek TG (mmol/L) (yüksek TG için ilaç tedavisi alternatif bir göstergedir*)	≥ 1,7	
Düşük YDL-K (mmol/L) (düşük YDL-K için ilaç tedavisi, alternatif bir göstergedir*)	< 1,0	< 1,3
Yüksek KB (mmHg) (hipertansiyon öyküsü olan bir hastada antihipertansif ilaç tedavisi alternatif bir göstergedir)	Sistolik ≥ 130 ve/veya diyastolik ≥ 85	
Yüksek AKG (mmol/L) (yüksek glukozun ilaç tedavisi alternatif bir göstergedir)	≥ 5,6	

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 birini kullanan bir hastanın, yüksek TG'ye ve azalmış HDL-K'ye sahip olduğu varsayılabilir. Yüksek doz omega-3 yağ asitleri yüksek TG'ye addedilir.

4.7. Diabetes Mellitus Komplikasyonları

Diyabetli kişilerde mortalite ve morbidite oranını yükselten diyabetin komplikasyonlarıdır (Ersoy, 2008). DM komplikasyonlarının fizyopatogenezi oldukça karmaşık olmakla birlikte, DM varlığında özellikle hiperglisemiye bağlı olarak artan serbest radikallerin üretimi ve düzeyi (Paskaloğlu, 2002), pankreatik β hücre fonksiyonunun bozulmasına, mitokondriyal hücre hasarına neden olmakta ve diyabet komplikasyonlarının gelişmesinde oldukça önemli bir rol oynamaktadır (Çam, 2017). Kan glukozu düzeylerinin kronik yüksekliği sonucu poliyol yolağında aldoz redüktaz enziminin aktivitesinde artış, heksozamin yolağı aktivitesinde artış, protein kinaz C aktivasyonu, ileri glikasyon son ürünlerinin oluşumunun artması, reaktif oksijen radikallerinin (ROS) üretiminin artması ve koruyucu antioksidan sistemin azalması ve immün sistemin zayıflaması özellikle diyabete bağlı kronik komplikasyonların gelişmesinde rol oynayan başlıca faktörler arasında yer almaktadır (Lotfy ve ark., 2017).

DM komplikasyonları; diyabetin akut komplikasyonları ve diyabetin kronik komplikasyonları olmak üzere iki temel gruba ayrılabilir:

(1) Diyabetik Akut (Metabolik) Komplikasyonlar: Hiperglisemi, Diyabetik ketoasidoz (DKA), Hiperosmolar Non-Ketotik Koma, Laktik Asidoz Koması, Hipoglisemi Koması

(2) Diyabetik Kronik (Dejeneratif) Komplikasyonlar:

(a) Mikrovasküler Komplikasyonlar: Diyabetik Retinopati, Diyabetik Nefropati, Diyabetik Nöropati

(b) Makrovasküler Komplikasyonlar: Kardiyovasküler Hastalıklar, Serebrovasküler Hastalıklar, Periferik Damar Hastalıkları

Diyabetik akut komplikasyonlar hayati tehlike arz edecek seyirli olmasına rağmen, tedavi ve tanıdaki güncel ilerlemeler sonucunda diyabete bağlı uzun vadedeki "kronik komplikasyonlar" ciddi sıkıntılar oluşturmaktadır. Ancak yine de DKA'da ölüm oranı %5'in altında iken hiperosmolar non-ketotik komada %15 olduğu belirtilmektedir (Ersoy, 2008).

DM hastaları, tüm diyabet tiplerinde, ciddi morbidite ve mortaliteye neden olan söz konusu komplikasyonlar ile karşılaşabilmektedirler (Ersoy, 2008; MchPhee ve ark.,

2006; American Diabetes Association 11. Chronic Kidney Disease and Risk Management: Standards of Medical Care in Diabetes-2022; American Diabetes Association 12. Retinopathy, Neuropathy, and Foot Care: Standards of Medical Care in Diabetes-2022 American Diabetes Association. 10. Cardiovascular Disease and Risk Management: Standards of Medical Care in Diabetes, 2022).

4.7.1. Diyabetik akut (metabolik) komplikasyonlar

Diyabetik ketoasidoz ve non-ketotik hiperosmolar durum gibi akut diyabetik komplikasyonların fizyopatogenezinde insülin yetmezliği veya insülin direncine bağlı hipergliseminin akut etkileri (ör: ketozis, hipovolemi, serebral ödem) rol oynamaktadır (Demir, 2014). Diyabetik ketoasidoz ve hipoglisemi tip 1 diyabet hastalarında, hiperosmolar non-ketotik koma ise tip 2 diyabet hastalarında daha sık görülür (Rewers, 2018).

Hiperglisemi: Glukoz düzeyi renal emilim eşiğini aştığı zaman "glukozüri" gelişir. Bu klinik durum **poliüri** ve **nokturiyi** içerecek biçimde ozmotik diüreze neden olur. Dehidratasyon sonucu susuzluk hissi uyarılır ve **polidipsi** meydana gelir. Glukozüri sonucu oluşan anlamlı kalori kaybı hipotalamusta doygunluk merkezinin baskılanamaması sonucu **polifaji** ortaya çıkar (McPhee ve ark., 2006).

Diyabetik ketoasidoz (DKA); Tip 1 DM hastalarının özellikle tanı koyma döneminde sıklıkla görülen ve hayatı tehdit eden bir komplikasyondur. DKA; vücutta etkili insülin düzeylerinin azalması ve bununla birlikte karşı düzenleyici hormonlar olan glukagon, katekolaminler, kortizol ve büyüme hormonu düzeylerinin artması sonucu oluşur. Bu durum karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında katabolik değişikliklere neden olur. Karaciğer ve böbreklerde artmış glukoz üretimi ve bozulmuş glukoz kullanımı sonucu hiperglisemi ortaya çıkar. İnsülin olmaması ile lipoliz uyarılır, glukagonun bu etkiyi kompanse edememesi sonucu karaciğerde yağ asitleri keton cisimciklerine dönüştürülür. Lipoliz keton cisimciklerinin özellikle beta hidroksi butiratın üretiminin artmasına, ketonemiye ve metabolik asidoza neden olur ve bu durum, devam eden sıvı ve elektrolit kaybı ile şiddetlenir. Tipik olarak hiperglisemi ve ketozis (diyabetik ketoasidoz) tip 1 DM'de ortaya çıkar (Rewers, 2018). Tip 2 DM'de ise zıt düzenleyici hormonların etkisiyle enfeksiyonlar, travma

veya diğer stres nedenleriyle diyabetik ketoasidoz olabilir. Bu durum insülinin etkisinin engellenmesi ile ilişkilidir (McPhee ve ark., 2006).

Hiperglisemik Hiperozmolar Durum (HHD); DKA'da olduğu gibi vücutta etkili insülin düzeylerinin azalması ve bununla birlikte karşı düzenleyici hormonlar olan glukagon, katekolaminler, kortizol ve büyüme hormonu düzeylerinin artması bu durumun altında yatan temel faktördür. Bu etkileşimler; hiperglisemi ve ekstraselüler alanda paralel değişikliklere neden olur. HHD glukozüri ile ilişkilidir ve bunun sonucunda ozmotik diürez, su, sodyum, potasyum ve elektrolit kaybı meydana gelir. HHD'de insülin seviyeleri, insüline duyarlı dokuların glukozu kullanabilmeleri için yeterli değildir, ancak lipoliz ve ketojenozis oluşumunu engelleyecek düzeydedir. (Rewers, 2018).

Hiperglisemik hiperosmolar non-ketotik durum; DKA'dan daha seyrek görülür ve yukarıda belirtildiği gibi her ikisinin de fizyopatogenezi benzerdir. Hiperglisemik hiperosmolar non-ketotik durumun DKA'dan en önemli farkı, belirgin derecede ketozis, asidemi ve onlara bağlı belirtilerin olmamasıdır. Tedavide öncelik hastanın sıvı ve elektrolit replasmanının yapılması ve azalan insülin düzeyini yerine koymak ve hiperglisemiyi düzeltmek için insülin tedavisi (kristal regüler insülin i.v. infüzyon yoluyla) uygulanmasıdır. Hiperglisemik Hiperosmolar non-ketotik komada öncelik sıvı replasmanına verilmeli ve insülin kesinlikle yeterli sıvı replasmanı sağlandıktan sonra verilmelidir, aksi takdirde paradoks olarak insülin hiperosmolariteyi daha da arttırıp, hastanın bilincini daha da bozabilir (Kayaalp, 2012).

Hipoglisemi; Tip 1 ve tip 2 DM'de insülin veya insülin salgılanmasını arttıran (sekretagoglar) oral antidiyabetik ilaçlarla (sülfonilüre, benzoik asit türevleri gibi) tedavi sonrası görülen ve diyabet tedavisinin en sık görülen hayatı tehdit eden komplikasyonudur (McPhee ve ark., 2006). Beyin, her ne kadar keton cisimciklerini kullanabilse de enerji için devamlı glukoz sunumuna ihtiyaç duyar. Atlanan öğünler, insülin dozlama hataları, intramüsküler (i.m.) uygulama sonrası insülinin hızlı emilmesi veya insülin enjeksiyonundan hemen sonra sıcak banyo yapma gibi durumlar insülin tedavisinde hipoglisemi oluşmasının başlıca nedenleridir (Rewers, 2018). Tip 1 diyabetin tanısını takiben birkaç yıl sonra glukagonun hipoglisemiyi kompanse edici yanıtı yeterli olmayabilir, bununla birlikte otonom nöropati gelişen

hastalarda katekolaminlerin hipoglisemiyi kompanse edici yanıtı da yıllar sonra kaybolabilir ve bu hastaların hipoglisemiye karşı akut savunmaları kalmaz. Katekolamin yanıtı ayrıca özellikle tip 1 DM'si olan ve beta blokör tedavisi altında olan hastalarda da yetersizdir (Rewers, 2018; McPhee ve ark., 2006).

Laktik asidoz; DM'nin bir diğer akut komplikasyonu olup, özellikle şokun eşlik ettiği durumlar (miyokard enfaktüsü, sepsis ve fazla kanama veya ağır anemi, ağır akciğer hastalığı ve ağır karaciğer hastalığı gibi) veya zehirlenmelerde olduğu gibi (karbon monoksit, alkol, salisilat gibi) diyabetlilerde kanda laktik asit birikmesine neden olan durumlarda meydana gelir. Laktik asidoz, hayatı tehdit eden ve serebral hasar gibi nörolojik hasara neden olabilir. Tedavisi, laktik asit birikmesine yol açan primer hastalığa göre yapılır ve ayrıca i.v. bikarbonat çözeltisi uygulanarak kanın pH'sı düzeltilir (Kayaalp, 2012).

4.7.2. Diyabetik kronik (dejeneratif) komplikasyonlar

DM'de kronik hiperglisemiye bağlı olarak özellikle DM'nin kronik komplikasyonlarının gelişmesinde 6 önemli faktörün rol oynadığı belirtilmektedir. Bunlar;

1. Poliyol yolağı aracılığıyla aldoz redüktaz enziminin aktivitesinde artış ve bunun sonucu hücre içine alınan glukoz miktarının artması, hücre içine alınan glukozun sorbitole çevrilmesi sonucu sorbitol düzeylerinin ve sorbitol dehidrojenaz enzimlerinin aktivitesinde artış sonucu indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH)'ın tükenmesi ve oksidatif stresin kötüleşmesi

2. Heksozamin yolağının aktivasyonu sonucu aşırı üridin difosfat N-asetilglukozamin üretimi sonucu oksidatif stresin şiddetlenmesi

3. Diaçilgliserol üretiminin indüklenmesi sonucu **Proteinkinaz C (PKC) yolağının aktivasyonu** vasküler endoteliyal büyüme faktörü (VEGF) gibi anjiyogenik proteinlerin, metilglioksal gibi aterojenik proteinlerin, dönüştürücü büyüme faktörü β1, fibronektin, nükleer faktör Kappa B, plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) gibi çeşitli proteinlerin aşırı üretimine yol açar. Bununla birlikte PKC aktivasyonu;

anormal damar geçirgenliği ve hipoksiyi ilerletir, proinflamatuvar genleri indükler ve antiaterosklerotik elementlerin azalmasına ve insülin direncinde artışa neden olur.

4. İleri glikasyon son ürünlerinde artış ve buna bağlı olarak hücrelerin normal metabolik aktivitelerinde DNA gen ekspresyonlarında bozulma

5. Reaktif oksijen radikallerinin (ROS) üretiminde artış sonucu DM'de azalmış olan koruyucu antioksidan sistem ile birlikte oksidatif streste artış

6. DM'de immün sistemin yetersizliği (Lotfy ve ark., 2017).

Diyabetik Kronik (Dejeneratif) Komplikasyonlar temel olarak **"diyabetik mikrovasküler komplikasyonlar"** ve **"diyabetik makrovasküler komplikasyonlar"** olarak iki ana gruba ayrılabilir:

1) Diyabetik Mikrovasküler Komplikasyonlar: Diyabetik retinopati, diyabetik nefropati, diyabetik nöropati

2) Diyabetik Makrovasküler Komplikasyonlar: Kardiyovasküler hastalıklar, serebrovasküler hastalıklar, periferik damar hastalıklarıdır (Ersoy, 2008).

Bu komplikasyonların büyük bir bölümü gerçekte diyabetin gelişmesinin bir parçası sayılırlar ve her iki tip diyabette de (tip 1 DM ve tip 2 DM) ortaya çıkarlar. Ancak bazı komplikasyonlar "bir tipte diğerine göre daha sık görülür". Aşağıdaki komplikasyonlar tip 1 diyabette daha sık görülür: diyabetik nefropati, poliferatif retinopati, ağır otonomik nöropati ve subkapsüler katarakt. Tip 2 diyabetlilerde daha sık görülen komplikasyonlar ise şunlardır: makrovasküler anjiyopati (makrovasküler vasküler komplikasyonlar) ve ona bağlı komplikasyonlar, gözde maküler ödem, senil kataraktın hızlanması (Kayaalp, 2012). Gliseminin sıkı bir şekilde kontrol altında tutulması, gerek tip 1, gerekse tip 2 DM hastalarında söz konusu komplikasyonların gelişme riskini önemli ölçüde azaltmaktadır. Bu nedenle komplikasyonların riskini azaltmak için tip 1 ve tip 2 DM hastalarında, mümkün olduğu kadar erken olarak, gliseminin sıkı kontrolü ve mümkün olduğunca normal düzeye düşürülmesi tavsiye edilmektedir. Bununla birlikte hastada sıkı glisemi kontrolüne bağlı olarak oluşabilecek ve nöbet, koma ve ölümle sonuçlanabilen hipoglisemi riskine karşı çok dikkatli olunmalı ve gerekli tedbirler alınmalıdır (Kayaalp, 2012; Forbes ve Cooper, 2013; American Diabetes Association 11. Chronic Kidney Disease and Risk

Management: Standards of Medical Care in Diabetes-2022; American Diabetes Association 12. Retinopathy, Neuropathy, and Foot Care: Standards of Medical Care in Diabetes-2022).

4.7.2.1. Diyabetik mikrovasküler komplikasyonlar

4.7.2.1.1. Diyabetik retinopati

Diyabetik retinopati; dünyanın endüstriyelleşmiş bölgelerinde çalışma çağındaki nüfusun görme kaybının başlıca bir nedenidir. Diyabetik makula ödemi (DMÖ) ve proliferatif diyabetik retinopati (PDR) diyabetin görmeyi tehdit eden başlıca sonuçları olup, maküler bölge içinde retina mikrovasküler dejenerasyonunu tanımlayan iskemik makülopati de merkezi görme keskinliği kaybıyla sonuçlanabilir. Söz konusu komplikasyonlar uzun hastalık süresi ve zayıf glisemik kontrol ile ilişkilidir. Diyabetik retinopatinin patofizyolojisinin temelinde, hiperglisemi sonucu poliyol ve heksamin yolaklarından artmış glukoz alımı, protein kinaz C aktivasyonu, plazma kallikrein-kinin yolağının aşırı aktivasyonu ve ileri glikasyon son ürünlerinde artış ve sonucunda meydana gelen oksidatif stres yatmaktadır. Diyabetik retinopati başlangıçta asemptomatik seyreder, bu nedenle diyabet hastalarında düzenli göz muayeneleri, bu komplikasyonun takibi ve zamanında müdahalesi bakımından oldukça önemlidir (Lechner ve ark., 2017).

"Proliferatif diyabetik retinopati" ve "Nonproliferatif diyabetik retinopati" olmak üzere temel olarak iki alt gruba ayrılan diyabetik retinopatinin tanısında hekime yardımcı olan başlıca bulgular; retina lezyonları, kanama ve/veya mikroanevrizmalar, ven çapı anormallikleri, retina içi mikrovasküler anormallikler ve retinada yeniden damarlanmalardır. Erken dönemlerinde genellikle belirti vermeyen ve görme keskinliğinde değişikliğe neden olmayan diyabetik retinopati, ilerleyen evrelerde maküler ödem, göz küresi içinde kanama ve maküler perfüzyon bozukluğu gibi nedenlerle görme keskinliğinde azalmaya neden olmaktadır (Şen, 2010).

4.7.2.1.2. Diyabetik nefropati

Diyabetik nefropati Amerika Birleşik Devletleri'nde böbrek yetmezliğinin en önde gelen nedenidir. Diyabet durumunda 24 saatte 500 mg'dan yüksek proteinüri ile tespit edilir, ancak daha öncesinde proteinüri daha düşüktür veya "mikroalbüminüri" görülür. Mikroalbüminüri 24 saatte 30-299 mg albümin atılımı ile tespit edilir. Müdahale edilmezse mikroalbüminemisi olan diyabet hastalarında proteinüri ve belirgin diyabetik nefropati gelişir. Bu ilerleme hem tip 1, hem de tip 2 diyabetin her ikisinde de meydana gelmektedir (Fowler, 2011). Diyabetik nefropati birincil olarak glomerüler fonksiyon kaybının sonucudur. Böbreklerdeki patolojik değişiklikler glomerül bazal membranının kalınlaşması, mikroanevrizma oluşması, mezanjiyal nodül oluşumu (Kimmelsteil-Wilson yapıları) ve afferent ve efferent arteriyolde de skleroz oluşumu ve diğer değişiklikleri kapsamaktadır. Hasarın altında yatan mekanizma, diyabetik retinopatideki mekanizmalarının bazılarını veya tümünü kapsamaktadır (McPhee ve ark., 2006).

Kronik böbrek hastalığı; diyabet hastalarının %20-40'ında görülür ve tip 1 diyabet hastalarında tanı konulmasını takiben 10 yıl içinde, tip 2 diyabet hastalarında ise tanı konulduğu zaman görülebilir. Diyabetik böbrek hastalığı diyaliz veya böbrek nakli gerektiren son dönem böbrek hastalığına kadar ilerleyebilir. Bununla birlikte kronik böbrek hastalığı, tip 1 ve tip 2 diyabet hastalarında kardiyovasküler hastalık riskini belirgin derecede arttırmaktadır (American Diabetes Association 11. Chronic Kidney Disease and Management: Standards of Medical Care in Diabetes-2022). Diğer diyabet komplikasyonlarında olduğu gibi diyabetik nefropatide de başlangıç tedavisi "önleme"dir. Diyabetin diğer komplikasyonlarında olduğu gibi diyabetik nefropati gelişimi ile de kan glukozu düzeylerinin kontrolü arasında güçlü bir bağ vardır. Hastaların kan glukozu ve kan basıncı düzeyleri güvenli olan en uygun seviyeye getirilerek diyabetik nefropati önlenmeli veya kontrol altında tutulmalıdır. Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri (ADEİ) ile tedavinin tip 1 diyabet hastalarında mikroalbüminüri gelişmesini engellediği gösterilmemiş, ancak tip 2 diyabetlilerde nefropati ve kardiyovasküler olay gelişimi riskini azalttığı gösterilmiştir (Fowler, 2011).

4.7.2.1.3. Diyabetik nöropati

Diyabetik nöropati (DN); DM'nin en sık görülen komplikasyonu olup, gelişmiş ülkelerde nöropatinin en yaygın nedenidir ve DM'nin hastaneye en sık yatışa neden olan komplikasyonudur (Uzuner ve ark., 2020). DN; Amerikan Diyabet Derneği (American Diabetes Association (ADA)) tarafından "diğer nedenleri egale ettikten sonra diyabeti olan kişilerde periferik sinir disfonksiyonunun belirtilerinin ve/veya işaretlerinin bulunması" olarak tanımlanmıştır. Diğer mikrovasküler komplikasyonlara benzer şekilde diyabetik nöropati gelişmesi riski de hipergliseminin düzeyi ve süresi ile yakın ilişkilidir, bazı bireylerde bu tip komplikasyonların gelişmesinde genetik yatkınlık bulunabilir (Fowler, 2011).

Diyabetik nöropati; "Simetrik distal polinöropati", "Otonom nöropati" ve "Mononöropati ve Mononöropati multipleks" olarak üç alt grupta incelenebilir. Simetrik distal polinöropatide periferik sinirlerde demiyelinizasyon ve klinikte en çok alt ekstremide simetrik sensör kayıp, parestezi ve uyuşukluk vardır. Bu belirtiler distalden başlayıp proksimale doğru yayılım gösterir. Etkilenen periferik nöronlarda demiyelinizasyon, mikrovasküler lezyonlar ve bazal membranın kalınlaşması ile birlikte azalmış aksonal rejenerasyon kapasitesi ve sinir liflerinin kaybı görülmektedir. Otonom nöropati daha çok simetrik periferal nöropati ile birlikte bulunur ve en çok tip 1 DM'de oluşur. Kardiyovasküler, gastrointestinal ve genitoüriner sistemlerde daha çok görülür. Otonom nöropatinin neden olduğu başlıca durumlar; taşikardi, ortostatik hipotansiyon, impotans, inkontinans, gecikmiş mide boşalması, kabızlık ve ishaldir. Otonom nöropati ayrıca hipoglisemiye, glukagon ve adrenalin yanıtlarında azalmaya da neden olmaktadır. Mononöropati ve mononöropati multipleks, simetrik distal nöropati ve otonom nöropatiye göre daha seyrek görülmekte, kraniyel veya periferik sinirlerde (mononöropati) ve multipl izole sinirlerde (mononöropati multipleks) görülen ani, ağrılı motor kaybıdır. Vasküler tıkanma ve iskeminin bu asimetrik fokal nöropati oluşumunda ana rolü oynadığı belirtilmektedir (McPhee ve ark., 2006).

Periferik sinirlerin hiperglisemiye bağlı olarak nasıl hasar gördüğünün mekanizması kesin olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte, diyabetik nöropatinin gelişimindeki başlıca patogenetik hipotezler arasında poliyol yolağının aktivasyonu, enzimatik

olmayan glikolizasyonda yükselme, damar disfonksiyonu, yağ metabolizması hasarı, nörotrofizimde bozulma ve oksidatif stres yer almaktadır. Nöron ve aksonlar üzerinde etkili inflamatuvar mediyatörler, büyüme faktörleri ve/veya nörotrofinler yakın zamanlarda aydınlatılmış olup, DN'nin tanımlanması, nörofizyolojik ve kantitatif duyusal testler ile desteklenen nörolojik muayene ve anemnezlerle etkili ve güvenli bir biçimde konulabilmektedir. DN'ye ait ek tedavilere daha rahat ulaşılabilmesinin (bunların arasında ada hücreleri veya tüm pankreasın transplantasyonu, aldoz redüktaz inhibitörleri gibi ek tedavi yöntemleri bulunmaktadır) hastaların tedaviden fayda sağlaması için ek araştırmaların ihtiyacını hızlandırdığı belirtilmektedir (Şen, 2010). Ağrılı DN'nin tedavisi zordur ve bu rahatsızlık hastanın yaşam kalitesinde düşme, kötü uyku düzeni ve anksiyete ile ilişkili olabilir. Ağrılı diyabetik nöropatinin tedavisinde üç yaklaşım temel alınmakta olup, bunlar; "sıkı glisemi ve risk faktörü kontrolü", "patogenetik mekanizmalar üzerine tedavi" ve "semptomatik ağrı tedavisi"dir. Tedavi rehberlerinde, amitiriptilin ve duloksetin gibi antidepresanlar, pregabalin, gabapentin gibi γ-aminobütirik asit analogları ve opioidler ve kapsaisin gibi topikal ajanlar ağrılı DN'de ağrı kesici ilaçlar olarak önerilmektedir. Bunlar arasında ağrılı diyabetik nöropatide duloksetin ve pregabalin 2004 yılında, uzatılmış salımlı tapentadol 2012 yılında Birleşik Devletler İlaç ve Gıda Dairesi'nden (FDA) onay almıştır (Javed ve ark., 2015).

4.7.2.2. Diyabetik makrovasküler komplikasyonlar

4.7.2.2.1. Diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar

Diyabet hastalarında aterosklerotik kardiyovasküler hastalıkların gelişmesine pek çok etken neden olmaktadır. Bu nedenlerin başlıcaları arasında hiperglisemi, insülin direnci/hiperinsülinemi, dislipidemi, inflamasyon, reaktif oksijen radikalleri, endotel disfonksiyonu, hiperkoagülabilite ve vasküler kalsifikasyon sayılabilir. İnsülin direnci yüksek olan kişilerde kardiyovasküler riskin arttığını gösteren kanıtlar gösterilmiştir ve HbA1c de %1'lik bir yükselme bireyde kardiyovasküler hastalık gelişme riskini %11-16 oranında arttırmaktadır. Bununla birlikte diyabete bağlı hiperglisemi, endotel fonksiyonunu bozarak, nitrik oksit (NO) biyoyararlanımında azalmaya, artmış oksidatif stres ve inflamasyonla endotel hücre lökosit adezyonunda

artmaya neden olabilir. Diyabetle genellikle birlikte görülen "dislipidemi", koagülasyon faktörlerinin yüksekliği ile "artmış hiperkoagülabilite" ve yüksek koroner kalsiyum skorları, ileri glikasyon ürünleri, proartrojenik yolak kaskatını başlatan O-bağlı N-asetilglukozamin (O-GlcNAc) ile modifikasyonu da kapsayan translasyon sonrası protein modifikasyonları, osteoprotegerin ve osteokalsinin bozulmuş regülasyonu, artmış TNF-α düzeyleri sonucu "artmış vasküler kalsifikasyon"un da aterosklerotik kardiyovasküler hastalıkların patogenezinde önemli rol oynadığı belirtilmektedir (Low Wang ve ark., 2016). "Aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklar (ASKVH)" olarak tanımlanan, aterosklerotik orijinli olarak değerlendirilen "koroner arter hastalığı", "serebrovasküler hastalık" ve "periferik arter hastalıkları", diyabet hastalarında morbidite ve mortalitenin en önde gelen nedenleridir ve bununla birlikte tedavi maliyetlerine en büyük katkı yapan hastalıklardır. Tip 2 diyabetle yaygın olarak eşzamanlı bulunan durumlar (örneğin hipertansiyon ve dislipidemi) ASKVH'ların açık risk faktörleri olmakla birlikte, diyabetin kendisi de kendi başına bağımsız bir risk faktörüdür. Çeşitli çalışmalarda kardiyovasküler risk faktörlerinin kontrol altında tutulmasının diyabet hastalarında ASKVH'ların önlenmesi veya yavaşlatılmasında etkili olduğu gösterilmiştir. Bunların arasında beslenme, fiziksel aktivitede artış, sigara içilmesinin bırakılması ve alkol tüketiminin sınırlandırılması gibi yaşam şekli modifikasyonları; örneğin karbonhidrat alımının azaltılması, düşük kalorili ve düşük yağ oranlı besinlerin, bitkisel stenol/sterol tüketilmesi, doymuş/trans yağların ve tuz alımının azaltılması ve ideal vücut ağırlığına ulaşılması da tedavinin merkezinde yer alan önemli faktörlerdir. Diyabet Korunma Programında (Diabetes Prevention Program) da belirtildiği üzere kalori alımının azaltılması, kilo kaybına neden olur ve kan basıncı, lipid ve inflamasyon gibi kardiyometabolik belirteçlerde iyileşme sağlamaktadır. Söz konusu yaşam şekli değişikliklerinin yapılmasının yanı sıra, hastanın kan basıncı ve kan lipid düzeyleri vb. gibi kardiyovasküler hastalık belirteçleri düzenli olarak ölçülmeli, takip edilmeli ve hastaya durumuna göre bireyselleştirilmiş olan ilaç tedavi rejimi uygulanmalıdır (American Diabetes Association. 10. Cardiovascular Disease and Risk Management: Standards of Medical Care in Diabetes, 2022; American Diabetes Association. 3. Prevention or Delay of Type 2 Diabetes and Associated Comorbidites: Standards of Medical Care in Diabetes 2022).

4.7.2.2.2. Diyabet ve serebrovasküler hastalıklar

Diyabetik serebrovasküler hastalıkların majör klinik belirtileri; asemptomatik serebral ateroskleroz, inme, serebral küçük damar hastalığı ve akut serebral damar hastalığı olup, bu hastalıklar özellikle tip 2 DM'li hastaları etkileyen önemli bir diyabet komplikasyonudur ve DM'li hastalarda başlıca ölüm nedenlerindendir. Bu hastalıkların temel patogenezi aterosklerozdur ve uzun süre kan glukozu düzeylerinin yüksek olması ve metabolik bozukluklar sonucu damar endotelinin uzun süre hasar görmesi ile oluşmaktadır. Hiperglisemi ve metabolik bozukluk, oksidatif stresin ve inflamatuvar yanıtın artmasına neden olmakta ve endotel hasarına katkıda bulunmaktadır (Zhou ve ark., 2014).

4.7.2.2.3. Diyabet ve periferik damar hastalıkları

Periferik damar hastalıklarının (PDH) riski diyabet hastalarında yükselmiştir ve sıklıkla daha erken oluşmaktadır ve daha yaygın ve ciddidir. Diyabetik arteriyopatide endotel disfonksiyonu, vasküler düz kas hücre disfonksiyonu, inflamasyon ve hiperkoagülabilite temel faktörler olup, PDH'nin varlığı, klodikasyon, iskemik ülser, gangren ve olası ampütasyon riskinde artmanın yanı sıra, genelleştirilmiş ateroskleroz için de bir belirteçtir ve kardiyovasküler iskemik olaylar için güçlü bir ön göstergedir (Huysman ve Mathieu, 2009). DM; yaş, aktif sigara içme, hipertansiyon, dislipidemi, kronik böbrek hastalığı gibi periferik arter hastalığı için bir risk faktörüdür. Daha önce yapılan çalışmalarla DM'nin özellikle kritik uzuv iskemisi olan hastalarda alt ekstremite ampütasyonu riskini arttırdığı ve diyabetik olmayanlara kıyasla daha yüksek kardiyovasküler morbidite/mortalite oranlarına yol açtığının gösterildiği belirtilmiştir (Giannopoulos ve Armstrong, 2020).

4.7.3. Diyabet ve merkezi sinir sistemi hastalıkları

DM'li bireylerde depresyon, bipolar ve ilişkili bozukluklar, beslenme ve yeme bozuklukları, uyku bozuklukları, stres ilişkili bozukluklar ve anksiyete gibi psikiyatrik hastalıklar ve kognitif disfonksiyon gibi nörolojik hastalıklar sağlıklı bireylere göre daha sık görülmektedir. DM'de psikiyatrik hastalıkların temelinde

diyabetin bireyin fiziksel, sosyal ve duygusal yaşamının tüm yönlerini etkileyebilen ve yaşam kalitesini düşüren bir rahatsızlık olması yatmakta olup, diyabet ve psikiyatrik hastalıkların gelişimi çift yönlü olarak birbirini etkileyebilmektedir. Diyabete psikiyatrik hastalıkların eşlik etmesi diyabetik özbakımda zorluklar, yaşam kalitesinde düşüş, işlevsel kayıplar, komplikasyonlar ve sağlık harcamaları ile ilişkilendirilmiştir. Bilişsel davranışçı terapi, motivasyonel görüşme ve müdahaleler gibi hasta merkezli yaklaşımların, stres yönetimi, başa çıkma becerileri eğitimi, aile terapisi ve işbirlikçi vaka yönetiminin bu rahatsızlıkların tedavisinde birincil bakımda yer alması gerektiği belirtilmektedir (Atabay, 2019).

DM'de her hastada bütün mekanizmalar bulunmamakla ve patogenezi tam olarak anlaşılmamış olmakla birlikte kognitif disfonksiyonun olası temelinde ise; "hiperglisemi ile indüklenen hedef organ hasarı-mikrovasküler hastalık", "makrovasküler hastalık-serebrovasküler olay", "insülin direnci", "hipoglisemi", "apolipoprotein E tip 4 (Apoε4) allel yokluğu" ve "C-peptid yokluğu"nun neden olduğu patofizyolojik mekanizmaların olduğu ve kognitif disfonksiyonun hem tip 1 DM, hem tip 2 DM'de görüldüğü ve retinopati, nefropati, nöropati ve kardiyovasküler hastalık gibi DM'ye bağlı çok sayıda komplikasyonlar arasında sayılması gerektiği belirtilmiştir (Kodl ve Seaquist, 2008).

4.8. Diabetes Mellitus Tedavisi ve Korunma

Tip 1 DM'de pankreas β hücrelerinin otoimmün harabiyetine bağlı insülin eksikliği vardır ve dolayısıyla tip 1 DM tedavisinin temelini "insülin yerine koyma tedavisi" oluşturur. Diğer taraftan tip 2 DM potansiyel olarak önlenebilir bir hastalık olarak değerlendirilmektedir. Kilo verme ve günlük enerji tüketiminde artış, insülin direncini düşürmekte ve glukoz toleransını arttırmaktadır (Bastaki, 2005). Diyet ve fiziksel aktivitede artış gibi yaşam şekli değişikliklerinin tip 2 DM gelişimini ve ilerlemesini önlemede etkili olduğu belirtilmektedir. Daha önce de belirtildiği gibi tip 2 DM hastalarının büyük bir bölümünü obez veya fazla kilolu bireyler oluşturmaktadır ve temelinde kilo verme olan fiziksel aktivite artışı ve düşük kalorili diyet (örneğin; düşük doymuş ve trans yağ oranlı ve düşük glisemik indeksli diyet gibi), sigara kullanımının bırakılması, alkol tüketiminin sınırlandırılması gibi yaşam

şekli değişikliklerinin tip 2 DM ve özellikle kardiyovasküler komplikasyonların gelişmesinin ve ilerlemesinin önlenmesinde oldukça önemli faktörler olduğu belirtilmektedir. Yukarıda verilenlere ek olarak hasta eğitimi, hastaya rehberlik ve psikososyal desteğin de diyabetle mücadelede çok önemli faktörler olduğu belirtilmektedir (Bastaki, 2005; Quattrocchi ve ark., 2020; American Diabetes Association. 10. Cardiovascular Disease and Risk Management: Standards of Medical Care in Diabetes, 2022; American Diabetes Association. 3. Prevention or Delay of Type 2 Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes 2022; Chaudhury ve ark., 2017; Yan ve ark., 2019). Bununla birlikte ilaç kullanılmayan bu yaklaşımın sürekliliği olmadığı ve tedaviye bağlılığın bu yaklaşımın başarısında önemli payı olduğu unutulmamalıdır. Bu metotların takip edilmesiyle, diyabetin, geri döndürülebilir risk faktörlerinin ve diyabetle ilişkili komplikasyonların gelişiminin önlenebileceği ve diyabet tedavi masraflarının azaltılarak, bireysel ve toplumsal sağlık yükünün hafifletilebileceği ve bireyin yaşam kalitesinin korunabileceği veya arttırabileceği belirtilmiştir (Yan ve ark., 2019). DM tedavisinde kullanılan ilaçlar aşağıda verilmiştir.

4.8.1. Diabetes mellitus tedavisinde kullanılan ilaçlar

Diyabet tedavisinde kullanılan ilaçlar temel olarak **"İnsülin ve İnsülin Analogları"** ve **"Oral Antidiyabetikler ve İnsülin-Dışı Diğer İlaçlar"** olarak iki gruba ayrılır (Kayaalp, 2012). Patofizyolojisinde temel olarak insülin eksikliği olan tip 1 DM tedavisinde insülin ve insülin analogları kullanılır (Bastaki, 2005, Deshmukh ve Jain, 2015). Tip 2 DM tedavisinde ise öncelikle hasta için uygun olan antidiyabetik ilaç ile önce tek ilaçla tedavi (monoterapi), kan glukozu düzeyinin bu ilaçla tedavi ile yeterince düşürülememesi durumunda ise kombinasyon şeklinde antidiyabetik ilaç tedavisi uygulanır (Moon ve ark., 2017). Tip 2 DM'nin ilerleyen dönemlerinde pankreas β hücrelerinin periferdeki dokularda insülin direncini kırmak amacıyla aşırı insülin üretmesi ve salgılaması ve bu aşırı üretim ve salgılama sonrası ve glukoz ve lipit toksisitesi sonucu tükenen söz konusu hücrelerde insülin üretiminin ve dolayısıyla vücutta insülin düzeyinin azalması sonucu insülin veya insülin analogları

ile tedaviye başlanabilmektedir (Kayaalp, 2012; Home ve ark. 2014; Demir, 2014; Morello, 2011; Deshmukh ve Jain, 2015).

4.8.1.1. İnsülin

İnsülin; polipeptid yapıda ve yaklaşık olarak 6000 dalton molekül ağırlığında, birbirine iki disülfür (S-S-) köprüsü ile bağlı sırasıyla 21 ve 30 amino asitten oluşan A ve B isimli iki amino asit zincirlerinden oluşan, pankreas langerhans adacıkları β hücrelerinden sentezlenip, salgılanan bir hormondur. İnsülin dolaylı olarak veya doğrudan vücudun bütün dokularını etkileyen ve glukoz, amino asitler ve lipidler gibi besin olarak alınan maddelerin çoğunun hücreler içine alınıp, depo edilmesini sağlayan ve homeostazına katkıda bulunan "antikatabolik" ve "anabolik" bir hormondur. Vücutta ekstraselüler glukoz düzeyini baskılayan ve hipoglisemi yapabilen tek bir hormon (yani insülin) bulunduğu halde, onunla zıt yönde etki yapan ve plazma glukoz düzeyinin hipoglisemi oluşacak kadar düşmesini engelleyen ve "zıt düzenleyici (counter regulatory)" olarak adlandırılan pek çok hormon vardır (önem sıralarına göre glukagon, adrenalin, kortizol ve büyüme hormonu). Bu zıt-düzenleyiciler arasında fonksiyonel binişiklik vardır yani etkileri çakışır ve birinin eksikliğinde diğeri onun glisemi üzerindeki etkinliğini üstlenebilir (Kayaalp, 2012).

İnsülinin öncü yapısı olan preproinsülin pankreas β hücre ribozomlarında sentezlenir. Preproinsülin endoplazmik retikuluma girerek mikrozomal enzimler tarafından parçalanır ve C peptid ile birleştirilmiş A ve B zincirlerini içeren proinsülin meydana gelir ve bu önhormon golgi cisimciğinde sekretuvar veziküllere alınır ve burada biyolojik olarak inaktif C peptit ve iki peptit zincirli (A ve B zincir) insüline dönüştürülür (McPhee ve ark., 2006). β hücrelerindeki veziküllerde insülin ve C peptidi (az miktarda proinsülinle birlikte) ekimolar miktarda bulunur ve salgılanır. β hücre stimülasyonu ile insülin salgılanması arasındaki keneti Ca^{+2} sağlar. Siklik AMP (sAMP)'nin ve fosfoinozitid hidrolizi sonucu hücrede oluşan inozitol trifosfat'ın ($İP_3$'ün) da bu olaylara katkısı vardır. Ca^{+2} hücre içinde kalmadülin ve kalmadüline-bağımlı protein kinaz aracılığı ile insülin veziküllerinin hücrenin içinden membranın iç yüzüne taşınmalarını ve ekzositoza uğramak üzere oraya yapışmalarını sağlar. β hücrelerinin doğal uyaranı alınan besinler ve bunun içinde en

duyarlı olduğu uyaran glukozdur (Kayaalp, 2012). Glukoz, glukoz transporter 2 (GLUT 2) aracılığıyla pankreasın β hücresine girer ve glukokinaz enzimi tarafından glukoz-6-fosfat'a dönüştürülür. Bu aşama insülin salgılanmasının hız kısıtlayıcı basamağını oluşturur. Metabolize olan glukoz-6-fosfat hücre içi ATP/ADP oranını yükseltir ve sonuç olarak ATP'ye duyarlı K^+ kanalları aktive olur. Bunun sonucunda depolarize olan β hücrelerinde voltaj kapılı Ca^{+2} kanallarının açılır ve hücre içi Ca^{+2} seviyeleri artar ve ekzositoz ile insülin salgılanır (Demir, 2014).

İnsülin; glukozun, yağların, proteinlerin ve nükleik asitlerin sentezlenmesine ve/veya depolanmasına yönelik metabolik reaksiyonları stimüle eden, genelde anabolik bir hormondur. Doğrudan veya dolaylı olarak bütün organların çalışmasını etkilemektedir (Kayaalp, 2012). İnsülinin başlıca metabolik etkileri arasında; hedef hücrelere glukoz girişini ve glukozun vücutta enerji olarak kullanılmasının sağlanması, yağ hücrelerinde serbest yağ asidi oluşumunun (lipoliz) azaltılması, yağ ve karaciğer hücrelerinde trigliseritlerin sentezinin (lipojenez) arttırılması, amino asitlerin hücre içine girişinin arttırılarak protein sentezinin arttırılması, protein yıkımının inhibe edilmesi sayılabilir (Elçioğlu, 2019). İnsülinin bu fizyolojik etkileri hücre membranındaki insülin reseptörlerinin aktivasyonu aracılığıyla gerçekleşir. İnsülin reseptörü heterotetramerik bir protein olup, iki hücre dışı (α) ve iki transmembran (β) alt birimi vardır ve α alt birimleri insüline bağlanırken tirozin kinaz aktivitesine sahip β alt birimleri, otofosforilasyonla bir aktivasyon döngüsü oluştururlar. Aktive olan insülin reseptörü tirozin kinazı insülin reseptörü substratı (IRS1-4 ve Gab1) proteinleri başta olmak üzere bir takım sinyal düzenleyici proteinlerin fosforilasyonunu sağlar. Bu sinyal düzenleyiciler yoluyla, hücre içine glukoz taşıyıcı tip 4 (GLUT4) aracılı glukoz alımı, antiapoptotik etki, protein sentezinin stimülasyonu gibi insülin fonksiyonları kontrol edilir (Demir, 2014).

İnsülin'in temel metabolik olaylar üzerindeki etkileri Tablo 6'da, insüline zıt yönde etki yapan (anti-insülinik) hormonların (glukagon, adrenalin, büyüme hormonları, glukokortikoidler, tiroid hormonları) insanlardaki olası etkileri Tablo 7'de gösterilmiştir (Kayaalp, 2012).

Tablo 6. İnsülin'in bazı temel metabolik olaylar üzerindeki etkileri (Kayaalp, 2012)

Metabolik Olay	Etki	Metabolik Olay	Etki
Glukoz Metabolizması		**Protein Metabolizması**	
Glikojenez	↑	Protein sentezi	↑
Glukoz oksidasyonu	↑	Glukoneojenez	↓
Glukoneojenez	↓	Proteoliz	↓
Glukojenoliz	↓	Üreojenez	↓
Ketojenez	↓		
Yağ Metabolizması		**Diğer Maddelerin Metabolizması**	
Lipoliz	↓	ATP oluşumu	↑
Lipojenez	↑	DNA ve RNA oluşumu	↑

* ↑: artırır; ↓: azaltır

Tablo 7. İnsüline zıt yönde etki yapan (anti-insülinik) hormonların insandaki olası etkileri* (Kayaalp, 2012)

Hormon	İnsülin salıverilmesi	Kas glukoz uptake'i	Hepatik glikojenoliz	Glukoneojenez	Ketojenez	Lipoliz	Proteoliz
Glukagon	↑	-	↑	↑	↑	↑	-
Adrenalin	↓	↓	↑	↑	↑	↑	↑
Büyüme Hormonu	-	↓	-	↑	↑	↑	↓
Glukokortikoidler	-	-	↑	↑	↑	↑	↑
Tiroid Hormonları	-	-	↑	↑	↑	↑	↑

* ↑: artırır; ↓: azaltır; - : belirgin bir primer etkisi yoktur, glukoz düzeyini değiştirmek suretiyle veya diğer şekillerde sekonder etki yapabilir.

4.8.1.1.1. İnsülin türleri, insülin preparatları ve uygulanmaları

İnsülin'in 1921 tarihindeki keşfine kadar DM için etkin bir tedavi yoktu (Dhatariya, 2019). İnsan insülini ilk olarak 1982'de İngiltere'de piyasaya çıkartılmıştır. İnsan insülini iki yöntemle elde edilir. Bunlardan ilki domuz insülininde insandan faklı olan amino asit rezidüsü değiştirilmek (transpeptidasyon) suretiyle, ikinci yöntem ise DNA rekombinasyonu teknolojisi ile *E. coli* veya maya mantarlarının kültürlerinde A ve B zincirlerinin sentezlenip, daha sonra birleştirilmesi suretiyle (rekombinant (biyosentetik) insan insülini) (Kayaalp, 2012). Dünyada kullanılan bütün insülinlerin %92-93'ü Novo Nordisk, Eli Lily, Sanofi firmaları tarafından üretildiği belirtilmiştir (Hogerzeil ve Recourt 2019).

4.8.1.1.2 Regüler ve modifiye edilmiş insülin preparatları ve uygulanmaları

İnsülin preparatları yukarıda verildiği biçimde modifiye edilmemiş, kısa etkili insülinleri veya onun yapısına başka bir madde katarak, kristal büyüklüğünü değiştirerek hazırlanan ve etki süresi daha uzun olan modifiye insülinleri içerirler (protamin çinko insülin, globin çinko insülin ve lente insülinler gibi). İnsülin maddesinin elde edilmesi sırasında insülin genelde çinko klorür içeren bir ortamda çöktürülür; böylece kristal regüler insülin, diğer adıyla kristal çinko insülin elde

edilir. Kristaller genellikle altı insülin molekülü içeren heksamerler şeklindedir. Her heksamerde iki çinko iyonu bulunur ve bunlar insülin molekülü ile serbest karboksil grubu ve iki imidazol grubundan biri ile bağlanarak koordinasyon kompleksi oluşturur. Modifiye insülinler protamin çinko insülin ve lente insülinlerdir. Bunlar "uzun veya orta etki süreli" türlerdir. Çinko, kompleksin stabilitesini arttırır ve etki süresini daha da uzatır. İnsülin'in protamin veya globulin ile birleştirilmesi sonucu oluşan kompleksler, geniş bir pH aralığında suda çözünmez ve süspansiyon oluştururlar. Süspansiyon şeklindeki preparatlar i.v. yoldan verilmez, sadece cilt altına uygulanırlar (Kayaalp, 2012).

4.8.1.1.3. İnsülin analogları

İnsan insülini molekülünde belirli aminoasitlerin yerine başkalarını yerleştirmek suretiyle yapılan yapı etki araştırmaları sonucunda elde edilmişlerdir. Bu insülinlerden insülin lispro, insülin aspart (bu iki insülin hem i.v. hem s.k. yolla uygulanabilir) ve insülin glulisin (sadece s.k. yolla uygulanır); "kısa etkili analoglar", insülin glarjin ve insülin detemir "uzun etkili analoglar"dır (Kayaalp, 2012).

4.8.1.1.4. İnsülin preparatlarının etki sürelerine göre sınıflandırılması

İnsülin preparatları etki sürelerine göre; kısa etkili, hızlı etkili, orta etkili, uzun etkili ve karışım insülinler olmak üzere beş ana gruba ayrılabilir (Sharma ve ark., 2019). İnsülin preparatlarının etki sürelerine göre ayrıldıkları gruplar arasında sadece etkinin devam süresi bakımından değil, etkinin başlama süresi ve doruğa erişme süresi bakımından da fark vardır. Bu süreler hastalar arasında ve ayrıca uygulanan dozun büyüklüğüne, enjeksiyon bölgesine, egzersiz derecesine ve bazen kanda dolaşan anti-insülin antikorların afinitesi ve diğer bazı bilinmeyen faktörlere göre farklılık gösterirler. İnsülin glarjin ve insülin detemir diğerlerine göre daha yeni ve uzun etkili insülinlerdir (Kayaalp, 2012). Bu insülinlerin dışında, yeni ve uzun etkili bir insülin olan "insülin degludek" de DM tedavisinde kullanılmaktadır. İnsülin degludek, düz farmakokinetik profile ve bir dozlama intervalinde (24 saat) glukoz düşürücü etkisinde düşük dalgalanmalara sebep olan uzun yarılanma ömrüne (> 25 saat) sahiptir ve etki süresi çok uzundur (> 42 saat) (Haahr ve Heise, 2014). Karışım

insülinler ise, hızlı/orta etkili insülinlerle tedavide hastaya günlük doz uygulama sıklığını azaltarak uygulama kolaylığı sağlaması amacıyla tasarlanmışlardır. İnsanda doğal insülin salgılanmasını taklit etmek için ideal formül; hızlı etkili insülin ve bazal insülin analoğu (orta etkili veya uzun etkili insülin) karışımıdır, bazal insülin ile karışım, bu insülinler yakın zaman kadar başka insülinler ile karıştırılamadığından mümkün değildi, bu nedenle karışım insülinlerde bir parçası protamin olan ve bu şekilde orta etkili insüline dönüşen hızlı etkili insülinler bulunur. En sık kullanılan karışım insülinler; bifazik insan insülini (BHI; %30 regüler insan insülini ve %70 protamin regüler insan insülini), bifazik insülin aspart 30 (BIAsp 30; 70 normal/30protaminlenmiş), bifazik insülin lispro (75 normal/25 protamin ve 50 normal/50 protamin)'dur (Sharma ve ark., 2019).

Tablo 8. İnsülin ve insülin analoglarının farmakodinamik, farmakokinetik ve yapısal özellikleri (Sharma ve ark., 2019'dan değiştirilerek kullanılmıştır)

İnsülin analogları	Değişiklik	Etki Başlama Süresi	Doruk Etki Zamanı	Etki Süresi
Kısa Etkili				
Regüler		~30 dakika	1.5-3.5 saat	7-8 saat
Hızlı Etkili				
Lispro	B28'deki prolin ve B29'daki lizin amino asitlerinin yerinin değiştirilmesi	~15 dakika	30-70 dakika	2-5 saat
Aspart	B28'deki prolin amino asidinin aspartik asit ile yer değiştirilmesi	10-20 dakika	1-3 saat	3-5 saat
Glulisin	B3'deki lizin ile asparjinin ve B29'daki lizin ile glutamik asidin yerinin değiştirilmesi	10-20 dakika	~55 dakika	~6 saat
Orta Etkili				
İzofan insülin; NPH (Nötral Protamin Hagedorn)	Nötral protaminlenmiş insülin	1.5-4 saat	2.8-13 saat	24 saate kadar
Uzun Etkili				
Glarjin	A21'deki glisin ile asparajinin yer değiştirilmesi ve B31 ve B32 konumlarına iki arjinin amino asidi ilave edilmesi	1-3 saat	Doruk yok	24 saate kadar
Detemir	B29 konumundaki lizin rezidüesine miristik asit asilasyonu ve B30'dan treoninin çıkartılması	1-2saat	6-8 saat	24 saate kadar
Degludek	B30'daki treoninin çıkartılması ve bir γ-L-glutamik asit bağlayıcı ile B29'daki lisine 16-karbon yağ asidi ilave edilmesi	0.5-1.5 saat	Doruk yok	48 saate kadar
Karışım insan insülini				
NPH/Regüler 70/30	%70 izofan insülin ve %30 regüler insülin	30-90 dakika	1.5-6.5 saat	18-24 saat
Karışım insülin analogları				
Prolispro/lispro 75/25	%75 nötral protaminlenmiş insülin lispro ve %25 insülin lispro	10-30 dakika	0.5-4 saat	24 saate kadar
Prolispro/lispro 50/50	%50 nötral protaminlenmiş insülin lispro ve %50 insülin lispro	10-30 dakika	0.75-2 saat	24 saate kadar
Proaspart/aspart 70/30	%70 protaminlenmiş insülin aspart ve %30 insülin aspart	10-20 dakika	1-4 saat	24 saate kadar

4.8.1.1.5. İnsülin tedavisinin yan etkileri

İnsülin tedavisinin başlıca yan etkileri; insülin tedavisinin en sık görülen yan etkisi olan "hipoglisemi", alerjik reaksiyon ve uygulama yeri ile ilişkili reaksiyonlar, ödem, lipodistrofi, kilo alma (Sharma ve ark., 2019; Kayaalp, 2012), görme bozukluğu (presbiyopi), karsinojenez (yakın zamanda insülin glarjinle ilgili meme kanseri riskini arttırabileceğine dair iyi dizayn edilmemiş bazı yayınlar ortaya çıkmış olup, konu aydınlanana kadar özellikle meme kanseri olan kişilerde kullanılmamasının, diğer kişilerde ise çok yüksek dozlara çıkılmamasının (ör. günde 50 ünitenin üzeri)

önerilebilebileceği belirtilmektedir), insülin direnci ve şafak fenomeni (insülin tedavisi altındaki tip 1 ve tip 2 diyabetlilerde "sabah erken saatlerde ortaya çıkan geçici hiperglisemi durumu"dur, insüline karşı duyarlılığın sabah 5 ile 8 arasında dokularda azalmasına bağlı olarak gelişir ve bu durumda insülin dozunun arttırılması gerekir)'dir (Kayaalp, 2012).

4.8.2. Oral antidiyabetikler ve insülin-dışı diğer ilaçlar

İnsülin'in diyabet tedavisindeki güçlü etkinliğine rağmen ağız yolundan alınamaması en büyük sakıncasını oluşturmaktadır ve bu nedenle 1920'li yıllardan başlayarak, ağız yolundan etkili antidiyabetik ilaçların bulunabilmesi için uzun süre araştırmalar yapılmıştır (Kayaalp, 2012).

1922'den 1950'lerin başına kadar diyabet tedavisinde sadece insülin kullanılıyordu. 1950'lerin sonlarında sülfonilüreler ve biguanid türevi olan metformin oral antidiyabetik ilaçlar olarak bulunmuş ve 1990'ların sonuna kadar, tiyazolidindionlar ve nateglinid bulunana kadar, tip 2 diyabetin tedavisinde kullanılan ilaçlar sadece bu ilaçlar olmuştur. 2000 yılından itibaren tip 2 diyabet tedavisinde kolesevelam, bromokriptin, sodyuma bağımlı glukoz transporter 2 (SGLT-2) inhibitörleri ve inkretinmimetikler (glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) reseptör agonistleri ve dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4) inhibitörleri) dâhil pek çok yeni ilaç ruhsatlandırılmış ve tedaviye sunulmuştur (Dhatariya, 2019).

Aşağıda, bu bölümde insülin dışında kullanılan antidiyabetik ilaçlar, etki mekanizmaları, yan etkileri de dâhil olmak üzere özet bir biçimde verilmiştir.

4.8.2.1. İnsülin salgılatıcılar (sekretagoglar)

Sülfonilüre türevi ilaçlar: Yapıca antibakteriyel sulfonamide benzerler, ancak antibakteriyel etkinlikleri yoktur (Kayaalp, 2012). Sülfonilüreler adenozin trifosfat (ATP)'ye duyarlı K^+ kanallarındaki sülfonilüre reseptör (SUR) proteinine bağlanarak K^+ kanallarını kapatır, voltaja bağımlı Ca^{+2} kanallarını açar ve β hücrelerine hücre içi Ca^{+2} girişini arttırarak, hücrenin depolarize olmasını sağlar ve insülin salgılanmasını arttırırlar (Elçioğlu, 2019).

Sülfonilüreler; metahekzamid, tolazamid, tolbutamid, klorpropamid gibi daha önceden tedaviye giren ve polar (anyonik) nitelikte olan "birinci kuşak sülfonilüreler" ve daha sonra tedaviye sunulan, daha lipofilik (apolar) ve dolayısıyla mide barsak kanalından kısmen değil tamamen emilen ve gravimetrik etki gücü daha yüksek olan gliburid, glipizid, glibornurid, gliklazid, sodyum glimidin, glimepirid ve glikidon gibi "ikinci kuşak sülfonilüreler" olmak üzere yapısal olarak iki gruba ayrılır (Kayaalp, 2012). Birinci kuşak sülfonilürelerin yarılanma ömrü ve etkilerinin başlama süresi daha uzundur ve hipoglisemi oluşturma riski daha yüksektir. Bununla birlikte daha potent olmaları (hastalara daha düşük dozda ve daha uzun zaman aralıklarıyla verilebilmeleri) nedeniyle ikinci kuşak sülfonilüre türevi ilaçlar diyabet tedavisinde daha çok tercih edilmektedir (Kayaalp, 2012; Okur ve ark., 2017; Chaudhury ve ark., 2017). Bununla birlikte glimepirid bu grubun en güvenli ilacı olarak belirtilmektedir (Chaudhury ve ark., 2017).

Sülfonilürelerin başlıca yan etkileri: Hipoglisemi ve buna bağlı koma, glipizid, klorpropamid ve daha seyrek olarak tolazamide bağlı olarak su tutulması, özellikle aldehid dehidrojenaz enzimini inhibe eden klorpropamid ve tolbutamide bağlı olarak bazı kimselerde alkole dayanıksızlık (asetaldehid sendromu), klorpropamide bağlı olarak özellikle yüksek dozlarda konfüzyon, halsizlik, ataksi gibi nörolojik yan etkiler görülebilir. Uzun süre kullanıldıklarında meydana gelebilen olası (potansiyel) kardiyotoksik etkileri nedeniyle, sülfonilüre grubu oral antidiyabetiklerin kalp hastalarında kullanılmaması uygundur. Tip 1 diyabette, belirgin böbrek ve karaciğer yetmezliğinde, gebelik ve emzirme döneminde kontrendikedirler. Sülfonilüreler plazma albüminine yüksek oranda bağlandıklarından, onları oradan kovan ilaçlarla (ör. aspirin) etkileşirler ve etkileri (hipoglisemi) şiddetlenebilir. Bununla birlikte alkol karaciğerde glukoneojenezi inhibe ettiğinden, karaciğerde glukoz üretimini ve kana salıverilmesini azaltır ve sülfonilürelerin etkisini şiddetlendirebilir (Kayaalp, 2012).

Meglitinidler: Sülfonilürelere benzer şekilde pankreasın β hücrelerindeki ATP'ye duyarlı K^+ kanallarındaki SUR1 reseptörleri üzerinden insülin salgılanmasını arttırıcı etkilerini gösterirler. Ancak meglitinidlerin bağlanma noktalarına afiniteleri düşük ve bağlanma noktalarından ayrılmaları hızlıdır ve etki süreleri sülfonilürelerden daha kısadır ve onlar gibi günde bir kez değil, günde üç kez öğünlerden sonra alınırlar.

Bununla birlikte meglitinidlerin pankreas β hücrelerinden insülin salgılanmasını uyarabilmesi için daha yüksek kan glukozu düzeylerinin oluşması gereklidir ve yemek sonrası glisemiyi baskılamak amacıyla kullanılırlar (Kayaalp 2012; Chaudhury ve ark., 2017). Bu grupta repaglinid ve nateglinid ve mitiglinid olmak üzere başlıca üç ilaç bulunur (Okur ve ark., 2017). Meglitinidlerin başlıca yan etkisi hipoglisemidir. Diğer yan etkileri arasında bulantı, kusma, karın ağrısı, ishal, duruma göre kabızlık gibi gastrointestinal kanal rahatsızlıkları, ciltte döküntü, kaşıntı, ürtiker gibi aşırı duyarlılık reaksiyonları bulunur, ayrıca karaciğer enzimlerinin düzeylerini yükseltebilirler (Bastaki, 2005).

4.8.2.2. İnsüline duyarlılaştırıcılar

Biguanidler: Bu ilaçlar moleküllerinde iki guanidin grubu içerirler. Bu grupta halen tedavide sadece "metformin" isimli ilaç bulunmaktadır. Etki mekanizması sülfonilürelerinkinden farklıdır. β hücrelerini etkilemezler ve insülin salgılanmasını arttırmazlar. Metformin kan glukozu düşürücü etkisini; insüline duyarlılığı arttırarak, GLUT arttırıcı faktörleri fosforillemek suretiyle glukoz alımını arttırarak ve karaciğerde glukoneojenezi baskılayarak gösterir (Kayaalp 2012). Metformin, hepatik glukoneojenik genleri eksprese eden enzimlerden biri olan AMP-aktif proteinkinaz enzimini aktive eder ve mitokondride gliserofosfat dehidrojenaz enzimini ve mitokondriyal kompleks 1'i de inhibe eder ve bütün bu etkileriyle kan glukozu ve HbA1C seviyelerini düşürür (Yan ve ark., 2019). Metformin HbA1C'yi %1-2 oranında düşürebilir ve kan glukozu düşürücü ilaçların çoğu ile kombine olarak kullanılabilir (Okur ve ark., 2017). Yeni tanı konan diyabet hastalarında metformin başlangıç kan glukozu düşürücü ilaç olarak değerlendirilir ve doğrudan metformin tedavisine başlanabilir ve kontrendike olmayan ve tolere eden tüm vakalarda metforminin diğer tedavilerin yanında vazgeçilmez bir yeri vardır (Kayaalp 2012; Moon ve ark., 2017). Metforminin başlıca yan etkileri; ishal, dispepsi, iştahsızlık, bulantı ve ağızda metalik tattır. Metformin, dehidratasyon, karaciğer hastalığı, ağır kalp yetmezliği, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, geçmişte laktik asidoz öyküsü, uzun sürecek açlık veya çok düşük kalorili diyet, alkolizm, sepsis, şok, miyokard enfarktüsü gibi "laktik asidoz eğilimi yaratan durumlarda", gebelikte ve emzirenlerde kullanılmamalıdır (Kayaalp, 2012).

Tiazolidindionlar

Tiazolidindionlar veya glitazonlar; tip 2 diyabet tedavisinde kullanılan diğer bir oral antidiyabetik ilaç grubu olup, etkilerini bir nükleer reseptör olan peroksizom proliferatör aktive edici reseptör γ (PPARγ)'yı aktive ederek gösterirler. Bu etki ile glukoz, lipit ve enerji metabolizmasında rol oynayan çeşitli genlerin transkripsiyonu değişmektedir. Başlıca tiazolidindion türevleri; pioglitazon, rosiglitazon, lobeglitazondur (Okur ve ark., 2017). Tiazolidindionlar PPARγ agonistleridir ve adipoz doku, kas dokusu ve karaciğer gibi çok sayıda dokuda glukoz alımını fasilite ederler. Etki mekanizmalarını; serbest yağ asitlerinin birikmesini ve inflamatuvar sitokinleri azaltarak insülin direncini ve β hücrelerin harabiyetinde iyileşmeye katkı sağlayarak, adinopektin seviyelerini yükselterek ve β hücre bütünlüğünü ve fonksiyonunu koruyarak oluştururlar. Ancak tiazolidindionların yararlarına üstün gelen riskleri de bulunmaktadır (örneğin, insülin-tiazolidindion tedavisi kalp yetmezliğine neden olur) (Chaudhury ve ark., 2017). Tiazolidindion türevi rosiglitazon, kalp yetmezliği ve koroner kalp hastalığı yönünden riskli bulunarak piyasadan çekilmiş olup, şu an Türkiye'de bu gruptan sadece pioglitazon müstahzarları tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Tiazolidindionların başlıca istenmeyen etkileri; rosiglitazonun ateroskleroz gelişimi riskini arttırması (pioglitazon bu bakımdan daha selim görülmektedir), rosiglitazon ve pioglitazonun insülinle kombine edildiğinde konjestif kalp yetmezliği (KKY) riskini arttırması ve bu ilaçların kemik kırılması riskini (özellikle 70 yaş üzeri kadın hastalarda) arttırmalarıdır. Bu nedenle bu ilaçların KKY (rosiglitazon ve pioglitazon için) ve iskemik kalp hastalığı veya periferik arter hastalığı olanlarda ve akut koroner sendromu sırasında kullanılması (rosiglitazon için) önerilmez. Rosiglitazona başlamadan önce hastanın kardiyovasküler hastalık riski bakımından iyice değerlendirilmesi ve insülin rosiglitazon kombinasyonunun sadece istisnai durumlarda kullanılması tavsiye edilir. Pioglitazon CYP3A4 enzimini indükler, kendisi de bu enzimle yıkıldığı için, bu enzimi inhibe eden ketokonazol, eritromisin, itrakonazol ve diğer ilaçlarla, ayrıca bu enzimler tarafından yıkılan diğer ilaçlarla etkileşme potansiyeli vardır (Kayaalp, 2012).

4.8.2.3. α-glukozidaz inhibitörleri

İnce barsak epitelyum hücresinin apikal membranında bulunan "α-glukozidaz enzimi" besinlerle alınan poli ve disakkaritleri glukoz, fruktoz ve diğer monosakkaritlere hidroliz ederek sindirir ve karbonhidratları barsaklardan emilebilir hale getirir. "Akarboz" oligosakkarit, "miglitol" monosakkarit analoğudur ve bu enzime karbonhidratlardan bin kez veya daha yüksek afiniteyle bağlanarak, karbonhidratlarla kompetitif olarak yarışır ve onların bağlanmasını ve dolayısıyla emilerek kana geçmelerini engellerler (Kayaalp, 2012). α-glukozidaz inhibitörlerinin başlıca yan etkileri; şişkinlik, diyare, karın ağrısı gibi gastrointestinal yan etkilerdir (Harvey ve ark., 2009; Kayaalp, 2012). Akarboz 1995'de, miglitol ise 1996'da FDA onayı almıştır. Bu ilaçların günde birkaç kez uygulanmalarının gerekmesi ve gastrointestinal sistem üzerine yan etkilere sebep olmaları kullanımlarını kısıtlamaktadır (Okur ve ark., 2017). α-glukozidaz inhibitörleri inflamatuvar barsak hastalığı, kalın barsak ülserasyonu ve ince barsak tıkanması olan hastalar tarafından kullanılmamalıdır. Ayrıca bu ilaçlar, metforminin biyoyararlanımını azalttıkları için birlikte kullanılmamalıdırlar (Harvey ve ark., 2009).

4.8.2.4. İnkretin-mimetikler

İnkretinler insülin salgılatıcı ve çok kısa etkili, yarılanma ömürleri çok kısa (birkaç dakika olan) barsak hormonlarıdır (iki ana inkretin; glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) ve glukoza bağımlı insülinotropik peptid (GİP)'dir). İnkretinler kan dolaşımı içine salgılandıktan kısa bir süre sonra dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4) enzimi tarafından hızlı bir biçimde inaktivasyona uğrarlar. Bu özellikleri nedeniyle inkretine bağlı olarak geliştirilen farmakolojik stratejide, birincisi inkretin benzeri ama yarılanma ömrü daha uzun ilaçlar (GLP-1 agonistleri) ve ikincisi inkretinlerin etki sürelerini uzatmak için onları hızla yıkan DPP-4 enzimini inhibe etmek (DPP-4 inhibitörleri) olmak üzere iki amaç hedeflenmiştir (Kayaalp 2012; Okur ve ark., 2017). GLP-1 ve GİP pankreas β hücrelerinden insülin salgılanmasını stimüle eder, GLP-1 ayrıca pankreas α hücrelerinden glukagon salgılanmasını azaltır. Bu etkiler birlikte; tip 2 DM'si olan kişilerde glisemik kontrolün düzelmesine katkıda bulunur. DPP-4 inhibitörleri; inkretinlerin DPP-4 enzimi ile hızlı bir biçimde vücutta yıkılarak

inaktive edilmelerini engellemek suretiyle inkretinlerin etkinliğini arttırarak etkilerini gösterir. DPP-4 inhibitörlerine bağlı olarak fazla yan etki bildirimi yoktur ve düşük hipoglisemi riski gösterirler ve ağırlık üzerine belirgin bir etkileri yoktur. GLP-1 analogları HbA1c değerleri üzerine DPP-4 inhibitörlerine göre daha iyi düşme sağlar ve kilo kaybını stimüle ederler. Bununla birlikte endotel disfonksiyonlarını ve lipid profilini düzeltirler ve kan basıncını düşürücü etkileri de bulunmaktadır. İnkretin temelli tedavilerin, uyku, inflamasyon (reaktif protein düzeylerini düşürerek), merkezi sinir sistemi, karaciğer ve kardiyovasküler sağlık üzerine olumlu etkileri olduğunu gösteren kanıtlar da bulunmaktadır (Tan ve ark., 2019). Klinik çalışmalarla GLP-1 agonistlerinin tip 2 diyabet hastalarında kardiyovasküler yararlar sağladığı ve kardiyovasküler olayları azalttığının gösterildiği belirtilmektedir (Yehya ve Sadhu, 2018).

GLP-1 Agonistleri: Eksenatid, Liraglutid

DPP-4 İnhibitörleri: Sitagliptin, Vildagliptin, Saksagliptin, Linagliptin (Elçioğlu, 2019).

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

SGLT-2 inhibitörleri (gliflozinler olarak da adlandırılırlar) yeni kategorize edilmiş bir antidiyabetik ilaç grubudur. SGLT-2 inhibitörleri insanda böbreklerde proksimal tübüllerden glukozun geri emilimini engelleyen ve atılımını arttıran ve buna bağlı olarak kan glukozu düzeyini düşüren bir ilaç grubudur. Kanagliflozin 2013, Dapagliflozin 2014, Empagliflozin 2014 yılında FDA (Food and Drug Administration (Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Dairesi)) ve EMEA (European Medicines Agency (Avrupa İlaç Dairesi) tarafından tip 2 diyabet tedavisi için onaylanmıştır (Okur ve ark., 2017). Diyabetin herhangi bir evresinde kullanılabilirler çünkü insülinden bağımsız olarak etkilerini gösterirler. Bu ilaçlar, pankreas β hücrelerinin fonksiyonlarını geliştirebilir, insüline olan duyarlılığı arttırabilir ve glukozürinin sonucu olarak glukotoksisiteyi iyileştirebilirler. HbA1c seviyelerini %0,5-1 düzeyinde düşürebilir, kilo kaybına neden olur ve kan basıncını düşürürler. Bu ilaçlara bağlı olarak, idrar yolu enfeksiyonları, özellikle kadın hastalarda genital mantar enfeksiyonları ve hacim kaybına bağlı belirtiler gözlemlenebilir, SGLT-2

inhibitörleri, yaşlı hastalarda ve diüretik ilaç kullanan hastalarda reçetelendirilirken çok dikkatli olunmalıdır (Tan ve ark., 2019). Bununla birlikte SGLT-2 inhibitörlerinin antihiperglisemik etkinliklerinin yanında kilo kaybı ve kan basıncı düşürücü etkilerinin de bulunduğu ve bu ilaçların kardiyovasküler fizyolojiyi iyileştirdiği ve kardiyovasküler olayları azalttığı belirtilmektedir (Yehya ve Sadhu, 2018).

4.8.2.6. Kan glukozunu düşüren diğer ilaçlar

Kan glukozunu düşüren diğer ilaçlar arasında amilin analoğu pramlintid, dopamin-2 reseptör agonsiti bromokriptin, safra asidi bağlayıcı kolesevelam bulunmaktadır (Inzucchi ve ark., 2015). Pramlintid bir amilin analoğudur ve mide boşalmasını geciktirir, pankreatik glukagon salgılanmasını azaltır ve doygunluk hissi verir. FDA tarafından yetişkinlerde T1DM tedavisinde onaylanmıştır. Pramlintid ayrıca kilo vermeyi ve insülin dozunun azaltılmasını sağlar. Eşzamanlı prandiyal insülin dozunun azaltılması ciddi hipoglisemi riskini de azaltmaktadır (Chaudhury ve ark., 2017). Bromokriptin sempatolitik bir dopamin-2 reseptör agonistidir ve 2009 yılında diyet ve egzersize ek olarak T2DM tedavisi için onay almıştır (Quianzon ve Cheikh, 2012). Bromokriptinin kan glukozu düşürücü etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte insan ve hayvan çalışmaları, bromokriptinin hipotalamik sirkadyen ritmi değiştirdiğini ve sonuçta artmış glukoz toleransı ile birlikte insüline duyarlı bir duruma neden olduğunu göstermektedir. Kolesevelam bir safra asidi bağlayıcıdır ve Birleşik Devletler ve Avrupa'da T2DM tedavisinde onaylı bu gruptaki tek ilaçtır. Kolesevelamın kan glukozu düşürücü etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, karaciğer ve barsaklarda farsenoid X reseptörü üzerine etkileri ile endojen glukoz üretimini azaltabileceği, buna ek olarak inkretin hormonların salgılanmasını arttırabileceği belirtilmektedir (Stein ve ark., 2013).

4.8.2.7. Kombinasyon tedavisi

Kombinasyon tedavisine kan glukoz düzeylerinin daha hızlı ve daha etkili kontrolünü sağlamak ve tedavide kullanılan ilaçların dozlarını düşürmek amacıyla başlanır. Bu tip çoklu ilaç tedavisine tek ilaçla tedavi (monoterapi ile) kan glukoz düzeyi yeterli derecede kontrol altına alınamadığında başlanır. Eksojen insülin,

insülin dozlarını azaltmak amacıyla çeşitli oral antidiyabetik ilaçlarla kombine edilebilir. İnsülinin metformin veya tiazolidindionlarla kombinasyonu glisemik kontrolü geliştirdiği belirtilmiştir (bununla birlikte tiazolidindion grubu ilaçlar olan rosiglitazon ve pioglitazonun insülinle kombine edildiğinde konjestif kalp yetmezliği (KKY) riskini arttırdığı belirtilmiştir (Kayaalp, 2012)). Bazal insülin, GLP-1 agonistleri ile kombine edildiğinde, hastanın kilosu ile birlikte HbA1C seviyelerinde de düşme elde edilir. SGLT-2 inhibitörleri genellikle metformin veya diğer antidiyabetik ilaçlarla birlikte uygulanır. SGLT-2 inhibitörleri ayrıca hipoglisemi gelişme riskini yükseltmeden glisemik kontrolü geliştirmek, kiloyu düşürmek amacıyla DPP-4 inhibitörleri ile de birlikte kullanılır. Düşük doz metformin ve tiazolidindion sınıfı ilaçların kombinasyonunun prediyabetik bireylerin diyabetik olmasını önlemede etkili olduğu da gösterilmiştir (Tan ve ark., 2019).

4.8.3. Diyabette ilaç dışı tedavi yaklaşımları

Tip 1 DM için "cerrahi tedavi" uygulanmakta olup, başarılı bir "pankreas ve adacık naklinin", glukoz seviyelerini normalize ettiği ve tip 1 diyabetin mikrovasküler komplikasyonlarını azalttığı belirtilmektedir. Bununla birlikte söz konusu hastaların nakil reddini engellemek ve/veya tekrar otoimmün adacık harabiyeti yaşamamaları için ömür boyu immünosüpresif tedavi almaları gerekmektedir. İmmünosüpresif tedavinin istenmeyen etkileri sebebiyle pankreas nakli sadece eşzamanlı böbrek nakli olacak, böbrek naklini takiben veya sıkı glisemi kontrolüne rağmen tekrarlayan ketoasidoz veya ciddi hipoglisemisi olan tip 1 DM hastaları ile sınırlandırılması önerilmektedir (American Diabetes Association, 9. Pharmacolocigal Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Medical Care in Diabetes-2022). Tip 2 DM tedavisinde ise "metabolik cerrahi" uygulanmakta olup, bu metot vücut kitle indeksi (VKİ) ≥40 kg/m^2 veya Asya kökenli Amerikalılarda (VKİ) ≥37.5 kg/m^2 ve cerrahi olmayan metotlar uygulanmasına rağmen uzun süre kilo kaybı olmayan ve ek hastalıklarında artma olduğu belirlenen VKİ 35.0-39.9 kg/m^2 veya Asya kökenli Amerikalılarda VKİ 32.5-37.4 kg/m^2 olan adaylara uygulanır. Obezite için yapılan ve "metabolik cerrahi" olarak ifade edilen bu metot tip 2 DM hastalarında ciddi ve uzun süreli kilo kaybı ve hiperglisemi ve glukoz homeostazındaki iyileşme ile tip 2 DM'yi

iyileştirir. Bu metot obezite, diyabet ve gastrointestinal cerrahi konusunda uzmanlaşmış ve tecrübeli multidisipliner takımların bulunduğu büyük merkezlerde yapılmalı, "metabolik cerrahi" geçiren kişiler uzun süre tıbbi ve davranışsal destek almalı ve beslenme ve metabolik durumları rutin olarak kontrol edilmelidir (American Diabetes Association. 3. Prevention and Delay of Type 2 Diabetes and Associated Comorbidities: Standards of Medical Care in Diabetes 2022).

Yukarıda verilen metotların dışında güncel keşifler ile diyabet tedavisinde "gen tedavisi"nin ve "kök hücreler"in diyabette bireyselleştirilmiş müdahaleler için daha iyi klinik sonlanım ve daha az istenmeyen etki potansiyeline sahip olası tedavi hedefleri olabileceği belirtilmektedir (Tan ve ark., 2019).

4.8.4. Diyabet tedavisinde bitkilerin kullanımı

Tıbbi bitkiler uzun yıllardır geleneksel olarak DM tedavisinde kullanılmaktadır (Elavarasi ve ark.., 2013). Bununla birlikte günümüzde T2DM'nin önlenmesi ve yönetiminde tıbbi bitki takviyelerinin kullanımının etkinliğine dair kanıtlar giderek artmaktadır (Pivari ve ark., 2019). Son birkaç on yılda dünyanın çeşitli ülkelerinde doğa ve canlı dostu, maliyet etkin, göreceli olarak güvenli bitki kökenli tedaviler, eskiye kıyasla, geleneksel tıbbi yöntemlerdeki araştırmalar ile yaygın olarak tedavide kullanıma başlanmıştır (Desmukh ve Jain, 2015; Pang ve ark. 2015). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), tıbbi amaçlı kullanılan 21.000 bitki listelemiş olup, bu bitkilerin 2500 türünün Hindistan'da bulunduğu, bunların 150'sinin ticari olarak yüksek ölçekte kullanıldığı ve Hindistan'ın tıbbi bitkilerin en büyük üreticisi olduğu ve dünyanın botanik bahçesi olarak anıldığı belirtilmektedir (Desmukh ve Jain, 2015). Dünyada ve ülkemizde hipoglisemik özellikleri belirlenmiş yüzlerce bitki türü tespit edilmiştir (Hazer ve Hamamcıoğlu, 2017). Dünya'da en az 1.200 bitki türünün antidiyabetik özelliklerinden yararlanmak amacıyla geleneksel olarak kullanıldığı, bunların yalnızca 450 tanesinin etkinliğinin keşfedilmesi için çalışıldığı ve sadece 109'unun etki mekanizmasının analiz edildiği belirtilmiştir (Rugerio-Escalona ve ark., 2018).

Ülkemizde de çeşitli bölgelerde kan glukozu düzeyini etkileyen çeşitli bitkilere başvurulduğu bilinmekte ve ayrıca tıbbi bitkilerin antidiyabetik etkinliklerinin belirlenmesi üzerine bilimsel çalışmalar yapılmaktadır (Çam ve ark., 2019; Çam,

2017). Günümüze dek bilimsel çalışmalara konu olmuş 1050'den fazla bitki bulunmuş ve bu bitkilerin 300'ünden aktif antidiyabetik bileşikler izole edilmiştir. Bu çalışmalarda bileşiklerin tümü tanımlanamamış olup, aktif prensiplerin tanımlanması, yapıların anlaşılması ve ilişkili aktiviteleri, canlı üzerindeki etkileri ve diğer moleküller ile etkileşimleri, tedavi edici ajanların geliştirilmesi bakımından büyük önem arz etmektedir (Hazer ve Hamamcıoğlu, 2017). Yapılan hayvan deneylerinde tıbbi bitkilerin hipoglisemik özelliklerini pankreatik dokularda insüline hassasiyeti arttırmak, glukozun barsaklardan emilimini inhibe etmek, insülin seviyelerini yükseltmek suretiyle gösterdikleri belirtilmektedir (Sarıkaya ve ark., 2010). Bununla birlikte ayrıca bazı tıbbi bitkilerin antidiyabetik etkinliklerini karaciğerde AMP-aktif protein kinaz, pankreasta glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) seviyelerini yükseltmek, karaciğer ve ileumda GLUT-2, ileumda α-glukozidaz, böbreklerde sodyum glukoz ko-transporter-2 seviyelerini düşürmek gibi çeşitli yollar üzerinden gösterdikleri de tespit edilmiştir (Çam, 2017; Çam ve ark., 2019). Ayrıca, tıbbi bitkilerin taşıdıkları tanen, flavonoid, C vitamini, E vitamini vb. antioksidan etkili bileşiklerle pankreas β hücrelerini ve fonksiyonlarını reaktif oksijen ürünlerine karşı koruduklarını düşünülmektedir. Ülkemizde yapılan araştırmalarda çeşitli bölgelerde kan glukozu düşürücü etkinliği bakımından en çok kullanılan tıbbi bitkilerin *Urtica dioica, Rosa canina, Teucrium polium, Cerasus mahaleb* ve *Viscum album* olduğu belirlenmiştir. Yukarıda da belirtildiği gibi bu bitkilerdeki aktif bileşikler ve onların etki mekanizmaları, canlı üzerindeki etkileri ve diğer molekülerle etkileşimleri gibi etkilerinin, bu bitkilerden tedavi edici ajanların geliştirilmesi için bilimsel çalışmalarla aydınlatılması ve anlaşılması gerekmektedir (Sarıkaya ve ark., 2010).

4.8.4.1. *Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *brachycalyx* P.H.Davis

Micromeria fruticosa, Micromeria cinsinin en iyi bilinen alttürlerinden birisidir ve bu bitkiler Lamiaceae familyasına ait olup, ülkemizin de içinde bulunduğu doğu Akdeniz kıyılarında doğal olarak yetişmekte ve bölge halkları tarafından diyabet tedavisi de dahil pek çok hastalığın (özellikle öksürük gibi solunum sistemi hastalıkları, idrar yolu hastalıkları, farklı tiplerde paraliz, sinir sistemi hastalıkları,

baş ağrısı ve ateş gibi) tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. *Micromeria fruticosa* subsp. *brachycalyx* (Resim 1)'in uçucu yağında en fazla oranda linalool, piperitenon, pulegon, 1,8-sineol ve menthon içerdiği rapor edilmiştir (Azap, 2016).



Resim 1. *Micromeria fruticosa* subsp. *brachycalyx*
(http://vanherbaryum.yyu.edu.tr/flora/azortandir/micromeriafrbr/index.htm, Erişim Tarihi: 28.06.2022)

4.8.4.2. *Teucrium polium* L.

Teucrium türleri 2000 yılı aşkın süredir tıbbi bitki olarak kullanılmakbağcıtadır (Bagci ve ark., 2010). *Teucrium polium* (kısamahmutotu) Lamiaceae familyasına ait olup, ülkemizin de içinde bulunduğu Akdeniz havzasında doğal olarak yetişmekte ve bölge halkları tarafından diyabet tedavisi dâhil pek çok hastalığın (böbrek hastalıkları, karaciğer hastalıkları, hemoroid, hiperlipidemi, dismenore, baş ağrısı,

konvülsiyon ve antibakteriyel amaçlı kullanım gibi) tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir (Özer ve ark., 2018; Abadian ve ark., 2016). Çeşitli çalışmalarda *Teucrium polium*'un geleneksel olarak diüretik, diyaforetik, tonik, antipiretik, analjezik, antispazmodik, antirömotik, kolagog, antibakteriyel, antidiyabetik ve antihiperlipidemik özellikleri için ve gastrointestinal hastalıklarda ve inflamasyonlarda kullanıldığı gösterilmiştir (Ljubuncic ve ark., 2006; Bahramikia ve Yazdanparast, 2012; Albadr ve ark., 2022). Bununla birlikte *Teucrium polium*'un ülkemizde diyabet tedavisinde halk arasında en sık kullanılan bitkiler arasında yer aldığı belirtilmektedir (Karaman ve Elgin Cebe, 2016).

Çeşitli araştırmalarla *Teucrium polium*'un (Resim 2) tanen, terpenoid, saponin, flavonoid, sterol, β-karyofilen, diterpenoidler, karyofilen oksit, asparajin, ditriyen ve resinöz bileşikler içerdiği gösterilmiştir (Khazaei ve ark., 2018). Bununla birlikte *Teucrium polium*'un uçucu yağının α-pinen, α-thujen, β-pinen, β-fellandren, mirisen, limonen, (Z)-β-farnesen, germakren D, β-bisabolen, δ-kadinen, α-farnesen, β-gurjunen, leden ve β-selinen içerdiği rapor edilmiştir (Sevindik ve ark., 2016).



Resim 2. *Teucrium polium* (Khazaei ve ark., 2018).

Çalışmamızda halk tarafından diyabet tedavisinde kullanıldıkları belirtilen bu bitkilerin antidiyabetik etkinliklerinin ve etki mekanizmalarının bilimsel yöntemlerle araştırılması ve aydınlatılması amaçlandı.

4.9. Diabetes Mellitus Hayvan Deneyi Modelleri

4.9.1. Tip 1 diabetes mellitus hayvan deneyi modelleri

Tip 1 DM'de en sık kullanılan hayvan deneyi modelleri "kimyasalla indüklenen", "spontan", "transgenik" ve "virüsle indüklenen" modeller olarak dört ana grupta toplanabilir. Transgenik modellerde Akita fareleri, HLA-A 02:01-transgenik NOD fareleri, Knock-out/in homozigot/heterzigot modeller (IR, IRS, GK, PPAARg, GLUT4) kullanılmaktadır. Virüsle indüklenen modellerde ise Koksaki B virüsü, Encephalomyocarditis virüsü, Kilham rat virüsü vb. virüslerden yararlanılmaktadır (Yarat, 2021). En çok kullanılan spontan otoimmün deney hayvanları nonobez diyabetik (NOD) fare ve diyabete yatkın biyo-üretim (BB) sıçan, Komeda diyabete yatkın (KDP) sıçan, The Long Evans Tokushima Lean (LETL) sıçan ve LEW-iddm sıçandır (Kottaisamy ve ark., 2021). Spontan diyabetik hayvanlarda gelişen DM otoimmün şekilde olması nedeniyle insanlarda görülen Tip 1 DM'ye benzer özellikler sergilemesine rağmen hayvanların doğumlarından sonra diyabet tablosunun gelişmesi için zamana ihtiyaç duyulması, diğer otoimmün patolojilerin de eşlik edebilmesi ve pahalı olması gibi kısıtlılıklara sahiptir. Kimyasal maddelerle diyabetin indüklenmesi ise hem kısa süre almaktadır hem de maliyeti düşüktür (Demir, 2014). Bu amaçla deney hayvanlarında sıklıkla kullanılan kimyasal ajanlar; pankreas β hücreleri üzerinde harabiyete neden olan streptozotosin ve alloksandır (Yarat, 2021; Kurçer ve Karaoğlu, 2012). Bu amaçla; alloksan erişkin fare ve sıçanlarda 40-65 mg/kg i.v. tek doz, streptozotosin erişkin sıçanlarda 35-80 mg/kg tek doz i.v., i.p. veya s.c. uygulanır (Kurçer ve Karaoğlu, 2012).

4.9.2. Tip 2 diabetes mellitus hayvan deneyi modelleri

Tip 2 DM'de en sık kullanılan hayvan deneyi modelleri; "spontan", "cerrahi yöntemle", "diyetle", "hormonlarla", "anne karnında malnütrisyonla", "transgenik" ve "kimyasalla" indüklenen modeller olmak üzere yedi ana grupta toplanabilir. Cerrahi yöntemlerde pankreatektomi, hipotalamik lezyon gibi yöntemler uygulanırken, hormonlarla indüklenen tip 2 DM'de glukagon ve glukokortiokidler gibi insülin karşıtı hormonların yüksek dozları, hiperinsülinemiye uzun süreli maruziyet ve benzerleri gibi uygulamalar kullanılmaktadır. Bununla birlikte

sıçanlarda fetal ve neonatal periyotlarda protein malnütrisyonu "anne karnında malnütrisyon" yöntemiyle, "transgenik" modellerde ise hIAPP (human islet amyloid polypeptide (insan adacık amiloid polipeptidi)) fareleri, Akita fareleri, "spontan" modellerde ise ağır hiperglisemili (db/db fare, Rhesus maymunu, çöl kemirgenleri), orta derecede hiperglisemili (ob/ob fareler ve diğer obez fareler) deneysel olarak tip 2 DM modeli çalışmak amacıyla kullanılmaktadır (Yarat, 2021). Yukarıda da belirtildiği gibi tip 1 DM modeli olarak kullanılanlara benzer şekilde tip 2 DM için de spontan diyabetik hayvan soyları söz konusudur ve bu soylarda tip 2 DM fizyopatogenezinde rol oynayan periferik insülin direnci ve bozulmuş insülin salgılanması gözlendiği belirtilmektedir (Demir, 2014). Bununla birlikte yüksek kalorili veya yüksek yağlı diyet uygulanması ve/veya kimyasal ajanların uygulanması yoluyla tip 2 DM modeli oluşturulması son yıllarda en sık rastlanılan yöntemlerdendir (Srinivasan ve Ramarao, 2007; Premilovac ve ark., 2017; Balbaa ve ark., 2017; Stephen Irudayaraj ve ark., 2017). Bu yöntemde kullanılan diyet (gerek içeriği gerekse süresi bakımından) ve kimyasal ajan ve dozu, hayvan türüne, yaşına ve araştırmacıya göre değişmekte olup, tam olarak standardize tek bir yöntem bulunmamaktadır. Tip 1 ve tip 2 DM modeli oluşturmak amacıyla kimyasal madde olarak sıklıkla kullanılan stretozotosin ve alloksan için fare ve sıçanlarda kullanılan modelleri için bir özet aşağıda Tablo 9'da verilmiştir (Kurçer ve Karaoğlu, 2012).

4.9.3. Deneysel diyabet modeli oluşturmak amacıyla streptozotosin ve alloksan'ın kullanımı ve bu kimyasal ajanların etki mekanizmaları

Streptozotosin (STZ) ve alloksan deneysel diyabet modeli çalışmak amacıyla en yaygın kullanılan kimyasal ajanlardır. Bu ajanlar; pankreas bezi langerhans adacıklarındaki β hücrelerinde harabiyet oluşturarak, hiperglisemik ve hipoinsülinemik duruma neden olurlar ve bu ajanların subkütan (s.c.), intraperitoneal (i.p.) veya intravenöz (i.v.) gibi parenteral yollarla verilmesi yoluyla diyabet oluşturulabilir (Yarat, 2021; Erbaş, 2015).

Alloksan (2, 4, 5, 6-tetraoksiprimidin; 2, 4, 5, 6-pirimidintetron); ürik asit türevi antineoplastik bir ajandır. Toksik etkisi özellikle pankreas β hücrelerine özgüdür. Alloksan ve indirgenme ürünü olan diyalürik asit, hidrojen peroksit ve süperoksit

radikali gibi serbest radikallere dönüşür ve bu serbest radikaller pankreas β adacıklarında şiddetli kalsiyum yükselmesine neden olarak, adacık üzerinde toksisite oluştururlar (Erbaş, 2015). Glukozla uyarılan insülin salgılanmasını inhibe eder; yüksek dozlarda ise β hücrelerinde nekroz yapar. Alloksan glukoz taşıma mekanizması ve glukoreseptörler üzerinden etkilidir ve bu etkileri beslenme ile alınan şekerlerin de bu glukoreseptörler için yarışması nedeniyle şekerler tarafından inhibe edilebilir (İrer ve Alper, 2004). Çünkü alloksan yapı bakımından glukoza benzer ve β hücre membranında bulunan glukoz transporter 2 molekülü (GLUT-2), glukoz gibi alloksanın da β hücrelerinin içine girmesini ve alloksanın diyabetojenik etkisinin temelini ve pankreas üzerine etkisinin hız kısıtlayıcı basamağını oluşturur (Kurçer ve Karaoğlu, 2012). Alloksan, β hücre fonksiyonu için gerekli olan protein kinaz, hekzokinaz ve sülfidril enzimleri ile etkileşir; alloksanın yaptığı inhibisyona özellikle glukokinaz diğerlerinden daha duyarlıdır. Alloksanın primer hücre içi hedefi glukokinazın sülfidril grupları olabilir ve bu yolla β hücrelerinde toksisiteye neden olabilir. Alloksan ayrıca mitokondriyal taşıma sistemlerini inhibe ederek, hücre içi pH'nın yükselmesine ve hücre ölümüne yol açmaktadır. Alloksan bununla birlikte yukarıda da belirtildiği gibi serbest radikal hasarı da oluşturur (İrer ve Alper, 2004). Özet olarak alloksan, diyabet oluşturan etkisini iki temel mekanizma ile meydana getirmektedir, bunlar; (1) alloksanın glukokinaz (hekzokinaz IV) enzimini seçici olarak inhibe etmesiyle glukoz tarafından indüklenen insülin salgılanmasını durdurması ve diğeri (2) alloksanın β hücreleri üzerine seçici olarak nekroz yapmasıdır. Alloksanın diyabetojenik doz aralığı oldukça dardır ve çözeltisi fizyolojik pH'da stabil değildir, çözeltisi 4ºC'nin altında saklanmalıdır (Kurçer ve Karaoğlu, 2012). Alloksan çok az yüksek bir dozda bile mortaliteye neden olabilmektedir. Bu mortalitenin nedeni alloksanın böbrek tübül hücreleri üzerine toksik etkisi ve buna bağlı olarak böbrek yetmezliğine neden olmasıdır (Erbaş, 2015). Alloksan genellikle insüline bağımlı tip 1 DM modeli oluşturmak amacıyla kullanılmaktadır. Alloksan'a bağlı olarak ketozis ve mortalite riski daha yüksek olduğundan, pankreas rejenerasyonuna bağlı olarak hipergliseminin geri dönebilir olmasından ve streptozotosinin β hücreleri üzerine etkisinin daha spesifik olmasından dolayı tip 2 DM modeli oluşturmada streptozotosin alloksana tercih edilir (İrer ve Alper, 2004; Kurçer ve Karaoğlu, 2012). Alloksanın diyabet oluşturmak için

sıçanlarda intravenöz (i.v.) dozu 40-65 mg/kg'dır. İntraperitoneal (i.p.) veya subkütan (s.c.) etkin dozları daha yüksek tutulmalıdır (Erbaş, 2015; İrer ve Alper, 2004; Kurçer ve Karaoğlu, 2012). i.p. doz 150 mg/kg altında tutulduğunda diyabet oluşturulamayabilir. Alloksanın fareler için dozu i.v. 100-200 mg/kg düzeyindedir (Erbaş, 2015).

Streptozotosin (STZ) (2-Deoksi-2-([(metilnitrozoamino)karbonil]amino)-D-glukopiranoz); 1950 yılında *Streptomyces sachromogenes* mantarından izole edilmiş, nitrozüre analoğu alkilleyici bir neoplastik ajandır. Yapıca glukoza oldukça benzemektedir ve glukoz taşıyıcısı 2 (GLUT-2) aracılığıyla pankreas β hücrelerine alınır, burada DNA'da alkillenme oluşturarak hücrelerde ölüme neden olur (Erbaş, 2015; Kurçer ve Karaoğlu, 2012).

Pankreas β hücresindeki DNA STZ'nin hedefidir. Hücre içinde STZ'nin nitrozüre gruplarının yapıdan ayrışması ile reaktif karbonyum iyonları meydana gelir ve bu yapılar DNA bazlarını alkillerler. Bu reaksiyonu takiben DNA'nın tamirinde işlevi olan poli(ADP-riboz) polimeraz (PARP) hücre içindeki nikotinamid adenin dinukleotidi (NAD) kullanır ve NAD depolarını boşaltır ve ATP içeriğini azaltır. Hücrenin enerji depolarının bu şekilde tüketilmesi β hücrelerinde nekroza yol açar. Adacık hücrelerinin ekzojen NAD ve PARP inhibitörleri ile tedavi edilmesi STZ'nin diyabet oluşturucu etkilerine karşı koruyucu niteliktedir. STZ de alloksan gibi yükseltgen özelliğe sahiptir. Eritrositlerde ise süperoksit dismutaz (SOD) düzeyleri ile β hücrelerinde glutatyon (GSH) düzeylerini düşürür. STZ pankreas dokusu gibi ve karaciğer ve böbreklere de hasar verir (İrer ve Alper, 2004; Kurçer ve Karaoğlu, 2012).

STZ, gerek tip 1 gerekse tip 2 DM modelleri oluşturmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. İrritasyon yaptığından uygulama esnasında damar dışına sızdırılmamalı ve -20ºC'de ışıktan korunarak saklanmalıdır. STZ nötral pH'da hızla dekompoze olduğundan, çözeltisi uygulamanın hemen öncesinde pH'sı 4 sitrat tamponu içinde çözülerek taze olarak hazırlanmalı ve 4ºC'de ışıktan korunarak bekletilmeden kullanılmalıdır. Parenteral (i.v. veya i.p.) olarak sıçanlarda 50-100 mg/kg dozunda uygulanabilir. Yaşları büyüdükçe kemirgenlerdeki etkinliği azalmaktadır. Dozaj, çoklu ve düşük dozlar (5 mg/kg/gün) halinde birbirini takip

eden 5-6 gün boyunca uygulanabilir (subdiyabetojenik doz). STZ ile tip 2 DM modeli oluşturulmasında temel olarak üç yöntem izlendiği söylenebilir (Kurçer ve Karaoğlu, 2012). Bunlardan ilki yeni doğan özellikle doğumun ilk haftası ve özellikle 1. veya 2. günde yüksek doz STZ (100 mg/kg gibi) uygulanmasıdır (Öntürk ve Özbek, 2007; Kurçer ve Karaoğlu, 2012). Yetişkin hayvanlarda STZ uygulaması ile tip 2 DM oluşturulmasında ise başlıca iki temel yöntem belirtilmektedir (Kurçer ve Karaoğlu, 2012). Bunlardan ilki deney hayvanına STZ (45-65 mg/kg gibi değişen dozlarda) ile birlikte koruyucu olarak NAD (110-230 mg/kg gibi değişen dozlarda) uygulanması ve deney hayvanında belirli bir süre yüksek kalorili/yüksek yağlı diyet uygulanmasını (2, 4, 6 veya 8 hafta gibi değişen sürelerde) takiben düşük doz STZ (25, 30, 35, 40 mg/kg gibi değişen dozlarda) uygulanmasıdır (İrer ve Alper, 2004; Kurçer ve Karaoğlu, 2012; Skovsø, 2014; Nayak ve ark., 2014; Garabadu ve Krishnamurthy, 2014).

Yukarıda da belirtildiği gibi gerek tip 1, gerekse tip 2 DM modeli oluşturmak amacıyla kullanılan ajanın uygulama sıklığı, uygulama şekli ve dozu ve uygulanan diyetlerin içeriği ve uygulama süresi gerek araştırmada kullanılan deney hayvanı, gerekse araştırmacıya göre değişmekte olup, standart tek bir uygulama metodu söz konusu değildir (Federiuk ve ark., 2004; Öntürk ve Özbek, 2007; Lucchesi ve ark., 2015; Nayak ve ark., 2014; Yu ve ark., 2016; Zhang ve ark., 2008; Zhang ve ark., 2003; Srinivasan ve ark., 2005; Matsui ve ark., 2017).

STZ ve alloksan uygulaması arasında belirli bazı farklar şunlardır:

1. STZ'ye kıyasla, alloksan ile saptanan kan glukozu düzeyleri daha yüksektir.

2. Alloksana oranla STZ ile trifazik kan glukozu yanıtı genellikle bir saat daha geç ortaya çıkar. Kimyasal ajan uygulanmasına bağlı oluşturulan diyabet modellerinde kan glukozunda görülen söz konusu trifazik yanıt aşağıda verilmiştir.

3. Ketozis alloksan uygulanması ile daha sık görülür.

4. Diyabetojenik ajan uygulamasını takiben birkaç ay sonunda β hücrelerinin yenilenmesi veya adacık hücre adenomu gelişmesi sonucu kan glukozu düşmeye başlayabilir. STZ ile oluşturulan diyabette bu onkojenik etki (adenom riski) alloksana kıyasla daha fazladır (STZ ile adenom riski %5-99 arasında değiştiği belirtilmektir).

Bu sebeple uzun süreli diyabet oluşturulması ve/veya kronik komplikasyonların incelenmesinde alloksan ile oluşturulan diyabet daha avantajlıdır.

5. STZ ile oluşturulan diyabette nöropati daha şiddetlidir.

(İrer ve Alper, 2004).

Diyabetojenik ajan uygulanması sonrası kan glukozu düzeyinde üç fazlı yanıt oluşmaktadır.

1. Geçici hiperglisemi fazı: Karaciğerde glikojenin ani yıkılmasına bağlı olarak ilk 2 saatte oluşan kan glukozu yükselmesidir. Uygulamadan önce deney hayvanı 12-18 saat aç bırakılırsa bu durum azaltılabilir. Plazma insülin düzeyleri bu dönemde düşüktür.

2. Şiddetli hipoglisemi fazı: Diyabet oluşturan ilaç uygulamasından yaklaşık 6 saat sonra başlayan ve takip eden ilk 24 saat içindeki ölümlere neden olan bu hipoglisemidir. Bu nedenle diyabet indüksiyonundan sonraki ilk 24 saatlik dönemde deney hayvanına glukozlu sıvı (örneğin %10 glukoz çözeltisi gibi) verilmesi önerilir. Pankreas β hücrelerinin ölmesini takiben kana yüksek düzeyde insülin geçmesine bağlıdır ve insülinin plazma düzeyleri oldukça artmıştır. Deney hayvanları aç ise bu etki daha da şiddetlidir, bu nedenle şiddetli hipoglisemiye bağlı ölümlere engel olabilmek için diyabet oluşturan ajanın tok karnına uygulanması da önerilmektedir.

3. Kalıcı hiperglisemi fazı: Bu faz diyabet oluşturan ajanın uygulanmasından 10-12 saat sonra görülen plazma insülin düzeylerinin düştüğü fazdır ve plazma insülin düzeyleri aylarca düşük düzeylerde seyreder (İrer ve Alper, 2004).

Yukarıda verilen ve gerek alloksan gerekse STZ uygulamasını takiben görülen trifazik glukoz yanıtına ek olarak, "alloksan enjeksiyonun"dan 30 dakika sonra başlayan "Başlangıç Hipoglisemi" fazı adı verilen bir faz daha bulunmaktadır (literatürde bu nedenle alloksan uygulaması ile oluşturulan diyabet modelinde STZ ile oluşturulan diyabet modelinden farklı olarak "tetrafazik bir glukoz yanıtı" oluştuğu belirtilmektedir). Bu fazın, glukokinaz inhibisyonu ile ATP elde etmek için gerekli olan glukoz fosforilasyonunun bloke edilmesi sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Glukokinaz STZ tarafından inhibe edilmediği için; STZ uygulamasında bu faz görülmez (Kurçer ve Karaoğlu, 2012).

Tablo 9. Tip 1 ve tip 2 DM oluşturmak için fare ve sıçanlarda alloksan ve streptozotosin (STZ)'nin kullanım şekilleri ve dozları (Kurçer ve Karaoğlu, 2012)

	Deney Hayvanı	**Tip 1 DM**	**Tip 2 DM**
Alloksan	Sıçan	40-65 mg/kg tek doz i.v. 150 mg/kg ve üzeri dozlarda tek doz i.p. 75 mg/kg 5 gün i.p. 80 mg/kg 2 gün i.p.	Erişkinde: 120 mg/kg tek doz i.p Yeni doğanda: 200-250 mg/kg tek doz i.p (29,30) Fare
	Fare	40-65 mg/kg tek doz i.v. 200 mg/ kg tek doz i.p. 50 mg/kg 5 gün i.p.	*
Streptozotosin (STZ)	Sıçan	Erişkinde: 35-80 mg/kg tek doz i.v., i.p., s.c. 40 mg/kg tek doz i.m.	Yeni doğanda: 100 mg/kg tek doz i.v., i.p., s.c. Erişkinde: 65 mg/kg i.v. + 110-230 mg/kg i.p. NA 35 mg/kg tek doz i.p., + 2 hafta sureli yüksek yağlı diyet 30 mg/kg iki doz i.p., + 4 hafta sureli yüksek yağlı diyet 60 mg/kg i.v. + 2 hafta sureli yüksek yağlı diyet
	Fare	Erişkinde: 60-150 mg/kg tek doz i.p.	* Erişkinde: 65 mg/kg i.v. + 150 mg/kg i.p. NA 40 mg/kg i.p. + 5 hafta sureli yüksek yağlı diyet 90-100 mg/kg i.p.+ 3 hafta sureli yüksek yağlı diyet

i.v.: intravenöz, i.p.: intraperitoneal, NA: Nikotinamid

*: Farelerde tip 2 diyabet modeli oluşturmak için obez (ob/ob, db/db) veya non obez (C57BL/6, ALS/Lt) spontan modeller tercih edilmektedir.

4.9.4. Deneysel diyabet modeli oluşturmak amacıyla yüksek enerji içerikli/yüksek yağlı diyet uygulanması

Tip 2 DM, yukarıda da belirtildiği gibi obezite, insülin direnci ve bu durumlarla birlikte pankreas β hücre kitlesi ve fonksiyonunda azalma ile güçlü bir biçimde ilişkilendirilmiştir. Bu hastalığın erken fazında hastalar sıklıkla insüline duyarlılığın azaldığı bir obezite döneminden geçmektedirler. Periferik dokularda insüline duyarlılığın azalması ve pankreas β hücrelerinin bu durumu telafi etmek amacıyla aşırı bazal insülin salgılaması, hiperinsülinemi ve bunu takiben hastalığın ilerleyen dönemlerinde β hücrelerin yetersiz kaldığı ve vücutta insülin düzeyinin azaldığı tip 2 DM gelişir (American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2022; Demir, 2014). Tip 2 DM'yi taklit etmek amacıyla öncelikle vücutta hiperinsülinemi, dokularda insülin ve/veya glukoz direncini geliştirmek için yüksek yağlı diyet (high fat diet (HFD)) veya bazı durumlarda yüksek şeker içerikli diyetle tedavi ve bunu takiben pankreasın fonksiyonel β hücrelerinin kütlesinde ve fonksiyonlarında ciddi azalmaya neden olan STZ uygulaması ile oluşturulan "Yüksek Yağlı Diyet ve STZ Kombinasyonu" metodu, güncel yayınlarda en sık kullanılan tip 2 DM metotları arasında olduğu

görülmektedir (Skovsø, 2014; Premilovac ve ark., 2017; Matsui ve ark., 2017; Srinivasan ve Ramarao, 2007; Srinivasan ve ark., 2005).

Doymuş yağlardan ve basit şekerlerden (sükroz gibi) zengin diyetle besleme deney hayvanlarında insülin düzeylerini yükseltebilir, yağ dokusunda depolanmayı arttırıp, insüline duyarlılığı azaltıp, glukoz toleransını bozabilir (İrer ve Alper, 2004). Yüksek yağlı diyetle beslenme insanlarda da benzer biçimde obeziteye, vücutta yağ dokusunun artmasına, hiperinsülinemiyi kapsayan dolaşım bozukluğuna, insülin direncine, dislipidemiye, inflamasyonlu ve disfonksiyonel yağ dokusuna, kaslarda ve karaciğerde ektopik yağ birikimine ve pankreas β hücrelerinde yetmezliğe neden olur. Prediyabetik bireylerdeki obezite, insülin direnci ve/veya glukoz intoleransı dönemi deney hayvanlarına uygulanan "Yüksek Yağlı Diyet" veya "Batı Tarzı Diyet" ile beslenme döneminde taklit edilir. Bu durum uygulamanın süresine bağlılık göstermekte olup, diyetin süresi çalışmaya göre değişmektedir (uzun süreli diyet ≥3 ay veya kısa süreli diyet (2-4 hafta gibi)) (Skovsø, 2014). Uygulanan diyetin süresi gibi diyetin içeriği ve STZ dozu da çalışmalar arasında farklılık göstermekte olup, "Yüksek Yağlı Diyet + STZ Metodu" için tek bir standart metot yoktur. Bu metotta STZ uygulanması ise (parenteral olarak 25, 30, 35, 40 mg/kg gibi değişen dozlarda) tip 2 DM'nin daha ileri dönemlerinde görülen pankreas β hücre harabiyetini oluşturmakta ve bu şekilde bu metot ile insandakine benzer bir tip 2 DM profili taklit edilmektedir (Skovsø, 2014; İrer ve Alper, 2004; Öntürk ve Özbek, 2007; Kurçer ve Karaoğlu, 2012).

4.9.5. Deneysel diyabet modeli oluşturmak amacıyla streptozotosin ve nikotinamid (STZ + NA) enjeksiyonu uygulanması

Son yıllarda tip 2 DM modeli oluşturmak amacıyla sıklıkla kullanılan bir diğer metot da deney hayvanlarına strezptozotosin ile birlikte nikotinamid enjeksiyonunun uygulanmasıdır. Bu amaçla; deney hayvanına 110-240 mg/kg gibi değişen bir doz aralığında nikotinamid (NA) (i.p. veya i.v. enjeksiyon yoluyla) uygulanmasını takiben 15 dakika gibi kısa bir süre sonra 45-100 mg/kg gibi değişen bir doz aralığında streptozotosin (STZ) (i.p. veya i.v. enjeksiyon yoluyla) uygulanır. Bu metotta uygulanan STZ ve NA dozları kullanılan deney hayvanı ve araştırmacıya

göre değişmekte olup, tam olarak standardize tek bir yöntem bulunmamaktadır (Nayak ve ark., 2014; Yu ve ark., 2016; Garabadu ve Krishnamurthy, 2014; Çelikyurt ve ark., 2014). Bu metotta daha önce de belirtildiği gibi NA'nın STZ'nin diyabet oluşturucu etkinliğine karşı koruyucu etkisinden yararlanılmaktadır. STZ; nitrozoüre grubu taşıyan alkilleyici bir neoplastik ajandır ve hücre içinde STZ'nin nitrozoüre gruplarının yapıdan ayrışması ve reaktif karbonyum iyonlarının meydana gelmesini takiben, bu yapılar pankreas β hücrelerinin DNA bazlarını alkiller. Bu reaksiyonu takiben DNA'nın tamirinde işlevi olan poli(ADP-riboz) polimeraz (PARP) hücre içindeki nikotinamid adenin dinükleotid (NAD)'yi kullanır ve NAD depolarını boşaltır ve ATP içeriğini azaltır. Hücrenin enerji depolarının bu şekilde tüketilmesi β hücrelerinde nekroza yol açar. Adacık hücrelerinin ekzojen NAD ve PARP inhibitörleri ile tedavi edilmesi STZ'in diyabetojen etkilerine karşı koruyucu nitelikte olup, deney hayvanlarında tip 2 DM modeli oluşturmak amacıyla kullanılan bu metodun temelini oluşturur (Kurçer ve Karaoğlu, 2012). Yetişkin sıçanlarda STZ/NA ile indüklenen tip 2 DM modeli tıbbi bitkilerin olası antidiyabetik aktivitelerinin belirlenmesi için en uygun deneysel modellerden biri olarak tanımlanmış olup, çalışmamızda dişi erişkin Sprague Dawley sıçanlara 100 mg/kg NA i.p. enjeksiyonunu takiben 15 dakika sonra 55 mg/kg STZ i.p. enjeksiyonu ile tip 2 DM modeli oluşturuldu (Çam, 2017).

4.10. Biyokimyasal Analiz İle Aktivitelerine Bakılacak Yapılar

4.10.1. İnsülin

Tip 2 DM'de insülin direnci ve zamanla pankreas β hücrelerinin harabiyetine bağlı olarak pankreastan salgılanan insülin miktarında azalma görülür (Çam, 2017, American Diabetes Association 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2022). Çalışmamızda deney hayvanlarının serum ve pankreas dokusundaki insülin seviyeleri ELISA kitiyle ölçülerek, çalışmamızda kullanılan bitki ekstrelerinin deney hayvanlarının serum ve pankreas dokusundaki insülin seviyeleri üzerine etkileri araştırıldı.

4.10.2. Tümör nekroz faktör-alfa (TNF-α)

İnflamatuvar mekanizmalar, DM patogenezinde anahtar bir rol oynamaktadır. Tip 2 DM'ye doğru ilerleyen hastaların diyabet oluşumu öncesi düşük dereceli inflamasyon özellikleri sergilediği ve tip 2 DM hastalarında çeşitli hümoral inflamasyon belirteçlerinin yükseldiği belirtilmektedir. Epidemiyolojik kanıtlar, inflamatuvar belirteçler ile diyabet ve glukoz bozukluklarının gelişiminin öngörülebileceğini ileri sürmektedir (Hossain ve ark., 2010). TNF-α proinflamatuvar bir sitokindir ve bu sitokinin düzeylerinin tip 2 DM'de yükseldiği belirtilmiş olup, bu sitokin diyabet patogenezi ile ilişkilendirilmektedir (Çam, 2017; Akash ve ark., 2018; Aydemir, 2019). Çalışmamızda deney hayvanlarının serum ve pankreas dokusunda TNF-α seviyeleri ELISA kitiyle ölçülerek diyabet patofizyolojisinde önemli rol oynadığı belirtilen bu belirtece karşı çalışmamızda kullanılan bitki ekstrelerinin ne derece koruyucu etkinliğinin olduğu ve bitki ekstrelerinin bu proinflamatuvar sitokinin deney hayvanlarının serum ve pankreas dokusundaki düzeyleri üzerine etkileri araştırıldı.

4.10.3. Glukoz transporter-2 (GLUT-2)

Monosakkaritlerin, poliyollerin ve diğer küçük karbon bileşiklerinin ökaryot hücrelerde membranlar boyunca taşınmasına SLC2 genleri tarafından kodlanan ve majör kolaylaştırıcı süper ailesinin (Major Facilitator Superfamily (MFS)) üyesi olan integral membran proteinlerinin GLUT ailesi üyeleri aracılık etmektedir. İnsanlarda çeşitli substratlara özgül 14 GLUT proteini bulunmaktadır (Mueckler ve Thorens, 2013). Bu proteinlerden GLUT-2; karaciğer, barsak, böbrek, pankreas adacık β hücrelerinde ve bununla birlikte merkezi sinir sisteminde; nöronlarda, astrositlerde ve tanisitlerde eksprese edilir (Thorens, 2015). GLUT-2'nin karaciğer glukoz çıkışında anahtar rol oynadığı, son yıllarda yapılan çalışmalarda GLUT-2'nin DM patogenezinde rol oynayabilecek bir molekül olarak dikkat çektiği ve diyabetik hayvanlarda karaciğer ve ileum (Burant ve ark., 1994) gibi çeşitli dokularda GLUT-2 ekspresyonunun arttığı belirtilmektedir (Çam, 2017). Çalışmamızda deney hayvanlarının pankreas ve ileum dokularındaki GLUT-2 seviyeleri ELISA kitiyle ölçülerek, çalışmamızda kullanılan bitki ekstrelerinin deney hayvanlarının pankreas ve ileum dokusundaki GLUT-2 seviyeleri üzerine etkileri araştırıldı.

4.10.4. Sodyum glukoz ko-transporter-2 (SGLT-2)

Son yıllarda genetikteki gelişmeler glukoz taşıyıcılarının tipleri ve fizyolojileri üzerine yeni ışık tutmuş olup, glukoz taşıyıcıları temel olarak iki gruba ayrılmıştır: kolaylaştırılmış difüzyon glukoz transporterları (GLUT'lar) ve sodyum glukoz bağımlı transporterlar (SGLT'ler). SGLT'ler glukozu sodyum iyonu ile birlikte taşımakta olup, glukozu konsantrasyon gradiyentine karşı taşımak için direkt olarak ATP'yi kullanmamaktadırlar; bunun yerine bir kimyasal potansiyel olarak Na^+-K^+-ATPaz tarafından oluşturulan sodyum konsantrasyon gradiyentine bağımlıdırlar (Navale ve Paranjape, 2016). Bir SGLT olan SGLT-2; başlıca böbreklerde eksprese edilmekte ve böbrek proksimal tübüllerinde bulunmakta olup, böbreklerde glukozun %90'ının geri emiliminden sorumludur ve dolayısıyla böbreklerden glukoz geri emilimine katkı sağlayan temel transport sistemidir. SGLT-2'nin glukoz geri emilimine olan büyük katkısı ve diyabetik sıçanlarda ekpsresyonunun arttığı düşünüldüğünde, tip 2 DM hastalarında kan glukozu düzeylerini kontrol altında tutabilmek için SGLT-2'nin inhibe edilerek, glukozun idrarla atılmasının sağlanması yeni bir tedavi hedefi olarak değerlendirilmiş ve günümüze kadar çok sayıda SGLT-2 inhibitörü geliştirilerek tip 2 DM tedavisine sunulmuştur (Navale ve Paranjape, 2016; Çam, 2017; Harada ve Inagaki, 2012; Shin ve ark., 2016). Çalışmamızda deney hayvanlarının böbrek ve pankreas dokularındaki SGLT-2 seviyeleri ELISA kitiyle ölçülerek, çalışmamızda kullanılan bitki ekstrelerinin deney hayvanlarının böbrek ve pankreas dokusundaki SGLT-2 seviyeleri üzerine etkileri araştırıldı.

4.10.5. Peroksizom proliferatör aktive edici reseptör gama (PPAR-γ)

Peroksizomlar; çoğu bitki ve hayvan hücresinde bulunan ve H_2O_2'ye dayalı solunum, yağ asitlerinin β oksidasyonu ve kolesterol metabolizması gibi çok çeşitli metabolik fonksiyonları gerçekleştiren hücre içi organellerdir. PPAR'ler; evrimsel olarak protein olarak adlandırılmış, nükleer hormon reseptör süper ailesine ait ligandla aktive edilen transkripsiyon faktörleridir. PPAR'lar, PPARα, PPARγ, and PPARβ/δ olmak üzere üç alt gruba ayrılırlar. Bu reseptörlerden PPARγ'nın aktivasyonu insülin duyarlılığına ve glukoz metabolizmasında artışa neden olur (Tyagi ve ark., 2011). PPARγ agonistleri (thiazolidindionlar) günümüzde tip 2 DM tedavisinde kullanılmaktadır (Azhar, 2010; Kayaalp 2012; Okur, 2017). PPARγ protein

ekspresyonunun diyabetik sıçanlarda böbrek dokusu (Li ve ark., 2019) adiposit doku, karaciğer ve iskelet kası gibi çeşitli dokularda azaldığı belirtilmektedir (Çam, 2017). Çalışmamızda deney hayvanlarının pankreas ve ileum dokularındaki PPARγ seviyeleri ELISA kitiyle ölçülerek, çalışmamızda kullanılan bitki ekstrelerinin deney hayvanlarının pankreas ve ileum dokularındaki PPARγ seviyeleri üzerine etkileri araştırıldı.

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

T2DM tedavisinde inkretin temelli tedaviler yoğun biçimde çalışılmıştır (Chia ve Egan, 2008; Mannucci ve Monami, 2017). GLP-1; yemek sonrası barsakların L-hücrelerinden salgılanan bir barsak hormonudur. GLP-1'in; glukoz ile stimüle edilen insülin salgısını potansiyelize etmek, β hücre büyümesi ve hayatta kalmasını iyileştirmek, glukagon salgılanmasını, mide boşalmasını ve yemek alımını inhibe etmek gibi çok çeşitli fizyolojik etkileri bulunmaktadır. GLP-1'in bu antidiyabetik etkileri, bu peptidin tip 2 DM tedavisinde kullanılması ilgisine sebep olmuştur (Lim ve Brubaker, 2006). GLP-1 vücutta dipeptidilpeptidaz-4 (DPP-4) isimli enzimle yıkılmakta olup, yarılanma ömrü kısadır ve yüksek bir farmakolojik değeri bulunmamaktadır, bununla birlikte GLP-1 reseptörünü stimüle eden GLP-1 reseptör agonistleri (GLP-1 agonistleri) günümüzde diyabet tedavisinde kullanılmaktadır (Okur ve ark., 2017; Kayaalp 2012; Tan ve ark., 2019). Kronik hiperglisemi durumunda GLP-1 ve bir diğer inkretin hormon olan glukoza bağımlı insülinotropik peptid (GIP) reseptörlerinin downregülasyona uğradığı ve bu durumun, diyabette azalmış inkretin etkisi ve β hücre disfonksiyonundan büyük ölçüde sorumlu olduğu rapor edilmiştir (Xu ve ark., 2007). Bunula birlikte tip 2 DM hastalarında sağlıklı bireylerle kıyaslandığında GLP-1 seviyelerinin azaldığı belirtilmiştir (Pegah ve ark., 2021). Çalışmamızda deney hayvanlarının pankreas ve ileum dokularındaki GLP-1 seviyeleri ELISA kitiyle ölçülerek, çalışmamızda kullanılan bitki ekstrelerinin deney hayvanlarının pankreas ve ileum dokularındaki GLP-1 seviyeleri üzerine etkileri araştırıldı.

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Bitki Materyali

Çalışmamızda antidiyabetik etkinlikleri ve etki mekanizmaları araştırılacak bitkiler olan *Micromeria fruticosa* subsp. (L.) Druce subsp. *brachycalyx* P.H.Davis ve *Teucrium polium* L. isimli bitkilerin teşhisleri sırasıyla T.C. Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı Dr. Öğr. Üyesi İsmail ŞENKARDEŞ ve T.C. Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı Dr. Öğr. Üyesi Ahmet DOĞAN tarafından yapılmış olup, bitkiler nem içermeyen, +4^{o}C soğuk odada saklandı. *Micromeria fruticosa* subsp. (L.) Druce subsp. *brachycalyx* P.H. Davis herbaryum kodu: MARE-19184 *Teucrium polium* L. herbaryum kodu: MARE-17870 ile T.C. Marmara Üniversitesi Herbaryumu'na bitkilerin kaydı yapıldı.

5.2. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması

Micromeria fruticosa (L.) Druce subsp. *brachycalyx* P.H.Davis ve *Teucrium polium* L. bitkilerinin ekstraksiyon işlemleri T.C. Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Dr. Öğr. Üyesi Turgut TAŞKIN tarafından yapıldı. *Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *brachycalyx* P.H.Davis ve *Teucrium polium* L. bitkilerinin toprak üstü kısımları 20 Ağustos 2019 tarihinde Kahramanmaraş Türkiye'de toplandı. Yukarıda belirtildiği şekilde teşhisleri ve kayıtları yapılan ve saklanan bitki numuneleri ışıktan korunarak kurutuldu. Daha sonra numuneler ayrı ayrı oda sıcaklığında 72 saat süresince metanol ile ekstrakte edildi. Çözeltinin çözücüsü rotaevaparatörde 45°C sıcaklıkta uçurulup kuru ham ekstreler elde edildi.

Ekstreler çalışmaya başlanılacağı güne kadar buzdolabında +4^{o}C'de muhafaza edildi. Bitki ekstreleri deney süresince deney hayvanlarına her gün tartılarak ve saf suda çözülerek ağırlıklarına göre gereken miktarda anestezi uygulanmaksızın metal gavaj yardımıyla ağız yolundan intragastrik (i.g.) olarak verildi.

5.3. Kullanılan Deney Hayvanları

Çalışmamızın etik ilkelere uygunluğu açısından değerlendirilmesi için "Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu"na başvuruldu ve "13.01.2020" tarih ve "93.2019.mar" Protokol Kodu ile Etik Kurul Onayı (Ek 1) alındı.

Bitkilerin teşhisi, uygun koşullarda saklanması ve ekstrelerinin hazırlanması akabinde "T.C. Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezi (DEHAMER)" ile iletişime geçilip, DEHAMER'den 200-300 gram ağırlığında 40 adet dişi erişkin Sprague Dawley sıçan temin edildi. Deney hayvanları deney öncesinde iki haftalık sürede laboratuvar koşullarına (25°C±2, %50 nem, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık) alıştırıldı ve bitki ekstrelerinin dozunu belirlemek için aşağıda "5.3.1. Deney hayvanlarında bitki ekstrelerinin dozunun belirlenmesi" bölümünde detaylı biçimde verildiği gibi Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT) yapılması ve 1 haftalık bekleme süresi (wash-out period) sonrası aşağıda tezin bu bölümünün "5.3.3. Deney hayvanlarının deney protokolüne göre gruplara ayrılması" alt başlığında verildiği üzere deney protokolüne göre gruplarına ayrıldı.

5.3.1. Deney hayvanlarında bitki ekstrelerinin hipoglisemik etkilerinin ve bitki ekstrelerinin dozlarının belirlenmesi

Deney hayvanlarının temini ve laboratuvar koşullarına alıştırılmaları akabinde tip 2 DM modeli oluşturulmadan önce çalışılacak bitki ekstrelerinin dozunun belirlenmesi için literatür taramaları ve OGTT çalışması yapıldı. Literatür taramalarında bu bitkilerin ve bu familyaya (Lamiaceae) ait diğer bitkilerin farklı çalışmalarda en sık kullanılan dozlarının 100 mg/kg ve 200 mg/kg olduğu tespit edildi (Sarkhail ve ark., 2010; Asghari ve ark., 2020). Daha sonra bu iki dozda bitki ekstreleri ile her bir ayrı bitki ekstresi dozu için 6'şar sağlıklı, diyabet oluşturulmamış dişi Sprague Dawley sıçana (Kontrol grubu dahil 5 grup toplam 30 deney hayvanına) OGTT uygulandı. OGTT için deney hayvanları 12 saat açlık sonrası (bütün deney hayvanlarının geceden yemleri alındı, su içmeleri serbest bırakıldı) tek tek tartılıp, ağırlıklarına göre bitki metanol ekstresi (*Micromeria fruticosa* subsp. (L.) Druce *brachycalyx* P.H.Davis ve *Teucrium polium* L. bitkilerinin her ikisi için de 100 mg/kg ve 200 mg/kg dozlarında) uygulanıp 30 dakika sonrasında 2 g/kg'lık sulu glukoz çözeltisi

ağız yolundan (i.g.) uygulandı. Glukoz çözeltisi uygulanmasını takiben her bir deney hayvanının kan glukozu değerleri kuyruk veninden alınan kanda 0., 30., 60., 120. ve 180. dakikalarda ölçüldü ve kayıt edildi (Contour TS®, Bayer) (Bitki ekstrelerinin hipoglisemik etkilerini ve dozlarını belirlemek için yapılan OGTT yöntemi; Zambrana ve ark., 2018 ve Çam ve ark., 2017'den modifiye edildi).

5.3.2. Deney hayvanlarında tip 2 DM modelinin oluşturulması

Bitki ekstrelerinin dozlarının belirlenmesini takiben deney hayvanlarında bir haftalık bekleme süresi (wash-out period) sonrası tip 2 DM modeli oluşturma aşamasına geçildi. Bu modelde, deney hayvanlarında tip 2 DM oluşturabilmek için Kontrol grubu dışındaki bütün deney hayvanlarına %0,9'luk Sodyum Klorür (NaCl) çözeltisi içerisinde çözülmüş 100 mg/kg NA i.p. enjeksiyon uygulanmasından 15 dakika sonra 55 mg/kg STZ i.p. enjeksiyonu uygulaması yapıldı (Çam, 2017). Burada deney hayvanlarına uygulanacak STZ'nin taze hazırlanmış ve aşağıda hazırlama detayları verilen sitrat tamponunda çözülerek verilmesi gerekmektedir. Bu nedenle verilen doza uygun miktarda STZ'nin tartılması öncesi sitrat tamponu hazırlandı ve STZ'nin tartılması ve içerisinde çözülmesine kadar buzdolabında saklandı. Sitrat tamponu hazırlanmasında ilk olarak 0.210 g sitrik asit monohidrat tartılarak, 100 ml distile suda çözüldü. Daha sonra 0.294 g trisodyum sitrat dihidrat tartılarak 100 ml distile suda çözüldü. İlk çözeltiden 44.5 ml, ikinci çözeltiden ise 55.5 ml alınarak, 100 ml'ye tamamlandı ve daha sonra çözeltinin pH'sı 4.5'e ayarlandı.

Modelin oluşturulmasından 3 gün (72 saat sonra) bütün deney hayvanlarının ağırlık ve kuyruk veninden alınan kanda kan glukozu değerleri ölçüldü (Contour TS®, Bayer), tip 2 DM modeli uygulanan ve kan glukozu değerleri 200 mg/dl'nin üzerinde olan deney hayvanlarında tip 2 DM oluşmuş kabul edildi (Ghasemi ve ark., 2014) ve aşağıda bu bölümün "5.3.3. Deney hayvanlarının deney protokolüne göre gruplara ayrılması" alt başlığında detayları verildiği şekilde gruplara ayrılarak tedavi gruplarının ve pozitif kontrol grubunun 21 günlük tedavilerine başlandı. Bu ölçümler ilk (başlangıç) değerleri olarak kayıt altına alındı ve kontrol, DM ve tedavi grupları ve pozitif kontrol grubunun düzenli olarak 21 gün süresince haftalık ağırlıkları ve

kan glukozu değerleri ölçülerek bu doktora tez çalışmasında değerlendirilmek üzere kayıt altına alındı.

5.3.3. Deney hayvanlarının deney protokolüne göre gruplara ayrılması

Deney hayvanları her bir kafes 4'er hayvan içermek üzere her bir grupta 8'er hayvan olmak üzere aşağıda verildiği biçimde toplam 5 gruba ayrıldı:

1. Kontrol Grubu (K) (n=8): Standart yemle beslenen sağlıklı deney hayvanlarına 21 gün süresince gavaj yardımıyla intragastrik (i.g.) yolla 10 ml/kg serum fizyolojik uygulandı.

2. Tip 2 DM Grubu (DM) (n=8): Deney hayvanlarına 100 mg nikotinamid (NA) (intraperitoneal) i.p. enjeksiyonunu takiben 15 dakika sonra 55 mg/kg streptozotosin (STZ) i.p. enjeksiyon ile uygulanması sonrası açlık kan glukozu 200 mg/dl ve üzeri olan deney hayvanlarına 21 gün süresince gavaj yardımıyla i.g. yolla 10 ml/kg serum fizyolojik uygulandı.

3. Tedavi Grubu 1 (DM+MF) (n=8): Tip 2 DM modeli oluşturulan deney hayvanlarına 21 gün süresince gavaj yardımıyla i.g. yolla 200 mg/kg dozunda *Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *brachycalyx* P.H.Davis metanol ekstresi uygulandı.

4. Tedavi Grubu 2 (DM+TP) (n=8): Tip 2 DM modeli oluşturulan deney hayvanlarına 21 gün süresince gavaj yardımıyla i.g. yolla 200 mg/kg dozunda *Teucrium polium* L. metanol ekstresi uygulandı.

5. Pozitif Kontrol Grubu (DM+EM) (n=8): Tip 2 DM modeli oluşturulan deney hayvanlarına 21 gün süresince 10 mg/kg dozunda gavaj yardımıyla i.g. yolla Empagliflozin uygulandı.

5.3.4. Deney hayvanlarının ağırlık ve kan glukozu ölçümleri

DEHAMER'e getirilmelerini takiben deney hayvanlarının ağırlık ölçümleri; bitki ekstrelerinin dozunun belirlenmesi için yapılan OGTT çalışmasında çalışmaya alınan deney hayvanlarında (bkz. 5.3.1.), tip 2 DM modeli oluşturulan gruplarda NA ve

STZ dozunun tespiti için (bkz. 5.3.2.) ve bununla birlikte bütün deney hayvanlarında 21 günlük tedavi süresince tedavi başlangıcı (0. Hafta) ile birlikte her hafta düzenli olarak elektronik terazi ile yapıldı.

Deney hayvanlarının kan glukozu ölçümü; deney grupları oluşturulmadan önce bitki ekstrelerinin dozunun belirlenmesi için yapılan OGTT çalışmasında çalışmaya alınan deney hayvanlarında 0., 30., 60., 120. ve 180. dakikalarda (bkz. 5.3.1.), deney hayvanlarında tip 2 DM modeli oluşumu tespitinde (bkz. 5.3.2.), deney grupları oluşturulduktan sonra, 21 günlük tedavileri süresince her bir deney hayvanında haftalık olarak tedavi başlangıcı (0. hafta) ile birlikte her hafta düzenli olarak, çalışmanın 19. gününde OGTT çalışmasında (testin 0., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarında) ve çalışmanın 20 gününde insülin tolerans testinde (ITT) (testin 0., 30., 60., 90., 120., 150. ve 180. dakikalarında) yapıldı.

5.3.5. Deney hayvanlarına OGTT uygulanması

21 günlük tedavi uygulamasının 19. gününde her bir deney hayvanının glukoz metabolizmasını düzenleyebilme yeteneklerini ve glukoz ile indüklenen insülin salgılanmasını ve bunun aracılık ettiği glisemik değişiklikleri ölçmek ve değerlendirmek amacıyla OGTT aşağıda detayları belirtildiği şekilde yapıldı.

OGTT'den önce hayvanlar 12 saat süreyle aç bırakıldı fakat su alımları serbest bırakıldı. 12 saatlik açlık sonunda tedaviler her zamanki gibi uygulandı ve tedavi uygulamasından 30 dakika sonra deney hayvanlarına 2.5 g/kg dozda sulu glukoz çözeltisi oral yolla (i.g.) verildi. Gruplardaki tüm deney hayvanlarının kan glukozu seviyeleri glukoz yüklemesi sonrası kuyruk veninden alınan kanda 0., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda ölçüldü ve değerlendirmek üzere kayıt altına alındı (OGTT Yöntemi; Du ve ark., 2019 ve Zambrana ve ark., 2018'den modifiye edildi).

5.3.6. Deney hayvanlarına ITT uygulanması

21 günlük tedavi uygulamasının 20. gününde her bir deney hayvanının insülin direncini belirlemek amacıyla insülin tolerans testi (ITT) aşağıda detayları belirtildiği şekilde yapıldı.

ITT; OGTT'nin ertesi günü, deneyin 20. gününde yapıldı. Test öncesinde deney hayvanları 12 saat süre ile aç bırakıldı, fakat su alımları serbest bırakıldı. 12 saatlik açlık sonunda tedaviler her zamanki gibi uygulandı ve tedavi uygulamasından 30 dakika sonra deney hayvanlarına i.p. insülin (1 IU/kg) (insulin lispro (Humolog®, Lilly)) enjeksiyonu yapıldı. Gruplardaki tüm deney hayvanlarının kan glukozu seviyeleri insülin uygulaması sonrası kuyruk veninden alınan kanda 0., 30., 60., 90., 120., 150. ve 180. dakikalarda ölçüldü ve değerlendirmek üzere kayıt altına alındı (ITT Yöntemi; Domon ve ark., 2019 ve Çam, 2017'den modifiye edildi).

5.3.7. Deney hayvanlarının tedavilerinin tamamlanmasını takiben hayvan deneyi aşamasının sonlandırılması

Deneyin 21. gününde Kontrol ve tip 2 DM grubu dışındaki deney hayvanlarına tedavilerinin uygulanması sonrası bütün deney hayvanlarının ağırlık ve kan glukozu ölçümlerinin yapılması ve değerlendirilmek üzere kayıt altına alınmasının sonrasında çalışmada kullanılan bütün deney hayvanları eter anestezisi altındayken giyotin ile sakrifiye edildi. Sakrifiye edilen hayvanların periferal kanları alındı ve serumları santrifüjlenerek ayrıldı. Serumlar daha sonra biyokimyasal analizleri yapılmak üzere -80°C'de tutularak saklandı. Karaciğer, böbrek, pankreas ve ince bağırsak dokuları çıkarılıp sıvı nitrojende hızla dondurularak biyokimyasal analizlerde kullanılmak üzere -80^{o}C'de muhafaza edildi. Histolojik analizler için; karaciğer, pankreas ve böbrek dokuları %10'luk nötr tamponlu formalin çözeltisinde saklandı. Sakrifikasyon sonrası hayvanlar tıbbi atık poşetlerine konularak -20 °C'de tutuldu ve belediyenin tıbbi atık kamyonuna teslim edildi.

5.4. Biyokimyasal Parametrelerin Analizi

Deney hayvanları dekapite edildikten sonra alınan serum ve doku örneklerinde aşağıda verildiği şekilde ELISA kitleri yardımıyla biyokimyasal analizler yapıldı.

- İnsülin seviyesinin ölçümü: Serum ve pankreas dokusunda ELISA kitiyle ölçüldü.

- TNF-α seviyesinin ölçümü: Serum ve pankreas dokusunda ELISA kitiyle ölçüldü.

-GLUT-2 seviyelerinin ölçümü: Pankreas ve ileum dokusunda ELISA kitiyle ölçüldü.

-SGLT-2 seviyelerinin ölçümü: Pankreas ve böbrek dokularında ELISA kitiyle ölçüldü.

- PPAR-γ seviyesinin ölçümü: Pankreas ve ileum dokusunda ELISA kitiyle ölçüldü.

- GLP-1 seviyesinin ölçümü: Pankreas ve ileum dokusunda ELISA kitiyle ölçüldü.

Çalışmamızda, deney hayvanlarından elde edilen serum ve doku örneklerinde yapılan biyokimyasal analizler için sıçan spesifik Enzim Bağlı İmmünosorbent Tahlil (ELISA) ticari kitleri kullanıldı ve biyokimyasal analizler üreticinin talimatlarına göre yapıldı. ELISA analizinde hedef parametrelerin optik yoğunluklarının belirlenmesi ile ölçüm yapılmaktadır. Kitlerin içinde bakılmak istenen parametrelere özgül biyotin bağlı antikorlar bulunmakta olup, bakılmak istenen parametrelerin bu antikorla bağlanması biyokimyasal analizin temelini oluşturmaktadır.

ELISA Kitinde Olmayan Gerekli Materyaller: 37°C±0,5°C inkübatör, mikroplaka okuyucu, eppendorf tüpler, hassas pipetler, tek kullanımlık pipet uçları, distile su, deiyonize su, emici kâğıt ve konteynır.

ELISA Kiti İçinde Olan Materyaller:

1. Standart çözelti (0,5ml) 240 U/L

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

3. Standart dilüsyon (3ml)

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

5. Durdurma çözeltisi (6ml)

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

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

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

9. Sıçan antikoru (biyotin etiketli) (1ml)

10. Mühürlü membran plaka (2 adet)

Çalışma vaktine kadar buzdolabında tutulan ELISA kitleri çalışmanın yapılacağı zaman oda sıcaklığına getirilerek 10-20 dakika bekletildi. Mühürlü membran ve pipet uçları tek kullanımlık olacak biçimde kullanıldı. Substrat B ışığa hassas olduğu için, Substrat B ile karanlık ortamda çalışılarak örneklere eklendi.

5.4.1. Standart çözeltinin ve reaktiflerin hazırlanması

Elimizde mevcut olan ünitesi 240 U/L olan standart çözelti, 3 ml'lik Standart dilüsyon ile bir önceki standardın yarsı alınarak sırasıyla 240, 120, 60, 30, 15, 7.5 U/L konsantrasyonlarında 6 adet yeni standart çözelti elde edildi. Bu biçimde standart çözeltilerin hazırlanması tamamlandı.

Reaktifler ve renk verici maddeler olan Kromojen çözelti A ve Kromojen çözelti B her bir kromojen çözeltiden 6 ml (6000 µl) kit içerisinde hazır bulunmaktadır.

5.4.2. Örneklerin hazırlanması

Çalışmaya başlamadan önce serum örnekleri 10-20 dakika oda sıcaklığında bekletildi ve ardından 3000 RPM'de santrifüjlenerek, süpernatantı alındı. Standartlar ve örnekler mikropipet yardımıyla kuyulara doldurulduu. Kör, standart ve örnekler için çalışmanın daha sağlıklı yapılabilmesi için ikişer kuyu ayrıldı.

5.4.3. Örnek, antikor ve streptavidinin kuyulara konulması

İnkübasyon öncesinde kör kuyulara hiçbir şey eklenmedi. Standart kuyulara 50 µl Standart + 50 µl Streptavidin konuldu. Örnek kuyularına ise 40 µl Örnek + 10 µl Antikor + 50 µl Streptavidin konuldu. Plaka hafifçe çalkalandı ve ardından 1 saat süresince (60 dakika) 37°C'de inkübe edildi.

5.4.4. Yıkama

20 ml'lik Konsantre Yıkama Çözeltisi kitin içinde mevcuttur. Konsantre Yıkama Çözeltisi distile su ile 30 kat seyreltildikten sonra, inkübasyon sonrası her küvete 0.35 ml yıkama çözeltisi konuldu ve 1-2 dakika beklenerek iyi emilmesi sağlandıktan sonra, küvet silkelenerek yıkama çözeltisi döküldü ve küvet ters çevrilerek kâğıt havlu üzerine çözelti boşaltıldı. Bu işlem 5 kere tekrar edildi.

5.4.5. Kromojen (renklendiricilerin) ilave edilmesi

Yıkama işlemi sonrası Kör ve Standart kuyular da dahil olmak üzere tüm kuyulara önce 50 µl Kromojen Çözelti A, daha sonra ışığa hassas olduğu için karanlık ortamda 50 µl Kromojen Çözelti B konuldu. Karışmaları için hafifçe çalkalandıktan sonra, 10 dakika süresince 37°C'de inkübe edildi.

5.4.6. Durdurma çözeltisinin eklenmesi

Elimizdeki kitte toplam 60 ml durdurma çözeltisi bulunmaktadır. 10 dakikalık inkübasyon işlemi sonrası her bir kuyuya 50 µl durdurma çözeltisi ilave edildi. Bu işlemi takiben, kuyularda mavi renkten sarı renge renk değişimi gözlendi. Durdurma çözeltisinin ilavesini takiben 10 dakika içerisinde ölçüm yapılması gerektiği için hemen ELISA Reader'da (Epoch Biotek®) ölçüm yapıldı.

5.4.7. Ölçüm

ELISA Reader'da (Epoch Biotek®) 450 nm'de ölçüm yapıldı. Elde edilen absorbans değerleri ile absorbans-konsantrasyon grafiği çizildi. Çizilen grafiğe göre madde miktarları belirlendi.

5.5. Histolojik Analizlerin Yapılması

Deney hayvanlarından histolojik analiz için alınan karaciğer, pankreas ve böbrek dokuları %10'luk nötr tamponlu formalin içinde en az 48 saat süresince sabitlendi. Sabitlenme sonrası doku örnekleri dereceli etanol serilerinde (%70, 90, 96, 100) dehidrate edildi, tolüen içinde temizlendi ve parafin içine yatırıldı. Histolojik analiz, hematoksilin ve eosin (H&E) ile boyanmış 5 µm kalınlıktaki doku parçalarında yapıldı. Bütün boyanmış doku parçaları gözlemlendi ve bir fotomikroskoba (LEICA DM 1000) ekli bir dijital kamera ile fotoğrafları çekildi.

5.6. Kullanılan Kimyasallar

Glukoz, Streptozotosin (STZ), Nikotinamid (NA), Empagliflozin; Santa Cruz Biotechnology Inc. (Dallas, Teksas, A.B.D.)'den temin edildi.

ELISA Kitleri; Bioassay Technology Laborator, Korain Biotech Co. Ltd. (Şangay, Çin Halk Cumhuriyeti)'den temin edildi.

Eli Lilly firmasından, Humulin® müstahzar isimli insülin temin edildi.

5.7. Kullanılan Cihazlar

Bu Doktora Tez çalışması; T.C. Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda yürütüldü.

Anabilim Dalı'nda yararlanılan demirbaşlar:

- Hettich K2S Soğutmalı Santrifüj

- Heraeus Biofuge Pcio Ependes Santrifüj,

- BioTek Epoch Elisa Reader,

-ADAM 80 PW124 Hassas Terazi,

- IKA Ultra-Turrax T25 Homojenizatör,

- Bandelin Sonopuls Ultrasonik Homojenizatör,

- ARCTIKO Derin Dondurucu (-80°C)'dur.

5.8. İstatistiksel Analizler

Yukarıda verilen bütün yöntemler sonucu bulunan veriler ortalama ± ortalama standart hata (SEM) olarak verildi. Veriler, GraphPad Prism 6.0 (Graphpad Yazılım, San Diego, Kaliforniya, A.B.D.) istatistik programı kullanılarak, tek yönlü ve iki yönlü varyans analizi (ANOVA) ve post-hoc test olarak Tukey testi kullanılarak hesaplandı. Tüm veriler için istatistiksel olarak $p<0.05$ anlamlı kabul edildi.

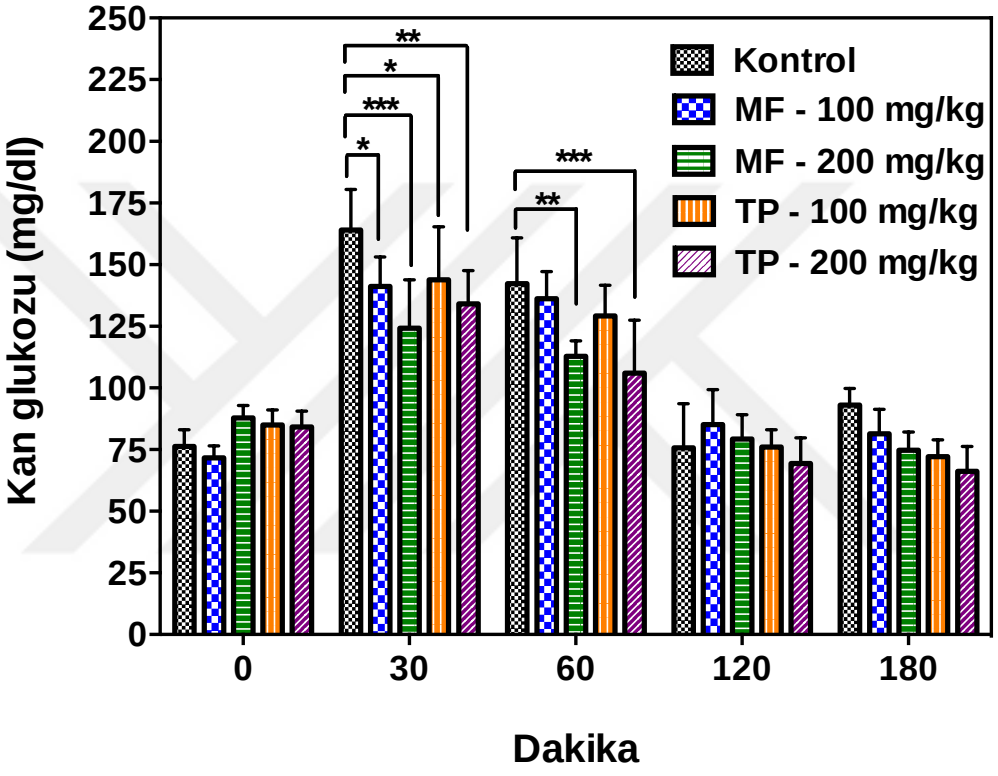
6. BULGULAR

6.1. Tip 2 DM Modeli Oluşturulmamış Deney Hayvanlarında Bitki Ekstrelerinin Hipoglisemik Etkilerinin ve Bitki Ekstrelerinin Dozunun Belirlenmesi İçin Yapılan OGTT Çalışmasının Sonuçları

Çalışmamızda antidiyabetik etkinliği ve etki mekanizmalarını araştırdığımız *Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *brachycalyx* P.H.Davis bitkisinin metanol ekstresinin (MF) ve *Teucrium polium* L. bitkisinin metanol ekstresinin (TP) potansiyel antidiyabetik etkinliklerinin ve en etkili oldukları dozunun deney hayvanlarında tip 2 DM modeli oluşturulmadan önce belirlenmesi için literatür taramaları ve OGTT çalışması yapıldı ve bu çalışmaların sonucunda her iki bitki için de "200 mg/kg" bitki metanol ekstresi dozu çalışmamızda kullanılmak üzere seçildi. Literatür taramalarında bu bitkilerin ve bu familyaya ait diğer bitkilerin farklı çalışmalarda en sık kullanılan dozlarının 100 mg/kg ve 200 mg/kg olduğu tespit edildi (Sarkhail ve ark., 2010; Asghari ve ark., 2020) ve bu iki dozda bitki ekstreleri ile her bir ayrı bitki ekstresi dozu için 6'şar sağlıklı, diyabet oluşturulmamış dişi Sprague Dawley sıçana (Kontrol grubu dahil 5 grup toplam 30 deney hayvanına) OGTT uygulandı. OGTT için deney hayvanları 12 saat açlık sonrası (bütün deney hayvanlarının geceden yemleri alındı, su içmeleri serbest bırakıldı) tek tek tartılıp, ağırlıklarına göre MF ve TP her ikisi için de 100 mg/kg ve 200 mg/kg dozlarında) uygulanıp 30 dakika sonrasında 2 g/kg sulu glukoz çözeltisi ağız yolundan (i.g.) uygulandı. Glukoz çözeltisi uygulanmasını takiben her bir deney hayvanının kan glukozu değerleri kuyruk veninden alınan kanda 0., 30., 60., 120. ve 180. dakikalardaki ölçüldü ve kayıt edildi (Bitki ekstrelerinin hipoglisemik etkilerini ve dozlarını belirlemek için uygulanan OGTT Yöntemi; Zambrana ve ark., 2018, Çam ve ark., 2017'den modifiye edildi).

Aşağıda Şekil 1'de bitki ekstrelerinin dozunu belirlemek için yapılan OGTT çalışmasından elde edilen değerlere ait grafik verilmiştir. Bitki ekstrelerinin uygulanmasını takiben 30. ve 60. dakikaların sonunda yapılan ölçümlerde, MF ve TP'nin 200 mg/kg dozundaki metanol ekstrelerinin deney hayvanlarında kan glukozu değerlerini Kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşürdüğü saptandı (MF'nin 200 mg/kg'lık dozundaki ekstresi için 30. ve 60. dakikalarda kan glukozu düzeylerinde Kontrol grubuna göre düşüş sırasıyla $p<0.001$, $p<0.01$; TP'nin 200 mg/kg'lık

dozundaki ekstresi için 30. ve 60. dakikalarda kan glukozu düzeylerinde Kontrol grubuna göre düşüş sırasıyla $p<0.01$, $p<0.001$). Bu çalışmaların sonucunda her iki bitki için de "200 mg/kg" dozundaki metanol ekstesi dozlarının kan glukozu düzeyini daha iyi düşürdüğü belirlendi ve bu doktora tez çalışmasında kullanılmak üzere bu doz seçildi. Doz belirleme çalışmasından sonra 1 haftalık bekleme süresi sonrası deney hayvanlarında tip 2 DM modeli oluşturma aşamasına geçildi.



Şekil 1. Bitki ekstrelerinin hipoglisemik etkilerinin ve dozlarının belirlenmesi için yapılan OGTT sonuçları

Her bir grubun verileri ortalama ± ortalama standart hata olarak verildi. Veri analizi, iki yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanılarak GraphPad Prism 6.0 ile yapıldı. *$p<0.05$, **$p<0.01$, ***$p<0.001$ kontrol grubuna göre kıyaslandı.

Kontrol: Kontrol Grubu

MF 100 mg/kg: *Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *brachycalyx* P.H.Davis (100 mg/kg) metanol ekstresi uygulanan normoglisemik grup,

MF 200 mg/kg: *Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *brachycalyx* P.H.Davis (200 mg/kg) metanol ekstresi uygulanan normoglisemik grup,

TP 100 mg/kg: *Teucrium polium* L. (100 mg/kg) metanol ekstresi tedavisi uygulanan normoglisemik grup,

TP 200 mg/kg: *Teucrium polium* L. (200 mg/kg) methanol ekstresi tedavisi uygulanan normoglisemik grup

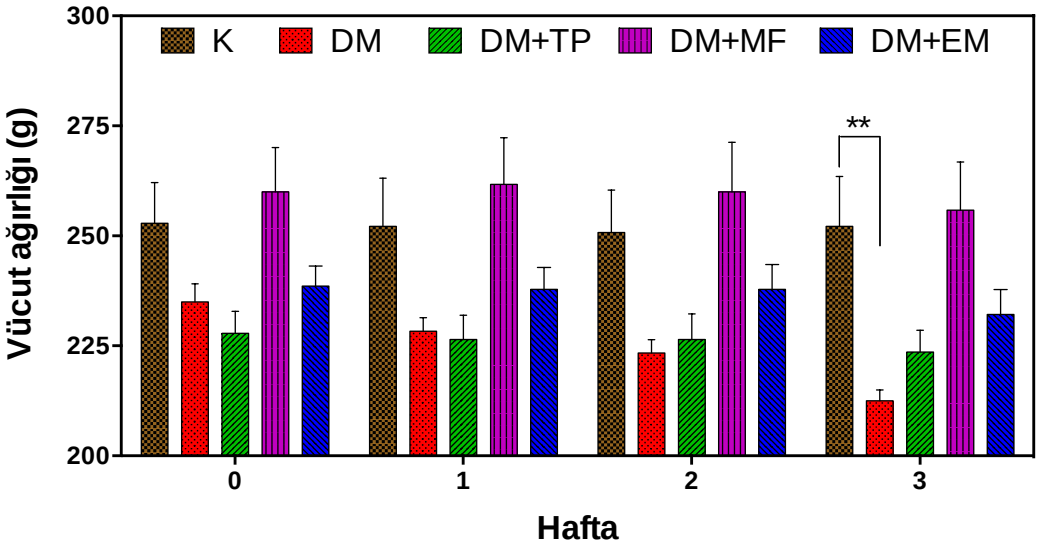
6.2. Deney Hayvanlarının Deney Protokolüne Göre Gruplara Ayrılması ve Tedavilerinin Başlatılması

Çalışmamızda 200-300 gram ağırlığında, ağırlıkları benzer 40 adet dişi, erişkin Sprague Dawley sıçan kullanıldı. Tip 2 DM modeli oluşturulmasından 3 gün (72 saat) sonra bütün deney hayvanlarının ağırlıkları ve kan glukozu değerleri ölçüldü, tip 2 DM modeli uygulanan ve kan glukozu değeri 200 mg/dl'nin üzerinde olan deney hayvanlarında tip 2 DM oluştuğu kabul edildi ve yukarıda (bkz. 5.3.3.) detayları verildiği şekilde 5 gruba ayrılarak (her bir grup için n=8) 21 günlük tedavilerine başlandı. Bu ölçümler ilk (başlangıç) değerleri olarak kayıt altına alındı ve kontrol, DM ve tedavi gruplarının ve pozitif kontrol grubunun düzenli olarak 21 gün süresince haftalık olarak ağırlıkları ve kan glukozu değerleri ölçülerek bu doktora tez çalışmasında değerlendirilmek üzere kayıt altına alındı.

6.3. MF, TP ve EM'nin Deney Hayvanlarında Vücut Ağırlığı ve Kan Glukozu Düzeyleri Üzerine Etkileri

6.3.1. MF, TP ve EM'nin deney hayvanlarında vücut ağırlığı üzerine etkileri

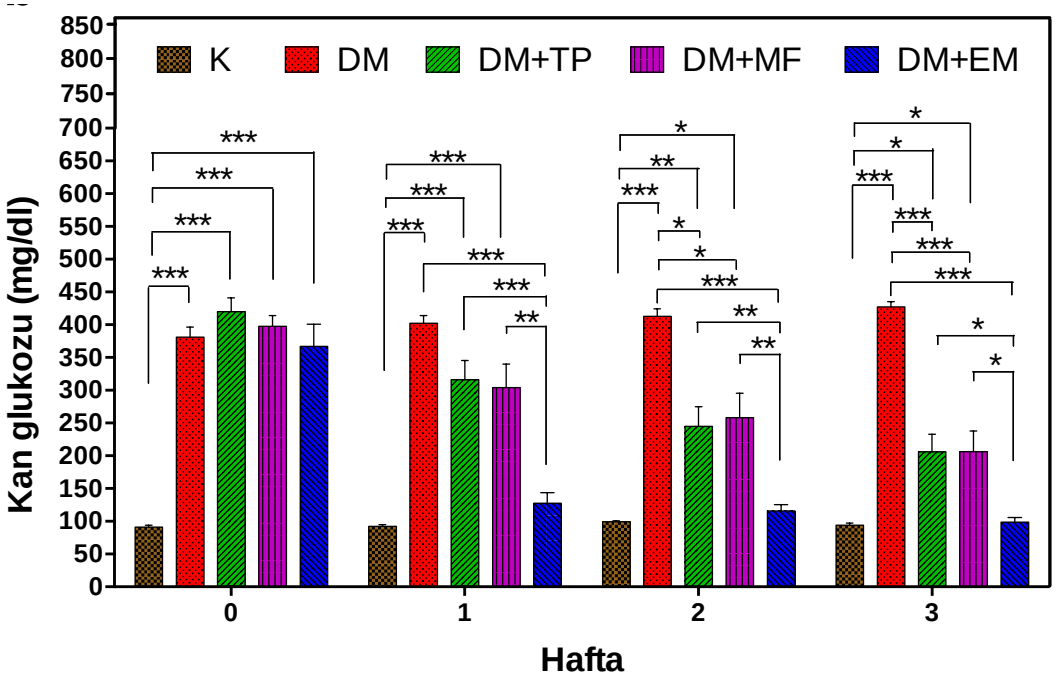
Aşağıda Şekil 2'den de anlaşıldığı üzere bitki ekstreleri ve empagliflozin ((EM)pozitif kontrol) ile tedavi, 21 günlük tedavi süresince deney hayvanlarının ağırlıkları üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe neden olmadı. Yalnızca 3. haftadaki ağırlık ölçümlerinde tip 2 DM modeli oluşturulan ve herhangi bir tedavi uygulanmayan grupta (DM grubu) Kontrol grubuna göre vücut ağırlığında anlamlı derecede bir azalma tespit edildi ($p<0.01$). 3 haftalık tedavi süresince Kontrol, DM+MF, DM+TP, DM+EM grupları arasında vücut ağırlığı açısından anlamlı bir farklılık tespit edilmedi. Bu durum; 21 günlük tedavi süresince bitki ekstreleri ve pozitif kontrol olarak Empagliflozin ile tedavinin deney hayvanlarında vücut ağırlıklarını Kontrol grubuna göre kıyaslandığında koruduğu olarak değerlendirildi.



Şekil 2. Deney hayvanlarının haftalık ağırlık ölçüm verileri
Veriler ortalama ± ortalama standart hata olarak verildi. Veri analizi, iki yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanılarak GraphPad Prism 6.0 ile yapıldı.
*p<0.01 Kontrol grubuna göre kıyaslandı.

6.3.2. MF, TP ve EM'nin deney hayvanlarında kan glukozu düzeyleri üzerine etkileri

Deney hayvanlarının 3 haftalık kan glukozu ölçüm değerleri incelendiğinde (Şekil 3); tedavi başlangıcında Kontrol grubuna göre anlamlı derece yüksek olan tedavi grupları, pozitif kontrol ve DM grubuna ait kan glukozu ölçüm değerlerinin (her bir grup için $p<0.001$), tip 2 DM oluşturulup, herhangi bir tedavi uygulanmayan grupta (DM) 21 günlük deney süresince Kontrol grubuna anlamlı derecede yüksekliğini koruduğu (her bir hafta için $p<0.001$), tedavi uygulamasının 1. haftasından itibaren ise TP ve EM ile tedavinin DM grubuna göre deney hayvanlarında kan glukozu düzeylerini anlamlı derecede düşürdüğü (TP ile tedavi edilen deney hayvanlarında 1., 2. ve 3. haftaların sonunda sırasıyla $p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.001$; EM ile tedavi edilen grupta ise 3 haftalık tedavi süresince her hafta için $p<0.001$) belirlendi. Bununla birlikte MF ile tedavinin ise deney hayvanlarında 3. haftanın sonunda kan glukozu değerlerini DM grubuna göre belirgin derecede düşürdüğü tespit edildi ($p<0.001$). 3. haftanın sonunda DM grubunun kan glukozu düzeyleri Kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek seyrederken ($p<0.001$), bütün tedavi gruplarında (DM+MF, DM+TP) ve pozitif kontrol grubunda (DM+EM) kan glukozu değerlerinin DM grubuna göre anlamlı bir biçimde düştüğü belirlendi (her bir grup için $p<0.001$).



Şekil 3. Deney hayvanlarının haftalık kan glukozu ölçüm verileri
Değerler ortalama ± ortalama standart hata olarak verildi. Veri analizi, iki yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanılarak GraphPad Prism 6.0 ile yapıldı.
*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 her bir grup birbirine göre kıyaslandı.

6.4. MF, TP ve EM'nin Deney Hayvanlarında OGTT ve ITT Üzerine Etkileri

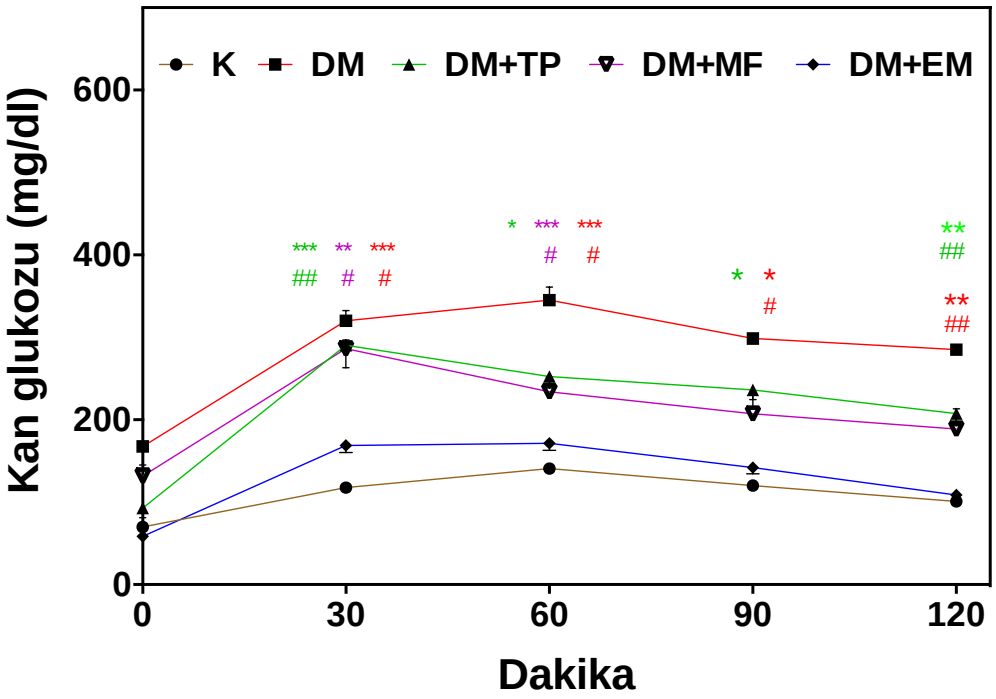
6.4.1. MF, TP ve EM'nin deney hayvanlarında OGTT üzerine etkileri

21 günlük tedavi uygulamasının 19. gününde her bir deney hayvanının glukoz metabolizmasını düzenleyebilme yeteneklerini ve glukoz ile indüklenen insülin salgılanmasını ve bunun aracılık ettiği glisemik değişiklikleri ölçmek ve değerlendirmek amacıyla OGTT yapıldı.

OGTT'den önce 12 saat süreyle aç bırakılan fakat su alımları serbest bırakılan deney hayvanlarının 12 saatlik açlık sonunda tedavileri her zamanki gibi uygulandı ve tedavi uygulamasından 30 dakika sonra bütün deney hayvanlarına 2.5 g/kg dozda sulu glukoz çözeltisi oral yolla (i.g.) verildi. Gruplardaki tüm deney hayvanlarının kan glukoz seviyeleri glukoz yüklemesi sonrası kuyruk veninden alınan kanda 0., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda ölçüldü (OGTT Yöntemi; Du ve ark., 2019 ve Zambrana ve ark., 2018'den modifiye edildi).

Şekil 4 deney hayvanlarına uygulanan OGTT sonuçlarını göstermektedir. Her grup oral glukoz yüklemesini takip eden 30 dakika süresince kan glukoz düzeylerinde belirgin bir artış sergileyerek, hipergliseminin başarılı bir şekilde indüklendiğini

gösterdi. DM+EM (Pozitif Kontrol grubu) grubuna ait kan glukozu düzeyleri; EM tedavisinin glukozu diğer tedavi gruplarından daha iyi tolere ettiğinin göstergesi olarak Kontrol dışındaki diğer gruplardan daha düşük seyretti. 30. dakikanın sonrasında Kontrol, DM ve DM+EM gruplarında kan glukozu düzeyleri yükselmeye devam ederken, DM+MF ve DM+TP gruplarında kan glukozu düzeyleri düşüşe geçti. 30. dakikada DM+MF ve DM+TP gruplarının Kontrol grubu ile kıyaslandığında kan glukozunda anlamlı bir yükselme gösterdiği (sırasıyla $p<0.01$ ve $p<0.001$), DM grubunda kan glukozu düzeyleri 60. dakikaya kadar yükselmeye devam ederken, DM+MF ve DM+TP gruplarında 60. ve DM+TP grubunda 90. ve 120. dakikalarda Kontrol grubuna göre (sırasıyla $p<0.001$, $p<0.05$ ve $p<0.01$) ve 120. dakikada DM+EM grubuna göre kan glukozunda anlamlı bir düşüşe ($p<0.01$) geçtiği görüldü. DM+EM grubunda OGTT ile yüklenen glukoz iyi tolere edilirken, DM+MF ve DM+TP gruplarında OGTT ile yüklenen glukozun DM+EM grubu kadar iyi tolere edilemediği tespit edildi.

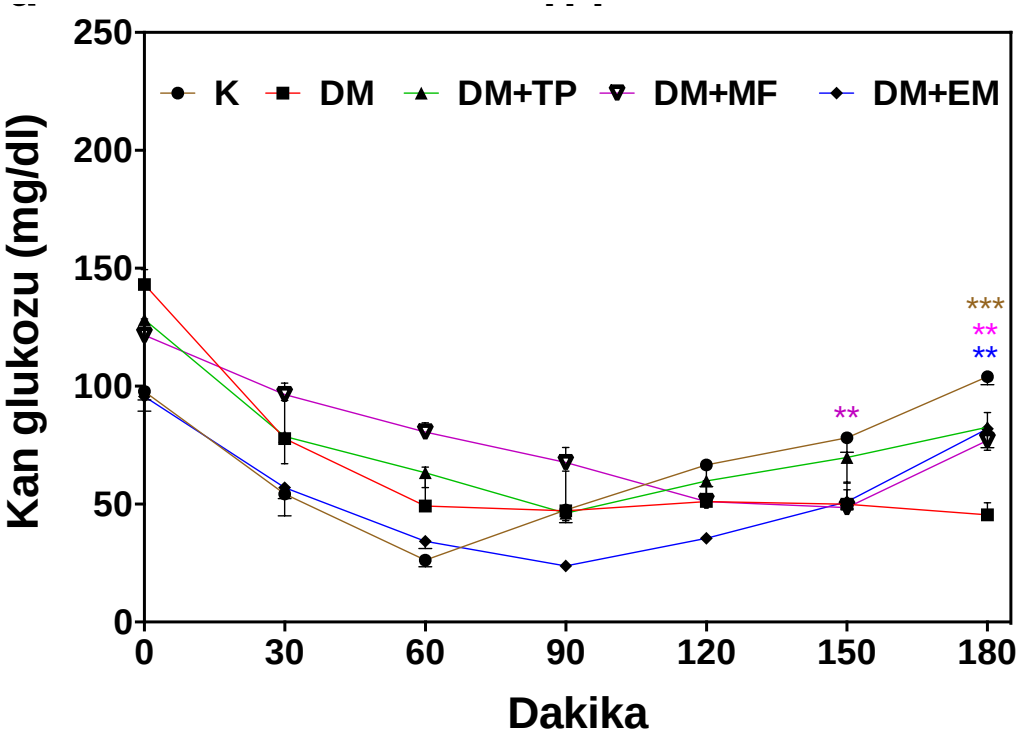


Şekil 4. Deney hayvanlarının OGTT ölçüm verileri
OGTT'de deney hayvanlarının 0., 30., 60., 90. ve 120. dakikalardaki kan glukozu verileri (mg/dl). Her bir grubun verileri ortalama ± ortalama standart hata olarak verildi. Veri analizi, GraphPad Prism 6.0 ile iki yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanılarak yapıldı. *$p<0.05$, **$p<0.01$, ***$p<0.001$ kontrol grubuna göre kıyaslandı; #$p<0.05$, ##$p<0.01$, ###$p<0.001$ DM+EM grubuna göre kıyaslandı.

6.4.2. MF, TP ve EM'nin deney hayvanlarında ITT üzerine etkileri

21 günlük tedavi uygulamasının 20. gününde her bir deney hayvanının insülin direncini belirlemek amacıyla ITT yapıldı. ITT öncesi 12 saat süreyle aç bırakılan fakat su alımları serbest bırakılan deney hayvanlarının 12 saatlik açlık sonunda tedavileri her zamanki gibi uygulandı ve tedavi uygulamasından 30 dakika sonra bütün deney hayvanlarına i.p. insülin 1 IU/kg (insülin lispro (Humolog®, Lilly)) enjeksiyonu yapıldı. Gruplardaki tüm deney hayvanlarının kan glukozu seviyeleri insülin uygulaması sonrası kuyruk veninden alınan kanda 0., 30., 60., 90., 120., 150. ve 180. dakikalarda ölçüldü ve değerlendirmek üzere kayıt altına alındı (ITT Yöntemi; Domon ve ark., 2019 ve Çam, 2017'den modifiye edildi).

Şekil 5'de verilen ITT uygulaması sonrası, DM grubunun kan glukozu seviyeleri 180. dakikanın sonunda bile düşüş eğilimi sergilerken, tedavi gruplarının ve pozitif kontrol grubunun DM grubuna göre insülini daha iyi tolere ettiği görüldü. ITT uygulamasının 150. dakikasında DM+MF grubuna ait kan glukozu düzeylerinin, DM grubuna göre anlamlı derecede yükseldiği ($p<0.01$) tespit edildi. ITT uygulamasının 180. dakikasında Kontrol, DM+MF ve DM+EM (Pozitif Kontrol grubu) gruplarına ait kan glukozu düzeyleri incelendiğinde ise, bu gruplarda DM grubuna göre kan glukozu düzeyinin anlamlı olarak yükseldiği (DM+MF ve DM+EM grupları için $p<0.01$, Kontrol grubu $p<0.001$) ve bu grupların insülini DM grubuna göre daha iyi tolere ettiği tespit edildi.

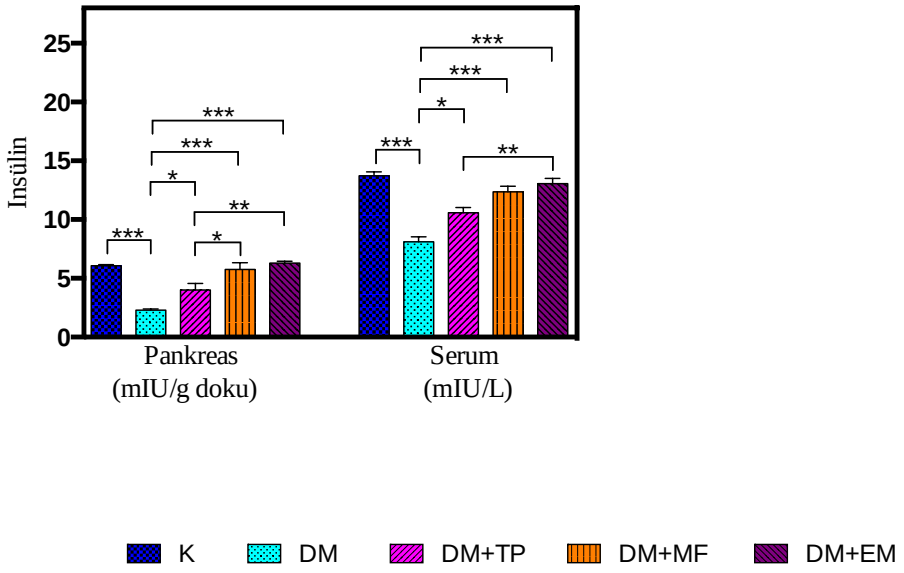


Şekil 5. Deney hayvanlarının ITT ölçüm verileri
ITT'de deney hayvanlarının 0., 30., 60., 90., 120., 150. ve 180. dakikalardaki kan glukozu verileri (mg/dl). Her bir grubun verileri ortalama ± ortalama standart hata olarak verildi. Veri analizi GraphPad Prism 6.0 ile iki yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanılarak yapıldı. **p<0.01, ***p<0.001 DM grubuna göre kıyaslandı.

6.5. MF, TP ve EM ile 21 Günlük Tedavinin Deney Hayvanlarından Elde Edilen Serum ve Doku Örnekleri Üzerine Etkileri

6.5.1. MF, TP ve EM ile 21 günlük tedavinin insülin seviyeleri üzerine etkileri

MF, TP ve EM (Pozitif Kontrol grubu) ile 21 günlük tedavinin insülin seviyeleri üzerine etkileri deney hayvanlarından elde edilen serum ve pankreas dokusunda ELISA kitiyle ölçüldü ve sonuçlar Şekil 6'da verildi.



Şekil 6. MF, TP ve EM ile 21 günlük tedavinin insülin seviyeleri üzerine etkileri

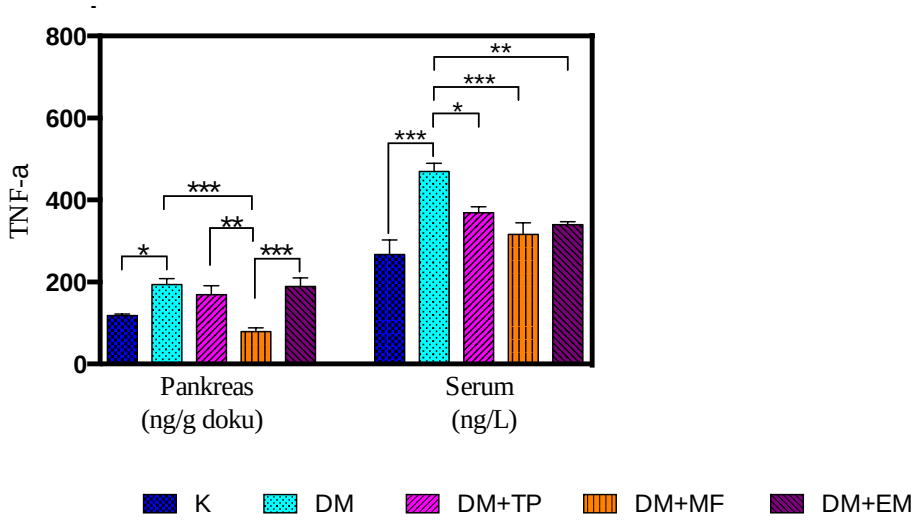
Veriler ortalama ± ortalama standart hata olarak verildi. Veri analizi GraphPad Prism 6.0 ile tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanılarak yapıldı.

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 her bir grup birbirine göre kıyaslandı.

Şekil 6'dan da anlaşıldığı üzere; DM grubunda gerek serum gerekse pankreas dokusunda insülin seviyelerinin Kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı görüldü ($p<0.001$). Tedavi gruplarında ise DM grubu ile karşılaştırıldığında insülin seviyelerinin gerek serumda gerekse pankreas dokusunda daha yüksek olduğu belirlendi (DM+MF, DM+TP ve DM+EM grupları için sırasıyla; pankreas dokusunda $p<0.001$, $p<0.05$, $p<0.001$ ve serumda $p<0.001$, $p<0.05$, $p<0.001$). İnsülin seviyelerinde gerek serum gerekse pankreas dokusunda DM grubuna göre yükseklik DM+MF ve DM+EM gruplarında oldukça belirgindi (her iki tedavi için hem serum hem de pankreas dokusu için $p<0.001$).

6.5.2. MF, TP ve EM ile 21 günlük tedavinin TNF-α seviyeleri üzerine etkileri

MF, TP ve EM (Pozitif Kontrol grubu) ile 21 günlük tedavinin TNF-α seviyeleri üzerine etkileri deney hayvanlarından elde edilen serum ve pankreas dokusunda ELISA kitiyle ölçüldü ve sonuçlar Şekil 7'de verildi.



Şekil 7. MF, TP ve EM ile 21 günlük tedavinin TNF-α seviyeleri üzerine etkileri

Veriler ortalama ± ortalama standart hata olarak verildi. Veri analizi GraphPad Prism 6.0 ile tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanılarak yapıldı.

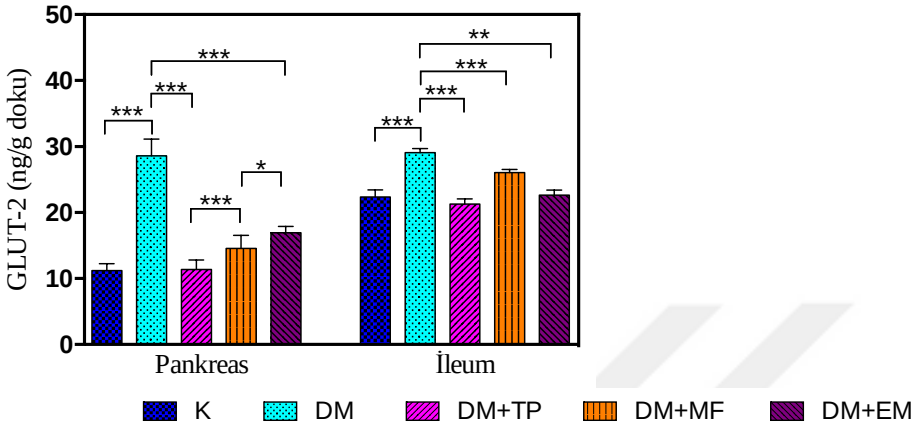
*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 her bir grup birbirine göre kıyaslandı.

Şekil 7'den anlaşıldığı üzere, DM grubunda serum TNF-α seviyelerinde Kontrol grubuna göre anlamlı bir yükseliş görülürken (p<0.001), tedavi gruplarında DM grubuna göre TNF-α seviyelerinde özellikle DM+MF grubunda daha belirgin olmak üzere düşüş tespit edildi (DM+MF, DM+TP ve DM+EM gruplarında sırasıyla; p<0.001, p<0.05, p<0.01).

Deney hayvanlarından elde edilen pankreas dokusunda yapılan ELISA kiti ölçümlerinde ise; TNF-α seviyelerinde DM grubunda Kontrol grubuna göre hafif yükseliş (p<0.05), DM+MF grubunda ise DM grubuna göre belirgin bir düşüş belirlendi (p<0.001). Bununla birlikte DM+MF grubunda TNF-α seviyelerindeki düşüşün, DM+TP ve DM+EM guruplarına göre de istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (sırasıyla p<0.01 ve p<0.001).

6.5.3. MF, TP ve EM ile 21 günlük tedavinin GLUT-2 seviyeleri üzerine etkileri

MF, TP ve EM (Pozitif Kontrol grubu) ile 21 günlük tedavinin GLUT-2 seviyeleri üzerine etkileri deney hayvanlarından elde edilen pankreas ve ileum dokusunda ELISA kitiyle ölçüldü ve sonuçlar Şekil 8'de verildi.

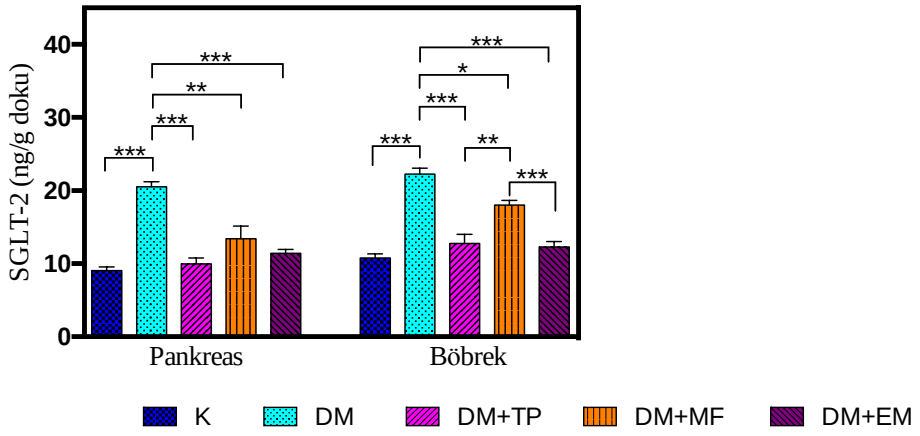


Şekil 8. MF, TP ve EM ile 21 günlük tedavinin GLUT-2 seviyeleri üzerine etkileri
Veriler ortalama ± ortalama standart hata olarak verildi. Veri analizi GraphPad Prism 6.0 ile tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanılarak yapıldı.
*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 her bir grup birbirine göre kıyaslandı.

Şekil 8'den de anlaşıldığı üzere DM grubunda GLUT-2 seviyelerinin hem pankreas hem de ileum dokusunda Kontrol grubuna göre ciddi düzeyde yükseldiği belirlendi (her iki dokuda yapılan ölçümlerde $p<0.001$). Tedavi gruplarında ise ileum dokusunda yapılan ölçümlerde DM grubuna kıyasla GLUT-2 seviyelerinde anlamlı derecede azalma tespit edildi (DM+MF, DM+TP ve DM+EM grupları için sırasıyla; $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.01$). Pankreas dokusunda yapılan GLUT-2 seviyeleri ölçümleri incelendiğinde ise DM+TP ve DM+EM gruplarının DM grubuna göre GLUT-2 seviyelerinde ciddi düşüş olduğu belirlendi (her iki grup için $p<0.001$).

6.5.4. MF, TP ve EM ile 21 günlük tedavinin SGLT-2 seviyeleri üzerine etkileri

MF, TP ve EM (Pozitif Kontrol grubu) ile 21 günlük tedavinin SGLT-2 seviyeleri üzerine etkileri deney hayvanlarından elde edilen pankreas ve böbrek dokusunda ELISA kitiyle ölçüldü ve sonuçlar Şekil 9'da verildi.

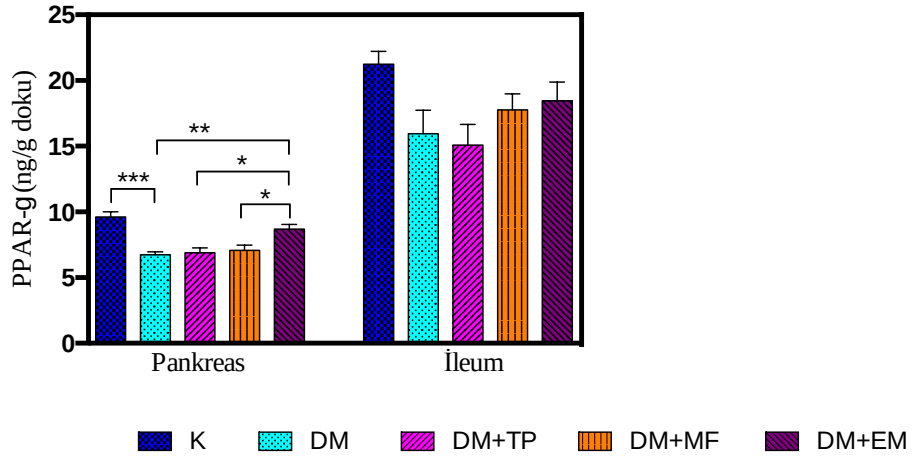


Şekil 9. MF, TP ve EM ile 21 günlük tedavinin SGLT-2 seviyeleri üzerine etkileri
Veriler ortalama ± ortalama standart hata olarak verildi. Veri analizi GraphPad Prism 6.0 ile tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanılarak yapıldı.
*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 her bir grup birbirine göre kıyaslandı.

Şekil 9'dan da anlaşıldığı üzere DM grubunun SGLT-2 seviyeleri her iki dokuda (pankreas ve böbrek) yapılan ölçümlerde de Kontrol grubuna göre ciddi derecede yüksek olduğu tespit edildi (her iki dokuda yapılan ölçümlerde de p<0.001). Tedavi grupları ve pozitif grubunda ise her iki dokuda yapılan ölçümlerde de DM grubuna göre SGLT-2 seviyelerinde anlamlı düşüş belirlendi (pankreas dokusunda DM+MF, DM+TP ve DM+EM grupları için sırasıyla; p<0.01, p<0.001, p<0.001; böbrek dokusunda DM+MF, DM+TP ve DM+EM grupları için sırasıyla; p<0.05, p<0.001, p<0.001).

6.5.5. MF, TP ve EM ile 21 günlük tedavinin PPAR-γ seviyeleri üzerine etkileri

MF, TP ve EM (Pozitif Kontrol grubu) ile 21 günlük tedavinin PPAR-γ seviyeleri üzerine etkileri deney hayvanlarından elde edilen pankreas ve ileum dokusunda ELISA kitiyle ölçüldü ve sonuçlar Şekil 10'da verildi.



Şekil 10. MF, TP ve EM ile 21 günlük tedavinin PPAR-γ seviyeleri üzerine etkisi

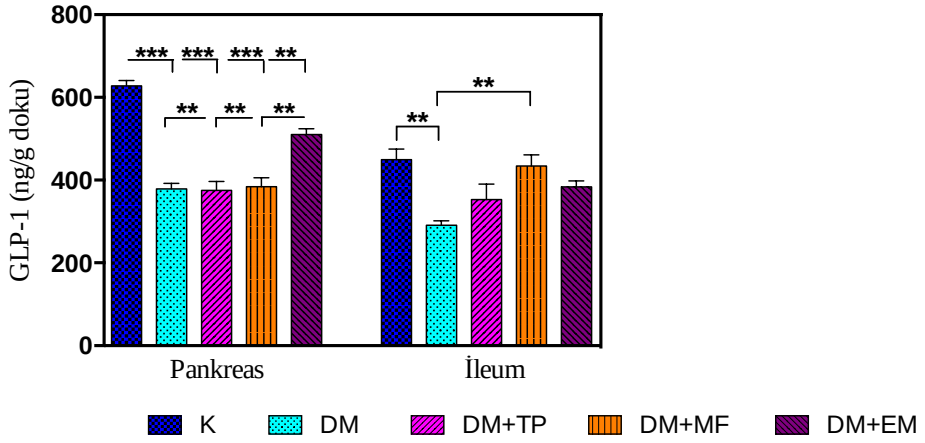
Veriler ortalama ± ortalama standart hata olarak verildi. Veri analizi GraphPad Prism 6.0 ile tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanılarak yapıldı.

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 her bir grup birbirine göre kıyaslandı.

Şekil 10'da da görüldüğü gibi pankreas dokusunda yapılan ölçümlerde DM grubunda PPAR-γ seviyesinin Kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı tespit edildi ($p<0.001$). Bununla birlikte pankreas dokusunda sadece DM+EM grubundaki PPAR-γ seviyesinin DM grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi ($p<0.01$). İleum dokusunda yapılan analizlerde ise gruplar arasında PPAR-γ seviyeleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmedi.

6.5.6. MF, TP ve EM ile 21 günlük tedavinin GLP-1 seviyeleri üzerine etkileri

MF, TP ve EM (Pozitif Kontrol grubu) ile 21 günlük tedavinin GLP-1 seviyeleri üzerine etkileri deney hayvanlarından elde edilen pankreas ve ileum dokusunda ELISA kitiyle ölçüldü ve sonuçlar Şekil 11'de verildi.



Şekil 11. MF, TP ve EM ile 21 günlük tedavinin GLP-1 seviyeleri üzerine etkisi

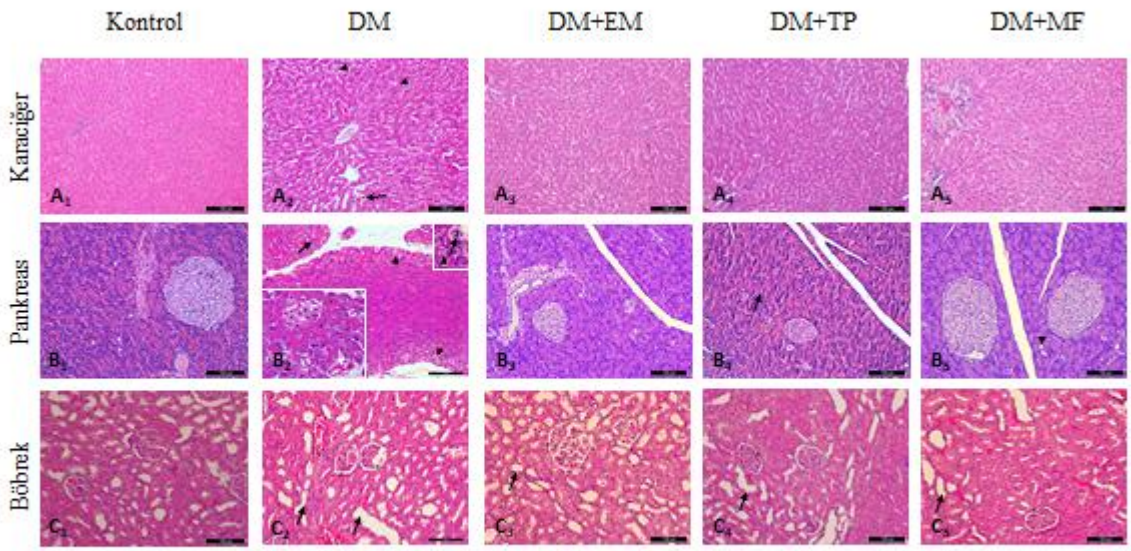
Veriler ortalama ± ortalama standart hata olarak verildi. Veri analizi GraphPad Prism 6.0 ile tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanılarak yapıldı.

**p<0.01, ***p<0.001 her bir grup birbirine göre kıyaslandı.

Şekil 11'den de anlaşıldığı üzere DM grubuna ait GLP-1 seviyelerinin her iki dokuda (pankreas ve ileum) yapılan analizlerde de Kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüş gösterdiği tespit edildi (sırasıyla $p<0.001$ ve $p<0.01$). Bununla birlikte pankreas dokusunda yapılan analizler incelendiğinde; tedavi gruplarında ve pozitif kontrol grubunda GLP-1 seviyelerinin de Kontrol grubuna göre düşüş sergilediği tespit edildi (DM+MF, DM+TP ve DM+EM gruplarında sırasıyla $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.01$). Ayrıca DM+EM grubu ile karşılaştırıldığında, DM, DM+MF ve DM+TP gruplarının pankreas dokusundaki GLP-1 seviyelerinin anlamlı derecede düşük olduğu belirlendi (her bir grup için $p<0.01$).

İleum dokusunda yapılan GLP-1 seviyesi analizleri incelendiğinde; DM+MF grubunda GLP-1 seviyelerinde DM grubuna göre anlamlı derecede bir yükselme tespit edildi ($p<0.01$).

6.6. MF, TP ve EM (Pozitif Kontrol grubu) ile 21 Günlük Tedavinin Deney Hayvanlarında Karaciğer, Pankreas ve Böbrek Dokularının Histolojisi Üzerine Etkileri



Şekil 12. Deney gruplarında karaciğer, pankreas ve böbrek korteksinin fotomikrografları (50 µm ve 100 µm ölçekli)

(1) Deney hayvanlarına ait karaciğer dokularının histoloji sonuçları: Kontrol grubunda (A_1); hepatositler ve sinüzoidler ile birlikte düzenli karaciğer parankiması gözlemlendi. DM grubunda (A_2); hepatik kordlarda düzensizlik, hepatositlerde dejenerasyon (ok ucu), sinüzoidlerde ciddi vasküler konjesyon (ok) not edildi. Tedavi grupları ve pozitif kontrol grubunda (DM+MF, DM+TP, DM+EM) (A_{3-5}) ise; hepatik kordların normal düzeni ve hepatositlerde daha az dejenerasyon gözlemlendi.
(2) Deney hayvanlarına ait pankreas dokularının histoloji sonuçları: Kontrol grubunda (B_1); normal pankreatik görünüm gözlemlendi. DM grubunda (B_2); asinar nekroz (ok uçları), apoptik hücreler (oklar), hipertrofik hücreler (*) ve hemoraj (beyaz ok) not edildi. Tedavi grupları ve pozitif kontrol grubunda (DM+MF, DM+TP, DM+EM) (B_{3-5}); hafif asinar hipertrofi (*), apoptoz (ok) ve nekroz (ok ucu) gözlemlendi.

(3) Deney hayvanlarına ait böbrek dokularının histoloji sonuçları: Kontrol grubunda (C_1); glomerül yapıları, Bowman boşluğu ve tübüllerle birlikte böbrek dokusuna ait normal morfoloji gözlemlendi. DM grubunda (C_2); vasküler konjesyon (v), glomerüler yapıların dejenerasyonu ve Bowman boşluğunda dilatasyon (*) gözlemlendi. Tedavi grupları ve pozitif kontrol grubunda (DM+MF, DM+TP, DM+EM) (C_{3-5}); glomerüler yapıların ve Bowman boşluğunun normal morfolojisi (*) ve çoğu bölgede proksimal tübülün hafif dejenerasyonu (ok) not edildi. H&E boyama ölçek çubukları: 100 μm'dir.

Deney hayvanlarına ait karaciğer dokularının histoloji sonuçlarını incelediğimizde; Kontrol grubunun ışık mikroskobu değerlendirmesinde zarar görmemiş, bütünlüğü bozulmamış hepatositler ve sinüzoidlerle birlikte muntazam karaciğer parankima morfolojisi tespit edildi (Şekil A_1). DM grubunda ise hepatik kordlarda düzensizlik gözlemlendi (Şekil A_2). Bununla birlikte sinüzoidlerin ciddi vasküler konjesyonu, Kupffer hücrelerinde belirgin aktivasyon, piknotik çekirdeklerle birlikte dejenere hepatositler tespit edildi. Tedavi gruplarında ve pozitif kontrol grubunda (DM+MF, DM+TP, DM+EM) ise hepatik kordlarda normal düzen gözlemlendi. Bunun yanında her ne kadar bütün tedavi gruplarında ve pozitif kontrol grubunda bu morfolojik dejenerasyonlarda iyileşme gözlemlenmiş olsa da (Şekil A_{3-5}), DM+MF grubunda daha fazla aktive olmuş Kupffer hücresi gözlemlenmiş olup, DM+EM grubunda karaciğer dokusunda diğer tedavi gruplarına göre Kontrol grubundakine benzer biçimde daha muntazam bir morfoloji tespit edildi.

Deney hayvanlarına ait pankreas dokusunun histoloji sonuçlarını incelediğimizde; Kontrol grubunda, bazal çekirdekleri ve apikal asidofilik stoplazması ile birlikte pankreatik asinar hücreleri ve muntazam adacık morfolojisi gözlemlendi (Şekil B_1). DM grubunda belirgin asinar hücre hipertrofisi ve apoptoz/nekrozun yanısıra dejenere endokrin hücrelerde artış da gözlemlendi (Şekil B_2). Pankreastaki histopatolojik değişiklikler, tedavi gruplarında ve pozitif kontrol grubunda (DM+MF, DM+TP, DM+EM) kısmen iyileşti (Şekil B_{3-5}). Tedavi gruplarında ve pozitif kontrol grubunda hafif asinar hipertrofi, apoptoz ve nekroz gözlemlendi. DM+EM grubunda, diğer tedavi grupları ile kıyaslandığında artmış pankreatik rejenerasyon ile birlikte hafif düzenli bir morfoloji gözlemlendi.

Deney hayvanlarına ait böbrek dokusunun histoloji sonuçlarını incelediğimizde; Kontrol grubu muntazam glomerüller ve tübüllerle birlikte normal bir renal parankima morfolojisi sergilemekle birlikte (Şekil C_1), DM grubunda orta derece vasküler konjesyon, Bowman boşluğunda dilatasyon, glomerüller yapılarda ve proksimal tübüllerde dejenerasyon gözlemlendi (Şekil C_2). Bununla birlikte tedavi gruplarında ve pozitif kontrol grubunda (DM+MF, DM+TP, DM+EM) Bowman boşlukları, glomerüller ve proksimal tübüller daha iyi bir morfoloji gösterdi (Şekil $C_{3\text{-}5}$).

7. TARTIŞMA VE SONUÇ

T2DM; obezite ve sedanter yaşam şekli gibi çeşitli diğer faktörlerin yanında kompleks genetik-çevresel etkileşimle oluşan ciddi ve yaygın bir kronik hastalık olup, T2DM ve komplikasyonları, dünya genelinde gerek gelişmiş gerekse gelişmekte olan ülkelerde diyabete bağlı morbidite ve mortalitenin yüksek oranları ile neredeyse bütün popülasyonları etkileyen oldukça büyük bir halk sağlığı problemidir (Wu ve ark., 2014). T2DM tedavisinde insülin preparatları ve antidiyabetik ilaçları da içeren farmakoterapi mevcut olmasına rağmen (Quattrocchi ve ark., 2020; Chaudhury ve ark., 2017), pek çok hastanın tedavi uyuncu ile ilgili sorunlar, ilaçlara bağlı yan etkiler, yüksek ilaç maliyetleri gibi nedenlerle tıbbi tedaviye yeterli yanıt verememesi ve buna bağlı olarak hastalığın ve hastalığa bağlı komplikasyonların ilerlemesi gibi sorunlar (Quattrocchi ve ark., 2020) diyabet tedavisinde yeni, daha etkili ve daha güvenilir tedavi yaklaşımları için araştırmaların devam etmesine neden olmaktadır (Deshmukh ve Jain, 2015; Patel ve ark., 2012; García-Galicia, 2014). DM'li hastaların yaklaşık %30'unun tamamlayıcı ve alternatif tedavi alıyor olduğu belirtilmiştir (Çam, 2017; Shewamene ve ark., 2015). Yakın tarihli bir çalışmada bu bilgiyi destekler nitelikte olup, pek çok diyabet hastasının tamamlayıcı tedavi kullandığı (Birleşik Krallık'ta bu oran %17, Birleşik Devletler'de ise bu oran %72'dir) ve bitkisel ilaçların diyabette en sık kullanılan tamamlayıcı tedavi olduğu (örneğin Suudi Arabistan ve Meksika'da diyabet hastalarının bitkisel ilaç kullanımının oranları sırasıyla %68 ve %62'dir) rapor edilmiştir (Willcox ve ark., 2021). "Bitkiler DM tedavisinde istenilen etkili ve güvenilir tedavi araştırmaları için en iyi seçeneklerden biri" olarak değerlendirildiğinden, pek çok bitki antidiyabetik etkinliği ve etki mekanizmaları yönünden araştırılmıştır (Patel ve ark., 2012).

Çalışmamızda antidiyabetik etkinliğini ve etki mekanizmalarını araştırdığımız bitkilerden *Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *brachycalyx* P.H.Davis'in antidiyabetik etkinliği ve/veya antidiyabetik etki mekanizmalarına dair literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bununla birlikte çalışmamızda antidiyabetik etkinliğini ve etki mekanizmalarını araştırdığımız bir diğer bitki olan *Teucrium polium* L.'nin anthiperglisemik etkileri üzerine çeşitli çalışmalar mevcuttur (Vahidi ve ark., 2010; Mahjoub ve ark., 2012). Çalışmamızda 21 günlük bitki ekstresi

tedavisi uygulaması sonrası gerek tedavi grupları gerekse pozitif kontrol grubunda T2DM modeli oluşturulan deney hayvanlarının kan glukozu düzeylerinde T2DM modeli oluşturulan ve herhangi bir tedavi uygulanmayan DM grubuna göre belirgin derecede düşüş elde edildi (Şekil 3). Diyabet indüksiyonu deney hayvanlarında katabolik kas atrofisi ve doku proteinlerinin katabolizması ile karakterize kilo kaybı ile ilişkilendirilmiştir (Çam ve ark., 2017). Bizim çalışmamızın sonucunda deney hayvanlarında vücut ağırlığı açısından istatistiksel olarak tespit edilen tek anlamlı değişiklik, DM grubunda 3. haftada Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı kilo kaybı olduğu görüldü (Şekil 2). Bu bulgular, Kontrol grubu, tedavi grupları ve pozitif kontrol grubunun vücut ağırlıklarını korumuş olduklarının göstergesi olup, bu bilgiyi desteklemektedir. Bu sonuçlara ilave olarak MF ve TP tedavilerinin antidiyabetik etkinliklerinin aydınlatılmasını desteklemek amacıyla deney hayvanlarına 21 günlük tedavi sürecinin 19. gününde OGTT ve 20. gününde ITT uygulaması yapıldı. OGTT sonuçları (Şekil 4); MF ve TP tedavilerinin DM grubuna göre glukozu daha iyi tolere ettiğini ancak gruplar arasında Kontrol grubuna yakın derecede ve Kontrol grubundan sonra glukozu en iyi EM tedavisi uygulanan grubun tolere ettiğini göstermektedir. ITT sonuçlarında ise (Şekil 5) DM grubunda insülin direnci geliştiği görülürken, tedavi grupları ve pozitif kontrol grubunda ise insülin direncinin azaldığı tespit edildi. Bu bulgular, MF ve TP'nin her ikisinin de antidiyabetik etkinliklerinin olduğunu göstermiş olup, bu bulgulardan hareketle çalışmamızın bir sonraki aşaması olan MF ve TP'nin antidiyabetik etki mekanizmalarını nasıl ortaya çıkardıklarının araştırılması safhasına geçildi.

T2DM'de pankreas β hücre kütlesinde ve fonksiyonunda ve insülin salgılanmasında ilerleyici azalma olduğu bilinmektedir (Cerf, 2013; American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes 2022). Çalışmamızda DM grubuna ait insülin seviyelerinin gerek pankreas dokusunda gerekse serumda Kontrol grubuna göre belirgin derecede azalmış olması bu bilgileri desteklemektedir. Bununla birlikte çalışmamızda tedavi gruplarında ve pozitif kontrol grubunda hem serum hem de pankreas dokusunda insülin seviyelerinin DM grubuna göre belirgin derecede yükseldiği tespit edilmiş olup, bu yükselme özellikle DM+MF ve DM+EM gruplarında oldukça dikkat çekicidir. Bununla birlikte çalışmamızda deney hayvanlarının pankreas dokularının histolojik

analizlerini incelediğimizde DM grubunda pankreas β hücre harabiyeti, Kontrol grubunda düzenli pankreas morfolojisi, tedavi gruplarında ve pozitif kontrol grubunda ise pankreas dokusunda kısmen iyileşmiş histopatolojik değişiklikler gözlenmesi, OGTT ve ITT sonuçlarını ve pankreas ve serumdaki insülin bulgularımızı desteklemektedir. Bu bulgular ışığında "insülin seviyelerindeki yükselme"nin MF ve TP tedavisinin antidiyabetik etkinliklerinin altında yatan mekanizmalardan birisi olabileceğini söyleyebiliriz. SGLT-2 inhibitörlerinin β hücreleri üzerine direkt bir etkileri gösterilmemiş olmakla birlikte, T2DM hastalarında bir SGLT-2 inhibitörü olan empagliflozin ile kan glukoz düzeylerinin düşürülmesinin β hücre fonksiyonunu iyileştirdiği, β hücre fonksiyonunda belirgin bir artışa neden olduğu ve empagliflozinin bu etkisinin hızlı başlayıp, bütün tedavi süresince (örneğin 14 gün) devam ettiği gösterilmiştir (Al Jobori ve ark., 2018). Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlarımız bu bilgiyi desteklemektedir. *Teucrium polium* L.'nin etanol/su ve metanol ekstrelerinin "insülinotropik özellikleri" çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Yazdanparast ve ark., 2005; Mirghazanfari ve ark., 2010). Bu çalışmalardan ilkinde *Teucrium polium* L.'nin STZ ile pankreas β hücrelerinde meydana gelen bozukluğu önleyerek rejenerasyona katkıda bulunmasının bu insülinotropik etkinliğe katkısı olabileceği belirtilmektedir (Yazdanparast ve ark., 2005). Diğer çalışmada ise *Teucrium polium* L.'nin sulu ekstresi ve metanol ekstresi izole sıçan pankreas dokusunda çalışılmış ve *Teucrium polium* L.'nin "metanol ekstresinin" bazal insülin salgılanmasını stimüle ettiği ve bu etkinin *Teucrium polium* L.'nin metanol ekstresi içerisinde bulunan "apigenin" bileşiğine bağlı olarak olabileceği belirtilmiştir (Mirghazanfari ve ark., 2010). Bizim bulgularımız bu çalışmalardan elde edilen sonuçlarla uyumlu olup, bu bilgileri desteklemektedir. Bununla birlikte her ne kadar literatürde *Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *brachycalyx* P.H.Davis'in insülinotropik özellikleri üzerine herhangi bir çalışmaya rastlanmamış olsa da çalışmamızda MF tedavisine bağlı olarak DM grubu ile karşılaştırıldığında serum ve pankreas dokusunda ölçülen insülin seviyelerindeki yükselmenin, daha önce yapılmış çalışmalarla "insülinotropik özellikleri" gösterilmiş olan *Teucrium polium* L. bitkisinin metanol ekstresi ile tedaviden daha belirgin olması, *Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *brachycalyx* P.H.Davis'in de *Teucrium polium* L.'ye benzer biçimde insülinotropik özellikleri

olabileceğini göstermekte olup, bu özellikler ileri çalışmalarla araştırılıp, desteklenebilir.

T2DM patogenezi ve insülin direnci; glukolipotoksisite, reaktif oksijen ürünlerinin oluşumu, epigenetik faktörlerin oluşumu, çeşitli transkripsiyonel aracılı yolakların aktivasyonu ve çeşitli proinflamatuvar sitokinlerin düzeylerindeki artış gibi çoklu-uyaran faktörler ile karakterize olup, TNF-α bu proseslerde rol oynayan proinflamatuvar sitokinlerin en önemlilerinden biridir (Akash ve ark., 2018). Çalışmamızda bu bilgiyle uyumlu olarak DM grubunda TNF-α seviyelerinin gerek serum gerekse pankreas dokusunda Kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edildi. Bununla birlikte tedavi grupları ve pozitif kontrol grubunda serum TNF-α seviyeleri DM grubuna göre azalmış olmakla birlikte, MF tedavisinde DM grubu ile karşılaştırıldığında TNF-α seviyelerinde gerek serum gerekse pankreas dokusundaki düşüşün diğer tedavi grubu ve pozitif kontrol grubuna göre daha belirgin olduğu tespit edildi. Bu bulgular; daha önce yapılmış karaciğer hasarı ve hiperkolesterolemiyi de içeren deney hayvanı modeli çalışmalarında *Teucrium polium* L. ile elde edilen ve bu bitkinin antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklerine katkı sağladığı belirtilen sırasıyla karaciğer ve serumda azalmış TNF-α seviyeleri sonuçları ile uyumludur (Amini ve ark., 2011; Amraei ve ark., 2018). Literatürde *Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *brachycalyx* P.H.Davis'in TNF-α seviyeleri üzerine etkileri ile ilgili yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamakla birlikte, daha önce belirttiğimiz gibi çalışmamızda DM grubu ile karşılaştırıldığında, MF tedavisi gerek serum gerekse pankreas dokusunda TNF-α seviyelerini TP tedavisine göre daha belirgin düşürdüğünden, MF'nin de antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri olabileceği ve bu etkilerinin antidiyabetik özelliklerine katkı sağlayabileceğini söyleyebiliriz. Bu bilgilere ek olarak, son yapılan hayvan deneyi çalışmalarında empagliflozinin karaciğer dokusu, atriyum ve ventrikül dokuları, serum ve adipoz doku ve böbrek dokusu gibi çeşitli dokularda artmış TNF-α ekspresyonunu azalttığı gösterilmiş olup, bu bilgiler çalışmamızdan elde ettiğimiz empagliflozin tedavisine bağlı olarak DM grubu ile karşılaştırıldığında serumda tespit edilen TNF-α seviyelerindeki azalma sonuçlarını destekler niteliktedir (Abdelhamid ve ark., 2020; Lee ve ark., 2019; Han ve ark., 2017; Ashrafi Jigheh ve ark., 2019).

Glukoz; hücre içine glukoz taşıyıcıları ile girmekte olup, bu taşıyıcılar temel olarak "Kolaylaştırılmış Difüzyon Glukoz Taşıyıcıları (GLUT'lar)" ve "Sodyum-Glukoz Ko-Transporterları (SGLT'ler)" olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır (Navale ve Paranjape, 2016) ve glukoz taşıma sistemlerindeki bozukluklar T2DM'nin altında yatan patolojilerinden biri olarak değerlendirilmektedir (Kouznetsova ve ark., 2017). GLUT-2; karaciğer, böbrekler, pankreas β hücreleri ve merkezi sinir sisteminde (nöronlar, astrositler, tanisitlerde) eksprese edilen bir glukoz taşıyıcı izoformudur ve karaciğer ve pankreasta glukoza duyarlılaştırma, pankreasta glukoz ile stimüle edilen insülin salgılanması, karaciğere glukoz alımı ve ince barsaklarda transepitel glukoz taşınmasında görev almakta olup, glukoz homeostazında önemli bir role sahiptir (Thorens, 2015). Diyabetik hayvan modellerinde GLUT-2 ekspresyonunun ileum dokusunda arttığı tespit edilmiştir (Burant ve ark., 1994). Bizim çalışmamızda, 21 günlük tedavi süreci sonunda DM grubunda Kontrol grubuna göre ileum dokusunda GLUT-2 seviyelerinin belirgin derecede yükseldiği, MF ve TP tedavisi ile ise ileum dokusundaki GLUT-2 seviyelerinin DM grubu ile karşılaştırıldığında belirgin derecede düştüğü belirlenmiş olup, bu bulgular, MF ve TP'nin antidiyabetik etki mekanizmalarından birinin "ileum dokusunda GLUT-2 seviyelerinde azalma" olabileceği olarak değerlendirildi.

SGLT-2 bir başka glukoz taşıyıcısı olup, çoğunlukla böbreklerde proksimal kıvrımlı tübüllerde bulunur. SGLT-2 böbreklerde glukoz geri emiliminin yaklaşık %90'ından sorumlu olup, SGLT-2'nin inhibe edilmesi T2DM tedavisindeki hedef mekanizmalardan biri olmuştur (Cangoz ve ark., 2013). Diyabetik hayvanlarda artmış SGLT-2 ekspresyonu daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Osorio ve ark., 2012; Tabatabai ve ark., 2009). Böbreklerden idrar yoluyla glukozun atılmasını uyaran SGLT-2 inhibitörleri yakın geçmişte T2DM tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır (Shin ve ark., 2016). Bizim çalışmamızda DM grubunda böbrek dokusunda SGLT-2 düzeyleri Kontrol grubuna göre belirgin derecede artmış olup, bu bulgular literatürdeki çalışmalar ile uyum göstermektedir. Bununla birlikte çalışmamızda bütün tedavi gruplarında ve pozitif kontrol grubunda böbrek dokusunda SGLT-2 seviyelerinde azalma tespit edildi ve özellikle TP ve EM (pozitif kontrol) tedavisinde bu düşüşün belirgin olduğu görüldü. Pozitif kontrol olarak uyguladığımız empagliflozin bir SGLT-2 inhibitörüdür ve Birleşik Devletler Gıda ve

İlaç Dairesi (Food and Drug Administration (FDA)) ve Avrupa İlaç Dairesi (European Medicines Agency (EMEA)) tarafından 2014 yılında onaylanmış olup, T2DM tedavisinde kullanılmaktadır (Inzucchi ve ark., 2015). Bizim çalışmamızın sonuçlarında TP ve bir SGLT-2 inhibitörü olan EM, DM grubu ile karşılaştırıldığında böbrek dokusunda SGLT-2 seviyelerinde benzer derecede düşüşler gösterdiğinden, TP tedavisinin antidiyabetik etki mekanizmalarından birinin böbreklerde SGLT-2 seviyelerini düşürmesi ile ilgili olduğunu söyleyebiliriz. Bununla birlikte MF tedavisi sonucunda da TP ve EM tedavisi kadar belirgin olmamakla birlikte böbrek dokusunda SGLT-2 seviyelerinin DM grubu ile karşılaştırıldığında azaldığı tespit edildi. Böbreklerde SGLT-2 seviyelerinin azalmasının da MF'nin antidiyabetik etki mekanizmalarından biri olabileceğini düşünmekteyiz. Çalışmamızda ayrıca literatürde bu konuda yeterli veri olmamasına rağmen 21 günlük tedavi sonrası deney hayvanlarının pankreas dokularındaki SGLT-2 seviyeleri de ölçülerek benzer sonuçlar elde edildi. TP ve EM tedavisi sonrası pankreas dokusundaki SGLT-2 seviyelerinin de DM grubuna göre belirgin derecede azaldığı belirlendi.

GLP-1; glukoz metabolizması üzerinde glukoza bağımlı insülin üretimi ve salgılanmasını arttırmak, glukagon salgılanmasını azaltmak, periferik dokularda glukoz alımını ve glikojen sentezini arttırmak, mide boşalmasını geciktirmek ve tokluk hissini arttırmak gibi etkileri olan bir barsak hormonudur ve GLP-1'in bu etkileri bu hormonu diyabet tedavisinde ideal bir hedef yapmış ve yıllar içerisinde pek çok GLP-1 agonisti bulunarak diyabet tedavisinde yerini almıştır (Sheahan ve ark., 2020). Diyabetik sıçanlarda ileum ve pankreas dokusunda GLP-1 seviyelerinin azaldığı gösterilmiştir (Kartinah ve ark., 2019). Çalışmamızda DM grubunda ileum dokusundaki GLP-1 seviyelerinin Kontrol grubuna göre belirgin derecede düşük olduğu tespit edildi. Bununla birlikte 21 günlük tedavi sonunda MF grubunda ileum dokusunda GLP-1 seviyelerinin DM grubuna göre belirgin derecede yüksek olduğu belirlendi. Çalışmamızda bu bölümde daha önce yaptığımız değerlendirmelerimizde görüldüğü üzere MF tedavisinde DM grubu ile karşılaştırıldığında gerek serum gerekse pankreas dokusunda insülin seviyelerinin belirgin derecede yüksek olduğu tespit edildi. GLP-1'in glukoza bağımlı insülin üretimini ve salgılanmasını arttırdığı bilindiğinden bu bulgular ışığında; MF tedavisinin antidiyabetik etki

mekanizmalarından birinin ileum dokusunda GLP-1 seviyelerini yükseltmesi olabileceği ve bunun MF tedavisine bağlı olarak serum ve pankreas dokusundaki insülin seviyelerindeki yükselmeye katkısı olabileceğini söyleyebiliriz.

PPAR-γ peroksizom proliferatör aktive edici reseptörlerden birisi olup, bu reseptörün aktivasyonu insüline duyarlılaştırma ve glukoz metabolizmasını arttırma gibi çeşitli metabolik fonksiyonlara neden olmaktadır (Tyagi ve ark., 2011). PPAR-γ reseptörlerini aktive eden PPAR-γ agonistleri (tiazolidindionlar) T2DM tedavisinde kullanılmaktadır (Azhar 2010; Okur ve ark., 2017). Diyabetik sıçan modellerinde PPAR-γ protein ekspresyonunda azalma olduğu bildirilmiştir (Ajayi ve ark., 2021; Assaei ve ark., 2016; Li ve ark., 2019; Kanie ve ark., 2003). Çalışmamızın sonuçları Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; DM grubunun pankreas dokusunda PPAR-γ seviyelerinde literatür ile uyumlu olarak istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edildi (Assaei ve ark., 2016). Tedavi gruplarında (MF ve TP) DM grubu ile karşılaştırıldığında pankreas dokusundaki PPAR-γ seviyeleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmezken, EM grubunda (pozitif kontrol grubu) DM grubuna göre pankreas dokusundaki PPAR-γ seviyelerinde anlamlı yükselme tespit edildi. Literatürde empagliflozinin pankreas dokusundaki PPAR-γ seviyeleri üzerine etkisi ile ilişkili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bununla birlikte yakın tarihli hayvan deneyi çalışmalarında empagliflozinin karaciğer dokusunda PPAR-γ gen ekspresyonu üzerine etkisine ilişkin farklı sonuçlar bulunmuş, bir çalışmada empagliflozinin karaciğer dokusunda PPAR-γ gen ekspresyonunu azalttığı (Petito-da-Silva ve ark., 2019), bir diğer çalışmada ise yükselttiği gösterilmiştir (Abdelhamid ve ark., 2020). Bizim çalışmamızda ileum dokusundaki PPAR-γ seviyelerinde ise gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmedi. Bu bulguların ışığında; MF veya TP'nin antidiyabetik etkinliklerinin pankreas veya ileum dokusundaki PPAR-γ seviyeleri ile ilişkili olmadığı sonucuna varıldı.

Yapılan literatür taramalarında *Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *brachycalyx* P.H.Davis ile ilişkili herhangi bir yayına rastlanmamış olmakla birlikte, *Teucrium polium* L. uygulamasına bağlı olarak hepatotoksisite ve nefrotoksisite ile ilişkili çalışmalara rastlanmıştır (Zal ve ark., 2001; Baradaran ve ark., 2013). Bu çalışmalardan ilkinde streptozotosin ile diyabet oluşturulan sıçanlara 12 gün süresince 1 g/ml *Teucrium polium* sulu ekstresi (ml'si *Teucrium polium*'un toprak

üstü kısımlarının 4.5 g'ına karşılık geldiği belirtilmiştir) uygulanmış ve çalışma sonucunda deney hayvanlarının karaciğer dokusunda özellikle perivenüler bölgede belirgin hepatosit nekrozu (apoptotik cisimler), karaciğer lobüllerinin üçte ikisinde fokal hücre nekrozu ve sitoplazmada belirgin sıvı dolu değişiklik ve inflamatuvar hücre yokluğu da dahil olmak üzere dejenerasyonlar tespit edilmiştir (Zal ve ark., 2001). İkinci çalışmada *Teucrium polium* L.'nin nefrotoksik özelliklerini araştırmak amacıyla ilk beş grup sıçana salin ve 50 mg/kg, 100 mg/kg, 150 mg/kg ve 200 mg/kg dozlarında *Teucrium polium* L. hidroalkolik ekstresi 28 gün süresince intraperitoneal (i.p.) yolla uygulanmış ve 28 günlük tedavi süresi sonunda deney hayvanları sakrifiye edilmiş, bir diğer beş gruba da aynı şekilde tedavi rejimi uygulanmış ancak deney hayvanları tedavi bitiminden 28 gün sonra sakrifiye edilmiştir. 28 günlük tedavi süresi sonunda sakrifiye edilen deney hayvanları Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında böbrek hasarında artış gözlemlenmemiş, ancak 28 günlük tedavi süresi bittikten 28 gün sonra sakrifiye edilen deney hayvanlarında artan *Teucrium polium* L. dozları ile birlikte Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında dejenerasyon, tahribat ve vaküolizasyon da dahil olmak üzere böbrek hasarı tespit edilmiştir (Baradaran ve ark., 2013). Literatürde ayrıca *Teucrium polium*'a bağlı olarak alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) enzimlerinin seviyelerinde yükselme ile birlikte karaciğer hasarı da bildirilmiştir (Shahraki ve ark., 2007; Mazokopakis ve ark., 2004). Bununla birlikte *Teucrium polium* L. kullanımına bağlı olarak insanlarda da hepatotoksisite ve nefrotoksisite gibi etkiler rapor edilmiştir (Dağ ve ark., 2014; Aktürk Esen ve ark., 2019). *Teucrium polium* kullanımına bağlı toksisitenin doz ve kullanım süresi ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir (Chabane ve ark., 2021). *Teucrium polium*'a bağlı böbrek üzerine yan etkilerle ilişkili sınırlı sayıda çalışma bulunmakta olup, bu yan etkilerin oluşma mekanizması veya mekanizmaları tanımlanmamıştır (Khleifat ve ark., 2002; Baradaran ve ark., 2013; Aktürk Esen ve ark., 2019). Bununla birlikte *Teucrium polium*'a bağlı hepatotoksisitenin mekanizmasının tam olarak net olmadığı, ancak diğer Teucrium türlerinde özellikle *Teucrium chamaedrys* üzerinde daha önce yapılan çalışmalarda teukrin A ve çeşitli terpenoidlerin (neoklerodan diterpenlerin) bu bitkinin olası hepatotoksik prekürsörü olabileceği rapor edilmiştir. Bu bileşiklerin, bağışıklık hücrelerine otoantijen (2-okso-asit dehidrogenaz kompleksi) sunumunda artış ve

bunu takiben de antikor yanıtı oluşumu ile birlikte hepatositler veya safra epitel hücrelerinde moleküler etkileşimler başlatabileceği ve ayrıca bu bileşiklerin hücre glutatyon (GSH) ve hücre iskeleti ilişkili protein tiyolleri tüketerek plazma zarı apoptozis kalıntıları oluşumuna ve hücre ölümüne neden olabilecekleri belirtilmiştir (Bahramikia ve Yazdanparast, 2012). Bizim çalışmamızda deney hayvanlarına 3 hafta (21 gün) süresince ağız yolundan (i.g.) 200 mg/kg *Teucrium polium* L. metanol ekstresi uygulanması sonucu deney hayvanlarından elde edilen karaciğer ve böbrek dokularında yapılan histolojik analizlerde herhangi bir hepatotoksisite veya nefrotoksisite bulgusuna rastlanılmadı, yukarıda da detaylı bir biçimde verildiği gibi 200 mg/kg dozunda *Teucrium polium* L. metanol ekstresi de dahil olmak üzere bütün tedavi gruplarında ve pozitif kontrol grubunda DM grubuna göre karaciğer, pankreas ve böbrek dokularında morfolojinin düzeldiği tespit edildi. Son yıllarda yazılan bir derleme çalışmasında *Teucrium polium* ekstraktının antidiyabetik özellikleri ile ilişkili bileşiklerinin rapor edilen hepatotoksisite ile büyük ihtimalle ilişkili olmayabileceği, ilişkili olsa dahi ilaç geliştirme teknikleri ve söz konusu patolojik mekanizmalar ile ilgili bilgiler ile bu tip yan etkilerin iyileştirilebileceği ve önlenebileceği ve *Teucrium polium*'un tip 2 DM için potansiyel bir ilaç kaynağı olarak değerlendirilebileceği belirtilmiştir (Albadr ve ark., 2022). Bununla birlikte her ne kadar bizim çalışmamızda herhangi bir hepatotoksisite veya nefrotoksisite bulgusuna rastlanmasa da literatürde gerek deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda gerekse insanlarda kullanımına bağlı olarak *Teucrium polium* ile ilişkili hepatotoksiste ve nefrotoksisite raporları bulunduğundan bu veriler göz önünde bulundurulmalıdır.

Bu doktora tez çalışmasında *Micromeria frutioca* (L.) Druce subsp. *brachycalyx* P.H.Davis ve *Teucrium polium* L. bitkilerinin 200 mg/kg dozundaki metanol ekstrelerinin (MF ve TP) STZ/NA ile tip 2 DM modeli oluşturulmuş dişi erişkin Sprague Dawley sıçanlara uygulandığı 21 günlük tedavi sürecinde "antidiyabetik etkinlikleri", "antidiyabetik etki mekanizmaları" ve "karaciğer, pankreas ve böbrek dokuları üzerine etkileri" detaylı olarak incelendi ve sonuçları değerlendirilerek verildi.

Çalışmamızın sonucunda MF ve TP'nin "antidiyabetik etkinliklerinin" olduğu ve **MF'nin antidiyabetik etkinliğini:**

(a) serum ve pankreasta insülin seviyelerini yükseltmek, **(b)** serum ve pankreas dokusunda TNF-α seviyelerini düşürmek, **(c)** ileum dokusunda GLUT-2 seviyelerini düşürmek, **(d)** böbrek dokusunda SGLT-2 seviyelerini düşürmek ve **(e)** ileum dokusunda GLP-1 seviyelerini yükseltmek suretiyle,

TP'nin antidiyabetik etkinliğini:

(a) serum ve pankreasta insülin seviyelerini yükseltmek, **(b)** serumda TNF-α seviyelerini düşürmek, **(c)** ileum dokusunda GLUT-2 seviyelerini düşürmek ve **(d)** böbrek dokusunda SGLT-2 seviyelerini düşürmek suretiyle gösteriyor olabilecekleri belirlendi.

21 günlük tedavi süresi sonunda MF tedavisinin TP tedavisine göre daha belirgin bir biçimde serum ve pankreasta insülin seviyelerini yükselttiği ve TNF-α seviyelerini düşürdüğü, TP tedavisinin ise MF tedavisine göre böbrek dokusunda SGLT-2 seviyelerini daha belirgin bir biçimde düşürdüğü belirlendi.

Bununla birlikte çalışmamızda ELISA kitleri ile yapılan biyokimyasal analizlerin sonuçlarında pozitif kontrol olarak 21 gün süresince uygulanan 10 mg/kg i.g. empagliflozin (SGLT-2 inhibitörü) tedavisinin DM grubu ile karşılaştırıldığında:

(a) Serum ve pankreas dokusunda insülin seviyelerini yükselttiği, **(b)** serumda TNF-α seviyelerini düşürdüğü, **(c)** ileum dokusunda GLUT-2 seviyelerini düşürdüğü, **(d)** pankreas dokusunda PPAR-γ seviyelerini yükselttiği, **(e)** pankreas ve böbrek dokusunda SGLT-2 seviyelerini azalttığı tespit edildi.

Bu bulguların ışığında, MF ve TP'nin T2DM tedavisinde potansiyel ilaç kaynakları olabileceğini ve ileri ilaç araştırmaları için rehberlik teşkil edebileceğini düşünmekteyiz. T2DM tedavisinde *Micromeria frutioca* (L.) Druce subsp. *brachycalyx* P.H.Davis ve *Teucrium polium* L. bitkilerinin kullanımının etkinliğinin ve güvenilirliğinin, özellikle içerdikleri ve antidiyabetik etkinliklerine katkıda bulunan etkin bileşiklerin araştırılması ve aydınlatılması yönündeki çalışmalar ve doku ve organlar üzerinde uzun süreli ve detaylı toksikolojik çalışmalar dahil olmak üzere ileri çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

8. KAYNAKLAR

Abadian K, Keshavarz Z, Mojap F, Bromand N. The Biological Effects of Teucrium polium on the Severity of Primary Dysmenorrhea. Journal of Applied Biotechnology Reports. 2016;(3)3:453-56.

Abdelhamid AM, Elsheakh AR, Abdelaziz RR, Suddek GM. Empagliflozin ameliorates ethanol-induced liver injury by modulating NF-κB/Nrf-2/PPAR-γ interplay in mice. Life Sci. 2020;256:117908.

Ajayi AM, Adedapo ADA, Badaki VB, Oyagbemi AA, Adedapo AA. Chrysophyllum albidum fruit ethanol extract ameliorates hyperglycaemia and elevated blood pressure in streptozotocin-induced diabetic rats through modulation of oxidative stress, NF-κB and PPAR-γ. Biomed Pharmacother. 2021;141:111879.

Akash MSH, Rehman K, Liaqat A. Tumor Necrosis Factor-Alpha: Role in Development of Insulin Resistance and Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. J Cell Biochem. 2018;119(1):105-10.

Aktürk Esen S, Kahvecioğlu S, Gül CB, Aktaş N, Esen İ. Toxic effects of herbal medicines: *Teucrium polium* and acute kidney injury. The European Research Journal. 2019;5(6):1028-30.

Albadr Y, Crowe A, Caccetta R. *Teucrium polium*: Potential drug source for type 2 diabetes mellitus. Biology (Basel). 2022;11(1):128.

Al Jobori H, Daniele G, Adams J, Cersosimo E, Solis-Herrera C, Triplitt C, DeFronzo RA, Abdul-Ghani M. Empagliflozin Treatment Is Associated With Improved β-Cell Function in Type 2 Diabetes Mellitus. J Clin Endocrinol Metab. 2018;103(4):1402-07.

Amini R, Yazdanparast R, Aghazadeh S, Ghaffari, S.H. *Teucrium polium* reversed the MCD diet-induced liver injury in rats. Hum Exp Toxicol. 2011;30(9):1303-12.

American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes 2022. Diabetes Care 2022;45 (Supl. 1):17-38.

American Diabetes Association. 3. Prevention and Delay of Type 2 Diabetes and Associated Comorbidities: Standards of Medical Care in Diabetes 2022. Diabetes Care 2022;45 (Supl. 1):39-45.

American Diabetes Association. 9. Pharmacolocigal Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Medical Care in Diabetes-2022. Diabetes Care 2022;45 (Suppl.1):125-43.

American Diabetes Association. 10. Cardiovascular Disease and Risk Management: Standards of Medical Care in Diabetes-2022. Diabetes Care 2022;45 (Suppl.1):144-74.

American Diabetes Association. 11. Chronic Kidney Disease and Risk Management: Standards of Medical Care in Diabetes-2022. Diabetes Care 2022;45 (Suppl.1):175-84.

American Diabetes Association. 12. Retinopathy, Neuropathy, and Foot Care: Standards of Medical Care in Diabetes-2022. Diabetes Care 2022;45 (Suppl.1):185-94.

Amraei M, Ghorbani A, Seifinejad Y, Mousavi SF, Mohamadpour M, Shirzadpour E. The effect of hydroalcoholic extract of Teucrium polium L. on the inflammatory markers and lipid profile in hypercholesterolemic rats. J Inflamm Res. 2018;11:265-72.

Assaei R, Mokarram P, Dastghaib S, Darbandi S, Darbandi M, Zal F, Akmali M, Ranjbar Omrani GH. Hypoglycemic effect of aquatic extract of Stevia in pancreas of diabetic rats: PPARγ-dependent regulation or antioxidant potential. Avicenna J Med Biotechnol. 2016;8(2):65-74.

Ashrafi Jigheh Z, Ghorbani Haghjo A, Argani H, Roshangar L, Rashtchizadeh N, Sanajou D, Nazari Soltan Ahmad S, Rashedi J, Dastmalchi S, Mesgari Abbasi M. Empagliflozin alleviates renal inflammation and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats partly by repressing HMGB1-TLR4 receptor axis. Iran J Basic Med Sci. 2019;22(4):384-90.

Asghari, AA, Mokhtari-Zaer A, Niazmand S, Mc Entee K, Mahmoudabady M. Anti-diabetic properties and bioactive compounds of Teucrium polium L. Asian Pac J Trop Biomed. 2020;10(10):433-41.

Atabay E. Bölüm 24. Diyabet ve psikiyatrik hastalıklar. Diyabete Multidisipliner Yaklaşım. Ed. Carlıoğlu A, Akbaş EM, Kartal Baykan E. Akademisyen Kitap Evi; 2008, s: 317-40.

Aydemir O. Sıçanlarda Streptozotosin İle Oluşturulan Diabetes Mellitus'ta *Origanum Onites*'in Etkileri. M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2019, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. H. K. Elçioğlu)

Azap A. Micromeria: chemistry and medicinal activies. Eur. Chem. Bull. 2016;5(7):300-07.

Azhar S. Peroxisome proliferator-activated receptors, metabolic syndrome and cardiovascular disease. Future Cardiol. 2010;6(5):657-91.

Bagci E, Yazgın A, Hayta S, Cakılcıoglu U. Composition of the essential Oil of *Teucrium chamaedrys* L. (Lamiaceae) from Turkey. Journal of Medicinal Plants Research. 2010;4(23):2587-89.

Balbaa M, Abdulmalek SA, Khalil S. Oxidative stress and expression of insulin signaling proteins in the brain of diabetic rats: Role of Nigella sativa oil and antidiabetic drugs. PLoS One. 2017;12(5):e0172429.

Baradaran A, Madihi, Y, Merrikhi A, Rafieian-Kopaei M, Nematbakhsh M, Asgari A, Khosravi Z, Haghighian F, Nasri H, Nephrotoxicity of hydroalcoholic extract of Teucrium polium in Wistar rats. Pak J Med Sci. 2013;29(1):329-33.

Bastaki S. Review Diabetes mellitus and its treatment. Int J Diabetes & Metabolism 2005;13:111-34.

Bahramikia S, Yazdanparast R. Phytochemistry and medicinal properties of *Teucrium polium* L. (Lamiaceae). Phytother Res. 2012;26(11):1581-93.

Burant CF, Flink S, DePaoli AM, Chen J, Lee W-S, 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):578-85.

Cam ME, Hazar-Yavuz AN, Yildiz B, Ertas B, Ayaz Adakul B, Taskin T, Alan S, Kabasakal L. The methanolic extract of Thymus praecox subsp. skorpilii var. skorpilii restores glucose homeostasis, ameliorates insulin resistance and improves pancreatic β-cell function on streptozotocin/nicotinamide-induced type 2 diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology 2019;(231):29-38.

Cangoz S, Chang Y-Y, Chempakaseril SJ, Guduru RC, Huynh LM, John JS, John ST, Joseph ME, Judge R, Kimmey R, Kudratov K, Lee PJ, Madhani IC, Shim PJ, Singh S, Singh S, Ruchalski C, Raffa RB. The kidney as a new target for antidiabetic drugs: SGLT2 inhibitors. J Clin Pharm Ther. 2013;38(5):350-59.

Cerf ME. Beta cell dysfunction and insulin resistance. Front. Endocrinol. 2013;4:37.

Chabane S, Boudjelal A, Keller M, Doubakh S, Potterat O. Teucrium polium-wound healing potential, toxicity and polyphenolic profile. South African Journal of Botany. 2021;137:228-35.

Chaudhury A, Duvoor C, Reddy Dendi VS, Kraleti S, Chada A, Ravilla R, Marco A, Shekhawat NS, Montales MT, Kuriakose K, Sasapu A, Beebe A, Patil N, Musham CK, Lohani GP, Mirza W. Clinical Review of Antidiabetic Drugs: Implications for Type 2 Diabetes Mellitus Management.Front Endocrinol (Lausanne). 2017;24;8:6.

Chia CW, Egan JM. Incretin-based therapies in type 2 diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab. 2008;93(10):3703-16.

Çam ME. Bazı Geleneksel Tıbbi Bitkilerin Antidiyabetik Etkinliğinin ve Etki Mekanizmasının Aydınlatılması. M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2017, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. L. Kabasakal)

Çam ME, Yıldız S, Eertaş B, Acar AE, Taşkın T, Kabasakal L. Antidiabetic effects of Salvia triloba and Thymus praecox subsp. Skorpilii var. skorpilii in a rat model of streptozotocin/nicotinamide-induced diabetes. Marmara Pharmaceutical Journal. 2017;21(4):818-27.

Çelikyurt IK, Mutlu O, Ulak G, Uyar E, Bektaş E, Akar FY, Erden F, Tarkun İ. Exenatide Treatment Exerts Anxiolytic- and Antidepressant-Like Effects and Reverses Neuropathy in a Mouse Model of Type-2 Diabetes. Med Sci Monit Basic Res. 2014;20:112-17.

Dağ M, Öztürk Z, Aydınlı M, Koruk İ, Kadayıfçı A. Postpartum hepatotoxicity due to herbal medicine Teucrium polium. Ann Saudi Med. 2014;34(6):541-43.

Demir EA. Streptozosin İle İndüklenmiş Diyabetik Rat Modelinde Kuersetinin HPA Aksı Ve Depresyona Etkisi. S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2014, Konya (Danışman: Prof. Dr. H. S. Gergerlioğlu)

Deshmukh CD, Jain A. Diabetes Mellitus: A Review. Int. J. Pure App. Biosci. 2015;3(3):224-30.

Dhatariya K. Diabetes: the place of new therapies. Ther Adv Endocrinol Metab. 2019;10: 1-7.

Domon A, Katayama K, Tochigi Y, Suzuki H. Characterization of Novel Nonobese Type 2 Diabetes Rat Model with Enlarged Kidneys. J Diabetes Res. 2019;2019:8153140.

Du X-X, Tao X, Liang S, Che J-Y, Shuo Y, Li H, Chen J-G, Wang C-M. Hypoglycemic Effect of Acidic Polysaccharide from Schisandra chinensis on T2D Rats Induced by High-Fat Diet Combined with STZ. Biol. Pharm. Bull. 2019;42(8):1275-81.

Elavarasi S, Saravanan K, Renuka C. A systematic review on medicinal plants used to treat diabetes mellitus. IJPCBS 2013;3(3):983-92.

Elçioğlu HK. Diyabet Tedavisinde Önerilen Endüstriyel İlaçlar, İnsülin ve Bitkisel Yaklaşımlar. İstanbul Tıp Kitabevleri; 2019, s: 1-104.

Erbaş O. Deneysel Diyabet Modelleri. FNG & Bilim Tıp Dergisi 2015; 1(1):40-42.

Ersoy U. Tip 2 Diyabetli Hastalarda Kan Şekeri Düzeyi ile QT Parametreleri Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi. T.C. Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Eğitim ve Araştırma Hastanesi 4. İç Hastalıkları Kliniği. Tıpta Uzmanlık Tezi, 2008, İstanbul.

Fam BC, Morris MJ, Hansen MJ, Kebede M, Andrikopoulos S, Proietto J, Thorburn AW. Modulation of Central Leptin Sensitivity and Energy Balance in a Rat Model of Diet-Induced Obesity. Diabetes Obes Metab. 2007;9(6):840-52.

Federiuk IF, Casey HM, Quinn MJ, Wood MD, Ward WK. Induction of type-1 diabetes mellitus in laboratory rats by use of alloxan: route of administration, pitfalls, and insulin treatment. Comp Med. 2004;54(3):252-57.

Forbes JB, Cooper ME. Mechanisms of Diabetic Complications. Physiol Rev 2013;93(1):137-88.

Fowler MJ. Microvascular and Macrovascular Complications of Diabetes. Diabetes Foundation. Clinical Diabetes. 2011;29(3):116-22.

Furnes MW, Zhao CM, Chen D. Development of obesity is associated with increased calories per meal rather than per day. A study of high-fat diet-induced obesity in young rats. Obes Surg. 2009;19(10):1430-38.

Gad ZM., Ehssan NA., Ghiet ME, Wahman LF. Pioglitazone Versus Metformin In Two Rat Models of Glucose Intolerance and Diabetes. Pak. J. Pharm. Sci. 2010;23:3:305-12.

Garabadu D, Krishnamurthy S. Diazepam Potentiates the Antidiabetic, Antistress and Anxiolytic Activities of Metformin in Type-2 Diabetes Mellitus with Cooccurring Stress in Experimental Animals. BioMed Research International. 2014;15 pages.

García-Galicia MC, Burgueño-Tapia E, Romero-Rojas A, García-Zebadúa JC, Cornejo-Garrido J, Ordaz-Pichardo C. Anti-hyperglycemic effect, inhibition of inflammatory cytokines expression, and histopathology profile in streptozotocin-induced diabetic rats treated with Arracacia tolucensis aerial-parts extracts. J Ethnopharmacol. 2014;152(1):91-98.

Ghasemi A, Khalifi S, Jedi S. Streptozotocin-nicotinamide-induced rat model of type 2 diabetes (Review). Acta Physiologica Hungarica. 2014;101(4):408-20.

Giannopoulos S, Armstrong EJ. Diabetes mellitus: an important risk factor for peripheral vascular disease. Expert Rev Cardiovasc Ther. 2020;18(3):131-37.

Giwa AM, Ahmed R, Omidian Z, Majety N, Karakus KE, Omer SM, Donner T, Hamad ARA. Current understandings of the pathogenesis of type 1 diabetes: Genetics to environment. World J Diabetes. 2020;11(1):13-25.

Haahr H, Heise T. A review of the pharmacological properties of insulin degludec and their clinical relevance. Clin Pharmacokinet. 2014; 53(9): 787-800.

Han JH, Oh TJ, Lee G, Maeng HJ, Lee DH, Kim KM, Choi SH, Jang HC, Lee HS, Park KS, Kim YB, Lim S. The beneficial effects of empagliflozin, an SGLT2 inhibitor, on atherosclerosis in ApoE -/- mice fed a western diet. Diabetologia. 2017;60(2):364-76.

Harada N, Inagaki N. Role of sodium-glucose transporters in glucose uptake of the intestine and kidney. J Diabetes Investig. 2012;3(4):352-53.

Harikumar K, Kumar BK, Hemalatha GJ, Kumar MB, Lado MFS. A Review on Diabetes Mellitus International Journal of Novel Trends in Pharmaceutical Sciences. 2015;5(3):2777-82.

Harvey AR, Champe PC, Howland RD, Mycek MJ. Lippincott's Illustrated Reviews Pharmacology Çeviren: Onat F, Goren Z, Karaalp A. Lippincott Farmakoloji. 3. basım, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., İstanbul; 2009, s: 281-294.

Hazer Y, Hamamcıoğlu AC. Türkiye'de Yayılış Gösteren Kan Şekerini Etkileyen Bitkiler. Türk Diyab Obez / Turk J Diab Obes. 2017;2:63-72.

Hogerzeil HV, Recourt S. The importance of insulin donations for children in 43 low- and middle-income countries. Journal of Public Health Policy. 2019;40(2):253-63.

Home P, Riddle M, Cefalu WT, Bailey CJ, Bretzel RG, Del Prato S, Leroith D, Schernthaner G, van Gaal L, Raz I. Insulin therapy in people with type 2 diabetes: opportunities and challenges? Diabetes Care. 2014;37(6):1499-1508.

Hossain M, Faruque MO, Kabir G, Hassan N, Sikdar D, Nahar Q, Ali L. Association of serum TNF-a and IL-6 with insulin secretion and insulin resistance in IFG and IGT subjects in a Bangladeshi population. International Journal of Diabetes Mellitus. 2010;(2):165-68.

Huysman E, Mathieu C. Diabetes and peripheral vascular disease. Acta Chir Belg. 2009;109(5):587-94.

International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 10th edition. 2021.

Inzucchi SE, Zinman B, Wanner C, Ferrari R, Fitchett D, Hantel S, Espadero R-M, Woerle H-J, Broedl UC, Johansen OE. SGLT-2 inhibitors and cardiovascular risk: proposed pathways and review of ongoing outcome trials. Diab Vasc Dis Res. 2015;12(2):90-100.

İrer S, Alper G. Deneysel Diyabet Modelleri. Türk Klinik Biyokimya Derg 2004;2(3):127-36.

Javed S, Petropoulos IN, Alam U, Malik RA. Treatment of painful diabetic neuropathy. Ther Adv Chronic Dis. 2015;6(1):15-28.

Kanie N, Matsumoto T, Kobayashi T, Kamata K. Relationship between peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR alpha and PPAR gamma) and endothelium-dependent relaxation in streptozotocin-induced diabetic rats. Br J Pharmacol. 2003;140(1):23-32.

Karaman Ö, Elgin Cebe G. Diyabet ve Türkiye'de Antidiyabetik Olarak Kullanılan Bitkiler (Diabetes and Antidiabetic Plants Used in Turkey). Ankara Ecz.Fak. Derg./J. Fac. Pharm. Ankara. 2016;40(3):47-61.

Kartinah NT, Fadilah F, Ibrahim EI, Suryati Y. The Potential of Hibiscus sabdariffa Linn in inducing glucagon-like peptide-1 via SGLT-1 and GLPR in DM Rats. Biomed Res Int. 2019;2019:8724824.

Kayaalp SO. Akılcıl Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 35. Yıl 13. Baskı Pelikan Yayıncılık Ltd. Şti; 2012, s: 1078-1118.

Kharroubi AT, Darwish HM. Diabetes mellitus: The epidemic of the century. 2015;6(6):850-67.

Khazaei M, Nematollahi-Mahani SN, Mokhtari T, Sheikhbahaei F. Review on Teucrium polium biological activities and medical characteristics against different pathologic situations. J Contemp Med Sci. 2018;4(1):1-6.

Khleifat K, Shakhanbeh J, Tarawneh K. The chronic effects of *Teucrium polium* on some blood parameters and histopathology of liver and kidney in rat. Turk J Biol. 2002;26:65-71.

Kodl CT, Seaquist ER. Cognitive dysfunction and diabetes mellitus. Endocrine Reviews. 2008;29(4):494-511.

Kottaisamy CPD, Raj DS, Prasanth Kumar V, Sankaran U. Experimental animal models for diabetes and its related complications-a review. Lab Anim Res. 2021;37(1):23.

Kouznetsova VL, Hauptschein M, Tsigelny IF. Glucose and lipid transporters roles in type 2 diabetes. Integrative Obesity Diabetes. 2017;3(5):1-6.

Kurçer Z, Karaoğlu D. Deneysel Diyabet Modellerinde Alloksan ve Streptozotosin Kullanımı. Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism 2012;16:34-40.

Lechner J, O'Leary OE, Stitt AW. The pathology associated with diabetic retinopathy. Vision Res. 2017;139:7-14.

Lee HC, Shiou YL, Jhuo SJ, Chang CY, Liu PL, Jhuang WJ, Dai ZK, Chen WY, Chen YF, Lee AS. The sodium-glucose co-transporter 2 inhibitor empagliflozin attenuates cardiac fibrosis and improves ventricular hemodynamics in hypertensive heart failure rats. Cardiovasc Diabetol. 2019;18(1):45.

Li Y, Li Q, Wang C, Lou Z, Li Q. Trigonelline reduced diabetic nephropathy and insulin resistance in type 2 diabetic rats through peroxisome proliferator-activated receptor-γ. Experimental and Therapeutic Medicine. 2019;18:1331-37.

Lim GE, Brubaker PL. Glucagon-Like Peptide 1 Secretion by the L-Cell. American Diabetes Association. Diabetes, Vol. 55, Supplement 2, 2006;70-77.

Ljubuncic P, Dakwar S, Portnaya I, Cogan U, Azaizeh H, Bomzon A. Aqueous extracts of Teucrium polium possess remarkable antioxidant activity in vitro. Evid Based Complement Alternat Med. 2006;3(3):329-38.

Lotfy M, Adeghate J, Kalasz H, Singh J, Adeghate E. Chronic Complications of Diabetes Mellitus: A Mini Review. Curr Diabetes Rev. 2017;13(1):3-10.

Low Wang CC, Hess CN, Hiatt WR, Goldfine AB. Atherosclerotic Cardiovascular Disease and Heart Failure in Type 2 Diabetes-Mechanisms, Management, and Clinical Considerations. Circulation. 2016;133(24):2459-2502.

Lucchesi AN, Cassettari LL, Spadella CT. Alloxan-induced diabetes causes morphological and ultrastructural changes in rat liver that res emble the natural history of chronic fatty liver disease in humans.J Diabetes Res. 2015;494578.

Mahjoub S, Davari S, Moazezi Z, Qujeg D. Effect of Teucrium polium flower extract on the activities of nucleoside diphosphate kinase and acetyl-CoA carboxylase in normal and diabetic rats. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2012;6(15):1106-10.

Mannucci E, Monami M. Cardiovascular safety of incretin-based therapies in type 2 diabetes: Systematic review of integrated analyses and randomized controlled trials. Adv Ther. 2017;34(1):1-40.

Matsui H, Musicki B, Sopko NA, Liu X, Hurley PJ, Burnett AL, Bivalacqua TJ, HannanJL.EarlyStage Type 2 Diabetes Mellitus Impairs Erectile Function and Ne urite Outgrowth Fromthe Major Pelvic Ganglion and Downregulates the Gene Expre ssion of Neurotrophic Factors. Urology. 2017;99:287.e1-287.

Mazokopakis E, Lazaridou S, Tzardi M, Mixaki J, Diamantis I, Ganotakis E. Acute cholestatic hepatitis caused by Teucrium polium L. Phytomedicine. 2004;11(1):83-4.

McPhee SJ, Lingappa VR, Ganong WF. Patophysiology of Disease Çevirenler: Çoban E, Süleymanlar G. Hastalıkların Patofizyolojisi 4. Basım, Palme Yayıncılık, İstanbul; 2006, s: 502-530.

Mirghazanfari SM, Keshavarz M, Nabavizadeh F, Soltani N, Kamalinejad M. The effect of "*Teucrium polium L.*" extracts on insulin release from in situ isolated perfused rat pancreas in a newly modified isolation method: the role of Ca^{2+} and K^{+} channels. Iran Biomedical Journal. 2010;14(4):178-85.

Moon MK, Hur K-Y, Ko S-H, Park S-O, Lee B-W, Kim JH, Rhee SY, Kim HJ, Choi KM, Kim N-H; Committee of Clinical Practice Guidelines of the Korean Diabetes Association. Combination Therapy of Oral Hypoglycemic Agents in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. Diabetes Metab J. 2017;(41):357-66.

Morello CM. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Insulin Analogs in Special Populations with Type 2 Diabetes Mellitus. International Journal of General Medicine. 2011;(4):827-35.

Mueckler M, Thorens B. The SLC2 (GLUT) family of membrane transporters. Mol Aspects Med. 2013;34(2-3):121-38.

Navale AM, Paranjape AN. Glucose transporters: physiological and pathological roles. Biophys Rev. 2016;(8):5-9.

Nayak Y, Hillemane V, Daroji VK, Jayashree BS, Unnikrishnan MK. Antidiabetic activity of benzopyrone analogues in nicotinamide-streptozotocin induced type 2diabetes in rats.ScientificWorldJournal. 2014;2014:854267.

Okur MA, Slafaka P, Karantas ID. Diabetes Mellitus: A Review on Pathophysiology, Current Status of Oral Medications and Future Perspectives. Acta Pharmaceutica Sciencia. 2017;55(1):61-82.

Osorio H, Coronel I, Arellano A, Franco M, Escalante B, Bautista R. Ursodeoxycholic acid decreases sodium-glucose cotransporter (SGLT2) expression and oxidative stress in the kidney of diabetic rats. Diabetes Res Clin Pract. 2012;97(2):276-82.

Öntürk H, Özbek H. Deneysel diyabet oluşturulması ve kan şeker seviyesinin ölçülmesi. Genel Tıp Derg. 2007;17(4):231-36.

Özer Z, Kılıç T, Çarıkçı S, Yılmaz H. Investigation of phenolic compounds and antioxidant activity of Teucrium polium L. decoction and infusion. J. BAUN Inst. Sci. Technol., 2018;20(1):212-18.

Pang B, Zhao LH, Zhou Q, Zhao TY, Wang H, Gu CJ, Tong XL. Application of berberine on treating type 2 diabetes mellitus. Int J Endocrinol. 2015;1-12.

Paschou SA, Papadopoulou-Marketou N, Chrousos GP, Kanaka-Gantenbein C. On type 1 diabetes mellitus pathogenesis. Endocrine Connections. 2018;7:38-46.

Paskaloğlu K. Sıçanda Streptozotosin İle Oluşturulan Diabetes Mellitus Modelinde Melatonin Uygulamasının Düz Kaslı Yapılarda Ve Kavernöz Dokuda Etkilerinin İncelenmesi. M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2002, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. Gül Ayanoğlu-Dülger)

Patel DK, Kumar R, Laloo D, Hemalatha S. Natural medicines from plant source used for therapy of diabetes mellitus: An overview of its pharmacological aspects. Asian Pacific Journal of Tropical Disease. 2012;2(3):239-50.

Pegah A, Abbasi-Oshaghi E, Khodadadi I, Mirzaei F, Tayebinai H. Probiotic and resveratrol normalize GLP-1 levels and oxidative stress in the intestine of diabetic rats. Metabol Open. 2021;10:100093.

Petito-da-Silva TI, Souza-Mello V, Barbosa-da-Silva S. Empaglifozin mitigates NAFLD in high-fat-fed mice by alleviating insulin resistance, lipogenesis and ER stress. Mol Cell Endocrinol. 2019;498:110539.

Pivari F, Mingione A, Brasacchio C, Soldati L. Curcumin and type 2 diabetes mellitus: Prevention and treatment. Nutrients. 2019;11(8):1837.

Premilovac D, Gasperini RJ, Sawyer S, West A, Keske MA, Taylor BV, Foa L. A New Method for Targeted and Sustained Induction of Type 2 Diabetes in Rodents. Sci Rep. 2017;7(1):14158.

Punthakee Z, Goldenberg R, Katz P. 2018 Clinical Practice Guidelines Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes, Prediabetes and Metabolic Syndrome. Can J Diabetes. 2018;42:10-15.

Quattrocchi E, Goldberg T, Marzella N. Review Management of type 2 diabetes: consensus of diabetes organizations. Drugs in Context. 2020;9:212607.

Quianzon CC, Cheikh IE. History of current non-insulin medications for diabetes mellitus. J Community Hosp Intern Med Perspect. 2012;15:2(3).

Rewers A. Diabetes in America 3rd Edition. Chapter 17 Acute Metabolic Complications in Diabetes. 2018;17:1-19.

Rugerio-Escalona C, Ordaz-Pichardo C, Becerra-Martinez E, Cruz-López MC, López-y-López VE, Mendieta-Moctezuma A, Maldonado-Mendoza IE, Jiménez-Montejo FE. "Diabetes and metabolism disorders medicinal plants: A glance at the past and a look to the future 2018": Antihyperglycemic activity of Hamelia patens Jacq. extracts. Evid Based Complement Alternat Med. 2018;7926452.

Sarıkaya S, Öner H, Harput Ü.Ş. Türkiye Florasında Diyabet Tedavisinde Kullanılan Tıbbi Bitkiler. Ankara Ecz. Fak. Derg. 2010;39(4):317-42.

Sarkhail P, Abdollahi M, Fadayevatan S, Shafiee A, Mohammadirad A, Dehghan G, Esmaily H, Amin G. Effect of Phlomis persica on glucose levels and hepatic enzymatic antioxidants in streptozotocin-induced diabetic rats. Pharmacogn Mag. 2010;6(23):219-24.

Sevindik E, Abacı ZT, Yamaner Ç, Ayvaz M. Determination of the chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Teucrium polium* and *Achillea millefolium* grown under North Anatolian ecological conditions. Biotechnology & Biotechnological Equipment 2016;30(2):375-80.

Shahraki MR, Arab MR, Mirimokaddam E, Palan MJ. The effect of Teucrium polium (Calpoureh) on liver function, serum lipids and glucose in diabetic male rats. Iran Biomed J. 2007;11(1):65-68.

Sharma AK, Taneja G, Kumar A, Sahu M, Sharma G, Kumar A, Sardana S, Deep A. Insulin Analogs: Glimpse on Contemporary Facts and Future Prospective. Life Sciences. 2019;(219):90-99.

Sheahan KH, Wahlberg EA, Gilbert MP. An overview of GLP-1 agonists and recent cardiovascular outcomes trials. Postgrad Med J. 2020;96(1133):156-61.

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.

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.

Skovsø S. Modeling type 2 diabetes in rats using high fat diet and streptozotocin. J Diabetes Investig. 2014;5(4):349-58.

Srinivasan K, Ramarao P. Animal models in type 2 diabetes research: An overview. Indian J Med Res 2007;(125):451-72.

Srinivasan K., Viswanad B., Asrat L, Kaul C.L., Ramarao P. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: A model for type 2 diabetes and pharmacological screening. Pharmacological Research. 2005;52:313-20.

Stein SA, Lamos EM, Davis SN. A review of the efficacy and safety of oral antidiabetic drugs. Expert Opin Drug Saf. 2013;12(2):153-75.

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 β-cells in type 2 diabetic rats. Pharm Biol. 2017;55(1):1074-81.

Şen S. Tip 2 Diyabet Modeli Oluşturulan Ratlarda Asetil Salisilik Asit'in Beyin Proinflamatuvar Sitokinler, Vazopressin Ve Oksidatif Stres Üzerine Etkisi. A.K.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2010, Afyonkarahisar (Danışman: Prof. Dr. S. Çelik)

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-e30.

Tan SY, Mei Wong JL, Sim YJ, Wong SS, Mohamed Elhassan SA, Tan SH, Ling Lim GP, Rong Tay NW, Annan NC, Bhattamisra SK, Candasamy M. Type 1 and 2 diabetes mellitus: A review on current treatment approach and gene therapy as potential intervention. Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews. 2019;13(1):364-72.

Toblli J.E., Ferrini M.G., Cao G., Vernet D, Angerosa M, Gonzalez-Cadavid N.F. Antifibrotic effects of pioglitazone on the kidney in a rat model of type 2 diabetes mellitus. Nephrol Dial Transplant. 2009;24:2384-91.

Thorens B. GLUT2, glucose sensing and glucose homeostasis. Diabetologia. 2015;58(2):221-32.

Tyagi S, Gupta P, Saini AS, Kaushal C, Sharma S. The peroxisome proliferator-activated receptor: A family of nuclear receptors role in various diseases. J Adv Pharm Tech Res 2011;2: 236-40.

Uzuner B, Ketenci S, Salbaş E. General approach to diabetic neuropathy. Acta Medica Alanya. 2020;4(3):296-308.

Vahidi AR, Dashti-Rahmatabadi MH, Bagheri SM. The effect of Teucrium Polium boiled extract in diabetic rats. Iranian Journal of Diabetes and Obesity. 2010;2(2):27-32.

Willcox ML, Elugbaju C, Al-Anbaki M, Lown M, Graz B. Effectiveness of medicinal plants for glycaemic control in type 2 diabetes: An overview of meta-analyses of clinical trials. Front Pharmacol. 2021;12:777561.

Wu Y, Ding Y, Tanaka Y, Zhang W. Risk factors contributing to type 2 diabetes and recent advances in the treatment and prevention. Int J Med Sci. 2014;11(11):1185-1200.

Xu G, Kaneto H, Laybutt DR, Duvivier-Kali VF, Trivedi N, Suzuma K, King GL, Weir GC, Bonner-Weir S. Downregulation of GLP-1 and GIP Receptor Expression by Hyperglycemia Possible Contribution to Impaired Incretin Effects in Diabetes. American Diabetes Association. Diabetes. 2007;56(6):1551-58.

Yarat A. Deneysel Diyabet Modelleri. Deneysel Araştırma Modelleri Uygulama El Kitabı. Ed. Özbeyli D, Gülhan R. Ankara Nobel Tıp Kitapevi; 2021, s: 205-221.

Yazdanparast R, Esmaeili MA, Helan JA. *Teucrium polium* extract effects pancreatic function of streptozotocin diabetic rats: A histopathological examination. Iranian Biomedical Journal. 2005;9(2):81-85.

Yehya A, Sadhu AR. New Therapeutic Strategies for Type 2 Diabetes. Methodist Debakey Cardiovasc J. 2018;14(4):281-88.

Yu SH, Dubey NK, Li WS, Liu MC, Chiang HS, Leu SJ, Shieh YH, TsaiFC, Deng WP.Cordyceps militaris Treatment Preserves Renal Function in Type 2 Diabetic Nep hropathy Mice. PLoS One. 2016;11(11):e0166342.

Zal F, Vasei M, Rasti M, Vessal M. Hepatotoxicity associated with hypoglycemic effects of Teucrium Polium in diabetic rats. Arch Irn Med. 2001;4(4):188-92.

Zambrana S, Lundqvist LCE, Veliz V, Catrina SB, Gonzales E, Östenson CG. Amaranthus caudatus stimulates insulin secretion in Goto-Kakizaki rats, a model of diabetes mellitus type 2. Nutrients. 2018;10(1):94.

Zhang M, Lv X-Y, Li J, Xu Z-G, Chen L. The Characterization of High-Fat Diet and Multiple Low-Dose Streptozotocin Induced Type 2 Diabetes Rat Model. Experimental Diabetes Research. 2008;1-9.

Zhang F, Ye C, Li G, Ding W, Zhou W, Zhu H, Chen G, Luo T, Guang M, Liu Y, Zhang D, Zheng S, Yang J, Gu Y, Xie X, Luo M. The Rat Model of Type 2 Diabetic Mellitus and Its Glycometabolism Characters. Exp Anim. 2003;52(5):401-07.

Zhou H, Zhang X, Lu J. Progress on diabetic cerebrovascular diseases. Bosn J Basic Med Sci. 2014;14(4):185-90.