

**TİP 2 DİYABETTE SAFRANAL'IN
İNFLAMASYON ÜZERİNE ETKİSİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
SERHAT OVALI**

**DANIŞMAN
YRD. DOÇ. DR. ÖMER HAZMAN
KİMYA ANABİLİM DALI**

TEMMUZ 2014

Bu tez çalışması 12 . FENBİL . 07 nolu proje ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TİP 2 DİYABETTE SAFRANAL'IN İNFLASMA YON ÜZERİNE ETKİSİ

SERHAT OVALI

DANIŞMAN

YRD. DOÇ. DR. ÖMER HAZMAN

KİMYA ANABİLİM DALI

TEMMUZ, 2014

TEZ ONAY SAYFASI

Serhat OVALI tarafından hazırlanan “**TİP 2 DİYABETTE SAFRANAL’IN İNFLAMASYON ÜZERİNE ETKİSİ**” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğini ilgili maddeleri uyarınca 15/07/2014 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Kimya Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Ömer HAZMAN

Başkan : Doç. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ
AKÜ Fen Edebiyat Fakültesi

Üye : Doç. Dr. Laçine AKSOY
AKÜ Fen Edebiyat Fakültesi

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ömer HAZMAN
AKÜ Fen Edebiyat Fakültesi

Afyon Kocatepe Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun
...../...../..... tarih ve
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....
Prof. Dr. Yılmaz YALÇIN
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI
Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - Başkalarının eserlerinden yararlanması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
 - Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
 - Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
 - Ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı
- beyan ederim.**

15/07/2014

Serhat OVALI

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TİP 2 DİYABETTE SAFRANAL'IN İNFLAMASYON ÜZERİNE ETKİSİ

Serhat OVALI

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Ömer HAZMAN

Tip 2 diyabet sadece Türkiye'nin değil global dünyanın güncel sağlık sorunları arasında olup hızla yayılan ve ülke ekonomilerini etkileyen metabolik bir hastalıktır. Tip 2 diyabet prevalansı her geçen yıl artan ve diyabet hastalığının en sık görülen formudur. Günümüzde tip 2 diyabet tedavisine yönelik tedavi yöntemleri geliştirilmesi için doğal veya yapay bir çok aktif maddenin olası etkileri araştırmacıların gözdesi olmaya devam etmektedir. Bu bağlamda sunulan çalışmada deneysel tip 2 diyabet oluşturulan ratlarda, safran bitkisinin bileşenlerinden biri olan safranalın inflamasyon üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çoğu hastalığın oluşma aşamalarının anlaşılabilmesi, korunma yöntemleri ve tedavi protokollerinin geliştirilebilmesi için deneysel modeller kullanılmaktadır. Tip 2 diyabet insülin direnci ve β hücre disfonksiyonu ile karakterize bir hastalıktır. Bu nedenle sunulan çalışmada deneysel tip 2 diyabet modeli oluşturabilmek için High Fat Diet (HFD) ve Streptozotosin (STZ) kullanılmıştır. Öncelikle ratlara (kontrol grubu haricinde) 4 hafta süre ile HFD verilerek insülin direnci oluşturulmuş, sonrasında STZ (birer hafta arayla 35mg/kg dozunda iki enjeksiyon yapılarak) enjeksiyonu ile β hücre disfonksiyonu oluşturulmuştur. STZ uygulaması sonrası kan glukoz düzeyleri 300 mg/dl ve üzeri olan ratlar tip 2 diyabet kabul edilerek çalışma grupları düzenlenmiştir.

Çalışmanın ilk 6 haftasında insülin direnci ve diyabet oluşturma aşaması gerçekleştirildikten sonra deney grupları 5 grup halinde düzenlenmiştir. Çalışma

grupları kontrol grubu (ratlara 10 hafta boyunca standart yem verildi), HFD grubu (ratlara 10 hafta boyunca yüksek yağlı diyet ile beslendi), HFD – Safranal grubu (10 hafta yüksek yağlı diyet ile beslenen ratlara 5. haftasından sonra safranal tedavisi uygulandı), DYB gurubu (4 hafta yüksek yağlı diyet uygulamasından sonra çift ve düşük doz streptozotosin enjeksiyonuyla diyabet oluşturulan grup), DYB – Safranal grubu (son 5 hafta safranal tedavisi uygulanan diyabetik grup) şeklinde dizayn edilmiştir. Çalışma süresince (10 hafta) her hafta rat ağırlık artışları, 2 haftada bir plazma glukoz seviyeleri belirlenmiştir. Çalışma sonunda pankreas ve plazmada IFN- γ , IL-1 β , IL-6, TNF- α ve TAS – TOS düzeyleri ölçülmüştür. Ayrıca plazmada insülin seviyeleri belirlenmiştir. Safranalın Beta hücre disfonksiyonu ve insülin direncine etkisine ise HOMA testi ile saptanmıştır.

Sunulan çalışmada safranalın hem plazma hemde pankreas dokusunda oksidatif stresi azalttığı belirlenmiştir. Ayrıca safranalın özellikle TNF- α ve IL-1 β seviyelerini düşürerek inflamasyonu azaltmış olabileceği anlaşılmıştır. Safranalın hem oksidatif strese hemde inflamasyona olan etkileri sayesinde diyabetik komplikasyonların azaltılması açısından diyabetik tedavide faydalı olabileceği, bunun için daha ileri çalışmalar yapılması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır.

2014, xi + 73 sayfa

Anahtar kelimeler: Tip 2 diyabet,Safranal,inflamatuvar sitokinler,inflamasyon

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

THE EFFECT of SAFRANAL on INFLAMMATION in TYPE 2 DIABETES

Serhat OVALI

Afyon Kocatepe University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

Supervisor : Asst. Prof. Dr. Ömer HAZMAN

Type 2 diabetes is one of the current health problems not only for Turkey but also for the global world, and is a rapidly spreading metabolic disease that affects national economies. Type 2 diabetes prevalence is the most commonly encountered form of diabetes increasing with each passing year. Today, possible effects of many natural and synthetic active agents continue to be the favorites of researchers, for the development of treatment methods intended for type 2 diabetes. In the present study, it was aimed to investigate the effects of safranal, one of the components of saffron plant, on the inflammation in the rats in which experimental type 2 diabetes was formed.

Experimental models are used for being able to understand the occurrence stages of many diseases and to develop protection methods and treatment protocols. Type 2 diabetes is a disease characterized by insulin resistance and β cell dysfunction. Therefore, in the present study, HFD and STZ were used for being able to create an experimental type 2 diabetes. First, insulin resistance was created by administering HFD to the rats (except for the control group) for a period of 4 weeks, and then β cell dysfunction was formed by means of STZ injection (by two injections of a dose of 30 mg/kg, with one week intervals). After the administration of STZ, the rats having a minimum blood glucose level of 300 mg/dl were considered to be type 2 diabetic, and study groups were formed.

In the first 6 weeks of the study, experimental groups were formed in 5 groups, after the stage of creating insulin resistance. The study groups were designed as control group (rats were given standard feed for a period of 10 weeks), HFD group (rats were fed with high-fat diet for a period of 10 weeks), HFD - Safranal group (the rats fed with high-fat diet for 10 weeks were then subjected to safranal treatment for 5 weeks), DYB group (the group in which diabetes was created with double and low-dose streptozotocin injection after 4 weeks of high-fat diet), and DYB - Safranal group (the diabetic group subjected to safranal treatment for the last 5 weeks). Throughout the study period (10 weeks), the weight gains and plasma glucose levels of the rats were determined each week and bi-weekly, respectively. At the end of the study, IFN- γ , IL-1 β , IL-6, TNF- α and TAS – TOS levels in the pancreas and plasma were measured. In addition, the insulin levels in the plasma were determined. And the effect of safranal on Beta cell dysfunction and insulin resistance was detected by HOMA test.

In the present study, safranal was found to decrease oxidative stress in both the plasma and pancreatic tissue. In addition, it was ascertained that safranal might decreased the inflammation by reducing TNF- α and IL-1 β levels, in particular. It was concluded that safranal might be helpful in terms of reduction of diabetic complications, by means of its effects on both oxidative stress and inflammation, and that further studies should be carried out for this purpose.

2014, xi + 73 pages

Keywords: Type 2 diabetes, Safranal, inflammatory cytokines, inflammation, oxidative stress

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Ömer HAZMAN yönetiminde hazırlanarak Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne "Yüksek Lisans Tezi" olarak sunulmuştur.

Çalışmalarımın her aşamasında emek veren, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, desteğini her zaman hissettiğim çok kıymetli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Ömer HAZMAN 'a,

Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. İbrahim EROL ve Kimya Bölümünde görev yapan Sayın Doç. Dr. Laçine TÜR AKSOY 'a,

Laboratuvar çalışmalarında yanımda olan değerli arkadaşlarım Yasemin ALPER ve Zeyneb ASLAN'a,

Ayrıca yüksek lisans çalışmalarımı maddi anlamda 12 . FENBİL . 07 nolu proje ile destekleyen Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na,

Yoğun çalışmalarımın maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ve her zaman benim yanımda olan, başarılarımı görmeyi hayal ve hak eden, beni hep en iyi yerlerde görmek için destek ve cesaret veren, sevgili ANNEM 'e, BABAM 'a, EŞİME 'e ve dünyalar tatlısı OĞLUM 'a,

sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Serhat OVALI

AFYONKAHİSAR, 2014

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

| | Sayfa |
|--|--------------|
| ÖZET | i |
| ABSTRACT | iii |
| TEŞEKKÜR | v |
| İÇİNDEKİLER | vi |
| SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ | ix |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | x |
| ÇİZELGELER DİZİNİ | xi |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. LİTERATÜR BİLGİLERİ | 3 |
| 2.1 Diabetes Mellitus (DM) | 3 |
| 2.1.1 Epidemiyolojisi | 3 |
| 2.1.2 Türkiye'deki Durumu | 4 |
| 2.2 Diabetes Mellitus (DM) Sınıflandırılması | 5 |
| 2.2.1 Tip 1 DM..... | 5 |
| 2.2.2 Tip 2 DM..... | 7 |
| 2.2.3 Gastesyonel DM | 7 |
| 2.2.4 Diğer Diabetes Mellitus Türleri | 8 |
| 2.3 Tip 2 Diyabet..... | 8 |
| 2.3.1 İnsülin Direnci..... | 9 |
| 2.3.2 Beta Hücre Disfonksiyonu | 10 |
| 2.3.3 HOMA-IR ile HOMA- β Tanımı ve Hesaplanması | 11 |
| 2.4 Tip 2 Diyabetin Komplikasyonları | 12 |
| 2.4.1 Tip 2 Diyabetin Tanı ve Tedavisi | 13 |

| | |
|--|----|
| 2.4.2 Deneysel Tip 2 Modelleri | 13 |
| 2.4.2.1 Streptozotosin | 14 |
| 2.4.2.2 High Fat Diet (HFD) | 15 |
| 2.5 İnflamasyon..... | 15 |
| 2.5.1 Tip 2 Diyabette İnflamasyon..... | 16 |
| 2.5.2 Tip 2 Diyabet ve Obezite ile İnflamasyonun İlişkisi..... | 20 |
| 2.6 Fitoterapik Bitkiler ve Bileşikler | 20 |
| 2.6.1 Safran..... | 21 |
| 2.6.2 Safranalın Yapısı ve Genel Özellikleri | 22 |
| 3. MATERYAL ve METOT | 24 |
| 3.1 Materyal | 24 |
| 3.1.1 Çalışmada Kullanılan Yemin Hazırlanması..... | 24 |
| 3.1.2 Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması | 25 |
| 3.1.2.1 Fosfat Tamponu (PBS) Hazırlanması..... | 25 |
| 3.1.2.2 Sitrata Tamponu ve Streptozotosin (STZ) Hazırlanması | 25 |
| 3.1.2.3 Safranalın Hazırlanması | 26 |
| 3.2 Ratlarda İnsülin Direnci Oluşturma Aşaması (HDF ile Besleme) | 26 |
| 3.3 Tip 2 Diyabet Modelinin Oluşturulması | 26 |
| 3.4 Araştırma Grupları Planı | 27 |
| 3.5 Canlı Ağırlık ve Açlık Kan Glikoz Ölçümleri | 27 |
| 3.6 Çalışmanın Sonlandırılması | 28 |
| 3.7 Biyokimyasal Analizler..... | 28 |
| 3.7.1 Kan Plazmasının Hazırlanması | 28 |
| 3.7.2 Pankreas Doku Homojenatlarının Hazırlanması | 29 |
| 3.7.3 Doku Homojenatlardan Total Protein Analizi Yapılması..... | 29 |
| 3.7.4 Plazma İnsülin Ölçümü..... | 29 |

| | |
|---|----|
| 3.7.5 Sitokin Seviyelerinin Analizi | 30 |
| 3.7.6 Oksidan Antioksidan Seviyelerinin Ölçümü..... | 30 |
| 3.7.6.1 TAS Analizi ve TOS Analizi | 30 |
| 3.7.6.2 Oksidatif Stres İndeksinin (OSİ) Hesaplanması | 31 |
| 3.8 Beta Hücre Fonksiyonun Değerlendirilmesi (HOMA - β)..... | 31 |
| 3.9 İnsülin Direncinin Değerlendirilmesi (HOMA - IR)..... | 31 |
| 3.10 İstatistiksel Analizler | 31 |
| 4. BULGULAR..... | 33 |
| 4.1 Ratların Canlı Ağırlıkları | 33 |
| 4.2 Çalışma Boyunca Belirlenen Kan Glukoz Düzeyleri | 35 |
| 4.3 İnsülin Seviyeleri..... | 38 |
| 4.4 HOMA - β (Pankreatik Beta Hücre Fonksiyonu) ve HOMA - IR (İnsülin Direnci) İndekslerinin Değerlendirilmesi | 39 |
| 4.5 Sitokin Düzeyleri..... | 41 |
| 4.6 Plazma TAS ve TOS Düzeyleri..... | 43 |
| 4.7 Pankreas TAS ve TOS Düzeyleri | 46 |
| 5. TARTIŞMA ve SONUÇ | 50 |
| 6. KAYNAKLAR | 65 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 81 |
| EK – ETİK KURUL KARARI..... | 82 |

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

| | |
|----------------|---|
| ADA | Amerikan Diyabet Birliği |
| ANOVA | Analysis Of Variance |
| CRP | C – Reaktif Protein |
| DYB | Diyabet |
| GLUT – 4 | Glucose Transport Protein – 4 |
| HFD | High Fat Diet |
| HOMA – IR | İnsülin Direnci – Rezistansı |
| HOMA – β | Beta Hücre Fonksiyonu |
| IDDM | İnsülin Dependent Diabetes Mellitus |
| IFN – γ | İnterferon Gama |
| IGT | Bozulmuş Glukoz Tolerans Testi |
| IL – 1 | İnterlöykin Bir |
| IL – 1 β | İnterlöykin Bir Beta |
| IL – 6 | İnterlöykin Altı |
| İ.P. | İntraperitoneal (Karın Boşluğuna) |
| NF – kB | Nuclear Factor kb |
| NK | Naturel Killer |
| OGTT | Oral Glukoz Tolerans Testi |
| OSİ | Oksidatif Stres İndeksi |
| PBS | Fosfat Tamponlu Tuzlu Su |
| STZ | Streptozotosin |
| T2DM | Type 2 Diabetes Mellitus |
| TAS | Total Antioksidan Statü |
| TGF | Tranforming Grawth Factor |
| TNF – α | Tümör Nekroz Faktör Alfa |
| TOS | Total Oksidan Statü |
| TURDEP | Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Projesi |
| UKPDS | United Kingdom Prospective Diabetes Study |
| WHO | World Health Organization |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | Sayfa |
|---|--------------|
| Şekil 2.1 STZ kimyasal yapısı..... | 14 |
| Şekil 2.2 Pikrokrosinin HTCC ve safranala kimyasal dönüşümü | 22 |
| Şekil 4.1 Haftalara göre ratların canlı ağırlık değişimleri..... | 34 |
| Şekil 4.2 Ratların açlık kan glukoz düzeyleri | 36 |
| Şekil 4.3 Ratlara ait plazma insülin düzeyleri..... | 39 |
| Şekil 4.4 Plazma TAS ve TOS düzeyleri..... | 45 |
| Şekil 4.5 Plazma dokusu OSİ düzeyleri | 46 |
| Şekil 4.6 Pankreas dokusu TAS ve TOS düzeyleri | 48 |
| Şekil 4.7 Pankreas dokusu OSİ düzeyleri | 49 |
| Şekil 5.1 NFkB'nin aktivasyonu ve apoptozis | 62 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

| | Sayfa |
|---|--------------|
| Çizelge 2.1 Diyabetin Sınıflandırılması..... | 6 |
| Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan yemlerin içerikleri..... | 25 |
| Çizelge 3.2 Çalışma grupları..... | 27 |
| Çizelge 4.1 Ratlara ait canlı ağırlık değerleri..... | 35 |
| Çizelge 4.2 Ratların açlık kan glukoz düzeyleri..... | 37 |
| Çizelge 4.3 Serum insülin seviye indeksleri | 38 |
| Çizelge 4.4 Beta hücre fonksiyonu ve insülin direnci indeksleri | 40 |
| Çizelge 4.5 Plazma IFN- γ , IL-1 β , IL-6, TNF- α seviyeleri | 41 |
| Çizelge 4.6 Pankreas IFN- γ , IL-1 β , IL-6, TNF- α seviyeleri | 42 |
| Çizelge 4.7 Plazma TAS, TOS ve OSI düzeyleri | 44 |
| Çizelge 4.8 Pankreas dokusunda TAS, TOS ve OSI düzeyleri | 47 |

1. GİRİŞ

Diyabet sadece Türkiye'nin değil global dünyanın güncel sağlık sorunları arasında olup hızla yayılan ve ülke ekonomilerini etkileyen metabolik bir hastalıktır. Diyabetin dünyadaki prevalansı son 30 yılda dramatik olarak artmıştır. Uluslararası Diyabet Fedarasyonu verilerine göre 2013 yılında dünyada yaklaşık 382 milyon diyabet hastası, varken 2035 yılında bu sayının 592 milyona çıkacağı tahmin edilmektedir (IDF 2014).

Türkiye'de diyabet taramaları ile ilgili veriler ilk kez 1960'lı yılların başında Türk Diyabet Cemiyeti'nin başlattığı taramalarla bildirilmeye başlanmıştır. O dönemde glukozürinin sıklığı ile başlatılan çalışmalarda 18 yaş üstünde ortalama % 1,5-2 aralığında bir prevalans bildirilirken bu rakam ilerleyen dönemlerde sürekli artış göstermiştir. 1999 yılında yayınlanan bir çalışmada Kayseri'de 30 yaş ve üzerindeki 1774 erişkinin 1452'sinde yapılan oral glukoz tolerans testi (OGTT) sonrasında; %4 DM, %2,9 tanı konulmamış DM, %9 bozulmuş glukoz tolerans testi (IGT) tespit edilmiş olup total bozulmuş glukoz tolerans testi (IGT) ise %1,9 olarak bulunmuştur (Kelestimur *et al.* 1999)

Ülkemiz genelini kapsayan en geniş çalışma 1999-2000 yıllarında Türk Diyabet Epidemiyoloji Çalışma Grubu (TURDEP) tarafından yapılmış ve diyabetin prevalansının erişkin yaş nüfusta % 7,2 ve bozulmuş glukoz toleransının prevalansı % 6,7 olarak bildirilmiştir. Türkiye'de her iki tanıda da (Tip 1 ve Tip 2 DM) kadınlarda erkeklere göre, şehirde yaşayanlarda kırsal kesimlere göre anlamlı bir şekilde daha fazla bulunmuştur (Satman *et al.* 2002).

Diyabet türleri arasında en yaygın olan tip 2 diyabet ise Türkiye'nin değil global dünyanın güncel sağlık sorunları arasında olup, hızla yayılan ve ülke ekonomilerini etkileyen önemli metabolik hastalıklardan biridir. Tip 2 diyabetin oluşmasında beta hücre disfonksiyonu, insülin direnci ve hepatik glukoz üretimi artışı olmak üzere üç ana metabolik bozukluk rol oynar (Efendic and Ostenson 1993). Kontrol edilemeyen hepatik glukoz üretimi, kas ve yağ dokusu tarafından azalmış glukoz alımıyla karakterize insülin direnci; karaciğer, yağ dokusu ve kaslar gibi hedef dokuların normal

dolaşımdaki insülin konsantrasyonuna yanıt verme yeteneğinin azalmasıdır (Ulukaya 2007). Bu nedenle tip 2 diyabete insüline bağımlı olmayan diyabette denilmektedir.

Diyabetik tedavide günümüzde bir çok yöntem ve ilaç kullanılmaktadır. Tedavide kullanılan bu yöntem ve ilaçlar insülin üretimini artırarak veya glukoz üretimini azaltarak ya da ilgili dokulardaki hücre reseptörlerinde meydana gelen insülin direncini minimuma indirerek, farklı mekanizmalarla etki etmekte ve bozulmuş olan glukoz homeostasisini dengede tutmaya yardımcı olmaktadır (Baxter 2008).

Tip 2 diyabet için mevcut tedavi yöntemlerinin doza bağılı sınırlamaları ve yan etkileri (kilo artışı, hipoglisemi ve sindirim sistemi problemleri gibi) olduğu için, yeni tedavi seçeneklerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle günümüzde tip 2 diyabet tedavisine yönelik tedavi yöntemleri geliştirilmesi için doğal veya yapay birçok aktif maddenin olası etkileri araştırmacıların gözdesi olmaya devam etmektedir. Bu bağlamda sunulan tez çalışmada deneysel tip 2 diyabet oluşturulan ratlarda, safran bitkisinin bileşenlerinden biri olan safranalın inflamasyon üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Tip 2 diyabette oluşan glukotoksisiteye bağılı olarak çeşitli doku ve organlardaki oksidatif stres ve inflamasyonun artması sonucu kardiyovasküler hastalıklar, nefropati (böbrek yetmezliği), nöropati gibi komplikasyonların gelişebildiği düşünülürse, araştırmadan elde edilecek sonuçlar, tip 2 diyabet tedavisinde, tedaviye getirebileceği yeni yaklaşımlar ve daha ileri çalışmalara ışık tutabilme potansiyeli nedeniyle önem taşımaktadır.

2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

2.1 Diabetes Mellitus (DM)

Diyabetes mellitus karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarında düzensizliklere neden olan ve bunlara birliktelik eden klinik ve biyokimyasal bulgularla karakterize kronik bir hastalıktır (Burant 2004). Diyabetin en önemli nedenlerinden biri endojen insülinin mutlak veya göreceli eksikliği yada periferik etkisizliğidir. Hastalığın seyri sırasında mikrovasküler, makrovasküler ve nöropatik komplikasyonlar gelişebilmektedir. Pankreas insülin sekresyonunun mutlak veya rölatif yetersizliği, insülinin etkisizliği veya insülin molekülündeki yapısal bozukluklar sonucunda oluşan bu hastalık, etiyojisi, genetik ve klinik tablosu ile heterojen özellikte olan bir sendromdur (Akçay ve Akarsu 2000, Başkal 2003).

DM'un bir çok türünün var olduğu bilinse de en çok görülen türleri tip 1 ve tip 2 diabetes mellitustur. Tip 1 diyabetin oluşmasında primer olay otoimmün mekanizmayla veya bilinmeyen bir şekilde beta hücrelerinin harabiyeti ile insülin eksikliğinin ağır bir şekilde ortaya çıkması; tip 2 diyabette ise beta hücre yetersizliğine bağlı insülin sekresyonunda bozulma ve hedef dokulardaki insülin direnci nedeniyle insülin etkisindeki azalmadır (Hamuryudan *et al.* 2005, Sherwin 2006).

2.1.1 Epidemiyolojisi

DM'un dünyadaki prevalansı son 30 yılda dramatik olarak artmıştır. 1985 yılında 30 milyon, 2013 yılında Uluslararası Diyabet Fedarasyonuna göre yaklaşık 381 milyon diyabet vakası vardır. Güncel çalışmalar diyabet prevalansının hızla artmakta olduğunu 2030 yılında bu sayının neredeyse 2 katı olabileceğini öngörülmektedir (İnt. Kyn. 1). Hem tip 1 hem de tip 2 DM'un prevalansı artmaktadır. Özellikle tip 2 DM ülkelerin endüstrileşmesi, insanların fiziksel aktivitesinin azalması ve obeziteyle daha hızlı bir artış göstermektedir (Satman *et al.* 2002). Diyabet sinsi seyirli bir hastalık olduğu için prevalansının saptanması da güçlük yaratmaktadır. Tüm toplumlarda görülebilmesine karşın diyabet prevalansı, etnik kökene bağlı olarak anlamlı farklılıklar göstermektedir.

Hindistan, Çin ve Amerika tüm dünyada diyabet prevalansının en yüksek saptandığı üç ülkedir (Wild *et al.* 2004, Oldroyd *et al.* 2005). Özellikle gelişmekte olan ülkelerde yaşam süresinin 65 yaştan fazla olması sebebiyle diyabet prevalansının gün geçtikçe arttığı ifade edilmektedir. Söz konusu ülkelerdeki obez erişkinlerin %4'ünde diyabet saptanırken, %21'inde bozulmuş glukoz toleransı görülmektedir (Sinha *et al.* 2002, Oldroyd *et al.* 2005).

1998 yılında Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi, ABD popülasyonunun yaklaşık % 6'sının DM tanı kriterlerine uyduğunu ve bunların üçte birinden fazlasına tanı konmamış olduğu tahmininde bulunmuştur. Diyabet Amerika' da dördüncü en sık doktora gitme nedeni olup, 100 milyar doları aşan rakamlarla ABD'nin sağlık harcamalarının yaklaşık % 12' sini oluşturmaktadır. Bununla birlikte DM yılda yaklaşık 35000 olan ölüm hızıyla ABD' nde yedinci ölüm nedenidir (Kumar *et al.* 1994).

Tip 2 diyabetle ilişkili spesifik genetik bozukluklar hakkında göreceli olarak çok az bilgi varken, hastalığa yatkınlığa neden olan kişisel faktörler net olarak belirlenmiştir. İleri yaş, azalmış fiziksel aktivite ve özellikle obeziteye genetik olarak yatkın kişilerde, hastalığın görülme ihtimalinin daha yüksek olduğu ifade edilmektedir. Aynı zamanda obezitenin ciddiyeti ve süresi diyabet riskine önemli oranda katkıda bulunmaktadır. Tip 2 diyabet, ailesinde diyabet öyküsü olanlarda daha sık görüldüğü için aile öyküsü de önemlidir (ADA 2004).

2.1.2 Türkiye'deki Durumu

Türkiye'de diyabet taramaları ile ilgili veriler ilk kez 1960'lı yılların başında Türk Diyabet Cemiyeti'nin başlattığı taramalarla bildirilmeye başlanmıştır. O dönemde glukozürinin sıklığı ile başlatılan çalışmalarda 18 yaş üstünde ortalama % 1,5-2 aralığında bir prevalans bildirilirken bu rakam ilerleyen dönemlerde sürekli artış göstermiştir. 1999 yılında yayınlanan bir çalışmada Kayseri'de 30 yaş ve üzerindeki 1774 erişkinin 1452'sinde yapılan oral glukoz tolerans testi (OGTT) sonrasında; %4 DM, %2,9 tanı konulmamış DM, %9 bozulmuş glukoz tolerans testi (IGT) tespit

edilmiş olup total bozulmuş glukoz tolerans testi (IGT) ise %1,9 olarak bulunmuştur (Kelestimur *et al.* 1999).

2003 yılında Adana’da yapılan bir araştırmada ise 20-79 yaş arası 1637 erişkin birey randomize edilerek çalışmaya alınmıştır. Erkeklerde DM prevalansı %12,9 ve kadınlarda %10,9 iken toplam prevalansı %11,6 olarak bulunmuştur (Gökçel *et al.* 2003).

Ülke genelini kapsayan en geniş çalışma 1999-2000 yıllarında Türk Diyabet Epidemiyoloji Çalışma Grubu (TURDEP) tarafından yapılmış ve diyabetin prevalansının erişkin yaş nüfusta % 7,2 ve bozulmuş glukoz toleransının prevalansı % 6,7 olarak bildirilmiştir. Türkiye’de her iki tanıda da (Tip 1 ve Tip 2 DM) kadınlarda erkeklere göre, şehirde yaşayanlarda kırsal kesimlere göre anlamlı bir şekilde daha fazla bulunmuştur (Satman *et al.* 2002).

2.2 Diabetes Mellitus (DM) Sınıflandırılması

DM sınıflandırılmasında 1866 yılında en az iki tip diyabet olduğu ön görülmüş, insülinin keşfinden sonra 1940 yıllarında diyabetin kesin tipleri ortaya koyulmuştur (Özer 2004). Ancak DM hakkındaki bilgilerin çoğalmasi sınıflandırmanın ve tanı kriterlerinin yeniden gözden geçirilmesini gerektirmiştir. 1997 yılında Amerikan Diyabet Birliği (ADA) tarafından sınıflandırma da etiyoiliye dayanan ve kolay anlaşılır, bir sınıflandırmadır. ADA kriterlerinden adapte edilen diyabetin sınıflaması Çizelge 2.1’de görüldüğü gibidir.

2.2.1 Tip 1 Diabetes Mellitus

Pankreasın insülin üretme fonksiyonundaki yetersizliğine bağlı olarak oluşan insülin eksikliği ile ortaya çıkan diyabete insüline bağımlı diyabet denmektedir. Ayrıca insülin dependent diabetes mellitus (IDDM) ya da genç tip (Juvenile onset) diyabet terimleri de kullanılmaktadır (Alemzadeh *et al.* 2004). Tip 1 diyabetin otoimmün bir hastalık

olduğu ve beta hücrelerinde tahribatın meydana geldiği konusunda genel bir görüş birliği vardır.

DM'lu bireylerin yaklaşık %5–10'u Tip 1 diyabettir. İnsüline bağımlı diyabet genellikle 25 yaşından küçük kişilerde ve ağırlıklı olarak 15 yaşından önce görülür. Tip 1 diyabet, her ne kadar tip 2 diyabete göre az görülse de dünyada tip 1 diyabetin görülme oranı her yıl %3 artmaktadır. Bu hastalarda obezite genellikle görülmemektedir (Noyan 1993, ADA 2000, Greenberg *et al.* 2002). Bu tipte pankreasın insülin salgılayan β – hücrelerinin virütik enfeksiyonlar veya otoimmünitedeki değişimlerden dolayı tahrip olduğu gösterilmiştir (Huysal 1999, Avcı 2001).

Çizelge 2.1. Diyabetin Sınıflandırılması (Hazman 2011)

| Diyabet Çeşitleri | Sınıflaması Yapılan Alt Türler veya Diyabete Neden Olabilecek Durumlar-Hastalıklar |
|---|---|
| Tip 1 DM (IDDM) | İmmun nedenli Tip 1 DM İdiyopatik Tip 1 DM |
| Tip 2 DM (NIDDM) | Periferik insülin direnci ön planda olan Tip 2 DM Beta hücre disfonksiyonu (insülin sekresyon yetmezliği) ön planda olan Tip 2 DM |
| Diğer Spesifik Mekanizmalara, Hastalıklara Bağlı Olarak Gelişen Diyabet Türleri | Spesifik Mutasyonlar Beta hücre fonksiyonunda görülen genetik anomaliler (MODYS gibi) İnsülin aktivitesine bağlı genetik defektler (insülin reseptörü gen mutasyonu gibi) Ekzokrin ve endokrin pankreas hastalıkları İlaç veya kimyasal maddeler Enfeksiyonlar İmmün kaynaklı nadir diyabet formları Diyabetle birlikte görülen diğer genetik sendromlar Karaciğer hastalıklarına bağlı gelişen diyabet türleri |
| Gestasyonel DM | Gebeliklerde görülen diyabet |

Tip 1 diyabette hastalığın belirtileri aniden başlar, insülin salgılanan pankreasın langerhans adacıkları üzerindeki beta hücrelerinin sayısı azalır, hatta bu hücre kaybı o kadar artar ki, sonunda kan dolaşımında insülin seviyeleri ölçülemeyecek seviyelere kadar düşer (Noyan A. 1993). Sonuçta insülin olmadığından glukoz, kas, yağ ve karaciğer hücrelerine giremez. Bu nedenle hücresel enerji ihtiyacı yağlardan

karşılanmaya başlar. İnsülin yokluğunda, yağ yıkımlanması artarken buna paralel olarak serbest yağ asitlerinin özellikle asetoasetik asit ve β hidroksibutirik asit gibi keto asitlere dönüşümü de artar. Bu nedenle tip 1 diyabetiklerde ketaasidoz koması ani olarak gelişen ve hastalığın tanısının konmasını kolaylaştıran ilk bulgular olabilir. Bununla beraber polidisi, poliüri, hızlı kilo kaybıda tip 1 diyabette ilk bulgular arasında sayılmaktadır (Murray *et al.* 1996, Chausmer 1998, Jain and McVie 1999).

2.2.2 Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM)

Tüm diyabet vakalarının % 90 – 95'i tip 2 diyabettir. Genellikle 40 yaşını aşkın ve sık olarak aşırı kilolu bireylerde görülür. Gelişimi özellikle genetik faktörlere bağlıdır (Champe and Harvey 1994). T2DM etiyopatogenetik olarak insülin direncinin ve insülin sekresyon bozukluğunun bir arada bulunması ile ortaya çıkan bir hastalıktır ve hastaların çoğu obezdir (Arslan 2003).

Hastalığın tanısı zordur. Bu hastalarda, klinik semptomlar ortaya çıkına kadar geçen zaman 10–12 sene kadar olabilmektedir. Bu hastalık sıklıkla tarama testleri sırasında ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle bu form, yaşlılık diyabeti olarakta isimlendirilir. Hastalığın başlangıcı ve varlığı belirgin değildir. Tip 2 diyabette insülin salgılanmasının yetersiz oluşu hastalığın nedenlerinden biridir. Yavaş gelişme gösteren tip 2 diyabette insülinin etkilediği doku hücre membranlarındaki insülin reseptörlerinin yetersiz olduğu bu yüzden glukozun hücrelere yeterince alınmaması ve kullanılmaması durumuyla karşılaşılmaktadır. Bu durum tip 2 diyabetin diğer nedenlerinden biri olup, vücutta insüline karşı bir direncin ortaya çıkması olarak tanımlanmaktadır. Bu dönemde henüz tanısı konmamış tip 2 diyabetliler arasında hastalık bazen diyabete bağlı mikrovasküler ve/veya makrovasküler hastalıkların ortaya çıkmasıyla tanımlanabilmektedir (Arslan 2003).

2.2.3 Gestasyonel Diabetes Mellitus

Gestasyonel diyabet, ilk kez hamilelik sırasında başlayan ve insüline duyarlılığın azalması sonucu oluşan geçici bir diyabettir. Gebeliğin en sık görülen medikal

kompliyasyonu olup, tüm gebelerin % 2–3 ‘ün de görülebileceği ifade edilmektedir. Gestasyonel diyabet genellikle ikinci üç aylık dönemde görülür. Her ne kadar gestasyonel diyabet doğumdan sonra kaybolursa da gestasyonel diyabetli kadınlara % 30’nun 7–10 yıl içinde diyabet tanısı konmaktadır (Couston 1995).

Gestasyonel diyabetli çoğu kadın obezdir ve bir sonraki hamilelikte diyabetin tekrar ortaya çıkması olasıdır (Scobie 1998). Gestasyonel diyabet için yüksek risk grubundaki kişiler; glukoz intoleransı hikayesi olan kadınlar, önceki hamileliklerinde gestasyonel yaşın uzun olduğu bebek doğurmuş yaşlı kadınlar, yüksek T2DM riskine sahip etnik gruplardan gelen kadınlar ve açlık veya tesadüfi kan glukoz seviyesinin yüksek olduğu hamile kadınlar olarak sıralanabilir (Almind *et al.* 2001).

2.2.4 Diğer Diabetes Mellitus Türleri

Pankreatit, cushing sendromu veya akromegali seyrinde ortaya çıkan veya atrojenik sebeplere bağlı, genetik bazı sendromlarla veya insülin reseptör anomalileri ile ortaya çıkan diyabet tipleridir. Bunlar arasında; β hücre fonksiyonunda genetik kusurlar, insülin etkisi ile ilgili genetik kusurlar, endokrin pankreas hastalıkları, endokrinopatiler, ilaç ve kimyasallara bağlı diyabet, enfeksiyonlar, immünite aracılı diyabetin nadir formları, diyabetle birlikte diğer genetik sendromlar sayılabilir (Kuzuya *et al.* 2001).

2.3 Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM)

T2DM toplumda yaygın olarak görülen ciddi fiziksel bozukluklara ve ölüme neden olabilen kronik metabolik bir hastalıktır. Diyabetin en çok görülen biçimidir ve genetik faktörlere bağlı olarak gelişebilmektedir (Eren *et al.* 2004). T2DM’da hastalığın başlangıcında insülin oluşumu, salgılanması, depo edilmesi ve β hücrelerinin sayısı normaldir (Champe and Harvey 1997, West 2000). Fakat zamanla insülin direncinin gelişmesiyle artan kan glikoz konsantrasyonuna rağmen hücrelerin glikozu kullanamaması, insülin üretimini arttırır. Artan insülin miktarı, reseptör yakımında artışa ve dolayısıyla reseptörlerin sayısının azalmasına neden olur. Bu durumda insülinin hücresel düzeydeki etkinliği azalır. Ve ilerleyen süreçte protein, yağ ve

karbonhidrat metabolizmasında bozulmaya yol açar (Champe and Harvey 1997, Chausmer 1998).

Günümüzde T2DM'in gelişiminde genetik faktörlerin yanı sıra obezite de çok önemli rol oynamaktadır. Obezite sonucu gelişen insülin direncinin neden olduğu tip 2 diyabetin dengeli beslenme ve egzersiz ile kilo kontrolünün yeniden sağlanması sonucu kontrol altına alınabildiği görülmüştür (WHO 1999b, Hu *et al.* 2001, Tanasescu *et al.* 2001).

Tip 2 diyabet hedef dokuların insülinin metabolik etkilerine duyarlılıklarının azalmasına bağlı olarak gelişir. Başka bir ifade ile insülinin periferik dokuları etkileme yeteneğindeki azalmadır. Bu bozukluk insülin direnci olarak adlandırılır. Ve bazı araştırmacılar tarafından hastalığın birincil nedeni olarak kabul edilmektedir. İkincil neden olarak ise beta hücre disfonksiyonu gösterilmektedir. Bu insülin direncinin kompanse etmek için yeterli insülin üretmekte pankreasın yetersizliğidir (Sacks 2005).

Kısacası tip 2 diyabet oluşmasında iki önemli faktör söylenebilir;

1. İnsüline karşı insülin reseptörlerinin duyarlılığı azalma ve azalmış reseptör cevabı ile oluşmuş post reseptör tahribatı (insülin direnci),
2. Glukoz uyarısına karşı azalmış akut insülin salınması ile karakterize yetersiz insülin salınması (β hücre disfonksiyonu)

Bununla birlikte T2DM'un oluşum mekanizmalarında biri olarak karaciğerden gerektiğinde oluşturularak dolaşıma salınan glikoz seviyelerindeki dengesizliklerde önemli rol oynayabilmektedir. Neden ne olursa olsun T2DM insülin etkisinin veya kendisinin yetersizliği sonucunda oluşmaktadır (Maritim *et al.* 2003).

2.3.1 İnsülin Direnci

Metabolik açıdan insülin direnci, insülinin hücre düzeyindeki metabolik olaylara etkisinin veya hücrenin insüline karşı normal duyarlılığının azalması olarak tanımlanır

(Meyer *et al.* 1998, Weyer *et al.* 1999). Böylelikle kan şekerinin kas, yağ ve karaciğer hücrelerine girmesi zorlaşır. Bu nedenle pankreatik beta hücreleri, hücrelere daha fazla şeker almak için insülin üretmeye ve normalden daha fazla çalışmaya başlayabilir. En sonunda ise pankreas yorulur ve yeterli insülin sağlama yeteneğini kaybeder. Pankreasın salgıladığı insülinin vücutta tam olarak kullanılamamasına insülin direnci denir (İnt. Kyn. 2).

İnsülin karaciğerde glukoneogenezi ve glikojenolizisi inhibe ederek hepatik glukoz üretimini baskılar. Ayrıca glukozu kas ve yağ dokusunda insülinle uyaran glukoz transportu ve metabolizmasında azalmanın yanı sıra hepatik glukoz üretiminin insülinde baskılanmasında bozulma olur. Bu durumda oluşan insülin direncini karşılayacak ve dolayısıyla normal biyolojik yanıtı sağlayacak kadar insülin salgısı artışı ile metabolik durum kompose edilir (Yedigün 2001).

Genellikle çoğu hastada insülin direnci obeziteyle birlikte görülür, insülin direncinin derecesi değişkendir ve insülin direnci, obezite ve tip 2 diyabet arasındaki ilişki tam olarak anlaşılmasa da aralarındaki bağlantının obeziteyle birlikte adipogenezin artmasıyla bu dokuda oluşturulan adiposit ürünlerle ilişkili olabileceği belirtilmektedir. Bu adiposit ürünler TNF- α , CRP, IL-6, IL-2, leptin, ghrelin, resistin ve adiponektin'dir. Yağ kitlesi arttıkça insülin direncinin ortaya çıkması ile ilişkin en olası aday faktörler arasında, serbest yağ asitleri, TNF- α ve leptin yer almaktadır.

2.3.2 Beta Hücre Disfonksiyonu

İnsülin duyarlılığı ile beta hücre işlevi birbiriyle yakından ilişkilidir. Tip 2 diyabette beta hücre disfonksiyonu nedenleri insan ve hayvanlarda yapılan çalışmalarda araştırılmıştır. Ancak bu çalışmalardan hiç biri beta hücre disfonksiyonunu patofizyolojik olarak tanımlayacak faktör saptaması yapamamıştır (Altuntas 2000).

Beta hücrelerinde rejenerasyonun azalması buna karşın apoptozun artması, beta hücre hasarına neden olan glukoz ve lipid toksisitesi, beta hücrelerinde amiloid birikmesi ve

uzun dönemde beta hücrelerinin insülin direncine bağlı aşırı yorulması bozulmuş glukoz toleransından diyabete dönüşümle karakterizedir (Fukushima *et al.* 2004).

Tip 2 diyabetli hastalara tanı konulduğunda beta hücre fonksiyonlarının %50 oranında azaldığı UKPDS (United Kingdom Prospective Diabetes Study) tarafından saptanmıştır. Yükselen kan şekerini kontrol edebilmek için düzgün çalışan beta hücrelerinde normalden fazla insülin salgılanır. Bu şekilde insülin direncini kompanse etmek için insülin salımının artmasına bağlı olarak insülin seviyelerinin daha yüksek olmasıyla hiperinsülinemi oluşur. Böylelikle günlük metabolik faaliyetler en üst düzeyde sürdürülmeye ve normoglisemi sağlanmaya çalışılır (ADA 2002).

Bir sonraki aşamada yani, insülin direnci ve hiperinsülinemi oluşumundan sonra periferde oluşan insülin, insülin direncini yenemez olur. β hücrelerinde ise aşırı insülin ihtiyacını karşılamak için gerçekleştirilen sürekli insülin üretimi, hem β hücrelerinin yorulmasına hem de insülin üretiminde hatalar oluşmasına neden olabilir. Pankreasın beta hücrelerinde işlevsel kayıp başladığında ise insülin seviyeleri azalmaya başlar. Bunun sonucu olarakta bozulmuş glukoz intoleransı oluşur. İnsülin sekresyonunda fazlaşan azalma ve hepatik glukoz üretiminde artış, açlık hiperglisemisi ile birlikte mutlak diyabete yol açar. Ve bunun sonucu olarak beta hücre yetersizliği yani beta hücre disfonksiyonu ortaya çıkar (Altuntas 2000, Berberoğlu ve Erbilgin 2006).

2.3.3. HOMA-IR ile HOMA- β Tanımı ve Hesaplanması

İnsülin direncini ve beta hücre disfonksiyonunu belirleyebilmek adına farklı farklı bir çok metot geliştirilmiştir. Bununla beraber en çok tercih edilen metotlar hastaya tanı konarken analizi yapılan parametrelerin kullanılmasıyla oluşturulan metotlardır. Matthews ve arkadaşları tarafından 1985'te tanımlanan HOMA (Homeostasis Model Assesment) testi hem β hücre fonksiyonunu hem de insülin direncini gösterebilen, diğer yöntemlere göre uygulaması daha kolay bir testtir. Bu yöntemle açlık plazma glukozu ve insülin düzeyleri kullanılarak HOMA- β (Homeostasis Model Assesment Beta Cell Function) indeksi ve HOMA-IR (Homeostasis Model Assesment İnsülin Resistans) indeksi değerleri hesaplanır. 10 saat mutlak açlık sonrası alınan numunelerde elde edilen

glukoz ve insülin konsantrasyonları, glukoz $\mu\text{IU/mL}$, insülin $\mu\text{IU/mL}$ (veya c - peptid mmol/L) birimlerine HOMA – IR ve HOMA – β indeksleri oluşturularak insülin direnci ve β hücre disfonksiyonunun derecesi belirlenmeye çalışılır. HOMA – IR ve HOMA – β indeksleri şu şekilde hesaplanmaktadır;

$$\text{HOMA - IR} = [\text{Açlık serum insülini } (\mu\text{IU/mL}) \times \text{AKŞ (mmol/L)}] / 22,5$$
$$\text{HOMA - } \beta = [20 \times \text{Açlık serum insülini } (\mu\text{IU/mL})] / [\text{AKŞ (mmol/L)} - 3,5]$$

2.4 Tip 2 Diyabetin Komplikasyonları

Bugüne kadar yapılmış olan tüm klinik çalışmalardan elde edilen verilere göre yüksek glukoz düzeyleri diyabetik komplikasyonların patogeneğinde en önemli neden olduğu söylenebilir (UKPDS Research Group 1998, Temelkova *et al.* 2000). Diyabete bağlı gelişen hipergliseminin etkilediği temel metabolik mekanizmalar vardır. Bu mekanizmaların birbirleriyle etkileşimleri diyabetik komplikasyonları meydana getirmektedir (Brownlee 2001, Yamagishi *et al.* 2004, Oates 2008). Bu mekanizmaların aktivasyonu sonucu öncelikli olarak oksidatif stres ile endotel fonksiyon bozuklukları oluşmakta ve böylece diyabetik vasküler komplikasyonlar meydana gelmektedir. Diyabette mevcut olan hiperglisemi sonucunda insülinden bağımsız olarak oluşan mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlar tip 1 ve tip 2 diyabetli hastaların ölüm oranlarının yükselmesinde çok önemli bir yere sahiptir (De Vriese *et al.* 2000).

Diyabet kontrol altına alınmadığı takdirde; hiperglisemi, hipoglisemi, dislipidemi (kanda kolesterol ve diğer yağ düzeylerinde bozukluk), kronik kalp hastalığı, miyokard infarktüsü, sinir hasarı (nöropati), böbrek fonksiyonlarının bozulması (nefropati), gözle ilgili (oftalmik) komplikasyonlara yol açabilir (Alvin *et al.* 2008). Bu nedenle diyabet oluşması muhtemel komplikasyonların çok olması nedeniyle toplumun genelinin sağlık sorunlarından biri haline gelmiştir.

2.4.1 Tip 2 Diyabetin Tanı ve Tedavisi

Diyabetin tanısı için kan glikoz ölçümü ve oral glukoz tolerans testi (OGTT) en sık kullanılan tanı testidir. Diyabetin tanı kriterleri 1997 (ADA) ve 1999'da (WHO) şu şekilde ifade edilmektedir.

1. Günün herhangi bir saatinde, kişinin aç olup olmamasına bakılmaksızın ölçülen kan glukoz düzeyi ≥ 200 mg/dL (11,1 mmol/L) ve beraberinde poliüri, polidipsi, glikozüri, ketonüri ve açıklanamayan kilo kaybı gibi diyabet semptomlarının bulunması,
2. En az 8 saatlik tam açlık sonrası, açlık plazma glukoz düzeyinin ≥ 126 mg/dL (7mmol/L) olması
3. 75 gramlık OGTT uygulaması sonucunda 2. saat kan glukoz düzeyinin ≥ 200 mg/dL (11,1 mmol/L) olması

Yukarıda belirtilen kriterlerden herhangi birinin bir hastada sağlanması DM tanısı için yeterli bulunmaktadır. T2DM'un tedavisinde amaç, kan glukoz konsantrasyonlarını belirli limitler içinde tutmak ve diabetes mellitusun uzun süreli komplikasyonlarının gelişmesinin önünü kesmektir. Kilo verilmesi ve yeme alışkanlığının değiştirilmesi olumlu yönde fayda sağlayabilir. Bununla beraber, kan glukoz seviyelerini istenen düzeye indirebilmek için sülfonilüre (hipoglisemik ajan) veya insülin gibi ilaçlarla tedavi gerekebilir (Champe and Harley 1997). T2DM tanısı konan hastada, hastalığın ilerlememesi için en önemli nokta tedavi protokollerine uyulmasının yanında sağlıklı yaşam biçiminin yaşam tarzı haline getirilmelidir.

2.4.2 Deneysel Tip 2 Diyabet Modelleri

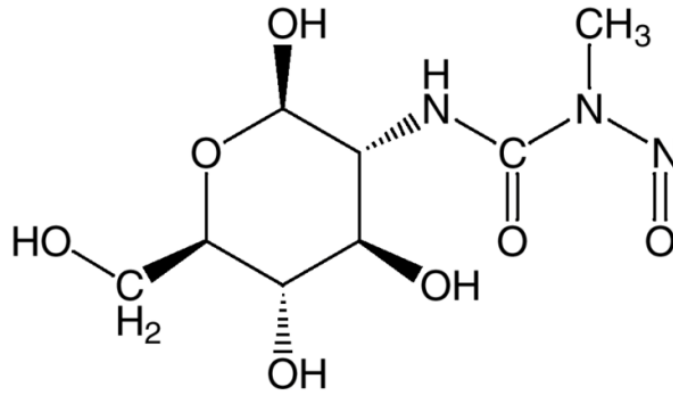
Çeşitli hastalıkların nedenlerinin anlaşılması, hastalığın tedavisinin ve korunma yollarının bulunması için deneysel hayvan modellerinin kullanımı yaygındır. Bu modellerden bazıları insandaki hastalık nedenleri bakımından benzerse de o hastalığı tam olarak oluşturduğu kesin olarak söylenemeyebilir. Deneysel diyabet oluşturulması amacıyla cerrahi, kimyasal, viral, genetik vb. modeller kullanılabilir. Bu

yöntemlerden en fazla tercih edilenleri kimyasal ajanlar kullanılarak oluşturulan diyabet modelleridir. Laboratuvar hayvanlarında deneysel diyabet oluşturabilmek için yaygın olarak streptozotosin (STZ) ya da alloxan kullanılır (Anderson 1983, Heineke *et al.* 1993, Öntürk ve Özbek 2007).

STZ ve alloxan pankreatik β hücrelerine olan spesifik toksisiteleri nedeniyle diyabetojenik ajan olarak kabul edilirler. Fakat STZ daha spesifik β -hücre sitotoksitesine sahip olduğundan laboratuvar çalışmalarında daha fazla tercih edilir (Öztürk *et al.* 1996, Gorogawa *et al.* 2002). Bu nedenle sunulan çalışmada da deneysel tip 2 diyabet oluşturulurken STZ tercih edilmiştir.

2.4.2.1 Streptozotosin

Streptozotosin, N-(Methylnitrosocarbamoyl)- α -D-glikozamin yapısındadır. Açık sarı renkte, suda ve alkolde çözünen bir maddedir. Önceleri antibiyotik olarak kullanılırken STZ'nin kanserojen etkisi olduğu tespit edilmiştir. Günümüzde STZ'den deneysel diyabet oluşturmak için faydalanılmaktadır.



Şekil 2.1. STZ kimyasal yapısı (Ashby and Hilton 1993).

STZ, GLUT-2 glikoz transporter yoluyla β hücrelerine seçici etki gösterir ve burada nitrik oksit, alkilasyon veya DNA fragmantasyonu vasıtasıyla DNA hasarı meydana getirir. Yetişkin sıçanlarda belirli oranda STZ uygulamasının insüline bağımlı diyabete,

yeni doğmuş sıçanlara STZ uygulamasının ise insülininden bağımsız diyabete neden olduğu belirlenmiştir (Anderson 1983, Heineke *et al.* 1993, Öntürk ve Özbek 2007).

2.4.2.2 High Fat Diet (HFD)

Son 20 yılda ucuz, lezzetli ve yüksek yağ içeren bir çok gıda maddesinin ortaya çıkmasıyla diyetdeki yağ miktarı hızla artmıştır. Yüksek yağ içeren diyet (HFD) ile beslenme, insan metabolik sendromuna paralel olarak kemirgenlerde de obezite ve metabolik hastalıkları indükleyebilmektedir. Gerçekten de HFD'nin ratlarda vücut yağ oranı artışına ek olarak hiperleptinemi, hipertrigliseridemi ve hiperkolesterolemiye sebep olduğu bildirilmiştir (İşbilen *et al.* 2007).

Deneysel tip 2 diyabet modellerinde, insanda görülen hastalığın fizyopatolojisini daha iyi taklit edebilmek için HFD kullanılmaktadır. Çünkü tip 2 diyabetli hastalarda tanı konmadan yıllar önce insülin direnci gelişmekte, sonrasında β hücre disfonksiyonu oluşmakta en son tip 2 diyabet bulguları oluşmaktadır. Deney hayvanlarında insülin direnci oluşturabilmek için HFD kullanılmakta, sonrasında STZ enjeksiyonu ile β hücre disfonksiyonu oluşturularak tip 2 diyabet fizyopatolojisi deneysel olarak taklit edilmeye çalışılmaktadır.

2.5 İnflamasyon

İnflamasyon, insan vücuduna dışarıdan veya içeriden verilen uyarılara karşı bazı hücre, doku veya organların başlattığı ve yaşamını sürdürebilmesi için gerekli ama spesifik olmayan bir yanıttır. Bu uyarıya verilen biyolojik yanıtın amacı; uyarının neden olduğu hücresel tahribatın tamiri, hücre ve yabancı cisim atıklarını temizleme, bakteri uyarılarını belirleyerek canlı üzerine olan zararlı etkilerini engellemektir (İnt. Kyn. 3).

İnflamasyonun oluşması için bakteriler, virüs, mantar ve parazit ya da travma, yanık, yabancı cisim, iskemi ve pankreatit gibi bir çok farklı faktör yeterli olabilse de, bu uyarılara cevap aynıdır. İnsan vücudunun dışarıdan veya içeriden gelen uyarılara karşı başlattığı inflamasyon, çok titiz bir şekilde kontrol altında tutulan bir takım

reaksiyonlara neden olur. Bu durum sonucu uyarının tahribata uğrattığı yerde lokal olarak tamiri başlatır. Oluşan lokal inflamasyon sonucu dokuda ya tahribatı tam olarak yok eder ya da orada bir apse gelişimi oluşturabilir. Veya dokuda oluşturduğu hasar iyileşmeyerek kronik inflamasyon gelişebilir (İnt. Kyn. 3). Kronik inflamasyonun oluşması ile metabolizmada bazı hastalıkların oluşmasına zemin hazırlayabilmektedir.

İnflamasyonun tip 2 diyabette belirgin olarak arttığı diyabetin mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlarının gelişiminde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Ancak tip 2 diyabetin doğal seyrinde bu mekanizmaların neden mi sonuç mu olduğu bilinmemektedir (İnt. Kyn. 4). Kanda glikoz düzeyinin aşırı yükselmesi sonucu glomerülür filtratın içinde, resorbe olunabilecek miktarlardan daha fazla miktarda glukoz bulunabilir. Ve bu fazla miktar idrara geçerek glukozüri oluşur. Bu olay böbrekte tahribata yol açarak nefropatiye yol açar. Bu da diyabette sıklıkla ortaya çıkan bir olaydır. Ve diyabetin en önemli komplikasyonlarından. Tip 2 diyabetli hastalarda inflamatuvar parametreleri seviyelerinin sağlıklı bireylere göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Bununla beraber obezite ve inflamasyon, hücresele düzeyde insülin internalizasyonunu (hücre içine girmesini) inhibe ederek insülin direncine ve hiperglisemiye yol açmaktadır (Murray *et al.* 1993).

HFD uygulaması sonucunda yağ hücre kitlesinin artması (adipogenesis) inflamatuvar faktörlerin oluşmasını uyarabilmektedir. Çünkü inflamasyona neden olan temel faktörler olan adipokinlerin (özellikle sitokinlerin) üretilmesinde yağ artışının önemli yeri olduğu ifade edilmektedir. Organizmada inflamasyonun oluşmasına sitokinler ve kemokinler aracılık etmektedir. Özellikle sitokinler yabancı antijenlere ve ajanlara karşı organizmanın reaksiyonlarının kontrol ve düzenlenmesinde önemli rol oynarken aynı zamanda hücreler arası ilişkileri düzenleyerek inflamatuvar cevapta önemli rol oynarlar.

2.5.1 Tip 2 Diyabette İnflamasyon

İnflamasyon sırasında inflamasyona neden olan birçok inflamatuvar maddenin seviyeleri artabilmektedir. Bunlar plazmada ya da hücrelerde bulunurlar. Canlı metabolizmada yağ dokusu yalnızca enerji depolama yeri değil, diğer bir görevi de insülin direncine farklı

farklı etkileri olan leptin, rezistin ve adinopektin denilen adiposit düzenleyici maddeleri salgılayan bir organdır (Ulukaya 2007). Beyaz yağ dokusu hücrelerinden fazla miktarda inflamatuvar sitokinler (TNF- α , IFN- γ , IL- β ve IL-6) inflamasyon belirteçleridir. Söz konusu inflamatuvar maddeler oksidatif stresi uyararak veya kendileri direkt etki ederek insülin direncine veya β hücre disfonksiyonuna etki edebilmektedirler (Bowie and O'Neill 2000). Kas doku da IL-6'nın GLUT 4'ü inhibe ederek insülin duyarlılığını azaltabileceği sonuçlarla belirlenmiştir (Bastard *et al.* 2006).

sitokinler, protein veya polipeptid yapıda olan moleküllerdir. Molekülün tek başına hiçbir etkisi yokken, inflamasyon durumunda (bakteri, yabancı cisim vb.) uyarana karşı başlatılan tepkimeye yardımcı olarak çalışırlar. Bu biçimde uyarılan hücredeki spesifik reseptörlere bağlanır ve hücre davranışını değiştirirler (İnt. Kyn. 3).

Uyaran ne olursa olsun vücuttaki bütün sitokinler harekete geçebilir ve yalnızca birinin uyarılmasıyla hepsi harekete geçerek aşırı düzeyde proinflamatuvar sitokinlerin (TNF - α , IL - 1, IL - 12, IFN - γ ve IL - 6 vb.) salgılanması ve salınımına sebep olabilirler. Sitokinler inflamasyondaki en önemli etkilerini endotel, lökosit, fibroblast ve akut faz reaktanları üzerinde gösterirler. Sitokinlerin bu gösterdikleri etkilerin yanında bir çok kimyasal mediatörün, büyüme faktörlerinin ve nitrikoksit salımını artırır. Trombojenisiteye sebep olurlar. Bu tür hasarlara neden olan bir çok sitokin vardır. Bunlar tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), interlokinler (IL-1 α , IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-4, IL-13), interferon gama (IFN- γ) ve değiştirici büyüme faktörüdür. (Transforming growth factor, TGF- β). Bunlardan en önemlileri IL - 1 ve TNF (α - β)'dir (İnt. Kyn. 3).

Sitokinler

Sitokinler, organizmada immün sistemin regülasyonunda ve inflamatuvar olaylarda önemli rol oynayan moleküller olup, lenfositlerin meydana getirdiği sitokinlere lenfokin, monositlerin oluşturduklarına ise monokin denir (Güne 1999). Belli bir sitokin çeşitli hücreler tarafından salgılanır. Fakat aynı biyolojik etkiyi gösterir. Sitokinlerin etkileri sistematik veya lokaldir. Bazıları klasik hormon gibi davranırsa da hücreler tarafından yapıldıkları için hormon kabul edilemezler. Dinlenme halinde hücrelerden

sitokin salgılanmamaktadır. Çünkü sitokinler çok aktif maddeler olup çok az miktarları dahi etkili olabilmektedir (Kuby 1992).

Sitokinler hücre bölünmesi ve farklılaşmanın kontrolü, hemotopoez ve bağışıklık sisteminin regulasyonu, yaraların iyileşmesi, kemik formasyonu ve hücrel metabolizmanın değiştirilmesi gibi biyolojik olaylarda rol oynamaktadır. Sitokinleri başlıca şu ana gruplara ayırabiliriz;

- Nonspesifik immüneyi ve enflamasyonu arttıranlar,
- Lenfosit aktivasyonu,
- Büyüme ve diferanslasyonun da görev alanlar,
- Kemik iliği prokürsörlerinin koloni stimülasyonu yapanlar,
- Regülatör sitokinler ve kemokinlerdir (Kuby 1992).

Tümör Nekrotizan Faktör (TNF - α)

TNF- α , sitokin ailesinin bir ürünüdür. İki ayrı formu vardır; TNF- α ve TNF- β yaklaşık olarak birbirlerine %35 oranında benzerlikleri vardır. Ve aynı hücre reseptörüne bağlanabilmek için yarışır. 6. kromozom da bulunan iki farklı gen tarafından yapılırlar. İki ayrı reseptöre bağlanan bu iki form bütün hücre olduğu düşünülmektedir. TNF, inflamatuvar olaylar ve immüneye de rol alan bir mediyatördür. Geniş etki alanı vardır (Chung and Barnes 1999).

TNF- α başlıca aktif makrofajlar olmak üzere, mast hücreleri epitelyum hücreleri, nötrofiller ve T lenfositler tarafından salınır. Organizmanın gram negatif bakterilere karşı verdiği cevabın en önemli göstergesi TNF- α 'dır. Lenfotoksin olarak adlandırılan TNF- β ise başlıca aktif T lenfositler tarafından sentezlenir (Khair *et al.* 1996).

İnterlokın - 1 β

Başlıca makrofaj hücreleri tarafından üretilmektedir. IL-1 nöroendokrin ve metabolik fonksiyonları etkiler. IL-1'in sistemik etkileri; hipotansiyon, ateş, nötrofillerin

salınımının artış ve hepatik akut faz reaktanı olarak insülin miktarlarında artışlara neden olur (Douglas 2003).

IL-1 alfa ve beta olmak üzere iki formu vardır. İnsan pankreas adacık hücrelerinin yüksek glukozu uzun süre maruz kalmasının, bu hücrelerden IL-1 β yapımını uyardığı, bununla NF-kB (nuclear factor-kB) aktivasyonu ve Fas sinyalinin up-regülasyonuna yol açtığı ve otokrin apoptozu tetiklemesiyle sonuçlandığı yakın zamanda öne sürülmüştür (Schrijvers *et al.* 2004).

İnterlokın - 6

Mononükleer fagositler, damar endotel hücreleri, fibroblastlar ve epitel hücreleri ile bazı aktive T hücreleri tarafından sentezlenen IL-6, IL-1 ve TNF- α 'nın etkisi ile salgılanır. Ve bu sitokinlerle birliktelik gösteren etkilere sahiptir. IL-6'nın en iyi tanımlanan etkileri hepatositler ve B lenfositleri üzerine olup, akut faz yanıtına katkıda bulunan birçok plazma proteinin hepatositler tarafından sentezine neden olur (Abbas *et al.* 1994).

Bastard ve arkadaşlarının (2000) yaptığı çalışmada insülin direnci göstergesi olarak ölçülen parametreler ile (açlık plazma insülini, açlık plazma glukozu, fasting insülin resistance index) ilişkilidir. IL-6 düzeylerinin TNF- α ve leptine göre obeziteye bağlı insülin direnciyle daha sıkı ilişkili olduğu düşünülmüştür.

İnterferon - γ

İnterferonlar, virüs, bakteri, parazit ve tümör hücreleri gibi bilinen yabancı ajanlara karşı organizmanın immün sisteminin ürettiği glikoprotein yapısında doğal proteinlerdir. İnterferon gamma doğuştan ve adaptif immün cevapta anahtar immün regülatuar proteindir. Tip 2 interferon olarak bilinir. Anti tümör ve antiviral etkileri vardır (Young and Bream 2007).

IFN- γ 'nın biyolojik etkisi çok yaygındır. Neredeyse her hücre tip proteinle etkileşime girdiğinde değişikliğe uğrar. IFN- γ 'nın regülasyonu ve etkileri kompleks ve konak yaşamı için gerekli olan multipotent bir sitokin olduğu bilinir (Young and Bream 2007).

IFN- γ primer olarak CD4+ T lenfositler tarafından salgılanırken, Naturel Killer (NK), CD8+ T hücreler ve az miktarda B lenfositler tarafından da salgılanabilmektedir. Lenfositler ve NK hücreleri üzerine etkili olmakla beraber temelde bir makrofaj aktive edicidir (Young and Bream 2007). Makrofajların akrite olması ise diğer sitokinlerin üretimini uyarabilir.

2.5.2 T2DM ve Obezite ile İnflamasyonun İlişkisi

Diyabetin vasküler inflamasyon için tetikleyici olduğu kabul edilmekle birlikte inflamasyonun kendisinin de diyabeti tetikleyebileceği öne sürülmüştür. Çok yüksek olmayan inflamasyonun T2DM gelişiminde hastalığın önemli bir belirleyici olduğu yönünde bulgular oluşmuştur. Yükselmiş C-reaktif protein vücut kitle indeksi, trigliserid, glikoz düzeylerinin tip 2 diyabet oluşum riskini arttırdığı kanıtlanmıştır (Freeman *et al.* 2002). Bu bağlamda artan lökosit sayısı da insülin aktivitesini bozarak tip 2 diyabet gelişimin de bir predüktör olduğu ortaya konmuştur (Ford 2002).

Diyabetli hastalarda sık görülen abdominal obezitedeki karın içi yağ dokusu düşük seviyeli kronik inflamatuvar durumun önemli bir belirleyicisidir. Buna bağlı olarak bu kişilerde inflamasyon belirteçleri olan IL-6, TNF- α ve CRP düzeylerinin yükseldiği görülür. Bu durum kronik inflamasyon obezite, tip 2 diyabet ve insülin direnci ile kardiyovasküler hastalıkların arasında ilişki olduğu düşüncesini kuvvetlendirilmektedir (Yudkin *et al.* 1999).

2.6 Fitoterapik Bitkiler ve Bileşikler

Hastalıkların tedavi edici değere sahip taze veya kurutulmuş bitki kısımları (drog) ya da bunlardan elde edilen ekstraksiyon ürünleri kullanılarak üretilen çay, damla, draje, kapsül, şurup, tablet ile tedavi edilmesi “fitoterapi” olarak adlandırılır. Fitoterapi, “tıbbî

bitkilerle tedavi” anlamına da gelmektedir. Ve bu terim ilk kez Fransız hekim Henri Lenckre (1870 - 1953) tarafından La Presse Medical adlı dergide kullanılmıştır (Çubukçu *et al.* 2002).

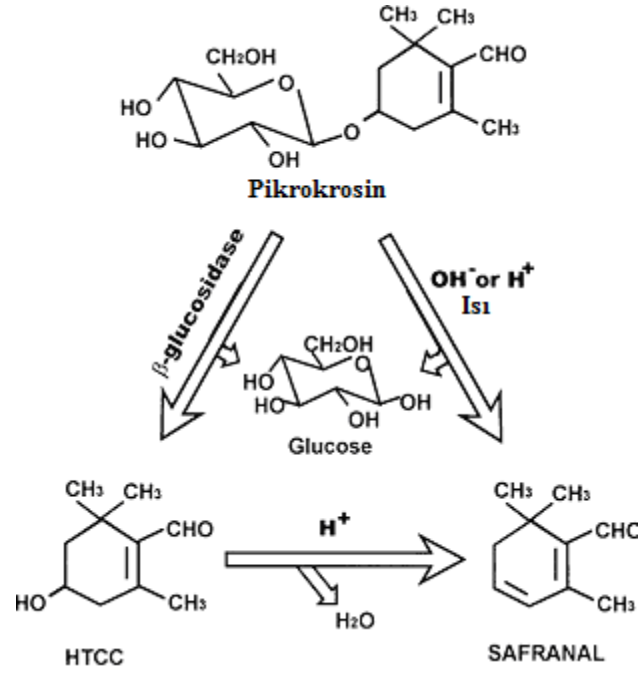
Fitoterapi, günümüzde alternatif kimya konuları arasında değerlendirilmekte olup tarih süreci içerisinde birikimi, gelişimi ve uygulanışı ile birçok kimya projesine öncülük etmiştir (Çubukçu *et al.* 2002). Geldiğimiz bu süreçte fitoterapiye ilgi giderek artmakta olup, kimya ve biyokimya alanındaki gelişmeler ilâç sanayiine büyük bir hız kazandırmış; bu sayede etkinlik, zararsızlık ve kalite prensipleri benimsenerek analitik, toksikolojik, farmakolojik ve klinik çalışmalar sonucu, laboratuvarlarda tıbbın ihtiyaçlarına cevap verebilecek pek çok ilâç geliştirilmiştir (Asımgil 1997).

Diyabet serbest radikallerin arttığı ve/veya antioksidan mekanizmaların göreceli olarak inhibe olduğu oksidatif stres durumlarından birisidir. Çeşitli yayınlarda bazı antioksidan enzimlerin azaldığı, arttığı veya değişmediği rapor edilmişse de araştırmacıların kesinlikle fikir birliğine vardıkları konu, diyabette lipid peroksidasyonunun arttığı ve antioksidan mekanizmaların bozulmuş olduğudur. Bu yüzden diyabet tedavisinde andiyabetiklere ek olarak antioksidan maddelerin veya antioksidan özellikleri olan antidiyabetiklerin kullanılması, diyabette daha etkin tedavi için tavsiye edilmektedir (Vincent *et al.* 2004).

2.6.1 Safran

Safran (*Crocus sativus L.*) dünya üzerinde kuzey yarım kürenin tropikal ve subtropikal bölgelerinde yayılış göstermektedir. Daha çok İtalya, İspanya, Yunanistan gibi Akdeniz’e kıyısı olan ülkelerde ve Türkiye dahil olmak üzere Çin, İran ve Azerbaycan’da kültürü yapılan kromlu, çok yıllık, otsu bir bitkidir (Vurdu *et al.* 1997).

Safranın kokusunu safranal, tadını ‘picocrocine’ ve rengini de ‘crocine’ maddeleri vermekte olup, bunlar da safran bitkisinin 3 parçalı stigmasında bulunmaktadır. (Negbi *et al.* 1989).



Şekil 2.2. Picrokrosinin HTCC ve safranalar kimyasal dönüşümü (Carmona *et al.* 2007).

2.6.2 Safranalar'ın Yapısı ve Genel Özellikleri

Safran hasattan sonra kurutulduğunda sıcaklıkla birleşen enzim etkisi sonucunda picrokrosin D-glukoz ve serbest bir safranalar molekülüne dönüşür. Safranalar ; (Sistematik adı: 2,6,6 – trimetilsikloheksa – 1,3 – dien – 1 – karboksaldehit) diye bilinen bir aldehit ve karbonhidratın bileşiminden oluşur. Safranalar uçucu bir yağdır. Safranaların ayırt edici aromasının önemli bileşenlerindedir. Ve bazı örneklemelerde kuru safranaların uçucu bölümünün yaklaşık % 70'ini ihtiva ettiği görülmüştür (İnt. Kyn. 5).

Antioksidan etki gösteren ve tıbbi bitki litaretüründe yer alan günümüzde önemi gittikçe artan tedavi edici etkiye de sahip bir bitki olduğu bilinen safran ekstraktının bileşenlerinden biri olan safranalar radikal süpürücü aktivitesinin, safranalar antidiyabetik (Kianbakht *et al.* 2011), antioksidan (Assimopoulou *et al.* 2005), antikanser (Escribano *et al.* 1996) ve hipotansif (Imenshahidi *et al.* 2010) özellikler kazandırdığı çeşitli çalışmalarla belirlenmiştir. Aynı zamanda yapılan çalışmalar safranalar sahip olduğu yüksek radikal süpürücü aktivitesi sayesinde fonksiyonel işlevi olan gıdalarda, antioksidan etkili içeceklerde, farmakolojide, yaşlanmaya karşı

koruyucu etkileri (antiaging) nedeniyle kozmetik sanayi gibi birçok alanda kullanılabileceği de belirtilmektedir (Vincent *et al.* 2004).

Sunulan çalışmada ise daha önce antidiyabetik etkileri belirlenmiş olan safranalın, deneysel tip 2 diyabet oluşturulan ratlarda insülin direncine, pankreatik β hücre disfonksiyonuna, oksidatif strese ve inflamasyona etkileri belirlenmeye çalışılmıştır.

3. MATERYAL ve METOT

3.1 Materyal

Çalışmada her deney grubunda 8 toplamda ise 40 adet deney hayvanı (rat) Afyon Kocatepe Üniversitesi Deneysel Hayvanları Araştırma Merkezinden temin edildi. Ratların bakımı ve beslenmeleri çalışma boyunca 21 ± 2 °C çevre sıcaklığında, % 55 – 60 nem 12:12 saatlik aydınlık – karanlık döngüsü şartlarında gerçekleştirildi. Gruplara göre yüksek enerjili veya standart yemle besleme ve günlük su temini sürekli sağlandı. Çalışma boyunca hayvanlara yapılacak tüm müdahaleler Afyon Kocatepe Üniversitesi Deneysel Hayvanları Yerel Etik Kurulundan alınan 28.09.2012 tarihli 237 sayılı etik kurulu onayı doğrultusunda, Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezinde yapıldı. Çalışma toplam 10 hafta olarak planlandı. İlk 6 hafta HFD ile besleme (insülin direnci oluşturma aşaması) ve deneysel tip 2 diyabet modeli oluşturma aşaması olarak tasarlandı. Son 4 haftada ise diyabetik ve HFD uygulanan ratlara safranal tedavisi uygulandı.

3.1.1 Çalışmada Kullanılan Yemin Hazırlanması

İnsülin direnci ve obezite oluşturmak amacıyla deney hayvanlarına verilen diyetlerin yağ oranı değişik çalışmalarda % 22 ile % 60 arasında olduğu görülmüştür (Hazman 2011). Bu nedenle çalışmada kullanılan yemin rasyonuna %50 oranında iç yağ konularak yağlı diyet oluşturulmuştur.

Afyon yem fabrikasından temin edilen standart palet yemi, öğütülerek toz haline getirmiş, içerisine protein kaynağı olarak % 5 yağlı soya, % 5 yumurta, enerji kaynağı olarak ise % 50 iç yağ konularak karışım homojen hale getirilmiş, sonrasında palet haline getirilerek derin dondurucuya konulmuştur. Her hafta taze olarak hazırlanan yem, deney hayvanlarına besleme yapılmadan 1 saat önce dondurucudan çıkarılarak verilmiştir. Hazırlanan yemin rasyonu ve enerji değeri Çizelge 3.1’de sunulmuştur.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan yemlerin içerikleri (Hazman 2011)

| Bileşen (%) | Standart Pelet Yem İçeriği | Yüksek Enerjili (yağlı) Yem İçeriği |
|-------------------------------|-----------------------------------|--|
| Yağ oranı | 4,1 | 57,3 |
| Protein oranı | 17 | 13,6 |
| Karbonhidrat oranı | 76,4 | 30,1 |
| Diğer maddeler | 2,5 | 1,5 |
| Enerji düzeyi (kal/kg) | 2600 | 4930 |

3.1.2 Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

3.1.2.1 Fosfat Tamponu (PBS) Hazırlanması

Pankreas dokusunda TAS, TOS ve total protein düzeylerinin belirlenebilmesi için öncelikle pankreas dokusu homojenize edilmiştir. Bu homojenizasyon işleminde PBS tamponu (pH:7,4) kullanılmıştır. PBS tamponu için 8,0g NaCl (Sodyum Klorür), 0,2KCl (Potasyum Klorür), 1,15g Na₂HPO₄ (Di Sodyum Hidrojen Fosfat) ve 0,2 KH₂PO₄ (Potasyum Di Hidrojen Fosfat) tartılmıştır. Bir miktar distile suda çözüldükten sonra su ile 1L'ye tamamlanarak ve pH=7,4'e ayarlanmıştır.

3.1.2.2. Sitrat Tamponu ve Streptozotosinin (STZ) Hazırlanması

0,21 g (10 mmol) sitrik asit monohidrat (C₆H₈O₇ . H₂O) bir miktar saf suda çözdürülüp üzerine 0,294 g (10 mmol) trisodyum sitrat dehidrat (C₆H₅Na₃O₇ . 2H₂O) eklenerek son hacim 0,1 litreye tamamlandıktan sonra pH 4,5'e ayarlandı.

Her 2 ml sitrat tampon içerisinde 30 mg STZ olacak şekilde STZ tartılarak sitrat tampon içerisinde çözüldü. Tip 2 diyabet oluşturulacak ratlar tartıldıktan sonra, ratlara ağırlıklarına uygun olacak hacimlerde STZ 30 mg/kg dozunda intraperitoneal (i.p.) yolla verildi.

3.1.2.3 Safranalin Hazırlanması

2 ml safranal 8 ml serum fizyolojik ile 1:4 oranında emülsifiye edildikten sonra 200 mg/kg (0,2 ml/kg-gün) dozunda ratlara her gün gavaj yöntemiyle verildi.

3.2 Ratlarda İnsülin Direnci Oluşturma Aşaması (HFD ile Besleme)

HFD oluşturulup yapılan çalışmalarda en çabuk ağırlık artışı, ratlar 5 haftalıkken başlayıp 20 haftalık oluncaya kadar yaşandığı için (Furnes *et al.* 2009) çalışmaya 8-10 haftalık genç ratlarla başlandı. Deneysel Hayvanları Uygulama Araştırma Merkezinin üretim odasından alınarak araştırmanın yapılacağı odaya getirilen ratlar, 4'erli gruplar halinde kafeslere konuldu. Ratların bir 1 hafta standart rat yemi ile beslenerek ortama uyum göstermeleri sağlandı. 8 rat kontrol grubu olarak ayrıldıktan sonra kalan ratlara HFD uygulanmaya başlandı. Kontrol grubu ve HFD uygulanan gruptaki ratların ağırlık değişimleri haftalık olarak tartılarak kaydedildi. 6 hafta HFD uygulaması STZ enjeksiyonu ile tip 2 diyabet modeli oluşturma aşamasına geçildi.

3.3 Tip 2 Diyabet Modelinin Oluşturulması

Çalışmanın 5. haftasında (kontrol grubu hariç) obez ratlar 12 saat süreyle aç bırakıldıktan sonra açlık kan glukoz değerleri ölçüldü (Accu-Check Go, Bayer). Literatürde de belirtildiği gibi sitrat tamponunda (pH:4,5) çözülen STZ, 30 mg/kg dozunda birer hafta arayla 2 defa olmak üzere i.p. enjeksiyonla verildi. Son enjeksiyondan bir hafta sonra ratların plazma glukoz düzeylerine bakılarak, plazma glukoz seviyeleri 300 mg/dl ve üzerinde olan ratlarda tip 2 diyabet olduğu kabul edildi (Zhang *et al.* 2008). Tip 2 diyabet modeli oluşturulan ratlar çalışmanın bundan sonraki tedavi aşaması için gruplara ayrıldı.

3.4 Araştırma Grupları Planı

Ratlar her grupta 8 adet olacak şekilde toplam 5 gruba rastgele dağıtıldı. Kontrol grubu ile birlikte, tip 2 diyabet modeli oluşturulan ratların bulunduğu 5 grup izelge 3.4'te gösterildiği gibi oluşturuldu.

Çizelge 3.2 alışma grupları

| Gruplar | Yapılacak Uygulamalar |
|--|---|
| Grup 1: Kontrol grubu (KONTROL) | alışma süresince standart yemle beslenen sağlıklı ratlardan meydana getirildi. |
| Grup 2: Yağlı diyet verilen obezite grubu (HFD) | alışma süresince yağlı diyetle beslenen ratlardan oluşturuldu. |
| Grup 3: Yağlı diyet verilen obezite-tedavi grubu (HFD-SAF.) | alışma süresince yağlı diyet uygulanan ratlara, 6. haftadan sonra 4 hafta süreyle günde 1 kez 200 mg/kg (0,2 mL/kg-gün) dozunda gavajla safranal verildi. |
| Grup 4: Diyabet kontrol grubu (DYB) | alışma süresince yağlı diyetle beslenen ratlara 4. haftadan sonra, birer hafta (toplam iki hafta) arayla çift doz 30 mg/kg streptozotosin injeksiyonu ile tip 2 diyabet oluşturuldu. |
| Grup 5: Diyabet tedavi grubu (DYB-SAF.) | alışma süresince yağlı diyetle beslenen ve tip 2 diyabet modeli oluşturulan ratlara 6. haftadan sonra 4 hafta süreyle gavajla 200 mg/kg (0,2 ml/kg-gün) dozunda safranal tedavisi uygulandı. |

3.5 Canlı Ağırlık ve Açlık Kan Glukozu lmleri

Deney hayvanları laboratuvara getirildikten sonra haftada bir ratların canlı ağırlıkları belirlendi. Çalışmaya başlarken (0. Hafta), alışma başladıktan sonra 2 hafta da bir ve çalışma sonunda ratların açlık kan glukoz seviyeleri lld. lmler öncesinde bir gece boyunca a bırakılan ratların canlı ağırlıkları elektronik terazi ile lld ve

sonrasında kuyruk venasından alınan 1 damla kan ile glukoz ölçümleri Accu Check Go cihazı yardımıyla yapıldı.

3.6 Çalışmanın Sonlandırılması

4 haftalık safranal uygulaması sonunda (çalışmanın 10. Haftası), ketamin (65mg/kg) ve ksilazin (7 mg/kg) ile anestezi altına alınan ratlardan analizler için gerekli kan ve doku örnekleri alınarak biyokimyasal analizler için hazırlandı.

3.7 Biyokimyasal Analizler

Sunulan çalışmada ratlardan elde edilen kan örneklerinde hazırlanan plazmada ve pankreas doku homojenatından elde edilen süpernatantlarda planlanan biyokimyasal analizler yapıldı. İnsülin seviyeleri sadece plazmada, inflamatuvar sitokin düzeyleri (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IFN- γ) ve TAS, TOS düzeyleri ise hem plazmada hemde pankreas dokusunda belirlendi. Kan dokusunda glukoz ve insülin seviyeleri, plazmada insülin ve sitokin seviyelerine ELİSA cihazıyla (Biotek ELx800) ve plazmada, TAS, TOS seviyelerine Erel'in (2004, 2005) kullanıldığı spektrofotometrik yöntemle göre ölçülerek ve elde edilen verilerden oksidatif stres indeksi hesaplandı.

3.7.1 Kan Plazmasının Hazırlanması

Heparinli tüpler içerisine alınan kan örnekleri +4 $^{\circ}$ C'de 3000 x g'de 10 dakika santrifüj edilerek plazma ve şekilli elemanlar ayrıldıktan sonra plazma yeni bir tüpe aktarılmıştır. Ayrılan plazma örnekleri porsiyonlara ayrılarak laboratuvar analizleri için -20 $^{\circ}$ C'de muhafaza edilmiştir.

3.7.2 Pankreas Doku Homojenatlarının Hazırlanması

Yaklaşık 0,5 g alınan pankreas dokusu homojenizatöre alınarak üzerine proteaz inhibitörü (Roche) içeren PBS (pH:7,4) solüsyonundan 5 mL eklendi ve homojenize edildi. Deneyin bütün aşamalarında soğuk zincirin sağlanmasına dikkat edildi. Homojenatlar 15000 x rpm, +4 °C'de 10 dakika santrifüj (kubota) edildi ve elde edilen süpernatantlarda TAS ve TOS analizleri ile sitokin düzeyleri belirlendi.

3.7.3 Doku Homojenatlardan Total Protein Analizi Yapılması

Pankreas dokusu total protein seviyeleri Bradford protein ölçüm esasına dayanan ticari kitler (Fluka 51254) kullanılarak, ELİSA (Biotek Elx800) cihazında ölçüldü. Bu yöntemde boya olarak kullanılan Coomassie brillant blue G-250, negatif bir yüke sahiptir ve protein üzerindeki pozitif yüke bağlanır. Boyanın kırmızı ve mavi formu mevcuttur. Proteinin bağlanması, kırmızı formun mavi forma dönüşümünü sağlar. Oluşan kompleksin absorbanı 595 nm de ölçüldü (Bradford 1976). Pankreas dokusunda analizi yapılan diğer parametrelere (TAS, TOS, TNF- α , IL-1 β , IL-6, IFN- γ) ait konsantrasyonlar, en son elde edilen total protein seviyelerine bölünerek sonuçlar hesaplanmış, sonuçlar konsantrasyon/g protein veya konsantrasyon/mg protein şeklinde ifade edilmiştir.

3.7.4 Plazma İnsülin Ölçümü

İnsülin düzeyleri ratların kan plazması örneklerinde ELİSA yöntemiyle rata spesifik kitlerle (Drg - Diagnostic) 450 nm'de ölçüldü. Numunelerden elde edilen absorbanların insülin konsantrasyonu olarak ifade edilebilmesi için, kitle birlikte gelen stok standart kullanılarak farklı konsantrasyonlarda hazırlanan 8 standart aracılığıyla kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Standartlar ve numuneler dublike çalışılmış olup, istatistiki hesaplarda her bir standartın ve numunenin ortalama değeri kullanılmıştır.

3.7.5 Sitokin Seviyelerinin Analizi

Çalışmada TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve IFN- γ olmak üzere 4 ayrı inflamatuvar sitokin plazma ve pankreas doku homojenatındaki seviyeleri rata spesifik kit (e-Bioscience, Vienna, Austria) protokollerine uygun bir şekilde ELISA cihazında (Biotek ELx800) analiz edilmiştir. ELISA analizleri yapılırken numunelerin absorbanları kullanılarak konsantrasyonlarının ELISA cihazında otomatik olarak hesaplanabilmesi gerekli olan kalibrasyon eğrisinin oluşturulabilmesi için, kitle birlikte tedarik edilen standartlar çözdürülmüş sonrasında dilüe edilerek 8 adet standart hazırlanmıştır. Standartlar ve numuneler dublike çalışılmış olup, istatistiki hesaplarda her bir standartın ve numunenin ortalama değeri kullanılmıştır.

3.7.6 Oksidan Antioksidan Seviyelerinin Ölçümü

Çalışma sonunda ratlardan alınan plazma ve pankreas dokusu örneklerinde total oksidan ve antioksidan statü ölçümleri spektrofotometrik (Biotek, ELx800) yöntemlerle yapılmıştır

3.7.6.1 Total Antioksidan Statü (TAS) ve Total Oksidan Statü (TOS) Analizi

Bir ortamdaki antioksidan kapasiteyi ölçmeye yönelik olan TAS gibi metotlar genelde, bir vitamin E analogu olan ve Trolox Equivalent olarak adlandırılan standart antioksidan solüsyonu kullanılarak kalibre edilmektedir. TAS ölçümleri Erel'in (2004) geliştirdiği metoda göre, numune ve ayraçlar karıştırıldıktan 5 dakika sonra spektrofotometrik (Biotek, ELx800) okuma yapılarak gerçekleştirilmiştir. Ölçülen TAS düzeyleri, total protein seviyelerine bölünerek mmolTrolox Equivalent/g-protein şeklinde ifade edilmiştir. TOS ölçümleri de yine Erel'in (2005) geliştirdiği metoda göre, numune ve ayraçlar karıştırıldıktan 3-4 dakika sonra 560 nm'de spektrofotometrik okuma yapılarak gerçekleştirilmiş ve sonuçlar hidrojenperoksit equivalent litre/g-protein ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./g-protein}$) olarak ifade edilmiştir.

3.7.6.2 Oksidatif Stres İndeksinin (OSİ) Hesaplanması

TAS ve TOS ölçümleri yapıldıktan sonra, oksidan ve antioksidan dengeye ilişkin daha net yorum yapılmasına olanak veren oksidatif stres indeksi (OSİ) kit (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye) kataloğunda belirtilen aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$OSI = [(TOS, \mu\text{mol/L}) / (TAS, (\text{mmolTroloxEquiv/L}) \times 100)]$$

3.8 Beta Hücre Fonksiyonunun Değerlendirilmesi (HOMA-β = Homeostasis Model Assesment Beta Cell Function)

Çalışma sonunda belirlenen açlık kan glukozu ve insülin seviyeleri kullanılarak Matthews ve ark. (1985)'nin belirttiği şekilde aşağıda verilen formül kullanılarak HOMA-β indeksi değerleri hesaplanmıştır.

$$HOMA-\beta = [20 \times \text{açlık insülin seviyesi (mU/l)}] / [\text{açlık glukoz seviyesi (mmol/L)} - 3,5]$$

3.9 İnsülin Direncinin Değerlendirilmesi (HOMA-IR = Homeostasis Model Assesment İnsülin Resistan)

İnsülin direnci indeksi (HOMA-IR), çalışma sonunda belirlenen açlık plazma glukoz ve insülin seviyeleri kullanılarak Matthews ve ark. (1985)'nin belirttiği ve aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır.

$$HOMA-IR = [\text{Açlık insülin seviyesi (mU/l)} \times \text{açlık glukoz seviyesi (mmol/L)}] / 22,5$$

3.10 İstatistiksel Analizler

Elde edilen bulguların istatistik hesaplamaları, SPSS 18.0 paket programı kullanılarak yapılmış, çalışmada elde edilen veriler "ortalama ± standart sapma" olarak ifade edilmiştir (X ± SD). Gruplara öncelikli olarak normalite testi uygulanmış, tüm verilerin

normal dağılımlı oldukları tespit edilmiştir. Bu bağlamda normal dağılımlı oldukları anlaşılan verilere parametrik testlerden varyans analizi ANOVA testi uygulanarak istatistiksel ilişki belirlenmiştir.

4. BULGULAR

Materyal ve metot bölümünde belirtilen yöntemlerle deneysel tip 2 diyabet başarıyla oluşturulmuş ve daha sonrasında belirtilen tedavi protokolleri uygulanmıştır. Çalışmanın bitirilmesiyle deney hayvanlarından elde edilen plazma ve dokularda laboratuvar analizleri yapılmış ve sonuçların istatistiki analizleri yapılmıştır. Çalışmadan elde edilen bulgular aşağıda özetlenmiştir.

Çalışmadan elde edilen veriler değerlendirirken önce kontrol grubu ile HFD grubu, sonrasında HFD ile DYB grubu ve HFD - safranal grubu, en son olarak ise DYB grubu ile DYB - safranal grubu kıyaslanarak değerlendirme yoluna gidildi. Kontrol grubu ile HFD grubu arasındaki değerlendirme sonuçları ve HFD grubu ile DYB grubu arasında yapılan değerlendirme sonuçları, çalışmada oluşturulan deneysel tip 2 diyabet modelinin doğrulanabilmesi amacıyla kullanıldı. Gruplar arasındaki diğer kıyaslamalar ise safranal tedavisinin çalışma boyunca HFD ile beslenen ve diyabet oluşturulan ratlara olası etkilerinin belirlenebilmesi için yapıldı.

4.1 Ratların Canlı Ağırlık Sonuçları

Deney hayvanlarının laboratuvar ortamına uyum sağladıktan sonra aralıksız her hafta ağırlıkları ölçülerek belirlenmiştir. Yalnız istatistiki analizlerin daha anlamlı ve anlaşılır bir şekilde olması için ratların 2 hafta aralıklarla ölçülen değerleri kullanılmıştır. Çalışma süresince ratlara ait değişimleri ve istatistiki analizleri Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çalışmanın başlangıcında rastgele oluşturulan gruplarda bulunan ratların ortalama ağırlıkları karşılaştırıldığında aralarında herhangi bir istatistiki farkın olmadığı görüldü. Çalışmanın 2. haftasında kontrol grubu ile HFD grubu arasında küçük bir farkın oluşmaya başladığı Çizelge 4.1'de görülmektedir. 4. haftada ise ratların haftalık ağırlık değişim verilerine bakıldığında Kontrol grubu ile diğer yüksek enerjili yağlı diyet (HFD) ile beslenen gruplar arasında istatistiki bir öneme sahip artışın olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.1 Ratlara ait canlı ağırlık değerleri.

| Gruplar | Ratların Haftalık Ağırlık (g) Ölçüm Zamanları | | | | | |
|------------|---|----------------------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| | 0. Hafta | 2. Hafta | 4. Hafta | 6. Hafta | 8. Hafta | 10. Hafta |
| KONTROL | 226,3 ± 17,1 | 226,3 ± 13,8 ^a | 233,7 ± 11,5 ^a | 237,4 ± 10,4 ^a | 243,0 ± 8,4 ^a | 249,7 ± 9,4 ^a |
| HFD | 226,3 ± 14,6 | 245,5 ± 15,1 ^b | 263,5 ± 14,7 ^b | 283,7 ± 14,9 ^c | 300,0 ± 17,9 ^c | 310,4 ± 22,9 ^c |
| DYB | 225,5 ± 13,3 | 242,4 ± 14,8 ^{ab} | 253,5 ± 14,5 ^b | 267,1 ± 15,8 ^{b,c} | 281,6 ± 15,5 ^b | 286,1 ± 22,1 ^b |
| DYB – Saf. | 220,5 ± 17,7 | 240,8 ± 16,8 ^{ab} | 251,0 ± 12,7 ^b | 265,6 ± 18,6 ^b | 280,8 ± 17,4 ^b | 288,0 ± 15,8 ^b |
| HFD – Saf. | 223,6 ± 13,8 | 238,12 ± 16,6 ^a | 254,9 ± 14,9 ^b | 272,0 ± 17,1 ^{b,c} | 289,4 ± 15,3 ^{b,c} | 306,1 ± 11,5 ^c |
| P | 0,936 | 0,146 | 0,003 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |

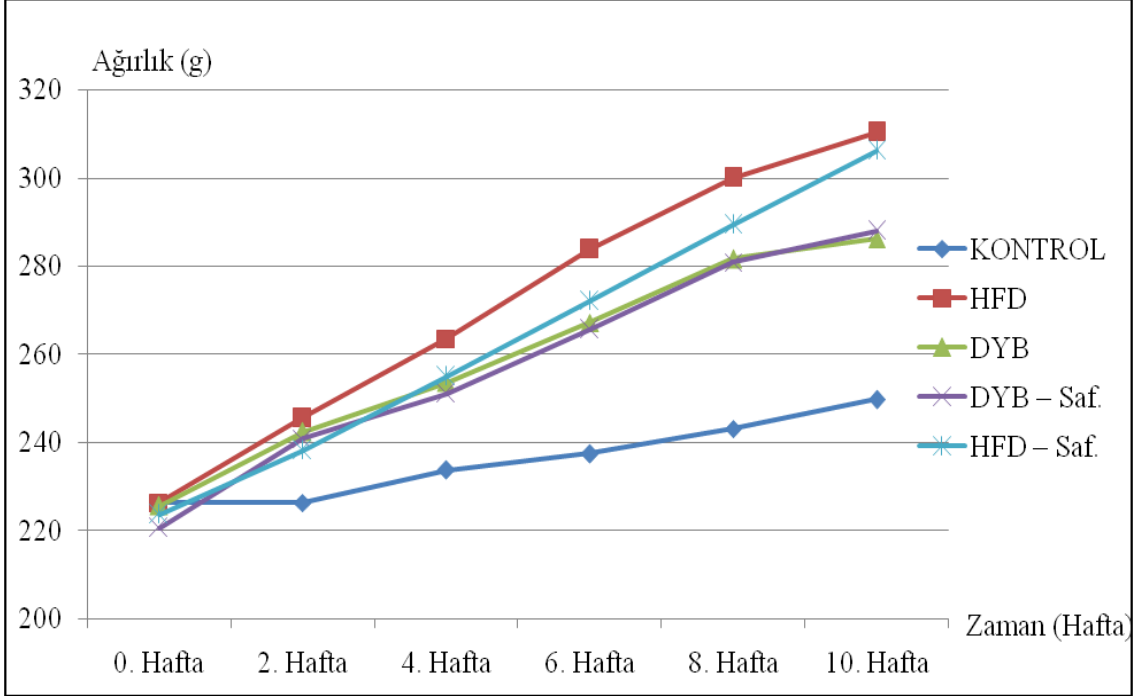
^{a,b,c} :Aynı sütunda farklı üslü ifadeleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark İstatiksel olarak önemlidir (p < 0,05). HFD; Sadece yüksek yağlı diyet uygulanan grubu, DYB; HFD uygulanan ve STZ injeksiyonu ile diyabet oluşturulan grubu, DYB-Saf; Diyabet oluşturulduktan sonra safranal tedavisi uygulanan grubu, HFD-Saf; Sadece yağlı diyet verilen ratlara tedavi edici olarak Safranal uygulanan grubu ifade etmektedir.

Deneysel tip 2 diyabet modeli oluşturulduktan sonra yani 4. Haftadan sonraki haftalarda da kontrol grubunda bulunan ratlara ait ağırlıkların diğer gruplara göre istatistiki olarak farklı ve daha az olduğu görülmektedir. Çalışmanın 8. haftasında DYB grupları (DYB ve DYB-Safranal) arasında yine önemli bir farkın oluşmadığı HFD gruplarında ise HFD-Safranal grubunun HFD grubuna göre daha az yükseliş gösterdiği görülmektedir. Kontrol grubu ile diğer gruplar arasındaki istatistiki olarak farkın devam ettiğini de söyleyebiliriz.

Çalışmanın son haftasına (10. hafta) gelindiğinde ise, net olarak görünen Kontrol grubunun diğer gruplara karşılaştırıldığında daha düşük ve istatiksel olarak farklı olduğu görülmektedir (Çizelge 4.1) . HFD uygulanan ama diyabet oluşturulmayan grupların (HFD ve HFD-Saf. grupları) ağırlık değişimlerinde diğer gruplardan istatistiki olarak farklıdır. Bu ayrışma diyabetik gruplarla diğer gruplar arasında da görülmektedir. Diyabetik gruplarda (DYB ve DYB saf. grupları) bulunan ratlara ait çalışma sonu (10. haftada) ağırlıklarına bakıldığında, diğer gruplardan istatistiki öneme sahip bir farkla ayrıldığı görülmektedir. Bununla beraber diyabet (DYB) grubuyla, tedavi uygulanan diyabet grubu arasında (DYB-Saf) herhangi bir istatistiki fark görülmemektedir.

Çalışma süresince gruplara göre ratlarda görülen ağırlık değişimleri kısaca özetlenirse, en az ağırlık artışı kontrol grubu ratlarında gözlenirken, en yüksek ağırlık artışı HFD uygulanan ama diyabet oluşturulmayan çalışma gruplarında (HFD ve HFD-Saf. grupları) gözlenmiştir. Beta hücre disfonksiyonu oluşturabilmek amacıyla yapılan STZ

injeksiyonunun ise diyabetik çalışma gruplarında (DYB ve DYB saf. grupları) ağırlık artış düzeyini düşürdüğü anlaşılmaktadır.



Şekil 4.1. Haftalara göre ratların canlı ağırlık değişimleri (HFD; Sadece yüksek yağlı diyet uygulanan grubu, DYB; HFD uygulanan ve STZ injeksiyonu ile diyabet oluşturulan grubu, DYB-Saf; Diyabet oluşturulduktan sonra safranal tedavisi uygulanan grubu, HFD-Saf; Sadece yağlı diyet verilen ratlara tedavi edici olarak Safranal uygulanan grubu ifade etmektedir).

4.2 Çalışma Boyunca Belirlenen Kan Glukoz Düzeyleri

Çalışmanın başlangıcında tüm grupların açlık glukoz değerleri arasında hiçbir farkın oluşmadığı Çizelge 4.2’de görülmektedir. Kontrol grubu dışındaki diğer gruplara HFD uygulaması sonucunda 2. hafta ratların açlık kan glukoz verileri incelendiğinde, Kontrol grubu ile HFD-Saf. ve DYB grupları arasında istatistiki bir fark oluşmadığı görülmektedir. Bununla beraber Kontrol grubu ile DYB-Saf. ve HFD grupları arasında ise önemli bir farkın oluşmadığı görüldü.

STZ injeksiyonu sonrası 4. haftada ve sonraki haftalarda yapılan ölçümlerde Kontrol grubu, HFD ve HFD-Saf. grupları arasında fark bulunmazken, DYB grupları ile diğer gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edildi.

Çizelge 4.2 Ratların açlık kan glukoz düzeyleri

| Gruplar | Glukoz (mg/dl) | | | | | |
|------------|----------------|-----------------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | 0. Hafta | 2. Hafta | 4. Hafta | 6. Hafta | 8. Hafta | 10. Hafta |
| KONTROL | 114,1 ± 15,7 | 109,7 ± 9,56 ^a | 108,4 ± 9,6 ^a | 107,4 ± 10,7 ^a | 111,4 ± 12,1 ^a | 114,6 ± 11,5 ^a |
| HFD | 109,4 ± 10,3 | 115,3 ± 7,65 ^{a,b} | 121,2 ± 11,4 ^a | 138,1 ± 11,7 ^b | 132,6 ± 15,1 ^a | 155,6 ± 12,4 ^b |
| DYB | 108,4 ± 8,8 | 122,8 ± 12,0 ^b | 365,6 ± 44,3 ^b | 340,7 ± 36,8 ^c | 329,9 ± 34,2 ^c | 332,4 ± 37,9 ^d |
| DYB – Saf. | 111,0 ± 9,7 | 119,1 ± 10,7 ^{a,b} | 368,3 ± 46,6 ^b | 336,6 ± 27,3 ^c | 283,1 ± 24,6 ^b | 233,2 ± 25,7 ^c |
| HFD – Saf. | 111,4 ± 11,5 | 124,4 ± 13,1 ^b | 119,1 ± 16,5 ^a | 129,1 ± 13,8 ^{a,b} | 116,6 ± 12,4 ^a | 120,1 ± 9,5 ^a |
| P | 0,890 | 0,101 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |

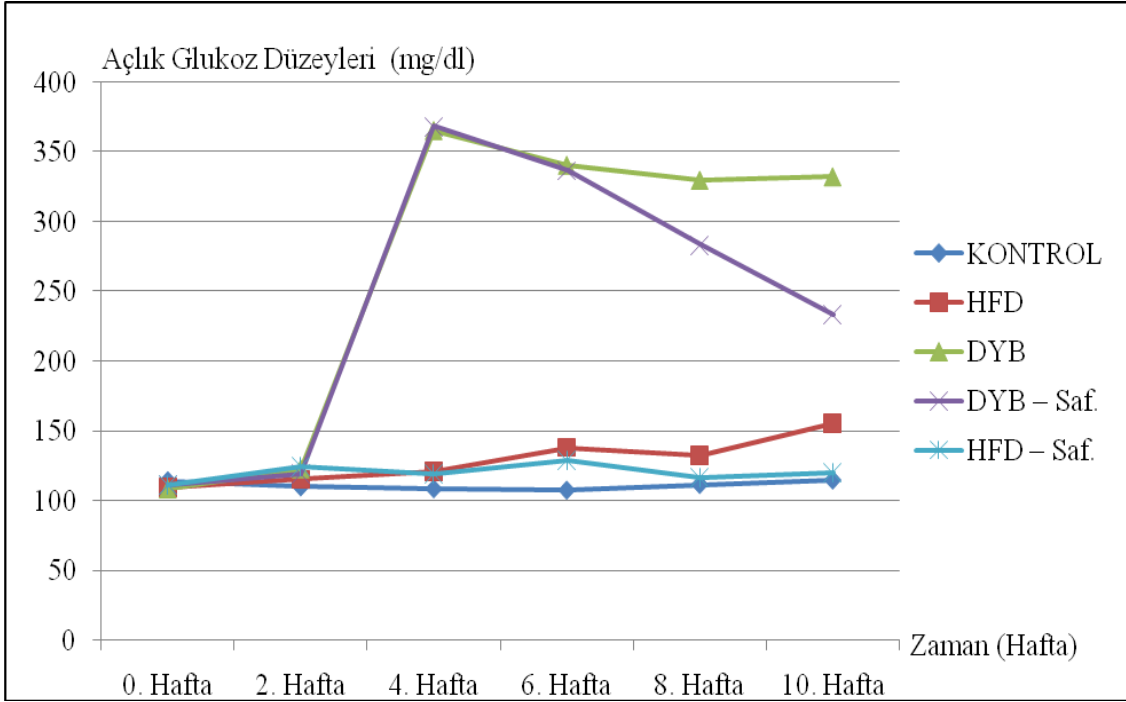
^{a,b,c,d}: Aynı sütunda farklı üslü ifadeleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark İstatiksel olarak önemlidir (p < 0,05). HFD; Sadece yüksek yağlı diyet uygulanan grubu, DYB; HFD uygulanan ve STZ injeksiyonu ile diyabet oluşturulan grubu, DYB-Saf; Diyabet oluşturulduktan sonra safranal tedavisi uygulanan grubu, HFD-Saf; Sadece yağlı diyet verilen ratlara tedavi edici olarak Safranal uygulanan grubu ifade etmektedir.

Çalışmanın 6. haftasında kontrol grubu ile diğer grupların (HFD-Saf. haricinde) açlık kan glukoz seviyelerinin farklı olduğu Çizelge 4.2’de gösterilmiştir. Aralarında fark bulunmayan HFD ve HFD-Saf. ile aynı şekilde fark saptanmayan DYB grupları aralarında İstatiksel anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bununla birlikte Kontrol grubu verilerinin tüm gruplarda küçük ve istatistiki olarak farklı olduğu belirlenmiştir. Diyabet gruplarının açlık glukoz seviyelerinin de tüm gruplarda yüksek ve istatistiki olarak farklı olduğu görülmüştür.

8. hafta açlık kan glukoz seviyelerine gelindiğinde Kontrol, HFD ve HFD-Saf. aralarında bir farkın oluşmadığı anlaşılmaktadır. Diyabetik grupların glukoz düzeyleri incelendiğinde ise hem kendi aralarında hemde diğer grupların açlık glukoz seviyeleri arasında önemli bir fark olduğu görülmektedir.

Son hafta açlık glukoz düzeyleri incelendiğinde ise kontrol grubu ile HFD grubu arasında ise istatistiki bir farkın olduğu, HFD uygulamalarının açlık kan glukoz seviyelerini artırdığı görülmektedir. Bununla birlikte kontrol grubu ile HFD-Safranal grupları glukoz seviyelerinin birbirine yakın olduğu bu nedenle istatistiki olarak bir farkın görülmediği söylenebilir. Bu verilerden safranalın HFD uygulaması sonucu artan glukoz seviyelerini düşürmede etkili olabileceği anlaşılmaktadır. Diyabetik grupların açlık glukoz düzeyleri kıyaslandığında ise, diyabet grubuna (DYB) göre tedavi uygulanan gruba (DYB-saf.) ait glukoz seviyelerinin istatistiki düzeyde anlamlı ve daha

düşük olduğu görülmektedir (Çizelge 4.2). Başka bir ifade ile diyabet oluşturulan ratlarda 6 haftalık safranal tedavisinin plazma glukoz seviyelerini 368,3 mg/dl'den 233,2 mg/dl'ye düşürdüğü belirlenmiştir. Bu veriler ışığında; diyabetik ratlarda safranalın kan glukoz seviyelerini yaklaşık % 30 düzeyinde düşürmektedir, şeklinde özetlenebilir.



Şekil 4.2. Ratların açlık kan glukoz düzeyleri (HFD; Sadece yüksek yağlı diyet uygulanan grubu, DYB; HFD uygulanan ve STZ injeksiyonu ile diyabet oluşturulan grubu, DYB-Saf; Diyabet oluşturulduktan sonra safranal tedavisi uygulanan grubu, HFD-Saf; Sadece yağlı diyet verilen ratlara tedavi edici olarak Safranal uygulanan grubu ifade etmektedir).

Ayrıca Çizelge 4.2 kısaca değerlendirilecek olursa, çalışma süresince kontrol grubu glukoz düzeyleri önemli bir değişiklik göstermediği, HFD grubunda periyodik olarak artış olduğu, STZ uygulaması ile tip 2 diyabet oluşturulan ratlarda (4. hafta ve sonrası) diyabet gruplarının glukoz düzeylerinin en üst düzeyde olduğu ve sonrasında dengelendiği (şekil 4.2) görülmüştür.

4.3 İnsülin Seviyeleri

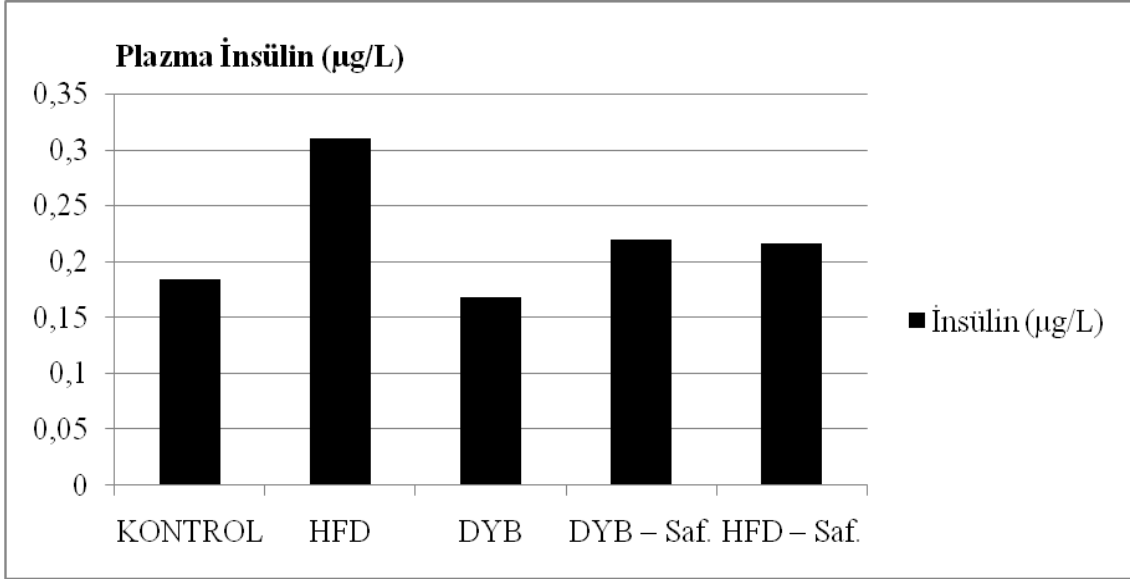
Ratlardan elde edilen serum insülin seviyelerine bakılmış ve elde edilen veriler aşağıda Çizelge 4.3'te özetlenmiştir. İnsülin seviyeleri kontrol grubunda 0,1841 µg/L, HFD grubunda 0,3096 µg/L, DYB grubunda 0,1685 µg/L, tedavi grubu olan DYB-Safranal grubunda 0,2197 µg/L ve HFD-Safranal grubunda ise 0,2157 µg/L olduğu ölçülmüştür. Bu verilere bakıldığında DYB grubu insülin seviyelerinin en düşük, HFD grubu insülin seviyelerinin ise en yüksek olduğu anlaşılmaktadır. HFD uygulanan ama diyabet oluşturulmayan grupların insülin seviyeleri incelendiğinde (HFD ve HFD-Safranal grupları), HFD grubu insülin seviyelerinin tüm gruplardan istatistiki düzeyde farklı ve yüksek olduğu, HFD-safranal grubu insülin seviyelerinin ise daha düşük olduğu anlaşılmaktadır. Bu veriler safranalın yağlı diyet uygulanan gruplarda insülin düzeylerini düşürdüğü söylenebilir.

Çizelge 4.3 Serum insülin seviye indeksleri.

| Gruplar | İnsülin (µg/L) |
|------------|-------------------------------|
| KONTROL | 0,1841 ± 0,018 ^{a,b} |
| HFD | 0,3096 ± 0,0055 ^c |
| DYB | 0,1685 ± 0,018 ^a |
| DYB – Saf. | 0,2197 ± 0,036 ^b |
| HFD – Saf. | 0,2157 ± 0,024 ^b |
| P | 0,000 |

^{a,b,c,d}: Aynı sütunda farklı üslü ifadeleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark İstatiksel olarak önemlidir (p < 0,05). HFD; Sadece yüksek yağlı diyet uygulanan grubu, DYB; HFD uygulanan ve STZ injeksiyonu ile diyabet oluşturulan grubu, DYB-Saf; Diyabet oluşturulduktan sonra safranal tedavisi uygulanan grubu, HFD-Saf; Sadece yağlı diyet verilen ratlara tedavi edici olarak Safranal uygulanan grubu ifade etmektedir.

Diyabetik grupların insülin seviyeleri incelendiğinde ise, hem DYB grubu hem de DYB-safranal grubu insülin seviyelerinin kontrol grubu insülin seviyelerinden farklı olmadığı anlaşılmaktadır. Fakat DYB grubu insülin verileri (0,1685 µg/L) ile DYB-safranal grubu insülin düzeyleri (0,2197 µg/L) kıyaslandığı ise aralarında istatistiki bir farkın olduğu anlaşılmaktadır. Bu veriler safranalın diyabetik ratlarda insülin düzeylerini artırdığını göstermektedir.



Şekil 4.3. Ratlara ait plazma insülin düzeyleri (HFD; Sadece yüksek yağlı diyet uygulanan grubu, DYB; HFD uygulanan ve STZ enjeksiyonu ile diyabet oluşturulan grubu, DYB-Saf; Diyabet oluşturulduktan sonra safranal tedavisi uygulanan grubu, HFD-Saf; Sadece yağlı diyet verilen ratlara tedavi edici olarak Safranal uygulanan grubu ifade etmektedir).

4.4 HOMA - β (Pankreatik Beta Hücre Fonksiyonu) ve HOMA - IR (İnsülin Direnci) İndekslerinin Değerlendirilmesi

Pankreatik beta hücre fonksiyonu ile insülin direnci açlık glukoz ve insülin düzeyleri kullanılarak hesaplandı. Bulunan veriler aşağıda Çizelge 4.4 'te verilmiştir.

Bu veriler ışığında kontrol grubu ile DYB - safranal grubu HOMA - β indeksleri karşılaştırıldığında istatistikî bir fark bulunamamıştır. Kontrol grubu ile HFD grubu verileri karşılaştırıldığında ise HFD grubu HOMA - β verilerinin kontrol grubu verilerine göre daha yüksek ve istatistiki olarak farklı olduğu görülmektedir. Bu durum çalışmada kullanılan yağlı diyetin pankreatik beta hücre fonksiyonunu artırdığı şeklinde yorumlanabilir. Pankreatik beta hücre fonksiyonunun, çalışmanın 5. ve 6. haftalarında STZ enjeksiyonu ile tip 2 diyabet oluşturulan DYB grubunda en düşük ($0,0104 \pm 0,02$) olduğu görülmektedir (Çizelge 4.4). Bu değer diğer bütün gruplarda HOMA - β indeksi değerlerine göre istatistiki öneme sahip bir farklılık gösterdiği Çizelge 4.4'ten anlaşılmaktadır. DYB grubunda beta hücre fonksiyonunun bu kadar düşük çıkmasının

sebebi, STZ'nin beta hücrelerinde oluşturduğu toksikasyon sonucu şeklinde ifade edilebilir. HFD grubu ile HFD - safranal grubu HOMA - β verileri kıyaslandığında ise HFD - safranal grubu HOMA - β düzeylerinin istatistiki bir fark oluşturacak şekilde düşük çıktığı görülmektedir. Kısaca özetlemek gerekirse safranal, HFD uygulanan grupta (HFD - safranal grubu) HOMA - β indeksi değerlerini düşürürken diyabetik grupta (DYB - Safranal grubu) HOMA - β indeksi değerlerini artırdığı görülmektedir.

Çizelge 4.4 Beta hücre fonksiyonu ve insülin direnci indeksleri.

| Gruplar | HOMA - β | HOMA - IR |
|------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| KONTROL | 0,0302 \pm 0,0054 ^c | 1,03 \pm 0,06 ^a |
| HFD | 0,0412 \pm 0,0096 ^d | 2,13 \pm 0,32 ^c |
| DYB | 0,0104 \pm 0,0200 ^a | 2,47 \pm 0,19 ^d |
| DYB – Saf. | 0,0308 \pm 0,0065 ^c | 1,46 \pm 0,39 ^b |
| HFD – Saf. | 0,0190 \pm 0,00336 ^b | 2,23 \pm 0,31 ^{c,d} |
| P | 0,000 | 0,000 |

^{a,b,c,d}: Aynı sütunda farklı üslü ifadeleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark İstatiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$). HFD; Sadece yüksek yağlı diyet uygulanan grubu, DYB; HFD uygulanan ve STZ enjeksiyonu ile diyabet oluşturulan grubu, DYB-Saf; Diyabet oluşturulduktan sonra safranal tedavisi uygulanan grubu, HFD-Saf; Sadece yağlı diyet verilen ratlara tedavi edici olarak Safranal uygulanan grubu ifade etmektedir.

Literatürde insülin direncinin bir göstergesi olarak kullanılan HOMA – IR indeksleri karşılaştırıldığında ise sadece HFD uygulanan grupla HFD - safranal grubu arasında istatistiki bir fark bulunamamıştır. Kontrol grubu değerleri (1,03 \pm 0,06) ile HFD grubu (2,13 \pm 0,32) ve kontrol grubu ile DYB grubu (2,47 \pm 0,19) verileri karşılaştırıldığında ise bu iki grubun kontrol grubuna göre HOMA – IR değerlerinde yaklaşık 2 katı kadar bir artış olduğu Çizelge 4.4'te görülmektedir. Bu sonuçlar yapılan çalışmada uygulanan yüksek yağlı diyetle birlikte uygulanan STZ enjeksiyonu aracılığı ile tip 2 diyabetin başarılı bir şekilde oluştuğunu göstermektedir. Bununla birlikte DYB grubu ile DYB – safranal grubu HOMA – IR verilerine bakıldığında DYB – safranal grubunun daha düşük ve istatistiki bir farkın olduğu saptanmıştır. Bu veriler safranalın diyabetik grupta insülin direncini azalttığını göstermektedir.

4.5 Sitokin Düzeyleri

Ratlardan elde edilen plazma ve pankreas dokularında IFN- γ , IL- β , IL-6 ve TNF- α seviyeleri analiz edilmiş ve elde edilen veriler Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5 Plazma IFN - γ , IL - 1 β , IL - 6 ve TNF - α seviye indeksleri.

| Gruplar | IFN - γ (pg/mL) | IL - 1β (pg/mL) | IL - 6 (pg/mL) | TNF - α (pg/mL) |
|----------------|--|---|---------------------------------|--|
| KONTROL | 124, 9 \pm 13,7 ^a | 79,7 \pm 24,5 ^a | 24,55 \pm 3,90 ^a | 54,6 \pm 6,9 ^a |
| HFD | 141,3 \pm 22,9 ^{a,b} | 123,7 \pm 19,8 ^{b,c} | 26,27 \pm 2,19 ^a | 70,4 \pm 12,9 ^b |
| DYB | 153,4 \pm 22,7 ^{b,c} | 153,4 \pm 27,5 ^c | 27,76 \pm 3,07 ^a | 100,9 \pm 14,2 ^c |
| DYB – Saf. | 163,2 \pm 9,1 ^c | 97,9 \pm 33,6 ^{a,b} | 27,92 \pm 1,50 ^a | 70,3 \pm 9,7 ^b |
| HFD – Saf. | 165,61 \pm 19,1 ^c | 133,6 \pm 36,2 ^c | 33,91 \pm 7,26 ^b | 73,6 \pm 6,5 ^b |
| P | 0,000 | 0,001 | 0,003 | 0,000 |

^{a,b,c}: Aynı sütunda farklı üslü ifadeleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark İstatiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$). HFD; Sadece yüksek yağlı diyet uygulanan grubu, DYB; HFD uygulanan ve STZ injeksiyonu ile diyabet oluşturulan grubu, DYB-Saf; Diyabet oluşturulduktan sonra safranal tedavisi uygulanan grubu, HFD-Saf; Sadece yağlı diyet verilen ratlara tedavi edici olarak Safranal uygulanan grubu ifade etmektedir.

Plazma IFN- γ seviyelerine bakıldığında Kontrol grubu ile HFD grubu, HFD grubu ile DYB grubu ve DYB grubu ile DYB – Safranal grupları arasında istatistiksel anlamlı bir farkın olmadığı Çizelge 4.5'te görülmektedir. HFD grubu serum IFN- γ seviyeleri ile hem HFD –safranal grubu hem de DYB - safranal grubu verileri kıyaslandığında ise istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olduğu saptanmıştır. Tüm gruplara ait IFN- γ verileri kontrol grubuyla kıyaslandığımdaysa, DYB, DYB - Safranal ve HFD - Safranal gruplarının kontrol grubuna göre istatistiki olarak farklı olduğu anlaşılmaktadır.

Plazmada analizi yapılan sitokinlerden bir diğeri olan IL-1 β seviyeleri incelendiğinde Kontrol grubu (79,7 \pm 24,5) ile HFD grubu (123,7 \pm 19,8) verileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu, HFD uygulamasının IL-1 β seviyelerini artırdığı bulunmuştur. Benzer istatistiksel anlamlı farkın DYB ile DYB – saf. grupları arasında da olduğu görülmektedir. HFD ile DYB grubu ve HFD ile HFD – saf. grupları arasında ise Çizelge 4.5 incelendiğinde istatistiksel bir farkın olmadığı anlaşılmıştır. Bu veriler

ışığında safranal uygulanması diyabetik ratlarda serum IL-1 β seviyelerini düşürürken, sadece HFD uygulanan grupta herhangi bir etki göstermemiştir.

IL-6 seviyelerine bakıldığında HFD – safranal grubu dışında diğer gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olmadığı görülmektedir. HFD – Safranal grubu verilerinin diğer gruplara göre daha yüksek ve istatistiksel düzeyde anlamlı olduğu belirlenmiştir.

Ratlardan elde edilen pankreas IFN- γ , IL-1 β , IL-6, TNF- α seviyelerine bakılmış ve elde edilen veriler aşağıda Çizelge 4.6’te verilmiştir.

Çizelge 4.6 Pankreas IFN - γ , IL - 1 β , IL - 6, TNF - α seviyeleri.

| Gruplar | IFN - γ (pg/mg-protein) | IL - 1β (pg/mg-protein) | IL - 6 (pg/mg-protein) | TNF - α (pg/mg-protein) |
|----------------|---|--|----------------------------------|---|
| KONTROL | 49,4 \pm 4,2 ^a | 25,5 \pm 2,7 ^a | 34,8 \pm 3,9 ^a | 24,3 \pm 3,6 ^a |
| HFD | 53,2 \pm 5,6 ^a | 24,9 \pm 1,8 ^a | 37,5 \pm 1,1 ^a | 38,8 \pm 4,1 ^{c,a} |
| DYB | 65,1 \pm 6,7 ^b | 29,2 \pm 1,7 ^b | 38,8 \pm 3,9 ^a | 47,9 \pm 3,5 ^d |
| DYB – Saf. | 50,4 \pm 3,8 ^a | 25,0 \pm 3,7 ^a | 43,3 \pm 4,3 ^b | 28,8 \pm 3,4 ^b |
| HFD – Saf. | 48,6 \pm 7,7 ^a | 28,4 \pm 1,6 ^a | 55,7 \pm 5,7 ^c | 39,4 \pm 4,7 ^c |
| P | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |

^{a,b,c,d} :Aynı sütunda farklı üslü ifadeleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark İstatistiksel olarak önemlidir (p < 0,05). HFD; Sadece yüksek yağlı diyet uygulanan grubu, DYB; HFD uygulanan ve STZ injeksiyonu ile diyabet oluşturulan grubu, DYB-Saf; Diyabet oluşturulduktan sonra safranal tedavisi uygulanan grubu, HFD-Saf; Sadece yağlı diyet verilen ratlara tedavi edici olarak Safranal uygulanan grubu ifade etmektedir.

IFN- γ düzeyleri kıyaslandığında DYB grubu dışında kalan tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkisi yoktur. DYB grubu IFN- γ değerleri ile diğer grupların verileri arasında istatistiksel düzeyde bir fark olduğu anlaşılmaktadır. Kısacası en yüksek IFN- γ seviyeleri (65 \pm 6,7) DYB grubu pankreas dokusunda ölçülmüş olup, safranal uygulaması sonucunda diyabetik ratlarda (DYB-Safranal grubu) IFN- γ seviyelerinin düştüğü görülmektedir.

Pankreas dokusu IL-1 β düzeyleri incelendiğinde ise DYB grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir farkın olduğu görülmektedir. Kalan diğer gruplar (Kontrol, HFD, DYB – Safranal ve HFD – Safranal) arasında ise istatistiksel bir farkın olmadığı Çizelge 4.6’da gösterilmektedir. Diyabetik grupta (DYB grubu) IL-1 β seviyelerinin en yüksek olduğu, diyabetik ratlara safranal uygulanması sonucunda ise yükselmiş olan IL-1 β seviyelerinin düştüğü anlaşılmaktadır.

Pankreas dokusunda IL-6 seviyelerine bakıldığında Kontrol grubu ile hem HFD grubu hem de DYB grubu arasında istatistiksel öneme sahip bir farkın olmadığı görülmüştür. DYB ile DYB – Safranal grupları karşılaştırıldığında, DYB-Safranal grubu verilerinin DYB verilerine göre daha yüksek çıktığı görülmektedir. Bu veriler diyabetik ratlarda safranalın IL-6 seviyelerini artırdığını göstermektedir. Nitekim HFD grubu ile HFD-Safranal grubu verileri kıyaslandığında da safranal uygulanan grubun IL-6 seviyelerinin istatistiksel olarak farklı ve daha yüksek olduğu, safranalın IL-6 seviyelerini artırıcı bir rol oynadığının göstergesidir.

TNF- α seviyeleri analiz edilirse, Kontrol grubu ile HFD grubu ve HFD ile HFD – Safranal grupları arasında önemli istatistiksel bir farkın olmadığı görülmektedir. Bununla birlikte diyabetik grupların verileri incelenirse, hem diyabetik grupların kendi aralarında, hem de diğer gruplara göre istatistiksel olarak farklı TNF- α düzeylerine sahip olduğu anlaşılmaktadır. Bu veriler ışığında diyabetik grupta safranalın TNF- α seviyelerini düşürdüğü, fakat sadece HFD uygulanan ratlara safranal verildiğinde ise TNF- α seviyelerini etkilemediği söylenebilir.

4.6 Plazma TAS ve TOS Düzeyleri

Ratlardan elde edilen plazma ve pankreas dokusunda Total Antioksidan Seviyeleri (TAS), Total Oksidan Seviyeleri (TOS) analiz edilmiş ve elde edilen TAS ve TOS seviyeleri kullanılarak Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) düzeyleri hesaplanmıştır. Plazma TAS, TOS ve OSİ düzeyleri Çizelge 4.7’de özetlenmiştir.

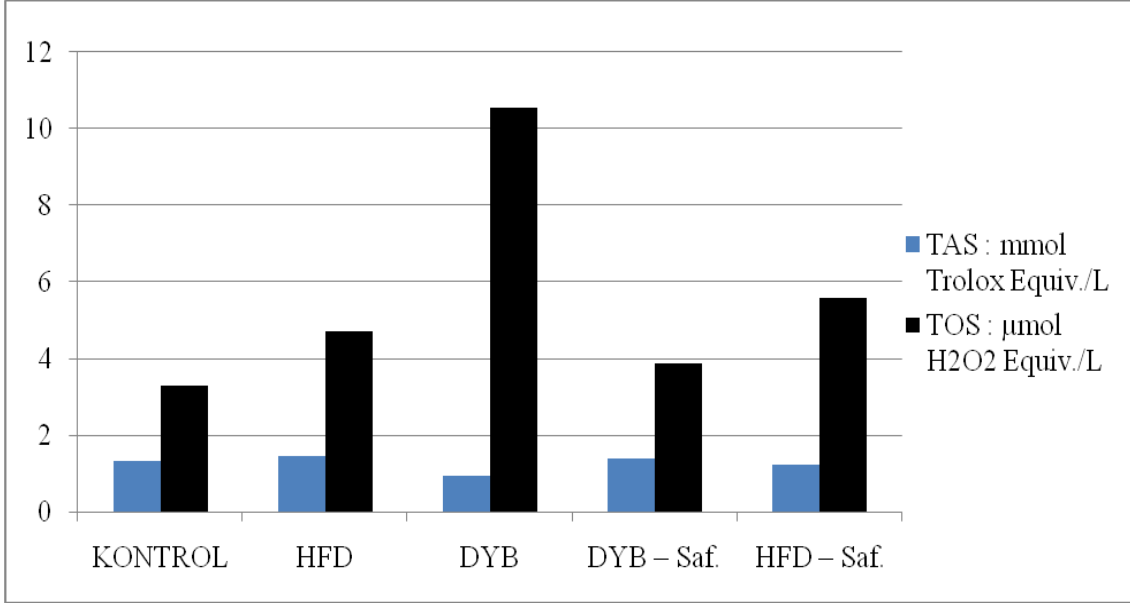
Plazma total antioksidan seviyeleri değerlendirildiğinde kontrol, HFD ve DYB-safranal grupları arasında herhangi bir fark olmadığı görülmektedir. HFD (1,46±0,22) grubu ile HFD-safranal grubu (1,23±0,26) karşılaştırıldığında ise safranal tedavisi uygulanan HFD grubu TAS düzeylerinin daha düşük ve istatistiki açıdan farklı olduğu anlaşılmaktadır. Bununla beraber DYB grubu ile DYB-safranal grupları kendi aralarında kıyaslandığında, DYB-safranal TAS seviyelerinin istatistiki olarak farklı ve daha yüksek olduğu söylenebilir. Bu sonuçlar safranalın, HFD ile beslenen ratlarda antioksidan sistemi desteklemediğini, buna karşın diyabetik ratlarda antioksidan sistemi olumlu yönde etkilediğini göstermektedir.

Çizelge 4.7 Plazma TAS, TOS ve OSI düzeyleri

| Gruplar | TAS | TOS | OSİ |
|------------|----------------------------|---|-----------------------------|
| | mmol Trolox Equiv./L | µmol H ₂ O ₂ Equiv./L | |
| KONTROL | 1,33 ± 0,11 ^{b,c} | 3,28 ± 0,31 ^a | 248,7 ± 31,2 ^a |
| HFD | 1,46 ± 0,22 ^c | 4,71 ± 0,64 ^b | 325,8 ± 56,6 ^a |
| DYB | 0,95 ± 0,17 ^a | 10,56 ± 0,95 ^d | 1135,4 ± 228,9 ^c |
| DYB – Saf. | 1,38 ± 0,28 ^{b,c} | 3,87 ± 0,52 ^a | 293,7 ± 64,2 ^a |
| HFD – Saf. | 1,23 ± 0,26 ^b | 5,59 ± 0,76 ^c | 481,3 ± 138,6 ^b |
| P | 0,001 | 0,000 | 0,000 |

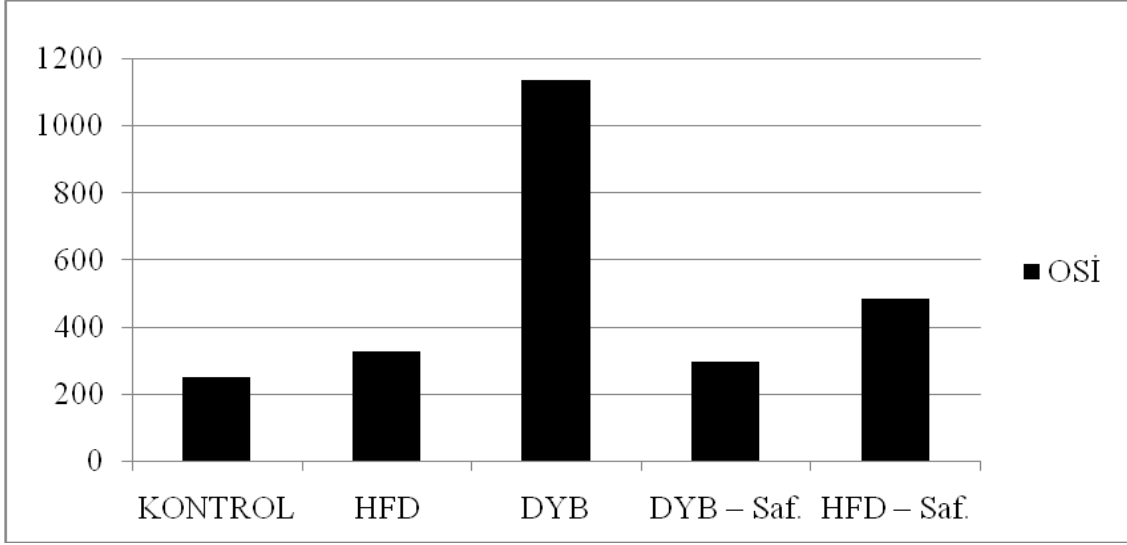
^{a,b,c,d} : Aynı sütunda farklı üslü ifadeleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark İstatiksel olarak önemlidir (p < 0,05). HFD; Sadece yüksek yağlı diyet uygulanan grubu, DYB; HFD uygulanan ve STZ injeksiyonu ile diyabet oluşturulan grubu, DYB-Saf; Diyabet oluşturulduktan sonra safranal tedavisi uygulanan grubu, HFD-Saf; Sadece yağlı diyet verilen ratlara tedavi edici olarak Safranal uygulanan grubu ifade etmektedir.

Plazma total oksidan seviyelerine bakıldığında kontrol grubuna göre HFD grubunda istatistiki öneme sahip bir yükselişin olduğu görülmektedir. HFD grubu ile HFD-safranal grubu kıyaslandığında ise TOS seviyelerinin HFD-safranal grubunda daha da arttığını, bu nedenle HFD ile beslenen ratlarda safranalın oksidatif stresi artırmış olabileceğini göstermektedir. Diyabetik ratların bulunduğu çalışma grupları karşılaştırıldığında, DYB grubu (10,56±0,95) TOS seviyelerinin, hem DYB-safranal grubu TOS seviyelerinden hem de diğer çalışma gruplarına ait verilerden daha yüksek ve istatistiki olarak farklı olduğu Çizelge 4.7’de sunulmuştur.



Şekil 4.4. Plazma TAS ve TOS düzeyleri (HFD; Sadece yüksek yağlı diyet uygulanan grubu, DYB; HFD uygulanan ve STZ injeksiyonu ile diyabet oluşturulan grubu, DYB-Saf; Diyabet oluşturulduktan sonra safranal tedavisi uygulanan grubu, HFD-Saf; Sadece yağlı diyet verilen ratlara tedavi edici olarak Safranal uygulanan grubu ifade etmektedir).

Çalışma gruplarına ait oksidatif stres indeksi verileri kıyaslandığında, istatistiki açıdan farklı en yüksek verinin DYB grubunda olduğu, bu nedenle DYB grubunda oluşan oksidatif stresin diğer gruplar oranla çok daha yüksek olduğu söylenebilir. Diyabet tedavi grubu olarak düzenlenen DYB-safranal grubu OSI verileri incelendiğinde ise safranalın diyabetik ratlarda oksidatif stresi azalttığı ifade edilebilir. Çünkü DYB-safranal grubu verileri, DYB grubu OSI değerlerine göre düşük ve istatistiki düzeyde farklılık oluşturmaktadır. Bununla beraber safranal diyabet oluşturulmamış olan HFD gruplarında oksidatif stresi artırmaktadır. Nitekim HFD grubu ($325,8 \pm 56,6$) ile HFD-safranal grubu verileri ($481,3 \pm 138,6$) karşılaştırıldığında, HFD-safranal OSI değerlerinin HFD grubu verilerine göre daha yüksek çıktığı görülmektedir.



Şekil 4.5. Plazma OSİ düzeyleri (HFD; Sadece yüksek yağlı diyet uygulanan grubu, DYB; HFD uygulanan ve STZ injeksiyonu ile diyabet oluşturulan grubu, DYB-Saf; Diyabet oluşturulduktan sonra safranal tedavisi uygulanan grubu, HFD-Saf; Sadece yağlı diyet verilen ratlara tedavi edici olarak Safranal uygulanan grubu ifade etmektedir).

Kısacası, plazmada oksidatif stres parametresi olarak analizi yapılan verilerden (TAS, TOS ve OSI) DYB grubunda oksidatif stresin en yüksek olduğu, safranalın diyabetik ratlarda oksidatif stresi azaltırken, HFD grubu ratlarında oksidatif stresi artırdığı belirlenmiştir.

4.7 Pankreas TAS ve TOS Düzeyleri

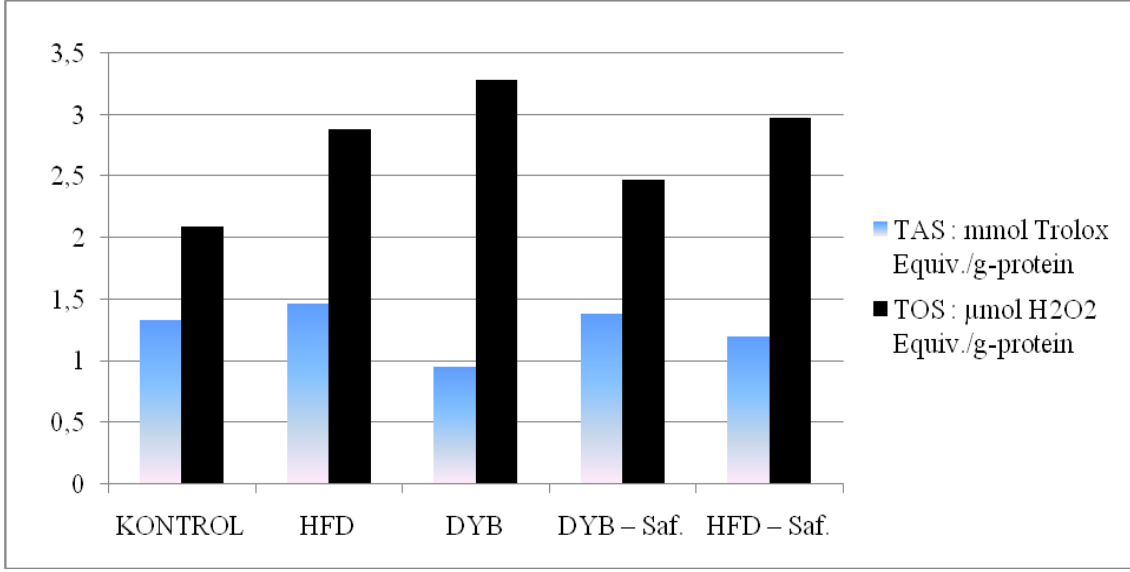
Pankreas dokusunda total antioksidan düzeyleri değerlendirildiğinde Kontrol, HFD ve DYB – safranal grupları arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunamamıştır. HFD ile HFD – safranal grubu karşılaştırıldığında ise safranal uygulanan grubunun TAS düzeylerinin daha düşük ve anlamlı bir farkın olduğu görülmektedir. DYB oluşturulmuş grup ile safranal tedavisi uygulanan DYB grubu seviyelerine bakıldığında artış olduğu belirlenmiş ve artışın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu görülmüştür. Bu sonuçların ışığında plazma TAS sonuçları ile paralellik göstererek HFD ile beslenen ratlarda antioksidan dengeyi destekleyici olmadığı, ama öte yandan diyabetik ratlarda pozitif yönde etkilediği görülmektedir.

Çizelge 4.8 Pankreas dokusunda TAS, TOS ve OSI düzeyleri

| Gruplar | TAS | TOS | OSİ |
|------------|---------------------------------|--|-----------------------------|
| | mmol Trolox Equiv./g-protein | µmol H ₂ O ₂ Equiv./g-protein | |
| KONTROL | 1,39 ± 0,07 ^{b,c} | 2,09 ± 0,30 ^a | 584,9 ± 141,8 ^a |
| HFD | 1,56 ± 0,16 ^c | 2,88 ± 0,24 ^c | 1004,9 ± 265,7 ^c |
| DYB | 1,03 ± 0,15 ^a | 3,28 ± 0,19 ^d | 1346,6 ± 166,9 ^d |
| DYB – Saf. | 1,43 ± 0,24 ^{b,c} | 2,47 ± 0,24 ^b | 780,8 ± 101,7 ^b |
| HFD – Saf. | 1,30 ± 0,008 ^b | 2,98 ± 0,23 ^c | 868,5 ± 79,3 ^{b,c} |
| P | 0,000 | 0,000 | 0,000 |

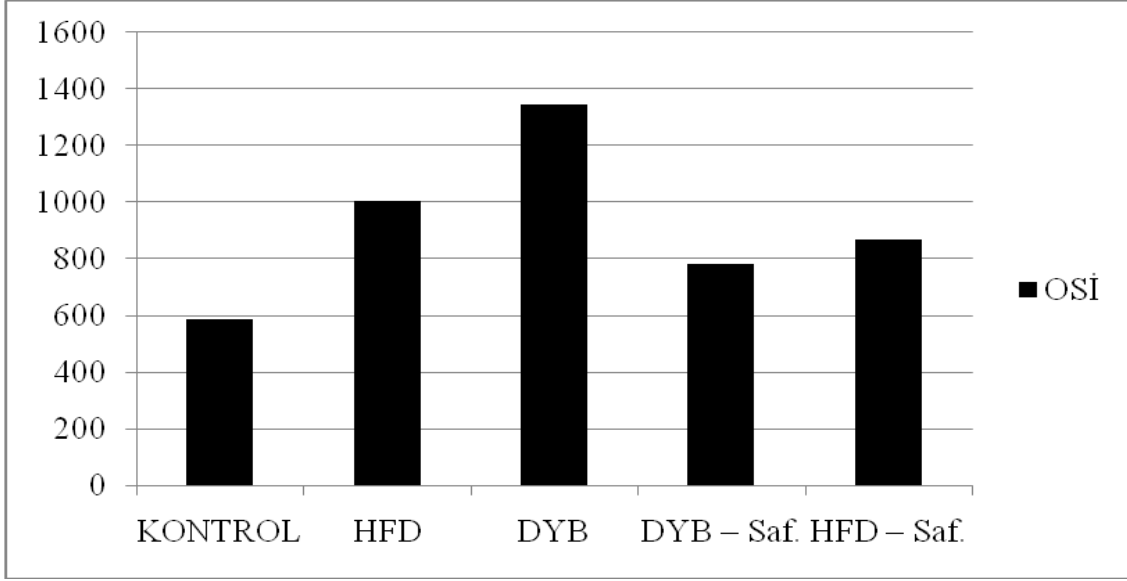
^{a,b,c,d}: Aynı sütunda farklı üslü ifadeleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark İstatiksel olarak önemlidir (p < 0,05). HFD; Sadece yüksek yağlı diyet uygulanan grubu, DYB; HFD uygulanan ve STZ injeksiyonu ile diyabet oluşturulan grubu, DYB-Saf; Diyabet oluşturulduktan sonra safranal tedavisi uygulanan grubu, HFD-Saf; Sadece yağlı diyet verilen ratlara tedavi edici olarak Safranal uygulanan grubu ifade etmektedir.

Pankreas dokusunda total oksidan seviyeleri incelendiğinde ise Kontrol grubu ile HFD grubu karşılaştırıldığında istatiksel öneme sahip bir artış olduğu, HFD – safranal grubu ile HFD kıyaslandığında TOS seviyelerinde istatistiki önem sahip artışın olmadığı görülmektedir. DYB gruplarına bakıldığında ise DYB grubunun diğer gruplara göre en yüksek TOS seviyesine sahip olduğu ve istatiksel açıdan anlamlı bir fark olduğu saptanmış, safranal tedavisi ile de DYB – safranal verilerine olduğu gibi düşüş göstermesi TOS dengesi açısından pozitif etkisi olduğu görülmüştür.



Şekil 4.6. Pankreas dokusu TAS ve TOS düzeyleri (HFD; Sadece yüksek yağlı diyet uygulanan grubu, DYB; HFD uygulanan ve STZ injeksiyonu ile diyabet oluşturulan grubu, DYB-Saf; Diyabet oluşturulduktan sonra safranal tedavisi uygulanan grubu, HFD-Saf; Sadece yağlı diyet verilen ratlara tedavi edici olarak Safranal uygulanan grubu ifade etmektedir).

Pankreas dokusu Oksidatif stres indeksi (OSİ) değerleri incelendiğinde, en yüksek düzeyin DYB grubunda olduğu görülmektedir. Diyabetik ratlara safranal tedavisiyle ($1346,6 \pm 166,9$) değerinden ($780,8 \pm 101,7$) değerine düşürdüğü görülmekte bunun sonucu olarak safranalın diyabetik ratlarda Oksidatif stresi azaltıcı yönde etki gösterdiği söylenebilir. Diğer taraftan yüksek yağlı diyet ile beslenmiş ve diyabet uygulanmamış gruba bakıldığında OSİ değerinin artmış olduğu, HFD – tedavi olarak seçilen HFD – safranal grubu OSİ değeri ile kıyaslandığında HFD – safranal değerlerinin HFD grubuna göre daha düşük bulunduğu bu bilgiler ışığında ise safranalın yüksek yağlı diyet ile beslenen ratlarda Oksidatif stresi azalttığı ifade edilebilir. Sonuç olarak OSİ değerlerini genel olarak kıyaslayacak olursak hem HFD grupları hem de DYB grupları safranal tedavisi sonrası OSİ değerlerini düşürdüğü yani Oksidatif stresi azaltıcı yönde pozitif etki gösterdiği söyleyebiliriz.



Şekil 4.7. Pankreas dokusu OSİ düzeyleri (HFD; Sadece yüksek yağlı diyet uygulanan grubu, DYB; HFD uygulanan ve STZ injeksiyonu ile diyabet oluşturulan grubu, DYB-Saf; Diyabet oluşturulduktan sonra safranal tedavisi uygulanan grubu, HFD-Saf; Sadece yağlı diyet verilen ratlara tedavi edici olarak Safranal uygulanan grubu ifade etmektedir).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Diyabet, dünyada prevalansı her geçen yıl artan ve yapılan çalışmalarla epidemik bir problem haline geldiği kabul edilen toplumsal bir sorundur. Uluslararası Diyabet Fedarasyonu verilerine göre 2013 yılında dünyada yaklaşık 382 milyon diyabet hastası, varken 2035 yılında bu sayının 592 milyona çıkacağı tahmin edilmektedir (IDF 2014). Diyabet türleri arasında en yaygın olan tip 2 diyabet ise Türkiye'nin değil global dünyanın güncel sağlık sorunları arasında olup, hızla yayılan ve ülke ekonomilerini etkileyen önemli metabolik hastalıklardan biridir. Tip 2 diyabetin oluşmasında beta hücre disfonksiyonu, insülin direnci ve hepatik glukoz üretimi artışı olmak üzere üç ana metabolik bozukluk rol oynar (Efendic and Ostenson 1993). Kontrol edilemeyen hepatik glukoz üretimi, kas ve yağ dokusu tarafından azalmış glukoz alımıyla karakterize insülin direnci; karaciğer, yağ dokusu ve kaslar gibi hedef dokuların normal dolaşımdaki insülin konsantrasyonuna yanıt verme yeteneğinin azalmasıdır (Ulukaya 2007). Bu nedenle tip 2 diyabete insüline bağımlı olmayan diyabette denilmektedir.

T2DM hastalarında kan glukoz seviyelerinin uzun süre yüksek kalması sonucunda, koroner kalp hastalıkları, hipertansiyon, endotelial inflamasyon, miyokardial enfeksiyon gibi birçok hastalığın (Baxter 2008) ve nefropati, retinopati, prematür ateroskleroz gibi kronik komplikasyonların oluşma riski önemli derecede artmaktadır (Ulukaya 2007). Tip 2 diyabet neden olduğu komplikasyonları nedeniyle de toplumun genelini ilgilendirmektedir. Bu nedenle üzerinde en çok araştırma yapılan konuların başında diyabet ve antidiyabetik tedavi seçenekleri gelmektedir. Diyabetik tedavide günümüzde bir çok yöntem ve ilaç kullanılmaktadır. Tedavide kullanılan bu yöntem ve ilaçlar insülin üretimini artırarak veya glukoz üretimini azaltarak ya da ilgili dokulardaki hücre reseptörlerinde meydana gelen insülin direncini minimuma indirerek, farklı mekanizmalarla etki etmekte ve bozulmuş olan glukoz homeostasisini dengede tutmaya yardımcı olmaktadır (Baxter 2008).

T2DM için mevcut tedavi yöntemlerinin doza bağlı sınırlamaları ve yan etkileri (kilo artışı, hipoglisemi ve sindirim sistemi problemleri gibi) olduğu için, yeni tedavi seçeneklerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle günümüzde tip 2 diyabet tedavisine

yönelik tedavi yöntemleri geliştirilmesi için doğal veya yapay bir çok aktif maddenin olası etkileri araştırmacıların gözdesi olmaya devam etmektedir. Bu bağlamda sunulan tez çalışında deneysel tip 2 diyabet oluşturulan ratlarda, safran bitkisinin bileşenlerinden biri olan safranalın inflamasyon üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Fizyolojik olarak inflamasyonun temel işlevi, enfeksiyonu iyileştirerek veya çeşitli etkenlerle oluşan doku hasarını tamir ederek homeostazisi korumaktır. Bununla beraber inflamatuvar yanıtın inflamasyonu tetikleyen etkene bağımlı olarak, farklı fizyolojik amacı ve patolojik sonucu olabilir. Endojen veya eksojen etkilerle doku stresi veya işlev bozukluğuna karşı gerçekleşen inflamatuvar yanıtın fizyolojik amacı aslında strese uyum sağlama ve homeostatik dengenin yeniden kurulması iken, patolojik olarak homeostatik ayar noktasında kayma sonucu hastalıklara, doku hasarlarına ve/veya otoinflamatuvar hastalıklara neden olabilir. İnflamasyon enfeksiyon, doku hasarı, alerji, kardiyovasküler hastalıklar, ayrıca malign tümör patofizyolojisinde (Medzhitov 2008, Uyar 2009, Çıtak *et al.* 2002) ve tip 2 diyabetin komplikasyonlarının oluşmasında rol alabilirler.

Tip 2 diyabetin komplikasyonlarının oluşma yollarından birisi olarak çeşitli dokularda diyabete bağlı oluşan inflamasyon, diyabet sonucu bozulan homeostatik dengeyi tekrar kurabilmek için oluşur. Fakat diyabetin ilerlemesine bağlı olarak homeostatik denge kurulamaz ise inflamasyonun kendisi bazı dokularda hasar verici olabilir. Bu nedenle antidiyabetik tedavide inflamasyonu kontrol altında tutan ajanlar tedavi açısından yararlı olabilir. Bu bağlamda daha önce antidiyabetik etkinliği belirlenmiş olan safranalın, tip 2 diyabette oluşan inflamasyona etkisi sunulan bu çalışma ile açıklanmaya çalışılmıştır. Bu amaçla deney hayvanlarından elde edilen plazma ve pankreas dokusu numunelerinde inflamatuvar sitokinler olan TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve IFN- γ seviyeleri belirlenerek gerekli istatistiki analizler yapılmış, pankreas dokusunda ve metabolizmanın genel bir göstergesi olarak plazmada safranalın inflamasyonu nasıl etkilediği açıklanmaya çalışılmıştır.

Çoğu hastalığın oluşma aşamalarının anlaşılabilmesi korunma yöntemleri ve tedavisi için genellikle deneysel modellere ihtiyaç vardır. Diyabetin neden olduğu komplikasyonların incelenmesinde ve tedavi denemelerinde deneysel olarak

gerçekleştirilen diyabet modelleri önemli yer tutmaktadır. Hayvanlarda deneysel diyabet oluşturulmak için en yaygın olarak kimyasal maddelerden yararlanılmaktadır. Alloksan, streptozotosin, ürik asit, kinolon türevleri ve dehidroaskorbik asit gibi maddeler beta hücrelerini tahrip ederek hiperglisemi oluşmasına neden olurlar. Bunlardan en çok kullanılanları alloksan ve streptozotosindir. (Barreto *et al.* 2002)

Bu çalışmada da deneysel tip 2 modelini oluşturmada streptozotosin (STZ) kullanılmıştır. Ratlara insanlara benzer diyabet oluşturmada kimyasal ajan olarak kullanılan STZ'nin Glut – 2 glikoz transporter yoluyla β hücrelerine seçici etki gösterir. (Anderson 1983, Heineke *et al.* 1993, Öntürk ve Özbek 2007). STZ uygulaması ile hem insüline bağımlı hem de insülin bağımsız diyabete neden olmaktadır. Ama insüline bağımsız diyabet türü olan tip 2 diyabet modelini deneysel olarak oluşturabilmek için öncelikle tip 2 diyabetin fizyopatolojisinin taklit edilmesi, yani öncelikle insülin direnci oluşturulması sonrasında STZ uygulanması gerekmektedir (Srinivasan *et al.* 2005, Zang *et al.* 2008). Bu nedenle yapılan çalışmada da yüksek yağlı diyet ile insülin direnci oluşturulduktan sonra STZ injeksiyonu yapıp β hücre disfonksiyonu oluşturularak tip 2 diyabetin fizyopatolojisi taklit edilmeye çalışılmıştır.

Obezler arasında diyabet varlığı, obez olmayanlardan en az iki kat fazla görülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda tip 2 diyabetli hastalar incelendiğinde büyük çoğunlukla obez hastalar olması dikkat çekmektedir (Bağrıaçık 1997). Obezite yağ asitlerinin depolanmasının artmasına bağlı olarak adipoz doku kütlelerinin artması sonucu oluşan ve dünyada oranı her geçen gün artan önemli bir sağlık sorunudur. Obezite başlangıcında olan bireyler herhangi bir sağlık sorunu yaşamaları dahi bu bireylerde insülin direnci (IR), leptin direnci, hiperinsülinemi, hiperlipidemi gibi obezite ile karakterize olmuş klinik bulgular rahatlıkla saptanabilir. Adipoz doku kütlelerinin yani adipogenezin artması sonucu düşük derecede inflamasyona sebep olan sitokin seviyelerinin (TNF- α , IL-6, IL-1 β , IL-10) bir çok dokuda ve plazmada arttığı birçok çalışmada gösterilmiştir (Weisberg *et al.* 2003). Obezitenin ilerlemesiyle artan glukotoksisite ve lipotoksisiteye bağlı olarak, inflamasyon ve oksidatif stresin aracılığı ile β hücre disfonksiyonu gelişebilmektedir. İnflamasyona neden olan faktörlerin başında gelen infamatuvar sitokinlerin temel kaynağının yağ doku olduğu düşünülürse anti-

infalantıvar özellikte olan etken maddelerin diyabetin tedavisi kadar obezitenin tedavisi içinde faydalı olabileceği düşünülebilir.

HFD ile beslenme kemirgenlerde obezite ve tip 2 diyabet gibi metabolik hastalıkları indükleyebilmektedir. DoymuŐ yağlar kullanılarak oluşturulan yüksek yağlı diyetlerin (HFD), insülin direnci oluşumu amacıyla deneysel diyabet modellerinde daha çok kullanıldığı belirtilmektedir. Literatürde ratlara 4 hafta ve hatta daha kısa süre ile HFD verilmesinin düzensiz ağırlık artışına yol açtığı bildirilmiştir (İŞbilen *et al.* 2007). Sunulan çalışmada da kontrol grubu dışındaki ratlara ilk 4 hafta HFD verilmiştir. En az ağırlık artışı kontrol grubu ratlarında gözlenirken, en yüksek ağırlık artışı HFD uygulanan ratlarda gözlenmiştir. Çalışmada 4 hafta HFD uygulanarak insülin direnci oluşturulması amaçlanmıştır. Çünkü insanlarda görülen tip 2 diyabetin fizyopatolojisinin tam olarak taklit edilebilmesi için beta hücre disfonksiyonu oluŐturan kimyasal ajan uygulamalarından önce insülin direncinin oluşturulması gerektiği bir çok çalışmada gösterilmiştir. Zhang ve arkadaşlarının (2008) yaptıkları bir çalışmada ratlara 4 hafta HFD uygulanmış sonrasında 25-45 mg/kg aralığındaki farklı STZ dozları uygulanmıştır. Tip 2 diyabet oluşturabilmek için HFD uygulaması sonrasında tek doz 40 ve 45 mg/kg STZ uygulamalarının veya çift doz 30 mg/kg STZ uygulamalarının yeterli olabileceği belirtilmektedir. Başka bir çalışmada da 2 hafta HFD uygulanan ratlara d Őuk çift doz (30 mg/kg) STZ uygulaması yapılmış ve kan glukoz seviyeleri 300 mg/dL olan ratlar tip 2 diyabet kabul edilmiştir (Srinivasan *et al.* 2005). Sunulan çalışmada da HFD uygulamasından sonra benzer Şekilde birer hafta arayla çift doz 30 mg/kg dozunda STZ uygulanmış ve açlık glukoz seviyeleri 300 mg/kg ve üzeri olan ratlar tip 2 diyabet kabul edilerek çalışma grupları düzenlenmiştir. Ayrıca sunulan çalışmada STZ enjeksiyonu sonrasında ratlarda görülen ağırlık artışının azaldığı belirlenmiştir.

Obeziteyle ilgili veya deneysel olarak HFD uygulanmış deney hayvanlarına safranalın etkisi ele alındığında ise söz konusu konuyla ilgili herhangi bir literatür bilgiye ulaŐılamamıŐtır. Sunulan çalışmada ise HFD uygulanan ratlara 4 hafta safranal verilmesi sonucunda ağırlık artışı deđiŐiminde bir farklılık görülmemiŐtir. Buradan safranalın ağırlık değişimine herhangi bir etkisinin olmadığı söylenebilir. HFD ile beslenen ve

diyabet oluşturulan ratlardaki ağırlık artışları da incelendiğinde safranalın ağırlık değişimine herhangi bir etkisinin olmadığı anlaşılmaktadır.

Sunulan çalışmada 10 haftalık HFD uygulanan ratların kan glukoz seviyelerinin 114 ± 15 mg/dL'den ortalama 155 ± 12 mg/dL seviyelerine ulaştığı, yani ratların prediyabetik hale geldiği gözlenmiştir. Nitekim benzer çalışmalarda da daha kısa süreli HFD uygulamalarının kan glukoz seviyelerini artırdığı ifade edilmektedir. Srinivasan ve arkadaşlarının (2005) yaptıkları çalışmada 3 haftalık HFD uygulaması sonucunda kan glukoz seviyelerinin 105 mg/dL'den 126 mg/dL'ye çıktığı belirtilmektedir. Sunulan çalışmada elde edilen bulgular literatürde verilen bulgularla paralelik göstermektedir.

HFD uygulaması sonrası ratlara verilen safranalın etkisine bakıldığında ise safranalın HFD gruplarında ağırlık değişimine herhangi bir etkisi olmadığı anlaşılmaktadır. Çalışma sonunda HFD uygulaması sonucu glukoz seviyelerinin (155 mg/dL) arttığı, bu artışın safranal tedavisiyle azaldığı (120,1 mg/dL) görülmektedir. Bu verilerden safranalın antidiyabetik etkisinin obez kabul edilebilecek olan ratlarda da gözlemlendiği şeklinde yorumlanabilir. Bu nedenle prediyabetik olarak kabul edilen obezlerin tedavisinde de safranalın olumlu katkıları olabilir.

Diyete bağlı obezite geliştirilen bir çalışmada HFD uygulanan ratlarda ağırlık artışı kontrol grubuna göre daha fazla gözlenirken, obezite oluşurken aynı zamanda HFD grubunda karaciğer yağlanması, hiperleptinemi, hiperinsülinemi ve insülin direncinin meydana geldiği, başka bir ifade ile HFD ile beslenen ratların serum glukoz (%22), insülin (%214) ve leptin (%261) seviyelerinin artış gösterdiği, bu artışların HFD ile beslenen ratlarda leptin, tümör nekrozis faktör- α , resistin gibi obeziteyle ilgili genlerin uyarılmasıyla gerçekleştiği belirtilmektedir (Kim and Park 2008). Yapılan bu ve buna benzer birçok çalışma göstermektedir ki, HFD ile beslenen ratlarda kontrol grubuna göre ağırlık artışlarındaki farklılıklar 2. haftadan itibaren başlamakta (Woods *et al.* 2003, Lauterio *et al.* 1994), sonraki haftalarda ise insülin ve leptin seviyelerinin artması, insülin direncinin oluşmasıyla obezite oluştuğu ifade edilmektedir. Benzer şekilde Srinivasan ve arkadaşlarının (2005) yaptıkları çalışmada da HFD uygulaması sonucu serum insülin seviyelerinin $0,262 \mu\text{g/L}$ 'den $0,467 \mu\text{g/L}$ 'ye yükseldiği belirtilmektedir.

Başka bir çalışmada da deney hayvanlarının HFD uygulaması öncesi insülin seviyeleri düşük iken, HFD uygulaması ile yükselerek yaklaşık 3 kat arttığı bulunmuştur (Melinda *et al.* 2011). Sunulan çalışmada da HFD uygulanan ama diyabet oluşturulmayan (HFD ve HFD-saf.) grupların insülin seviyelerine bakıldığında, HFD grubu insülin seviyelerinin tüm gruplardan yüksek olduğu (kontrol grubu 0,184 µg/L, HFD grubu 0,3096 µg/L) elde edilen bu verilerinde literatür bulguları ile korelasyon gösterdiği anlaşılmaktadır.

HFD gruplarında safranalın insülin seviyelerine etkisi incelendiğinde ise, HFD uygulaması sonucu artan insülin seviyelerini (0,3096 µg/L) safranalın (HFD-saf. grubu insülin düzeyi: 0,2157 µg/L) düşürdüğü yani hiperinsülnemiği göreceli olarak önlediği söylenebilir. Bu düşüşün nedeni safranalın HFD-saf. grubunda glukoz seviyelerini düşürmesi sonucu insülin sekresyonunu sağlayan pankreatik β hücrelerinin daha az uyarılması olarak düşünülebilir.

Sunulan çalışmada kontrol grubu dışında kalan gruplara (HFD, HFD-saf., DYB, DYB-saf. grupları) 4 hafta HFD uyguladıktan sonra 2 gruba (DYB ve DYB-saf.) birer hafta arayla 4 ve 5. haftalarda 30 mg/kg dozunda STZ injeksiyonu yapılmıştır. Bunun sonucunda söz konusu gruplarda (diyabet oluşturulan gruplar) kan glukoz seviyeleri 365 mg/dL ve 368 mg/dL seviyelerine ulaşmıştır. DYB grubu glukoz seviyeleri diyabet modeli oluşturulduktan sonraki haftalarda biraz düşerek (8. hafta DYB grubu açlık glukoz seviyesi:329 mg/dL, 10. Hafta ise; 332,4 mg/dL) dengelenmiştir. Literatürde de sunulan çalışmaya benzer şekilde HFD uygulaması sonrası düşük doz STZ enjeksiyonu sonucunda kan glukoz seviyelerinin hızla artış gösterdiği, sonrasındaki haftalarda ise biraz düşerek dengelendiği ifade edilmektedir (Hazman ve Çelik 2014, Zang *et al.* 2008).

Sunulan çalışmada diyabetik gruplardan birine (DYB-saf) 4 hafta süreyle safranal tedavisi uygulandığında açlık glukoz düzeylerinin 368 mg/dL seviyelerinden 233,2 mg/dL seviyelerine düştüğü gözlenmiştir. Bu veriler safranalın literatürde belirtilen antidiyabetik etkisini doğrular niteliktedir. Çünkü safranalın antidiyabetik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada alloksan ile diyabet oluşturulan ratlara 0,25 mL/kg-gün ve 0,5

mL/kg-gün dozunda safranal tedavisi 6 hafta süresince uygulandığı, bu uygulamalar sonucunda diyabetik ratlarda 361 mg/dl olan kan glukoz seviyelerinin, 0,25 mL/kg-gün dozunda safranal uygulanan grupta 137 mg/dL'ye, 0,50 mL/kg-gün safranal tedavisi uygulanan grupta ise 73 mg/dL'ye düşürdüğü belirtilmektedir (Kainbakht and Hajiaghaee 2011). Bununla birlikte sunulan çalışmada safranalın diyabetik ratlara yakın dozlarda (4 hafta süresince 0,2 mL/kg-gün) verilmesine rağmen, Kainbakht ve Hajiaghaee'nin (2011) çalışmalarında belirtildiği oranda açlık glukoz düzeylerini düşürmediği söylenebilir. Bu fark çelişmelerde oluşturulan diyabet modellerinden kaynaklanmış olabilir. Çünkü Kainbakht ve Hajiaghaee'nin (2011) çalışmalarında insülin direnci oluşturulmadan (HFD uygulaması yapılmadan) alloksanla β hücre disfonksiyonu geliştirilerek hiperglisemi oluşturulduğu ifade edilmektedir. Bu nedenle Kainbakht ve Hajiaghaee'nin (2011) bulguları safranalın tip 1 diyabete etkisi olarak değerlendirilirken, sunulan çalışmayla elde edilen bulguların safranalın tip 2 diyabete etkisi şeklinde yorumlanabilir.

Ayrıca Kainbakht ve Hajiaghaee'nin (2011) yaptıkları söz konusu çalışmada diyabetik grupta 6,12 μ U/mL olan insülin seviyelerinin, 0,25 mL/kg-gün dozunda safranal uygulanmasıyla 12,81 μ U/mL düzeylerine, 0,50 mL/kg-gün safranal tedavisinin ise 13,81 μ U/mL düzeylerine çıktığı ifade edilmektedir. Sunulan tez çalışmasındaki diyabetik gruplara (DYB ve DYB-saf) ait insülin verileri incelendiğinde DYB grubu insülin seviyelerinin 0,1685 μ g/L, DYB-saf. grubu insülin seviyelerin ise 0,2197 μ g/L olduğu görülmektedir. Bu veriler dikkate alındığında safranalın literatürde olduğu gibi sunulan çalışmada da diyabetik ratlarda insülin seviyelerini artırdığı anlaşılmaktadır. Bu nedenle safranalın insülin seviyelerini ve/veya glukozun hücre içine alınmasını etkileyerek glukoz seviyelerini düşürdüğü söylenebilir.

Yapılan çalışmada açlık glukoz ve insülin düzeylerinden faydalanarak bulunan beta hücre fonksiyon değerini ifade etmede kullanılan HOMA- β indeks sonuçları incelendiğinde, çalışmanın 4. ve 5. haftalarında STZ enjeksiyonu ile tip 2 diyabet oluşturulan diyabet grubunda HOMA- β indeksi değerinin en düşük ($0,0104 \pm 0,02$) olduğu görülmektedir. Bunun sebebi STZ enjeksiyonu sonucunda oluşan β hücrelerindeki hasara bağlı olarak insülin sentezinin azalması şeklinde yorumlanabilir.

Çünkü DYB grubu insülin seviyelerinin hem HFD grubundan hem de kontrol grubu insülin seviyelerinden daha düşük olması (Çizelge 4.3), buna karşın glukoz seviyelerinin ise DYB grubunda tüm gruplardan daha yüksek olması (Çizelge 4.2) insülin sentezindeki bir azalmanın sebebi olarak gösterilebilir.

Bununla birlikte Çizelge 4.4'te çalışmada kullanılan yağlı diyetin pankreatik beta hücre fonksiyonunu HFD grubunda ($0,0412 \pm 0,0096$) kontrol grubuna ($0,0302 \pm 0,0054$) göre arttırdığı görülmektedir. Bunun sebebi HFD uygulaması sonucu oluşan insülin direnci olarak ifade edilebilir. Çünkü insülin direnci oluşmasıyla dolaşımda fazlasıyla var olan insülin görevini tam olarak yapamamakta, bunun sonucunda halen yüksek olan glukoz seviyelerini düşürmek için daha fazla insülin salgılanması gerekmektedir. Bu durum ise β hücre fonksiyonunu dolayısıyla da HOMA- β indeksi değerini artırmaktadır. Nitekim insülin direncinin bir göstergesi olarak HOMA-IR verileri incelendiğinde de HFD uygulanan gruplarda insülin direncinin oluştuğu anlaşılmaktadır (Çizelge 4.4).

Söz konusu HOMA-IR değerleri ele alındığında, kontrol grubu ($1,03 \pm 0,06$) ile HFD grubu ($2,13 \pm 0,32$) ve DYB grubu ($2,47 \pm 0,19$) verilerinin farklı olduğu, HFD uygulanan gruplarda insülin direnci oluştuğu görülmektedir. Bu sonuçlar ışığında çalışmada uygulanan yüksek yağlı diyet ile birlikte uygulanan STZ injeksiyonu sonucunda başarılı bir şekilde deneysel tip 2 diyabet modeli oluşturulduğu söylenebilir.

Safranalin HOMA- β ve HOMA-IR indekslerine etkileri incelendiğinde ise farklı farklı sonuçlar elde edilmiştir. HFD grubu ile HFD-saf. grubu HOMA- β verileri kıyaslandığında, safranal HFD uygulanan ratlarda HOMA- β fonksiyonunu azalttığı görülmektedir (Çizelge 4.4). Buna karşın diyabet oluşturulan HFD grupları (DYB ve DYB-saf) karşılaştırıldığında safranalin HOMA- β fonksiyonunu artırdığı anlaşılmaktadır. HOMA-IR sonuçları değerlendirildiğinde ise safranal HFD gruplarında HOMA-IR değerlerini etkilemez iken, diyabetik gruplarda HOMA-IR indeksi değerlerini azaltmaktadır. HFD grubu verileri ile diyabetik gruplara ait HOMA- β ve HOMA-IR verilerinin farklı farklı çıkma sebebi, safranalin obezite de farklı, STZ toksikasyonu ile oluşturulan tip 2 diyabette farklı aktivite göstermesi sonucu oluşmuş olabilir.

Yapılan literatür araştırmaları ışığında sunulan çalışmada da elde edildiği gibi safranalın diyabetik deney hayvanlarında insülin direncini düşürdüğünü göstermektedir. Nitekim Maeda ve ark. (2014)'nın yaptıkları bir çalışmada safranalın insülin direncini trozin fosfataz 1B'yi inhibe ederek azaltıyor olabileceği belirtilmektedir. Trozin fosfataz 1B, insülin reseptöründeki trozinin defosforilasyonuna etki ederek insülin sinyal yolunun negatif etkileyen bir enzimdir. Safranalın trozin kinaz 1B'yi inhibe etmesiyle insülin sentezinin uyarıldığı ifade edilmektedir. Aynı zamanda safranalın glukoz transporter-4 proteini seviyelerini artırarak insülin direncini azalttığı, böylelikle glukozun hücre içine daha kolay alınmasıyla antidiyabetik etkilerinin ortaya çıkardığı ifade edilmektedir.

Tip 2 diyabet hastalarında insülin direnci ve beta hücre disfonksiyonuna neden olan faktörler arasında oksidatif stres ve inflamasyon gösterilmektedir. Aynı zamanda inflamasyon ve oksidatif stresin tip 2 diyabet hastalığının erken ve geç dönem komplikasyonlarının (mikroanjyopati, nöropati gibi) patogenezinde de önemli rol oynadığı belirtilmektedir. Çünkü diyabetik hastaların uzun süreli yüksek kan glukoz konsantrasyonlarına maruz kalmaları inflamasyon ve oksidatif stresi arttırmaktadır . (Hazman 2011, Altan *et al.* 2006). İnflamasyon ve oksidatif stresin diğer potansiyel mekanizmaları arasında antioksidan savunma sistemlerinin yetersizliği bulunmaktadır. Çünkü pankreatik beta hücreleri diğer doku ve organlarla kıyaslandığında daha düşük kapasitede antioksidan savunma sistemine sahiptir. Bu nedenle oksidatif stresin artması durumunda bundan ilk etkilenen dokular arasında beta hücreleri yer almakta, beta hücrelerinde oluşabilecek muhtemel hasar inflamatuvar bir yanıt oluşmasına neden olabilmektedir. Bu nedenle diyabet tedavisinde kullanılacak olan antidiyabetik ajanın plazma glukoz seviyelerini düşürücü etkisinin yanında oksidatif strese ve inflamasyona olan etkisinin de bilinmesi önemlidir.

Yapılan literatür araştırmaları sonucunda diyabete bağlı olarak organizmada oluşan oksidatif strese safranalın etkilerinin araştırıldığı, ancak diyabete bağlı oluşan inflamasyona safranalın etkilerinin henüz araştırılmadığı belirlenmiştir. Sunulan çalışmada safranalın oksidatif strese etkisi TAS ve TOS analizleri yapılarak,

inflamasyona etkileri ise inflamatuvar sitokin (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IFN- γ) seviyeleri analiz edilerek belirlenmeye çalışılmıştır.

Safranalin oksidatif strese etkisi hem deneysel diyabet hem de diğer hastalık fizyopatolojilerinin taklit edildiği deneysel modellerle son yıllarda araştırılmaya başlanmıştır. Bu çalışmalardan biri olan bir çalışmada STZ ile diyabet oluşturulan ratlara 3 farklı dozda (0,25-0,50 ve 0,75 mg/kg-gün) 4 hafta safranal tedavisi uygulandığı belirtilmektedir. STZ injeksiyonu diyabetik hale getirilen ratlarda kan glukoz, MDA, NO, total lipid, trigliserid, kolesterol seviyeleri artarken, GSH seviyeleri ile CAT ve SOD aktivitelerinin azaldığı, fakat bu etkilerin farklı dozlarda safranal tedavisi uygulanan diyabetik ratlarda doza bağımlı bir şekilde olumlu yönde geliştiği (iyileştiği) rapor edilmektedir. Böylelikle safranalin, STZ ile diyabet oluşturulan ratlarda oluşan hiperglisemi, hiperlipidemi ve oksidatif stresi iyileştirdiği (Samarghandian *et al.* 2013), bu nedenle safranalin diyabetin komplikasyonlarına karşı koruyucu olabileceği ifade edilmektedir.

Safran ekstraktının ve safranalin kardioprotektif etkilerinin araştırıldığı deneysel bir çalışmada ise ratlarda izoprotereno ile oluşturulan miyokart infarktüsü sonucu artan MDA seviyelerini hem safran ekstraktının hem de onun temel bileşeni olan safranalin doza bağımlı bir şekilde düşürerek oksidatif stresi azalttığı, miyokartta oluşan hasarı ise yüksek safranal dozunun (0,075 mL/kg) en aza indirdiği rapor edilmektedir (Mehdizadeh *et al.* 2013).

Samarghandian ve arkadaşlarının (2014) yaptığı bir çalışmada ise STZ ile diyabet oluşturulan ratlarda safranalin akciğerlerde diyabete bağlı oluşması muhtemel oksidatif strese etkileri araştırılmıştır. 4 hafta süresince diyabetik ratlara tedavi edici ajan olarak 3 farklı dozda safranal uygulanmış, çalışma sonunda safranalin GSH seviyelerini ve CAT ile SOD aktivitelerini artırarak diyabet sonucu akciğerlerde oluşmuş olan oksidatif stresi azalttığı belirlenmiştir.

Sunulan çalışmada hem plazmada hem de pankreas dokusunda safranalin oksidatif strese etkisi TAS ve TOS seviyelerinin analizi ve OSI indeksinin hesaplanmasıyla

belirlenmeye çalışılmıştır. Plazmada yapılan analizlerde HFD uygulamasının TAS seviyelerini etkilemediği, fakat STZ uygulanarak diyabet oluşturulan grupta TAS seviyelerinin düştüğü görülmektedir. Diyabetik gruba safranal uygulanmasıyla ise TAS seviyelerinin artarak, kontrol grubu seviyelerine geldiği Çizelge 4.7'den anlaşılmaktadır. Yani safranal diyabetik ratlarda TAS seviyelerini artırarak antioksidan sistemi desteklemektedir. Plazma TOS seviyeleri incelendiğinde ise HFD uygulanmasının (HFD grubu) ve sonrasında STZ injeksiyonunun (DYB grubu) kontrol grubuna göre TOS seviyelerini artırarak oksidatif stresi uyardığı, fakat safranal tedavisinin diyabetik grupta artmış olan TOS seviyelerini, diyabetik tedavi grubunda (DYB-saf. grubu) ciddi oranda azalttığı söylenebilir.

Oksidatif stresin belirlenmesinde analizi edilen TAS ve TOS seviyeleri kullanılarak hesaplanan OSI değerleri incelendiğinde de safranalın literatürde belirtildiği (Samarghandian *et al.* 2013, 2014) üzere diyabet sonucu oluşan oksidatif stresi azalttığı söylenebilir. Nitekim oksidatif stres indeksi (OSI) değeri DYB grubunda en yüksek (1135,4) iken, safranal tedavisiyle makul seviyelere (293,7) indiği görülmektedir (Çizelge 4.7). Bununla birlikte safranalın HFD gruplarında aynı olumlu etkiyi göstermediği, hatta HFD grubuna göre HFD-saf. grubunda oksidatif stresin arttığı söylenebilir. Bunun sebebi safranalın antidiyabetik etkinliği ile ilişkili olabilir. DYB grubunda yüksek glukoz seviyelerine bağlı gelişen glukotoksisitenin, safranal tedavisiyle glukoz seviyelerinin düşmesiyle azaldığı düşünülürse, oksidatif stresin glukotoksisitenin azalmasıyla düştüğü söylenebilir. Fakat HFD grubunda DYB grubuna oranla glukotoksisite az olduğu için, safranalın antidiyabetik etkinliğine bağlı olarak artan antioksidan özelliği HFD grubunda tam ters etki göstermiş olabilir. Çünkü oksidan-antioksidan dengenin fazla bozulmadığı durumlarda antioksidanların aşırı kullanımı da antioksidatif stres oluşmasına sebep olabilir (Dündar ve Aslan 2000).

Pankreas dokusu oksidatif stres verileri incelendiğinde ise safranalın özellikle diyabetik ratlarda TAS seviyelerini artırarak ve TOS seviyelerini düşürerek tam bir antioksidan gibi davrandığı görülmektedir. Pankreatik β hücrelerindeki antioksidan savunma sisteminin diğer dokulara oranla daha zayıf olduğu düşünülürse, Safranalın STZ injeksiyonu kaynaklı veya glukotoksisite kaynaklı oluşabilecek oksidatif strese bağlı

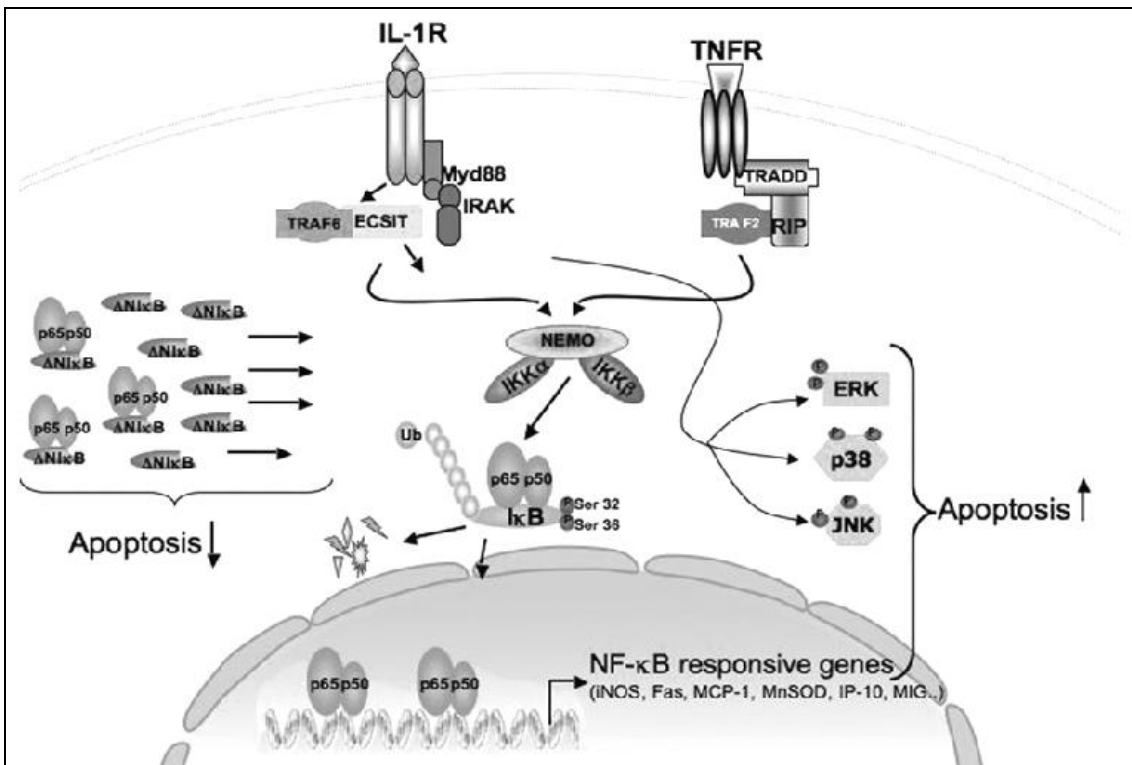
olarak gelişen β hücre disfonksiyonunu azaltarak diyabetik tedavi açısından yararlı olduğu anlaşılmaktadır. Bununla birlikte obezite oluşturulan HFD grubu ratların pankreas dokularında safranalın TAS seviyelerini düşürmekle beraber oksidatif stresi etkilemediği, bu nedenle diyabetik tedavi açısından safranalın sağladığı yararları obezite tedavisinde göstermediği belirlenmiştir.

Sunulan çalışmanın hazırlık aşamasında safranalın infalamasyona etkisinin olup olmadığını belirlemek adına yapılan literatür taramalarında bu konuda herhangi bir çalışma olmadığı görülmüştür. Tip 2 diyabet oluşturulan ratlarda safranalın diyabet sonucu oluşan inflamasyona etkisi belirlenmeye çalışılırken, aynı zamanda safranalın HFD ile obez hale getirilen ratlarda (HFD grupları) inflamasyona etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Tip 2 diyabet oluşturulan ratlara ait pankreas dokuları analiz edildiğinde HFD uygulanan ratlara (HFD grubu) ait sitokin seviyeleri (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IFN- γ) ile kontrol grubu verileri kıyaslandığında hiçbir fark görülmemektedir. Yani ratlara uygulanan 10 haftalık yağlı diyetin inflamasyona herhangi bir etkisi olmadığı anlaşılmaktadır. HFD ile beslenen ratlara safranal uygulanması da inflamatuvar sitokin seviyelerin (IL-6 hariç) etkilememiştir. Ratlarda diyabet oluşturulduğunda ise sitokin seviyelerinin (TNF- α , IL-1 β , IFN- γ) hem kontrol grubuna göre hem de HFD grubuna göre arttığı, yani oluşturulan tip 2 diyabetin inflamasyona neden olduğu görülmektedir. Daha önce değinildiği üzere literatürde de obezite ve tip 2 diyabette inflamasyonun arttığı bir çok çalışmada gösterilmiştir. Safranalın diyabetik gruptaki etkileri değerlendirilecek olursa, safranalın pankreas sitokin seviyelerini düşürerek inflamasyonu azalttığı söylenebilir. Çünkü DYB grubu ile kıyaslandığında, 4 hafta safranal tedavisi uygulanan DYB-saf. grubu TNF- α , IL-1 β , ve IFN- γ seviyelerinin düştüğü görülmektedir (Çizelge 4.6). Plazma verileri incelendiğinde ise diyabetik ratlarda safranal tedavisinin IFN- γ ve IL-6 seviyelerini etkilemez iken, TNF- α , IL-1 β seviyelerini düşürdüğü anlaşılmaktadır (Çizelge 4.5).

Kısaca safranalın tip 2 diyabet oluşturulan ratlarda pankreas ve plazmada inflamasyona etkisi özetlenirse, safranal özellikle TNF- α , IL-1 β seviyelerini hem pankreasta hem de

plazmada düşürerek inflamasyonu azaltmaktadır. TNF- α , IL-1 reseptörlerinin (IL-1R ve TNFR) NFkB'nin aktivatörlerinden biri olduğu düşünülürse (Şekil 5.1), safranalın TNF- α , IL-1 β seviyelerini düşürmesinin önemi daha iyi anlaşılır. Çünkü NFkB hücre sitoplâzmasında da inaktif formda bulunup, sadece aktive olduğunda çekirdeğe geçmekte ve burada hücre büyümesi, proliferasyonu, apoptozisin regülasyonu, sitokin prodüksiyonu ve neoplastik transformasyondan sorumlu, immün sistem, büyüme ve inflamasyonu denetleyen 200'ün üzerinde geni etkilemektedir (Ekinci ve Memiş 2008, Melloul 2008).



Şekil 5.1. NFkB'nin aktivasyonu ve apoptozis (Melloul 2008).

Diyabette oluşan oksidatif stresle veya inflamasyonla NFkB'nin beta hücrelerindeki spesifik aktivasyonu, beta hücrelerinde kayıpların oluşmasında anahtar bir rol üslenmektedir. NFkB'nin aktivasyonunu sağlayan proteinler olan Rel proteinlerinin nükleer translokasyonu, bakteriyel ve viral patojenler, immün ve inflamatuvar sitokinler (TNF- α , IL-1 β , INF- γ gibi), radyasyon veya çeşitli nedenlerle organizmada oluşmuş serbest oksijen radikalleri ve nitrik oksit (NO) tarafından sağlanabilmektedir (Schoonbroodt and Piette 2000, Melloul 2008). Beta hücrelerinde NFkB'yi aktive eden

bu sitotoksik etkiler, sitokinler aracılığıyla ya da koruyucu ve apoptotik genler arasındaki düzenlemelerde görülen dengesizlik sonucu meydana gelmektedir.

Daha öncede belirtildiği gibi antioksidanlar ile oksidan moleküller arasındaki dengenin oksidan moleküller lehine bozulması sonucunda oksidatif stres artmaktadır. Oksidatif stres gibi çeşitli hücre dışı uyarılara bağlı olarak TNF- α , IL-1 β gibi NFkB aktivatörleri ise hücre içi oksidatif stresin artmasına neden olmaktadır. Oksidatif stresin artmasına bağlı olarak hücre içinde reaktif oksijen türleri ve nitrik oksit düzeylerindeki artışların sinyal iletimini etkileyerek NFkB'yi aktifleştirdiği düşünülmektedir (Bowie and O'Neill 2000). Sunulan çalışmada kullanılan safranalın diyabetik ratlarda hem oksidatif stresi hem de önemli inflamatuvar sitokinlerden TNF- α , IL-1B seviyelerini azalttığı düşünülürse, NFkB aktivasyonunu göreceli olarak baskılayarak β hücre hasarını seviyelerini azaltan etkileri olabilir.

Sunulan tez çalışmasının bulgular ve tartışma kısımlarında verilen bilgi ve veriler kısaca özetlenecek olursa safranalın diyabetik tedavi grubunda (DYB-saf.) hem plazma hem de pankreas dokusu oksidatif stres düzeylerini düşürdüğü anlaşılmaktadır. Fakat HFD uygulanan ratlarda safranalın antioksidan etkileri gözlenememiştir. Benzer sonuçlar safranalın inflamasyona etkisi incelendiğinde de görülmüştür. Nitekim safranal diyabetik rat pankreaslarında inflamasyonu azaltırken (IL-6 hariç), HFD uygulanan ve obez olarak kabul edilen HFD grubu ratlarında inflamasyonu etkilememiştir. Bu bağlamda inflamasyonu ve oksidatif stres düzeylerini düşüren safranalın diyabetik tedavide yararlı olabileceği düşünülebilir. Ama safranalın olası muhtemel yararlarının daha iyi anlaşılabilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Safranalın diyabetik tedavi açısından yararlı olabileceği diğer bir nokta ise sunulan çalışmada da belirlendiği gibi insülin seviyelerine ve insülin direncine olan etkisidir. Safranalın insülin direncini trozin fosfataz 1B'yi inhibe ederek, glukotoksisiteyi ise glukoz transporter-4 proteini seviyelerini artırarak sağladığı belirlenmiş (Maeda *et al.* 2014) bu nedenle safranalın insülin sentezini nasıl artırdığının belirlenmesi diyabetik tedavi açısından yararlı olabilir. Çünkü günümüz diyabet tedavisinde insülin

sekresyonunu artıran bir çok aktif madde, antidiyabetik ilaç olarak kullanılmaktadır (Baxter 2008).

Safranalin diyabet sonucu oluşan inflamasyonu ve oksidatif stresi azaltması, diyabetik komplikasyonların önlenmesi adına da diyabetik tedaviye katkı sağlayabilir. Bunun için safranalin özellikle TNF- α ve IL-1 β aracılı inflamasyonu nasıl azaltığının belirlenmesi için yapılacak ileri çalışmalar yeni tedavi protokollerinin geliştirilmesine katkı sağlayabilir.

KAYNAKLAR

- Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Poper, J.S. (1994). Cytokines. Cellular and Molecular Immunology, WB Saunders Company, Philadelphia, 240-261.
- Akcay, G., Akarsu, E. (2000). Endokrin ve Metabolizma Hastalıkları, Aktif Yayıncılık, Erzurum.
- Alemzadeh, R., Wyatt, D.T. (2004). Diabetes Mellitus. In: Nelson Textbook of Pediatrics. 17 Ed. Elsevier Saunders, Pennsylvania, 1947-1972.
- Almind, K., Doria, A., Kahn, C.R. (2001). Putting the genes for type II diabetes on the map. *Nature Medicine*, **7**: 277-279.
- Altan, N., Dinçel, A.S., Koca, C. (2006). Diabetes Mellitus and Oxidative Stres. *Türk Biyokimya Dergisi*, **31(2)**: 51-56
- Altuntas, Y. (2000). Tip 2 diyabetes mellitus'un patogenezi. Yenigün M (editör). Her Yönüyle Diabetes Mellitus. 2. baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 219-233.
- Alvin, C., Powers. (2008). Diabetes Mellitus In: Harrison's Principles of Internal Medicine. United States of America. 17th Edition.
- ADA (American Diabetes Association) (1997). The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, **20 (7)**: 1183-97
- ADA (American Diabetes Association) (2000). Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, **23 Suppl. 1**: 4-19.

- ADA (American Diabetes Association) (2002). Implications of the United Kingdom Prospective Diabetes Study. *Diabetes Care*, **25**: 28-32.
- ADA (American Diabetes Association) (2004). Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, **Suppl. 1**: S:5-14.
- Anderson, L.C. (1983). Effects of alloxan diabetes and insulin in vivo on the rat parotid gland. *American Journal of Physiology*, **245**: 431-437
- Arslan, M. (2003). Diabetes Mellitusta Tanı ve Sınıflandırma. İç Hastalıkları. 2. Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi; 2279 2291.
- Ashby, J. Hilton, J. (1993). Mechanistic relationship among mutagenicity, skin sensitization, and skin carcinogenicity. *Environmental Health Perspectives*, **101(1)**: 62-67.
- Asımgil, A. (1997). Şifalı Bitkiler, Timaş Yayınları, İstanbul.
- Assimopoulou, A.N., Sinakos, Z., Papageorgiou, V.P. (2005). Radical scavenging activity of Crocus sativus L. extract and its bioactive constituents. *Phytotherapy Research*, **19**: 997–1000.
- Avcı, A. (2001). Diyabet oluşturulmuş ratlarda böbrek antioksidan savunma sistemi ve E vitaminin etkileri. Ankara Üniv. Tıp Fak. Biyokimya AD, Uzmanlık Tezi, 56.
- Bağrıaçık, N. (1997). Diabetes Mellitus; Tanımı, tarihçesi, sınıflaması ve sıklığı. Diabetes Mellitus 7.Ü.Cerrahpasa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Komisyonu Yayın No: 4, Deonta, sayfa :11 , İstanbul.
- Barreto, M.L., Teixeira, M.G., Costa, M.C.N., Strina, A., Martins, D.F., Prado, M. (2002). Sentinel areas: a monitoring strategy in public health. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **18**: 1189-1195.

- Bastard, J.P., Jardel, C., Bruckert, E., Biondy, P., Capeau, J., Laville, M., Vidal, H. and Hainque, B. (2000). Elevated levels of interleukin-6 are reduced in serum and subcutaneous adipose tissue of obese women after weight loss. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **85**: 3338-3342.
- Bastard, J.P., Maachi, M., Lagathu, C., Kim, M.J., Caron, M., Vidal, H., Capeau, J., Feve, B. (2006). Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *European Cytokine Network*, **1**: 4-12.
- Başkal, N. (2003). Diabetes Mellitus Tanım, Klasifikasyon, Tanı, Klinik, Laboratuvar ve Patogenez. Ankara: Antıp A.Ş.
- Baxter, M. (2008). Treatment of Type 2 Diabetes: a Structured Management Plan. *Advances Therapy*, **25(2)**: 106-114.
- Berberoğlu, N., Erbilgin, N. (2006). Tip 2 Diyabet Ve Bozulmuş Açlık Glukozu Olanlarda Kardiyovasküler Risk Faktörü Olarak Gama Glutamil Transferaz Ve Yüksek Duyarlılıklı C- Reaktif Protein. Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Fatih Sultan Mehmet Eğitim ve Araştırma Hastanesi iç Hastalıkları Kliniği. İstanbul.
- Bowie, A., O'Neill, L.A. (2000). Oxidative stress and nuclear factor-kappa B activation: a reassessment of the evidence in the light of recent discoveries. *Biochemical Pharmacology*, **59(1)**: 13-23.
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, **7;72**: 248-54.
- Brownlee, M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, **Vol. 414**: 813-820.

- Burant, C.F. (2004). Medical Management of Type Two Diyabetes 5 th. Ed. America Diyabetes Association.
- Büyükbeşe, M., Çetinkaya, A. (2003). Diyabet ve Obezite. *Diyabet Dergisi*, (18): 50-2.
- Carmona, M., Zalacain, A., Salinas, M. and Alonso, G.L. (2007). A New Approach to Saffron Aroma. *Food Science and Nutrition*, No:47, 145-159.
- Champe, P.C., Harvey, R.A. (1994). Lippincott's Illustrated Reviews., J.B. Lippincott Company, New Jersey, USA.
- Champe, P.C., Harvey, R.A. (1997). Biyokimya, Çeviri Ed, Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E, 2. Baskı, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 300,330-340.
- Chausmer, A.B. (1998). Zinc, İnsülin and Diabetes. *Journal of American Nutrition*, 17(2): 109-115.
- Chung, K.F., Barnes, P.J. (1999). Cytokines in asthma. *Thorax*, 54: 825-57.
- Coustan, D.R. (1995). Gestational diabetes In: Diabetes in America. In: Bethesda M, editor.: National Diabetes Data Group, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; p. 703-18.
- Çıtak, F.E., Çıtak, E.Ç., Karadeniz, C. (2002). Kemokinler ve Hastalıklardaki Yeri. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 22: 210-216.
- Çubukçu, B., Meriçli, A.H., Mat, A., Sarıyar, G., Sütlüpinar, N., Meriçli, F. (2002). Fitoterapi. İ.Ü. Eczacılık Fakültesi Yayın No: 79, İstanbul.

De Vriese, A.S., Verbeuren, T.J., Van DE Voorde, J., Lameire, N.H., Vahoutte, P.M. (2000). Endothelial dysfunction in diabetes. *British Journal of Pharmacology*, **130(5)**: 963-974.

Diabetes Care (1997).The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report of The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, **20 (7)**: 1183-97

Douglas, D. (2003). Inflammatory Cytokines Tied to Risk of Type 2. *Diabetes*, **52**: 812-817.

Dündar, Y., Aslan, R. (2000). Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar, Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları, Afyon.

Efendic, S., Ostenson, C., (1993). Hormonal responses and future treatment of non-insulin dependent diabetes mellitus. *Journal of Internal Medicine*, **234**: 127-38.

Ekinci, Ö., Memiş, L. (2008). Küçük Hücreli Dışı Akciğer Karsinomlarında Nükleer Faktör Kappa B İmmünohistokimyasal Ekspresyonunun Prognozla İlişkisi. *Gazi Tıp Dergisi*, **Cilt 19**: 1: 1-5.

Eren, İ., Erdi, Ö., Çivi, İ. (2004). Tip II Diabetes Mellitus Hastalarında Yaşam Kalitesi ve Komplikasyonların Yaşam Kalitesine Etkisi, *Klinik Psikiyatri*, **7**: 85-94.

Erel, Ö. (2004). A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions, *Clinical Biochemistry*, **37(2)**: 112-119.

Erel, Ö. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, **38(12)**: 1103-1111.

- Escribano, J., Alonso, G.L., Coca-Prados, M., Fernandez, J.A. (1996). Crocin, safranal and picrocrocin from saffron (*Crocus sativus* L.) inhibit the growth of human cancer cells in vitro. *Cancer Letters*, **100**: 23–30.
- Freeman, D.J., Norrie, J., Caslake, M.J., Gaw, A., Ford, I., Lowe, G.D. (2002). C-reactive protein is an independent predictor of risk for the development of diabetes. *West of Scotland Coronary Prevention Study*, **51**: 1596-600
- Ford, E.S. (2002). Leukocyte count, erythrocyte sedimentation rate, and diabetes incidence in a national sample of US adults. *American Journal of Medicine*, **155**: 57-64
- Fukushima, M., Usami, M., Ikeda, M., Nakai, Y., Taniguchi, A., Matsuura, T. (2004). Insulin secretion and insulin sensitivity at different stages of glucose tolerance, A crosssectional study of Japanese type 2 diabetes. *Metabolism*, **53**: 831-835.
- Furnes, M.W., Zhao, C.M., Chen, D. (2009). 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. *Obesity Surgery*, **19**: 1430–1438.
- Gorogawa, S., Kajimoto, Y., Umayahara, Y. (2002). Probucol preserves pancreatic beta-cell function through reduction of oxidative stress in type 2 diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice*, **57**: 1-10.
- Gökçel, A., Özsahin, A.K., Sezgin, N. (2003). High Prevalance of Diabetes in Adana, a Southern Province of Turkey. *Diabetes Care*, **26**: 3031-4.
- Greenberg, R.A., Sacks, D.B. (2002). Screening for diabetes: is it warranted. *Clinica Chimica Acta*, **315(1-2)**: 61-69.
- Guyton, A.C. and Hall, J.E. (2001). *Medical Physiology*. 10th Ed., Philadelphia, W.B. Saunders Company.

- Güne, H. (1999). Sitokinlerin hücre döngüsü üzerine etkileri. *Turkish Journal of Biology*, **23**: 283-292.
- Hamuryudan, V., Sonsuz, A., Yazıcı, H. (2005). Diyabetes Mellitus Tanı, Epidemiyoloji ve Sınıflandırma, Cerrahpaşa İç Hastalıkları, 1. baskı. 1086-1089.
- Hazman, Ö. (2011). Oral antidiyabetik ilaç Sitagliptin'in oksidan-antioksidan denge üzerine etkisinin deneysel tip 2 diyabet modeli oluşturulan ratlarda araştırılması", Biyokimya Anabilim Dalı (Vet.), Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
- Hazman, Ö. (2011). Sitagliptin: Tip 2 Diyabet Tedavisi için Yeni Oral Antidiyabetik Ajan, AKÜ FEBİD 11, 021201 (1-13)
- Hazman, Ö., Çelik, S. (2014). Effects of oral anti-diabetic agent sitagliptin on total antioxidant and oxidant status in rats with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Applied Biological Sciences*, **8** (1): (baskıda).
- Heineke, E.W., Johnson, M.B., Dilbergen, J.E. (1993). Antioxidant MDL29, 311 prevents diabetes in nonobese diabetic and multiple low-dose STZ-injected mice. *Diabetes*, **42**: 1721-1730.
- HU, F.B., Manson, J.E., Stampfer, M.J., Colditz, G., Liu, S., Solomon, C.G., Willett, W.C. (2001). Diet, lifestyle and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *The New England Journal of Medicine*, **345**: 790-797.
- Huysal, K. (1999). Tip II Diabetlilerde Eritrosit Glutasyon Redüktaz, Glutasyon Peroksidaz, Süperoksit Dismutaz, Katalaz Aktiviteleri, Hemoglobin Glikozilasyonu ve Lipid Peroksidasyonunun İncelenmesi. Atatürk Üniv. Biyokimya AD, Uzm. Tezi, 81.

IDF (International Diabetes Federation) (2014). IDF Diabetes Atlas, Sixth edition, sayfa:12.

Imenshahidi, M., Hosseinzadeh, H., Javadpour, Y. (2010). Hypotensive effect of aqueous saffron extract (*Crocus sativus* L.) and its constituents, safranal and crocin, in normotensive and hypertensive rats. *Phytotherapy Research* , **24(7)**: 990-4.

İşbilen, B., Arı, Z., Var, A., Onur, E., Uyanık, B.S. (2007). Yüksek Yağ İçeren Diyet İle Beslenen Ratlarda DHEAS'ın Leptin, Lipid Profili Ve Endotel Fonksiyonu Üzerine Etkileri: 21 (3): 109 – 116.

Jain, S.K., McVie, R. (1999), Hyperketonemia Can Increase Lipid Peroxidation and Lower Glutathione Levels in Human Erythrocytes in vitro and Type I Diabetic Patients. *Diabetes*, **48**: 1850-1855

Kainbakht, S., Hajiaghaee, R. (2011). Anti-hyperglycemic Effects of Saffron and its Active Constituents, Crocin and Safranal, in Alloxan-induced Diabetic Rats. *Journal of Medicinal Plant*, **10 (39)**: 82-89.

Kelestimur, F., Çetin, M., Paşaoğlu, H. (1999). The prevalence and identification of risk factors for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in Kayseri, Central Anatolia, Turkey. *Acta Diabetol*, **6**: 85-91.

Khair, O.A., Davies, R.J., Devalia, J.L. (1996). Bacterial-induced release of inflammatory mediators by bronchial epithelial cells. *European Respiratory Journal*, **9**: 1913-22.

Kim, Y.J., Park, T. (2008). “Genes are differentially expressed in the epididymal fat of rats rendered obese by a high-fat diet”. *Nutrition Research*, **28**: 414–422.

Kuby, J. (1992). Immunology, W.H. Freeman and Company, 245.

- Kumar, V., Cotran, R.S., Robbins, S.L., Mitchell, J. (1994). Temel Patoloji. 5' th ed. İstanbul: WB Saunders Company Nobel Tıp Kitabevleri Ltd sti & Yüce Yayınları AS; p. 569-587.
- Kuzuya, T., Nakagawa, S., Satoh, J., Kanazawa, Y., Iwamoto, Y., Kobayashi, M. (2001). Report of the committee on the classification and diagnostic criteria of diabetes mellitus. *Diabetes Its Complications*, **15**: 203-210.
- Lauterio, T.J., Bond, J.P., Ulman, E.A., (1994). "Development and Characterization of a Purified Diet to Identify Obesity-Susceptible and Resistant Rat Populations" . *Journal of Nutrition*, **124**: 2172-2178.
- Maeda, A., Kai, K., Ishii, M., Ishii, T., Akagawa, M. (2014). Safranal, a novel protein tyrosine phosphatase 1B inhibitor, activates insulin signaling in C2C12 myotubes and improves glucose tolerance in diabetic KK-Ay mice. *Molecular Nutrition & Food Research* , **08**: 1–13.
- Maritim, A.C., Sanders, R.A. and Watkins, J.B. (2003). Diabetes, oxidative stress, and antioxidants:A review. *J Biochem Mol Toxicol*, **17**: Number 1.
- Matthews, D., Hosker, J., Rudenski, A., Naylor, B., Treacher, D., Turner, R. (1985). Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta cell function from plasma glucose and insulin concentration in man. *Diabetologia*, **28**: 412-419.
- Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, **454**: 428-35.
- Mehdizadeh, R., Parizadeh, M.R., Khooei, AR., Mehri, S., Hosseinzadeh, H. (2013). Cardioprotective Effect of Saffron Extract and Safranal in Isoproterenol-Induced Myocardial Infarction in Wistar Rats. *Basic Medical Sciences*, **Vol:16**, No:1, 56-63.

- Melinda, Mc.B., Samer, O.A.H., Dongcheul, K., Lilin, L.J.Z., Malcolm, A.L. (2011). Deletion of Insulin-Degrading Enzyme Elicits Antipodal, Age-Dependent Effects on Glucose and Insulin Tolerance, 10.1371/journal.pone.0020818.
- Melloul, D. (2008). Role of NFkB in β - cell death, *Biochemical Society Transactions*, **36**: 334-339.
- Meyer, C., Stumvoll, M., Nadkarni, V., Dostou, J., Mitrakou, A., Gerich, J. (1998). Abnormal renal and hepatic glucose metabolism in type 2 diabetes mellitus. *The Journal of Clinical Investigation*, **102**: 619-624.
- Montgomery, R., Conway, T.W., Spector, A.A., Chappell, D. (1996). *Biochemistry A Case-Oriented Approach*, 6th ed, The Clarinda Company, St. Lous, Missouri, Çeviri Ed. Altan N, Palme Yayıncılık, Ankara, 13-596.
- Murray, R.K., Mayes, P.A., Granner. D.K., Reiwel, V.W. (1993). Harper'in biyokimyası (Çeviri Mentaş G, Ersöz B.) İstanbul, Barış Kitabevi, 326-332.
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A. and Rodwell, V.W. (1996). *Harper's Biochemistry*. 24th Ed., Connecticut, Appleton and Lange.
- Negbi, M., Dagan, B., Dror, A. and Basker, D. (1989). Growth, flowering, vegetative reproduction and dormancy in the saffron crocus (*Crocus sativus* L.). *Israel Journal of Botany*, **38**: 95- 113.
- Noyan, A. (1993). Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji. 8.Baskı. Basım, yayım Meteksan A.Ş. Ankara, S, 421-426, 1055- 1066.
- Oates, P.J. (2008). Aldose reductase, stil a compelling target for diabetic neuropathy. *Current Drug Targets*, **9**: 14.

- Oldroyd, J., Banerjee, M., Heald, A., Cruickshank, K. (2005). Diabetes and ethnic minorities. *Postgraduate Medical Journal* , **81**: 486–490.
- Öntürk, H., Özbek, H. (2007). Deneysel diyabet oluşturulması ve kan şeker seviyesinin ölçülmesi. *Genel Tıp Dergisi*, **17(4)**: 231-236.
- Özer, E., (2004). Diyabette Tıbbi Beslenme Tedavisinin Özellikleri ve Karbonhidrat Sayımı. *Galenos Tıp Dergisi*, (7): 51-5.
- Öztürk, Y., Altan, V.M., Yıldızoğlu Arı, N. (1996). Effects of experimental diabetes and insulin on smooth muscle functions. *Pharmacological Reviews*, **48**: 69-112.
- Quinn, L. (2002), Mechanism in The Development of Type II Diabetes Mellitus. *Journal of Cardiovascular Nursing*, **16(2)**: 1-16.
- Samarghandian, S., Borji, A., Delkhosh, M.B., Samini, F. (2013). Safranal treatment improves hyperglycemia, hyperlipidemia and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, **16(2)**: 352-62
- Samarghandian, S., Afshari, R., Sadati, A. (2014). Evaluation of Lung and Bronchoalveolar Lavage Fluid Oxidative Stress Indices for Assessing the Preventing Effects of Safranal on Respiratory Distress in Diabetic Rats, *The Scientific World Journal*, Article ID 251378, 6 pages <http://dx.doi.org/10.1155/251378>.
- Sacks, D. (2005). Karbonhidratlar. In: Burtis CA, Ashwood ER, Sacks D, editors. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*. p. 427-62.
- Satman, İ., Yilmaz, T., Sengul, A., Salman, S., Salman, F., Uygur, S. (2002). Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey - Results of

- the Turkish Diabetes Epidemiology Study (TURDP). *Diabetes Care*, **25(9)**: 1551-6.
- Schoonbroodt, S., Piette, J. (2000). Oksidative Stres Interference with the Nuclear Faktör-kB Activation Pathways. *Biochemical Pharmacology*, **60**: 1075-1083.
- Schrauwen, P., Westerterp, K.R. (2000). The role of high-fat diets and physical activity in the regulation of body weight. *British Journal of Nutrition*, **84**: 417-427.
- Schrijvers, B.F., De Vriese, A.S., Flyvbjerg, A.A. (2004). From Hyperglycemia to Diabetic Kidney Disease: The Role of Metabolic, Hemodynamic, Intracellular Factors and Growth Factors/Cytokines. *Endocrine Reviews*; **25(6)**: 971-1010.
- Scobie, I.N. (1998). Acute complications of diabetes an atlas of diabetes mellitus, The Parthenon publishing, p.22-29, Newyork.
- Sherwin, R.S. (2006). Cecil Textbook Medicine. *Diabetes Mellitus*, **242**: 1424-1452.
- Sinha, R., Fisch, G., Teague, B., Tamborlane, W.V., Banyas, B., Allen, K. (2002). Prevalence of impaired glucose tolerance among children and adolescents with marked obesity. *The New England Journal of Medicine*, **346**: 802-810.
- Srinivasan, K., Viswanad, B., Asrat, L., Kaul, C.L., Ramarao, P., (2005), Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: A model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacological Research*, **52**: 313–320.
- Tamaddonfard, E., Farshid, A.A., Eghdami, K., Samadi, F., Erfanparast, A. (2013). Comparison of the effects of crocin, safranal and diclofenac on local inflammation and inflammatory pain responses induced by carrageenan in rats. *Pharmacological Reports*, **65**: 1272-1280.

- Tanasescu, M., HU, F.B., Willett, W.C., Stampfer, M.J., Rimm E.B. (2001). Alcohol consumption and risk of coronary heart disease among men with type 2 diabetes mellitus. *Journal of the American College of Cardiology*, **38(7)**: 1836-1842.
- Temelkova – Kurktschiev, T.S., Koehler, C., Henkel, E., Leonhardt. W., Fuecker, K., Hanefeld, M. (2000). Postchallenge plasma glucose and glycemic spikes are more strongly associated with atherosclerosis than fasting glucose or sHbA1c levels. *Diabetes Care*, **12**: 1830-1834.
- UKPDS Research Group (1998). Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin, compared with conventional treatment and risk of complications in patients with Type 2 diabetes (UKPDS). *Lancet*, **352**: 837-853.
- Ulukaya, E. (2007). (Çeviri Editörü) Lippincott's Illustrated Reviews Serisinden: Biyokimya, 3.Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- Uyar, F.A. (2009). Doğal İmmun Sistem: Erken İnflamatuvar Yanıtın Kontrolü. *Klinik Gelişim Dergisi*, 26-30.
- Vincent, A.M., Russell, J.W., Low, P. and Feldman E.L. (2004). Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocrine Reviews*, **25**: 612–628.
- Vurdu, N., Allahverdiev, S. ve Vurdu H. (1997). Safranın (Crocus sativus L.) büyümesine hormonların etkisi. *Kastamonu Eğitim Dergisi*, **4**: 85-89.
- Yamagishi, S., Takeuchi, M. (2004). Inhibition of protein kinase C might be harmful to diabetic retinopathy. *Medical Hypotheses*, **63**: 135-137.
- Yenigün, M. (2001). Her Yönüyle Diabetes Mellitus. 2. Baskı.: Tayf Ofset. P.165-71, İstanbul.

- Young, H.A., Bream, J.H. (2007). IFN-gamma: recent advances in understanding regulation of expression, biological functions, and clinical applications. *Current Topic Microbiology Immunology*, **316**: 97-117.
- Yudkin, J.S., Stehouwer, C.D.A., Emeis J.J., Coppack, S.W. (1999). C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction. A potential role for cytokines originating from adipose tissue. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, **50**: 19:972 - 978.
- Zhang, M., Lv, M.Y., Li, J., Xu, Z.G., Chen, L. (2008), The Characterization of High-Fat Diet and Multiple Low-Dose Streptozotocin Induced Type 2 Diabetes Rat Model, *Experimental Diabetes Research*, Article ID 704045, 1-9.
- Weisberg, S.P., McCann, D., Desai, M. (2003). Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *The Journal of Clinical Investigation*, **112**: 1796–1808.
- West, I. (2000). Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabetic Medicine*, **17**: 171-180.
- Weyer, C., Bogardus, C., Pratley, R.E. (1999). Metabolic characteristics of individuals with impaired fasting glucose and/or impaired glucose tolerance. *Diabetes*, **48**: 2197-2203.
- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., King, H. (2004). Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*, **27**: 1047-1053
- World Health Organization (1999b). Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications; Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. WHO Department of Noncommunicable Disease Surveillance, Geneva.

Woods, S.C., Seeley, R.J., Rushing, P.A., D'Alessio, D., Tso, P. (2003). A Controlled High-Fat Diet Induces an Obese Syndrome in Rats. *The Journal of Nutrition*, **133**: 1081–1087

İnternet Kaynakları

1. <http://tahlil.com/insulin-direnci-nedir-insulin-direnci-testihoma-testi-nedir> 17.02.2014
2. http://en.wikipedia.org/wiki/Epidemiology_of_diabetes_mellitus 17.02.2014
3. http://www.hastaneinfeksiyonlaridergisi.org/managete/fu_folder/2001-02/html/2001-5-2-069-083.htm 28.10.2013
4. <http://www.adutfdergi.org/text.php3?id=226> 28.10.2013
5. http://web.ogm.gov.tr/birimler/merkez/odundisiurun/Dkmanlar/bitkisel_urunler_sube_mudurlugu/BITKISEL%20URUNLER/SAFRAN_X.pdf 29.10.2013

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Serhat OVALI
Doğum Yeri : Bandırma
Doğum Tarihi : 06.06.1984
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Şehit Mehmet Gönenc Lisesi - 2001
Lisans : Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Kimya Bölümü - 2009

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

- 1 . : MKS Devo Kimyevi Maddeler/ 2010Nisan - 2010Haziran/
Argede görevli sorumlu laborant
- 2 . : Bandırma Gübre Fabrikaları A.Ş./2010Haziran - Halen/İşletme
Mühendisi



T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
(AKUHADYEK)

Sayı : B.30.2.AKÜ.0.A2.00.00/ 237

Tarih : 28/09/2012

Konu: AKUHADYEK-167-12-Referans nolu araştırma

Yrd.Doç. Dr. Ömer HAZMAN

A.K.Ü. Fen Edebiyat Fakültesi Biyokimya AD.
Afyonkarahisar

Üniversitemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'na sunmuş olduğunuz "Tip 2 Diyabette Safranal'ın İnflamasyon Üzerine Etkisi" başlıklı araştırma projesi AKUHADYEK yönetmeliğine ve evrensel etik ilkelere uyumlu olduğuna karar verilmiş ve **onaylanmıştır**.

| Görevi | Adı | İmza | Görevi | Adı | İmza |
|-----------|--|------|--------|---|------|
| Başkan | Doç. Dr. Yahya KUYUCUOĞLU | | Üye | Doç. Dr. Oğuz ÖZTÜRK | |
| Başkan V. | Doç. Dr. M. Ali SÖZEN Görevli: (Uzans Dersi) | | Üye | Vet. Hekim Engin GÖKSEL | |
| Üye | Prof. Dr. Hatice ÇİÇEK | | Üye | (sivil toplum kuruluş üyesi) Halil KARCA | |
| Üye | Doç. Dr. Bülent ELİTOK | | Üye | (Halk üyesi) Yunus DOLU | |
| Üye | Doç. Dr. Reha DEMİREL Toplantı (Başhâkimlik) | | | | |