

TİP 2 DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA  
*Prunus laurocerasus* (KARAYEMİŞ)' UN OKSİDAN-ANTIOKSİDAN SİSTEMLER  
ÜZERİNE ETKİSİ

İLKNUR DOĞU



**T.C.**  
**ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TİP 2 DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA *Prunus laurocerasus***  
**(KARAYEMİŞ)' UN OKSİDAN-ANTIÖKSİDAN SİSTEMLER ÜZERİNE ETKİSİ**

**İLKNUR DOĞU**

**Doç. Dr. SİBEL TAŞ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**BURSA - 2014**

## TEZ ONAYI

İlknur DOĞU tarafından hazırlanan “Tip 2 Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda Prunus Laurocerasus (Karayemiş)’Un Oksidan-Antioksidan Sistemler Üzerine Etkisi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ OLARAK** kabul edilmiştir.

**Danışman:** Doç. Dr. Sibel TAŞ

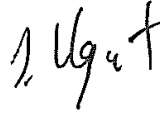


**Başkan:** Doç. Dr. Sibel TAŞ

**Üye:** Prof. Dr. Naciye İŞBİL-BÜYÜKCOŞKUN



**Üye:** Prof. Dr. İsmail H. UĞURTAŞ



**Yukarıda sonucu onaylarım.**

**Prof. Dr. Ali Osman DEMİR**

**Enstitü Müdürü**

**31/03/2014**

## ÖZET

Yüksek Lisans

TİP 2 DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA *Prunus laurocerasus*  
(KARAYEMİŞ)' UN OKSİDAN-ANTIÖKSİDAN SİSTEMLER ÜZERİNE ETKİSİ

İlknur DOĞU

Uludağ Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

**Danışman: Doç. Dr. Sibel TAŞ**

Bu çalışmada streptozotosin-nikotinamit ile tip 2 diyabet oluşturulmuş sıçanlarda *Prunus laurocerasus* ekstraktı ve metforminin kan glukozuna ve oksidan ve antioksidan sistemler üzerine etkisi araştırıldı. 48 adet Wistar türü erkek sıçan rastgele kendi aralarında 6 gruba ayrıldı; kontrol (K), kontrol + *Prunus laurocerasus* ekstraktı (K+PLE), diyabet (D), diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı (D+PLE), diyabet + metformin (D+Metf), diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı + metformin (D+PLE+Metf). Kontrol + *Prunus laurocerasus* ekstraktı grubunda kontrol grubuna göre serum trigliserit düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanırken, kan glutatyon peroksidaz ve eritrosit süperoksit dismutaz aktivitelerinde anlamlı bir artış saptandı. Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı, diyabet + metformin, diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı + metformin gruplarında diyabet grubuna göre kan glukoz, serum total kolesterol, trigliserit, plazma ve doku malondiadehit düzeylerinde anlamlı bir azalma bulunurken, serum insülin, kan glutatyon peroksidaz, eritrosit süperoksit dismutaz, paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesinde ise anlamlı artış olduğu saptandı. Sonuç olarak bu çalışmada; *Prunus laurocerasus* ekstraktı tek olarak ve metformin ile beraber verildiğinde antihiperglisemik, antihiperlipidemik ve antioksidan etki gösterdiği ve tip 2 diyabette oluşan oksidatif strese karşı korumada ve/veya önlemede tedaviye ek olarak kullanılmasının yararlı olabileceği sonucuna varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Diyabet, streptozotosin, nikotinamit, *Prunus laurocerasus* (karayemiş), metformin, oksidatif stres.

**2014, i+71 sayfa.**

## ABSTRACT

MSc Thesis.

*Prunus laurocerasus* (KARAYEMİŞ) TYPE 2 DIABETIC RATS: EFFECTS ON THE OXIDATIVE AND ANTIOXIDATIVE SYSTEMS

**İlknur DOĞU**

Uludağ University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

**Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Sibel TAŞ**

This research investigates the effects of *Prunus laurocerasus* extract and metformin on blood glucose and oxidant-antioxidant systems at rats which are diabetised by streptozosin-nikotinamidit and type 2. 48 male rats were grouped into 6 randomly; control (K) + *Prunus laurocerasus* extract + (K+PLE), diabetes (D), diabetes + *Prunus laurocerasus* extract (D+PLE), diabetes + metformin (D+Metf), diabetes + *Prunus laurocerasus* extract + metformin (D+PLE+Metf). Apart from control group, in control + *Prunus laurocerasus* extract group it was observed statically significant decrease at the level of serum triglyceride but also observed a significant increase at the blood glutathione peroxides and erythrocyte superoxide dismutase activities. Apart from diabetes group, diabetes + *Prunus laurocerasus* extract, diabetes + metformin, diabetes + *Prunus laurocerasus* extract + metformin groups have a significant decrease at the levels of blood glucose, serum total cholesterol, triglyceride, plasma and tissue malondialdehyde however it is observed an significant increase at serum insulin, blood glutathione peroxides, erythrocyte superoxide dismutase, paraoksonaz and arilesteraz activities. As a result, in this research we found out that *Prunus laurocerasus* extract and metformin anti-hyperglycemic, anti-hyperlydemic and antioxidant feature and type 2 are protector and inhibitor against oxidative stress occurring in diabetes and they could be used additionally to cure diabetes.

**Key words:** Diabetes, streptozotocin, nicotinamide, *Prunus laurocerasus* (karayemiş), metformin, oxidative stres, antioxidant.

**2014, ii+71 page.**

## **TEŐEKKÜR**

Çalıőmalarım boyunca bana her konuda yardımcı ve destek olan değerli danıőmanım Doç. Dr. Sibel TAŞ' a, laboratuvar olanaklarını sağlayan Tıp Fakóltesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden Prof. Dr. Melahat DİRİCAN' a, Fen Edebiyat Fakóltesi Biyoloji Anabilim Dalı Araç. Gör. Sedef ZİYANOK' a ve her zaman yanımda olan aileme sonsuz teőekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜRLER.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGE ve KISALTMALAR.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
1.GİRİŞ .....	1
2.KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	3
2.1. Tip 2 Diyabetes Mellitus, Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller, Antioksidanlar.....	3
2.1.1. Tip 2 Diyabetes Mellitus.....	3
2.1.1.1. Beta Hücre Fonksiyon Bozukluğu.....	3
2.1.1.2. İnsülin Direnci.....	8
2.1.1.3. Hepatik Glukoz Üretimi Artışı.....	10
2.1.2. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller.....	10
2.1.2.1. Oksidatif Stres.....	10
2.1.2.2. Serbest Radikaller.....	11
2.1.2.2.1. Süperoksit Radikali ( $O_2^-$ ).....	12
2.1.2.2.2. Hidrojen peroksit radikali ( $H_2O_2$ ).....	13
2.1.2.2.3. Hidroksil Radikali ( $OH^{\cdot}$ ).....	14
2.1.2.3. Serbest Radikal Kaynakları.....	14
2.1.2.3.1. Endojen Kaynaklar.....	14
2.1.2.3.2. Eksojen Kaynaklar.....	17
2.1.2.4. Antioksidan Mekanizmalar.....	17
2.1.2.4.1. Enzim yapısında olan antioksidanlar.....	17
2.1.2.4.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD) (E. C. 1. 15. 1. 1).....	17
2.1.2.4.1.2. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) (E. C. 1. 11. 1. 9).....	18

2.1.2.4.1.3.Katalaz (CAT) (E. C. 1. 11. 1. 6).....	18
2.1.2.4.1.4. Glutasyon redüktaz (GR) (1. 6. 4. 2).....	19
2.1.2.4.1.5. Paraoksonaz (PON) .....	19
2.1.2.4.1.6. Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz (G6PD) (E. C. 1. 1. 1. 49) .....	20
2.1.2.4.2. Enzim yapısında olmayan antioksidanlar.....	21
2.1.2.4.2.1. C Vitamini (askorbik asit).....	21
2.1.2.4.2.2. E Vitamini ( $\alpha$ -tokoferol).....	21
2.1.2.4.2.3. A Vitamini ( $\beta$ -Karoten).....	22
2.1.2.4.2.4. Glutasyon (GSH).....	22
2.1.2.4.2.5. Ürik asit .....	23
2.1.2.4.2.6. Seruloplazmin.....	23
2.1.2.4.2.7. Transferrin.....	23
2.1.2.4.2.8. Ferritin.....	23
2.1.2.4.2.9. Bilirubin.....	23
2.2. Diyabet ve Oksidatif Stresle İlişkisi.....	23
2.3. <i>Prunus laurocerasus</i> ve Diyabet ile ilişkisi.....	27
2.4. Metformin ve Diyabet ile ilişkisi.....	28
3. MATERYAL.....	31
3.1. Deneyde Kullanılan Hayvanlar.....	31
3. 2. Hayvanların Gruplandırılması.....	31
3. 3. Diyabetin Oluşturulması ve <i>Prunus laurocerasus</i> Karayemiş ve Metformin Tedavisi.....	31
3.4 Sıçanlara maddelerin verilişi.....	32
3.5 Örneklerin Toplanması.....	32
3.6 Araç ve Gereçler.....	33
3. 7 Ticari Kitler.....	33
3. 8 Kimyasal Malzemeler.....	33
4. YÖNTEM .....	34
4.1. Serum Total Kolesterol (TK), Yüksek Dansiteli Lipoprotein Kolesterol (HDL-K), Trigliserit (TG) ve İnsülin Düzeylerinin Ölçümü.....	34
4.2. Eritrosit SOD Aktivitesinin Ölçümü.....	34
4.3. Eritrosit GSH-Px Aktivitesinin Ölçümü.....	36



4. 4. Serum Paraoksonaz Aktivitesinin Ölçümü.....	37
4. 5. Serum Arilesteraz Aktivitesinin Ölçümü.....	37
4.6. Doku (Kalp, Karaciğer, Böbrek ve Gastrocnemius kası) MDA Düzeyi Ölçümü.....	37
4. 7. Plazma MDA Düzeyi Ölçümü.....	38
5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	39
6.SONUÇLAR.....	39
7.TARTIŞMA.....	52
KAYNAKLAR.....	56
ÖZGEÇMİŞ.....	68

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
$\Delta$	Delta
$\delta$	Delta
$\mu\text{L}$	Mikrolitre
$\mu\text{M}$	Mikromolar
Mmol	Mikromol
%	Yüzde

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
ARE	Ariesteraz
DNA	Deoksiribonükleik asit
eNOS	Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
GR	Glutasyon reduktaz
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
G6PD	Glukoz-6- fosfat dehidrogenaz.
$\text{HO}_2\cdot$	Perhidroksil Radikali
$\text{H}_2\text{O}_2$	Hidrojen Peroksit Radikali
HDL	High Density Lipoprotein
HDL-K	HDL-Kolesterol
HOCL	Hipoloröz Asit
IDDM	Insulin Dependent Diabetes Mellitus
KAT	Katalaz
LDL	Low Density Lipoprotein
MDA	Malondialdehit
NADP	Nikotinamit Adenin Dinükleotit Fosfat (okside)
NADPH	Nikotinamit Adenin Dinükleotit Fosfat (redükte)

NIDDM	Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus
NO	Nitrojen oksit
NO <sub>2</sub>	Nitrojendioksit
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Süperoksit radikali
OH <sup>-</sup>	Hidroksil radikali
PON	Paraoksanaz
ROS	Reaktif oksijen radikali
ROO <sup>-</sup>	Peroksil Radikali
RS	Thyl radikali
RO	Alkoksil Radikali
SOD	Süperoksit dismutaz
STZ	Streptozotosin
TG	Trigliserit
TK	Total Kolesterol

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1. Oksidatif Stres (Akkuş 1995).....	11
Şekil 2. Polirol yolu.....	26
Şekil 3. <i>Prunus laurocerasus</i> (karayemiş) yaprağı ve meyvesi.....	27
Şekil 4. Metformin yapısal formülü (Yenigün ve Altuntaş 2001).....	29
Şekil 6.1. Kontrol (K), Kontrol + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı (K+PLE), Diyabet (D), Diyabet + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı (D + PLE), Diyabet + Metformin (D + Metf), Diyabet + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı + metformin (D + PLE + Metf) gruplarında 5 haftalık periyotta meydana gelen vücut ağırlığı değişimi.....	41
Şekil 6.2. Kontrol (K), Kontrol + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı (K+PLE), Diyabet (D), Diyabet + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı (D + PLE), Diyabet + Metformin (D + Metf), Diyabet + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı + metformin (D + PLE + Metf) gruplarında 5 haftalık periyotta meydana gelen kan glukoz değişimi.....	41
Şekil 6.3. Kontrol (K), Kontrol + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı (K + PLE), Diyabet (D), Diyabet + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı (D + PLE), Diyabet + Metformin (D+Metf), Diyabet + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı + Metformin (D + PLE + Metf), Kalp MDA Düzeyleri.....	48
Şekil 6.4. Kontrol (K), Kontrol + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı (K+ PLE), Diyabet (D), Diyabet + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı (D + PLE), Diyabet + Metformin (D+Metf), Diyabet + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı + Metformin (D + PLE + Metf), Kas MDA Düzeyleri.....	48
Şekil 6.5. Kontrol (K), Kontrol + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı (K+ PLE), Diyabet (D), Diyabet + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı (D + PLE), Diyabet + Metformin (D+Metf), Diyabet + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı + Metformin (D + PLE + Metf),	

Karaciğer MDA Düzeyleri.....	49
Şekil 6.6. Kontrol (K), Kontrol + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstratı (K + PLE), Diyabet (D), Diyabet + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstratı (D+ PLE), Diyabet + Metformin (D+Metf), Diyabet + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstratı + Metformin (D + PLE + Metf), Böbrek MDA Düzeyleri.....	50
Şekil 6.7. Kontrol (K), Kontrol + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstratı (K + PLE), Diyabet (D), Diyabet + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstratı (D+ PLE), Diyabet + Metformin (D+Metf), Diyabet + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstratı + Metformin (D + PLE + Metf), Plazma MDA Düzeyleri.....	50

## ÇİZELGELER DİZİNİ

### Sayfa

Çizelge 1. İnkretin hormonlarının antidiyabetik etkilerinin karşılaştırılması (Ükinç ve ark. 2007).....	7
Çizelge 2. İnsülinin metabolik olaylar üzerindeki etkileri.....	9
Çizelge 3. Sık tartışılan radikaller, simgeleri ve kimlikleri (Dündar ve Aslan 2000).....	11
Çizelge 4. 1. Eritrosit SOD Aktivitesinin Ölçümü, Deneyin Yapılışı.....	35
Çizelge 4. 2. Doku Malondialdehit (MDA) Düzeyi Ölçümü, Deneyin Yapılışı.....	38
Çizelge 6.1. Kontrol (K), Kontrol + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı (K + PLE), Diyabet (D), Diyabet + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı (D + PLE), Diyabet + Metformin (Diyabet + Metf), Diyabet + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı + Metformin (D + PLE + Metf) gruplarında yem, sıvı alımı, vücut ağırlığı, glukoz ve insülin değerleri.....	42
Çizelge 6.2. Kontrol (K), Kontrol + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı (K+ PLE), Diyabet (D), Diyabet + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı (D + PLE), Diyabet + Metformin (D + Metf), Diyabet + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı + Metformin (D+ PLE + Metf) gruplarında kolesterol, trigliserit ve HDL-Kolesterol seviyeleri.....	43
Çizelge 6.3. Kontrol (K), Kontrol + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı (K + PLE), Diyabet (D), Diyabet + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı (D+ PLE), Diyabet + Metformin (Diyabet + Metf), Diyabet + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı + Metformin (D+ PLE + Metf) gruplarında Eritrosit GSHPx ve eritrosit SOD değişimleri.....	44
Çizelge 6.4. Kontrol (K), Kontrol + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı (K + PLE), Diyabet (D), Diyabet + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı (D+ PLE), Diyabet + Metformin (D + Metf), Diyabet + <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı + Metformin (D + PLE + Metf) gruplarında PON ve Arilesteraz aktivitesi değişimi.....	45
Çizelge 6.5. Kontrol (K), Kontrol <i>Prunus laurocerasus</i> ekstraktı (K+PLE),	

Diyabet (D), Diyabet *Prunus laurocerasus* ekstraktı (K+PLE),  
Diyabet Metformin (D+Metf),  
Diyabet *Prunus laurocerasus* ekstraktı + Metformin (D+PLE+Metf),  
Kalp, Kas, Karaciğer ve Böbrek Dokusu MDA Düzeyleri.....51

## 1. GİRİŞ

Komplikasyonları ile ölüme neden olabilen diyabetes mellitus (DM), eski çağlardan beri bilinmekte ve günümüzde de önemli bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir. Bir yandan yüksek tedavi maliyetleri ve iş gücü kaybı nedeniyle, diğer yandan yüksek morbidite ve mortalite hızı ile hem hastaya hem de topluma büyük yük getirmesinden dolayı önemli bir sağlık sorunudur (Sodeman 1992). Diyabetes mellitus (DM), pankreasın insülin salgısının mutlak veya kısmi yetersizliği ya da insülin direnci sonucu oluşan aynı zamanda karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozuklukları ile karakterize, hiperglisemi ile seyreden bir hastalıktır (Cowie 2009). Diyabet, tip 1 ve tip 2 diyabet olmak üzere 2 grupta incelenir. Tip 1 diyabet, pankreas beta hücrelerinin tahribatına bağlı mutlak insülin yetersizliği ile ortaya çıkan bir tablodur ve insüline bağımlı diyabet (IDDM: Insulin Dependent Diabetes Mellitus) olarak adlandırılır. Tip 2 diyabet ise insülin direnci, pankreas beta hücrelerinin fonksiyonel bozukluğu ve karaciğerde glukoz üretimi artışına bağlı olarak ortaya çıkan bir durumdur ve insüline bağımlı olmayan diyabet (NIDDM: Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus) olarak adlandırılır (Yenigün ve Altuntaş 2001). Tip 2 diyabetin patogenezinde hem azalan insülin salınımı hem de azalan insülin duyarlılığı (insülin direnci) yer alır (Kuzuya 2001). İnsülin direnci, normal konsantrasyondaki insülinin yeterli biyolojik yanıtı oluşturamamasıdır. İnsülin, karaciğerde glukoneogenezi ve glikojenolizi inhibe ederek hepatik glikoz üretimini baskılar. Glikozu kas ve yağ dokusu gibi periferik dokulara taşıyarak burada glikojen olarak depolanmasını ya da enerji üretmek üzere okside olmasını sağlar. İnsülin direncinde, insülinin karaciğer, kas ve yağ dokusundaki bu etkilerine karşı direnç oluşarak hepatik glikoz baskılanması bozulur. İnsüline karşı oluşan bu dirence karşı pankreas beta hücrelerinden normalden daha fazla insülin salgılanır ve beta hücrelerinde fonksiyon kaybına neden olur. Beta hücrelerindeki bu bozulma insülin sekresyonunda bozulmaya yol açar. Bozulan insülin sekresyonu hiperglisemiye neden olur. Sonuçta tip 2 diyabette neden ne olursa olsun hiperglisemik tablo diyabetin en belirgin sonucudur (Yenigün ve Altuntaş 2001). Uzun süreli hiperglisemi nedeni ile hücre dışı proteinlerin non-enzimatik glikasyonuna bağlı olarak serbest radikal üretiminde artış olmaktadır. Diyabette serbest radikallerin artışına bağlı olarak oksidatif stres gelişir (Baynes 1991). Oksidatif stres, serbest radikaller (oksidan veya prooksidan) ve antioksidanlar arasındaki dengenin serbest radikaller lehine



bozulması sonucu oluşur. Antioksidanlar ise dokuları ve hücreleri oksidatif hasardan korur (Dündar ve Aslan 2000). Antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan sistemler olmak üzere ikiye ayrılır. Enzimatik olanlar daha çok hücre içinde etkilidir, enzimatik olmayanlar ise hücre dışında daha fazla etkilidir. Diyabette etki gösteren antioksidan vitaminler; vitamin A, vitamin C ve vitamin E ve enzimler, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GR), glutatyon S-Transferaz ( GST)' dir. Bunların dışında paraoksanaz (PON1) ve arilesteraz (ARE)' da son dönemlerde araştırılan antioksidan enzimler arasında yer almaktadır. Normal durumlarda oksidanlar ve antioksidanlar denge halindedir. Diyabette ise bu denge serbest radikaller lehine bozulmuştur. Bu denge antioksidanlar lehine artarsa diyabetin komplikasyonları ile başa çıkılabileceği belirtilmektedir (Memişoğulları 2005). Bu yüzden bir oksidatif stres durumu olan diyabet tedavisinde antidiyabetik ilaçlara (metformin, fenformin, troglitazon vb) ek olarak antioksidan özelliği olan maddeler de tavsiye edilmektedir. Bu sebeple araştırılan antioksidan özelliği olan maddelerden biri *Prunus laurocerasus* (karayemiş)' tur.

Yapılan araştırmalarda *Prunus laurocerasus* (karayemiş) bitkisinin meyvesinde bulunan bileşenlerin antidiyabetik, antiseptik etkisinin olduğu (Şenaylı ve ark. 2012, Akkola ve ark. 2012) bununla birlikte antioksidan özellikleri olduğu belirtilmiştir (Alasavar ve ark. 2006, Harrison ve ark. 1980, Celep ve ark. 2012). Metforminin ise antidiyabetik bir ilaç olarak özellikle tip 2 diyabette kullanıldığı bilinmektedir. Yaptığımız literatür araştırmalarında tip 2 diyabetli sıçanlarda karayemiş ve metforminin oksidan / antioksidan sistemler üzerine etkisi ile ilgili sınırlı çalışma bulunmaktadır. Özellikle metformin ve *Prunus laurocerasus* (karayemiş) ekstraktının kombine olarak verildiği herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada, tip 2 diyabet oluşturulmuş sıçanlarda metforminin, *Prunus laurocerasus* (karayemiş) ekstraktının ve *Prunus laurocerasus* (karayemiş) ekstraktı + metforminin kombine edilmiş şekilde verilmesi sonucunda kan glukoz, serum insülin, eritrosit süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), paraoksanaz (PON) ve arilesteraz (ARE) ile plazma ve kalp, kas, böbrek ve karaciğer doku malondialdehit (MDA) düzeylerindeki etkileri araştırıldı.

## **2. KAYNAK ARAŞTIRMASI**

### **2.1. Tip 2 Diyabetes Mellitus, Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller, Antioksidanlar**

#### **2.1.1. Tip 2 Diyabetes Mellitus**

Diabetes Mellitus (DM), pankreasın insülin salgısının mutlak veya kısmi yetersizliği ya da insülin direnci sonucu oluşan aynı zamanda karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozuklukları ile karakterize, hiperglisemi ile seyreden bir hastalıktır (Cowie 2009). Diyabetes mellitus tip 1 ve tip 2 diyabet olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Tip 1 diyabet otoimmün beta hücre yıkımı ve mutlak insülin eksikliği sonucu ortaya çıkar. Tip 2 diyabette ise insülin eksikliğinden çok, hedef dokularda insüline karşı direnç vardır (Özata ve Yöner 2006, Kahn ve ark. 2005). DM’ da görülen hipergliseminin varlığı ile polidipsi, poliüri, polifaji, glukozüri ve kilo kaybı gibi belirtiler ortaya çıkar. Ağır vakalarda, ketoasidoz ya da hiperglisemik-hiperozmolar durumlar görülebilir ve uygun şekilde tedavi edilmezse bilincin bozulması ile komaya hatta ölüme yol açar. Uzun dönem komplikasyonları ise diyabete özgü retinopati, nefropati ve nöropati gibi semptomları içerir (Kuzuya 2001).

Tip 2 diyabet insülin etkisinin ve daha hafif düzeylerde insülin salgısının yetersizliği ile gelişir (Koloğlu 1996). Tip 2 diyabetin patogeneğinde 3 faktör yer almaktadır:

- 1) Pankreas beta hücrelerinin fonksiyon bozukluğu ve bozulmuş insülin sekresyonu
- 2) İnsülin duyarlılığında azalma ve insülin direnci
- 3) Karaciğerde glukoz üretimi artışı (Yenigün ve Altuntaş 2001)

Bunun yanı sıra genetik faktörlerde diyabetin nedenleri arasında önemli rol oynar. Neden ne olursa olsun tip 2 diyabet insülin yetersizliği sonucu hiperglisemi ile kendini gösterir ve karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında bozulmalara neden olur (Kuzuya 2001).

#### **2.1.1.1. Beta Hücre Fonksiyon Bozukluğu**

Normal glukoz toleransından bozulmuş glukoz toleransına geçildiğinde yani tip 2 diyabet geliştiğinde hiperinsülinemi oluşur. Açlık glukoz düzeyi 80 mg/dl’ den 140 mg/dl’ ye yükseldiğinde insülin düzeyi normal sağlıklı bireylere göre 2 - 2,5 kat artar. Açlık glukoz düzeyi 140 mg/dl’ yi geçtiğinde ise beta hücrelerinden insülin salgılanması daha fazla artamaz ve açlık hiperglisemi düzeyi arttıkça insülin

salgılanması da kademeli olarak azalmaya başlar. İnsülin salgılanması azalmaya başladığı zaman karaciğerde glukoz üretimi artmaya başlar ve açlık gliseminin yükselmesine büyük katkıda bulunur (Yenigün ve Altuntaş 2001).

*İnsülin salgılanmasında bozulmaya neden olan faktörler:*

**1-) İnsülin salgısında kantitatif bozukluklar:** Preklinik dönemde var olan insülin direncinin normale göre daha fazla insülin salınarak aşılmaya çalışılmasıyla normal glukoz toleransı sürdürülür.

**2-) İnsülin salgısında kalitatif bozukluklar:** İnsülin salgısının azalması yanında hedef dokuda insülinin etkisini potansiyalize eden insülin salgısında belirgin değişiklikler olur. Bunlar birinci faz insülin salgısının bozulması ve pulsatil insülin salgılanması bozukluklarıdır.

***a-) Birinci faz insülin salgısının bozulması:*** İntravenöz glukoz verilmesini izleyen ilk 10 dakikada, insülin salgılanmasında hızlı bir artış olur. İlk 2-4 dakikalar arasında zirve yapan insülin salgılanması 6. dakikadan sonra bu hızını kaybeder. Birinci faz insülin salgılanması adı verilen bu 10 dakikalık dönemden sonra insülin salgısı giderek azalır bu sürece de ikinci faz insülin salgılanması adı verilir. Tip 2 diyabet gelişecek olanlarda birinci faz insülin salgısının kaybolması erken saptanabilen bir bulgudur. Bu defekt açlık plazma glukozu 115-120 mg/dl' yi geçmedikçe oluşmaz. Burada ayrıca gecikmiş ikinci faz da mevcuttur. Birinci faz insülin salgısının kaybolması ile glukagonun hepatik glukoneogenezi arttırıcı etkisi belirginleşir. İkinci faz insülin salgılanmasının azalması ile de hepatik glukoz üretimi üzerindeki baskılayıcı etki azalır. Fakat birinci faz insülin salgı defektinin insülin direncinin patogenezinde de rol oynadığı ileri sürülmüştür. Yapılan çalışmalarda bozulmuş glukoz toleransı (IGT)' ndan tip 2 diyabete geçildiğinde insülin duyarlılığında azalma ile birlikte birinci fazı da içeren insülin salgılanmasında karşıt olarak artış görülmüştür. Ayrıca sıkı metabolik kontrolün birinci faz insülin salgısını düzeltmesi bu defektin glukoz toksisitesi sonucu olduğunu düşündürmektedir.

***b-) Pulsatil İnsülin salgılanmasının bozulması:*** Normalde insülin her 5-15 dakikada bir periyodik olarak salgılanır. Salgılanma hızlı ve kısa süreli dalgalanmalar şeklinde olup glukagon düzeyi ile eş zamanlıdır. Bu pulsatil salgılanma biçimi hedef dokularda insülin reseptörlerinin down-regulasyonunu önleyerek insülin duyarlılığının normal

sınırlarda kalmasını sağlar. Pulsatil olmayan sürekli insülin salgılanması ise reseptörlerde down-regulasyona yol açarak insülin direncine yol açar. Tip 2 diyabetli hastalar ve birinci derece yakınlarında, hızlı ve kısa süreli dalgalanmalar yerine düzensiz ve daha kısa süreli dalgalanmalar oluşmaktadır (Yenigün ve Altuntaş 2001).

**3-) Proinsülin salgılanmasında anomaliler:** Proinsülin insülinin % 5' i kadar biyolojik etkiye sahiptir. İnsülin aktivitesinin normal bireylerde % 2-4' ünü, tip 2 diyabetli bireylerde ise % 8-10' unu oluşturur. Proinsülinin % 70' ini 32-33 split (kırılmış) proinsülin oluşturur. Proinsülin ve split proinsülinlerin temizlenmesi yavaş olduğundan ve insülin ölçümünde kullanılan radioimmunoassay (RIA) yöntemleri insülinin yanında proinsülinleri de (sağlam ve kırılmış) ölçtüğünden insülin düzeyleri olduğundan yüksek bulunur. Tip 2 diyabette açlık total immünoreaktif insülin artışı ortaya çıkar bu da normal insülin düzeyleri üzerine eklenmiş olan artmış proinsülin düzeyinin bir sonucu olarak hiperinsülinemi gösterir. Gerçekte bu hiperinsülinemi olmayıp artmış proinsülin / insülin oranı göz önüne alındığında bir insülinopenidir. İnsülin direnci ve kronik hiperglisemi sonucu beta hücrelerinin sürekli uyarılması proinsülin sentezini artırarak 32-33 kırılmış proinsülin / insülin oranının artmasına yol açar. Dolayısıyla sürekli artan glukoz konsantrasyonlarında daha fazla proinsülin sentezlenir ve proinsülini 32-33 kırılmış proinsüline dönüştürme yeteneğinde bir artış olmasına rağmen insüline dönüştürmede bir artış olmayacaktır. Buradan yola çıkarak plazmadaki sağlam ve 32-33 kırılmış proinsülin konsantrasyonlarının ölçümünün insülin direncine veya beta hücre salgılama kapasitesine ya da her ikisine bağlı olarak beta hücresinde oluşan fonksiyon bozukluğunu yansıtabileceği ileri sürülmektedir (Yenigün ve Altuntaş 2001).

**4-) Düşük doğum ağırlığı (Thrifty-idareli fenotip hipotezi):** Son yıllarda yapılan çalışmalar düşük doğum ağırlığı ile erişkin yaşta ortaya çıkan bozulmuş glukoz toleransı ve tip 2 diyabet arasında bir ilişkinin olabileceğini göstermektedir. Fetüs ve bebeğin gelişimindeki yetersizliğin fetüs ve bebeğin yeterince beslenmemesine bunun da annenin yetersiz beslenmesine bağlı olduğu düşünülmektedir. Bu şekilde yetersiz beslenmeye maruz kalan fetüs aldığı besini idareli kullanmak için birtakım stratejiler geliştirerek beyin gibi hayati organlara öncelik vererek karaciğer ve pankreas gibi daha az hayati organların daha az beslenmesine yol açar. Sonuçta pankreas ve beta hücrelerinin yetersiz gelişimi düşük doğum ağırlığı ile sonlanır. Fötal gelişim sırasında

sağlanan bu adaptasyon, erişkin yaşamda ek risk faktörlerinin (obezite, yaşlanma, insülin direnci) eklenmesi ile bozulur (Yenigün ve Altuntaş 2001).

**5-) Glukoz toksisitesi:** Hipergliseminin kendisi hem beta hücresi üzerine etki ederek insülin salgılanmasını baskılar hem de periferik dokularda insülinin kullanılmasını azaltır. Hipergliseminin beta hücresi üzerine olan bu olumsuz etkisine glukoz toksisitesi adı verilmektedir. Hiperglisemi durumunda sıkı metabolik kontrol ile (diyet, sulfonilüre ve insülin tedavisi ile) insülin salgılanmasının düzeldiğinin gözlenmesi hipergliseminin kendisinin insülin salgılanması üzerine baskılayıcı bir etkisinin olabileceğini düşündürmüştür. Ayrıca yüksek glukozla sürekli maruz kalan beta hücresinde insülin gen transkripsiyonunun bozulduğu bunun da insülin sentezi ve sekresyonunu azalttığı gösterilmiştir (Yenigün ve Altuntaş 2001).

**6-) Adacık amiloid polipeptid (Amilin):** Beta hücresindeki insülin salgı granüllerinde insülin ile birlikte üretilip beraberce salgılanan bir hormondur. Normalde bu hormon akut hiperglisemi sırasında veya diğer uyaranlara karşı insülin ile birlikte salgılanır. Amilin kanda insülinde çok daha düşük bir seviyede (amilin / insülin: 1 / 50-60) bulunmasına rağmen insülinin etkisini inhibe edebileceği düşünülmektedir. Plazma amilin düzeyi obez, plazma glukoz intoleransı olan bireylerde ve tip 2 diyabetli hastaların birinci derece yakınlarında yüksek bulunmuştur. Amilinin hücre dışında beta hücrelerine bitişik olarak birikmeye başlayarak, besinlerin plazmadan beta hücresine girişini engellediği ve sonuçta beta hücresinin ölümüne yol açtığı ileri sürülmektedir (Yenigün ve Altuntaş 2001).

**7-) İnkretinler [Glukagon like peptide 1 (GLP-1), Gastrik inhibitör polipeptid (GİP)]:** Oral glukoz verildiğinde insülin sekresyonunun artmasına neden olan faktörlere “inkretinler” denir (Yenigün ve Altuntaş 2001). Yapılan çalışmalarda intravenöz verilen glukoz ile oral verilen glukozun insülin sekresyonunu eşit oranda uyarmadığı, oral verilen glukozun pankreastan insülin sekresyonunu daha fazla uyardığı tespit edilmiştir. Bu farkı oluşturan ise oral glukoz alımından sonra gastrointestinal sistemden sentezlenip salınan ve pankreastan insülin sekresyonunu uyaran inkretin hormonlarıdır. Bunlardan en önemlileri distal bağırsaktaki (ileum ve kolon) L hücreleri tarafından sentezlenen glukagon benzeri peptid 1 (GLP-1) ve proksimal bağırsaktaki (duodenum) K hücreleri tarafından salgılanan glukozla bağımlı insülinotropik polipeptiddir (GİP). İlk izole edilen inkretin gastrik inhibitör polipeptid (GİP)’ dir. Mide asidini inhibe ettiği

için gastrik-inhibitör polipeptid (GİP) olarak adlandırılmıştır. Daha sonra ise, GİP molekülünün insülotropik ve kan şekeri düzenleyici etkisinin daha güçlü; gastrik inhibitör etkisinin daha zayıf olduğu anlaşılmıştır (Dupre ve ark. 1973, Maxwell ve ark. 1980). Bu keşif sonrası molekülün ismi glikoz-bağımlı insülotropik polipeptid olarak değiştirilmiştir (Dupre ve ark. 1973, Andersen ve ark. 1978). İntestinal bölgeden salgılanan en önemli inkretin ise glukagon benzeri peptid-1 (glukagon-like peptide GLP-1)' dir. GİP ve GLP-1 glukoza bağımlı insülotropik etkilerini pankreasın beta hücrelerinin yüzey reseptörlerine bağlanıp cAMP artışı ile göstermektedir. Uzun dönemde ise beta hücrelerinin gen ekspresyonlarını artırıp insülin sentezinde artış, hücre kitlesinde artışla birlikte beta hücrelerinin daha uzun ömürlü olmalarını sağlamaktadır. İnkretin hormonlarının fizyolojik özellikleri ve farkları Çizelge 1'de özetlenmiştir (Ükinç ve ark. 2007).

<b>Fizyolojik Etki</b>	<b>GLP-1</b>	<b>GİP</b>
Plazma glukozunun azaltılması	+	+
Glukoza bağımlı insülin sekresyonu	+	+
$\beta$ -hücresinin glukoza cevabını artırma	+	+
$\beta$ -hücresinin gen ekspresyonu ve diferansiyasyonunu artırma	+	+
Glukagon supresyonu	+	-
Somatostatin supresyonu	+	-
$\beta$ -hücresinin artışı	+	+
$\beta$ -hücresinin yaşam süresinin uzatılması	+	+
Pankreas dışı glukoz azaltıcı etki	+	+
Gastrik boşalmayı yavaşlatması	+	-
Doygunluğu artırıcı etkisi	+	-
Vücut ağırlığında azalma	+	-
GLP-1: “ Glukagon like peptide-1 ”		
GIP: “ Glukoza bağımlı insülinotropik polipeptid ”		

**Çizelge 1.** İnkretin hormonlarının antidiyabetik etkilerinin karşılaştırılması (Ükinç ve ark. 2007, Baggio ve Drucker 2007).

Diyabetik hastalarda postprandial dönemde inkretinlerle artırılması gereken total insülin cevabında belirgin bir azalma mevcuttur (Nauck ve ark. 1986). Bu azalmanın sebebi, yemek ile uyarılan GLP-1 düzeylerinde, diyabetik hastalarda gözlenen hafif fakat anlamlı düşüş ve GIP' in geç dönemde amplifiye edilememesidir (Elahi ve ark. 1994, Nauck ve ark. 1993). Ayrıca tip 2 diyabetli hastalarda GLP-1' in glukoinkretin etkisi azalmakla beraber GLP-1 düzeyinin normal veya artmış olarak bulunması GLP-1' e karşı beta hücre rezistansı olduğunu göstermektedir (Ükinç ve ark. 2007).

**8-) Lipotoksiste:** Lipit metabolizmasındaki değişikliklerin glukoz ile uyarılmış insülin salgılanması üzerine önemli rolleri vardır. Yüksek düzeyde serbest yağ asitlerine maruz kalma sonucunda beta hücresinde trigliserit birikerek apoptozise yol açmaktadır. Aynı zamanda yağ asitleri, proinsülinin insüline çevrilmesinde rol alan enzimlerin posttranslational işlemini de azaltır (Yenigün ve Altuntaş 2001).

**9-) İnsülin salgılanma bozukluğunda genetik nedenler:** Glukozun beta hücresi tarafından tanınmasıyla insülinin sentez ve salgılanmasında rol oynayan spesifik proteinlerde meydana gelen mutasyonlar beta hücresinde fonksiyon bozukluğuna neden olmaktadır. Şimdiye kadar glukokinaz geni, mitokondriyal DNA geni, insülin geni ve insülin metabolizmasındaki enzimlere ait genlerde mutasyonlar tanımlanmıştır. Bu mutasyonlar oldukça nadir olup tüm Tip 2 diyabetlerin % 1-2' sini oluştururlar (Yenigün ve Altuntaş 2001).

### **2.1.1.2. İnsülin Direnci**

İnsülin, moleküler ağırlığı 6000 dalton (Da) olan polipeptit yapılı bir hormondur. Birbirine disülfid köprüleri ile bağlanmış A (kısa) ve B (uzun) diye adlandırılan iki düz aminoasit zincirinden oluşmuştur. A zinciri 21 aminoasit, B zinciri 30 aminoasit içerir. İnsülin, pankreasta Langerhans adacıklarındaki beta hücrelerinde sentezlenir. Bu hücrelerin ribozomlarında molekül ağırlığı yaklaşık 11500 olan 110 aminoasitten oluşan tek zincirli pre-proinsülin adı verilen öncü molekül sentezlenir. Pre-proinsülin endoplazmik retikulum lümenine gelince 24 aminoasitten oluşan sinyal peptidini (N ucunu) kaybeder ve molekül ağırlığı yaklaşık 9000 olan proinsülin oluşur. Proinsülin golgi aygıtına geçer ve burada yer alan proteazların etkisiyle 35 aminoasitten oluşan bağlayıcı peptidinden (C peptid) ayrılır. C peptidini kaybeden insülin, çinko iyonu ile

veziküllerde depolanır. Normal durumda salgılanan hormonun % 95' i insülin, %5' i proinsülin şeklindedir. İnsülin karbonhidratların, proteinlerin, yağların ve nükleik asitlerin sentezi ve depolanması ile ilgili metabolik olayları düzenler (Guyton ve Hall 2001, Ganong 2002). İnsülinin karaciğer, kas ve yağ dokuda karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması üzerine etkileri çizelge 2' de gösterilmiştir (Süzer 2005).

Metabolizma Tipi	Karaciğer	Yağ dokusu	Kas
<b>Karbonhidrat metabolizması</b>	Glukoneogenez ↓ Glukojenoliz ↓ Glukoliz ↑ Glikojen sentezi ↑	Glukoz alımı ↑ Gliserol sentezi ↑	Glukoz alımı ↑ Glukoliz ↑ Glikojen sentezi ↑
<b>Yağ metabolizması</b>	Lipogenez ↑ Lipoliz ↑	Trigliserit sentezi ↑ Yağ asiti sentezi ↑ Lipoliz ↓	
<b>Protein metabolizması</b>	Protein yıkımı ↓		Aminoasit alımı ↑ Protein sentezi ↑
↑: Arttırır ↓: Azaltır			

**Çizelge 2.** İnsülinin metabolik olaylar üzerindeki etkileri

***İnsülinin Fizyolojik Etkileri:***

- Glukozun kas hücrelerine girişini, kullanımını ve depolanmasını arttırır. Ayrıca kas hücre zarı üzerinde glukoz taşınmasını kolaylaştırır.
- Karaciğerde glikojeni glukoza parçalatan enzim olan karaciğer fosforilazı inaktive eder. Böylece karaciğer hücrelerinde depolanmış glikojenin yıkılması önlenir. Glikokinaz enziminin aktivitesini artırarak karaciğer hücreleri tarafından kandan



glukoz alınmasını arttırır. Ayrıca glikojen sentezini hızlandırır. Glikojenoliz ve glikoneojenezisi inhibe eder.

- Yağ dokusunda lipolizi baskılar. Yağ asidi ve gliserol fosfat sentezini arttırır (Guyton ve Hall 2001, Ganong 2002)

İnsülin direnci, insülinin normal konsantrasyonda olmasına rağmen yeterli biyolojik yanıtı oluşturamaması ya da insülinin glukoz kullanımını uyarma etkisinin azalmasıdır. İnsülin normalde karaciğerde glukoneogenezi ve glikojenolizi inhibe ederek hepatik glukoz üretimini baskılar. Ayrıca glukozu kas ve yağ dokusu gibi periferik dokulara taşıyarak burada ya glikojen olarak depolanmasını ya da enerji üretmek üzere okside olmasını sağlar. İnsülin direncinde insülinin karaciğer, kas ve yağ dokusundaki bu etkilerine karşı direnç oluşarak hepatik glukoz baskılanması bozulur. Kas ve yağ dokusunda da insülin aracılığı ile olan glukoz kullanımı azalır. Bu durumda oluşan insülin direncini karşılayacak ve dolayısıyla normal biyolojik yanıtı sağlayacak kadar insülin salgısı artışı ile bu durum dengelenir. Böylelikle hipergliseminin önlenmesi için beta hücreleri sürekli olarak insülin salgısını arttırmaya yönelik bir çaba içerisine girer. Sonuçta normoglisemi sağlanırken insülin düzeyi de 1,5 - 2 kat artar. Bu süreçte beta hücresinde, başlangıçta bir bozukluk yoktur. Ancak fonksiyon kaybı başlayınca insülin salgısı da giderek azalır ve diyabet ortaya çıkar (Yenigün ve Altuntaş 2001).

### **2.1.1.3. Hepatik Glukoz Üretimi Artışı**

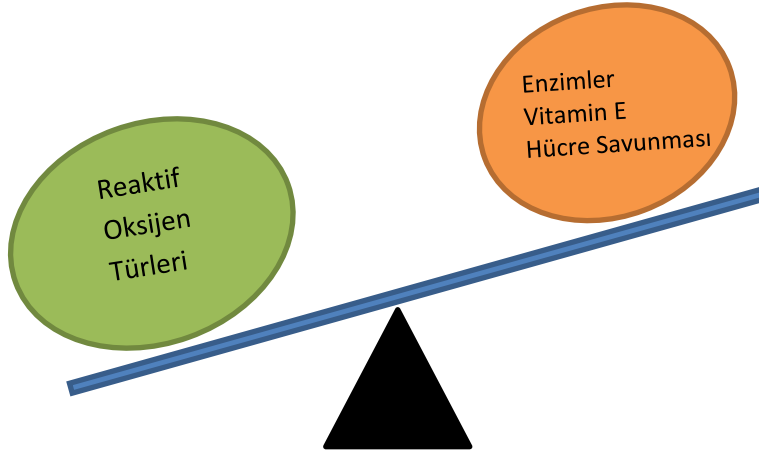
Hepatik glukoz üretimindeki artış açlık kan şekerinin artmasına yol açar. Karaciğerden glukoz yapımı glikojenolizis veya glukoneogenez yolu ile olmaktadır. Hepatik glukoneogenezdeki artışın kesin mekanizması bilinmemekle beraber insülin eksikliği glukoneogenezi arttırır. Bu durumda açlık hipergliseminin artmasına neden olur (Yenigün ve Altuntaş 2001).

### **2.1.2. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller**

#### **2.1.2.1. Oksidatif Stres**

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisindedir ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin

bozulmasına neden olur. Serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki dengenin bozulmasına “oksidatif stres” denir (Altan ve ark. 2009). Oksidatif stres ateroskleroz, nörolojik hastalıklar, astım, diyabetes mellitus, romatoid artrit gibi romatolojik hastalıklar, hipertansiyon, çeşitli deri ve göz hastalıkları, kanser ve yaşlanma dahil birçok hastalığın oluşumuna yol açmaktadır (Altan ve ark. 2009, Akkuş 1995).



Şekil 1. Oksidatif Stres (Akkuş 1995)

#### 2.1.2.2. Serbest Radikaller

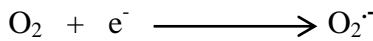
Dış orbitallerinde bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron içeren atom ya da moleküllere serbest radikal denir (Fang ve ark. 2002). Serbest radikaller negatif yüklü, pozitif yüklü ya da nötral olabilirler. Serbest radikaller hücrelerin lipit, protein, DNA, karbohidratlar gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler ve yapılarının bozulmalarına neden olurlar. Biyolojik sistemlerdeki reaktif oksijen türleri (ROS), süperoksit anyonu, hidroksil radikali, nitrik oksit, peroksil radikali ve radikal olmayan hidrojen peroksit gibi serbest radikaller oksidatif stresin en önemli nedenlerinden birini oluştururlar (Kuyvenhoven ve Meinders 1999).

**Çizelge 3.** Sık tartışılan radikaller, simgeleri ve kimlikleri (Dündar ve Aslan 2000)

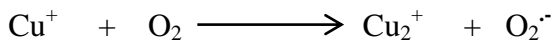
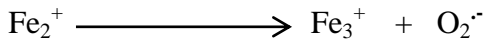
Hidrojen	H <sup>·</sup>	Bilinen en basit radikal
Süperoksit	O <sub>2</sub> <sup>·-</sup>	Oksijen metabolizmasının ilk ara ürünü
Hidroksil	OH <sup>·</sup>	En toksik (reaktif) oksijen metaboliti radikal
Hidrojen peroksit	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Reaktivitesi çok düşük, moleküler hasar yeteneği zayıf
Singlet oksijen	O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Yarılma ömrü hızlı güçlü oksidatif oksijen formu
Perhidroksi radikal	HO <sub>2</sub> <sup>·</sup>	Lipitlerde hızlı çözünerek lipit peroksidasyonunu artırır
Peroksil radikal	ROO <sup>·</sup>	Perhidroksile oranla daha zayıf etkili, lipitlere lokalize olur
Triklorometil	CCl <sub>3</sub>	CCl <sub>4</sub> metabolizması ürünü karaciğerde üretilen bir radikal
Thyl radikali	RS <sup>·</sup>	Sülfürlü ve çiftlenmemiş elektron içeren türlerin genel adı
Alkoksil	RO <sup>·</sup>	Organik peroksitlerin yıkımı ile üretilen oksijen metaboliti
Nitrojen oksit	NO	L-arjinin aminoasitinden in vivo üretilir
Nitrojendioksit	NO <sub>2</sub>	NO <sup>·</sup> in oksijen ile reaksiyonundan üretilir

#### 2.1.2.2.1. Süperoksit Radikali ( O<sub>2</sub><sup>·-</sup> )

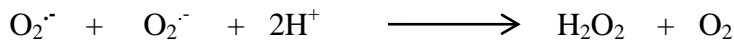
Süperoksit radikali (O<sub>2</sub><sup>·-</sup>) hemen hemen tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin (O<sub>2</sub>) bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur.



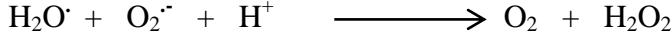
İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu süperoksit radikalini meydana getirebilir.



Süperoksit radikalinin kendisi direkt olarak zarar vermez. Bu radikal anyonun asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır (Akkuş 1995). Süperoksit radikali, 7.2' lik pH' da 3.8x 10<sup>-5</sup> M/s sabitesinde daha stabil bir metabolit olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' e dönüşür (Dündar ve Aslan 2000).



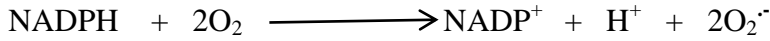
Süperoksit radikali ile perhidroksi radikali birbirleriyle reaksiyona girince biri okside olur diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonunda moleküler oksijen ve hidrojen peroksit meydana gelir (Akkuş 1995).



Süperoksit radikali hem oksitleyici hem indirgeyici özelliğe sahiptir. Örneğin ferrisitokrom c ya da nitroblue tetrazolium ile reaksiyonunda indirgeyici olarak davranarak bir elektron kaybeder ve moleküler oksijene okside olur (Akkuş 1995).



Süperoksit ve hidrojen peroksit ayrıca inflamatuvar süreçler sırasında makrofajlar ya da nötrofillerin aktif hale getirdiği NADPH oksidaz tarafından enzimatik olarak oluşturulur (Sorg 2004).

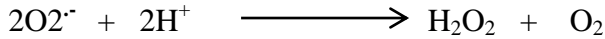


#### 2.1.2.2.2. Hidrojen peroksit radikali ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )

Hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), süperoksidin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması veya moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması sonucu oluşan peroksitin iki proton ( $\text{H}^+$ ) ile birleşmesi sonucu meydana gelir.

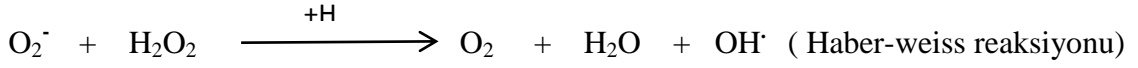
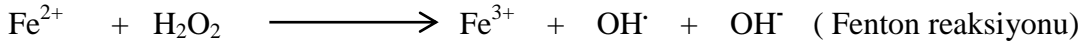


Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi, süperoksidin ( $\text{O}_2^\cdot$ ) dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü, süperoksidin dismutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar.



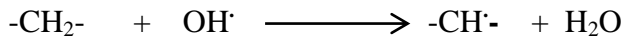
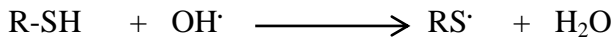
Bu reaksiyonda, radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir, ya spontan gerçekleşir ya da süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalizlenir. Spontan dismutasyon pH 4,8' de en hızlıdır, enzimatik dismutasyon ise spontan dismutasyonun nispeten yavaş olduğu nötral ya da alkali pH' da daha belirgindir. Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri (ROS) kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü hidrojen peroksit  $\text{Fe}^{2+}$  veya diğer geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu sonucu ya da süperoksit radikalının ( $\text{O}_2^\cdot$ ) varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu en

reaktif ve zarar verici, serbest oksijen radikali olan hidroksil radikalini (OH<sup>•</sup>) oluşturur (Akkuş 1995).



### 2.1.2.2.3. Hidroksil Radikali (OH<sup>•</sup>)

Hidroksil radikali (OH<sup>•</sup>), Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten oluşmaktadır. Ayrıca suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda oluşur. Hidroksil radikali son derece reaktif bir oksidan radikaldir, yarılanma ömrü çok kısadır. Hidroksil radikali olasılıkla reaktif oksijen türlerinin (ROS) en güçlüsüdür. Oluştugu yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak tiyil radikalleri (RS<sup>•</sup>), karbon merkezli organik radikaller (R<sup>•</sup>), organik peroksitler (RCOO<sup>•</sup>) gibi yeni radikallerin oluşmasına ve sonuçta büyük hasara neden olur (Akkuş 1995).

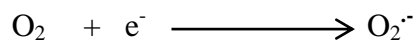


### 2.1.2.3. Serbest Radikal Kaynakları

#### 2.1.2.3.1. Endojen Kaynaklar

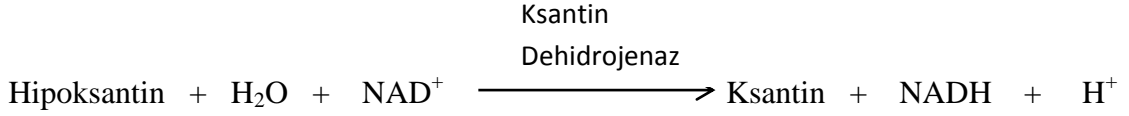
Hücrede normal metabolik yollardaki enzimatik reaksiyonlarda enzimlerin aktif yerinde ara ürünler olarak devamlı şekilde serbest radikaller oluşabilir. Bazen bu serbest radikal ara ürünler enzimlerin aktif yerinden sızarlar, moleküler oksijenle etkileşebilirler ve sonuçta serbest oksijen radikalleri oluşur.

1. Mitokondrial Elektron Transport Zinciri: Hücrelerde en büyük serbest oksijen radikali kaynağı iç mitokondriyal membranda yer alan elektron transport zincirinden sızıntıdır. Mitokondri iç zarında yerleşmiş oksidatif fosforilasyon zinciri bileşenleri büyük oranda indirgendiği zaman mitokondriyal süperoksit radikal üretimi artar.

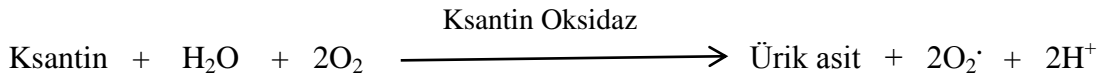
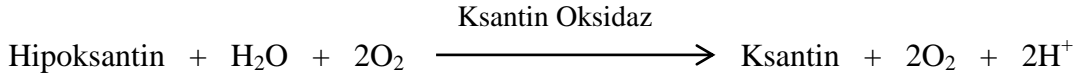


2. İskemi-Reperfüzyon Hasarı: Birçok enzimin katalitik döngüsü sırasında serbest radikaller ortaya çıkar. Bu enzimlerden biri ksantin oksidazdır. Ksantin oksidaz

hasarlanmamış dokularda bir dehidrojenaz olarak vardır, pürinlerin yıkılım yolunda hipoksantinden ksantin ve ksantinden ürik asit oluşumu basamaklarında elektron alıcısı olarak moleküler oksijenden ( $O_2$ ) daha çok  $NAD^+$  kullanır.



Oksijensizliğe bağlı olarak ADP' nin ATP' ye fosforilasyonunun azaldığı durumlarda (iskemi durumlarında) ADP yıkılır ve pürin bazı, ksantin oksidazın bir oksidaz olarak etkili olmasıyla hipoksantine dönüştürülür. Ksantin oksidazın oksidaz olarak aktivite göstermesi durumunda hipoksantin ksantine ve ksantin ürik aside dönüşürken moleküler oksijen kullanılmakta, moleküler oksijen hidrojen peroksit indirgenmektedir. İskemi durumlarında oksijen seviyesi düşük olduğundan önemli hasar olmaz. Ancak oksijen seviyesi reperfüzyon sırasında normale dönünce iskemi yerinde ksantin oksidaz etkisiyle fazla miktarda hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve süperoksit radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ) oluşur, bunların etkisiyle de iskemi/reperfüzyon hasarı denen durum ortaya çıkar. Ksantin oksidazın özellikle intestinal mukoza hücrelerinde görülen iskemi/reperfüzyon hasarında önemli faktör olduğu düşünülmektedir.



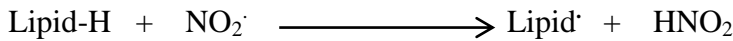
3. Peroksizomlar: Peroksizomlar çok önemli hücre içi hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) kaynağıdır. Peroksizomlardaki D-aminoasit oksidaz, urat oksidaz, L-hidroksil asit oksidaz ve yağ asidi açıl-CoA oksidaz gibi oksidazlar, süperoksit üretmeden bol miktarda hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) üretimine neden olurlar. Ancak peroksizomlarda, hidrojen peroksidin suya ayrışmasını katalizleyen katalaz (CAT) enziminin aktivitesi de çok yüksek olduğundan hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )' in zarar verici etkisini azaltır.

4. Araşidonik asit metabolizması: Araşidonik asit metabolizması da reaktif oksijen metabolitlerinin önemli bir kaynağıdır. Fagositik hücrelerin uyarılması, fosfolipaz ve protein kinazın aktivasyonuna ve plazma membranından araşidonik asitin serbestleşmesine yol açar. Araşidonik asitin enzimatik oksidasyonu da çeşitli serbest radikal ara ürünleri meydana gelir.

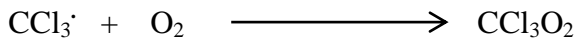
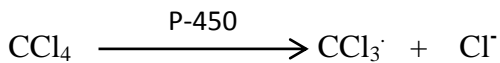
5. Solunumsal Patlama: Aktive olmuş makrofajlar, nötrofiller ve eozinofillerin fagositik solunumsal patlaması sırasında çeşitli serbest radikaller oluşur. Fagositlerin uyarılması, heksoz monofosfat yoluyla glukozun oksidasyonunda artışa yol açar. Solunumsal patlama sırasında elektron vericisi olarak NADPH kullanılır ve moleküler oksijenin ( $O_2$ ) süperoksit radikaline ( $O_2^{\cdot-}$ ) indirgenmesi sonucu  $NADP^+$  üretimi artar ve heksoz monofosfat yolu aktive olur. Heksoz monofosfat yolunun aktivasyonuna neden olan  $NADP^+$  nin diğer kaynağı hidrojen peroksidin ( $H_2O_2$ ) detoksifikasyonundan sorumlu olan glutatyon peroksidaz-glutatyon redüktaz sistemidir.

6. Toksik Maddeler: Bazı yabancı toksik maddeler hücrede serbest radikal üretimini artırır. Bu maddeler ya doğrudan serbest radikal üretirler ya da serbest radikallerin ortadan kaldırılmasını sağlayan antioksidan aktiviteyi düşürürler. Bu tip maddeler dört grupta toplanabilirler:

i-) Toksinin kendisi bir serbest radikaldir. Örneğin kirli havanın koyu rengini veren azot dioksit gazı ( $NO_2^{\cdot}$ ) böyle bir maddedir. Azot dioksit ( $NO_2^{\cdot}$ ) etkili bir lipid peroksidasyonu başlatıcısıdır.



ii-) Toksin bir serbest radikale metabolize olur. Örneğin kuru temizlemede kullanılan toksik bir madde olan karbon tetraklorür ( $CCl_4$ ), karaciğerde sitokrom p450 tarafından triklorometil serbest radikaline ( $CCl_3^{\cdot}$ ) dönüştürülür. Triklorometil serbest radikali de moleküler oksijenle ( $O_2$ ) etkileşerek peroksil serbest radikali ( $CCl_3O_2^{\cdot}$ ) oluşturur.



Triklorometil serbest radikali ( $\text{CCl}_3\cdot$ ) ve peroksil serbest radikali ( $\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$ ) kuvvetli lipit peroksidasyonu başlatıcıdır. Böylece reaktif serbest radikal üretimi karaciğerde antioksidan savunmaları aşar, sellüler membranlarda oksidatif yıkım ve ciddi doku hasarı meydana gelir.

iii-) Toksinin metabolizması sonucu serbest oksijen radikali meydana gelir. Örneğin karaciğerde biriken paraquat yüksek miktarda serbest oksijen metabolitleri meydana getirmektedir. NADPH' ya bağlı indirgenme/yükseltgenme tepkimesi ile her seferinde elektronlar açığı çıkararak hücrelerde süperoksit radikali ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) ve hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) oluşumuna neden olarak oksidatif stresi artırır.

iV-) Toksin antioksidan aktiviteyi düşürür. Örneğin parasetamolün karaciğerde sitokrom P450 tarafından metabolizması antioksidan aktivitede önemli yeri olan glutatyonla reaksiyona giren bir ürün oluşturarak sonuçta glutatyonun miktarını azaltır (Akkuş 1995).

#### **2.1.2.3.2. Eksojen Kaynaklar**

Çevresel kimyasal ajanlara maruz kalma, hücrelerde radikal oluşumu ve reaksiyonlarını artırarak oksidatif strese yol açmaktadır. Hava kirliliği, kimyasallara maruz kalma, organik yanık madde alımı, yanmış gıdalar, sigara dumanı gibi ve iyonize edici radyasyon başlıca eksojen radikal kaynaklarıdır (Dündar ve Aslan 2000).

#### **2.1.2.4. Antioksidan Mekanizmalar**

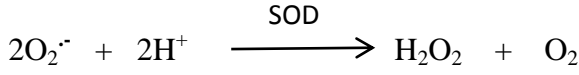
Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler (Akkuş 1995). Normal koşullarda antioksidanların hem aktiviteleri hem de hücre içi miktarları arasında bir denge vardır. Organizmanın sağlığı ve hayatta kalması için bu denge gereklidir (Valko ve ark. 2007).



#### 2.1.2.4.1. Enzim yapısında olan antioksidanlar

##### 2.1.2.4.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD) (E. C. 1. 15. 1. 1)

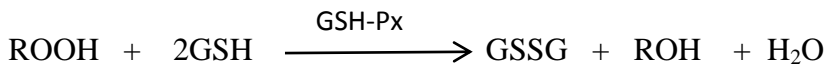
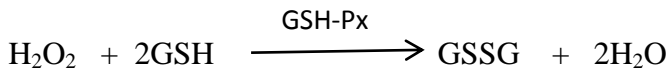
Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit serbest radikalinin ( $O_2^{\cdot-}$ ) hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve moleküler oksijene ( $O_2$ ) dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir.



İnsanda süperoksit dismutazın iki izomer tipi bulunmaktadır. Cu-Zn SOD sitozolde bulunur, Cu ve Zn içerir, dimerik yapıdadır, siyanidle inhibe edilir. Mn SOD mitokondride bulunur, Mn içerir, tetramerik yapıdadır, siyanidle inhibe olmaz. Genel olarak hücrede en bol bulunan izomer sitozolik Cu-Zn SOD' dur. SOD' un fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalinin ( $O_2^{\cdot-}$ ) lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. SOD' un, singlet oksijeni ( $O_2$ ) bastırma yeteneğine de sahip olduğu kaydedilmiştir (Aliakber ve ark., 1993). SOD, fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde de rol oynar. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku oksijen basıncı artışıyla artar. SOD' un ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür. Cu-Zn SOD' un spesifik aktivitesi down sendromlu hastaların eritrositlerinde yüksek, prematürelerin ve yaşlıların eritrositlerinde ve psöriyazisli hastaların (sedef hastalığı) lökositlerinde düşük bulunmuştur (Akkuş 1995).

##### 2.1.2.4.1.2. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) (E. C. 1. 11. 1. 9)

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px), sitozolde bulunur, 4 selenyum atomu içerir, tetramerik yapıdadır. Glutatyon peroksidaz hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir.



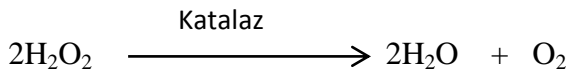
GSH-Px' in fagositik hücrelerde de önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini önler.

GSH-Px eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır. Eritrosit GSH-Px aktivitesi yaşlılarda ve down sendromlu hastalarda yüksek, prematürelerde düşük

bulunmuştur. Lökosit GSH-Px aktivitesi yaşlılarda ve hipertansiyonlu hastalarda yüksek bulunmuştur (Akkuş 1995).

#### **2.1.2.4.1.3.Katalaz (CAT) (E. C. 1. 11. 1. 6)**

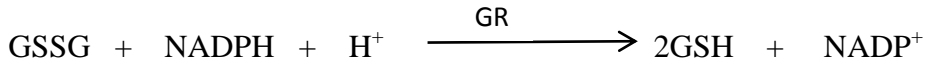
Katalaz (CAT), yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Katalaz daha çok peroksizomlarda bulunur. Ayrıca sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda da bulunur. Katalaz aktivitesi karaciğer, böbrek ve eritrositlerde yüksektir. Katalaz hidrojen peroksidi (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) suya ve oksijene parçalar.



Katalaz, ayrıca peroksidasyon reaksiyonları ile ilgili olan substratlara kolayca hidrojen iyonu vermede rol oynar (Armstrong 1998).

#### **2.1.2.4.1.4. Glutasyon redüktaz (GR) (1. 6. 4. 2)**

Glutasyon redüktaz, GSH-Px vasıtasıyla hidroperoksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan okside glutasyonun (GSSG) tekrar indirgenmiş glutatyona (GSH) dönüşümünü katalize eder (Akkuş 1995).



#### **2.1.2.4.1.5. Paraoksonaz (PON)**

Glikoprotein yapıda, kalsiyum bağımlı bir ester hidrolaz olan paraoksonaz (PON), hem arilesteraz (E.C. 3.1.1.2) hem de paraoksonaz (E.C.3.1.8.1) aktivitesine sahip bir enzimdir. İlk olarak 1946 yılında Abraham Mazur tarafından keşfedilen enzim, sonraki yıllarda insan serum paraoksonazı (PON1) olarak tanımlanmış olup son derece zehirli organofosfat tarım ilacı parationun toksik metaboliti paraoksonu (organofosfat substratı) hidroliz edebilmesinden dolayı bu ismi almıştır (Uysal ve ark. 2011). Enzim aktivitesi kalsiyuma bağımlıdır. Paraoksonaz polimorfizm gösteren bir enzim olup; enzim aktivitesi yüksek ve düşük aktiviteli iki allelin genetik kontrolü altındadır. Enzim polimorfizmine ait bu değişkenliğin molekülün 192. pozisyonundaki aminoasit farklılığından kaynaklandığı bildirilmiştir (Türkoğlu 2008). Paraoksonaz enzimi,

karaciğer, böbrek, ince bağırsak başta olmak üzere birçok dokuda ve serumda bulunur (Flekac ve ark. 2008). PON' un başlıca iki fonksiyonu bulunmaktadır: Bir pestisid olan paraokson gibi organofosfatlı bileşiklerin detoksifikasyonuna katılmak ve lipit peroksitleri hidrolize ederek LDL' yi oksidasyondan korumaktır (Mackness ve ark. 1998). PON' un lipit peroksitlerin yanısıra hidrojen peroksit üzerine de etkili olup, peroksidaz benzeri aktiviteye de sahip olduğu düşünülmektedir. Ayrıca lipopolisakkarit inaktivasyonu yolu ile bakteriyel endotoksinlere karşı koruma sağlamaktadır (Gülcü ve Gürsu 2003). Oksidatif stres altında lipit peroksidasyonu sadece LDL' de değil; HDL' deki lipitlerde de meydana gelmektedir (Hahn ve Subbiah 1994). PON' un hem LDL' yi, hem de HDL' yi oksidasyondan koruduğu bildirilmiştir (Aviram ve ark. 1998). Ayrıca PON' un HDL vasıtasıyla antioksidan etkiye katkıda bulunabileceği de bildirilmiştir (Başkol ve Köse 2004). PON' un HDL' ye bağlanması diyabetik hastalarda sağlıklı insanlarla kıyaslandığında daha düşük olup, farklı çalışmalarda PON aktivitesinin azalmış olduğu tespit edilmiştir (Ikeda ve ark. 1998). Düşük enzim aktivitesi PON' un azalmış sentezinden daha çok glikasyonuna bağlı olup (Hedrick ve ark. 2000), nöropati, nefropati ve retinopati gibi komplikasyonları olan diyabetik hastalarda da paraoksonaz seviyelerinin düşük olduğu sonucuna varılmıştır (Flekac ve ark. 2008).

#### **2.1.2.4.1.6. Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz (G6PD) (E. C. 1. 1. 1. 49)**

Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz enzimi, ilk defa 1966 yılında Yoshida tarafından insan eritrositlerinden saflaştırılmıştır (Büyükokuroğlu ve Süleyman 2001). G6PD enzimi Pentoz Fosfat Yolunda (PFY) NADP' nin NADPH' a indirgendiği ilk reaksiyonu kataliz eder. Pentoz fosfat yolu, eritrositlerde NADPH' ın tek kaynağıdır (Özmen 2009). Eritrositlerde pentoz fosfat yolu okside glutatyonun indirgenmesi için gerekli NADPH' yı sağlar. Redükte glutatyon (GSH) ve GSH bağımlı enzimler hücreyi iç ve dış kaynaklı toksik bileşiklerden ve reaktif oksijen türlerinden (ROS) korur (Tandoğan ve Ulusu 2005). NADPH, nükleik asitler, proteinler ve membran lipidleri gibi pek çok molekül üzerinde serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stresten hücreyi korumak amacıyla hayati bir öneme sahiptir (Özmen 2009). G6PD eksikliğinin hücrede oksidatif stresin artmasına, aynı zamanda NO üretiminin azalmasına neden olarak hipertansiyon, diyabetes mellitus ve ateroskleroz gibi patolojik durumların ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Gaskin ve ark. 2001). Hücrede oksidatif hasarların neden olduğu yaşlanma

ve kanser gibi hastalıklar da G6PD eksikliğinin bir sonucu olarak düşünölmektedir (Ann-Joy ve ark. 2001).

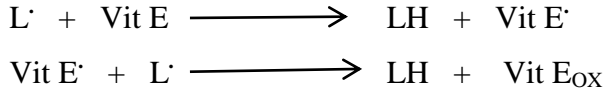
#### **2.1.2.4.2. Enzim yapısında olmayan antioksidanlar**

##### **2.1.2.4.2.1. C Vitamini (askorbik asit)**

L-askorbik asit (vitamin C) suda çözünebilen, düşük moleköl ağırlığında, kollajen sentezi, demir emilimi ve hücrelerin redoks durumunun muhafazası için gerekli olan bir antioksidandır (Sorg 2004). Vitamin C, organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak görev yapar. Kollajen sentezinde lizin ve prolinin hidroksilasyonu için gereklidir. Askorbik asit, güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Süperoksit radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ) ve hidroksil radikali ( $OH^{\cdot}$ ) ile reaksiyona girerek onları ortamdan temizler. Askorbik asit antioksidan etkisinin yanında oksidan etki de gösterir. Askorbik asit proteine bağlı ferri demiri ( $Fe^{+3}$ ) uzaklaştırarak ya da doğrudan ferri demiri ( $Fe^{+3}$ ) indirgeyerek Fenton reaksiyonunda hidrojen peroksit ile etkileşmeye ve sonunda hidroksil radikali ( $OH^{\cdot}$ ) oluşturmaya uygun ferro demire ( $Fe^{+2}$ ) dönüştürür. Bu özelliğinden dolayı vitamin C, serbest radikal reaksiyonlarının önemli bir katalisti veya bir prooksidan olarak değerlendirilir. Ancak bu tip etkisinin sadece düşük konsantrasyonlarda göröldüğu, yüksek konsantrasyonlarda güçlü bir antioksidan olarak etki ettiği kaydedilmiştir. Vitamin C' nin fagositoz için de önemli olduğu gösterilmiştir (Akkuş 1995). Ayrıca vitamin C, tokoforel radikali haline gelmiş ve antioksidan özelliğini yitirmiş vitamin E' nin tekrar aktif hale dönüştürölmesinde de rol oynar (Dündar ve Aslan 2000).

##### **2.1.2.4.2.2. E Vitamini ( $\alpha$ -tokoferol)**

Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol) çok güçlü bir antioksidandır. Bulunduğu biyolojik ortamlardaki serbest radikal türlerini toplayarak peroksidasyonun erken döneminde zar fosfolipitlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerini korumada oksidatif strese karşı ilk savunma hattını oluşturur. Vitamin E süperoksit ( $O_2^{\cdot-}$ ) ve hidroksil ( $OH^{\cdot}$ ) radikallerini, singlet oksijeni ( $O_2^{\cdot}$ ), lipit peroksit radikallerini ve diğer radikalleri indirger (Dündar ve Aslan 2000). Vitamin E zincir kırıcı antioksidan olarak bilinir. Lipit peroksidasyonu zincir reaksiyonu, vitamin E vasıtasıyla sonlandırılabilir (Akkuş 1995).



Vitamin E okside olduktan sonra ve parçalanmadan önce askorbik asit ve glutatyon tarafından yeniden indirgenebilmektedir. Vitamin E ve C verilmesinin, yaşlı kişilerde ortalama kan lipit peroksit konsantrasyonlarında bir azalma sağladığı saptanmıştır. Vitamin E, selenyum metabolizmasında da önemli rol oynar. Vitamin E selenyumun organizmadan kaybını önleyerek veya onu aktif şekilde tutarak selenyum ihtiyacını azaltır (Akkuş 1995). Selenyum glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimi için önemli bir bileşendir ve GSH-Px ile birlikte fonksiyonel bir antioksidandır. Selenyumun özelliği lipit peroksidasyonunu azaltarak, artan serbest oksijen radikallerini temizlemede önemli bir rol oynar. Bu yüzden selenyumun diyabetin erken periyodunda ya da diyabetik komplikasyonların gelişiminde koruyucu bir etkisi vardır (Karatug ve Bolkent 2013). Serbest radikallerin kanserin başlamasında rol aldığı ve vitamin E ile diğer antioksidanların antikanserojen etki göstererek kanserin yayılmasını ve tümörün büyümesini önlediği kaydedilmiştir (Akkuş 1995). Tokoferolün antioksidan aktivitesi, birçok antioksidan savunma elemanının yetersiz kaldığı, oksijenin oldukça yüksek konsantrasyonlarında bile etkilidir. Eritrositler ve alveoler membranlar bu durumu açıklayan önemli örnekler olarak gösterilebilir (Dündar ve Aslan 2000).

#### **2.1.2.4.2.3. A Vitamini ( $\beta$ -Karoten)**

Karotenoidler (bitkilerden A vitamininin ön maddesi olan  $\beta$ -karoten gibi terpenoidler sentezlenir.) serbest radikal toplayıcılarıdır ve en önemlisi singlet oksijen ( $O_2^{\cdot}$ ) üretimini engeller. Bu durum retina için özellikle önemlidir (Sorg 2004).  $\beta$ -karoten, süperoksit radikalini temizleyerek ve peroksit radikalleriyle direkt olarak etkileşerek antioksidan olarak görev yapar (Akkuş 1995).

#### **2.1.2.4.2.4. Glutatyon (GSH)**

Glutatyon (GSH) çok önemli bir antioksidandır, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde rol alır. Ayrıca proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur.

Böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. Glutasyon yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve aminoasitlerin membranlardan transportunu da sağlar. Ayrıca glutasyon eritrositleri, lökositleri ve göz lensini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir (Akkuş 1995).

#### **2.1.2.4.2.5. Ürik asit**

Ürik asit, serbest radikalle reaksiyona giren, radikal tutucu olarak görev yapan ve radikal temizleyici (scavenger) olarak adlandırılan bir antioksidandır (Freeman ve Crapo 1982). Normal plazma konsantrasyonunda urat, hidroksil, süperoksit, peroksit radikalleri ve singlet oksijeni temizler. Fakat lipid radikalleri üzerine etkisi yoktur. Ayrıca C vitamininin oksidasyonunu engeller (Akkuş 1995).

#### **2.1.2.4.2.6. Seruloplazmin**

Seruloplazmin olasılıkla süperoksit dismutaz' a benzer mekanizmayla etki gösterir. Ferro demiri ( $Fe^{2+}$ ) ferri demire ( $Fe^{3+}$ ) yükseltgeyerek Fenton reaksiyonunu ve böylece hidroksil radikali oluşumunu inhibe eder (Akkuş 1995).

#### **2.1.2.4.2.7. Transferrin**

Transferrin ve laktoferrin dolaşımdaki serbest demiri bağlarlar (Akkuş 1995).

#### **2.1.2.4.2.8. Ferritin**

Ferritin dokudaki demiri bağlar (Akkuş 1995).

#### **2.1.2.4.2.9. Bilirubin**

Bilirubin süperoksit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır (Akkuş 1995).

### **2.2. Diyabet ve Oksidatif Stresle İlişkisi**

Oksidatif stres, serbest radikaller (oksidan veya prooksidan) ve antioksidanlar arasındaki dengenin serbest radikaller lehine bozulması sonucu oluşur (Dündar ve Aslan 2000). Diyabet ve diyabet komplikasyonlarının reaktif oksijen türleri ile olan ilişkisini gösteren çalışmalarda, nonenzimatik glikasyon, enerji metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan metabolik stres, sorbitol yol aktivitesi, hipoksi ve iskemi-

reperfüzyon sonucu oluşan doku hasarının serbest radikal üretimini arttırdığı (Baynes ve Thorpe 1999) ve antioksidan savunma sistemini değiştirdiği vurgulanmaktadır (Altan ve ark. 1994, Saxena ve ark. 1993, Tiedge ve ark. 1997). Süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonlarının ve antioksidan kapasitenin pankreas adacık hücrelerinde, karaciğer, böbrek, iskelet kası ve adipoz doku gibi diğer dokularla kıyaslandığında en düşük düzeyde olduğu bilinmektedir (Tiedge ve ark. 1998). Oksidatif strese en duyarlı yapılardan biri olduğu da bilinen beta hücrelerinde gözlenen hasarın, hipergliseminin toksik etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Robertson ve ark. 2004). Hidrojen peroksidin, yüksek reaktiviteye sahip bir reaktif oksijen türü (ROS) ürünü olan hidroksil (OH<sup>·</sup>) radikale dönüşmesi sonrası insülin reseptör sinyal sistemi üzerinde etkili olduğu ve insülin tarafından reseptör aracılığı ile düzenlenen sinyal transdüksiyon yollarında anahtar bir rol oynayabileceği, araştırmacıların görüşleri arasında bulunmaktadır (Houslay 1991). Glikasyon aracılı serbest radikal üretiminin insülinin gen transkripsiyonunu azalttığını ve beta hücre apoptozuna yol açtığını gösteren çalışmaların bulguları bu görüşü destekler niteliktedir (Donalath 1999). T ve B lenfositlerin, makrofajlar gibi inflamatuvar hücrelerin beta hücrelerine toksik etkilerini de serbest radikaller aracılığıyla yaptığı düşünülmektedir (Eizirik 1996). Vasküler komplikasyonları olan diyabetik hastalarda, hem LDL'nin oksidasyonunda hem de nonenzimatik glikasyonunda, hiperglisemiye bağlı artışlar olduğu görülmektedir. Diyabetik olgularda, lipitlere ilave olarak protein oksidasyonu da artmaktadır. Özellikle kollajen, elastin ve miyelin kılıfındaki ekstrasellüler proteinlerin oksidasyonu sonucu; lens, damar, bazal membran gibi dokularda katarakt, mikroanjyopati, ateroskleroz ve nefropati gibi diyabetik komplikasyonlar gelişmektedir (Das ve Chainy 2001, Dillmann 1989, Diekman ve ark. 1998). Hiperglisemi aracılı reaktif oksijen türü (ROS) üretimi başlıca üç mekanizma ile açıklanmaktadır (Bonfont-Rousselot 2002).

### **1-) Glukozun Oto-oksidasyonu ve Süperoksit Üretimi**

Bir geçiş elementinin varlığında glukoz, reaktif ketoaldehitlere ve süperoksit anyonuna çevrilir. Reaksiyonlar zinciri, süperoksit radikalinin hidrojen peroksid üzerinden son derece reaktif olan hidroksil radikali oluşturması ile sonuçlanır. Hücre içi glukoz oksidasyonu NADH'nin açığa çıkmasına yol açar. NADH solunum zincirinde oksidatif

fosforilasyon yolu ile ATP üretimi için gerekli enerjiyi sağlamak üzere kullanılır. Solunum zincirindeki bu reaksiyon sırasında süperoksit radikali açığa çıkar. Yüksek glukoz konsantrasyonu varlığında bu yolla süperoksit radikal üretimi artar. Mitokondri solunum zinciri başlıca hücre içi ROS üretim kaynağıdır. Normal solunum zinciri olayları sırasında sürekli olarak süperoksit radikali oluştuğu düşünülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, diyabetteki patolojilerin birçoğunun artmış mitokondriyal ROS üretimi ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Brownlee 2001, Green ve ark. 2004, Altan ve ark. 1997).

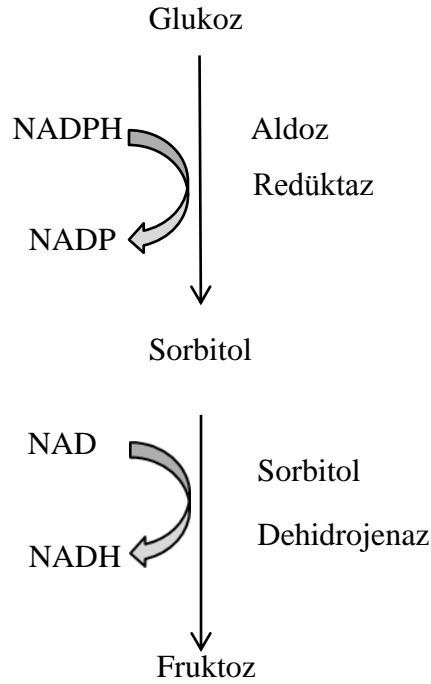
## **2-) Proteinlerin Glikasyonu ve AGE (ilerlemiş glikasyon son ürünleri) Oluşumu**

Proteinler yüksek glukoz konsantrasyonları ile karşılaştıklarında, glukoz bir enzimin aracılığına gereksinim duymadan proteine bağlanarak kontrolsüz glikasyon reaksiyonlarına neden olur. Glikasyona uğramış protein, moleküler oksijene bir elektron vererek serbest oksijen radikali oluşumuna neden olur (Gillery 1988). Glukoz ve proteinlerin amino grupları arasında kendiliğinden gelişen enzimatik olmayan glikasyon reaksiyonları yoluyla önce Schiff bazları, sonrasında daha stabil olan Amadori ürünleri oluşur. Amadori ürünlerinin oluşumundan sonra ileri glikasyon son ürünleri (AGE) meydana gelir (Dinçer 2002). AGE' ler, endotelin-1 aracılığıyla damarların kasılmasını arttırarak endotel hasarına yol açtığı gibi, kompleks biyokimyasal mekanizmalarla serbest radikal üretebilme kapasitesine de sahiptirler. Yine AGE' lerin toksik etkileri arasında; proteinlerin yapılarını ve fonksiyonlarını değiştirebilmeleri, kendi reseptörleri ile oksidatif stresi uyarabilmeleri de bulunmaktadır (Bierhaus ve ark.1997, Eidland ve ark. 2001). Araştırmalar AGE' lerin, reseptör aracılı mekanizma ile serbest radikal üretimini uyarmasının yanı sıra, artmış serbest radikallerin de hücre içi AGE oluşumunu arttırdığını göstermektedir ((Kuyvenhoven ve Meinders 1999, West 2000, Cameron ve Cotter 1995). Hücre içi AGE oluşumu ile lipit peroksidasyonu arasında sıkı bir ilişki olduğunu, lipit peroksidasyonunun önlenmesi ile AGE oluşumunun da önlendiğini bildirmişlerdir (Giardino ve ark. 1998). Yapılan çalışmalarda AGE ve serbest radikallerin, protein kinaz-C' yi aktive ettiği gösterilmiştir. Aktive olan protein kinaz-C' nin, vasküler kan akımını, damarların geçirgenliğini, hücre dışı matriks bileşenlerini ve hücre büyümesini etkileyerek vasküler komplikasyonların patogenezinde rol aldığı öne sürülmektedir (Chappey 1997, Koya ve King 1998, Way ve ark. 2001).



### 3-) Poliöl Yol

Yüksek glukoz konsantrasyonu, poliöl yolu ile sorbitol üretimine neden olur. Bu yoldaki aldoz redüktaz enzim aktivitesi için NADPH kullanıldığından hücre içi NADPH tüketilir. Okside glutatyonun redükte forma çevrilebilmesi ve nitrik oksit (NO) sentezi için NADPH gereklidir. Bu nedenle sorbitol yolunun aktif olması ve sonuçta NADPH'ın yokluğu hücrenin antioksidan kapasitesinin sınırlanması anlamına gelmektedir (Maritim ve ark. 2003). Redükte glutatyonun ve vazodilatasyonda görev yapan NO sentezinin azalması diyabetin vasküler komplikasyonlarının ortaya çıkışında rol oynar (Sargın 2001). Vazodilatör araçların kaybı endonöronal kan akımının azalmasına dolayısıyla endonöronal hipoksi veya iskemiye yol açmaktadır. Bu olayın sonucunda nöronal hücre, schwann hücrelerde hasar meydana gelmektedir (Cameron ve Cotter 1997). Glukozun sorbitol yolu ile fruktoza ve sorbitola çevrilmesinin bir sonucu olarak hücrede miyoinozitol düzeylerinde azalma ve bunun sonucunda da Na-K ATP-az enzim aktivitesinde düşme olduğu gözlenmiştir ki bu enzim aktivitesi sinir iletim hızı için önem taşımaktadır (Greene ve ark. 1990). Sorbitolun kendisi bir doku toksini gibi hareket eder. Bu nedenle retinopati, nöropati, katarakt, nefropati ve kalp hastalığı patogenezinde rolü olduğu düşünülmektedir (Bukan ve ark. 2004, Karasu ve ark. 1990).



Şekil 2. Poliöl Yolu

### 2.3. *Prunus laurocerasus* (Karayemiş) ve Diyabet ile ilişkisi

*Prunus laurocerasus*, *Magnoliatae* (Dicotyledones) sınıfı, *Rosaceae* familyası *Prunoideae* alt familyası *Laurocerasus* cinsine ait bir türdür. Bu türün genelde bilinen adı karayemiş olmakla birlikte Latince adı *Laurocerasus officinalis* veya *Prunus laurocerasus* (L.)' dir. Ülkemizde bu türün, karayemiş dışında kullanılan yaygın ismi 'taflan' dır (İslam ve Deligöz 2012). Ayrıca yaban kirazı olarak da bilinir (Kolaylı ve ark. 2013). Avrupa' nın güney doğusu, Balkanlar ve Kuzey İran başta olmak üzere dünyanın değişik yörelerinde *Prunus laurocerasus* formlarına rastlanmaktadır. Bitkinin dünya üzerinde doğal yayılma alanı Karadeniz' in doğu bölgeleri, Kafkaslar, Toroslar, Kuzey ve Doğu Marmara' dır (İslam ve Deligöz 2012).

Yaz-kış yaprağını dökmeyen (herdem yeşil) 6 metreye kadar boylanan çalı veya küçük ağaç şeklinde bitkilerdir. Uzun şerit halindeki yaprakları deri gibi serttir. Üst yüzü parlak koyu yeşil renkte, alt yüzü açık solgun yeşil renkte ve tüsüzdür. Çekirdekli sulu meyveler zeytin büyüklüğünde olup oval şekillerde ve 8-20 mm çapındadır. Meyveler koyu kırmızı veya siyah renktedir (Kolaylı ve ark. 2013, Sandallı 2002).



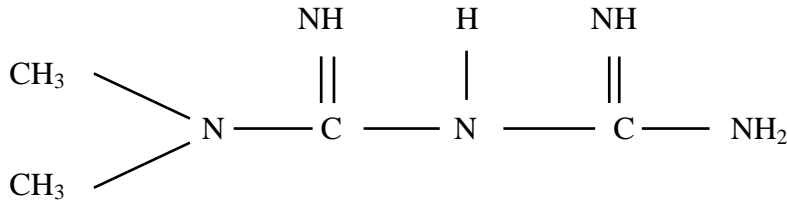
Şekil 3. *Prunus laurocerasus* (karayemiş) yaprağı ve meyvesi

(Yavru, 1997), *Prunus laurocerasus*' un toplam fenolik madde miktarının 11,9 – 54,8 mg/100g arasında değiştiğini, *Prunus laurocerasus*' un meyvelerinin diğer meyvelere göre çok daha zengin C vitamini ve toplam karbonhidrat içeriğine sahip olduğunu, *Prunus laurocerasus* meyvelerinde olgunluğa doğru ilerleyen süreçte C vitamini miktarının % 70 oranında azaldığını ortaya koymuştur. *Prunus laurocerasus*' un bitki türevli yenilebilir / yenilemez ürünleri büyük oranda antioksidan özelliğe sahip fenolik bileşikler (rneğin fenolik asitler, flavanoidler, antosiyaninler, taninler, lignanlar ve kateşinler) içerir. Bu fenolikler, kardiyovasküler hastalıklar, fel, ateroskleroz, bazı kanser türleri ve oksidatif strese bağlı diğer hastalıklara yakalanma riskini artırdığı bilinen serbest radikallere karşı korur (Pathirana ve ark. 2006). *Prunus laurocerasus*, doğal bir antioksidan kaynağıdır ve hastalıkların tedavisinde tıbbi yararı bulunan fonksiyonel bir gıda olarak kullanılmaktadır (Alasalvar ve ark. 2005). *Prunus laurocerasus* serbest radikallere karşı koruyucu etki göstermesine rağmen bir serbest radikal olan hidrojen peroksit ile doğrudan reaksiyon vermezken süperoksit radikaliyle reaksiyona girerek çok yüksek bir aktivite gösterdiği belirtilmektedir. Aynı zamanda, LDL oksidasyonunu önleyerek ateroskleroza karşı koruyucu etki göstermektedir. Bu yüzden *Prunus laurocerasus*' un antidiyabetik etkiye sahip olduğu ifade edilmektedir (Pathirana ve ark. 2006). *Prunus laurocerasus*' ta bulunan polisakkaritler, proteinler, askorbik asit ve minerallerin antioksidan aktivite ve serbest radikalleri temizleyici etki gösterdiğini ifade etmektedir. Aynı zamanda diğer minerallere göre manganez minerali miktarının yüksek olduğu ve manganezin antioksidan bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) enziminin kofaktörü olduğu belirtilmiştir (Harrison ve Hoare 1980). *Prunus laurocerasus*, diyabetik sıçanlarda beta adacık hücrelerini uyararak pankreas salgılanmasını teşvik eder bu yüzden insülin seviyesinde artış gözlendiği belirtilmektedir. Ancak bununla birlikte ekstra pankreatik mekanizmalar; karaciğerdeki glukojenolizin azalması, glukojenezin artması ve artan kan glukozunun taşınması gibi mekanizmalar için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (şenaylı ve ark. 2012).

#### **2.4. Metformin ve Diyabet ile ilişkisi**

Metforminin esas olarak tip 2 diyabette artmış olan karaciğer glukoz üretimini baskılayarak etki göstermektedir, periferik dokularda (zellikle iskelet kasında) glukoz tutulumunu ve insülin etkisini arttırdığı gösterilmiştir. Metformin, tip 2 diyabette açlık

plazma insülin konsantrasyonlarını azaltır, insüline duyarlılığı artırarak periferik glukoz alımını uyarır ve hepatik glukoz üretimini baskılayarak etki gösterir (Sargın ve ark. 2001). Metformin ince bağırsaklardan absorbe edilir. 500 - 1000 mg oral dozda verilen metformin 1-2 saat sonra plazmada pik düzeyine ulaşır. Plazma yarı ömrü yaklaşık 1,5 - 4,9 saattir. Alımını takiben birçok dokuda plazmadaki konsantrasyonuna yakın olarak dağılır. Karaciğer, böbrek, tükrük bezleri ve bağırsak duvarındaki konsantrasyonu çok yüksektir. Alınmasından 12 saat sonra glomerüler filtrasyon ve tubuler sekresyon yolu ile % 90 oranında vücuttan atılır (Yenigün ve Altuntaş 2001). Metforminin, hücre membranındaki cAMP kinaz enzimi aktivitesini artırarak insülinin reseptörlerine bağlanmasını arttırdığı ileri sürülmüştür (Vello ve ark. 2009), ancak bu konuya ilişkin tartışmalı yayınlar mevcuttur. Buna karşılık ilacın, membrandan hücre içine glukoz taşınımını kolaylaştırdığı düşünülmektedir (Yenigün ve Altuntaş 2001).



**Şekil 4.** Metformin yapısal formülü (Yenigün ve Altuntaş 2001)

Metformin obez ve obez olmayan tip 2 diyabetik hastalarda, özellikle diyabet ile birlikte hipertansiyon veya hiperlipidemisi bulunan hastalarda serum lipit profiline olumlu etkilere sahiptir ((Yenigün ve Altuntaş 2001). Serbest yağ asitleri hem diyabette hem de obezitede artmaktadır. Bu artış, hepatik glukoz üretiminde artışa ve insülin direncine neden olmaktadır (Clare 1991, Wilcock ve Bailey 1991). Metforminin serbest yağ asitlerini % 10-30 oranında azalttığı gösterilmiştir (Bailey ve Turner 1996, Wiernsperger ve Bailey 1993, Stith 1996). Serbest yağ asitlerinin azalmasıyla metformin sadece insülin duyarlılığını arttırmakla kalmaz, aynı zamanda beta hücreleri tarafından insülin salgılanmasına da yardım edebilir (Perriello ve ark. 1994, Patane ve ark. 2000). Metforminin beta hücreleri üzerine doğrudan etkisi yoktur, ancak beta hücrelerinin serbest yağ asitlerine ya da hiperglisemiye maruz kalma durumunun ortadan kaldırılması yoluyla etki göstermektedir (DeFronzo 1999).

Özellikle belirgin hiperglisemisi olan hastalarda uzun süreli metformin kullanımı plazma trigliserit düzeylerinde orta dereceli (% 10-20) bir azalma sağlamaktadır. Bunun nedeni düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (LDL) hepatik yapımının azalmasıdır (Bailey 1992, Nagi ve Yudkin 1993). Bazı çalışmalarda, plazma total kolesterolünde % 5-10' luk hafif azalmalar ve yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) kolesterolde hafif artışlar bildirilmektedir (Hermann ve Melander 1992).

Tip 2 diyabette metforminin plazma glukoz düzeyinde azalmanın dışında kan basıncı, plazma kolesterol ve trigliserit düzeyleri üzerinde de yararlı etkileri olduğu bilinmektedir. (Wulffele ve ark. 2004) yaptıkları çalışmada metformin tedavisinin diyastolik ve sistolik kan basınçlarını, plazma trigliserit ve total kolesterol düzeylerini azalttığı ve HDL kolesterol düzeyini arttırdığı gösterilmiştir. Total ve LDL kolesterol üzerindeki etkinin özellikle ilacın daha yüksek dozlarıyla ortaya çıktığı görülmüştür. Metforminin bu etkileri tek başına kullanıldığında ve kombine tedavilerde benzer bulunmuştur. Bu da metforminin total ve LDL kolesterol üzerinde, glukoz düşürücü etkisinden bağımsız olarak etki gösterdiği görüşünü desteklemektedir. Bunun aksine plazma trigliserit düzeylerindeki etki glisemik kontrol ile ilişkili bulunmuştur (Memişoğulları 2008, Esteghamati 2013). Metforminin antihiperglisemik etkisi, protein glikasyonu ve lipit peroksidasyonunu azaltarak eritrosit CAT ve SOD aktivitelerini artırır. Ayrıca diyabette artış gösteren eritrosit GSH-Px aktivitesini de azaltır (Pavlovic 2000). Metforminin, yüksek konsantrasyonlarda etkisinin zayıf olmasına rağmen hidroksil (OH<sup>•</sup>) serbest radikallerini temizleme aktivitesi yüksektir. Ancak hidrojen peroksit ya da süperoksit radikallerini temizleyemez (Esteghamati 2013). Metforminin reaktif oksijen türlerini (ROS) azalttığını belirtmişlerdir. Metformin, NADPH<sup>•</sup> 1 azaltarak ya da daha az bir oranda mitokondri solunum zincir reaksiyonlarını azaltarak ROS ürünlerini hücre içi seviyede tutar ve oksidatif stresi azaltır (Ouslimani ve ark. 2005). Khouri ve arkadaşlarının çalışmasında, metforminin oksijen radikallerini ( O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) temizlemediği fakat hidroksil radikalleri (OH<sup>•</sup> ) ile reaksiyon gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca metformin glikasyon son ürünlerinin formlarını inhibe eden, lipit peroksidasyon belirteçlerini azaltan, antioksidan enzim aktivitesini artıran aynı zamanda basit serbest radikallerin temizlenmesinden başka farklı yollar ile metforminin in vivo antioksidan aktivitesi ortaya konulmuştur (Khouri ve ark. 2004).

### **3. MATERİYAL**

#### **3.1. Deneyde Kullanılan Hayvanlar:**

Deneyde Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi'nden sağlanan 48 adet 350 - 400 g ağırlığında Wistar türü erişkin erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar deneysel çalışmaya başlamadan 20 gün önce ısı 18 °C - 22 °C arasında sabit tutulan özel odaya alındılar. Dört sıçan bir kafeste olacak şekilde yerleştirildiler ve standart diyet (pelet) yem ile beslendiler. Sıçanların su ve yem alımları serbest bırakıldı.

#### **3.2. Hayvanların Gruplandırılması:**

Deney grupları, kontrol ve deney gruplarında 8'er sıçan olacak şekilde toplam 48 sıçan bulunmaktadır.

Grup 1: Normal kontrol sıçanlar (K)

Grup 2: Oral olarak *Prunus laurocerasus* (Karayemiş) ekstraktı alan normal sıçanlar (K + PLE)

Grup 3: Diyabetik kontrol sıçanlar (D)

Grup 4: Oral olarak *Prunus laurocerasus* (Karayemiş) ekstraktı alan diyabetik sıçanlar (D + PLE)

Grup 5: Oral olarak *metformin* ilacı alan diyabetik sıçanlar (D + Metf)

Grup 6: Oral olarak *Prunus laurocerasus* (Karayemiş) ekstraktı ve *Metformin* ilacı alan diyabetik sıçanlar (D + PLE + Metf)

Çalışma Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezinin etik koşullarına uygun olarak planlandı.

#### **3.3. Diyabetin Oluşturulması ve *Prunus laurocerasus* (Karayemiş) ve Metformin Tedavisi:**

Tip 2 diyabet, serum fizyolojikte çözülen nikotinamidin (45mg/kg) intraperitoneal enjeksiyonundan 15 dk sonra pH' ı 4,5 olan 20 mM sodyum sitrat tamponu içerisinde çözülen streptozotosin (STZ)' in (65mg/kg) sıçanlara tek doz intraperitoneal enjeksiyonu ile oluşturuldu (Masiello ve ark. 1998). Kontrol grubu sıçanlarına da tek doz intraperitoneal sitrat enjeksiyonu yapıldı. Deney grubunu oluşturan sıçanlardan enjeksiyondan 48 saat sonra kuyrukları kesilerek kan glukoz düzeyleri tayin edildi.

Sıçanların kan glukoz seviyesi > 200 mg/dL olarak saptandığında diyabetik oldukları düşünülerek deneysel çalışma başlatıldı.

***Prunus laurocerasus (Karayemiş) ekstraktının hazırlanması:*** Ticari olarak satın alınan karayemiş ekstraktı (Kale Firması-Edremit) % 10 oranında içme suyuna 5 hafta süre ile ilave edildi.

### **3.4 Sıçanlara maddelerin verililişi:**

Diyabet oluşturulduktan bir hafta sonra 2. gruptaki ve 4. gruptaki sıçanlara % 10 'luk *Prunus laurocerasus (Karayemiş)* ekstraktı, 5.gruptaki sıçanlara 300 mg/kg/gün *metformin* ilacı, 6. gruptaki sıçanlara %10 'luk *Prunus laurocerasus (Karayemiş)* ekstraktı ve 300 mg/kg/gün *metformin* ilacı 5 hafta süre ile içme suyuna eklendi. İçme suları günlük olarak hazırlanıp 24 saatlik sıvı tüketimi takip edildi. Ayrıca deney süresi olan 5 haftalık süre içinde sıçanların yem tüketimleri günlük olarak, kan glukoz düzeyleri ve vücut ağırlıkları ise haftada bir kez olmak üzere ölçüldü. Kan glukoz düzeyleri sıçanların kuyrukları kesilerek alınan kanda glukometrede glukostix stripleri kullanılarak (Abbot GlucometerMedisense Products, USA) ölçüldü.

### **3.5 Örneklerin Toplanması**

Deney süresi bitiminden sonra kan örnekleri, bir kuru tüp, bir heparinli ve iki EDTA'lı tüpe, 0.18 x 40 mm' lik iğne yardımı ile (Vacutainer, İngiltere) hafif eter anestezisi altında, sıçanların kalbinden ponksiyonla alındı. GSH-Px için heparinli tüpten 300 µl ve SOD için hemogram tüpünden (EDTA'lı) 500 µl tam kan ayrıldı. Diğer kan örnekleri 1500 rpm' de 10 dakika santrifüj edilerek serum ve plazmaları ayrıldı. Serum insulin düzeyleri radioimmunoassay (Diagnostic Products Corporation, USA) ile ölçüldü. Hemen çalışılmayacak olan parametreler [serum PON, arilesteraz, plazma MDA (malondialdehit), HDL-K, TK, TG ]] için ayrılan örnekler -20 °C' de saklandı. SOD için hazırlanan numuneler (0,5 mL EDTA'lı tam kan alındı ve 3000 rpm' de 10 dakika santrifüj edilerek plazması ayrıldı ve aspire edildi. Kalan eritrositler, her yıkamada 3 mL % 0,9 NaCl kullanılarak 4 defa yıkandı ve eritrosit paketi şeklinde saklandı), GSH-Px (heparinli tam kandan) buzdolabında saklanarak 3 gün içinde çalışıldı. Kalp, kas, karaciğer ve iskelet kası dokuları (musculus gastrocnemius) kan alımının hemen

ardından çıkartılarak, serum fizyolojik ile yıkandı ve çalışılincaya kadar -20 °C' de saklandı.

### 3.6 Araç ve Gereçler

1. Yüksek basınçlı sıvı kromatografi (HPLC) cihazı, "Shimadzu LC-10AT" (Japonya)
2. Spektrofotometre, "Shimadzu U.V. Visible 1202" (Japonya)
3. Spektrofotometre, "Shimadzu U.V. Visible 1601" (Japonya)
4. Su banyosu, "Julabo UC" (Almanya)
5. Santrifüj, "Sanyo Mistral 2000 R" (İngiltere)
6. Santrifüj, "Janetzki T 32" (Almanya)
7. Karıştırıcı (vorteks), "Heidolph" (Almanya)
8. Otomatik pipet (10 µL), "Gilson" (ABD)
9. Otomatik pipet (20 µL), "Gilson" (ABD)
10. Otomatik pipet (20-200µL), "Eppendorf" (Almanya)
11. Otomatik pipet (500-5000µL), "Eppendorf" (Almanya)
12. Otomatik pipet (200-1000 µL), "Eppendorf" (Almanya)
13. Derin dondurucu (-20° C), "Ugur" (Türkiye)
14. Buzdolabı "Arçelik" (Türkiye)
15. Abbot Glucometer Medisense Products (ABD)
16. Kantar (Türkiye)
17. *Prunus laurocerasus* (Karayemiş) Ekstraktı Kale Firması Edremit / BALIKESİR

### 3. 7. Ticari Kitleler

1. Kolesterol, "Randox Lab." (İngiltere) Lot.no:1132 F, Kat.no : CH200
2. SOD (Ransod), "Randox Lab." (İngiltere) Lot.no:0019 J, Kat.no: SD125
3. GSH-Px (Ransel), "Randox Lab." (İngiltere) Lot.no:1764 J, Kat.no : RS504

### 3. 8. Kimyasal Malzemeler

1. 2-Tiyobarbitürik asit (TBA) (>% 98), "Sigma" (A.B.D.) Kat.no : T 5500
2. n-Bütül alkol, "Sigma" (A.B.D.) Kat.no : S 15,467-9
3. Sodyum hidroksit, "Merck" (Almanya) Kat.no : 6462
4. Paraokson (Dietyl p-nitrofenil fosfat), "Sigma" (A.B.D.) Kat.no:D9286



5. Fenil asetat (% 99), "Aldrich" (A.B.D.) Kat.no: 10,872-3
6. Sodyum klorür, "Merck" (Almanya) Kat.no : 6400
7. Tris, "Merck" (Almanya) Kat.no : 8387
8. Kalsiyum klorür, "Merck" (Almanya) Kat.no : 2389
9. Glisin, "Merck" (Almanya) Kat.no : 4201
10. Sodyum dihidrojen fosfat, "Merck" (Almanya) Kat.no : 6345
11. Potasyum dihidrojen fosfat, "Merck" (Almanya) Kat.no : 4871
12. Potasyum ferri siyanür, "Merck" (Almanya) Kat.no : 4971
13. Potasyum siyanür, "Merck" (Almanya) Kat.no : 4966
14. Sodyum bikarbonat, "Horasan Kimya" (Türkiye)
15. Metafosforik asit, "Sigma" (A.B.D.) Kat.no : 6250
16. Metanol (HPLC grade), "BDH" (Almanya) Kat.no :15250
17. Potasyum klorür, "Merck" (Almanya) Kat no. 4935
19. Sodyum dodesil sülfat (SDS), "Fluka" Kat.no. 71728
20. Bütanol, "Merck" (Almanya) Kat no. K 24430988
21. Asetik asit, "Kimetsan" (Türkiye) Kat no. KIM-AA/01GC
22. Piridin, "Merck" (Almanya) Kat no. 7462
23. 1,1,3,3-Tetramethoxy-propane, "Fluka" Kat no. 87670

#### **4. YÖNTEM**

##### **4.1. Serum Total Kolesterol (TK), Yüksek Dansiteli Lipoprotein Kolesterol (HDL-K), Triglicerit (TG) ve İnsülin Düzeylerinin Ölçümü**

Serum lipit (TK, HDL-K, TG) düzeyleri, kantitatif elektrolit tayini yapılan Abbott C 16000 otoanalizöründe ölçüldü. Serum insülin düzeyleri radioimmunoassay (RIA) yöntemiyle ölçüldü.

##### **4.2. Eritrosit SOD Aktivitesinin Ölçümü**

SOD aktivitesi kit (Ransod) kullanılarak ölçüldü. Bu yöntemde ksantin, KO enziminin katalizi ile  $O_2^-$  radikali oluşturur. Oluşan radikal 2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenol) feniltetrazolyumklorid (İNT) ile reaksiyona girer ve pembe renkli bir bileşik oluşturur veya SOD enziminin katalizlediği bir reaksiyon ile dismutasyona uğrayarak  $H_2O_2$  ve  $O_2$  meydana gelir. Böylece İNT ile reaksiyona giren  $O_2^-$  miktarı azaldığı için reaksiyon

inhibe olur. Burada SOD aktivitesinin ölçümü, yukarıdaki reaksiyonun inhibisyon derecesinin ölçülmesine dayanmaktadır. Açığa çıkan pembe renk SOD aktivitesi ile ters orantılıdır.

Ayırçılar :

1- 0.01 M fosfat tamponu (pH 7.0): 0.68 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ve 0.71 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> tartılarak 9 dL distile suda çözüldü ve pH' ı kontrol edilip 1 L' ye tamamlandı.

2- Ransod substrat: Ksantin 0,05 mmol/L , N.T. 0.025 mmol/L

3- Ransod tampon: CAPS 40 mmol/L, pH 10.2 ; EDTA 0.94 mmol/L

4- Ransod XO: 80 Ü/L

5- Ransod standart: 5.4 Ü/mL

SOD aktivitesi ölçümü için, 0.5 mL tam kanın eritrosit paketi alındı ve hacmi soğuk distile su ile 2 mL' ye tamamlandı. Bu karışım +4 °C de 15 dakika bekletilerek hemolizat elde edildi. Hemolizat 0.01 M fosfat tamponu (pH 7.0) ile 25 kez sulandırıldı. Böylece ilk başta alınan 0.5 mL tam kan 100 defa sulandırılmış oldu. Deney 37° C' lik şartlarda gerçekleştirildi.

**Çizelge 4. 1. Eritrosit SOD Aktivitesinin Ölçümü, Deneyin Yapılışı**

	<b>Ayırç Körü</b>	<b>Standart</b>	<b>Örnek</b>
<b>Fosfat tamponu</b>	25 µL	–	–
<b>Dilüe hemolizat</b>	–		25 µL
<b>Standart</b>	–	25 µL	
<b>Substrat</b>	850 µL	850	850
KARIŞTIRILDI.			
<b>Ksantin Oksidaz</b>	125 µL	125 µL	125 µL

Tüpler karıştırıldı ve 30 saniye bekledikten sonra her bir tüp için spektrofotometrede 505 nm dalga boyunda absorbans sıfırlandı ve tam 3 dakika sonra son absorbans

kaydedilerek  $\Delta A/dk$  hesaplandı. SOD aktivitesi, iki seri standart çözeltisi hazırlanarak elde edilen standart eğri grafiği üzerinden kit kataloğunda tarif edildiği gibi hesaplandı. Sonuçlar gram hemoglobin başına ünite olarak verildi (Ü/g Hb).

#### **4. 3. Eritrosit GSH-Px Aktivitesinin Ölçümü**

GSH-Px aktivitesi kit (Ransel) kullanılarak ölçüldü. GSH-Px enzimi, glutatyonun (GSH) kümenhidroperoksit tarafından oksidasyonunu katalizlemektedir. Meydana gelen okside glutatyon, glutatyon redüktaz ve NADPH varlığında hızla redükte olurken aynı anda NADPH okside olarak  $NADP^+$  ' ye dönüşmektedir. Bu esnada 340 nm deki absorbans azalması (DAbs) GSH-Px aktivitesi ile doğru orantılıdır.

Ayırıcılar:

1. Ransel ayırıcı: GSH (4 mmol/L), GR ( $3 \times 0.5$  Ü/L) ve NADPH (0.34 mmol/L)
2. Ransel tampon: 4.3 mmol/L EDTA içeren 0.05 molar fosfat tamponu (pH:7.2)
3. Ransel kümenhidroperoksit: 0.18 mmol/L
4. Ransel sulandırıcı ayırıcı
5. Double Drabkin ayırıcı: 50 mg potasyum siyanid ve 200 mg potasyum ferri siyanid ve 1 g sodyum bikarbonat tartılarak hacim distile su ile 500 mL' ye tamamlandı.

#### **Deneyin Yapılışı:**

GSH-Px aktivitesinin ölçümü için, 50  $\mu$ L tam kan 1 mL Ransel sulandırıcı ayırıcı ile seyreltilerek hemolizat elde edildi ve 5 dakika bekletildikten sonra 1 mL Double Drabkin ayırıcı ile karıştırıldı. Bu karışım en geç 20 dakika içinde kullanıldı. 1 mL Ransel ayırıcı üzerine yukarıdaki karışımdan 20  $\mu$ L konuldu. 37 °C lik su banyosunda 5 dakika bekletildikten sonra reaksiyonu başlatmak için üzerine kümenhidroperoksit çözeltisinden 40  $\mu$ L ilave edildi. Tam 1 dakika sonra başlangıç absorbansı kaydedilerek süre başlatıldı. 1. dakika ve 2. dakikada absorbanslar kaydedildi ve dakikadaki absorbans azalması (DAbs/dk) hesaplandı. Kör olarak çalışma çözeltisine örnek yerine 20  $\mu$ L distile su konuldu. Absorbans ölçümleri spektrofotometrede 340 nm dalga boyunda yapıldı.

#### **Hesaplanma:**

Numune aktivitesi kör aktivitesinden çıkarıldı ve çıkan sonuç 41 ile çarpıldı. Ü/L enzim aktivitesini veren bu değer numunenin Drabkin ayırıcı ile ölçülmüş g/L cinsinden

hemoglobin değerine bölünerek hesaplandı (Ref;Ransel kit). Sonuçlar gram hemoglobin başına ünite olarak verildi (Ü/g Hb).

#### **4. 4. Serum Paraoksonaz Aktivitesinin Ölçümü**

Paraoksonaz aktivitesi ölçümü Eckerson ve arkadaşlarının (1983) tanımladığı yönteme göre yapıldı. PON aktivitesinin saptanması amacıyla pH:10.5' da 0.05 M glisin-sodyum hidroksit tamponu içinde 1.0 mM CaCl<sub>2</sub> ve 1.0 mM paraokson içeren 2,5 ml'lik karışıma 15,62 µL serum eklendi. Paraoksona PON' un etki etmesi sonucu açığa çıkan p-nitrofenol, 25 °C' de spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda (Molar absorbtivite katsayısı= 18,290 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>) ölçüldü. Paraokson' un non-enzimatik kendiliğinden hidroliz oranı ayıraç körü kullanılarak saptandı ve bu değer düşölerek gerçek absorbans değeri elde edildi. Bir ünite paraoksonaz aktivitesi 1 dakikada 1 µmol p-nitrofenol oluşturan enzim aktivitesi olarak tanımlandı ve serum PON aktivitesi ünite/litre (Ü/L) şeklinde ifade edildi.

#### **4. 5. Serum Arilesteraz Aktivitesinin Ölçümü**

Arilesteraz aktivitesi ölçümü Eckerson ve arkadaşlarının (1983) yöntemine göre yapıldı. Reaksiyon karışımı pH:8.0' de 9.0 mM tris (hidroksimetil) aminometan/HCl tamponu içinde 0.9 mM CaCl<sub>2</sub> ve 1.0 mM fenilasetat içeriyordu. Reaksiyon 2.5 mL tampon/substrat ayıracına 1:3 oranında tamponla sulandırılmış 16,66 µL numune eklenmesiyle başlatıldı. Fenilasetat' ın hidrolizi ile açığa çıkan fenol oluşumu 270 nm dalga boyunda saptandı. 10. ve 70. saniyede absorbanslar kaydedildi ve böylece bir dakikada açığa çıkan fenol miktarı saptandı (Molar absorbtivite katsayısı = 1310 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>). Bir ünite arilesteraz aktivitesi; 1 dakikada 1 µmol fenol açığa çıkaran enzim aktivitesi olarak tanımlandı ve serum arilesteraz aktivitesi Ü/L olarak ifade edildi.

#### **4.6. Doku (Kalp, Karaciğer, Böbrek ve Gastrocnemius kası) MDA Düzeyi Ölçümü**

Doku MDA düzeyi ölçümü Ohkawa ve arkadaşlarının (1979) tanımladığı yönteme göre yapıldı.

Hesaplanma : Numune absorbansı / Standart absorbansı X Standart konsantrasyonu  
(100 mg/dL) = nmol/mg doku.

**Çizelge. 4. 2.** Doku Malondialdehit (MDA) Düzeyi Ölçümü, Deneyin Yapılışı

	<b>Ayıraç körü</b>	<b>Standart</b>	<b>Örnek</b>
	0.2 ml. distile su	0.2 ml standart	0.2g.Homojenat
<b>Sodyum dodesil sülfat</b>	0.2 mL	0.2 mL	0.2 mL
<b>Asetik asit</b>	1.5 mL	1.5 mL	1.5 mL
<b>TBA</b>	1.5 mL	1.5 mL	1.5 mL
<b>Distile su</b>	0.6 mL	0.6 mL	0.6 mL
<ul style="list-style-type: none"><li>• Vortekslendi. 60 dk kaynatıldı. Buzlu suda soğutuldu.</li></ul>			
<b>Distile su</b>	1 mL	1 mL	1 mL
<b>N-Bütanol / Piridin</b>	5 mL	5 mL	5 mL
<ul style="list-style-type: none"><li>• Vortekslendi 20 dk 3000 rpm' de santrifüj edildi.</li><li>• Üst faz abs. 532 nm' de köre karşı okundu.</li></ul>			

#### **4. 7. Plazma MDA Düzeyi Ölçümü**

MDA düzeyi ölçümü Young ve arkadaşlarının (1991) tanımladığı yöntemle yapıldı. Yöntem, tiyobarbiturik asit ile lipit peroksidasyonunun son ürünü olan MDA' nın asidik ortamda yüksek ısının etkisi ile pembe renkli kompleks oluşturması prensibine dayanır. Analiz Shimadzu LC-10AT model yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) cihazı ile yapıldı. Plazma MDA analizinde aşağıdaki özellikler kullanıldı.

Mobil faz bileşimi: % 50 metanol (HPLC grade)

% 50 25 mM fosfat tamponu (pH: 6.5)

Mobil faz akış hızı: 0.8 mL/dk

Kolon: 10 cm uzunluğunda, 10 mm çapında C18 kolon kullanıldı.

Dalga boyu: 532 nm

Deneyin yapılışı :

Kör, numune ve standart tüplerinin her birine 500 µL 0.36 M fosforik asit (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), 500 µL 0.44 M tiyobarbiturik asit, 900 µL distile su ve 50 µL sırasıyla, distile su, serum

veya standart eklendi. Reaksiyon karışımı 100° C' de 1 saat inkübe edildi. Su banyosundan çıkarıldıktan sonra 10 dk 4° C' de soğutuldu. Bu reaksiyon karışımından 400 µL alınarak üzerine 720 µL metanol (HPLC grade) ve 80 µL 1 M sodyum hidroksit eklendi. 1500xg' de 10 dk santrifüj edildikten sonra metanol fazından 50 µL alınarak HPLC' ye enjekte edildi.

#### Hesaplanma :

0.5, 1, 2, 4 nmol/mL' lik konsantrasyonlarda hazırlanan 1,1',3,3'-tetraetoksipropan standartları ile çalışılarak standart eğri grafiği çizildi. Yaklaşık 4. dakikada görülen MDA pikinin alanına karşılık gelen değer standart eğri grafiğinden bulunarak konsantrasyon hesaplandı ve serum MDA düzeyi nmol/mL şeklinde ifade edildi.

## **5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

İstatistiksel değerlendirme için SPSS (Statistical Packages of Social Sciences for Windows Standart Version 11.0) paket programı kullanıldı. Veriler aritmetik ortalama (ort) ± ortalamanın standart hatası (SEM) olarak verildi. Gruplar arasındaki farkı karşılaştırmak için Kruskal Wallis testi yapılarak p<0,05 olanlara Mann-Whitney U testi uygulandı. Testlerde p<0,05 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## **6. SONUÇLAR**

Kontrol + *Prunus laurocerasus* ekstraktı grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, yem alımı (sırasıyla 26 ± 0,7 g/24s ve 23 ± 1 g/24s), sıvı alımı (sırasıyla 32 ± 3 mL/24s ve 26 ± 0,5 mL / 24s) ve vücut ağırlığında (sırasıyla 363 ± 28 g ve 351 ± 22 g) artış, kan glukoz (sırasıyla 101 ± 5 mg/dL ve 104 ± 0,8 mg/dL) ve serum TG (sırasıyla 74 ± 3 mg/dL ve 82 ± 7 mg/dL) düzeylerinde ise bir azalma gözlenirse de istatistiksel olarak bir anlam saptanmadı. Serum TK (sırasıyla 40 ± 3 mg/dL ve 85 ± 3 mg/dL, p<0,05) düzeyinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı. Ayrıca bu grupta serum insülin (sırasıyla 2,09 ± 0,1 mIU/mL ve 2,07 ± 0,07 mIU/mL) ve serum HDL-K (sırasıyla 71 ± 4 mg/dL ve 63 ± 6 mg/dL) düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmedi.

Diyabet grubunda kontrol grubuna göre, yem alımı (sırasıyla 30 ± 1 g/24s ve 23 ± 1 g/24s, p<0,05), sıvı alımı (sırasıyla 169 ± 5 mL/24s ve 26 ± 0.5 mL/24s, p<0,05), kan glukoz (sırasıyla 171 ± 5 mg/dL ve 104 ± 0,8 mg/dL, p<0,01), serum TK (sırasıyla 139

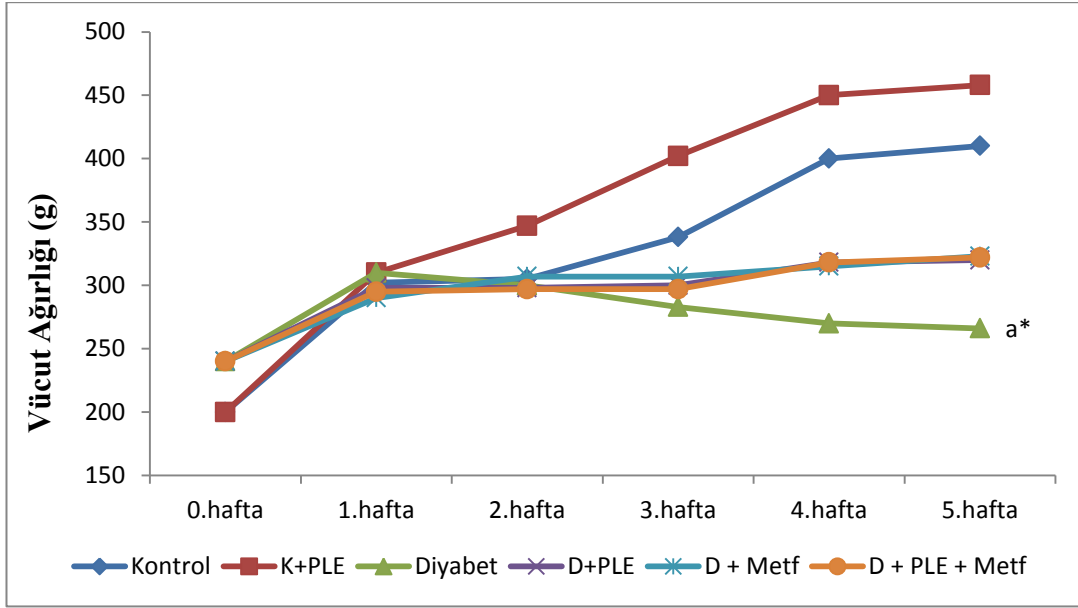
$\pm 8$  mg/dL ve  $85 \pm 3$  mg/dL,  $p<0,05$ ), serum TG (sırasıyla  $165 \pm 3$  mg/dL ve  $82 \pm 7$  mg/dL,  $p<0,05$ ) düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanırken, vücut ağırlığında (sırasıyla  $285 \pm 8$  g ve  $351 \pm 22$  g,  $p<0,05$ ), serum HDL-K (sırasıyla  $35 \pm 0,8$  mg/dL ve  $63 \pm 6$  mg/dL,  $p<0,05$ ) ve serum insülin düzeyinde (sırasıyla  $0,57 \pm 0,04$  mIU/mL ve  $2,07 \pm 0,07$  mIU/mL,  $p<0,05$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı.

Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı grubunda diyabet grubuna göre yem alımında (sırasıyla  $29 \pm 1$  g/24s ve  $30 \pm 1$  g/24s) bir azalma, vücut ağırlığında (sırasıyla  $306 \pm 5$  g ve  $285 \pm 8$  g) ve serum HDL-K (sırasıyla  $46 \pm 1$  mg/dL ve  $35 \pm 0,8$  mg/dL) düzeyinde ise bir artış gözlenmede istatistiksel olarak bir anlam saptanmadı. Sıvı alımı (sırasıyla  $124 \pm 7$  mL/24s ve  $169 \pm 5$  mL/24s,  $p<0,05$ ), kan glukoz (sırasıyla  $147 \pm 5$  mg/dL ve  $171 \pm 5$  mg/dL,  $p<0,05$ ), serum TK (sırasıyla  $110 \pm 6$  mg/dL ve  $139 \pm 8$  mg/dL,  $p<0,05$ ) ve serum TG (sırasıyla  $117 \pm 4$  mg/dL ve  $165 \pm 3$  mg/dL,  $p<0,05$ ) düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanırken, serum insülin (sırasıyla  $1,36 \pm 0,32$  mIU/mL ve  $0,57 \pm 0,04$  mIU/mL,  $p<0,05$ ) düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı.

Diyabet + metformin grubunda diyabet grubuna göre vücut ağırlığı (sırasıyla  $307 \pm 7$  g ve  $285 \pm 8$  g) ve serum HDL-K (sırasıyla  $42 \pm 3$  mg/dL ve  $35 \pm 0,8$  mg/dL) düzeylerinde bir artış, yem alımında (sırasıyla  $29 \pm 0,8$  g/24s ve  $30 \pm 1$  g/24s), serum TG (sırasıyla  $160 \pm 4$  mg/dL ve  $165 \pm 3$  mg/dL) ve serum TK (sırasıyla  $134 \pm 6$  mg/dL ve  $139 \pm 8$  mg/dL) düzeyinde azalma gözlenmede istatistiksel olarak bir anlam saptanmadı. Ayrıca sıvı alımında (sırasıyla  $128 \pm 12$  mL/24s ve  $169 \pm 5$  mL/24s,  $p<0,05$ ) ve kan glukoz (sırasıyla  $120 \pm 7$  mg/dL ve  $171 \pm 5$  mg/dL,  $p<0,01$ ) düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma, serum insülin (sırasıyla  $0,93 \pm 0,03$  mIU/mL ve  $0,57 \pm 0,04$  mIU/mL,  $p<0,05$ ) düzeyinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı.

Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı + metformin grubunda diyabet grubuna göre yem alımında (sırasıyla  $28 \pm 1$  g/24s ve  $30 \pm 1$  g/24s) belirli bir azalma, vücut ağırlığı (sırasıyla  $302 \pm 5$  g ve  $285 \pm 8$  g) ve serum HDL-K (sırasıyla  $44 \pm 1$  mg/dL ve  $35 \pm 0,8$  mg/dL) düzeylerinde ise belirli bir artış gözlenmede istatistiksel olarak bir anlam saptanmadı. Bununla birlikte sıvı alımı (sırasıyla  $120 \pm 24$  mL/24s ve  $169 \pm 5$  mL/24s,  $p<0,05$ ), kan glukoz (sırasıyla  $127 \pm 4$  mg/dL ve  $171 \pm 5$  mg/dL,  $p<0,01$ ), serum TK

(sırasıyla  $116 \pm 7$  mg/dL ve  $139 \pm 8$  mg/dL,  $p < 0,05$ ) ve serum TG (sırasıyla  $120 \pm 5$  mg/dL ve  $165 \pm 3$  mg/dL,  $p < 0,05$ ) düzeylerinde anlamlı bir azalma, serum insülin (sırasıyla  $1,57 \pm 0,18$  mIU/mL ve  $0,57 \pm 0,04$  mIU/mL,  $p < 0,05$ ) düzeyinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı. (Şekil 6.1, Şekil 6.2, Çizelge 6.1, Çizelge 6.2)

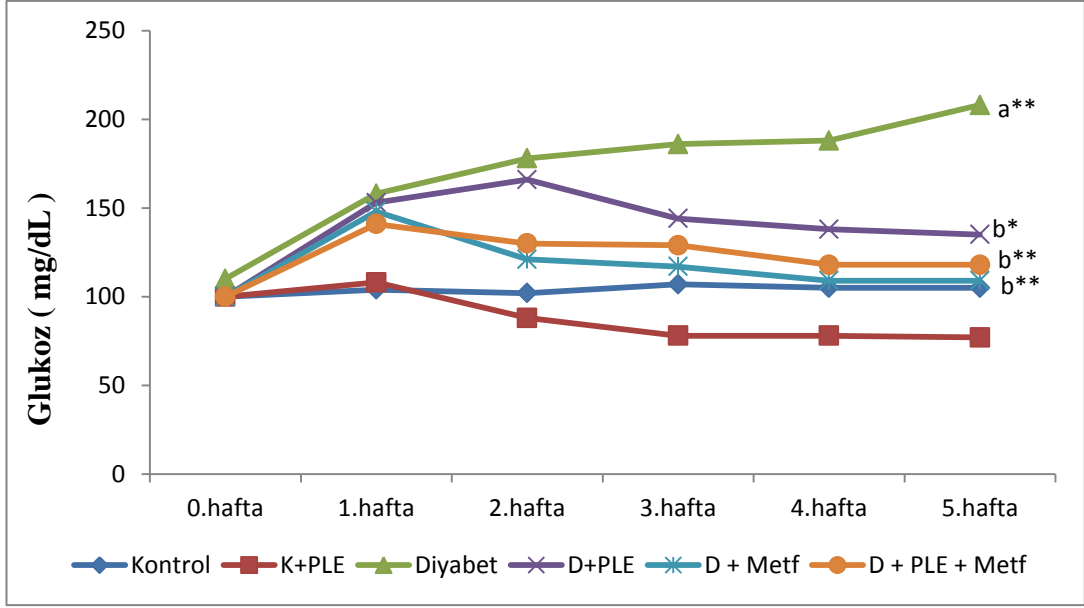


**Şekil 6. 1.** Kontrol (K), Kontrol + *Prunus laurocerasus* ekstraktı (K+PLE), Diyabet (D), Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı (D + PLE), Diyabet + Metformin (D + Metf), Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı + metformin (D + PLE + Metf) gruplarında 5 haftalık periyotta meydana gelen vücut ağırlığı değişimi.

<sup>a</sup> : Kontrol grubu ile karşılaştırma. <sup>b</sup> : Diyabet grubu ile karşılaştırma

İstatistiksel anlamlılık düzeyi: \*  $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$





**Şekil 6. 2.** Kontrol (K), Kontrol + *Prunus laurocerasus* ekstraktı (K+PLE), Diyabet (D), Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı (D + PLE), Diyabet + Metformin (D + Metf), Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı + metformin (D + PLE + Metf) gruplarında 5 haftalık periyotta meydana gelen kan glukoz değişimi.

<sup>a</sup> : Kontrol grubu ile karşılaştırma. <sup>b</sup> : Diyabet grubu ile karşılaştırma

İstatistiksel anlamlılık düzeyi: \* p< 0.05, \*\*p< 0.01

**Çizelge 6. 1.** Kontrol (K), Kontrol + *Prunus laurocerasus* ekstraktı (K + PLE), Diyabet (D), Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı (D + PLE), Diyabet + Metformin (D + Metf) ve Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı + Metformin (D + PLE + Metf) gruplarında yem alımı, sıvı alımı, vücut ağırlığı, glukoz ve insülin değerleri (Ort ± SEM).

Parametre	Kontrol	Kontrol PLE	Diyabet	Diyabet PLE	Diyabet Metf	Diyabet PLE+Metf
Yem alımı (g/24s)	23±1	26±0.7	30±1 <sup>a*</sup>	29±1	29 ±0.8	28±1
Sıvı alımı (mL/24s)	26 ±0,5	32 ±3	169 ±5 <sup>a*</sup>	124±7 <sup>b*</sup>	128±12 <sup>b*</sup>	120±24 <sup>b*</sup>
Vücut Ağırlığı (g)	351 ±22	363±28	285 ±8 <sup>a*</sup>	306±5	307 ±7	302±5
Glukoz (mg/dL)	104 ± 0,8	101 ±5	171 ±5 <sup>a**</sup>	147±5 <sup>b*</sup>	120±7 <sup>b**</sup>	127±4 <sup>b**</sup>
İnsülin (mIU/mL)	2.07 ±0,07	2,09± 0,10	0,57 ±0,04 <sup>a*</sup>	1,36±0,32 <sup>b*</sup>	0,93±0,03 <sup>b*</sup>	1,57±0,18 <sup>b*</sup>

<sup>a</sup> : Kontrol grubu ile karşılaştırma. <sup>b</sup> : Diyabet grubu ile karşılaştırma  
İstatistiksel anlamlılık düzeyi: \* p< 0.05, \*\*p< 0.01

**Çizelge 6. 2.** Kontrol (K), Kontrol + *Prunus laurocerasus* ekstraktı (K + PLE), Diyabet (D), Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı (D + PLE), Diyabet + Metformin (D + Metf) ve Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı + Metformin (D + PLE + Metf) gruplarında kolesterol, trigliserit ve HDL-Kolesterol seviyeleri (Ort ± SEM)

Parametre	Kontrol	Kontrol PLE	Diyabet	Diyabet PLE	Diyabet Metf	Diyabet PLE+Metf
Total Kolesterol (mg/dL)	85±3	40±3 <sup>a*</sup>	139±8 <sup>a*</sup>	110±6 <sup>b*</sup>	134±6	116±7 <sup>b*</sup>
Trigliserit (mg/dL)	82±7	74±3	165±3 <sup>a*</sup>	117±4 <sup>b*</sup>	160±4	120±5 <sup>b*</sup>
HDL- Kolesterol (mg/dL)	63±6	71±4	35±0.8 <sup>a*</sup>	46±1	42±3	44±1

<sup>a</sup> : Kontrol grubu ile karşılaştırma. <sup>b</sup> : Diyabet grubu ile karşılaştırma

İstatistiksel anlamlılık düzeyi: \* p<0.05, \*\*p<0.01

Kontrol + *Prunus laurocerasus* ekstraktı grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında eritrosit SOD (sırasıyla 74 ± 2 Ü/g Hb ve 61 ± 2 Ü/g Hb, p<0,05 ) ve eritrosit GSH-Px (sırasıyla 14 ± 1 Ü/mL ve 10 ± 0,3 Ü/mL, p<0,05) seviyelerinde istatistiksel olarak artış gözlemlendi.

Diyabet grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında eritrosit SOD (sırasıyla 123 ± 0,9 Ü/g Hb ve 61 ± 2 Ü/g Hb, p<0,05 ) ve eritrosit GSH-Px (sırasıyla 21 ± 0,6 Ü/mL ve 10 ± 0,3 Ü/mL, p<0,05) düzeyleri istatistiksel olarak yüksek bulundu.

Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı grubu, diyabet grubu ile karşılaştırıldığında eritrosit GSH-Px (sırasıyla  $32 \pm 1$  Ü/mL ve  $21 \pm 0,6$  Ü/mL,  $p < 0,05$ ) ve eritrosit SOD (sırasıyla  $145 \pm 3$  Ü/g Hb ve  $123 \pm 0,9$  Ü/g Hb,  $p < 0,05$ ) düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı.

Diyabet + metformin grubu ile diyabet grubu karşılaştırıldığında eritrosit SOD (sırasıyla  $126 \pm 7$  Ü/g Hb ve  $123 \pm 0,9$  Ü/g Hb) seviyesinde bir artış gözlenirse de istatistiksel olarak bir anlam saptanmadı. Ayrıca eritrosit GSH-Px (sırasıyla  $21 \pm 1$  Ü/mL ve  $21 \pm 0,6$  Ü/mL) seviyesinde de anlamlı bir fark saptanmadı.

Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı + metformin grubu, diyabet grubuyla karşılaştırıldığında eritrosit SOD (sırasıyla  $151 \pm 3$  Ü/g Hb ve  $123 \pm 0,9$  Ü/g Hb,  $p < 0,05$ ) ve eritrosit GSH-Px (sırasıyla  $30 \pm 1$  Ü/mL ve  $21 \pm 0,6$  Ü/mL,  $p < 0,05$ ) aktiviteleri istatistiksel olarak yüksek bulundu. (çizelge 6.3)

**Çizelge 6.3.** Kontrol (K), Kontrol + *Prunus laurocerasus* ekstraktı (K + PLE), Diyabet (D), Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı (D + PLE), Diyabet + Metformin (D + Metf) ve Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı + Metformin (D + PLE + Metf) gruplarında Eritrosit GSHPx ve eritrosit SOD değişimleri. (Ort  $\pm$  SEM)

Parametre	Kontrol	Kont. PLE	Diyabet	Diyabet PLE	Diyabet Metf	Diyabet PLE+Metf
Eritrosit GSHPx Ü/mL	$10 \pm 0,3$	$14 \pm 1^{a*}$	$21 \pm 0,6^{a*}$	$32 \pm 1^{b*}$	$21 \pm 1$	$30 \pm 1^{b*}$
Eritrosit SOD (Ü/g Hb)	$61 \pm 2$	$74 \pm 2^{a*}$	$123 \pm 0,9^{a*}$	$145 \pm 3^{b*}$	$126 \pm 7$	$151 \pm 3^{b*}$

<sup>a</sup> : Kontrol grubu ile karşılaştırma. <sup>b</sup> : Diyabet grubu ile karşılaştırma İstatistiksel anlamlılık düzeyi: \*  $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$

Kontrol + *Prunus laurocerasus* ekstraktı grubunda kontrol grubuna göre PON (sırasıyla  $129 \pm 1$  Ü/L ve  $124 \pm 1$  Ü/L) ve Arilesteraz (sırasıyla  $140 \pm 14$  Ü/L ve  $134 \pm 6$  Ü/L) aktivitesinde bir artış gözlenirse de istatistiksel olarak bir anlam saptanmadı.

Diyabet grubunda kontrol grubuna göre PON aktivitesinde (sırasıyla  $55 \pm 0,9$  Ü/L ve  $124 \pm 1$  Ü/L,  $p < 0,05$ ) ve Arilesteraz aktivitesinde (sırasıyla  $78 \pm 1$  Ü/L ve  $134 \pm 6$  Ü/L,  $p < 0,05$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi.

Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı grubunda diyabet grubuna göre, PON aktivitesinde (sırasıyla  $109 \pm 4$  Ü/L ve  $55 \pm 0,9$  Ü/L,  $p < 0,05$ ) ve Arilesteraz aktivitesinde (sırasıyla  $119 \pm 9$  Ü/L ve  $78 \pm 1$  Ü/L,  $p < 0,05$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı.

Diyabet + metformin grubunda diyabet grubuna göre, PON aktivitesinde ( $76 \pm 4$  Ü/L ve  $55 \pm 0,9$  Ü/L,  $p < 0,05$ ) ve Arilesteraz aktivitesinde (sırasıyla  $118 \pm 8$  Ü/L ve  $78 \pm 1$  Ü/L,  $p < 0,05$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı.

Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı + metformin grubunda diyabet grubuna göre, PON aktivitesinde ( $105 \pm 3$  Ü/L ve  $55 \pm 0,9$  Ü/L,  $p < 0,05$ ) ve Arilesteraz aktivitesinde (sırasıyla  $121 \pm 9$  Ü/L ve  $78 \pm 1$  Ü/L,  $p < 0,05$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı. (çizelge 6.4)

**Çizelge 6.4.** Kontrol (K), Kontrol + *Prunus laurocerasus* ekstratı (K + PLE), Diyabet (D), Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstratı (D + PLE), Diyabet + Metformin (D + Metf) ve Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstratı + Metformin (D + PLE + Metf) gruplarında PON ve Arilesteraz aktivitesi değişimi. (Ort ± SEM)

Parametre	Kontrol	Kontrol PLE	Diyabet	Diyabet PLE	Diyabet Metf	Diyabet PLE+Metf
PON (Ü/L)	124 ± 1	129 ± 1	55±0.9 <sup>a*</sup>	109±4 <sup>b*</sup>	76±4 <sup>b*</sup>	105±3 <sup>b*</sup>
Arilesteraz (Ü/L)	134 ± 6	140 ± 14	78±1 <sup>a*</sup>	119±9 <sup>b*</sup>	118±8 <sup>b*</sup>	121±9 <sup>b*</sup>

<sup>a</sup> : Kontrol grubu ile karşılaştırma. <sup>b</sup> : Diyabet grubu ile karşılaştırma  
İstatistiksel anlamlılık düzeyi: \* p< 0.05, \*\*p< 0.01

Kontrol + *Prunus laurocerasus* ekstratı grubunda kontrol grubuna göre kalp (sırasıyla 111 ± 11 nmol/mg doku ve 133 ± 3 nmol/mg doku), karaciğer (sırasıyla 155 ± 33 nmol/mg doku ve 156 ± 14 nmol/mg doku), böbrek (sırasıyla 186 ± 25 nmol/mg doku ve 210 ± 12 nmol/mg doku) ve kas (sırasıyla 119 ± 8 nmol/mg doku ve 137 ± 2 nmol/mg doku) dokusunda MDA düzeylerinde bir azalma gözlemlense de istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Diyabet grubunda kontrol grubuna göre kalp dokusunda (sırasıyla 227 ± 2 nmol/mg doku ve 133 ± 3 nmol/mg doku, p<0,01), karaciğer dokusunda (sırasıyla 217 ± 2 nmol/mg doku ve 156 ± 14 nmol/mg doku, p<0,01), böbrek dokusunda (sırasıyla 291 ± 1 nmol/mg doku ve 210 ± 12 nmol/mg doku, p<0,01) ve kas dokusunda (sırasıyla 202 ±

30 nmol/mg doku ve  $137 \pm 2$  nmol/mg doku,  $p<0,05$ ) MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı.

Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı grubunda diyabet grubuna göre, kalp dokusunda (sırasıyla  $179 \pm 5$  nmol/mg doku ve  $227 \pm 2$  nmol/mg doku,  $p<0,05$ ), karaciğer dokusunda (sırasıyla  $194 \pm 5$  nmol/mg doku ve  $217 \pm 2$  nmol/mg doku,  $p<0,05$ ), böbrek dokusunda (sırasıyla  $225 \pm 18$  nmol/mg doku ve  $291 \pm 1$  nmol/mg doku,  $p<0,05$ ) ve kas dokusunda (sırasıyla  $154 \pm 40$  nmol/mg doku ve  $202 \pm 30$  nmol/mg doku  $p<0,05$ ) MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı.

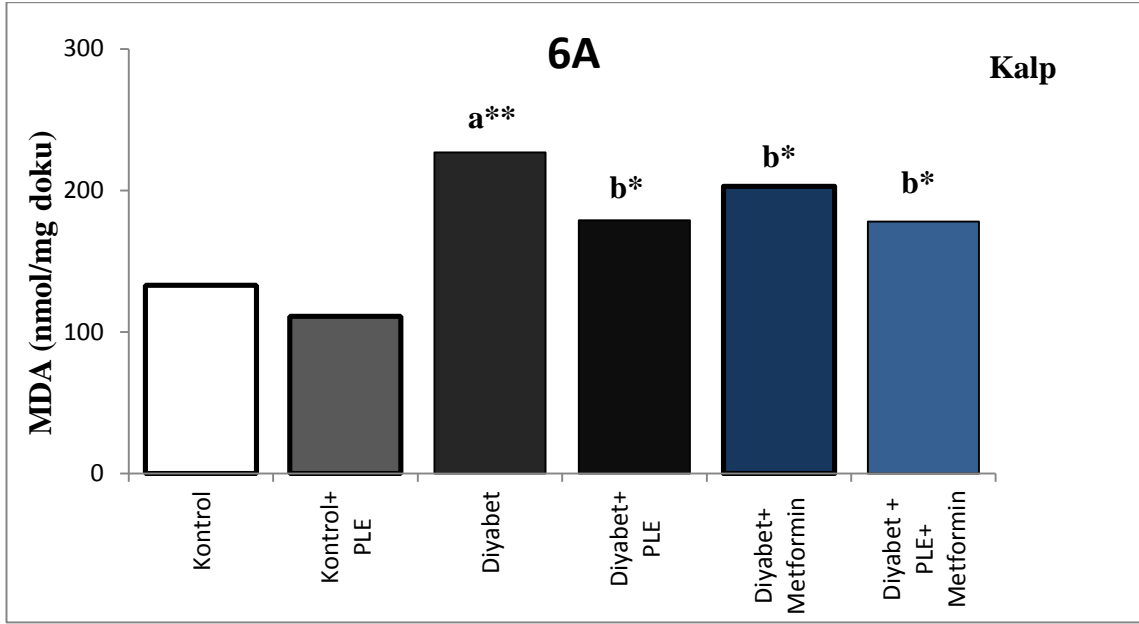
Diyabet + metformin grubunda diyabet grubuna göre, kalp dokusunda (sırasıyla  $203 \pm 5$  nmol/mg doku ve  $227 \pm 2$  nmol/mg doku,  $p<0,05$ ), böbrek dokusunda (sırasıyla  $252 \pm 5$  nmol/mg doku ve  $291 \pm 1$  nmol/mg doku,  $p<0,05$ ) ve karaciğer dokusunda (sırasıyla  $197 \pm 24$  nmol/mg doku ve  $217 \pm 2$  nmol/mg doku,  $p<0,05$ ) MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı. Aynı zamanda kas dokusunda (sırasıyla  $196 \pm 21$  nmol/mg doku ve  $202 \pm 30$  nmol/mg doku) MDA düzeyinde bir azalma gözlemlense de anlamlı bir fark saptanmadı.

Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı + metformin grubunda diyabet grubuna göre, karaciğer dokusunda (sırasıyla  $186 \pm 8$  nmol/mg doku ve  $217 \pm 2$  nmol/mg doku,  $p<0,05$ ), böbrek dokusunda (sırasıyla  $202 \pm 3$  nmol/mg doku ve  $291 \pm 1$  nmol/mg doku,  $p<0,01$ ), kalp dokusunda (sırasıyla  $178 \pm 47$  nmol/mg doku ve  $227 \pm 2$  nmol/mg doku,  $p<0,05$ ) ve kas dokusunda (sırasıyla  $159 \pm 4$  nmol/mg doku ve  $202 \pm 30$  nmol/mg doku,  $p<0,05$ ) MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı. ( Şekil 6.3, Şekil 6.4, Şekil 6.5, Şekil 6.6, Çizelge 6.5).

Kontrol + *Prunus laurocerasus* ekstraktı grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında plazma MDA (sırasıyla  $8,11 \pm 0,08$  nmol/mL ve  $8,32 \pm 0,05$  nmol/mL) düzeyinde bir azalma gözlemlense de istatistiksel olarak bir anlam saptanmadı.

Diyabet grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında plazma MDA (sırasıyla  $11,7 \pm 0,07$  nmol/mL ve  $8,32 \pm 0,05$  nmol/mL,  $p<0,05$ ) anlamlı artış saptanırken, diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı grubu diyabet grubu ile karşılaştırıldığında (sırasıyla  $9,87 \pm 0,08$  nmol/mL ve  $11,7 \pm 0,07$  nmol/mL,  $p<0,05$ ) anlamlı bir azalma saptandı. Diyabet + Metformin grubu diyabet grubu ile karşılaştırıldığında (sırasıyla  $10,73 \pm 0,07$  nmol/mL ve  $11,7 \pm 0,07$  nmol/mL) azalma gözlemlendi fakat anlamlı bir fark bulunamasa da diyabet +

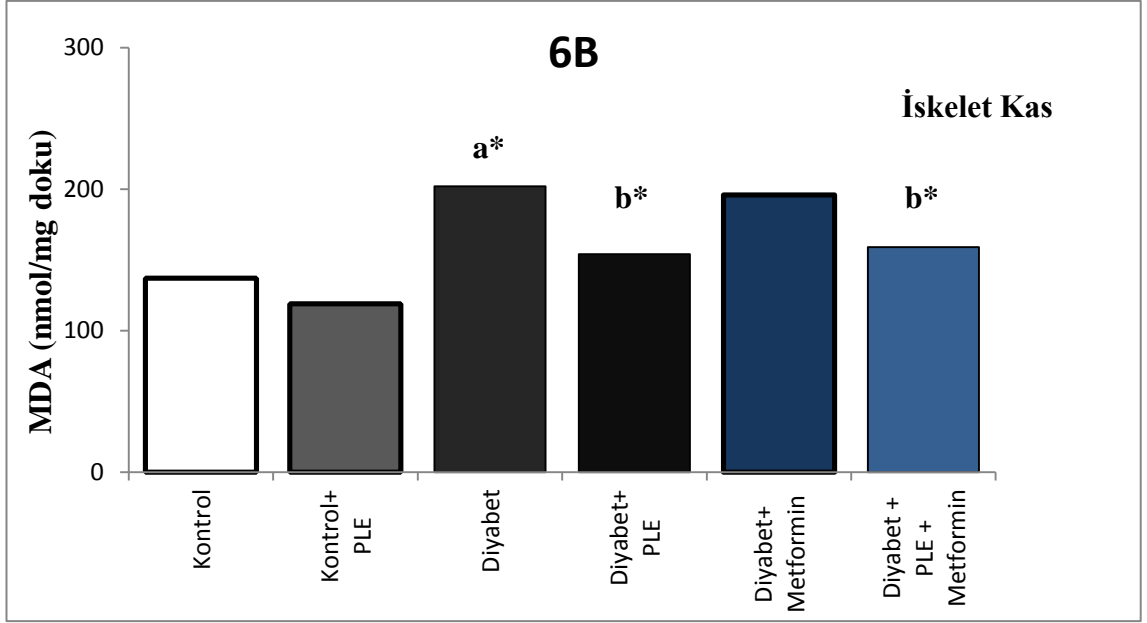
*Prunus laurocerasus* ekstraktı + metformin grubu diyabet grubu ile karşılaştırıldığında (sırasıyla  $9,68 \pm 0,06$  nmol/mL ve  $11,7 \pm 0,07$  nmol/mL,  $p < 0,05$ ) anlamlı bir azalma saptandı. ( Şekil 6.7, Çizelge 6.5)



**Şekil 6.3.** Kontrol (K), Kontrol + *Prunus laurocerasus* ekstraktı (K + PLE), Diyabet (D), Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı (D + PLE), Diyabet + Metformin (D + Metf), Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı + Metformin (D + PLE + metformin), Kalp MDA Düzeyleri

<sup>a</sup> : Kontrol grubu ile karşılaştırma <sup>b</sup> : Diyabet grubu ile karşılaştırma  
İstatistiksel anlamlılık düzeyi: \*  $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$

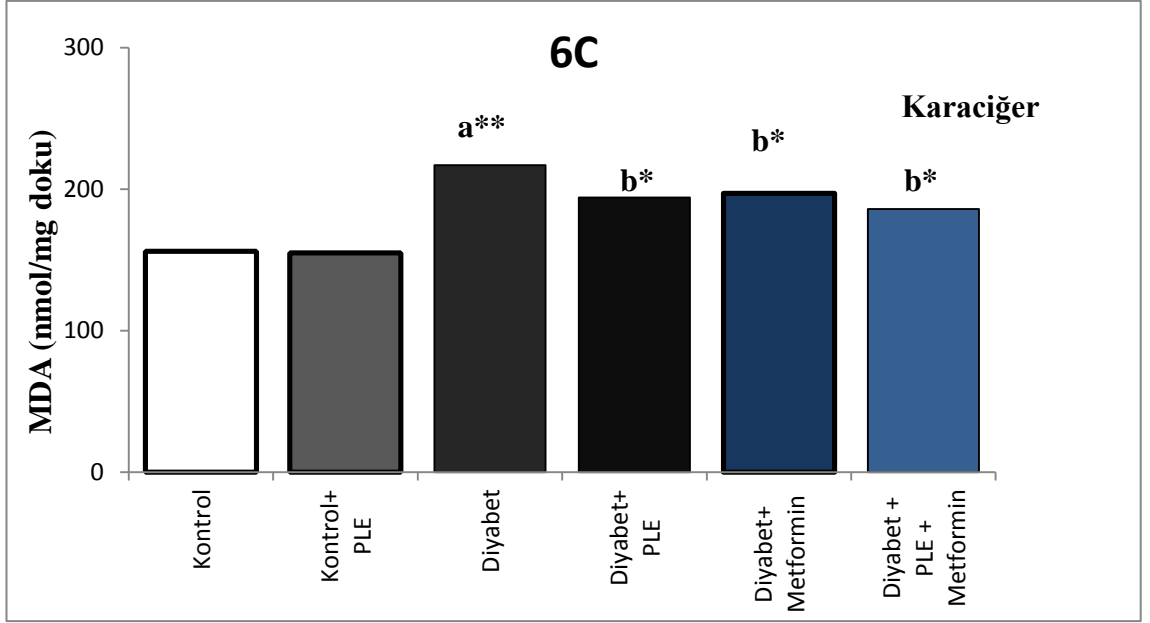




**Şekil 6.4.** Kontrol (K), Kontrol + *Prunus laurocerasus* ekstraktı (K + PLE), Diyabet (D), Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı (D + PLE), Diyabet + Metformin (D + Metf), Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı + Metformin (D + PLE + metformin), Kas MDA Düzeyleri

<sup>a</sup> : Kontrol grubu ile karşılaştırma <sup>b</sup> : Diyabet grubu ile karşılaştırma

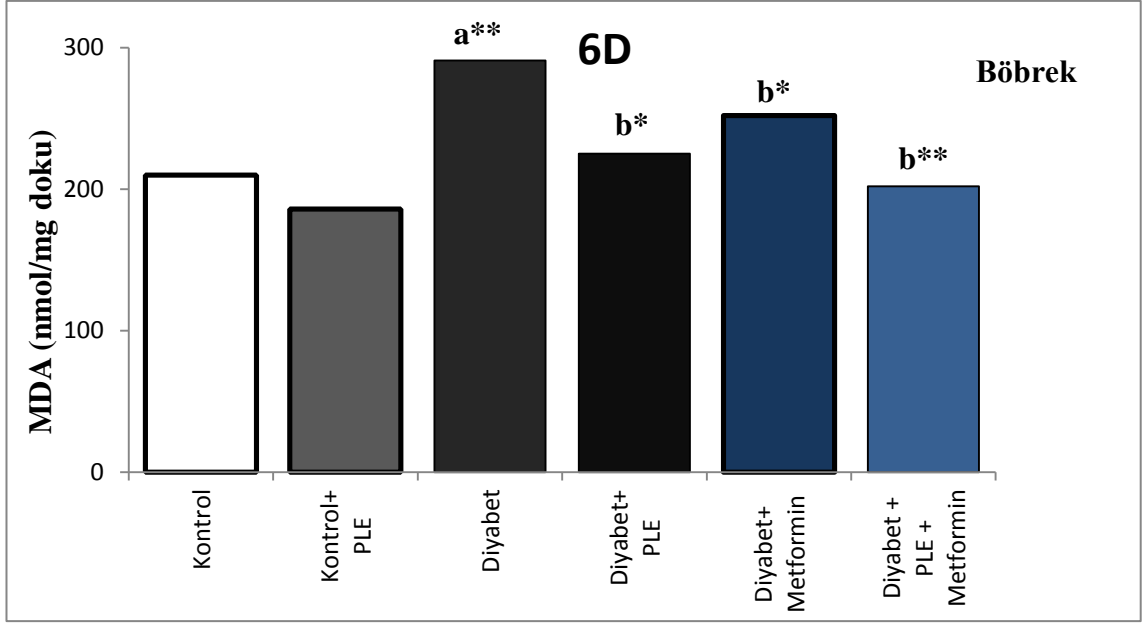
İstatistiksel anlamlılık düzeyi: \* p< 0.05, \*\*p< 0.01



**Şekil 6.5.** Kontrol (K), Kontrol + *Prunus laurocerasus* ekstraktı (K + PLE), Diyabet (D), Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı (D + PLE), Diyabet + Metformin (D + Metf), Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı + Metformin (D + PLE + metformin), Karaciğer MDA Düzeyleri

<sup>a</sup> : Kontrol grubu ile karşılaştırma <sup>b</sup> : Diyabet grubu ile karşılaştırma

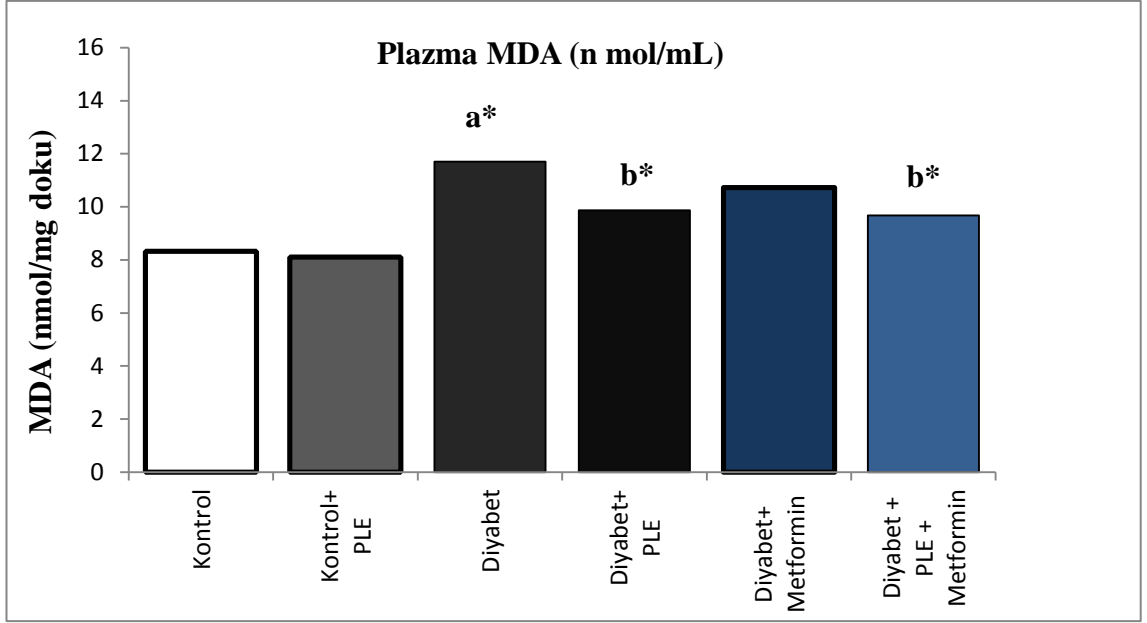
İstatistiksel anlamlılık düzeyi: \* p< 0.05, \*\*p< 0.01



**Şekil 6.6.** Kontrol (K), Kontrol + *Prunus laurocerasus* ekstraktı (K + PLE), Diyabet (D), Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı (D + PLE), Diyabet + Metformin (D + Metf), Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı + Metformin (D + PLE + metformin), Böbrek MDA Düzeyleri

<sup>a</sup> : Kontrol grubu ile karşılaştırma <sup>b</sup> : Diyabet grubu ile karşılaştırma

İstatistiksel anlamlılık düzeyi: \* p< 0.05, \*\*p< 0.01



**Şekil 6.7.** Kontrol (K), Kontrol + *Prunus laurocerasus* ekstraktı (K + PLE), Diyabet (D), Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı (D + PLE), Diyabet + Metformin (D + Metf), Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı + Metformin (D + PLE + metformin), Plazma MDA Düzeyleri

<sup>a</sup> : Kontrol grubu ile karşılaştırma <sup>b</sup> : Diyabet grubu ile karşılaştırma  
 İstatistiksel anlamlılık düzeyi: \* p< 0.05, \*\*p< 0.01

**Çizelge 6.5:** Kontrol (K), Kontrol + *Prunus laurocerasus* ekstraktı (K + PLE), Diyabet (D), Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı (K + PLE), Diyabet + Metformin (D + Metf), Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı + Metformin (D + PLE + Metf), Kalp, Kas, Karaciğer ve Böbrek Dokusu MDA ve Plazma MDA Düzeyleri (Ort ± SEM).

<b>Gruplar</b>	<b>Kalp MDA (nmol/mg)</b>	<b>Kas MDA (nmol/mg)</b>	<b>Karaciğer MDA (nmol/mg)</b>	<b>Böbrek MDA (nmol/mg)</b>	<b>Plazma MDA (n mol/mL)</b>
<b>K</b>	133±3	137±2	156±14	210±12	8,32±0,05
<b>K + PLE</b>	111±11	119±8	155±33	186±25	8,11±0,08
<b>D</b>	227±2 <sup>a**</sup>	202±30 <sup>a*</sup>	217±2 <sup>a**</sup>	291±1 <sup>a**</sup>	11,7±0,07 <sup>a*</sup>
<b>D + PLE</b>	179±5 <sup>b*</sup>	154±40 <sup>b*</sup>	194±5 <sup>b*</sup>	225±18 <sup>b*</sup>	9,87±0,08 <sup>b*</sup>
<b>D + Metf</b>	203±5 <sup>b*</sup>	196±21	197±24 <sup>b*</sup>	252±5 <sup>b*</sup>	10,73±0,07
<b>D+PLE+Metf</b>	178±47 <sup>b*</sup>	159±4 <sup>b*</sup>	186±8 <sup>b*</sup>	207±3 <sup>b**</sup>	9,68±0,06 <sup>b*</sup>

<sup>a</sup> : Kontrol grubu ile karşılaştırma <sup>b</sup> : Diyabet grubu ile karşılaştırma  
İstatistiksel anlamlılık düzeyi: \* p< 0.05, \*\*p< 0.01

## 7. TARTIŞMA

Bu çalışmada streptozotosin (STZ)-nikotinamit ile tip 2 diyabet oluşturulmuş sıçanlarda yem, sıvı alımında, kan glukoz ve serum TG, TK düzeylerindeki artış, vücut ağırlığı ve insülin düzeylerinde görülen azalma diyabet tablosunun oluştuğunu yansıtan bulgular olarak yorumlandı.

Kontrol ve diyabet grubuna *Prunus laurocerasus* ekstraktı verildiğinde insülin düzeyinde gözlenen artış ve buna paralel olarak kan glukoz düzeyinde gözlenen anlamlı azalma *Prunus laurocerasus*' un hipoglisemik ve insülin düzeyini artırma özelliği olduğunu düşündürmektedir ve bu yönde yapılan çalışmalar ile uyumludur (Şenaylı ve ark. 2012).

Metformin, tip 2 diyabetin tedavisinde yaygın olarak kullanılan oral yolla alınan biguanid antihiperglisemik bir maddedir (Memişoğulları ve ark. 2008, Vello ve ark. 2009). Metformin beta hücrelerinden insülin salgılanmasını artırmaz ancak insüline duyarlılığı artırarak periferik glukoz alımını uyarır ve hepatik glukoz çıkışını azaltarak etki gösterir (Bailey ve Turner 1996, Sargın ve ark. 2001, Koçer ve ark. 2008). Diyabet grubuna metformin ilavesi yaptığımızda insülin düzeyinde saptanan anlamlı artış ve kan glukoz düzeyinde gözlenen anlamlı azalma metforminin insüline duyarlılığı artırarak ve karaciğerden glukoz çıkışını azaltarak etki gösterdiğini düşündürmektedir. Ayrıca diyabet grubuna metformin + *Prunus laurocerasus* ekstraktı kombine olarak verildiğinde kan glukoz ve insülin düzeylerinde gözlediğimiz değişiklikler *Prunus laurocerasus*' un pankreas beta hücrelerinden insülin sekresyonunu artırarak etki gösterdiğini düşündürmektedir. Etki derecelerine göre bakıldığında her ne kadar ayrı ayrı bu ekstraktlar verildiğinde insülin düzeyinde artış ve glukoz düzeyinde anlamlı azalma görülsede bu değişimlere karşı en etkili olanın metformin + *Prunus laurocerasus* ekstraktı kombinasyonu olduğu görülmektedir.

Diyabette artış gösteren serbest radikaller, membranda bulunan yağ asitleri ve kolesterolün doymamış bağları ile reaksiyona girip lipit peroksidasyonuna neden olabilir. Vasküler duvarlarda ve plazmada lipit peroksidasyonunun artması ateroskleroz riskini artıran faktörlerden biri olarak düşünülmektedir (Çiğremiş ve ark. 2003, Memişoğulları 2005). Tip 2 diyabetli hastalarda LDL-K, TG ve TK düzeyleri genelde yüksek seyretmektedir (Çömlekçi ve ark. 1997). Yapılan çalışmalarda diyabette *Prunus laurocerasus* ekstraktının LDL oksidasyonunu önleyerek ateroskleroza karşı korumada

büyük önem taşıdığı saptanmıştır (Kolaylı ve ark. 2003, Esterbauer ve ark. 1992, Liyana-Pathirana ve ark. 2006, Dittrich ve ark. 2003). Bu çalışmada kontrol, diyabet ve diyabet +metformin + *Prunus laurocerasus* ekstraktı verilen gruplarda serum TG ve TK düzeylerinde gözlediğimiz azalma *Prunus laurocerasus*' un hipolipidemik özelliğini yansıtmaktadır. Ayrıca *Prunus laurocerasus*' un lipit profili üzerindeki bu etkisi serbest radikallere karşı koruyucu özellikte olduğunu gösteren çalışmaları destekler niteliktedir (Decker ve ark. 2001, Çapanoğlu ve ark. 2011, Wulffele ve ark. 2004, Lund ve ark. 2008). Bu çalışmada sadece diyabet + metformin verilen grupta serum TG, TK ve HDL-K düzeylerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır ancak yapılan bazı çalışmalarda metformin tedavisinin plazma TK düzeyinde azalma, HDL-K düzeyinde ise hafif artışa neden olduğu bildirilmiştir (Çiğremiş ve ark. 2003, Memişoğulları ve ark. 2005).

Diyabetik hastaların plazma ve dokularında lipit peroksidasyon ürünlerinde artış meydana gelmektedir (Akkuş 1995). Lipit peroksidasyonunun son ürünlerinden birisi de MDA' dır (Stringer ve ark. 1989). Çalışmamızda diyabet grubunda kontrol grubuna göre doku (kalp, kas, karaciğer, böbrek) ve plazma MDA düzeylerinde gözlenen artış lipit peroksidasyonunun arttığını göstermektedir (Ulus ve ark. 2005, Soliman ve ark., Vantyghe ve ark., Halifeoğlu ve ark. 2005, Abou-Seif ve Youssef 2004, Martin-Gallan ve ark. 2005). Kontrol + *Prunus laurocerasus* ekstraktı ve diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı gruplarında gözlenen doku (kalp, kas, karaciğer, böbrek) ve plazma MDA düzeylerindeki azalma *Prunus laurocerasus*' un hipolipidemik etkisinden kaynaklanabileceği gibi antioksidan özelliğinden de kaynaklanabilir. Bu sonuçlar *Prunus laurocerasus*' un bir antioksidan olarak dokuları toksik ajanlara karşı koruduğu ve MDA düzeylerinde azalmaya neden olduğunu bildiren çalışmalarla uyumludur (Alasalvar ve ark. 2005, Celep ve ark. 2012, Kolaylı ve ark. 2013, Çapanoğlu ve ark. 2011). (Koçer ve ark. 2008), yaptıkları çalışmada metformin tedavisi ile MDA düzeylerinde istatistiki olarak anlamlı bir azalmanın olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca metforminin ROS oluşumunu direkt olarak inhibe edebileceği gibi, intraselüler NADPH oksidaz aktivitesini düzenleyerek de oksijen radikali oluşumunu azaltabileceğini belirtmişlerdir. Diyabet + metformin grubu, diyabet grubu ile karşılaştırıldığında doku (kalp, karaciğer, böbrek) MDA düzeyinde gözlenen azalma metforminin ROS oluşumunu önleyerek lipit peroksidasyonunu dolayısıyla doku MDA düzeyini azaltarak etki gösterebileceğini düşündürmektedir. (Bonfont ve ark. 2003). Ayrıca Diyabet +

*Prunus laurocerasus* ekstraktı + metformin grubunda doku (kalp, kas, karaciğer, böbrek) ve plazma MDA düzeylerindeki azalma daha belirgindi ve ilaç + ekstrakt kombinasyonunun MDA düzeylerini azaltmada daha etkili olabileceğini bize düşündürdü. Etki derecelerine göre bakıldığında diyabet grubunun kas doku MDA düzeyinde *Prunus laurocerasus* ekstraktının daha etkili olduğu kalp, karaciğer ve böbrekte ise *Prunus laurocerasus* ekstraktı ve metforminin hemen hemen aynı etki düzeyine sahip olduğu saptanmıştır.

Diyabetik koşulda oksidanlara karşı savunmada antioksidan enzimler önemli rol oynamaktadır. Bu enzimlerden biri de PON ve ARE' dir. Bu çalışmada diyabet grubunda PON ve ARE düzeylerinde saptanan azalma glikozilasyon nedeniyle enzim aktivitesindeki azalmadan kaynaklanabilir ki bu da PON aktivitesinde azalmaya sebep olur. (Türkoğlu ve ark. 2008, Mackness ve ark. 2002, Ekmekçi ve ark. 2004, Parmaksız ve ark. 2011). Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı grubunda ise PON ve ARE seviyelerinde anlamlı bir artış tespit edilmesi *Prunus laurocerasus* ekstraktının diyabette hem LDL' yi, hem de HDL' yi oksidasyondan koruduğunu ve sonuçta lipit peroksidasyonunu azalttığını ve buna bağlı olarak diyabette görülen aterosklerotik kalp hastalıklarına karşı koruyucu etkiye sahip olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca çalışmamızda diyabet grubuyla, diyabet + metformin grubunu karşılaştırıldığında PON ve ARE seviyelerinde gözlenen anlamlı artış benzer çalışmalar ile uyum göstermektedir (Koçer ve ark. 2008). Diyabet + *Prunus laurocerasus* ekstraktı + metformin grubu, diyabet grubu ile karşılaştırıldığında PON ve ARE seviyelerinde daha da anlamlı bir artış saptandı. Bu da bize kombinasyon tedavinin PON enziminin LDL' yi oksidasyondan koruma ve hidrojen peroksit de dahil olmak üzere diğer radikalleri nötralize etme kapasitesinin daha etkili olacağını göstermektedir (Caner ve ark. 2012). Bilindiği gibi diyabetes mellitus' ta en önemli problem, glukozun metabolize edilememesi sonucu kanda glukozun yükselmesi, enerji üretiminde lipitlerin kullanılması ile zararlı serbest radikallerin artmasıdır. Hücrede artan oksidatif stres nedeniyle oluşan serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı savunucu role sahip enzimlerden bazıları da SOD ve GSH-Px'tir. SOD, aerobik organizmaları süperoksitin zararlı etkilerine karşı korumakla görevli antioksidan etkiye sahip bir enzimdir. Bu enzim kollajen dokuyu süperoksit radikalinin zararlı etkilerinden korur. Böylece lipit peroksidasyonunu inhibe eder (Aslan ve ark. 1995). GSH-Px, bir fosfolipaz enziminin



etki etmesi ile membran fosfolipitlerinden ayrılan yağ asiti hidroperoksitleri ve hidrojen peroksinin zararlı etkilerini ortadan kaldırmaktadır (Cheeseman ve Slater 1993). Çalışmamızda diyabet grubunda SOD ve GSH-Px düzeylerinde saptanan azalma, diyabetik koşulda ROS' un artmasına bağlı olarak oksidatif stresin arttığını göstermektedir. Kontrol grubu ve diyabet grubuna *Prunus laurocerasus* ekstraktı ilave edildiğinde ise SOD ve GSH-Px enzim aktivitesinde gözlenen artış *Prunus laurocerasus*' un bir antioksidan olarak bu enzimlerin aktivitelerini artırma yönünde etki gösterdiğini düşündürmektedir (Alasavar ve ark. 2006, Harrison ve ark. 1980, Yen&Chen 1995, Celep ve ark. 2012).

Diyabette metforminin SOD ve GSH-Px enzim aktivitelerini artırdığı (Pavlovic ve ark. 2000, Memişoğulları 2005) ya da değiştirmedığı yönünde farklı çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmada diyabet + metformin grubu, diyabet grubu ile karşılaştırıldığında GSH-Px ve SOD enzim aktivitesinde herhangi bir değişim gözlenmemesine karşın diyabet grubuna *Prunus laurocerasus* ekstraktı + metformin kombine olarak verildiğinde SOD ve GSH-Px enzim aktivitesinde anlamlı artış saptandı. Antioksidan enzim düzeylerinde görülen artıştan *Prunus laurocerasus* ekstraktının antihiperglisemik etki ile protein glikasyonunu aynı zamanda lipid peroksidasyonunu azaltarak enzim aktivitesini artırmış olabileceğini düşündürmektedir. Sonuç olarak; metforminin kan glikozunu düşürme yönünde etki gösteren bir ilaç olduğu ve tedavi amacıyla kullanıldığı bilinmektedir. Metformin verilen diyabetli grupta PON ve ARE enzim düzeylerinde artış saptanması ve doku (kalp, karaciğer ve böbrek) MDA düzeylerinde azalma gözlenmesi metforminin, tip 2 diyabette oluşan oksidatif hasarı önleyici ve buna bağlı olarak gelişen aterosklerotik hastalıklara karşı koruyucu etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir. Bunun yanısıra *Prunus laurocerasus* ekstraktının tek olarak ve metforminle kombine olarak uygulanması sonucunda antihiperglisemik, antihiperlipidemik ve antioksidan etki gösterdiği tesbit edilmiştir. Bu sonuçlar bize *Prunus laurocerasus* ekstraktının tek olarak kullanılabileceği gibi aynı zamanda metforminle birlikte kullanıldığında diyabetin oluşturduğu oksidatif hasara karşı koruyucu özelliğinden dolayı diyabet tedavisini desteklemede kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

## KAYNAKLAR

- Akkola, E., Kırmızıbekmez, H., Küçükboyacı, N., Gören, A.C., Yesilada, E. 2012.** Isolation of active constituents from cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* Roem.) leaves through bioassay-guided procedures. *Journal of Ethnopharmacology*, 139: 527–532.
- Akkuş, İ. 1995.** Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza yayınları, Kuzucular ofset, Konya.
- Alasalvar, C., Al-Farsi, M., Shahidi, F. 2005.** Compositional characteristics and antioxidant components of cherry laurel varieties and pekmez. *Journal of Food Science*, 70(1): 47-52.
- Altan, N., Dinçel, A.S., Koca, C. 2006.** Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Türk Biyokimya Dergisi*, 31(2): 51-56.
- Altan, N., Ongun, C.Ö., Hasanoğlu, E., Engin, A., Tuncer, C., Sindel, P. 1994.** Effects of the sulfonylurea glyburide on superoxide dismutase activity in alloxan induced diabetic rat hepatocytes. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 22(2-3): 95-98.
- Altan, N., Yiğit, Ş., Elmalı, E., Malhatun, E., Rota, S., Kılıç, N. 1997.** Effects of the sulfonylurea glyburide on superoxide dismutase in streptozotocine induced diabetic rat muscle. *General Pharmacology*, 28(5): 795-96.
- Andersen, D.K., Elahi, D., Brown, J.C., Tobin, J.D., Andres, R. 1978.** Oral glucose augmentation of insulin secretion. Interactions of gastric inhibitory polypeptide with ambient glucose and insulin levels. *J Clin Invest*, 62: 152-61.
- Ann-Joy, C., Daniel, T.C., Lai-Chu, S. 2001.** Poor prognosis in nasopharyngeal cancer patients with low G6PD activity. *Jpn J Cancer Res*, 92: 576-81.
- Armstrong, D. 1998.** Free radical and antioxidant protocols. *Methods in molecular biology*, New York, 300

- Aviram, M., Rosenblat, M., Bisgaier, C.L., Newton, R.S., Primo-Parmo, S.L., La Du, B.N. 1998.** Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest*, 101: 1581-1590.
- Baggio, L.L., Drucker, D.J. 2007.** Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology*, 132: 2131-57.
- Bailey, J.C. 1992.** Biguanides and NIDDM. *Diabetes Care*, 15: 755-72.
- Bailey, C.J., Turner, R.C. 1996.** Metformin. *N Engl J Med*, 334: 574-9.
- Başkol, G., Köse, K. 2004.** Paraoksonaz: Biyokimyasal özellikleri, fonksiyonları ve klinik önemi. *Erciyes Tıp Dergisi*, 26(2): 75-80.
- Baynes J.W. 1991.** Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes*, 40: 405-412.
- Baynes, J.W., Thorpe, S.R. 1999.** Role of oxidative stress in diabetic complications: A new perspective on an old paradigm. *Diabetes*, 48(1): 1-9.
- Bierhaus, A., Chevion, S., Chevion, M., Hofmann, M., Quehenberger, P., Illmer, T., Luther, T., Berentshtein, E., Tritschler, H., Muller, M., Wahl, P., Ziegler, R., Nawroth, P.P. 1997.** Advanced glycation end product induced activation of NF kappa B is suppressed by alpha lipoic acid in cultured endothelial cells. *Diabetes*, 46(9): 1481-1490.
- Bonnefont-Rousselot, D. 2002.** Glucose and reactive oxygen species. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 5(5): 561-568.
- Bonnefont-Rousselot ,D., Raji, B., Walrand, S., Gardes-Albert, M., Jore, D., Legrand, A., 2003.** An intracellular modulation of free radical production could contribute to the beneficial effects of metformin towards oxidative stress. *Metabolism*, 52: 586-9.
- Brownlee, M. 2001.** Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 414(6865): 813-820.

**Bukan, N., Sancak, B., Bilgihan, A., Kosova, F., Buğdaycı, G., Altan, N. 2004.** The effects of the sulfonylurea glyburide on glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase activities in the heart tissue of streptozotocin induced diabetic rat. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 26(7): 519-22.

**Büyükokuroğlu, M.E., Süleyman, H. 2001.** Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz eksikliği. *T Klin J Med Sci*, 21: 415-419.

**Cameron, N.E., Cotter, M.A. 1995.** Neurovascular dysfunction in diabetic rats: potential contribution of autooxidation and free radicals examined using transition metal chelating agents. *Journal of Clinical Investigation*. 96(2),1159-1163.

**Cameron, N.E., Cotter, M.A. 1997.** Metabolic and vascular factors in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Diabetes*, 46(2): 31-37.

**Caner, C., Özeç, A., Aydın, H., Topalkara, A., Arıcı, M.K., Erdoğan, H., Toker, M.İ. 2012.** Diyabetik ve diyabetik olmayan katarakt hastalarında hümor aközde ve serumda total oksidatif stres, total antioksidan kapasite, paraoksonaz, arilesteraz ve lipidperoksidaz seviyelerinin karşılaştırılması. *Turk J Ophthalmol*, 42: 47-52.

**Celep, E., Aydın, A., Yeşilada, E. 2012.** A comparative study on the in vitro antioxidant potentials of three edible fruits: Cornelian cherry, Japanese persimmon and cherry laurel. *Food and Chemical Toxicology*, 50: 3329-3335.

**Chappey, O., Dosquet, C., Wautier, M.P., Wautier, J.L. 1997.** Advanced glycation end products, oxidant stress and vascular lesions. *European Journal of Clinical Investigation*, 27(2): 97-108.

**Clore, J.N., Glickman, P.S., Nestler, J.E. 1991.** In vivo evidence for hepatic autoregulation during FFAfree fatty acid stimulated gluconeogenesis in normal humans. *Am J Physiol*, 261: 425-9.

**Cowie, C.C., Rust, K.F., Ford, E.S., Eberhardt, M.S., Byrd-Holt, D.D., Li, C. 2009.** Full accounting of diabetes and pre-diabetes in the US population in 1988-1994 and 2005-2006. *Diabetes Care*, 32 (2): 287.

- Çapanoğlu, E., Boyacıoğlu, D., Ric, C.H., Hall, R.D., Beekwilder, J. 2011.** Procyanidins in fruit from sour cherry (*Prunus cerasus*) differ strongly in chainlength from those in laurel cherry (*Prunus lauracerasus*) and cornelian cherry (*Cornus mas*). *Journal of Berry Research*, 1: 137-146.
- Çiğremiş, Y., Köse, M., Özüğurlu, F., Türköz, Y.,Eğri, M. 2003.** Tip 2 diabetes mellituslu hastaların eritrosit içi Cu, Zn-SOD, CAT ve GSH-Px antioksidan enzim düzeylerinin araştırılması. *G.Ü. Fen Bilimleri Dergisi*, 16(2): 239-244.
- Çömlekçi, A., Biberöğlu, S., Kozan, O. 1997.** Correlation between serum lipoprotein and angiographic coronary artery disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Intern Med*, 242: 449-454.
- Das, K., Chainy, G.B.N. 2001.** Modulation of rat liver mitochondrial antioxidant defense system by thyroid hormone. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1537(1): 1-13.
- Decker, E.A., Ivanov, V., Zhu, B.Z., Frei, B. 2001.** İnhibition of low-density lipoprotein oxidation by carnosine and histidine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 511-516.
- DeFronzo, R.A. 1999.** Pharmacologic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med*, 131: 281-303.
- Diekman, M.J., Romijn, J.A., Endert, E., Sauerwein, H., Wiersinga, W.M. 1998.** Thyroid hormones modulate serum leptin levels: observations in thyrotoxic and hypothyroid women. *Thyroid*, 8(12): 108-6.
- Dillmann, W.H. 1989.** Diabetes and thyroid hormone induced changes in cardiac function and their molecular basis. *Annual Review of Medicine*, 40: 373-94.
- Dinçer, Y., Akçay, T., Alademir, Z., İlkova, H. 2002.** Effect of oxidative stress on glutathione pathway in red blood cells from patients with insulin dependent diabetes mellitus. *Metabolism*, 51(10): 1360-1362.

- Dittrich, R., El-Massry, F., Kunz, K., Rinaldi, F., Peich, C.C., Beckmann, M.W. 2003.** Maillard reaction products inhibit oxidation of human low-density lipoproteins in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 3900-3904.
- Donalath, M.Y., Gross, D.J., Cesari, E., Kaiser, N. 1999.** Hyperglycemia induced  $\beta$  cell apoptosis in pancreatic islets of Psammoys obesus during development of diabetes. *Diabetes*, 48(4): 738- 744.
- Dupre, J., Ross, S.A., Watson, D., Brown, J.C. 1973.** Stimulation of insulin secretion by gastric inhibitory polypeptide in man. *J Clin Endocrinol Metab*, 37: 826-8.
- Dündar, Y., Aslan, R. 2000.** Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar. Uyum ajans, Ankara, 4-14-22-31.
- Eidland, A., Sebekova, K., Schinzel, R. 2001.** Advanced glycation end products and the progressive course of renal disease. *American Journal of Kidney Diseases*, 38 (4): 100-106.
- Eizirik, D.L., Flodstrom, M., Karlsen, A.E., Welsh, N. 1996.** The harmony of the spheres: inducible nitric oxide synthase and related genes in pancreatic  $\beta$  cells. *Diabetologia*, 39(8): 875-890.
- Ekmekçi, Ö., Donma, O., Ekmekçi, H. 2004.** Paraoksonaz. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 2: 35.
- Elahi, D., oon-Dyke, M., Fukagawa, N.K. 1994.** The insulinotropic actions of glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) and glucagon like peptide-1 (7-37) in normal and diabetic subjects. *Regul Pept*, 51: 63-74.
- Esteghamati, A., Eskandari, D., Mirmiranpour, H., Noshad, S., Mousavizadeh, M., Hedayati, M., Nakhjavani, M. 2013.** Effects of metformin on markers of oxidative stress and antioxidant reserve in patients with newly diagnosed type 2 diabetes. *Clinical Nutrition*, 32: 179-185.
- Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., Jürgens, G. 1992.** The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radical Biology and Medicine*, 13: 341-390.

**Fang, YZ., Yang, S., Wu, G. 2002.** Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition* (18): 872-9.

**Flekac, M., Skrha, J., Zidkova, K., Lacinova, Z., Hilgertova, J. 2008.** Paraoxonase 1 gene polymorphisms and enzyme activities in diabetes mellitus. *Physiol Res*, 57: 717-26.

**Freeman, B.A., Crapo, J.D. 1982.** Biology of disease, free radicals and tissue injury. *Lab Invest*, 47(5): 412-26.

**Ganong, W.F. 2002.** Pankreasın endokrin işlevleri ve karbonhidrat metabolizmasının düzenlenmesi: Tıbbi fizyoloji, Editör: Kaymak, K., Nobel tıp kitabevleri ltd. şti., İstanbul, 322-341.

**Gaskin, R.S., Estwick, D., Peddi, R. 2001.** G-6-PD deficiency: its role in the high prevalence of hypertension and diabetes mellitus. *Ethn Dis*, 11: 749-54.

**Giardino, I., Fard, A.K., Hatchell, D.L., Brownlee, M. 1998.** Amino guanidine inhibits reactive oxygen species formation, lipid peroxidation and oxidant induced apoptosis. *Diabetes*, 47(7): 1114- 1120.

**Gillery, P., Monboisse, J.C., Maquart, F.X., Borel, J.P. 1988.** Glycation of proteins as a source of superoxide. *Diabetes*, 14(1): 1114- 1120.

**Green, K., Brand, M.D., Murphy, M.P. 2004.** Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. *Diabetes*, 53(1): 110-118.

**Greene, D.A., Sima, A.A.F., Alberts, J.W., Pfeifer, M.A. 1990.** Diabetic neuropathy. In *Diabetes Mellitus Theory and Practice*. Elsevier, New York.

**Guyton, A.C., Hall, J.E. 2001.** Endokrinoloji ve üreme: Tıbbi fizyoloji, Editörler: Çavuşoğlu, H., Yeğen, B., Aydın, Z., Alican, İ., Yüce yayımları a.ş., Nobel tıp kitabevleri ltd. şti., İstanbul, 884-897.

**Gülcü, F., Gürsu, M.F. 2003.** Paraoksonaz ve Aril Esteraz Aktivite Ölçümlerinin Standardizasyonu. *Türk Biyokimya Dergisi*, 28(2): 45-49.

- Hahn, M., Subbiah, M.T. 1994.** Significant association of lipid peroxidation products with high density lipoproteins. *Biochem Mol Biol Int*, 33: 699-704.
- Harrison, P. M., Hoare, R. J. 1980.** Metals in Biochemistry; Chapman and Hall. London, 17-19.
- Hedrick, C.C., Thorpe, S.R., Fu, M.X., Harper, C.M., Yoo, J., Kim, S.M. 2000.** Glycation impairs high-density lipoprotein function. *Diabetologia*, 43(3): 312-20.
- Hermann, L.S., Melander, A. 1992.** Biguanides: Basic aspects and clinical uses. International Textbook of Diabetes Mellitus. Vol 1. England: John Wiley, 773-95.
- Houslay, M.D. 1991.** ‘Crosstalks’: a pivotal role for protein kinase C in modulating relationships between signal transduction pathways. *European Journal of Biochemistry*, 195(1): 9-27.
- Ikeda, Y., Suehiro, T., Inoue, M., Nakauchi, Y., Morita, T., Arai, K. 1998.** Serum paraoxonase activity and its relationship to diabetic complications in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism*, 47 (5): 598-602.
- İslam, A., Deligöz, H. 2012.** Ordu ilinde karayemiş (*Laurocerasus officinalis* L.) seleksiyonu. *Akademik Ziraat Dergisi*, 1(1): 37-44.
- Kahn, C.R., Weir, G.C., King, G.L., Jacobson, A.M., Moses, A.C., Smith, R.J. 2005.** Joslin’s diabetes mellitus. Lippincott williams wilkins, Boston, 329-531.
- Karasu, Ç., Öztürk, Y., Altan, N., Yıldızoğlu, N., İkizler, C., Altan, V.M. 1990.** Thyroid hormones mediated effect of insulin on alloxan diabetic rat atria. *General Pharmacology*, 21(5): 735- 740.
- Karatug, A., Bolkent, S. 2013.** The potential role of combined antioxidant treatment on pancreas of STZ-diabetic mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 65: 255-262.
- Khouri, H., Collin, F., Bonnefont-Rousselot, D., Legrand, A., Jore, D., Gardes-Albert, M. 2004.** Radical induced oxidation of metformin. *Eur J Biochem*, 271: 4745–52.



**Koçer, D., Muhtaroğlu, S., Bayram, F. 2008.** Polikistik over sendromlu hastalarda, metformin tedavisinin malondialdehid düzeyi ile paraoksonaz I aktivitesi üzerine etkisi. *Erciyes Tıp Dergisi*, 30(2): 65-70.

**Kolaylı, S., Küçük, M., Duran, C., Candan, F., Dinçer, B. 2013.** Chemical and antioxidant properties of *Laurocerasus officinalis* Roem. (cherry laurel) fruit grown in the Black Sea region. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 7489-7494.

**Koloğlu, S. 1996.** Endokrinoloji temel ve klinik. Medikal network, şehir yazılacak, 373-374.

**Koya, D., King, G.L. 1998.** Protein kinase C activation and the development of diabetic complications. *Diabetes*, 47(6): 859-66.

**Kuyvenhoven, J.P., Meinders A.E. 1999.** Oxidative stress and diabetes mellitus pathogenesis of long-term complications. *European Journal of Internal Medicine*, 10: 9-19.

**Kuzuya, T. 2001.** Report of committee on the classification and diagnostic criteria of diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 55: 65-85.

**Liyana-Pathirana, C.M., Shahidi, F., Alasalvar, C. 2006.** Antioxidant activity of cherry laurel fruit (*Laurocerasus officinalis* Roem.) and its concentrated juice. *Food chemistry*, 99: 121-128.

**Lund, S.S., Tarnow, L., Astrup, A.S. 2008.** Effect of adjunct metformin treatment in patients with type-1 diabetes and persistent inadequate glycaemic control. *Plos One*, 3: 33-63.

**Mackness, B., Durrington, P.N., Boulton, A.J.M., Hine, D. 2002.** Serum paraoxonase activity in patients with type 1 diabetes compared to healthy controls. *Eur Clin Invest*, 32: 259-64.

**Mackness, B., Mackness, M.I., Arrol, S., Turkei, W., Durrington, P.N. 1998.** The effect of the human serum paraoxonase 55 and 192 genetic polymorphisms on the protection by high density lipoprotein against low density lipoprotein oxidative modification. *FEBS Letters*, 423: 57-60.

**Maritim, A.C., Sanders, R.A., Watkins, J.B. 2003.** Diabetes, oxidative stress and antioxidants. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 17(1): 4-38.

**Maxwell, V., Shulkes, A., Brown, J.C., Solomon, T.E., Walsh, J.H., Grossman, M.I. 1980.** Effect of gastric inhibitory polypeptide on pentagastrin stimulated acid secretion in man. *Dig Dis Sci*, 25: 113-6.

**Memişoğulları, R. 2005.** Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 3: 30-39.

**Memişoğulları, R., Türkeli, M., Bakan, E., Akçay, F. 2008.** Effect of metformin or gliclazide on lipid peroxidation and antioxidant levels in patients with diabetes mellitus. *Turk J Med Sc*, 38 (6): 545-548.

**Nagi, D.K., Yudkin, J.S. 1993.** Effects of metformin on insulin resistance, risk factors for cardiovascular disease and plasminogen activator inhibitor in NIDDM subjects: A study of two ethnic groups. *Diabetes Care*, 16: 621-9

**Nauck, M., Stockmann, F., Ebert, R., Creutzfeldt, W. 1986.** Reduced incretin effect in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia*, 29: 46-52.

**Nauck, M.A., Heimesaat, M.M., Orskov, C., Holst, J.J., Ebert, R., Creutzfeldt, W. 1993.** Preserved incretin activity of glucagon-like peptide 1 (7-36 amide) but not of synthetic human gastric inhibitory polypeptide in patients with type-2 diabetes mellitus. *J Clin Invest*, 91: 301-7.

**Ouslimani, N., Peynet, J., Bonnefont-Rousselat, D., Therond, P., Legrand, A., Beaudoux, J.L. 2005.** Metformin decreases intracellular production of reactive oxygen species in aortic endothelial cells. *Metabolism*, 54: 829-34.

**Özata, M., Yöner, A. Yayın yılı.** Endokrinoloji metabolizma ve diabet. Medikal yayıncılık, İstanbul, 624.

**Özmen, İ. 2009.** Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz üzerine bazı sitotoksik kimyasalların etkisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Dergisi*, 4(1): 112-119.

- Parmaksız, İ., Atak, P.G., Yavuz, D., Şirikçi, Ö. 2011.** Streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda aminoguanidinin serum paraoksonaz aktivitesi üzerine etkisi. *Turk J Biochem*, 36 (4): 329–333.
- Patane, G., Piro, S., Rabuazzo, A.M. 2000.** Metformin restores insulin secretion altered by chronic exposure to free fatty acids or high glucose: A direct metformin effect on pancreatic beta-cells. *Diabetes*, 49: 735-40.
- Pathirana, C.M., Shahidi, F., Alasalvar, C. 2006.** Antioxidant activity of cherry laurel fruit (*Laurocerasus officinalis* Roem.) and its concentrated juice. *Food Chemistry*, 99: 121-128.
- Pavlovic, D., Kocic, R., Kocic, G., Jevtovic, T., Radenkovic, S., Mikic, D., Stojanovic, M., Djordjevic, P.B. 2000.** Effect of four-week metformin treatment on plasma and erythrocyte antioxidative defence enzymes in newly diagnosed obese patients with type 2 diabetes. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 2:251-256.
- Perriello, G., Misericordia, P., Volpi, E. 1994.** Acute antihyperglycemic mechanisms of metformin in NIDDM. Evidence for suppression of lipid oxidation and hepatic glucose production. *Diabetes*, 43: 920-8.
- Robertson, R.P., Harmon, J., Tran, P.O., Poitout, V. 2004.**  $\beta$ -cell glucose toxicity, lipotoxicity and chronic oxidative stress in type 2 diabetes. *Diabetes*, 53(1): 119-124.
- Sandallı, C. 2002.** Karayemiş (*Laurocerasus officinalis* Roem.) bitkisinin RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) tekniği ile moleküler karakterizasyonu, KTÜ Fen- Edebiyat Fakültesi, Trabzon.
- Sargın, M., Sargın, H., Orbay, E., Çakın, I., Çobanoğlu, M., Yayla, A. 2001.** Tip 2 diyabetlilerde insülin-metformin kombinasyon tedavisinin etkinliği. *Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi*, 12(1-2-3): 8-10.
- Saxena, A.K., Srivastava, P., Kale, R.K., Baquer, N.Z. 1993.** Impaired antioxidant status in diabetic rat liver. Effect of vanadate. *Biochemical Pharmacology*, 45(3): 539-542.

- Sodeman, W.A. 1992.** Sodeman's pathologic physiology mechanisms of disease. Çeviri: Cesur, N. Hekimler birliği vakfı, Türkiye klinikleri yayınevi, Ankara.
- Sorg, O. 2004.** Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality?. *Comptes Rendus Biologies*, 327: 649-662.
- Stith, B.J., Goalstone, M.L., Espinoza, R. 1996.** The antidiabetic drug metformin elevates receptor tyrosine kinase activity and inositol 1,4,5-trisphosphate mass in *Xenopus* oocytes. *Endocrinology*, 137: 2990-9.
- Stringer, M.D., Gorog, P.G., Freeman, A., Kaskar, V.V. 1989.** Lipid peroxides and atherosclerosis. *BMJ*, 298: 281-284.
- Süzer, Ö. 2005.** Süzer farmakoloji. Klinisyen tıp kitabevleri, Ankara, 832.
- Şenaylı, A., Şahin, A., Şenaylı, Y., Elmastaş, M. 2012.** Evaluation the anti-diabetic activity of cherry laurel (*Laurocerasus officinalis*). *The Open Conference Proceedings Journal*, 3: 8-12.
- Tandoğan, B., Ulusu, N.N. 2005.** Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz: moleküler özellikleri ve klinik önemi. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 36: 13-18.
- Tiedge, M., Lortz, S., Drinkgern, J., Lenzen, S. 1997.** Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidative defense status of insülin producing cells. *Diabetes*, 46: 1733- 1740.
- Tiedge, M., Lortz, S., Munday, R., Lenzen, S. 1998.** Complementary action of antioxidant enzyme in the protection of bioengineered insülin producing RIN m5f cells against the toxicity of reactive oxygen species. *Diabetes*, 47(10): 1578-1585.
- Türkoğlu, S., Bulmuş, F., Parmaksız, A., Özkan, Y., Gürsu, F. 2008.** Metabolik sendromlu hastalarda paraoksonaz 1 ve arilesteraz aktivite düzeyleri. *Fırat Tıp Dergisi*, 13(2): 110-115.
- Uysal, S., Akyol, S., Hasgöl, R., Armutcu, F., Yiğitoğlu, M.R. 2011.** Çok yönlü bir enzim: Paraoksonaz. *Yeni Tıp Dergisi*, 28(3): 136-141.

- Ükinç, K., Gürlek, A., Usma, A. 2007.** Yeni antidiyabetik ilaçlar. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 38: 113-120.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., Telser, J. 2007.** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39: 44-84.
- Vello, S., Buetow, L., Royle, P., Livingstone, S., Colhoun, H.M., Petrie, J.R. 2009.** The use of metformin in type 1 diabetes. *Diabetologia*, 00125(009): 1639-9.
- Way, K.J., Katai, N., King, G.L. 2001.** Protein kinase C and the development of diabetic vascular complications. *Diabetic Medicine*, 18 (12): 945-959.
- West, I.C. 2000.** Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabet Med.* (17):171-80.
- Wiernsperger, N.F., Bailey, C.J. 1999.** The antihyperglycaemic effect of metformin: Therapeutic and cellular mechanisms. *Drugs*, 58(1): 31-9.
- Wilcock, C., Bailey, C.J. 1991.** Reconsideration of inhibitory effect of metformin on intestinal glucose absorption. *J Pharm Pharmacol*, 43: 120-1.
- Wulffele, M.G., Kooy, A., De Zeeuw, D., Stehouwer, C.D.A., Gansevoort, R.T. 2004.** The effect of metformin on blood pressure, plasma cholesterol and triglycerides in type 2 diabetes mellitus. *Journal of Internal Medicine*, 256: 1-14.
- Yavru, İ. 1997.** Karayemiş (*Prunus laurocerasus*) meyvelerinde gelişme ve olgunlaşmaya bağlı olarak bazı organik madde miktarları ile polifenol oksidaz aktivitesindeki değişimlerin araştırılması. KTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Trabzon.
- Yen, W. J., Chen, B. H. 1995.** Isolation of xanthophylls from Taiwanese orange peels and their effects on the oxidation stability of soybean oil. *Food Chemistry*, 53: 417-425.
- Yenigün, M., Altuntaş, Y. 2001.** Her yönüyle diabetes mellitus. Nobel tıp kitabevleri Ltd.şti, İstanbul, 219-232-939-940.

## **ÖZGEÇMİŞ**

Adı Soyadı : İlknur DOĞU  
Doğum Yeri ve Tarihi : Kırıkkale 05.02.1986  
Yabancı Dili : İNGİLİZCE  
Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)  
Lise : Bursa Çelebi Mehmet Lisesi (YDA) 2000-2004  
Lisans : Uludağ Üniversitesi 2005-2009  
Yüksek Lisans : Uludağ Üniversitesi  
Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl : Şamran Anadolu Lisesi  
İletişim (e-posta) : ilknur\_dogu86@hotmail.com